

## بررسی تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خیار آلوده به *Pythium aphanidermatum* و

### اثر سیلیکات کلسیم در کاهش صدمات ناشی از آن

هدا چکنی<sup>۱</sup>، ساسان محسن‌زاده<sup>۱</sup> و رضا مستوفی‌زاده قلم‌فارسا<sup>۲</sup>✉

۱- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار بخش زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شیراز؛

۲- استاد، بخش گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۴؛ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۵)

#### چکیده

گونه‌ی *Pythium aphanidermatum*، از آمیست‌های خاک‌بُرد و همه‌جازی است که روی گونه‌های مختلف خانواده‌ی کدویان سبب پوسیدگی ریشه می‌شود. در این مطالعه، اثر این بیمارگر روی تغییرات فیزیولوژیکی گیاه خیار و کاهش اثرات بیماری حاصل از آن با استفاده از کاربرد سیلیکات کلسیم با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بررسی شد. جنبه‌های گوناگونی از فیزیولوژی و بیوشیمی گیاه مانند فتوسنتز، ساخت پروتئین و پاسخ آنتی‌اکسیدانی بررسی گردید. گیاهان در گلخانه در دو مرحله‌ی ۳۶ روزگی (مرحله‌ی رویشی) و ۷۱ روزگی (مرحله‌ی زایشی) جمع‌آوری شدند. میزان کلروفیل، کارتنوئید، پرولین، کربوهیدرات، پروتئین، پراکسیداسیون چربی‌ها، آنتوسیانین و فعالیت کاتالاز اندازه‌گیری و داده‌ها واکاوی شدند. نتایج حاصل از این بررسی، کاهش مقادیر کلروفیل و کارتنوئید و افزایش میزان پرولین، کربوهیدرات، پروتئین، پراکسیداسیون چربی‌ها، آنتوسیانین و فعالیت کاتالاز را بر اثر مایه‌زنی بیمارگر در مقایسه با شاهد نشان دادند. افزودن سیلیکات کلسیم ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به خاک گیاهان سالم موجب افزایش شاخص‌های فیزیولوژیکی مانند مقادیر پرولین، کربوهیدرات، پروتئین و آنتوسیانین نسبت به نمونه‌های شاهد شد. هم‌چنین، افزایش میزان کلروفیل و کارتنوئید و کاهش سایر عوامل اندازه‌گیری شده بر اثر تیمار گیاهان آلوده با ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سیلیکات کلسیم در مقایسه با شاهد بیمار مشاهده شد. مقادیر کلروفیل، کارتنوئید، کربوهیدرات و پرولین در مرحله زایشی بیشتر از مرحله رویشی بود. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، استفاده از نمک سیلیکات کلسیم ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر موجب کاهش صدمات فیزیولوژیکی مانند کاهش رشد گیاه و پوسیدگی ریشه ناشی از آلودگی خیار به *P. aphanidermatum* و هم‌چنین، بهبود رشد گیاهان سالم شد. واژه‌های کلیدی: پیتوم، تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، سیلیکات کلسیم، گیاه خیار.

### Physiological and biochemical changes in cucumber infected by *Pythium aphanidermatum* and the effect of calcium silicate on damage reduction

H. CHAKANI<sup>1</sup>, S. MOHSENZADEH<sup>1</sup> and R. MOSTOWFIZADEH-GHALAMFARSA<sup>2</sup>✉

1- M.Sc. and Associate Professor, respectively, Department of Biology, School of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran;

2- Professor, Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

#### Abstract

*Pythium aphanidermatum* is a cosmopolitan and soil-borne Oomycete which is a root rot pathogen for various species of *Cucurbitaceae*. The impacts of the pathogen on physiological changes in cucumber plants and the effect of different concentrations of calcium silicate on disease damage reduction were investigated. Three concentrations of calcium silicate, 50, 100 and 150 mg L<sup>-1</sup>, were applied in this study. Different plant physiological and biochemical mechanisms such as photosynthesis, protein synthesis and antioxidant response were studied. Seedlings were planted in greenhouse and collected after 36 (growing stage) and 71 (flowering stage) days. Chlorophyll, carotenoid, proline, carbohydrates, proteins, anthocyanin contents, lipid peroxidation, and catalase activity in the plants were measured. This study showed a decrease in chlorophyll and carotenoid levels and an increase in the levels of the other factors after inoculation. All the measured factors such as proline, carbohydrates, proteins and anthocyanin were increased in healthy plants after adding 100 and 150 mg L<sup>-1</sup> calcium silicate compared to the controls. In infected plants which were treated with 100 and 150 mg L<sup>-1</sup> calcium silicate, an increase in chlorophyll and carotenoid levels and a decrease in all other monitored factors were observed. The level of chlorophyll, carotenoid, carbohydrate, and proline in the reproduction stage were significantly more than the vegetative stage. Based on these findings, application of 150 mg L<sup>-1</sup> calcium silicate would reduce the physiological disorders such as plant growth reduction and root rot due to *P. aphanidermatum* infection of cucumber plants and also better physiology in healthy plants.

**Key words:** Cucumber, calcium silicate, biochemical and physiological changes, *Pythium* spp.

## مقدمه

پوسیدگی ریشه و طوقه از بیماری‌های رایج جالیزی است و گسترش جهانی دارد. گونه‌ی اُمیست *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. از عوامل اصلی ایجادکننده‌ی این بیماری در جهان است (van der Plaats-Niterink, 1981). این گونه به خصوص در تیره‌ی کدویان ایجاد بیماری می‌کند (Moulin et al., 1994; Utkhede et al., 2000). در گیاهان آلوده به *P. aphanidermatum*، ابتدا بافت مردگی سیستم ریشه، بازدارندگی رشد طولی ریشه و رشد گیاه و سرانجام مرگ گیاهچه رخ می‌دهد (Wulff et al., 1998). آنزیم‌های پکتولیتیک و سلولیتیک موجود در این گونه موجب نفوذ آن به ریشه‌ی گیاه می‌شود (van der Plaats-Niterink, 1991). همچنین، فعالیت این بیمارگر، موجب تغییرات شدید فیزیولوژیک در سلول‌های گیاهان میزبان می‌شود. به عنوان مثال، با بررسی اثر بازدارندگی *P. aphanidermatum* بر رشد ذرت (*Zea mays* L.) کاهش در وزن تر و خشک گیاهچه، درصد نسبی آب، کلروفیل، کارتنوئید برگ، پروتئین کل و فنول محلول و افزایش در میزان پراکسیداسیون چربی و آنتوسیانین برگ نسبت به گیاه شاهد مشاهده شده است (Shahrtash and Mohsenzadeh, 2011). روش‌های متعددی برای مدیریت بیماری ناشی از این بیمارگر وجود دارد که برخی سازگار با محیط زیست و برخی ناسازگارند. از روش‌های سازگار با محیط زیست استفاده از نمک‌های معدنی در القای مقاومت به خصوص نمک‌های سیلیسیوم است (Chérif et al., 1992; Cai et al., 2008).

سیلیسیوم، پس از اکسیژن فراوان‌ترین عنصر موجود در پوسته‌ی زمین است. با وجود این‌که سیلیسیوم از عناصر ضروری برای گیاه محسوب نمی‌شود، کمبود یا فقدان سیلیسیوم رشد گیاه و محصول را کاهش می‌دهد. در گیاهان محروم از سیلیسیوم حساسیت بیشتری نسبت به تنش زیستی و غیر زیستی مشاهده شده است. هنگامی که گیاه خیار (*Cucumis sativus* L.) در محیط حاوی سیلیسیوم رشد می‌کند،

قادر به تجمع میزان بالایی از سیلیسیوم است و این سیلیسیوم به صورت انتشار منتقل می‌گردد (Miyake and Takahashi, 1983). تیمار گیاه با اکسید سیلیسیوم رشد گیاه را بهبود می‌بخشد. بهبود رشد گیاه به توانایی یون‌های سیلیسیوم در متعادل کردن جذب مواد غذایی (Gong et al., 2005) یا به افزایش انتقال مواد غذایی و پخش مواد غذایی بر می‌گردد (Elawad et al., 1982). کاربرد یون سیلیسیوم به صورت نمک آن می‌تواند تولید ترکیبات ضدقارچی را بعد از نفوذ بیمارگر به داخل سلول‌های اپیدرمی القا کند (Chérif et al., 1994; Fawe et al., 1998; Remus-Borel et al., 2005; Rodrigues et al., 2004). در پژوهش‌های متعددی، افزایش حضور سیلیسیوم در دیواره‌ی سلولی بعد از به کار بردن آن مشاهده شده است که در نتیجه استحکام دیواره‌ی سلولی افزایش یافته و بنابراین، روی توانایی نفوذ ریشه‌ی بیمارگر به دیواره‌ی سلولی اثر می‌گذارد (Chérif et al., 1994a). یون سیلیسیوم با پروتئین‌های دیواره‌ی سلولی پیوند برقرار کرده و در متابولیسم شرکت کرده و احتمالاً در تولید ترکیبات دفاعی برای مقابله با بیمارگر دخالت دارد (Chérif et al., 1994a). انتقال‌دهنده‌هایی در گیاه خیار، یون سیلیسیوم را از محلول خارجی به سلول‌های پوست ریشه منتقل می‌کنند. سپس، انتشار یون سیلیسیوم از سلول‌های پوست به آوند چوبی رخ می‌دهد و پس از جذب توسط ریشه‌ها، این یون‌ها به ساقه منتقل می‌شود (Mitani and Ma, 2005). یون سیلیسیوم محلول جذب شده توسط گیاه، معمولاً در دیواره‌ی سلول اپیدرمی تجمع پیدا می‌کند (Tisdale et al., 1985; Samuels et al., 1993; Epstein, 1994; Marschner, 1994). سیلیسیوم موجود در سیلیکات کلسیم با رسوب در دیواره سلولی موجب مقاوم‌سازی گیاه نسبت به بیمارگر می‌شود (Shahrtash and Mohsenzadeh, 2011). برای اولین بار در گیاه خیار آلوده به بیمارگر و تیمار شده با یون سیلیسیوم، افزایش فعالیت کیتینازها، پراکسیدازها، پلی فنول اکسیدازها و فیتوآلکسین‌های فلاوونوئید گزارش شد (Chérif et al., 1994b). وجود این ترکیبات احتمال حفاظت

۲۰ روزه مایه‌زنی شدند و پس از شش روز، یون سیلیسیوم به صورت سیلیکات کلسیم به حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر به هر گلدان اضافه شد. به گلدان‌های شاهد ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. ده روز پس از تیمار، گیاهان ۳۶ روزه جمع‌آوری شدند. برای آزمون مرحله‌ی گل‌دهی، مایه‌زنی به گیاهان ۵۵ روزه در مرحله‌ی گل‌دهی انجام و پس از شش روز با سیلیکات کلسیم به حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر تیمار شدند. پس از ده روز از تیمار، گیاهان ۷۱ روزه جمع‌آوری شدند. بافت گیاهان به منظور یخ زدن سریع در ازت مایع قرار داده شدند و سپس، برای مدت کوتاه تا زمان اندازه‌گیری به ۲۰- درجه‌ی سلسیوس منتقل شدند. اندازه‌گیری‌های فاکتورهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برای هر دو گروه روی برگ گیاه انجام گرفت. ابتدا، برای مایه‌زنی قسمتی از خاک موجود در قسمت طوقه‌ی گیاهان برداشته و ۳۰ میلی‌لیتر از پرلیت حاوی مایه‌ی تلقیح در قسمت طوقه اضافه و سپس روی آن با خاک پوشانده شد. مقدار لازم برای تلقیح و اطمینان از آلودگی، قبلاً در پیش‌آزمایش روی گیاه خیار به دست آمده بود. سایر شرایط نیز برای گیاهان یکسان فراهم شد.

#### روش‌های اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیولوژیکی و

**بیوشیمیایی:** استخراج کلروفیل و کارتنوئید با استون ۸۰ درصد و اندازه‌گیری آن طبق روش آرنون (Arnon, 1959) انجام گرفت. قندهای محلول مطابق روش نلسون (Nelson, 1944) استخراج و اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان اکسایش لیپیدهای غشایی در برگ گیاه، سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء طبق روش Heath and Packer (1968) و براساس تشکیل کمپلکس مالون دی‌آلدئید انجام شد. اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل با روش برادفورد (Bradford, 1976)، استخراج و اندازه‌گیری مقدار پرولین از روش بیتس (Bates, 1973)، بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ گیاه از روش ایبی (Aebi, 1984) و اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین به روش وانگر (Wagner, 1979) انجام گرفت.

**واکاوی آماری:** آزمایش در یک طرح آزمایشی کاملاً

گیاه علیه بیمارگرهای قارچی و شبه‌قارچی را نشان می‌دهد. بنابراین، هدف از انجام این پژوهش بررسی تغییرات فاکتورهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه خیار آلوده به *P. aphanidermatum* و بررسی توانایی سیلیکات کلسیم در گیاه خیار آلوده در جهت کاهش اثرات ناشی از فعالیت این شبه قارچ است.

#### روش بررسی

**تهیه مایه‌ی بیمارگر:** برای تهیه مایه‌ی بیمارگر از جدایه

۸۶-۱ *P. aphanidermatum* (بخش گیاه‌پزشکی دانشگاه شیراز) استفاده شد. عصاره‌ی ۶۰ گرم شاهدانه‌ی خرد شده پس از جوشاندن استخراج و حجم آن به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پرلیت و ۱۲۰ میلی‌لیتر عصاره‌ی شاهدانه با هم مخلوط و سه بار با فاصله‌ی یک روز در میان به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد. در زیر هود سترون، ۱۰ بلوک از محیط کشت CMA (عصاره‌ی ۴۰ گرم ذرت خرد شده در یک لیتر آب مقطر و ۱۵ گرم آگار) حاوی بیمارگر بر روی مخلوط پرلیت-عصاره‌ی شاهدانه قرار داده و به مدت سه هفته در دمای اتاق نگهداری شد. برای اطمینان از رشد بیمارگر، قسمتی از پرلیت بر روی محیط کشت CMA قرار داده و رشد آن مشاهده شد.

**کاشت و تیمار گیاه خیار:** بذر خیار رقم سینا به صورت

مستقیم در گلدان‌ها در مخلوط ۱:۱ خاک بکر و ماسه کاشته شد. ۷۲ گلدان دو کیلویی برای بررسی گیاهان در مرحله‌ی رویشی و ۷۲ گلدان سه کیلویی برای گیاهان در مرحله‌ی گل‌دهی در نظر گرفته شد. در هر گلدان سه بذر کاشته و برای هر تیمار ۹ تکرار استفاده شد. تیمار سیلیکات کلسیم در سه سطح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از طریق حل نمودن مقادیر سیلیکات کلسیم در آب مقطر تهیه شد. آزمایش شامل تیمار گیاهان با سه سطح سیلیکات کلسیم، تیمار هم‌زمان گیاهان با سه سطح سیلیکات کلسیم و بیمارگر، شاهد سالم و شاهد آلوده بود و در شرایط گلخانه (۱۸ تا ۳۰ درجه‌ی سلسیوس) انجام شد. برای آزمون مرحله‌ی رویشی، گیاهان

تصادفی انجام شد و پس از اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، داده‌های به دست آمده به روش واکاوی واریانس یک‌سویه و مقایسه میانگین‌ها با روش دانکن در سطح پنج درصد انجام شدند.

### نتیجه و بحث

در این مطالعه، اثر *P. aphanidermatum* روی تغییرات فیزیولوژیک گیاه خیار (*C. sativus* L.) و کاهش اثرات این بیماری با استفاده از تیمار سیلیکات کلسیم با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بررسی شد. کاربرد غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر در هیچ‌یک از آزمایش‌ها معنی‌دار نبود. نتایج نشان می‌دهد که میزان کلروفیل در گیاهان ۳۶ و ۷۱ روزه آلوده نسبت به شاهد سالم به ترتیب ۳/۳ و ۱/۸ برابر کاهش یافت (شکل ۱). در گیاهان بیمار تیمار با غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم، میزان کلروفیل نسبت به شاهد بیمار افزایش معنی‌داری وجود داشت. میزان کلروفیل در غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم در گیاهان ۳۶ روزه نسبت به شاهد سالم دارای اختلاف معنی‌دار نشد، در صورتی‌که میزان کلروفیل در گیاهان ۷۱ روزه تیمار با سیلیکات کلسیم ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به مقدار ۱/۵ برابر افزایش معنی‌دار یافت.

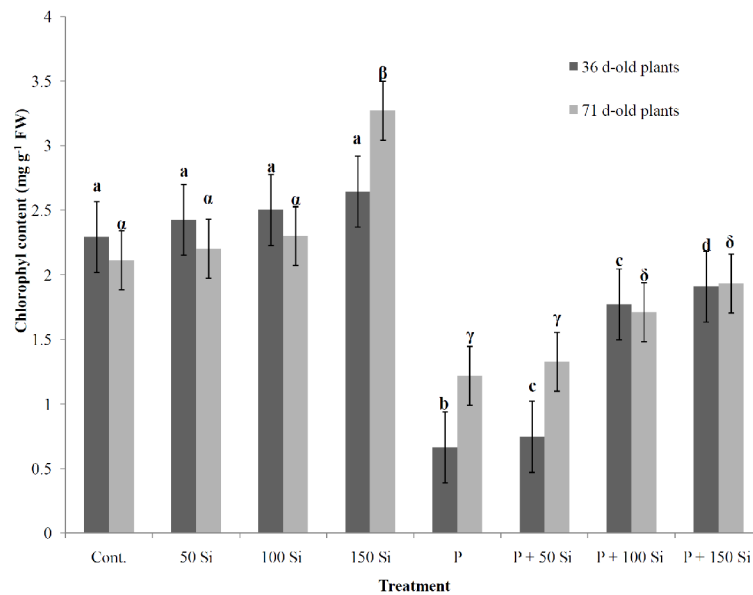
میزان کارتنوئید در گیاهان ۳۶ و ۷۱ روزه بیمار نسبت به شاهد سالم به ترتیب ۲ و ۱/۵ برابر کاهش یافت (شکل ۲). در حضور بیمارگر به همراه غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم نیز میزان کارتنوئید در گیاهان تیمار نسبت به شاهد سالم به شکل معنی‌داری کاهش داشت. اما کارتنوئید در حضور بیمارگر و در غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم نسبت به شاهد بیمار افزایش نشان داد. به طوری که در گیاهان ۳۶ و ۷۱ روزه تیمار با ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم میزان کارتنوئید نسبت به شاهد بیمار به ترتیب به مقدار ۱/۶ و ۱/۳ برابر افزایش معنی‌داری مشاهده شد. بررسی حاصل از این تحقیق نشان داد که مایه‌زنی گیاه

خیار ۳۶ و ۷۱ روزه با *P. aphanidermatum* سبب افزایش معنی‌دار میزان کربوهیدرات به ترتیب به مقدار ۱/۶ و ۱/۲ برابر می‌شود (شکل ۳). در تیمار گیاه خیار سالم با غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم افزایش معنی‌داری در میزان کربوهیدرات دیده شد. در گیاهان تیمار شده با بیمارگر و غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم سیلیکات کلسیم بر لیتر نسبت به شاهد آلوده، در میزان کربوهیدرات کاهش معنی‌داری مشاهده شد.

در اثر تیمار گیاهان سالم ۳۶ روزه با ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم و تیمار گیاهان ۷۱ روزه با ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم، میزان پراکسیداسیون چربی‌ها در برگ‌ها نسبت به گیاه شاهد سالم به شکل معنی‌داری به ترتیب ۴، ۱/۲ و ۱/۳ برابر افزایش یافت (شکل ۴). در حضور بیمارگر پراکسیداسیون چربی در گیاهان ۳۶ روزه و ۷۱ روزه در مقایسه با شاهد سالم افزایش معنی‌دار به ترتیب به مقدار ۹/۶ و ۳/۷ برابر نشان داد. مقدار پراکسیداسیون چربی در تیمار با سه سطح سیلیکات کلسیم، در گیاهان تحت تنش بیمارگر نسبت به شاهد سالم افزایش ولی نسبت به شاهد بیمار کاهش معنی‌دار داشت.

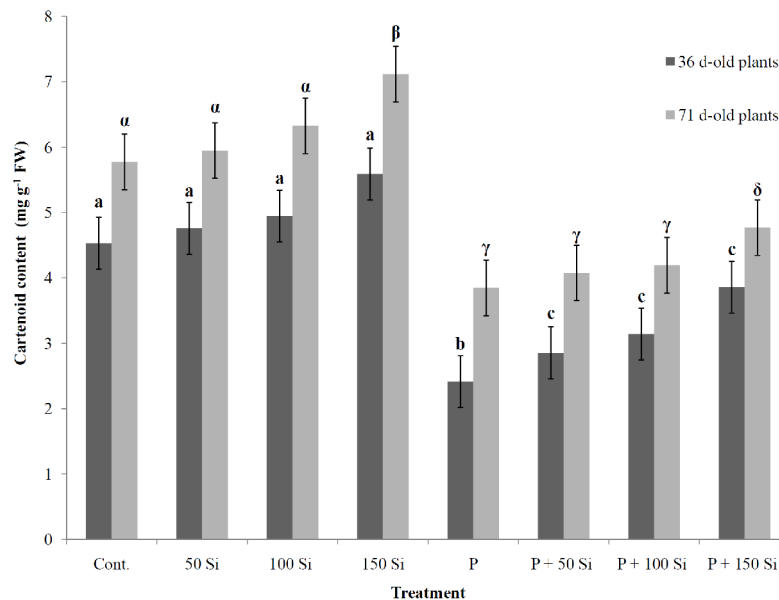
در گیاهان ۳۶ و ۷۱ روزه با مایه‌زنی بیمارگر، مقدار پروتئین در برگ‌ها نسبت به گیاه شاهد سالم افزایش معنی‌داری به ترتیب به مقدار ۳ و ۵/۳ برابر نشان داد (شکل ۵). تیمار گیاه سالم با ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم، موجب افزایش میزان پروتئین در مقایسه با شاهد سالم شد. پس از ۳۶ و ۷۱ روز در گیاهان بیمار تیمار شده با ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم در هر دو حالت، نسبت به گیاهان شاهد بیمار کاهش پروتئین مشاهده شد.

در اثر آلودگی با بیمارگر، میزان پرولین در برگ گیاهان ۳۶ و ۷۱ روزه نسبت به گیاهان شاهد سالم افزایش معنی‌داری به ترتیب به مقدار ۷/۵ و ۳/۸ برابر یافت (شکل ۶).



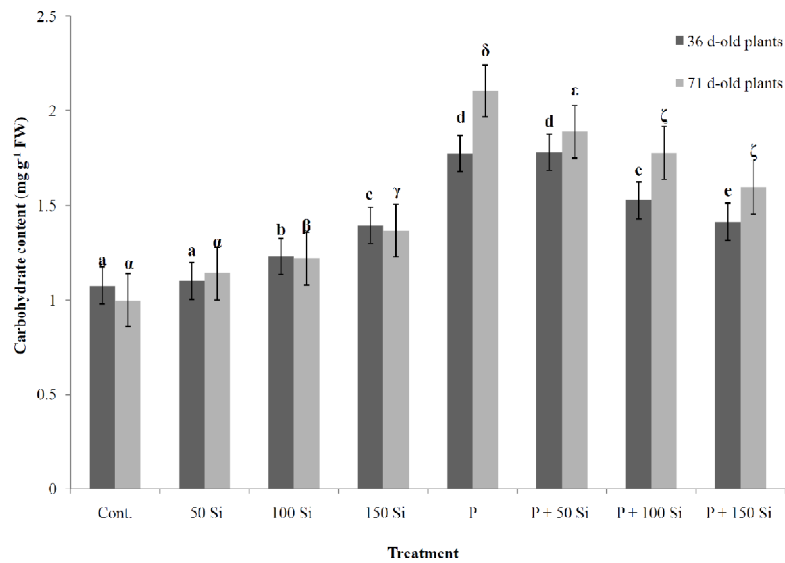
شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) و *Pythium aphanidermatum* (P) بر مقدار کلروفیل ( $\text{mg g}^{-1}$  fresh weight "FW") گیاه خیار ۳۶ و ۷۱ روزه در مقایسه شده با گیاهان شاهد (Cont.). حروف نامتشابه نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

**Fig. 1.** The effect of different concentration of calcium silicate ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) treatment and *Pythium aphanidermatum* (P) inoculation on chlorophyll ( $\text{mg g}^{-1}$  fresh weight "FW") contents of 36 and 71 day-old cucumber plants compared with control plants (Cont.). Mean values at the column peaks followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$ .



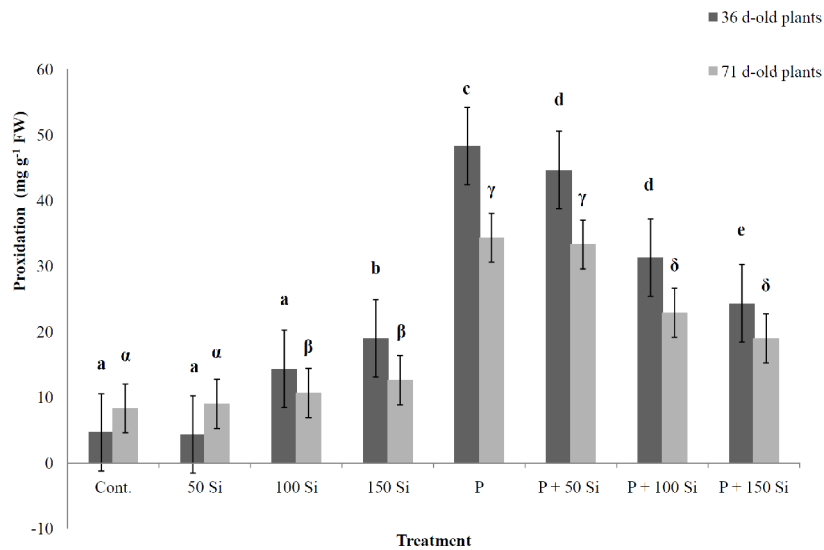
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) و *Pythium aphanidermatum* (P) بر مقدار کاروتنوئید ( $\text{mg g}^{-1}$  fresh weight "FW") گیاه خیار ۳۶ و ۷۱ روزه در مقایسه با گیاهان شاهد (Cont.). حروف نامتشابه نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

**Fig. 2.** The effect of different concentration of calcium silicate ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) treatment and *Pythium aphanidermatum* (P) inoculation on carotenoid ( $\text{mg g}^{-1}$  fresh weight "FW") contents of 36 and 71 day-old cucumber plants compared with control plants (Cont.). Mean values at the column peaks followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$ .



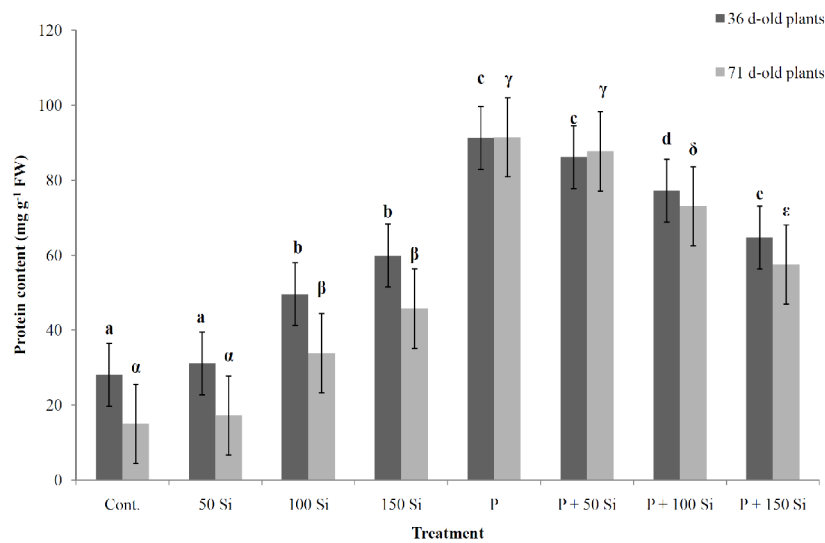
شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم (Si, mg L<sup>-1</sup>) و *Pythium aphanidermatum* (P) بر مقدار کربوهیدرات (mg g<sup>-1</sup> fresh weight “FW”) گیاه خیار ۳۶ و ۷۱ روزه در مقایسه با گیاهان شاهد (Cont.). حروف نامتشابه نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

Fig. 3. The effect of different concentration of calcium silicate (Si, mg L<sup>-1</sup>) treatment and *Pythium aphanidermatum* (P) inoculation on carbohydrate (mg g<sup>-1</sup> fresh weight “FW”) contents of 36 and 71 day-old cucumber plants compared with control plants (Cont.). Mean values at the column peaks followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$ .



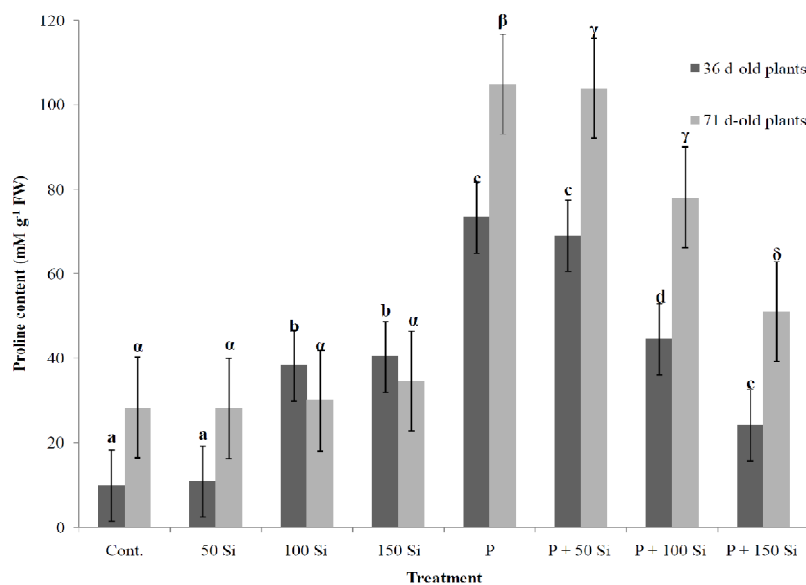
شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم (Si, mg L<sup>-1</sup>) و *Pythium aphanidermatum* (P) بر مقدار پراکسیداسیون (mg g<sup>-1</sup> fresh weight “FW”) گیاه خیار ۳۶ و ۷۱ روزه در مقایسه با گیاهان شاهد (Cont.). حروف نامتشابه نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

Fig. 4. The effect of different concentration of calcium silicate (Si, mg L<sup>-1</sup>) treatment and *Pythium aphanidermatum* (P) inoculation on prooxidation (mg g<sup>-1</sup> fresh weight “FW”) contents of 36 and 71 day-old cucumber plants compared with control plants (Cont.). Mean values at the column peaks followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$ .



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) و *Pythium aphanidermatum* (P) بر مقدار پروتئین ( $\text{mg g}^{-1}$  fresh weight "FW") گیاه خیار ۳۶ و ۷۱ روزه در مقایسه با گیاهان شاهد (Cont.). حروف نامتشابه نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

**Fig. 5.** The effect of different concentration of calcium silicate ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) treatment and *Pythium aphanidermatum* (P) inoculation on protein ( $\text{mg g}^{-1}$  fresh weight "FW") contents of 36 and 71 day-old cucumber plants compared with control plants (Cont.). Mean values at the column peaks followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$ .



شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) و *Pythium aphanidermatum* (P) بر مقدار پرولین ( $\text{mM g}^{-1}$  fresh weight "FW") گیاه خیار ۳۶ و ۷۱ روزه در مقایسه با گیاهان شاهد (Cont.). حروف نامتشابه نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

**Fig. 6.** The effect of different concentration of calcium silicate ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) treatment and *Pythium aphanidermatum* (P) inoculation on proline ( $\text{mM g}^{-1}$  fresh weight "FW") contents of 36 and 71 day-old cucumber plants compared with control plants (Cont.). Mean values at the column peaks followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$ .

در تیمار گیاهان سالم ۳۶ روزه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم، مقدار پرولین در مقایسه با شاهد سالم افزایش یافت، اما در مورد گیاهان ۷۱ روزه تیمار شده با هر سه سطح سیلیکات کلسیم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میزان پرولین در حضور بیمارگر با افزایش غلظت سیلیکات کلسیم نسبت به گیاه آلوده کاهش معنی‌داری پیدا کرد.

در اثر مایه‌زنی بیمارگر، مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز برگ گیاهان ۳۶ و ۷۱ روزه حدود ۷ برابر افزایش یافت (شکل ۷). تیمار گیاهان ۷۱ روزه با ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم، موجب افزایش معنی‌دار میزان کاتالاز می‌شود. در اثر تیمار گیاهان بیمار با هر سه غلظت سیلیکات کلسیم (گیاهان ۳۶ روزه) و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم (گیاهان ۷۱ روزه) مقدار کاتالاز در مقایسه با گیاهان بیمار کاهش معنی‌داری داشت.

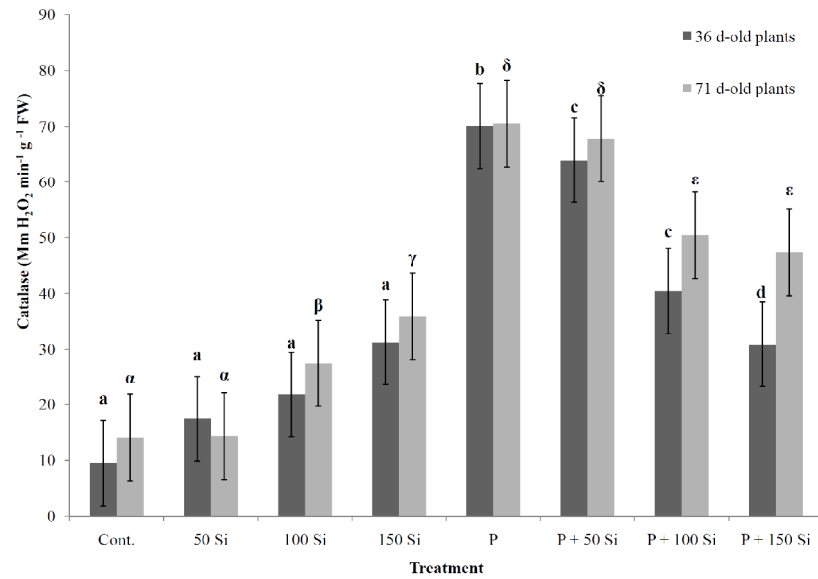
با توجه به نتایج حاصل، هنگام آلوده شدن گیاهان به بیمارگر، مقدار آنتوسیانین برگ گیاهان ۳۶ و ۷۱ روزه به ترتیب به مقدار ۳/۵ و ۶/۵ برابر افزایش می‌یابد (شکل ۸). در تیمار گیاهان بیمار با ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم نسبت به گیاهان شاهد سالم، افزایش میزان آنتوسیانین مشاهده شد و در گیاهان بیمار مایه‌زنی شده با بیمارگر و تیمار شده با سیلیکات کلسیم در سه سطح (گیاهان ۳۶ روزه) و در سطح ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم، در مقدار آنتوسیانین کاهش معنی‌داری مشاهده شد.

تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه خیار آلوده به *P. aphanidermatum* و توانایی تیمار گیاه، با سیلیکات کلسیم در جهت کاهش اثرات ناشی از فعالیت این شبه‌قارچ در این پژوهش بررسی شد. بر اساس نتایج حاصل از این بررسی، کاهش میزان کلروفیل و کارتنوئید و افزایش میزان پرولین، کربوهیدرات، پروتئین، پراکسیداسیون چربی‌ها، آنتوسیانین و فعالیت کاتالاز بر اثر مایه‌زنی بیمارگر *P. aphanidermatum* در مقایسه با شاهد مشاهده شد. عوامل فیزیولوژیکی اندازه‌گیری

شده در این پژوهش بر اثر افزودن سیلیکات کلسیم ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به خاک گیاهان سالم، افزایش یافت. هم‌چنین، افزایش میزان کلروفیل و کارتنوئید و کاهش دیگر عوامل بر اثر تیمار گیاهان آلوده با ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سیلیکات کلسیم در مقایسه با شاهد مشاهده شد. اگرچه میزان کلروفیل در خیارهای آلوده در فاز رویشی و زایشی کاهش معنی‌داری نشان داد، تیمار این گیاهان با غلظت‌های بیش از ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم موجب افزایش معنی‌دار میزان آن شد. هم‌چنین، میزان کارتنوئید در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سیلیکات کلسیم نیز نسبت به شاهد آلوده افزایش معنی‌داری داشت. افزایش میزان کلروفیل و کارتنوئید در گیاهان تیمار شده با یون سیلیسیوم به خصوص همراه با بیمارگر ممکن است به علت رسوب سیلیکون در دیواره‌ی سلول‌ها و استحکام بیشتر سلول‌ها، قرارگیری بهتر برگ‌ها در برابر نور و افزایش دریافت نور در واحد سطح، افزایش مقدار فتوسنتز و در نتیجه افزایش انعطاف‌پذیری دیواره‌ی سلولی و تسریع در بزرگ شدن سلول‌ها باشد (Feng Ma and Takashi, 2002). کاهش مشاهده شده در میزان کلروفیل و کارتنوئید گیاهان خیار بیمار، احتمالاً به علت صدمه به ساختارهای غشایی مانند غشای تیلاکوئیدی و تغییر در بیان پروتئین‌های متصل به کلروفیل است (Bonfig et al., 2006; Swarbrick et al., 2006). شهرتاش و محسن زاده (Shahrtash and Mohsenzadeh, 2011) نیز کاهش در محتوای کلروفیل را به علت حمله‌ی بیمارگر *P. aphanidermatum* گزارش دادند.

در پژوهش حاضر، در گیاهان آلوده به بیمارگر، افزایش میزان کربوهیدرات مشاهده شد. در حمله‌ی بیمارگرها با افزایش کربوهیدرات‌های محلول ساکارز و هگروز همراه است (Scharte and Schon., 2005). میزان کربوهیدرات در گیاهان بیمار تیمار شده با سیلیسیوم نسبت به گیاهان شاهد بیمار کاهش نشان داد که اثر مثبت سیلیسیوم را نشان می‌دهد.

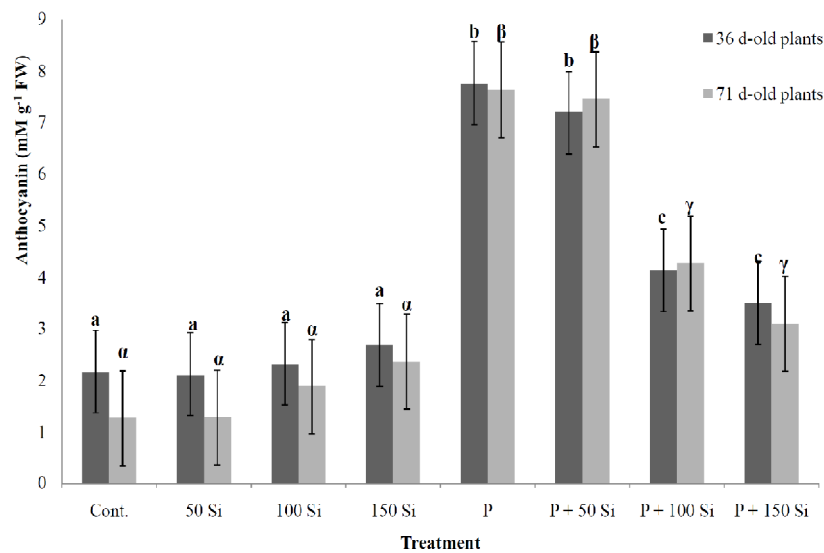




شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) و *Pythium aphanidermatum* (P) بر مقدار کاتالاز ( $\text{mM H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ fresh weight}$ )

گیاه خیار ۳۶ و ۷۱ روزه در مقایسه با گیاهان شاهد (Cont.). حروف نامتشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

**Fig. 7.** The effect of different concentration of calcium silicate ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) treatment and *Pythium aphanidermatum* (P) inoculation on catalase ( $\text{mM H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$  fresh weight "FW") contents of 36 and 71 day-old cucumber plants compared with control plants (Cont.). Mean values at the column peaks followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$ .



شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات کلسیم ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) و *Pythium aphanidermatum* (P) بر مقدار آنتوسیانین ( $\text{mM g}^{-1}$  fresh weight "FW")

گیاه خیار ۳۶ و ۷۱ روزه در مقایسه با گیاهان شاهد (Cont.). حروف نامتشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

**Fig. 8.** The effect of different concentration of calcium silicate ( $\text{Si}$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) treatment and *Pythium aphanidermatum* (P) inoculation on anthocyanin ( $\text{mM g}^{-1}$  fresh weight "FW") contents of 36 and 71 day-old cucumber plants compared with control plants (Cont.). Mean values at the column peaks followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$ .

میزان مالون دی‌آلدهید در اثر حمله بیمارگر به گیاه نسبت به نمونه شاهد افزایش می‌یابد یا به عبارت دیگر پراکسیداسیون چربی غشا زیاد می‌شود. این افزایش به علت صدمه اکسیداتیو ناشی از تنش بیمارگر است (Apel and Hirt, 2004). کاهش میزان مالون دی‌آلدهید در گیاهان بیمار تیمار شده با یون سیلیسیوم ممکن است به علت رسوب سیلیسیوم در زیر کوتیکول و ایجاد کوتیکول دو لایه به عنوان سد فیزیکی در برابر رخنه‌ی ریشه‌های بیمارگر اتفاق می‌افتد و القای مقاومت اکتسابی رخ می‌دهد (Feng Ma and Yamaji, 2006).

در تحقیق حاضر، افزایش میزان پروتئین در گیاهان بیمار نسبت به شاهد سالم مشاهده شد. افزایش مقدار پروتئین در گیاهان بیمار ممکن است به علت پاسخی باشد که گیاه با افزایش بیان ژن و تولید پروتئین‌های بیشتر مرتبط با بیماری‌زایی به حمله‌ی بیمارگرها پاسخ می‌دهد (Shahrtash and Mohsenzadeh, 2011). آداتی و همکاران (Adati and Besford, 1986) نیز در برگ‌های بالغ حاوی سیلیسیوم در خیار، افزایش در مقدار پروتئین‌های محلول مشاهده شد. همچنین، در برگ‌های برنج، گندم و خیار آلوده به بیمارگر و تیمار شده با سیلیسیوم افزایش فعالیت آنزیم‌های محافظتی مانند پلی‌فنول اکسیداز، پراکسیدازها و فنیل‌آلانین آمونیا لیاز مشاهده شد (Chérif et al., 1994a; Yang et al., 2003; Liang et al., 2005; Cai et al., 2008). در این پژوهش، کاهش میزان پروتئین در گیاهان بیمار تیمار شده با سیلیسیوم نسبت به گیاهان بیمار شاهد دیده شد. این احتمال وجود دارد که اثر ترمیمی سیلیسیوم بر کاهش تنش زیستی میزان بیان ژن را کاهش داده و میزان پروتئین پائین آمده است، همانگونه که در تنش‌های غیر زیستی مشاهده می‌شود (Mohsenzadeh et al., 2006). افزایش میزان پرولین در گیاهان آلوده شده به بیمارگر مشاهده شد. مطالعات متعددی افزایش میزان پرولین در برگ گیاهان عالی را در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نشان داده‌اند (Fabro et al., 2004; Mohsenzadeh et al., 2006).

افزایش مقدار پرولین به علت توانایی آن در تنظیم اسمزی است. در هنگام تنش زیستی، متابولیسم نیتروژن به مسیر سنتز پرولین تغییر جهت می‌دهد. تجمع پرولین می‌تواند اسیدی شدن سلولی ناشی از تنش را کاهش داده یا برای فراهم کردن انرژی لازم برای ترمیم موجب تنفس اکسیداتیو شود. سنتز زیاد پرولین در تنش ممکن است نسبت NAD(P)/NAD(P)H را همانند متابولیسم در شرایط طبیعی نگه دارد (Hare and Cress, 1997). Kauss et al. (2003) نشان دادند که برگ‌های خیار آلوده شده به قارچ در حضور یون سیلیسیوم با افزایش مقدار پرولین مقاومت بیشتری کسب می‌کند. نتایج حاصل از این پژوهش، کاهش میزان پرولین را در گیاهان بیمار تیمار شده با سیلیکات کلسیم نسبت به گیاهان بیمار نشان داد که نشان از کاهش تنش دارد، زیرا اسید آمینه آزاد پرولین توسط محسن‌زاده و همکاران شاخص میزان تنش لقب گرفته است (Mohsenzadeh et al., 2006). البته مقدار پرولین و سیلیسیوم روی فشار اسمزی تأثیر دارند.

در این پژوهش، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان آلوده مشاهده شد. بولول (Bolwell et al., 2002) نیز اعلام کرد که گونه‌های اکسیژن فعال در پاسخ به حمله‌ی بیمارگرها به سرعت در گیاه تولید می‌شوند. در حمله‌ی بیمارگرها، تهنشینی کالوز از گسترش بیماری جلوگیری می‌کند. در سلول‌های آلوده پراکسید هیدروژن، از گونه‌های اکسیژن فعال قابل انتشار که در سلول‌های مزوفیل آلوده شده گسترش پیدا می‌کند، نمی‌توانند از سد کالوز عبور کنند. پس در دفاع، تشکیل کالوز و تجمع پراکسید هیدروژن القا می‌شود (Scharte et al., 2005). برای از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن، آنزیم کاتالاز در حمله‌ی بیمارگرها افزایش می‌یابد. در تیمار گیاه آلوده با سیلیسیوم، میزان فعالیت کاتالاز نسبت به گیاه آلوده کاهش داشت.

میزان آنتوسیانین در گیاهان آلوده به بیمارگر نسبت به شاهد افزایش یافت که این افزایش ناشی از صدمه اکسیداتیو

ناشی از این تنش زیستی است (Apel and Hirt, 2004). آنتوسیانین به عنوان جاروکننده‌ی گونه‌های فعال اکسیژن به وجود آمده عمل می‌کند. مقاومت ناشی از سیلیسیوم محدود به ایجاد سد مکانیکی و یا القای سازوکار دفاعی در گیاه نیست، بلکه کاهش میزان کربوهیدرات، پروتئین، پرولین، کاتالاز و آنتوسیانین در گیاهان بیمار تیمار شده با سیلیسیوم نسبت به گیاهان بیمار ممکن است به علت طبیعت چندجانبه‌ی این پاسخ‌ها باشد (Cai et al., 2008; Shahrtash and Mohsenzadeh, 2011).

در پژوهش حاضر، عوامل مختلفی در اثر بیمارگر و سیلیسیوم بر گیاه خیار اندازه‌گیری شدند که جنبه‌های گوناگونی از فیزیولوژی گیاه را نشان دادند. برای مثال مقادیر کلروفیل، کاروتنوئید و کربوهیدرات وضعیت فتوسنتز گیاه را بیان می‌کند و اسیدآمینو پرولین و مقدار پروتئین کل، به نظر تغییراتی را در بیان ژن و ساخت پروتئین نشان می‌دهد. هم‌چنین، مقدار پراکسیداسیون چربی غشا میزان شدت تنش و مقاومت گیاه را بیان می‌کند و مقدار آنتوسیانین و فعالیت آنزیمی کاتالاز پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاه را نشان می‌دهد.

مقادیر کلروفیل، کاروتنوئید، کربوهیدرات و پرولین گیاهان بیمار تحت تیمار سیلیسیوم در مرحله زایشی به طور معنی‌داری بیش از مرحله رویشی بود که نشان‌دهنده اهمیت فتوسنتز در مرحله زایشی و هم‌چنین، اهمیت پرولین در این مرحله دارد. نتایج نشان داد که *P. aphanidermatum* موجب کاهش مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید و افزایش میزان کربوهیدرات، پرولین، پروتئین، پراکسیداسیون لیپیدها، فعالیت آنزیم کاتالاز و آنتوسیانین در برگ خیار آلوده می‌شود. هم‌چنین، تیمار گیاه بیمار با سیلیکات کلسیم ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و در برخی موارد ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و در برخی موارد ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش اثرات ناشی از این بیمارگر شد. این یافته‌ها با نتایج چریف و بلانگر (Chérif and Belanger, 1992) هم‌خوانی دارند. این موضوع نشان می‌دهد با این که سیلیسیوم عنصری لازم برای گیاه نیست، در کاهش اثرات بیماری مانند متابولیسم گیاه مؤثر

در این پژوهش، با حضور بیمارگر مقادیر پروتئین، پرولین، کربوهیدرات و آنتوسیانین به شکل معنی‌داری افزایش یافته است. در تیمار با غلظت‌های متفاوت سیلیکات کلسیم، سیلیسیوم به تنهایی نیز افزایش عوامل فوق مشاهده می‌شود. اما، این افزایش مقدار کمتر بوده و آن هم در تیمار غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش معنی‌دار مشاهده شده است. این خود می‌تواند به دلیل تنش ناشی از غلظت بالای یون سیلیسیوم باشد. هم‌زمانی وجود یون سیلیسیوم و بیمارگر، موجب تخفیف اثرات تنش و در نتیجه کاهش تجمع مواد گردیده است. این در حالی است که مقادیر مولکول‌های آلی تجمع یافته، از حضور یون سیلیسیوم به تنهایی کمتر نشده و فقط نسبت به حضور بیمارگر کاهش داشته است. افزایش پراکسیداسیون به دلیل تنش و کاهش آن ناشی از اثرات تخفیفی سیلیسیوم است (Liang et al., 2003). بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، استفاده از نمک سیلیکات کلسیم موجب کاهش اثرات سوء فیزیولوژیکی ناشی از آلودگی خیار

برای درک عمیق سازوکار تأثیر سیلیسیوم نیاز به تحقیقات پیش‌تری در زمینه‌ی شیوه‌ی اثرگذاری آن بر سیستم مقاومتی گیاه است. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، استفاده از نمک سیلیکات کلسیم ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در آلودگی خیار به *P. aphanidermatum* توصیه می‌گردد زیرا موجب کاهش صدمات فیزیولوژیکی مانند کاهش رشد گیاه و پوسیدگی ریشه‌ی ناشی از آلودگی و بهبود رشد گیاهان سالم می‌شود.

به *P. aphanidermatum* می‌شود. هرچند سیلیسیوم از عناصر ضروری بسیاری از گیاهان نیست ولی در برخی گیاهان اثرات سودمندی در تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد. اثرات مشاهده شده در پژوهش حاضر، در استفاده از نمک سیلیکات کلسیم، این احتمال را دارد که کلسیم موجود نیز در نقش مثبت سیلیکات کلسیم مؤثر باشد. پژوهش‌های دیگر، نیز به رشد بهتر گیاه با حضور سیلیسیوم در آلودگی به بیمارگرها اشاره دارد (Cherif *et al.*, 1994; Gong *et al.*, 2005; Liang )

## References

- ADATIA, M. and R. BESFORD, 1986. The effect of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution, *Annals of Botany*, No. 58: 343–351
- AEBI, H. 1984. Catalase *in vitro*, *Methods in Enzymology*, No. 105: 121–126.
- APEL, K. and H. HIRT. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction, *Annual Review of Plant Biology*, No. 55: 373–399.
- ARNON, D. I. 1959. Photosynthesis by isolated chloroplast. IV. Central concept and comparison of three photochemical reactions, *Biochimica et Biophysica Acta*, No. 20: 440–446.
- BATES, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies, *Plant and Soil*, No. 39: 205–207.
- BOLWELL, P., L. BINDSCHEDLER, V. BLEE, A. BUTT, R. DWEI, S. GARDNER, C. GERRISH and F. MINIBAYEVA, 2002. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: A three-component system, *Journal of Experimental Botany*, No. 53: 1367–1376.
- BONFIG, K., U. SCHREIBER, A. GABLER, T. ROITSCH and S. BERGER, 2006. Infection with virulent and avirulent *P. syringae* strains differentially affects photosynthesis and sink metabolism in Arabidopsis leaves, *Planta*, No. 225: 1–12.
- BRADFORD, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, No. 72: 248–254.
- CAI, K. Z., D. GAO, S. M. LUO, R. S. ZENG, J. Y. YANG, and Z. H. U. X.Y. 2008. Physiological and cytological mechanisms of silicon induced resistance in rice against blast disease, *Physiologia Plantarum*, No. 134: 324–33.
- CHERIF, M. and R. BELANGER, 1992. Use of potassium silicate amendments in recirculating nutrient solutions to suppress *Pythium ultimum* on Long English Cucumber, *Plant Disease*, No. 76: 1008–1011.
- CHERIF, M., A. ASSELIN and R. R. BELANGER, 1994a. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp., *Phytopathology*, No. 84: 236–42.
- CHERIF, M. N. BENHAMOU, J. G. MENZIES and R. R. BELANGER, 1992. Silicon induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, No. 41: 411–425.
- CHERIF, M., J. G. MENZIES, D. L. EHRET, C. BOGDANOFF and R. BELANGER, 1994b. Yield of cucumber infected with *Pythium aphanidermatum* when grown with soluble silicon, *Horticultural Science*, No. 29: 896–897.
- ELAWAD, S. H., J. J. STREET and G. J. GASCHO, 1982. Response of sugarcane to silicate source and rate. II. Leaf freckling and nutrient content, *Agronomy Journal*, No. 74: 484–48.

- EPSTEIN, E. 1994. The anomaly of silicon in plant biology, Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, No. 91: 11–17.
- FABRO, G., I. KOVACS, V. PAVET, L. SZABADOS and M. E. ALVAREZ, 2004. Proline accumulation and *AtP5CS2* gene activation are induced by plant–pathogen incompatible interactions in Arabidopsis, Molecular Plant-Microbe Interaction, No. 17: 343–350.
- FAWE, A., M. ABOU-ZAID, J. G. MENZIES and R. R. BELANGER, 1998. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber, Phytopathology, No. 88: 396–401.
- FENG MA, J. and E. TAKAHASHI, 2002. Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan, Elsevier Science, Amsterdam, Netherlands.
- FENG MA, J. and N. YAMAJI, 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants, Trends in Plant Science, No. 11: 392–397.
- GONG, H., X. ZHU, K. CHEN, S. WANG and C. ZHANG, 2005. Silicon alleviated oxidative damage of wheat plants in pots under drought, Plant Science, No. 169: 313–321.
- HARE, P. D. and W. A. CRESS, 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants, Plant Growth Regulation, No. 21: 79–102.
- HAUDECOEUR, E., S. PLANAMENTE, A. CIROU, M. TANNIERES, B. J. SHELPI, S. MORERA and D. FAURE, 2009. Proline antagonizes GABA-induced quenching of quorum-sensing in *Agrobacterium tumefaciens*, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, No. 106: 14587–14593.
- HEATH, R. and L. PACKER, 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation, Archives of Biochemistry and Biophysics, No. 125: 189–190.
- KAUSS, H. K. SEEHAUS, R. FRANKE, S. GILBERT, K. DIETRICH and N. KROGER, 2003. Silica deposition by a strongly cationic proline-rich protein from systematically resistant cucumber plants, The Plant Journal, No. 33: 87–95.
- KAWASAKI, S., C. BORCHERT, M. DEYHOLOS, H. WANG, S. BRAZILL, K. KAWAI, D. GALBRAITH, and H. J. BOHNERT, 2001. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice, Plant Cell, No. 13: 889–905.
- LIANG, Y., Q. CHEN, Q. LIU, W. ZHANG and R. DING, 2003. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.), Journal of Plant Physiology, No. 160: 1157–1164.
- LIANG, Y.C., W. C. SUN, J. Si and V. R?MHELD, 2005. Effects of foliar- and root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*, Plant Pathology, No. 54: 678–85.
- MARSCHNER, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London., UK.
- MIYAKE, Y. and E. TAKAHASHI, 1983. Effect of silicon on the growth of solution-cultured cucumber plant, Soil Science and Plant Nutrition, No. 29: 71–83.
- MOSENZADEH, S., M. A. MALBOOBI, K. Razavi and S. Farrahi-Aschtiani, 2006. Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae) to water deficit, Environmental and Experimental Botany, No. 56: 314–322.
- MOULIN, E., P. LEMANCEAU and C. ALABOUVETTE, 1994. Pathogenicity of *Pythium* species on cucumber in peatsand, rockwool and hydroponics, European Journal of Plant Pathology, No. 100: 3–17
- NELSON, N. 1944. A photometric adaption of the Somogi method for the determination of glucose, The Journal of Biological Chemistry, No. 153: 375–380.
- REMUS-BOREL, W., J. G. MENZIES and R. R. BELANGER, 2005. Silicon induces antifungal compounds in powdery mildew-infected wheat, Physiological and Molecular Plant Pathology, No. 66: 108–115.
- RODRIGUES, F. ?., D. J. MCNALLY, L. E. DATNOFF, J. B. JONES, C. LABBE, N. BENHAMOU, J. G. MENZIES and R. R. BELANGER, 2004. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: A potential mechanism for blast resistance, Phytopathology, No. 94: 177–83.
- SALEKDEH, G. H., J. SIOPONGCO, L. J. WADE, B. GHAREYAZIE and J. BENNETT, 2002. A proteomic

- approach to analyzing drought- and salt-responsiveness in rice. *Field Crops Research*, No. 76: 199–219.
- 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, *Annals of Botany*, No. 72: 433–440.
- SCHARTE, J. and H. SCHON, 2005. Photosynthesis and metabolism in tobacco leaves during an incompatible interaction with *Phytophthora nicotiana*, *Plant, Cell and Environment*, No. 28: 1421–1435.
- SHAHRTASH, M. and S. MOHSENZADEH, 2011. The effect of silicon on biochemical characteristics of maize seedling infected by *Pythium aphanidermatum* during periods of high temperature and humidity, *Asian Journal of Experimental Biological Science*, No. 2: 96–101.
- SWARBRICK, P. J., P. SCHULZE-LEFERT and J. D. SCHOLLES, 2006. Metabolic consequences of susceptibility and resistance in barley leaves challenged with powdery mildew, *Plant, Cell and Environment*, No: 29: 1061–1076.
- TISDALE, S. L., W. L. NELSON and J. D. BEATON, 1985. Soil and fertilizer potassium. pp. 249–291. *In*: Tisdale, S.L. Nelson, W.L. and Beaton, J.D. (eds) *Soil Fertility and Fertilizers*, 4th ed. MacMillan Pub. Co. New York. USA.
- UTKHEDE, R. S., C. A. LEVESQUE and D. DINH, 2000., *Pythium aphanidermatum* root rot hydroponically grown lettuce and the effect of chemical and biological agents on its control, *Canadian Journal of Plant Pathology*, No. 22: 138–144.
- VAN DER PLAATA-NITERNK, A. J. 1981. Monograph of the Genus *Pythium*, *Studies in Mycology*, No. 21: 1–244.
- WAGNER, G. J. 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplasts, *Plant Physiology*, No. 64: 88–93.
- WULFF, E. G., A. PHAM, M. CHERIF, P. REY, Y. TIRILLY and J. HOCKENHULL, 1998. Inoculation of cucumber roots with zoospores of mycoparasitic and plant pathogenic *Pythium* species: Differential zoospore accumulation, colonization ability, and plant growth response, *European Journal of Plant Pathology*, No. 104: 69–76.
- YANG, Y. F., Y. C. LIANG, Y. S. LOU and W. C. SUN, 2003. Influences of silicon on peroxidase, superoxide dismutase activity and lignin content in leaves of wheat *Triticum aestivum* L. and its relation to resistance to powdery mildew, *Scientia Agricultura Sinica*, No. 36: 813–817.