

## بررسی تأثیر تیمار سیلیس بر برخی خصوصیات ریخت‌شناختی، تشریحی و فیزیولوژیک گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch & C.A. Mey)

مهدی یوسفی<sup>۱</sup>، شکوفه انتشاری<sup>۱</sup> و مهشید سعادت‌مند<sup>۲\*</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۱۲)

### چکیده

در گیاهان دارویی، متابولیت‌های ثانویه اهمیت زیادی دارند و عواملی که بر کمیت و کیفیت این متابولیت‌ها مؤثرند مورد توجه می‌باشند. گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & C. A. Mey.) گیاهی علفی، دو ساله و روزبلند، از تیره گاوزبانان است که دارای کرک‌های خشن زیادی می‌باشد و در مناطق شمالی ایران یافت می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر سیلیسیم بر برخی خصوصیات ریخت‌شناختی، تشریحی و فیزیولوژیک این گیاه است. برای این منظور، سیلیسیم (به صورت سیلیکات سدیم) با سه غلظت (صفر، ۰/۲ و ۰/۷ میلی‌مولار) در نظر گرفته شد و گیاه گاوزبان رشد کرده در محیط آبکشت در گلخانه با این سطوح تیمار گردید. آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. سپس، برخی خصوصیات ریخت‌شناختی و تشریحی، از جمله طول کرک، تعداد کرک، تعداد سلول روزنه، قطر کوتیکول، شاخص روزنه و تراکم سلول‌های نردبانی اندازه‌گیری و میزان آنتوسیانین و فلاونوئید نیز بررسی شد. براساس نتایج به دست آمده، با اعمال تیمار سیلیسیم، شاخص روزنه کاهش یافت. قطر کوتیکول، فشردگی سلول‌های پارانشیم نردبانی، طول کرک، آنتوسیانین و فلاونوئید در گیاه تیمار شده با سیلیسیم نسبت به گیاه شاهد افزایش معنی‌داری یافته بود، ولی تعداد کرک در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت.

واژه‌های کلیدی: متابولیت‌های ثانویه، شاخص روزنه، آنتوسیانین، فلاونوئید

### مقدمه

معدنی دیگر می‌باشد. در برگ‌ها نیترات پتاسیم و در بذر روغن مرغوبی وجود دارد که حدود ۲۳٪ آن اسید لینولئیک است. مواد دیگری نیز نظیر رزین‌ها، مالات کلسیم، اسید فسفریک و مقدار بسیار جزئی از آلانتوئین در آن یافت می‌شود (۴ و ۵). در طب سنتی، مواد مؤثر موجود در گل‌ها و سرشاخه‌های آنها برای تصفیه خون، نرم‌کنندگی سینه، تقویت قلب، به‌عنوان مدر، معرق، آرام‌بخش و موارد متعدد درمانی دیگری استفاده می‌شود. به‌علاوه از آن نوعی تتور و ورنی آبی رنگ تهیه می‌شود (۵).

گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & C. A. Mey.) از خانواده گاوزبانان (Boraginaceae) گیاهی علفی، دو ساله، روزبلند، با برگ‌ها و ساقه‌های منشعب شیاردار و پوشیده از کرک‌های خشن است. برگ‌های این گیاه پهن، بزرگ، منفرد و ساده است که در پایین ساقه دمبرگ‌دار و در بالای ساقه فاقد دمبرگ هستند (۴ و ۵) (شکل ۱). این گیاه دارای مقدار جزئی اسانس، موسیلاژ، صمغ، تانن، املاح منگنز و منیزیم و مواد

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران

۲. مرکز پژوهشی کشت بدون خاک، دانشگاه صنعتی اصفهان

\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: msaadat@sepahan.iut.ac.ir



شکل ۱. گاوزبان ایرانی در محیط آبکشت

توسط سیلیسیم به اثبات رسیده است. سیلیسیم هم‌چنین فعال شدن آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در حضور عوامل بیماری‌زای قارچی را تسریع می‌کند (۱۳). هم‌چنین، کاربرد سیلیسیم محلول جهت تولید غلظت‌های بالاتر آنزیم ریپولوز بیوفسفات کربوکسیلاز در برگ لازم است. این آنزیم سوخت و ساز دی‌اکسید کربن را تنظیم کرده و در نتیجه کارایی تثبیت دی‌اکسید کربن توسط گیاهان را افزایش می‌دهد و در نهایت منجر به بهبود فتوسنتز در گیاه می‌شود (۸). تأثیر سیلیسیم بر عملکرد گیاه ممکن است به دلیل رسوب آن در پهنای برگ، افزایش استحکام برگ‌ها و نیز افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ باشد که از این طریق توانایی گیاه برای استفاده مؤثر از نور را بالا می‌برد (۱۲). این تحقیق، با هدف بررسی تأثیر سیلیسیم بر برخی خصوصیات تشریحی و رنگیزه‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه گاوزبان ایرانی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### کشت گیاه و تیمار با سیلیسیم

بذرهای گیاه گاوزبان ایرانی (*E. amoenum*) از مرکز تحقیقات نکا تهیه شد و کشت گیاه در گلخانه مرکز پژوهشی کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان صورت گرفت. تیمارهای مورد استفاده در این پژوهش سیلیسیم در سه سطح (صفر، ۰/۲ و ۰/۷ میلی‌مولار از نمک سیلیکات سدیم) بود. ابتدا بذرهای گیاه به

به‌علت وجود مادهٔ پیرولیزیدین، که از سموم کبدی است، امروزه مصرف این گیاه کم شده (۳۶)، ولی به‌علت وجود روغن مرغوب در بذر گیاه، کشت گستردهٔ آن به‌عنوان دانه روغنی مرسوم شده است. گل آن نیز مورد توجه زنبور عسل است (۴). از آنجا که کشت این گیاه به‌عنوان یک گیاه دارویی مورد توجه بوده، بررسی عوامل مختلف مؤثر بر رشد آن نیز دارای اهمیت می‌باشد.

تغذیه صحیح گیاه یکی از راهکارهای کاهش اثرهای زیانبار تنش‌ها است و نقش قابل ملاحظه‌ای در افزایش عملکرد آن دارد. در همین ارتباط، نقش برخی عناصر نظیر سیلیسیم مورد توجه برخی متخصصین تغذیه گیاهی قرار گرفته است (۲). سیلیکون برای گیاهان تیره گندم، جگن و دم اسب به‌عنوان یک عنصر ضروری شناخته شده است. در حالی که این عنصر برای دولپه‌ای‌ها لازم نیست. این عنصر می‌تواند باعث افزایش تولید و کیفیت محصول، کاهش تبخیر و تعرق، افزایش مقاومت به تنش شوری، خشکی و سمیت فلزات سنگین، افزایش تحریک تولید برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش حساسیت به بعضی بیماری‌های قارچی شود (۲).

نتایج برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که سیلیسیم در گیاهان یک عامل فعال‌کننده است. در واقع این عنصر ممکن است به‌عنوان علامتی برای فعال کردن پاسخ‌های دفاعی در برابر بیماری‌های گیاهی عمل کند. افزایش فعالیت آنزیم کیتیناز

جدول ۱. ترکیب شیمیایی محلول غذایی لانگ آشتون (۲۴)

محلول پایه (گرم بر عناصر غذایی مورد استفاده)		محلول استفاده شده (mg/L)
عناصر غذایی پر مصرف		
KNO <sub>3</sub>	۵۰/۶۰	۸
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .Anhydrous	۸۰/۲۵	۸
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	۴۶/۰۰	۸
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	۵۲/۰۰	۴
عناصر غذایی کم مصرف		
FeEDTA	۳/۳۰	۵
MnSO <sub>4</sub> . 4H <sub>2</sub> O	۲/۲۳	۱
ZnSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	۰/۲۹	۱
CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	۰/۲۵	۱
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	۳/۱۰	۱
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	۰/۱۲	۱
NaCl	۵/۸۵	۱
CoSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	۰/۰۵۶	۱

و برخی از ساختارهای آنها، از جمله قطر کوتیکول، طول کرک، تعداد کرک و تراکم سلول‌های نردبانی تا تقریب ۰/۱ میکرومتر با چشمی دیجیتال مدل Dino-Lite (AM-423X) و نرم‌افزار مربوطه اندازه‌گیری شد. تعداد سلول‌های روزنه در واحد سطح (شاخص روزنه) و تعداد کرک برای سطح رویین و زیرین برگ محاسبه و نوع آنها نیز شناسایی شد. برای اندازه‌گیری شاخص روزنه (SI) برحسب درصد، از معادله زیر استفاده شد (۱۰):

$$SI = \left( \frac{S}{S+E} \right) \times 100 \quad [1]$$

که در آن S و E به ترتیب تعداد روزنه و تعداد سلول‌های اپیدرمی در واحد سطح (میلی مترمربع) هستند. اندازه‌گیری‌های کمی حداقل برای ۱۰ سلول انجام شد و میانگین اندازه‌های به دست آمده ملاک مقایسه قرار گرفت.

منظور ضد عفونی شدن به مدت ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱/۵٪ قرار داده شدند. سپس با آب مقطر شستشو شده و برای جوانه‌زنی به ظروف ماسه شسته شده انتقال و پس از رشد دومین برگ، به ظروف یک و نیم لیتری حاوی محلول غذایی پایه لانگ آشتون (جدول ۱) منتقل شدند. پس از طی مدت ۴ هفته از رشد گیاهان، تیمار سیلیس اعمال گردید و بعد از گذشت ۳ هفته گیاهان برداشت شدند.

### مطالعه آناتومی برگ

به منظور بررسی صفات ریخت‌شناسی، تعدادی از نمونه‌ها در محلول FAA (فرمالین، اتانول و استیک اسید، به نسبت حجمی ۶، ۳، ۱) تثبیت شده و از برگ آنها مقاطع میکروسکوپی تهیه شد. این مقاطع با کارمن زاجی و سبز متیل رنگ‌آمیزی شدند (برای اندازه‌گیری قطر کوتیکول معرف قرمز کنگو) و سپس با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند

### اندازه‌گیری آنتوسیانین

افزایش رشد، بازده و مقاومت به بیماری‌ها را به همراه داشته باشد (۳۱). سامونلز و همکاران (۴۲) نشان دادند که افزایش رشد و عملکرد گیاه در حضور سیلیسیم از طریق بهبود توانایی مکانیکی ساقه و برگ‌ها در جذب نور و افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه می‌باشد. نتایج بسیاری از تحقیقات نیز حاکی از تأثیر مثبت کاربرد سیلیسیم بر عملکرد گیاه می‌باشد (۳۲). در این تحقیق، برخی از خصوصیات ریخت‌شناختی، تشریحی و فیزیولوژیک گیاه گاوزبان ایرانی در پاسخ به سطوح مختلف سیلیس بررسی گردید.

### خصوصیات تشریحی برگ

برگ‌های این گیاه از نوع یک طرفه (Lateral) هستند و اپیدرم بالا و پایین شامل یک ردیف سلولی است که در پهنای ارتفاع اغلب هم اندازه می‌باشند. کرک‌ها از نوع یک سلولی یا چند سلولی بوده و روی هر دو سطح برگ به صورت لایه‌ای نسبتاً متراکم وجود دارند. سلول‌های پارانشیم نردبانی به صورت دو یا سه ندرت سه لایه‌ای مرکب از سلول‌های کشیده و استوانه‌ای و پارانشیم اسفنجی به صورت ۵ تا ۷ لایه‌ای دیده می‌شوند. نوع روزنه آنوموسیستیک و آنیزوسیستیک و در هر دو سطح اپیدرم زیرین و رویین مشاهده می‌شوند (شکل ۲). این ویژگی‌ها با مشاهداتی که قبلاً نیز در خانواده بوراژیناسه گزارش شده است مطابقت دارد (۳۷ و ۳۸). تعداد روزنه‌ها در سطح زیرین بیشتر بوده و میانگین شاخص روزنه در شاهد در سطح رویین برگ ۸/۹۲ و در سطح زیرین ۱۹/۹، در تیمار ۰/۲ سیلیس در سطح رویین ۵/۳۵ و سطح زیرین ۱۷/۳۵ و در تیمار ۰/۷ سیلیس در سطح رویین ۱۴/۲۸ و سطح زیرین ۲۶/۶۶ بود (جدول ۲).

### خصوصیات ریخت‌شناسی برگ

#### سلول روزنه

سلول‌های روزنه در هر دو سطح زیرین و رویین برگ و به هر دو صورت آنوموسیستیک و آنیزوسیستیک دیده شد و مشاهده شد

برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های برگ از روش واگنر (۴۵) استفاده شد. دیسک‌های برگ‌ی تهیه شده از گیاه را در هاون چینی با مقداری متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۹۹:۱) کاملاً سائیده و عصاره در لوله‌های آزمایش سرپیچ‌دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از این به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰g عصاره را سانتریفیوژ نموده و جذب محلول روئی با استفاده از اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. مقدار آنتوسیانین با استفاده از فرمول  $A = \epsilon bc$  به دست آمد که در آن مقدار  $\epsilon$  یا ضریب خاموشی معادل  $3300 \text{ mM/cm}$ ، مقدار جذب،  $b$  عرض سلول اندازه‌گیری برابر با ۱ سانتی‌متر و  $c$  مقدار آنتوسیانین بر حسب مول بر گرم وزن تر گیاه می‌باشد.

### اندازه‌گیری فلاونوئید

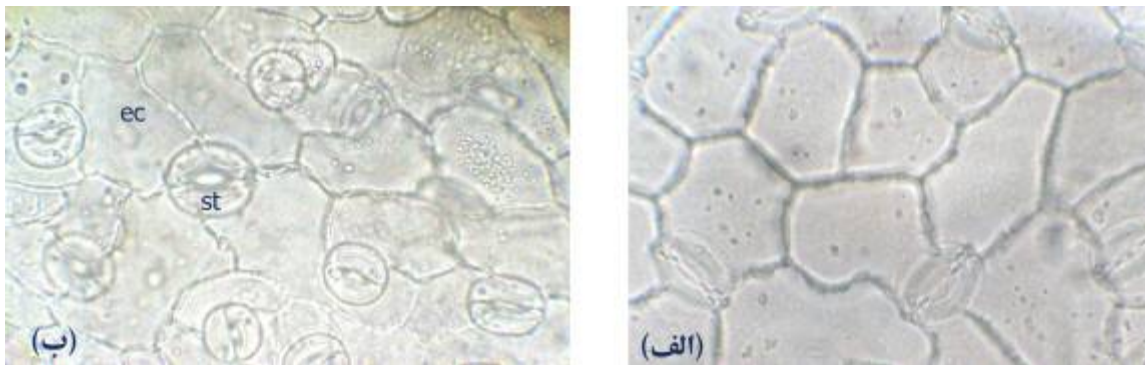
اندازه‌گیری فلاونوئیدها به روش اسپکتروفوتومتری با استفاده از روش کرایزک و همکاران (۲۹) انجام گرفت. دیسک‌های برگ‌ی تهیه شده در هاون چینی محتوی اتانول اسیدی (الکل اتیلیک و اسید استیک گلاسیال به نسبت حجمی ۹۹:۱) سائیده شده و پس از سانتریفیوژ عصاره به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. شدت جذب در طول موج‌های ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد.

### آنالیز آماری

محاسبات آماری به کمک برنامه SPSS انجام گرفت و نمودارها به کمک برنامه Excel رسم گردید.

### نتایج و بحث

کودهای سیلیسی می‌توانند نقش مؤثری در کیفیت و کمیت بعضی از گیاهان داشته باشند. از این رو کاربرد این کودها با غلظت مناسب می‌تواند به خوبی دارای صرفه اقتصادی بوده و



شکل ۲. برش طولی برگ: الف) اپیدرم رویین و ب) اپیدرم زیرین (st: روزنه و ec: سلول‌های اپیدرمی)

جدول ۲. تأثیر سیلیسیم بر برخی خصوصیات مورفولوژیک برگ گاوزبان ایرانی

تیمار سیلیسیم (میلی مولار)	تعداد سلول روزنه (سطح رویین $1\text{mm}^2$ )	تعداد سلول روزنه (سطح زیرین $1\text{mm}^2$ )	شاخص روزنه (سطح زیرین)	شاخص روزنه (سطح رویین)	قطر کوتیکول ( $\mu\text{m}$ )
۰	۲۰۸/۳۳ <sup>b</sup>	۲۹۱/۶۶ <sup>b</sup>	۸/۹۲ <sup>b</sup>	۱۹/۰۹ <sup>b</sup>	۰/۰۹ <sup>c</sup>
۰/۲	۱۲۵ <sup>c</sup>	۱۹۸/۱۵ <sup>c</sup>	۵/۳۵ <sup>c</sup>	۱۷/۳۵ <sup>c</sup>	۰/۱۵ <sup>b</sup>
۰/۷	۲۹۱ <sup>a</sup>	۳۷۵ <sup>a</sup>	۱۴/۲۸ <sup>a</sup>	۲۶/۶۶ <sup>a</sup>	۰/۲۵ <sup>a</sup>

در هر ستون، میانگین‌های با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.



شکل ۳. تغییرات تعداد سلول روزنه در سطح زیرین و رویین برگ

دارد، به نظر می‌رسد کاهش آن در غلظت ۰/۲ تیمار سیلیسیم نشان‌دهنده غلظت مناسب ۰/۲ میلی‌مولار می‌باشد و افزایش آن در تیمار ۰/۷ نسبت به شاهد نشانگر این مطلب است که این غلظت سیلیسیم علاوه بر آن‌که غلظت مناسبی نبوده، بلکه اثر منفی بر تعداد سلول‌های روزنه‌ای داشته است. یکی از نتایج سودمند استفاده از سیلیسیم، کاهش تعرق و افزایش فتوسنتز می‌باشد (۲۰). کاهش میزان تعرق در گیاهان تیمار شده به‌وسیله

که تعداد آنها در سطح زیرین برگ بیشتر است (شکل ۳). این ویژگی‌ها با مشاهداتی که قبلاً نیز در خانواده بوراژیناسه گزارش شده است مطابقت دارد (۳۷).

بر طبق نتایج، شاخص روزنه‌ای تحت تأثیر تیمارهای انجام شده نسبت به غلظت سیلیسیم تفاوت نشان داد (جدول ۲). از آنجا که شاخص روزنه در واقع نسبت سلول‌های روزنه‌ای به غیر روزنه‌ای است که تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی قرار



شکل ۴. کرک‌های محافظ: Bc سلول پایه‌ای

واریانس داده‌ها نشان داد که تغییرات تعداد کرک در سطح رویین و زیرین برگ در تیمارهای سیلیس معنی‌دار نبوده ولی تغییرات طول کرک معنی‌دار بود و نشان داد که با افزایش مقدار سیلیس، طول کرک‌ها نیز افزایش یافته است (شکل ۶).

بسیاری از گزارش‌ها نیز نشان می‌دهند که سیلیکون ممکن است نقش مهمی در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی داشته باشند (۱۸ و ۳۳). این آثار مفید ممکن است در اثر تنظیمات بهتر اسمزی، بهبود وضعیت آب گیاه از طریق کاهش تعرق و نگه‌داری کافی آب در گیاه باشد. از طرفی، در تحقیقات قبلی نیز گزارش شده که تیمار با سیلیس باعث کاهش تعرق گیاهان تحت شرایط مطلوب کشت گلخانه‌ای می‌گردد (۹، ۲۱، ۲۶، ۳۰ و ۳۹). احتمال می‌رود افزایش طول کرک به دلیل ایجاد پوششی در سطح اندام و مانع تبخیر سریع آب گیاه باشد (۷).

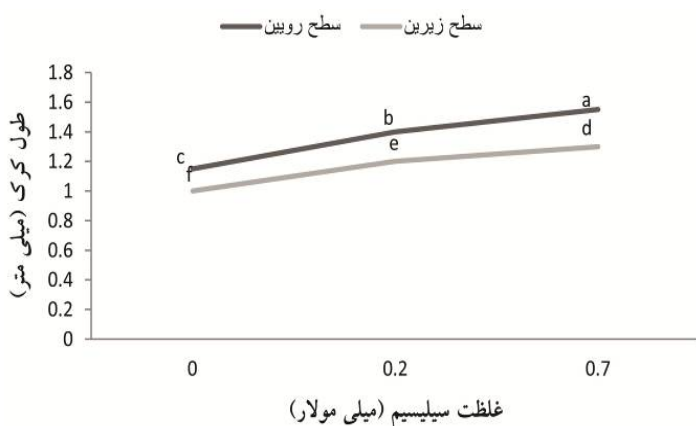
#### سلول‌های پارانثیم

پارانثیم نردبانی به صورت دو یا به ندرت سه لایه دیده شد. این پارانثیم فقط در سطح رویین برگ وجود داشته (Lateral) و برگ‌ها به صورت یک‌طرفه بودند (شکل ۷). پارانثیم اسفنجی به صورت ۵ تا ۷ لایه بود. فشردگی پارانثیم نردبانی در تیمارهای مختلف، متفاوت بود و مشاهده گردید که در تیمار ۰/۲ میلی‌مولار سیلیس، فشردگی این سلول‌ها بیشتر شده بود.

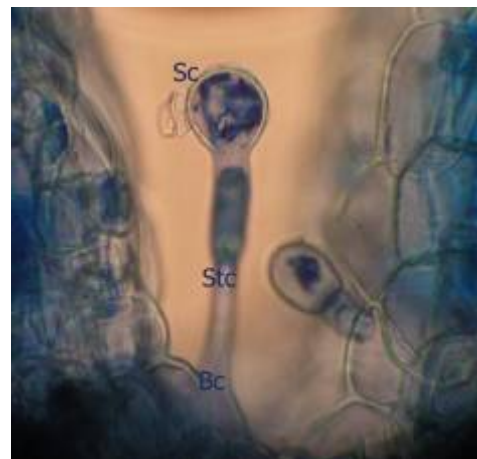
سیلیس در برنج (*Oryza sativa* L.)، ذرت (*Zea mays* L.)، سویا (*Glycine max* L.) و گندم (*Triticum aestivum* L.) گزارش شده است. (۱۳، ۱۷، ۳۰ و ۳۹)

#### کرک

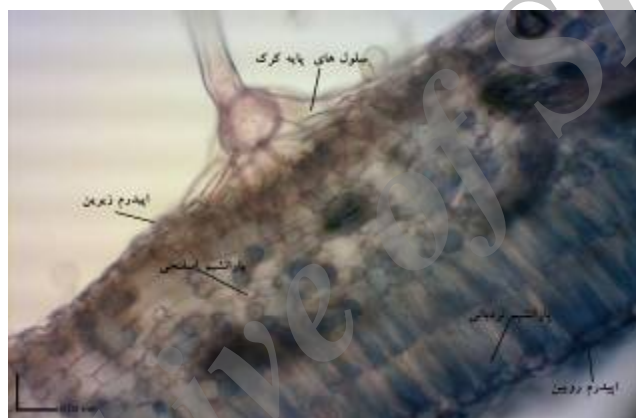
متکف و چاک (۳۷) گزارش کرده‌اند که کرک‌های غده‌ای و غیرغده‌ای در خانواده بوراژیناسه وجود دارد. با این وجود در گاوزبان ایرانی عموماً کرک‌های غیر غده‌ای بیشتر مشاهده گردید. بررسی تصاویر میکروسکوپی نشان داد که کرک‌های محافظ در سطح همه اندام‌های رویشی هوایی شامل برگ‌ها، ساقه، گلبرگ‌ها، پرچم و مادگی وجود دارد. این کرک‌ها منشأ اپیدرمی داشته، در هر دو سطح رویین و زیرین برگ به صورت چند ردیفی با طول متغیر، که در ساختار هر یک بین ۶ تا ۱۰ سلول وجود دارد، دیده می‌شوند (شکل ۴). در قاعده هر کرک چند سلول پایه حجیم و بزرگ دیده می‌شود که توسط تعدادی سلول اپیدرم احاطه شده و به سمت رأس کرک کوچک‌تر و باریک‌تر می‌شود، به طوری که ریخت ظاهری آنها به صورت نوک تیز می‌باشد. کرک‌ها در گل، پرچم‌ها و مادگی وجود داشت. کرک‌های ترش‌حی سرسان ساقه بلند و کوتاه که شامل ۳ قسمت پایه، ساقه و سر بودند نیز به تعداد کمتری در برش برگ مشاهده گردید. پایه از یک سلول پایه‌ای بزرگ و سر به صورت یک سلول ترش‌حی کروی و یا تخم‌مرغی بود (شکل ۵). تجزیه



شکل ۶. تغییرات طول کرک در سطح روین و زیرین برگ



شکل ۵. کرک‌های ترشچی: Bc سلول پایه‌ای، Stc سلول ساقه‌ای، Sc سلول ترشچی



شکل ۷. برش عرضی برگ

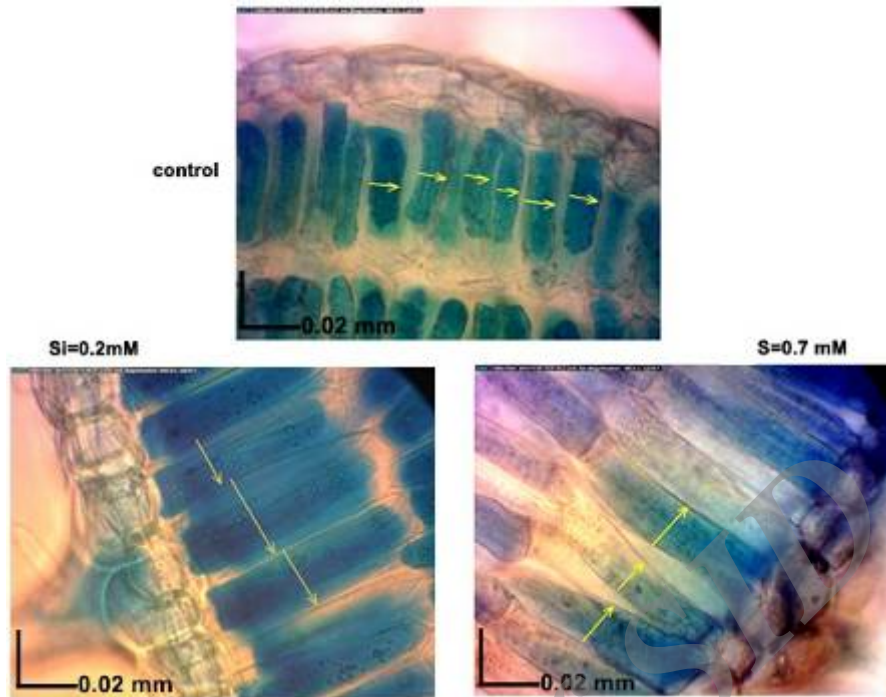
می‌شود (۶). گزارش شده که افزایش شدت فعالیت فتوسنتزی دلیل توسعه این بافت بوده و این توسعه سبب افزایش عملکرد فتوسنتز و کاهش هدر رفتن آب می‌شود (۳).

### کوتیکول

در این تحقیق، قطر کوتیکول در تیمارهای مختلف سیلیس به کمک میکروسکوپ نوری اندازه‌گیری شد و مشاهده گردید که قطر کوتیکول با افزایش غلظت سیلیسیم افزایش یافته است (جدول ۲). یاخته‌های بصره در سطوح خارجی ساقه‌ها، برگ‌ها و ریشه‌ها بنابر موقعیت خود با یک لایه محافظ با ضخامت‌های مختلف از مواد لیپیدی که در آن کوتین و یا

در گروه شاهد، به ازای هر ۱۰ سلول اپیدرم، ۱۰-۱۱ سلول نردبانی و در تیمار ۰/۲ سیلیس به ازای هر ۱۰ سلول اپیدرم ۱۶-۱۸ پارانشیم مشاهده شد و به نظر می‌رسید که در این تیمار، پارانشیم نردبانی نسبت به شاهد با نسبت ۱۶۰٪ فشردگی بیشتری پیدا کرده است (شکل ۸). در ناحیه میانی برگ، یک دسته آوندی بزرگ و دو دسته آوندی کوچک در دو جانب دیگر آن وجود دارد.

توسعه پارانشیم نردبانی باعث افزایش فتوسنتز می‌شود. از ویژگی‌های گونه‌های مناطق خشک، نسبت بیشتر پارانشیم نردبانی به اسفنجی است. برگ گونه‌های خشکی دوست با تغییراتی، مانند توسعه مزوفیل نردبانی، سبب افزایش این نسبت



شکل ۸. مقایسه فشردگی پارانتسیم نردبانی در تیمارهای مختلف سیلیسیم

### رنگیزه‌های آنتی اکسیدانی

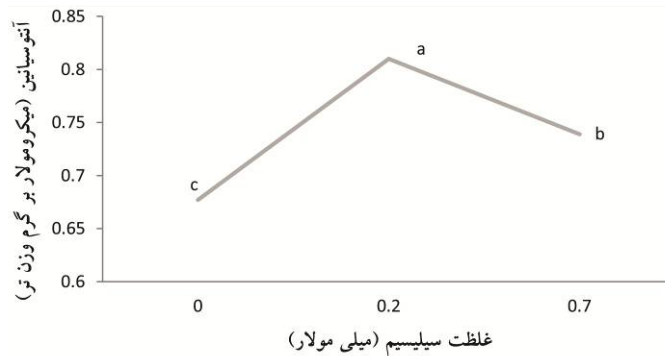
#### آنتوسیانین

نتایج تغییرات میزان آنتوسیانین در برگ‌های گیاهانی که تحت تیمار سیلیکون بودند در شکل ۹ نشان داده شده است. مقدار آنتوسیانین در تیمار ۰/۷ میلی‌مولار بیشتر از شاهد ولی کمتر از تیمار ۰/۲ میلی‌مولار شده است.

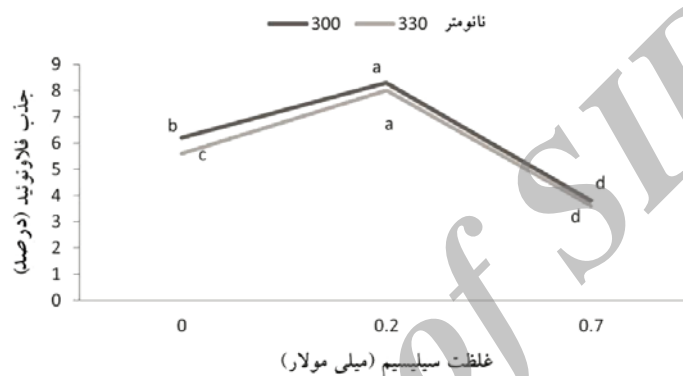
متداول‌ترین گروه فلاونوئیدهای رنگیزه‌ای، آنتوسیانین‌ها هستند که مسئول بیشتر رنگ‌های قرمز، صورتی، بنفش و آبی مشاهده شده در قسمت‌های مختلف گیاه می‌باشند (۱). در این تحقیق، در اثر تیمار سیلیسیم، میزان آنتوسیانین‌ها افزایش نشان می‌دهد. سیستم دفاعی غیر آنزیمی در گیاهان شامل ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها، آسکوربیک اسید و ترکیبات فنلی می‌باشد. فلاونوئیدهای آنتوسیانینی از مهم‌ترین این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند. این ترکیبات نه تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند، بلکه از تولید بیشتر آنها در گیاه نیز جلوگیری می‌کنند. آنتوسیانین‌ها به احتمال زیاد باعث تسهیل ورود نمک به واکوئل سلول‌ها و در نتیجه

سوبرین موجود است (۱۰، ۲۲، ۳۴ و ۳۸) پوشیده شده‌اند. موم‌ها که سطوح کوتیکول گیاهان را احاطه می‌کنند تنوع شیمیایی و فراساختمانی قابل ملاحظه‌ای دارند و مقاومت به خشکی، آفات و بیماری‌ها که ناشی از افزایش مقدار موم و ترکیبات آن در سطح گیاه می‌باشد را باعث می‌شوند. از آنجایی که موم می‌تواند یک راهکار خوب در جهت کاهش تبخیر و تعرق و هدررفت آب و نیز افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و خشکی محیط باشد (۱۱ و ۴۴) احتمال می‌رود که با افزایش سیلیسیم ضخامت این لایه نیز افزایش یافته باشد. میانگین افزایش قطر کوتیکول در شاهد ۰/۰۹، در تیمار ۰/۲ میلی‌مولار سیلیسیم برابر ۰/۱۵ و در تیمار ۰/۷ میلی‌مولار سیلیسیم برابر ۰/۲۵ بود. از طرفی، بسیاری از تحقیقات ثابت کرده که ترکیبات فنلی ماده اصلی جذب و غربال اشعه ماورای بنفش در بافت‌های گیاهی هستند. این ترکیبات غالباً در کوتیکول، دیواره سلولی و واکوئل سلول‌های اپیدرمی ذخیره شده و حفاظت از سلول‌های مزوفیل از آسیب اشعه ماورای بنفش را برعهده دارند (۱۵، ۲۸ و ۴۳).





شکل ۹. میزان آنتوسیانین بخش هوایی



شکل ۱۰. میزان جذب فلاونوئید در دو طول موج ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر

#### فلاونوئید

با توجه به شکل ۱۰، درصد جذب در طول موج‌های ۳۳۰ و ۳۰۰ نانومتر تا غلظت ۰/۲ میلی مولار سیلیکون افزایش و سپس کاهش یافته و تغییرات معنی دار بوده است.

سیلیکون ممکن است نقش اضافی در افزایش مقاومت به وسیله میانجیگری متابولیسم ترکیبات فنولیکی داشته باشد. گزارش شده که تیمار با سیلیسیم در گیاه ذرت مقدار ترکیبات فنولیکی را به میزان ۵ برابر افزایش داده است (۲۷).

فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های موجود در برگ به‌عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند (۱۸). هم‌چنین، فلاونوئیدها به دلیل داشتن نقش آنتی‌اکسیدانی، به‌طور مستقیم با وارد شدن در واکنش‌های احیایی و یا به‌طور غیر مستقیم به‌وسیله کلات کردن آهن، مانع تنش اکسیداتیو می‌شوند (۴۰). در این بررسی، در تیمار ۰/۲ میلی مولار سیلیسیم، مقدار جذب در هر دو طول موج افزایش

جمع‌آوری آنها از سایر بخش‌ها می‌شوند. احتمالاً تیمار سیلیکون باعث افزایش آنتوسیانین می‌گردد. تحقیقات نشان می‌دهد که آنتوسیانین‌ها می‌توانند در هماهنگی با مولکول‌های حفاظتی در یاخته‌های گیاهی عمل خود را انجام دهند و برای جبران نقص در غلظت مولکول‌ها طی دوره تنش وارد عمل شوند. این رنگیزه‌ها در مکان‌های ویژه‌ای درون برگ‌ها برای کارایی بهینه گیاه وارد عمل می‌شوند. انباشتگی آنتوسیانین‌ها با محرک‌های محیطی گوناگون مانند UV (۴۱)، دمای کم (۱۴)، حمله عوامل بیماری‌زا (۲۳ و ۲۵) و چندین تنظیم‌کننده رشد مانند سیتوکینین (۱۶)، ژبیرلین‌ها (۳۸)، اتیلن (۴۶) و سالیسیک اسید (۳۴) القا می‌شود. نتیجه‌گیری این که تغییرات معنی دار و احتمالاً تیمار با سیلیسیم نیز باعث القا شده و آنتوسیانین در بخش هوایی در تیمار ۰/۲ میلی مولار افزایش بیشتری داشته و در تیمار ۰/۷ میلی مولار نیز نسبت به شاهد افزایش ولی مقدار آن کمتر از تیمار ۰/۲ میلی مولار سیلیسیم بوده است.

سیلیسیم به‌عنوان یک نوع کود توانسته اثرهای مثبتی بر این گیاه بگذارد. به‌طوری‌که این تغییرات آمادگی برای تحمل تنش‌ها را در پی خواهد داشت که برای تحقیقات بعدی توصیه می‌شود. آنچه در این پژوهش مورد نظر بوده بهبود برخی خصوصیات ریخت‌شناختی و فیزیولوژی گیاه گاو زبان ایرانی به کمک تغذیه مناسب با سیلیسیم می‌باشد. در این پژوهش، مشخص گردید که تیمار ۰/۲ میلی‌مولار سیلیسیم توانسته در طول دوره مناسب تیماردهی سیلیسیم، اثرهای بهتری روی گیاه گاوزبان ایرانی بگذارد.

یافته و به نظر می‌رسد تیمار ۰/۲ میلی‌مولار سیلیسیم توانسته مقدار فلاونوئید را نسبت به شاهد افزایش دهد. در حالی‌که در تیمار ۰/۷ میلی‌مولار سیلیسیم، مقدار فلاونوئید در هر دو طول موج کاهش داشته، به صورتی‌که مقدار آن از شاهد نیز کمتر بوده و به نظر می‌رسد در این تیمار اثر بازدارنده داشته است.

## نتیجه‌گیری

افزودن سیلیسیم به محلول غذایی بر رشد و عملکرد گیاه گاوزبان ایرانی تأثیر گذاشت. براساس نتایج حاصل، استفاده از

## منابع مورد استفاده

۱. تایزو زایگر. ۱۳۷۹. فیزیولوژی گیاهی. ترجمه م. کافی و ا. زند. انتشارات جهاد دانشگاهی، مشهد، جلد ۲، صفحه ۱۱۹.
۲. خوشگفتارمنش، ا.ح. ۱۳۸۶. مبانی تغذیه گیاهی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، صفحات ۲۹۹-۳۰۱.
۳. رشیدی، ف.ع. جلیلی، س. بابایی کفاکی و خ. ثاقب طالبی. ۱۳۹۰. واکنش آناتومی برگ درخت زبان گنجشک (*Fraxinus rotundifolia* Mill). مجله جنگل ایران ۳(۲): ۱۳۳-۱۴۳.
۴. زرگری، ع. ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، جلد سوم، چاپ ششم.
۵. صالح‌زاده، ع. و ه. صمصام شریعت. ۱۳۶۸. بررسی گونه‌های مختلف گاوزبان موجود در بازار داروهای گیاهی و مقایسه آن با گونه استاندارد. پایان‌نامه دکتری داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.
۶. فان، ا. ۱۳۸۰. آناتومی گیاهی. مترجم جعفری، آ. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، صفحات ۲۲۹-۲۷۵.
۷. قهرمان، ا. ۱۳۸۹. گیاه‌شناسی پایه. انتشارات دانشگاه تهران.
8. Adtina, M.H. and R.T. Beasford. 1986. The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. J. Ann. Bot. 58: 343-351.
9. Amaregouda, A., M.B. Chetti, P.M. Salimath and S.S. Kulkarni. 1994. Effects of antitranspirants on stomatal resistance and frequency, relative water content and pod yield in summer groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Ann. Plant Physiol. 8(1): 18-23.
10. Bird, S.M and J.E. Gray. 2003. Signals from the cuticle affect epidermal cell differentiation. New Phytol. 157: 9-23.
11. Cameron, K.D., M.A. Teecé, E. Bevilacqua and L.B. Smart. 2002. Diversity of cuticular wax among *Salix* species and *Populus* species hybrids. J. Phytochem. 60: 715-725.
12. Chaoui, A., S. Mazhoudi, M.H. Ghorbal and E.L. Ferjani. 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Plant Sci. 127: 139-147.
13. Cherf, M., J.G. Menzies, D.L. Ehret, C. Bopgdanoff and R.R. Belanger. 1994. Yield of cucumber infected with *Pythium aphanidermatum* when grown with soluble silicon. Hort. Sci. 29: 896-897.
14. Christie, P.J., M.R. Alfenito and V. Walbot. 1994. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. Planta 194: 541-549.
15. Chunyan, W., L. Maosong, S. Jiqing, C. Yonggang, W. Xiufen and W. Yongfeng. 2008. Differences in stomata and photosynthetic characteristics of five diploid wheat species. Acta. Eco. Sin. 28: 3277-3288.
16. Deikman, J. and P.E. Hammer. 1995. Induction of anthocyanin accumulation by cytokinin in *Arabidopsis thaliana*. J. Plant Physiol. 108(1): 47-57.
17. Deren, C.W., L.E. Datnoff, G.H. Snyder and F.G. Martin. 1994. Silicon concentration, disease response, and yield components of rice genotypes grown on flooded organic histosols. Crop Sci. 34: 733-737.
18. Epstein, E. 1994. The anomaly of silicon in plant biology. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91: 11-17.

19. Fawe, A., M. Abou-Zaid, J.G. Menzies and R.R. Be'langer. 1998. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathol.* 88: 396-401.
20. Gao, X., C. Zou, L. Wang and F. Zhang. 2004. Silicon improves water use efficiency in maize plants. *J. Plant Nutr.* 27(8): 1457-1470.
21. Hattori, T., S. Inanaga, H. Araki, P. An, S. Morita, M. Luxova and A. Lux. 2005. Application of silicon enhanced drought tolerance of *Sorghum bicolor*. *Physiol. Plant.* 123: 459-466.
22. Hauke, V. and L. Schreiber. 1998. Ontogenetic and seasonal development of wax composition and cuticular transpiration of Ivy (*Hedera helix* L.) sun and shade leaves. *Planta* 207: 67-75.
23. Heim, D., R.L. Nicholson, S.F. Pascholati, A.E. Hagerman and W. Billet. 1983. Etiolated maize mesocotyls: A tool for investigating disease interactions. *Phytopathol.* 73: 424-428.
24. Hewitt, E.J. 1966. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Farnham Royal, Commonwealth Agric. Bureaux, England, 547 p.
25. Hipskind, J., K. Woodand and R.L. Nicholson. 1996. Localized stimulation of anthocyanin accumulation and delineation of pathogen ingress in maize genetically resistant to *Bipolaris maydis* Race O. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 49: 247-256.
26. Horigushi, T. 1988. Mechanism of manganese toxicity and tolerance of plants. I. Effects of silicon on alleviation of manganese toxicity of rice plants. *Soil Sci. Plant Nutr.* 34: 65-73.
27. Kidd, P.S., M. Llugany, C. Poschenrieder, B. Gunse and J. Barcelo. 2001. The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). *J. Exp. Bot.* 52: 1339-1352.
28. Krauss, P., C. Markstadter and M. Riederer. 1997. Attenuation of UV radiation by plant cuticles from woody species. *Plant Cell Environ.* 20: 1079-1085.
29. Krizek, D.T., S.J. Britz and R.M. Mirecki. 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. *Physiol. Plant.* 103: 1-7.
30. Kupfer, C. and G. Kahnt. 1992. Effects of application of amorphous silica on transpiration and photosynthesis of soybean plants under varied soil and relative air humidity conditions. *J. Agron. Crop Sci.* 168(5): 318-325.
31. Ma, J.F. 2004. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stress. *Soil Sci. Plant Nutr.* 50: 11-18.
32. Ma, J.F. and E. Takahashi. 2002. Soil, Fertilizer and Plant Silicon Research in Japan. Elsevier, Amsterdam.
33. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2<sup>nd</sup> Edn., Academic Press Ltd., London, UK. pp. 7-78.
34. Matas, A., M.J. Sanaz and A. Heredia. 2003. Studies on the structure of the plant wax nonacosan-10-ol, the main component of epicuticular wax conifers. *Intl. J. Biol. Macromol.* 33: 31-35.
35. Mealem- Beno, D., G. Tamari, Y.L. Leitner- Dagan, A. Borochoy and D. Weiss. 1997. Sugar- dependent gibberellin-i chalcone synthase gene expression in *Petunia corollas*. *Plant Physiol.* 113: 419-424.
36. Mehrabani, M., A. Ghannadi, E. Sajjadi, N. Ghassemi and M. Shams-Ardakani. 2006. Toxic pyrrolizidine alkaloids of *Echium amoenum* Fisch. & Mey. *Daru* 14: 122-127.
37. Metcalfe, C.R. and I. Chalk. 1979. Anatomy of Dicotyledones I. Oxford University Press, London.
38. Neinhuis, C., K. Koch and W. Barthlott. 2001. Movement and regeneration of epicuticular waxes through plant cuticles. *Planta* 213: 427-434.
39. Pandley, A.K. and R.S. Yadav. 1999. Effect of antitranspirants on physiological traits and yield of wheat under water deficit conditions. *Indian J. Agric. Res.* 33(3): 159-164.
40. Popova, L., T. Pancheva and A. Uzunova. 1997. Salicylic acid: Properties, biosynthesis and physiological role. *Plant Physiol.* 23: 85-93.
41. Reddy, V.S., K.V. Gould, R. Sharma and A.R. Reddy. 1994. Ultraviolet-B-responsive anthocyanin production in rice is associated with a specific phase of phenylalanine ammonia lyase biosynthesis. *Plant Physiol.* 105: 1059-1066.
42. Samuels, A.L., A.D.M. Glass, D.L. Ehret and J.G. Menzies. 1993. The effects of silicon supplementation on cucumber fruit: Changes in surface characteristics. *J. Ann. Bot.* 72: 433-440.
43. Schmitz-Hoerner, R. and G. Weissenbo. 2003. Contribution of phenolic compounds to the UV-B screening capacity of developing barley primary leaves in relation to DNA damage and repair under elevated UV-B levels. *Phytochem.* 64(1): 243-255.
44. Schreiber, L., K. Schorn and T. Heimbürg. 1997. 2H NMR study of cuticular wax isolated from *Hordeum vulgare* L. leaves: Identification of amorphous and crystalline wax phases. *Eur. Biophys. J.* 26: 371-380.
45. Wagner, G.J. 1979. Content and vacuole/extra vacuoles distribution of neutral sugars, free amino acid, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiol.* 64: 88-93.
46. Woltering, E.J. and D. Somhorst. 1990. Regulation of anthocyanin synthesis in cymbidium flowers: Effects of emasculation and ethylene. *J. Plant Physiol.* 136: 295-299.
47. Yosefi, M. 2010. Morphological and anatomical study of threatened endemic *Heliocarya monandra* Bge. (Boraginaceae) in Iran. *J. Bot.* 16(2): 273-281.