ارزیابی محتوا و فلورسانس کلرفیل برگ خیار تحت تنش بیماری و کاربرد سیلیسیم

پروانه محقق [۱]، زهرا رسایی [۲]
۱.دانشجوی دکتری فیزیک و حفاظت خاک دانشگاه شهرکرد، ۲. دانشجوی دکتری ژنز دانشگاه شهرکرد

چکیده
در این مطالعه، اثر سه سطح سیلیسیم بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی و همچنین غلظت کلرفیل کل و کلرفیل‌های a و b تحت بیماری سفیدک سطحی ناشی از *Sphaerotheca fuliginea* در گیاه خیار در شرایط هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد وزن خشک ریشه و اندام هوایی خیار با کاربرد سیلیسیم افزایش معنی‌داری داشت. بیماری در هر دو سطح صفر و ۸۵/۰ میلی‌مولار سیلیسیم منجر به کاهش معنی‌دار غلظت کلرفیل در گیاه شده است. مقایسه بین تغییرات میزان کلرفیل a و b و کلرفیل کل تحت تأثیر بیماری و کاربرد سیلیسیم، حاکی از تأثیرپذیری بیشتر کلرفیل کل و کلرفیل b نسبت به کلرفیل a بود. سطح ۷/۱ میلی‌مولار سیلیسیم علاوه بر تأثیر مثبت و معنی‌دار بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی و افزایش غلظت کلرفیل توانسته اثرات منفی بیماری را بر کاهش فاکتورهای رشد و عملکرد گیاه را تعدیل کند.

واژه‌های کلیدی: سیلیسیم، بیماری *Sphaerotheca fuliginea*، کلرفیل.

مقدمه
خیار[۱۰۹] از مهم‌ترین صیفی‌جات خاورمیانه می‌باشد. طبق آمار سازمان کشاورزی بیش از ۲۵۰ هزار هکتار از زمین‌های کشاورزی در ایران تحت کشت صیفی جات از جمله خیار است و این در حالی است که بیماری سفیدک سطحی[۱۱۰] به‌عنوان بیماری غالب این مزارع معرفی شده است. سفیدک‌های سطحی با رشد میسیلیوم‌ها، کنیدیوفورها و کنیدی‌های قارچ‌های عامل بیماری روی سطوح اندام‌های هوایی (برگ و ساقه)، باعث کاهش معنی‌دار میزان فتوسنتز گیاه و تغییر غلظت کلرفیل و کاروتنوئیدها میشوند و در نهایت منجر به نقصان کمی و کیفی محصول خواهند شد (علوی، ۱۳۵۲). اغلب کشاورزان برای محافظت گیاهان در برابر بیماری‌ها از جمله سفیدک‌های سطحی از پاشش قارچ کش‌های گوناگون و تکرار آن‌ها در فواصل زمانی مشخص استفاده می‌کنند. این در حالی است که مصرف این مواد اثرات منفی بر سلامت انسان و محیط زیست خواهد داشت و همین امر سبب شده راهکارهای دیگری برای سالم نگه داشتن گیاهان مورد نظر قرار گیرد (خوشگفتارمنش، ۱۳۸۶). نتایج تحقیقات حاکی از آن است که تغذیه صحیح گیاهان بوسیله برخی عناصر همانند سیلیسیم، نقش قابل ملاحظه‌ای در پیشگیری از حمله عوامل بیماریزا و یا کاهش خسارت آفات و بیماریها دارد (Liang et al., ۲۰۰۵). عنصر سیلیسیم معمولاً به‌صورت سیلیس بیشکل[۱۱۱] و یا اسید سیلیسیک[۱۱۲] قابل جذب است و در گیاه به فرم‌های سیلیس بی‌شکل، مونوسیلیسیک و پلی سیلیسیک اسید در می‌آید (Liang et al., ۲۰۰۵). جذب این عنصر در خانواده کدوئیان همانند خیار به‌صورت غیرفعال میباشد و در صورت افزایش غلظت عنصر در محیط رشد ریشه، غلظت سیلیسیم در بافت‌های گیاه نیز افزایش مییابد. سیلیسیم عنصری مفید در بهبود رشد و عملکرد برخی از گیاهان بوده و تنها عنصری است که در صورت جذب بیش از حد در گیاه، به دلیل رسوب آن در بافت‌ها، سمیت ایجاد نمیکند (Foyer et al., ۱۹۹۴). این عنصر در افزایش فتوسنتز و استقامت اندام‌های گیاهی، کاهش نرخ تبخیر و تعرق و بهبود تحمل گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی نقش دارد (Epstein, ۱۹۹۹). تأثیر تغذیه بر مقاومت و تحمل گیاه میزبان در برابر آفات و بیماریها بسیار پیچیده می باشد. این تأثیر ممکن است به دلیل باشد. در واقع تأمین مقدار کافی عناصر غذایی عناصر غذایی ممکن است سبب افزایش مقاومت گیاهان در برابر آفات و بیماریها شود (Liang et al., ۲۰۰۵). همچنین عناصر غذایی ممکن است از طریق بهبود رشد در افزایش استحکام و مقاومت گیاه میزبان نسبت به عوامل بیماریزا تأثیرگذار باشند (Foyer et al., ۱۹۹۴). از سازوکارهای سیلیسیم در تحمل در برابر آفات و عوامل بیماریزا به تغییر الگوی رشد، شکل ظاهری، کالبدشناسی گیاه و به ویژه ترکیبات شیمیایی گیاه اشاره شده است (Liang et al., ۲۰۰۵). ایجاد مانع فیزیکی در دیواره سلولی و رسوب و یا تشکیل لایه سلولز-سیلیسیم و همچنین پیوند با کلسیم و پکتین را نیز از عامل کاربرد این عنصر بر افزایش تحمل گیاه در برابر تخریب سلولی ناشی از عوامل بیماریزا اعلام کردند (Liang et al., ۲۰۰۵). Samuels et al. (۱۹۹۳) گزارش کردند سیلیسیم بیشکل توانسته سطح فعالیت آنزیم‌های کیتیناز[۱۱۳] و پراکسیداز[۱۱۴] را در حضور بیماری پیتیوم در خیار به طور معنیداری افزایش دهد. Liang et al (۲۰۰۵) نیز نشان دادند که تغذیه سیلیسیم در بوته‌های نخود آلوده شده با *Mycosphaerella*

---

[۱۰۹] *C. sativus* L.
[۱۱۰] *Sphaerotheca fuliginea*
[۱۱۱] $SiO_2.nH_2O$
[۱۱۲] H_4SiO_4
[۱۱۳] chitinases
[۱۱۴] Peroxidase

pinodes Blerk فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و بتاگلوکوزیداز[۱۱۵] را به‌طور معنیداری افزایش داد. با توجه به اهمیت سیلیسیم به عنوان یک عنصر غذایی مفید در تولید خیار و همچنین کمبود اطلاعات در مورد اثر بر هم‌کنش این عنصر با شدت بیماری سفیدک سطحی ناشی از قارچ *Sphaerotheca fuliginea* بر فاکتورهای رشد گیاه و محتوی کلرفیل و کاروتنوئیدها بنابراین پژوهشی با هدف بررسی اثر سه سطح سیلیسیم (صفر، ۰/۸۵ و ۱/۷ میلی‌مولار) بر رشد، محتوی و فلورسانس کلرفیل کل و a و b تحت بیماری سفیدک سطحی ناشی از *Sphaerotheca fuliginea* در گیاه خیار و در شرایط هیدروپونیک پایه‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت آزمایشی گلخانه‌ای و در محیط آبکشت انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل ۳×۲×۱ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تعداد کل گلدان‌های مورد استفاده در آزمایش ۲۴ عدد بود. نتایج بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه آماری شد. مقایسه میانگین‌ها نیز برای اثرهای متقابل، با استفاده از روش دانکن صورت پذیرفت. آزمایش با سه سطح سیلیسیم (صفر، ۰/۸۵ و ۱/۷ میلی‌مولار) از منبع سیلیکات سدیم و دو سطح آلودگی قارچی *Sphaerotheca fuliginea* (حضور و عدم حضور قارچ) روی خیار انجام شد. بذور خیار در تیر ماه در گلدان‌های پلاستیکی حاوی ماسه شسته شده و استریل شده کاشته شدند و روزانه توسط محلول غذایی استاندارد جانسون آبیاری شدند در هر گلدان دو عدد خیار رشد کردند. گیاهان ۳۰ روزه به وسیله جدایه تکثیر شده *S. fuliginea* آلوده شدند. به این صورت که کنیدی‌های سفیدک سطحی از برگ‌های آلوده خیار جمع‌آوری شد و پس از شناسایی گونه قارچ، برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آب مقطر استریل شده شیکر شدند و سپس از این سوسپانسیون ۱۵۰ میکرولیتر معادل ۲۵۰ هزار کنیدی در هر میلی‌لیتر به برگ سوم هر گیاه انتقال یافت. سطح گیاهان به مدت ۴۸ ساعت بوسیله پلاستیک پلی‌اتیلنی تیره رنگ پوشانده شد. حدود ۲۵ روز پس آلوده‌سازی، نمونه‌ها کاملاً با آب مقطر شسته شده سپس ریشه و شاخساره هر گیاه از محل طوقه جدا شد و هر کدام به طور جداگانه توزین شد. برای اندازه‌گیری غلظت سیلیسیم از روش Elliot and Snyder (۱۹۹۱) استفاده شد و غلظت سیلیسیم با استفاده از روش رنگ‌سنجی مولیبدات توسط دستگاه طیف‌سنج در طول موج ۸۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. استخراج کلرفیل از برگ با استن ۸۰ درصد انجام شد. ساییدن برگ تا حصول محلول بیرنگ ادامه یافت. حجم محلول با استن به ۲۵ میلی‌لیتر رسید و پس از سانتریفیوژ محلول با دور ۴۰۰۰rpm جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۶۵۲ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر خوانده شد و از رابطه ۱، ۲ و ۳جهت محاسبه کلرفیل کل و a و b استفاده شد (Agarie et al., ۱۹۹۸).

(۱)

$$\text{میلی گرم کلروفیل کل در گرم برگ} = A(۶۵۲) / ۳٤/٥ \times V/W$$

(۲)

$$\text{میلی گرم کلروفیل a در گرم برگ} = \{(۱۲/۷(A\ ٦٦٣) - ۲/۷۹\ (A\ ٦٤٥)\} \times V/W \times ۱۰۰۰$$

(۳)

$$\text{میلی گرم کلروفیل b در گرم برگ} = \{(۲۲/۹(A\ ٦٤٥) - ۲/٦٨\ (A\ ٦٦٣)\} \times V/W \times ۱۰۰۰$$

که در آن V: حجم محلول کلرفیل (میلی لیتر)، W: وزن برگ (گرم) و A: جذب نوری عصاره بود.

نتایج و بحث

در این پژوهش، وزن خشک ریشه و اندام هوایی خیار با کاربرد سیلیسیم افزایش معنی‌داری داشت و اختلاف فاحشی نیز بین تیمار ۰/۸۵ و ۱/۷ میلی‌مولار سیلیسیم دیده شد (جدول ۱). بیماری منجر به کاهش معنی‌دار ($P<0.05$) وزن خشک ریشه و اندام هوایی تیمارهای رشد یافته در محلول‌های غذایی فاقد سیلیسیم و حتی سطح ۰/۸۵ میلی‌مولار شد ولی این کاهش در مورد سطح ۱/۷ میلی‌مولار سیلیسیم معنی‌دار نبود (جدول ۱).

جدول ۱ - اثر سیلیسیم و بیماری بر وزن خشک ریشه، اندام هوایی، غلظت سیلیسیم ریشه و اندام هوایی خیار

تیمار	وزن خشک ریشه (گرم بر گلدان)	وزن خشک اندام هوایی (گرم بر گلدان)	غلظت سیلیسیم ریشه (%)	غلظت سیلیسیم اندام هوایی (%)
فاقد سیلیسیم و بدون بیماری	^{d}۳/۱۲	^{c}۹/۱۹	^{d}۷۲/۰	^{c}۰۵/۱
فاقد سیلیسیم و آلودگی قارچی	^{c}۶/۷	^{d}۵/۱۰	^{d}۴۷/۰	^{c}۹۳/۰
۰/۸۵ میلی‌مولار سیلیسیم و بدون بیماری	^{b}۶/۲۸	^{ab}۳/۴۳	^{b}۸۱/۲	^{b}۶/۳
۰/۸۵ میلی‌مولار سیلیسیم و آلودگی قارچی	^{c}۵/۱۹	^{b}۸/۳۳	^{c}۳۵/۱	^{b}۲۵/۳
۱/۷ میلی‌مولار سیلیسیم و بدون بیماری	^{a}۴/۳۵	^{a}۲/۵۲	^{a}۰۹/۴	^{a}۳۶/۶
۱/۷ میلی‌مولار سیلیسیم و آلودگی	^{ab}۹/۳۰	^{a}۸/۴۸	^{a}۹۵/۳	^{a}۴۶/۶

.میانگین‌های دارای حروف مشترک، فاقد تفاوت معنیدار (در سطح ۵ درصد) میباشند

[۱۱۵] N-acetyl-β-glucosidase

بر اساس نتایج این پژوهش، کاربرد سیلیسیم سطح ۷/۱ میلی‌مولار توانسته اثر منفی بیماری بر کاهش عملکرد گیاه (وزن خشک ریشه و اندام هوایی) را تعدیل کند. لیانگ و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش کردند سیلیسیم باعث افزایش عملکرد چندین گونه گیاهی حتی در حضور تنش شده است و این بهبود رشد را به افزایش مقاومت مکانیکی ساقه و برگ‌ها و افزایش ظرفیت جذب نور به منظور فتوسنتز و ارتقا سطح کلرفیل b بر واحد سطح برگ نسبت دادند. کاربرد سیلیسیم منجر به افزایش معنی‌دار ($P<0.05$) غلظت این عنصر در ریشه و اندام هوایی شد. جذب سیلیسیم در کدوئیان فرآیندی غیرفعال است و با افزایش غلظت سیلیسیم در محیط، غلظت آن نیز افزایش میابد (Foyer et al.,۱۹۹۴). بیماری منجر به کاهش غلظت سیلیسیم در ریشه گیاهان شد و این امر حتی در گیاهان رشد کرده در سطح ۸۵/۰ میلی‌مولار نیز نسبت به گیاهان فاقد آلودگی قارچی و رشد کرده در همین سطح نیز اتفاق افتاد. اما بیماری بر غلظت سیلیسیم اندام هوایی در هر دو تیمار ۸۵/۰ و ۷/۱ میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). ممکن است به‌دلیل ایجاد تنش و در پی آن افزایش گونه‌های فعال اکسیژن، غشاء سلولی گیاه آسیب دیده باشد که همین امر سبب شده مقدار ترشح یون‌ها به محیط خارج از سلول افزایش یابد و سیلیسیم از ریشه به بیرون ترشح شده باشد (Epstein, ۱۹۹۴). از طرفی جذب سیلیسیم نیز به شدت تحت تأثیر دما و تنش‌های محیطی میباشد. در واقع، بیماری به‌عنوان تنش زیستی ممکن است سبب کاهش جذب سیلیسیم و در نهایت کاهش غلظت آن در گیاه شده باشد. همچنین هنگام تنش بیماری، برای کاهش خسارت، لیگنینی شدن دیواره سلولی در گیاه افزایش میابد که به همین نسبت مقدار جذب آب و عناصر غذایی نیز کاهش میابد (Ma et al, ۲۰۰۱).

آنالیز واریانس داده‌های مربوط به غلظت کلرفیل کل و کلرفیل‌های a و b نشان داد که بیماری در هر دو سطح صفر و ۸۵/۰ میلی‌مولار سیلیسیم منجر به کاهش معنی‌دار غلظت کلرفیل در گیاه شده است (جدول ۲). ممانعت از بیوسنتز کلرفیل و کاهش غلظت آن در اثر عوامل متعددی می‌تواند به وجود آمده باشد. اول اینکه ممکن است بیماری اثر بازدارنده بر بیوسنتز آنزیم‌های دلتاآمینولولینیک اسید دهیدراتاز و پروتوکلروفیلید داشته است و همین امر موجب کاهش مقدار پورفوبیلینوژن شده است. با توجه به تأثیر اساسی این فرآورده بر بیوسنتز کلرفیل می‌توان گفت کاهش تولید این فرآورده بیوسنتز کلرفیل را کاهش داده است (Marschner et al.,۱۹۹۰). دومین دلیل کاهش بیوسنتز کلرفیل و کاهش غلظت آن می‌تواند به اثر منفی بیماری بر جذب عناصر غذایی بوسیله گیاه نسبت داده شود. احتمال دارد بیماری از طریق عدم ایجاد تعادل و توازن عناصر غذایی، از بیوسنتز کلرفیل ممانعت کرده باشد. برای مثال ممکن است با افزایش بیماری غلظت عناصری همانند منیزیم و نیتروژن که ترکیبات ضروری در ساختار کلرفیل هستند کاهش یافته باشد و همین امر موجب کاهش کلرفیل شده باشد. لازم به ذکر است، کاهش جذب آهن هم می‌تواند منجر به گسیختگی بیوسنتز کلرفیل شود (Ma et al, ۲۰۰۱).

در اندام هوایی خیار متأثر از سطوح سیلیسیم و بیماری سفیدک سطحی b و a ،جدول ۲- غلظت کلرفیل کل

تیمار	غلظت کلرفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن مرطوب برگ)	غلظت کلرفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن مرطوب برگ)	غلظت کلرفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن مرطوب برگ)
فاقد سیلیسیم و بدون بیماری	^{c}۰۵/۱	^{b}۹/۰	^{d}۲۲/۰
فاقد سیلیسیم و آلودگی قارچی	^{d}۷۱/۰	^{c}۶۳/۰	^{c}۰۹/۰
۸۵/۰ میلی‌مولار سیلیسیم و بدون بیماری	^{b}۵۵/۱	^{b}۱/۱	^{c}۴۵/۰
۸۵/۰ میلی‌مولار سیلیسیم و آلودگی قارچی	^{c}۱۵/۱	^{b}۸۸/۰	^{b}۷۵/۰
۷/۱ میلی‌مولار سیلیسیم و بدون بیماری	^{a}۷۳/۲	^{a}۹۸/۱	^{a}۸۹/۰
۷/۱ میلی‌مولار سیلیسیم و آلودگی	^{a}۹۶/۲	^{a}۷/۱	^{a}۹۵/۰

.میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنیدار (در سطح ۵ درصد) میباشند

مقایسه بین تغییرات میزان کلرفیل a و b و کلرفیل کل حاکی از تأثیرپذیری بیشتر کلرفیل کل و کلرفیل b نسبت به سایر کلرفیل‌ها بود (جدول ۲). کاهش بارز کلرفیل b به طور بالقوه به کارائی به دام‌اندازی انرژی توسط PSII آسیب می‌رساند و انتقال الکترون را کاهش می‌دهد. گزارش‌ها حاکی از آن است که حساس‌ترین هدف تنش‌های بیولوژیک در فتوسنتز، PSII است که شاخص عملکرد آن در تیمار بیماری کاهش می‌یابد (Marschner et al.,۱۹۹۰). طبق جدول ۲ کاربرد سطح ۷/۱ میلی‌مولار سیلیسیم در حضور و عدم حضور بیماری منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلرفیل شده است. Foyer et al. (۱۹۹۴) گزارش کردند کاربرد سیلیسیم محلول جهت تولید غلظت‌های بالاتر آنزیم ریبولوز بیو فسفات کربوکسیلاز در برگ لازم است. این آنزیم سوخت و ساز CO_2 را تنظیم کرده و در نتیجه، کارایی تثبیت دیاکسیدکربن توسط گیاهان را افزایش میدهد.

منابع

۱- خوشگفتارمنش، ا.ح. ۱۳۸۶. مبانی تغذیه گیاهی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

۲- علوی، ا. ۱۳۵۲. بیماری بوته میری جالیز. مجله بیماریهای گیاهی، جلد نهم، صفحه‌های ۴۹-۳۷.

۳- Agarie S.N., Hanaoka O., Ueno P., Miyazaki A., Kubota F., Agata W. and Kaufman P.B. ۱۹۹۸. Effects of silicon on tolerance to water deficit and heat stress in rice plants (Oryza sativa L.), monitored by electrolyte leakage. Plant Production Science, ۱: ۹۶-۱۰۳

۴- Elliot C.L. and Snyder G.H. ۱۹۹۱. Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of Silicon in rice straw. Food Chemistry, ۳۹: ۱۱۱۸-۱۱۱۹.
۵- Epstein E. ۱۹۹۹. Silicon. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, ۵۰: ۶۴۱-۶۴۴.
۶- Epstein, E. ۱۹۹۴. The anomaly of silicon in plant biology. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, ۹۱: ۱۱-۱۷.
۷- Foyer C.H., Lelandais M. and Kunert K.J. ۱۹۹۴. Photo oxidative stress in plants. Journal of Plant Physiology, ۹۲: ۶۹۶-۷۱۷.
۸- Liang Y.C., Jin S. and Romheld V. ۲۰۰۵. Silicon uptake and transport is an active process in cucumis sativus. Phytophatology, ۱۶۷: ۷۹۷-۸۰۴.
۹- Ma J.F., Miyake Y. and Takahashi E. ۲۰۰۱. Silicon as a beneficial element for crop plants in Silicon agriculture. Elsevier Science Publishing.
۱۰- Marschner H., Oberle H., Cakmak I. and Romheld V. ۱۹۹۰. Growth enhancement by silicon in cucumber (Cucumis sativus) plants depends on imbalance in phosphorous and zinc supply. Plant Soil, ۱۲۴: ۲۱۱-۲۱۹.
۱۱- Samuels A.L., Glass A.D.M., Ehret D.L. and Menzies J.G. ۱۹۹۳. The effects of silicon supplementation on cucumber fruit: changes in surface characteristics. Annals of Botany, ۷۲: ۴۳۳-۴۴۰.

Abstract

In this study, we studied the effect of three level of Silicon on dry weight of root and shoot. Also concentration of total Chlorophyll, "a" and "b" Chlorophylls under powdery mildew diseases due *Sphaerotheca fuliginea* in Cucumber in the hydroponics condition was investigated. Results show that Silicon usage has significantly increased dry weight of root and shoot in Cucumber. Concentration of Chlorophyll has been significantly decreased by diseases in the both zero and ۰.۸۵ m mol. level of Silicon. Comparison of "a" and "b" Chlorophylls and total Chlorophylls content indicated that total Chlorophyll and "b" Chlorophyll more effected by disease stress and silicon application than the a Chlorophyll. The results suggest that ۱.۷ m mol. level of Silicon has positive and significant effect on dry weight of root and shoot, furthermore it has adjusted negative effects of illness on growth factors and plant performance decline by heightening Chlorophyll concentration.