مجله به‌زراعی نهال و بذر
جلد ۲-۲۶ ، شماره ۲، سال ۱۳۸۹

اثر سیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده و محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی در دو ژنوتیپ گندم نان در شرایط تنش خشکی

Effect of Silicon on Antioxidant Enzymes Activities and Osmotic Adjustment Contents in Two Bread Wheat Genotypes under Drought Stress Conditions

سارا طالع‌احمد[۱] و رحیم حداد[۲]

۱- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی گیاهی، موسسه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج.
۲- استادیار، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۶/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۶/۲۵

چکیده

طالع‌احمد، س. و حداد، ر. ۱۳۸۹. اثر سیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده و محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی در دو ژنوتیپ گندم نان در شرایط تنش خشکی. **مجله به زراعی نهال و بذر ۲- ۲۶ (۲):** ۲۲۵-۲۰۷.

سیلیکون دومین عنصر رایج موجود در خاک است که دارای اثرات مفیدی در افزایش تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده در گیاهان است. به منظور بررسی اثر سیلیکون در افزایش تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) ویری‌ناک و پیشتاز آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با اعمال سه تیمار شاهد، خشکی و سیلیکون- خشکی (۲ میلی‌مولار سیلیکات‌سدیم / کیلوگرم خاک) در سه تکرار در گلخانه اجرا شد. بدین منظور محتوای پرولین و گلایسین بتائین، فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده و محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل و پروتئین محلول کل مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که سیلیکون با افزایش در فعالیت آنزیم‌های SOD, CAT, APX و POD و پروتئین محلول کل برگ در هر دو ژنوتیپ گندم باعث جبران خسارات منفی ناشی از تنش خشکی گردید. در مقابل تنش خشکی باعث کاهش در محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل و پروتئین محلول گردید. اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم CAT بین تیمار شاهد و خشکی در هر دو رقم مشاهده نگردید. نتایج آزمایش نشان داد که در مقایسه با گیاهانی که تنها تحت تیمار خشکی بودند، تیمار سیلیکون باعث افزایش در محتوای پرولین و گلایسین بتائین گردید. اثر سیلیکون در ژنوتیپ ویری‌ناک بیشتر از رقم پیشتاز بود. با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان استنباط کرد که نقش سیلیکون در افزایش تحمل به خشکی در گندم بدلیل افزایش در فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده همراه بوده و باعث کاهش خسارات اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن که تحت تنش خشکی ایجاد می‌گردند می‌شود و از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهانی که در معرض تنش قرار گرفته‌اند محافظت می‌کند.

کلمات کلیدی: گندم نان، پرولین، سیلیکون، گلایسین بتائین و محتوای نسبی آب برگ.

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: sara_taleahmad@yahoo.com

مقدمه

تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده محصولات کشاورزی در سطح جهان هستند، تنش موجب می‌شود که تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)[1] و دفاع ضداکسنده در بخش‌های مختلف گیاه از بین برود (Bai and Sui, 2006). خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که منجر به تولید فرآورده‌های زیان‌آوری شده که سبب بهم خوردن تعادل تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن که شامل رادیکال سوپر اکساید ($O_2^{\bullet-}$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل ($HO^{\bullet}$)، رادیکال الکاکسیل ($R\dot{O}$)، رادیکال پروکسیل (ROO°)، هیدروپراکسیدهای آلی (ROOH)، اکسیژن منفرد ($^1O_2$) و رادیکال پرهیدروکسیل ($HO_2^{\bullet}$)، می باشند می شود (Arora *et al.*, 2002). ROS به طور بالقوه دارای پتانسیلی است که با بسیاری از ترکیب های سلولی واکنش داده و سبب خسارت به غشا و سایر ماکرومولکول‌های ضروری از قبیل رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌شود (Blokhina *et al.*, 2002)، بنابراین میزان آن باید در سلول کنترل شود. گیاهان با دارا بودن سیستم ضداکسنده که شامل ترکیب های آنزیمی (سوپراکساید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز، اسکوربیت پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز) و غیر آنزیمی (اسید آسکوربیک، کارتنوئیدها، گلوتاتیون و توکوفرول) است، معمولاً سطوح ROS را در سلول در حد متعادل نگه می‌دارند (AL-Aghabary *et al.*, 2004).

سیلیکون (Si) بعد از اکسیژن دومین عنصر فراوان در روی زمین است. علی رغم فراوان بودن این ماده در سطح زمین به دلیل همراه بودن آن با سایر عناصر از دسترس گیاه خارج بوده و گیاهان تنها قادر به استفاده از فرم سیلسیلیک اسید ($Si(OH_4$) آن می باشند، و به دلیل این که در دسته عناصر ضروری برای رشد گیاهان قرار نگرفته توجه زیادی به نقش بیولوژیکی آن در گیاه نشده است (Epstein, 1999). اخیراً در پژوهش‌های صورت گرفته به اثرات مفید و حاصلخیزی آن اشاره شده است، به ویژه در زمان بروز تنش‌های محیطی که با افزایش در فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده و بالا رفتن محتوای اسمولیت‌ها، نقش مهمی را در ایجاد تحمل به تنش های زنده و غیر زنده در گیاهان ایفا می‌کند. این ماده همچنین با کاهش در میزان کاربرد علف کش ها و مواد سمی مانع از آلودگی محیط زیست از اثرات مضر ناشی از استعمال سموم کشاورزی می‌شود (Epstein, 1994). در مقالاتی که اثرات سیلیکون بر روی گیاهان مورد بررسی قرار گرفته، گزارش شده است که سیلیکون باعث افزایش رشد گیاهان می‌گردد، همچنین در بسیاری از موارد با تحریک رشد، افزایش در

1- Reactive Oxygen Species

فعالیت آنزیم های ضد اکسنده و کاهش میزان ROS در سلول های گیاهی موجب حفاظت گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (Epstein, 1994). طی آزمایشی گانگ و همکاران (Gong *et al.*, 2005) اثرات سیلیکون را بر روی گندم تحت تنش خشکی مورد مطالعه قرار دادند، آنان دریافتند که در خشکی، کاربرد Si باعث افزایش در فعالیت آنزیم های ضداکسنده (SOD، CAT و GR) می گردد، نتایج حاصل از بررسی آنان نشان داد که تنش خشکی منجر به افزایش در میزان H_2O_2 گردید در حالی که Si میزان H_2O_2، فعالیت اسید فسفولیپاز (AP) و خسارات ناشی از تنش اکسید کننده را کاهش داده است.

گانز و همکاران (Gunes *et al.*, 2007) اثرات سیلیکون را بر میزان فعالیت ضداکسنده‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در ۱۰ رقم اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) تحت تنش خشکی بررسی نموده و ملاحظه کردند که میزان فعالیت آنزیم SOD در برخی ارقام کاهش و در برخی دیگر افزایش می یابد، در صورتیکه در مطالعه آن ها فعالیت این آنزیم در تیمار سیلیکون در تمام ارقام افزایش نشان داده است. آنان همچنین دریافتند که تحت تنش خشکی فعالیت آنزیم CAT به طور معنی داری کاهش می یابد در حالی که تیمار با سیلیکون منجر به افزایش فعالیت این آنزیم در برخی ارقام اسفناج گردید. رامرو و همکاران (Romero-Aranda *et al.*, 2006) نشان دادند که سیلیکون سبب افزایش رشد گیاه گوجه فرنگی تحت تنش شوری می‌گردد. طی این بررسی رقم Moneymaker گوجه فرنگی تحت دو تیمار ۰ و ۸۰ میلی‌مولار NaCl همراه با ۰ و ۲/۵ میلی‌مولار Si کشت گردید. نتایج آزمایش نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میزان آب جذب شده توسط گیاه طی تیمارهای مختلف وجود نداشت، اما محتوای آب گیاه در نمونه‌هایی که در معرض NaCl قرار گرفته بودند در اثر اعمال Si ۴۰٪ بیشتر از گیاهانی بود که فاقد Si بودند. آنان بیان داشتند که سیلیکون در نگهداری آب سلول دخیل بوده و همین امر باعث ایجاد تحمل و افزایش رشد گیاه در شرایط تنش می‌گردد. لی و همکاران (Li *et al.*, 2007) اثر سیلیکون را بر روی میزان تحمل به خشکی گیاه ذرت تحت شرایط گلخانه مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آزمایش آنان نشان داد که تحت شرایط تنش ملایم و شدید، تیمار سیلیکون باعث افزایش عملکرد گردید، همچنین در تیمار سیلیکون محتوای کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده POD، SOD و CAT در مقایسه با نمونه‌های شاهد افزایش یافت. علاوه بر آن، سیلیکون باعث افزایش نفوذپذیری غشاء پلاسمایی و میزان فتوسنتز گردید. آل-آقاباری و همکاران (Al-Aghabary *et al.*, 2004) اثر سیلیکون را بر روی تحمل به شوری در گوجه فرنگی بررسی کرده و گزارش نمودند که سیلیکون به طور ویژه‌ای باعث کاهش اثر منفی نمک و

ایجاد تحمل در گوجه فرنگی گردیده است.

در بین غلات گندم اهمیت ویژه‌ای دارد، چرا که این گیاه زراعی، یکی از محصولات غذایی عمده دنیای امروزی به شمار می‌رود. با توجه به نیاز شدید مردم به این محصول و نیز آب و هوای خشک و نیمه خشک ایران احساس می‌گردد که اقدام به تولید و عرضه محصولاتی با قابلیت تحمل بیشتر به شرایط تنش و عملکرد بالاتر ضروری است. این آزمایش با هدف بررسی اثرات سیلیکون بر محتوای پروتئین محلول کل، کلروفیل، میزان فعالیت آنزیم های ضداکسنده، محتوای H_2O_2 و میزان پرولین و گلایسین بتائین در شرایط تنش خشکی در گندم به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر سیلیکون در کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی در گندم دو ژنوتیپ ویری ناک و پیشتاز که بذر آنها از بخش تحقیقات غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردیده بود بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با سه تیمار شاهد، خشکی و سیلیکون+ خشکی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) سال ۱۳۸۷ مورد ارزیابی قرار گرفتند. این آزمایش در گلخانه با شرایط میانگین دمای حداقل و حداکثر به ترتیب ۱۷ و ۲۶/۵ درجه سانتی گراد و میزان رطوبت ۲۲ تا ۳۱ درصد انجام گرفت. کشت در گلدان های پلاستیکی با ابعاد ۴۵ سانتی متر که حاوی ۱۵ کیلوگرم خاک ترکیبی از ماسه، خاک زراعی و مواد آلی به نسبت ۱: ۱: ۱ بود صورت گرفت. به منظور اعمال تیمار سیلیکون (۲ میلی مولار سیلیکات سدیم / کیلوگرم خاک) به خاک گلدان ها اضافه گردید. تنش خشکی با کار گذاشتن بلوک گچی در گلدان‌ها که در شرایط آزمایشگاه در پتانسیل آب (-1MPa) کالیبره شده بودند اعمال گردید. قبل از کاشت بذرها ضدعفونی شدند، سپس به تعداد ۲۵ بذر در هر گلدان کاشته شد که پس از جوانه‌زنی با تنک کردن تعداد آن‌ها به ۱۵ بذر در هر گلدان رسید. نمونه برداری در مرحله ۴ برگی، زمانیکه پتانسیل آب در تیمار خشکی و سیلیکون+ خشکی به (-1MPa) رسید صورت گرفت. نمونه‌های یک گرمی از برگ‌های سالم هر بوته برداشت شده و بلافاصله بعد از قرار دادن در ورقه‌های آلومینیومی، در نیتروژن مایع منجمد گردیده و در پایان نمونه برداری در فریزر (-۸۰°C) قرار داده شدند. محتوای نسبی آب برگ Relative Water (Content) بر اساس روش شونفلد و همکاران (Schonfeld *et al.*, 1988)، با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$RWC\% = 100 \times (FW-DW)/(SW-DW)$$

که در این رابطه (FW)[1] وزن تر نمونه برگی، (SW)[2] وزن تورژسانس و (DW)[3]

1- Fresh Weight 2- Saturated Weight 3- Dry Weight

وزن خشک می‌باشد.

جهت استخراج پروتئین محلول کل، یک گرم بافت برگ در حضور بافر استخراج (فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷) و سدیم متابی سولفات) له شد. جهت عصاره گیری، مخلوط حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ انتقال داده شده و در ۱۵۰۰۰ rpm و دمای ۴°C به مدت ۳۰ دقیقه (Beckman Culter مدل Allegra-64 R) سانتریفیوژ گردید. میزان پروتئین محلول کل طبق روش بردفورد (Bradford, 1979) اندازه گیری شد. جهت رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی (BSA) استفاده گردید. میزان کلروفیل بر اساس روش آرنون (Arnon, 1949) محاسبه گردید.

فعالیت آنزیم‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکتروفتومتر Labomed مدل UV-3200) اندازه‌گیری شد. به منظور محاسبه فعالیت آنزیم کاتالاز از روش ابی (Aebi, 1984)، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز طبق روش ناکانو و اسادا (Nakano and Asada, 1987)، فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش چانس و مهلی (Chance and Maehly, 1955) و فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز طبق روش بیوشامپ و فریدوویچ (Beachamp and Fridovich, 1971) تعیین گردید. جهت آشکارسازی تغییرات مقدار پروتئین کل در طول دوره آزمایش از روش الکتروفورز پروتئین کل (SDS-PAGE) طبق روش لاملی (Laemmli, 1970) استفاده شد.

به منظور مشاهده باندهای پروتئینی از رنگ آمیزی کوماسی بلو بر اساس روش ریبیکی و پیروس (Rybicki and Purves, 2003) و برای جداسازی و الکتروفورز آنزیم‌های ضد اکسنده از روش الکتروفورز بومی ژل (Native-PAGE) طبق روش لاملی (Laemmli, 197) استفاده شد. رنگ‌آمیزی اختصاصی آنزیم کاتالاز بر اساس روش روبرتسون و همکاران (Robertson *et al.*, 1987) و آنزیم پراکسیداز بر اساس روش هارت و همکاران (Hart *et al.*, 1971)، رنگ‌آمیزی اختصاصی آنزیم سوپراکساید دیسموتاز طبق روش بیوشامپ و فریدوویچ (Beachamp and Fridovich, 1971) و رنگ آمیزی اختصاصی آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس روش رائو و همکاران (Rao *et al.*, 1996) انجام شد. برای الکتروفورز آنزیم‌های فوق از دمای ۴°C و ۲۵ میلی آمپر استفاده گردید.

استخراج پرولین از روش بیتز و همکاران (Bates *et al.*, 1973) با استفاده از بافت تر برگی و معرف ناین هیدرین اسید انجام شد. روش استخراج گلایسین بتائین در این آزمایش روش گریو و گراتان (Grieve and Grattan, 1983) بود. در این بررسی میزان گلایسین بتائین با استفاده از نمونه های خشک شده بافت برگ در حضور معرف یدید پتاسیم تخمین زده شد.

اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 و MSTATC تجزیه واریانس شدند. برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ استفاده گردید.

نتایج و بحث

خلاصه تجزیه واریانس داده‌ها برای صفات مختلف در جدول ۱ ارائه شده است.

محتوای نسبی آب برگ و رنگدانه‌های فتوسنتزی

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که در اثر تنش خشکی، محتوای نسبی آب برگ در هر دو ژنوتیپ گندم کاهش یافت که این کاهش در رقم پیشتاز چشمگیرتر بود (شکل ۱). نتایج مشابه‌ای توسط سایر محققان نیز گزارش شده است. شونفلد و همکاران (Schonfeld *et al.*, 1988) مشاهده کردند که در شرایط تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ در گندم کاهش یافت. آنها نتیجه گرفتند که اختلاف در محتوای نسبی آب برگ ممکن است ناشی از تفاوت در الاستیسیته دیواره سلولی باشد. جانسون و همکاران (Johnson *et al.*, 1984) طی آزمایشی اثر تنش خشکی را بر روی ارقام متحمل و حساس به خشکی گندم مورد مطالعه قرار دادند، آنان گزارش کردند دیواره سلولی ژنوتیپ متحمل گندم نسبت به ژنوتیپ حساس سخت‌تر است و همین امر سبب می‌شود محتوای نسبی آب ژنوتیپ متحمل در پتانسیل تورژسانس صفر بیش از رقم حساس باشد. همان گونه که در شکل ۱ دیده می‌شود محتوای نسبی آب برگ در اثر تیمار سیلیکون، تحت تنش در مقایسه با تیمار خشکی (در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود) افزایش یافت. در بافت‌های گیاهی، سیلیکون به فرم سیلیکا ($SiO_2.nH_2O$) در آپوپلاست دیواره سلولی رسوب کرده و باعث استحکام بافت می‌گردد (Sang *et al.*, 2002). زمانیکه دیواره سلولی سخت‌تر می‌شود، در اثر پسابیدگی برگ، کاهش بیشتری در پتانسیل آب اتفاق می‌افتد، پس در محتوای نسبی آب مورد نظر شیب پتانسیل آبی از برگ تا خاک در تیمار سیلیکون در مقایسه با تیمار شاهد منفی‌تر است، در نتیجه در این حالت گیاه برای گسترش شیب مورد نیاز جهت تأمین آب از خاک خشک، به تعرق کمتری نیاز دارد. سیلیکون با رسوب در دیواره خارجی سلول‌های اپیدرم برگ، میزان کاهش آب از طریق روزنه‌ها را پائین می‌آورد (Gong *et al.*, 2005). در بررسی‌های صورت گرفته مشخص شده است که برگ‌های گندمی که در شرایط تنش خشکی با سیلیکون خارجی تیمار گردیده‌اند، در مقایسه با نمونه‌های شاهد دارای بافت زبرتر و ضخیم‌تری هستند (Gong *et al.*, 2005)، بنابراین، سیلیکون با کاهش تعرق باعث ایجاد تحمل به خشکی می‌گردد.

همانگونه که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در اثر تیمار خشکی در هر دو ژنوتیپ گندم به طور

جدول ۱- خلاصه تجزیه واریانس برای صفات مختلف در ژنوتیپ گندم نان در شرایط تنش خشکی

Table 1. Summary of analysis of variance for different traits in bread wheat genotypes under drought stress conditions

			میانگین مربعات (MS)										
S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	پروتئین Protein	محتوای نسبی آب برگ RWC	کاتالاز CAT	سوپراکساید دیسموتاز SOD	آسکوربیت پراکسیداز APX	پراکسیداز POD	پرولین Proline	گلایسین بتائین Glycine betaeine
Treatment (T)	تیمار	2	2.498^{**}	1.704^{**}	83.07^{**}	658.7^{**}	3555.1^{**}	0.0001^{*}	17.75^{**}	0.013^{**}	0.413^{**}	318788^{**}	12445^{**}
Genotype (G)	ژنوتیپ	1	0.202^{**}	0.171^{**}	7.12^{**}	54.48^{**}	627.5^{**}	0.000^{**}	$6.88^{n.s}$	0.001^{**}	0.716^{*}	10271.9^{**}	3421.1^{**}
T × G	تیمار× ژنوتیپ	2	0.009^{ns}	0.036^{ns}	0.427^{ns}	9.85^{ns}	9.141^{ns}	0.000^{ns}	0.49^{ns}	0.000^{ns}	0.036^{**}	2314.3^{**}	355.9^{**}
Error	خطا	36	0.020	0.016	0.557	4.113	12.42	0.000	2.79	0.000	0.003	18.78	9.714
C.V.(%)	درصد ضریب تغییرات		11.8	15.7	12.01	6.39	5.88	10.6	6.62	10.8	11.3	1.98	2.15

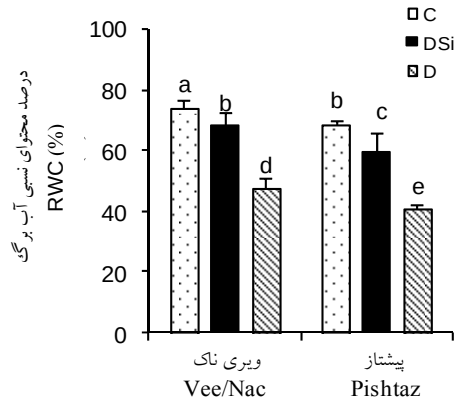
* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

ns : غیر معنی‌دار

* and ** : Significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively

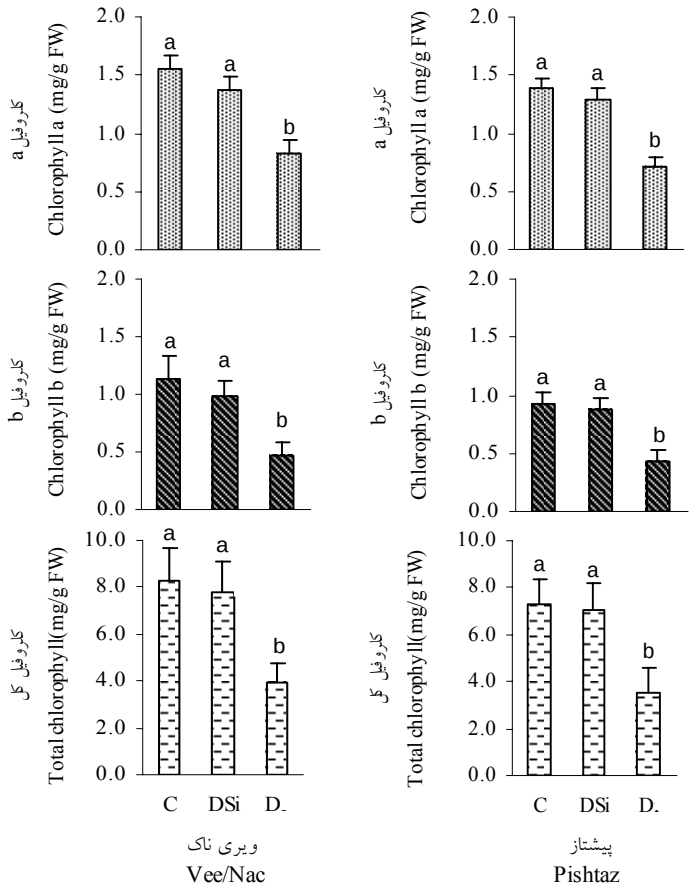
ns : Non-significant

CAT: Catalase, SOD: Superoxide dismutase, APX: Ascorbate peroxidase, POD: Peroxidase



شکل ۱- تغییرات محتوای نسبی آب برگ در رقم پیشتاز و ژنوتیپ ویری ناک بر اساس تیمار شاهد (C)، سیلیکون- خشکی (DSi) و خشکی (D).

Fig. 1. Variation in Relative Water Content of Pishtaz and Vee/Nac genotypes under Control (C), Silicon-Drought (DSi) and Drought (D) treatments.



شکل ۲- تغییرات محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل،در رقم پیشتاز و ژنوتیپ ویری ناک بر اساس تیمار شاهد (C)، سیلیکون- خشکی (DSi) و خشکی (D).

Fig. 2. Variation of Chl a, Chl b and Total Chl Content of Pishtaz and Vee/Nac genotypes under Control (C), Silicon-Drought (DSi) and Drought (D) treatments

معنـی‌داری کـاهش یافـت. کـاهش غلظـت کلروفیل در شرایط کم آبی می تواند بـه عنـوان یک عامل محدود کننده غیر روزنه‌ای به حساب آید. یکی از دلایل ایـن کـاهش افـزایش میـزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز است که تحت شـرایط تـنش بیـان ایـن آنـزیم القـاء مـی‌شـود (Ranjan *et al.*, 2001). از عوامـل دیگـر می‌تـوان بـه حملـه رادیکـال‌هـای آزاد، ناشـی از تنش اکسیدکننده اشاره کـرد. طـی ایـن بررسـی میـزان کلروفیـل a و کلروفیـل b در اثـر تـنش خشکی در مقایسه با شـاهد بـه ترتیـب بـه میـزان ۰/۸۳ و ۰/۶۶ در ژنوتیپ ویری ناک و به میـزان ۰/۶۷ و ۰/۴۹ میلی‌گرم بـر گـرم در رقـم پیـشتاز کاهش یافت، در تیمار خشکی دو ژنوتیپ فاقـد اخـتلاف معنـی‌دار بودنـد (شـکل ۲). بیـشتر مطالعات نشان می‌دهـد کـه تحـت شـرایط تـنش خـشکی کـاهش میـزان فتوسـنتز بـا اخـتلال در واکـنش‌هـای بیوشـیمیایی همـراه مـی باشـد، فتوسیـستم نـوری دو (PSII) بـسیار حـساس بـه عوامل بازدارنده محیطی بـوده و تـنش خـشکی موجب خسارت به مراکز واکنش PSII می‌شـود (Oncel *et al.*, 2000). بـا توجـه بـه داده‌هـای حاصل می‌توان نتیجه گرفت که میـزان خـسارت وارده به کلروفیل b تحـت تـنش خـشکی بیـشتر بـــوده اســـت. اونـــسل و همکـــاران (Oncel *et al.*, 2000) بیـان داشـتند کـه مقـدار زیادی از کلروفیل b موجود در کلروپلاسـت در کمپلکس‌های دریافت کننده نـور در فتوسیـستم II قـرار دارد. نـسبت کلروفیـل b بـه a در ایـن کمپلکس‌ها سه بـه یـک اسـت. در حالیکـه ایـن نسبت در کل کلروپلاست یک به سه است. ایـن محققـین بیـان مـی‌دارنـد کـه در شـرایط تـنش، کمپلکس‌های دریافت کننده نـور بیـشتر آسـیب می‌بینند که باعث کـاهش شـدید کلروفیـل b در کلروپلاست و افزایش نسبت a به b تحت تـنش خواهد شد. نتایج حاصل از ایـن آزمـایش نـشان می‌دهد کـه سـیلیکون باعـث کـاهش خـسارات ناشـی از تـنش گردیـده و میـزان رنگدانـه‌هـای فتنوسنتزی در اثر تیمـار سـیلیکون در مقایـسه بـا تیمار خشکی به طور معنی داری افزایش یافتنـد، بطوریکه میزان کاهش کلروفیل a و b طی تیمـار سیلیکون در مقایسه بـا تیمـار شـاهد در ژنوتیـپ ویری ناک به ترتیـب معـادل ۰/۱۸ و ۰/۱۶ و در رقم پیشتاز معادل ۰/۰۹ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر گرم بود که نشان‌دهنده عـدم اخـتلاف معنـی‌دار بـین تیمار شـاهد و سـیلیکون مـی‌باشـد (شـکل ۲). از جمله دلایـل افـزایش میـزان کلروفیـل در تیمـار سـیلیکون مـی‌تـوان بـه تـأثیر سـیلیکون در افـزایش کـارایی فتوسیـستم II اشـاره کـرد کـه توسـط آل-آقابـاری و همکـاران (Al-Aghabary *et al.*, 2004) در گیـاه گوجه‌فرنگی که تحت تنش شوری قـرار گرفتـه بود گزارش شده است.

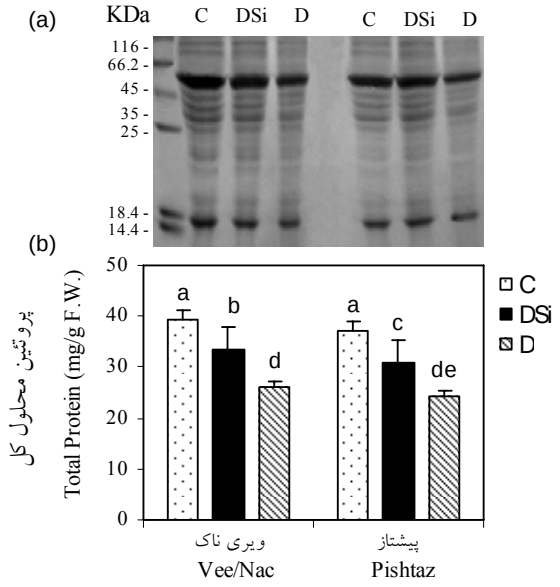
محتوای پروتئین محلول کل

میـزان پـروتئین محلـول کـل در اثـر تـنش خـشکی در هـر دو ژنوتیـپ کـاهش یافـت (شکل ۳). به نظر می‌رسـد کـه کـاهش محتـوای

پروتئین تحت تنش خشکی در نتیجه واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییر اسیدآمینه، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین، کاهش سنتز پروتئین و نیز تجمع اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین مرتبط است (Ranjan *et al.*, 2001). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که در تیمار سیلیکون- خشکی، سیلیکون مانع از کاهش پروتئین در شرایط تنش گردید که مطابق با الگوی باندی نتایج حاصل از ژل الکتروفورز SDS-PAGE می‌باشد، بطوریکه تفکیک باندهای پروتئینی در شکل ۳، نشان می‌دهد که میزان پروتئین زیر واحد بزرگ آنزیم رابیسکو در تیمار سیلیکون بیشتر از تیمار خشکی بود. افزایش میزان پروتئین محلول کل در اثر اعمال سیلیکون در گندم (Gong *et al.*, 2005) و سورگوم (Hart *et al.*, 1971) تحت تنش خشکی، در جو (Liang *et al.*, 2003)، خیار (Zhu *et al.*, 2004)، گوجه‌فرنگی (AL-Aghabary *et al.*, 2004) و ذرت (Mussa, 2006) تحت تنش شوری گزارش شده است که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که میزان تخریب پروتئین در شرایط تنش خشکی در ژنوتیپ ویری ناک کمتر از رقم پیشتاز است این اختلاف در تیمار سیلیکون چشمگیرتر است (شکل ۳). به نظر می‌رسد که افزایش در میزان پروتئین محلول در تیمار سیلیکون در مقایسه با تیمار خشکی بدلیل سنتز پروتئین‌های جدید و یا افزایش سطح پروتئین‌های مرتبط با سازگاری و تطابق گیاه به شرایط خشکی می‌باشد، که می‌توان به آنزیم‌های ضداکسنده اشاره کرد که در تیمار سیلیکون به میزان زیادی افزایش پیدا کرد.

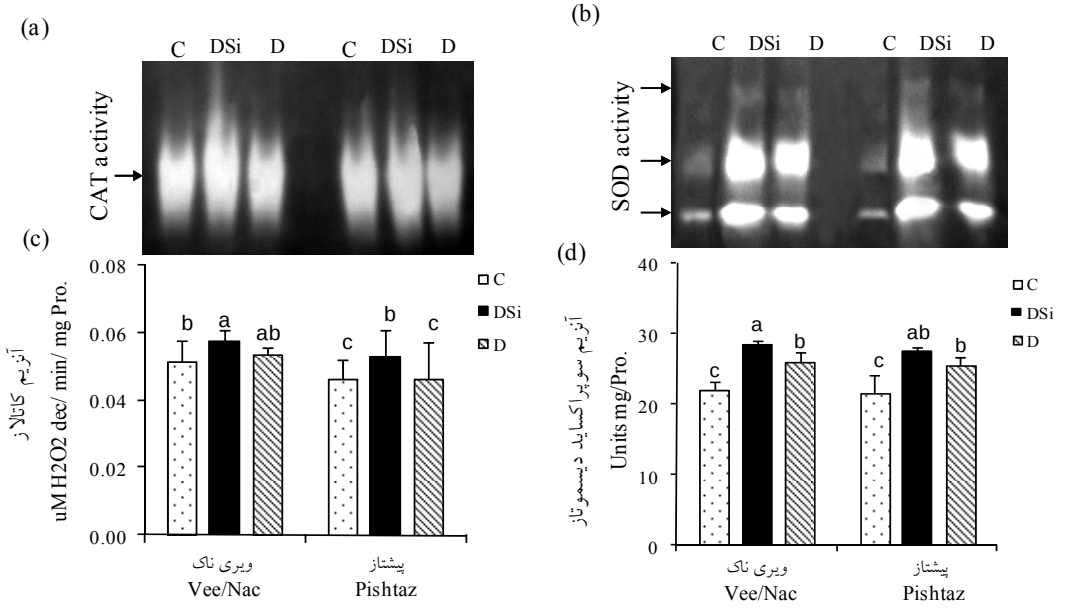
فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده

در تنش خشکی به علت عدم توازن بین دریافت نور و مصرف آن، فعالیت فتوسنتزی مختل می‌گردد. تنظیم نامناسب فتوسیستم II موجب عدم توازن بین تولید و مصرف الکترون گشته که منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن ROS می‌شود. رادیکال‌های آزاد اکسیژن علاوه بر صدمه به سلول‌های گیاهی، به عنوان مولکول‌های نشانگر عمل کرده و سبب فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی موجود زنده در برابر تنش اعمال شده می‌گردند (Arora *et al.*, 2002). همانگونه که ذکر شد گیاهان به منظور خنثی کردن اثرات سمی گونه‌های واکنش‌زای اکسیژن از دو سیستم ضداکسندگی آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند. در این تحقیق فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده APX، SOD و POD در اثر تنش خشکی در هر دو ژنوتیپ گندم به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. در حالیکه تحت این شرایط تغییری در میزان فعالیت آنزیم CAT مشاهده نگردید و همانگونه که در شکل ۴-a دیده می‌شود، میزان فعالیت این آنزیم در اثر تیمار شاهد و خشکی فاقد اختلاف معنی‌دار بود.



شکل ۳- پروفایل (a) و تغییرات غلظت پروتئین محلول کل (b) در رقم پیشتاز و ژنوتیپ ویری ناک بر اساس تیمار شاهد(C)، سیلیکون-خشکی (Si) و خشکی (D).

Fig. 3. Electrophoresis pattern by SDS-PAGE (a) and variation in total soluble protein content (b) in Pishtaz and Vee/Nac genotypes under Control (C), Silicon-Drought (DSi) and Drought (D) treatments.



شکل ۴- پروفایل (a و b) و تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز (c) و سوپراکساید دیسموتاز (d) در رقم پیشتاز و ژنوتیپ ویری ناک بر اساس تیمار شاهد (C)، سیلیکون-خشکی (Si) و خشکی (D).

Fig. 4. Electrophoresis pattern by Native-PAGE (a and b) and variation in CAT (c) and SOD activity (d) in Pishtaz and Vee/Nac genotypes under Control (C), Silicon-Drought (DSi) and Drought (D) treatments.

بای و سوئی (Bai and Sui, 2006) دریافتند که در گیاه ذرت تحت شرایط تنش خشکی تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم CAT در مقایسه با نمونه‌های شاهد مشاهده نگردید. در این تحقیق تیمار سیلیکون باعث افزایش در میزان فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده CAT، SOD، APX و POD در هر دو رقم گردید (شکل ۴ و ۵)، بطوریکه افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در تیمار سیلیکون- خشکی در مقایسه با تیمار خشکی معنی‌دار بود. همچنین تغییراتی که در مورد نحوه بیان و فعالیت آیزوزایم‌های این آنزیم‌ها بر روی ژل اکریل آمید مشاهده شد (شکل ۴ و۵)، بر اساس نتایج حاصل از سنجش اسپکتروفتومتری قابل پیش‌بینی بود. آنزیم سوپراکساید دیسموتاز اولین خط دفاعی سلول در برابر حمله رادیکال‌های آزاد است. تیمار سیلیکون- خشکی به طور معنی‌داری باعث افزایش در فعالیت آنزیم SOD گردید، بطوریکه در اثر این تیمار ۴ آیزوزایم این آنزیم تظاهر یافت (شکل b- ۴). آل-آقاباری و همکاران(AL-Aghabary *et al.*, 2004) گزارش کردند که تنش شوری باعث کاهش در فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD می‌گردد، در حالیکه در تیمار سیلیکون فعالیت این دو آنزیم افزایش پیدا کرد.

همانگونه که در شکل b-۴ دیده می‌شود میزان فعالیت آنزیم SOD طی دو تیمار خشکی و سیلیکون- خشکی در ژنوتیپ ویری ناک بیشتر از رقم پیشتاز بود. تنش خشکی با افزایش در محتوای رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث افزایش در محتوای مالون دی آلدئید[1] که محصول پراکسیداسیون چربی‌های غشاء است می‌گردد، در اثر این تیمار فعالیت آنزیم SOD کاهش می‌یابد سیلیکون باعث افزایش در میزان فعالیت این آنزیم می‌گردد و مقدار این افزایش در رقم ویری ناک چشمگیرتر از رقم پیشتاز بوده است (Liang *et al.*, 2003).

در بافت‌های گیاهی دو آنزیم کاتالاز و آسکوربیت پراکسیداز نقش مهمی در زدودن پراکسید هیدروژن ایفا می‌کنند، در نتیجه در راستای افزایش فعالیت آنزیم SOD، افزایش فعالیت این دو آنزیم نیز قابل پیش‌بینی است. همانگونه که پیشتر ذکر شد میزان فعالیت آنزیم CAT تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگرفت و در هر دو تیمار (شاهد و خشکی) میزان فعالیت این آنزیم فاقد اختلاف معنی‌دار بود، در حالیکه در اثر تیمار سیلیکون فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو رقم افزایش یافت (شکل a-۴). این آنزیم قادر است بدون نیاز به عامل احیاءکننده، H_2O_2 موجود در سلول را به H_2O و O_2 تبدیل کند. حدود ۹۰ درصد از ماده خشک گیاهی از تثبیت CO_2 بوسیله آنزیم روبیسکو حاصل می‌شود (Brisson *et al.*, 1998)، این آنزیم دارای نقش دوگانه بوده و قادر است با اکسیژن نیز واکنش داده و به جای فسفوگلیسرات، فسفوگلیکولات تولید کند که در نهایت به

1- Malondialdehyde

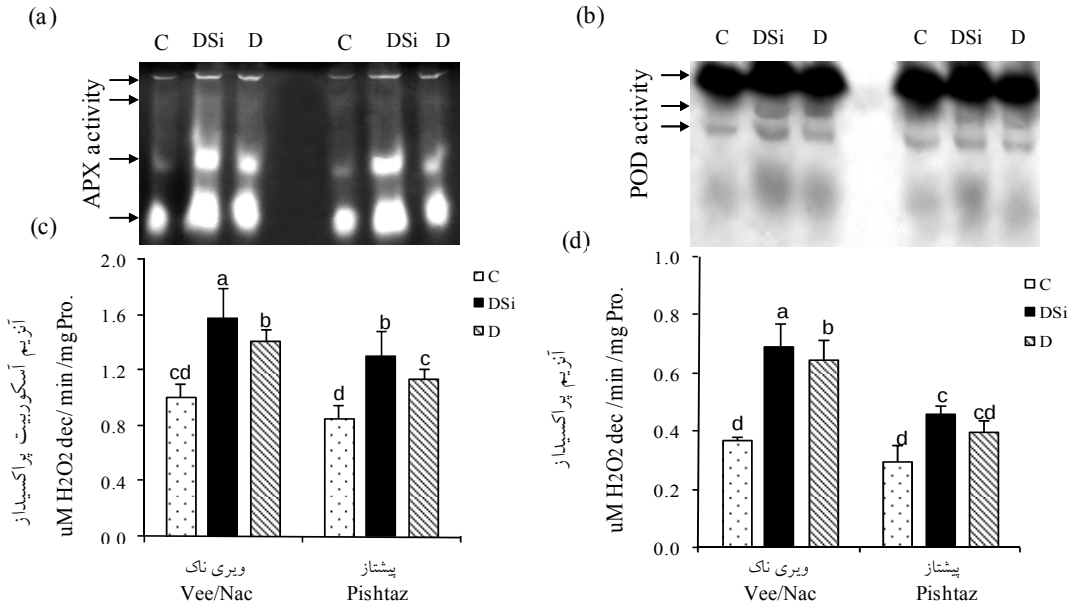
آزاد شدن CO_2 می‌انجامد. H_2O_2 اضافی در دمای بالا از طریق دکربوکسیلاسیون فسفوگلیکولات به آزاد شدن CO_2 و تسریع تنفس نوری کمک می‌کند و از آنجائیکه تنفس نوری با تولید CO_2 و مصرف ATP همراه است زائد به نظر می‌رسد (Brisson *et al.*, 1998). بنابراین با افزایش میزان کاتالاز به دلیل نقش آن در زدودن H_2O_2 از محیط، به کاهش تنفس نوری و کاهش نقطه جبرانی CO_2 نیز کمک می‌کند. کاتالاز علاوه بر اینکه H_2O_2 را از محیط حذف می‌کند کمبود اکسیژن حاصل از واکنش مهلر را نیز جبران می‌کند. بنابراین ارتباط بین تحمل به خشکی در اثر اعمال سیلیکون با فعالیت کاتالاز ممکن است علاوه بر نقش ضداکسندگی آن، به نحوه عمل این آنزیم در کاهش تنفس نوری مرتبط باشد. موسی (Mussa, 2006) بالاترین میزان فعالیت آنزیم CAT و SOD را در اثر تیمار سیلیکون در نمونه‌های ذرت که در معرض تنش شوری قرار گرفته بودند گزارش کرد. او اظهار داشت که اعمال سیلیکون باعث افزایش میزان فعالیت این دو آنزیم در گیاهانی که در شرایط طبیعی رشد کرده و فاقد تنش می‌باشند نیز می‌گردد.

معمولاً فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز در طول فعالیت سایر آنزیم‌های ضداکسنده در واکنش به فاکتورهای تنش‌زا افزایش می‌یابد. همانگونه که در شکل a-۵ دیده می‌شود، بالاترین فعالیت این آنزیم در تیمار سیلیکون مشاهده می‌گردد. یکی از منابع تولیدکننده H_2O_2 در سلول‌های گیاهی آنزیم SOD است که از طریق دیسموتاسیون رادیکال سوپراکساید در کلروپلاست منجر به تولید H_2O_2 می‌گردد (Arora *et al.*, 2002). همانگونه که ذکر شد آنزیم کاتالاز قادر به زدایش H_2O_2 از محیط می‌باشد، اما از آنجائیکه این آنزیم در پراکسی‌زوم سلول‌های برگی واقع شده و در کلروپلاست یافت نمی‌شود، بنابراین H_2O_2 تولید شده در کلروپلاست بوسیله دو فرم tAPX[1] و sAPX[2] از محیط حذف می‌گردند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که به موازات افزایش فعالیت آنزیم SOD، میزان فعالیت آنزیم APX نیز افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر در اثر اعمال سیلیکون میزان فعالیت آنزیم APX در مقایسه با تیمار افزایش یافت که میزان فعالیت آن در ژنوتیپ ویری ناک بیشتر بود و همانگونه که در شکل a-۵ دیده می‌شود آیزوزایم‌های این آنزیم تحت تیمار سیلیکون دارای باندهای پررنگتری در مقایسه با تیمارهای شاهد و خشکی می‌باشد.

نظام پراکسیداز گیاهان به صورت آیزوفرم‌های چندگانه موجود است که به طور دقیق تنظیم شده و در پاسخ به محرک‌های محیطی فعال می‌گردد. افزایش در فعالیت این آنزیم از جمله پاسخ‌های عمومی به انواع

1- Thylakoid-membrane bound ascorbate peroxidase

2- Stromal ascorbate peroxidase



شکل ۵- پروفایل (a و b) و تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (c) و پراکسیداز (d) در رقم پیشتاز و ژنوتیپ ویری ناک بر اساس تیمار شاهد (C)، سیلیکون-خشکی (Si) و خشکی (D).

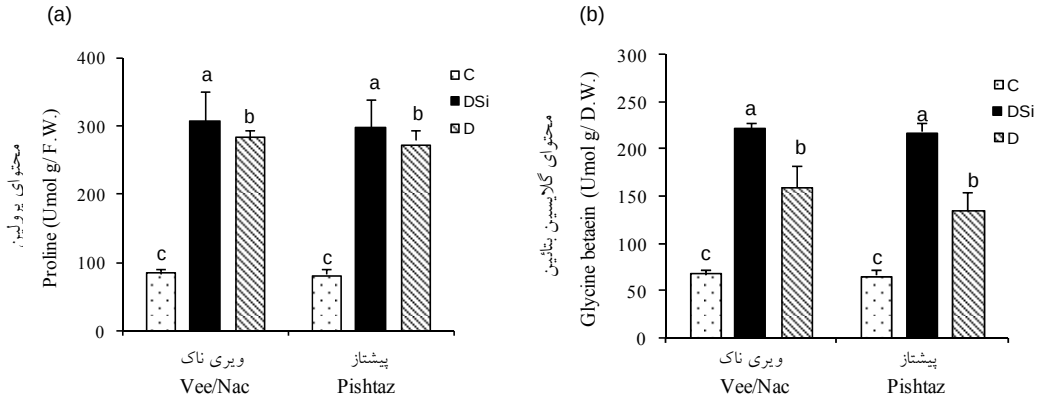
Fig. 5. Electrophoresis pattern by Native-PAGE (a and b) and variation in APX (c) and POD activity (d) and in Pishtaz and Vee/Nac genotypes under Control (C), Silicon-Drought (DSi) and Drought (D) treatments.

تنش‌های اکسیدکننده می‌باشد و گزارش شده است که آیزوزایم‌های پراکسیداز نقش کلیدی در تحمل به تنش دارند. در این تحقیق فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر تنش افزایش یافت که تیمار سیلیکون باعث تشدید فعالیت این آنزیم گردید. نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که ژنوتیپ ویری ناک قادر به افزایش بیشتری در میزان فعالیت این آنزیم می‌باشد (شکل b-۵) و از آنجائیکه این آنزیم کارایی بالایی در محافظت از نظام‌های گیاهی در برابر تنش‌های اکسید کننده دارد، بنابراین می‌توان یکی از دلایل افزایش تحمل این ژنوتیپ در شرایط تنش خشکی را افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز دانست. افزایش فعالیت پراکسیداز در اثر تنش خشکی در برنج نیز گزارش شده است (Sharma and Dubey, 2005)، در بررسی‌هایی که بر روی برنج در مرحله نشائی صورت گرفت، مشخص گردید که افزایش فعالیت پراکسیداز در گیاهان تحت تنش خشکی با واکنش‌های اکسیدکننده بوجود آورنده رادیکال‌های آزاد و پراکسیدهای آلی همبستگی دارد و POD نقش موثری در پاکسازی H_2O_2 دارد.

محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی

در شرایط تنش خشکی میزان پرولین و

گلایسین بتائین در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت (شکل a- ۶). تجمع این اسید آمینه در برگ ممکن است از طریق کاهش پتانسیل اسمزی و پتانسیل آب سلول، امکان ادامه جذب آب را برای سلول فراهم کند. همانگونه که در شکل a- ۶ مشاهده می‌شود، سیلیکون باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان پرولین در شرایط تنش خشکی گردید و دو ژنوتیپ اختلاف معنی دار از نظر تجمع محتوای پرولین آزاد برگ نداشتند. افزایش غلظت پرولین آزاد در برگ غلات در شرایط تنش خشکی بوسیله سایر محققان نیز گزارش شده است.



شکل ۶- تغییرات محتوای میزان پرولین (a) و گلایسین بتائین (b) در رقم پیشتاز و ویری ناک بر اساس تیمار شاهد (C)، سیلیکون-خشکی (Si) و خشکی (D).

Fig. 6. Variation of Proline (a) and Glycine betaein (b) Content of Pishtaz and Vee/Nac genotypes under Control (C), Silicon-Drought (DSi) and Drought (D) treatments

در بررسی‌های انجام شده توسط آل-آقابراری و همکاران (AL-Aghabary *et al.*, 2004) و موسی (Mussa, 2006) که اثر سیلیکون را در شرایط تنش شوری به ترتیب در گیاه گوجه‌فرنگی و ذرت مورد مطالعه قرار دادند، میزان پرولین در تیمار شوری و تیمار سیلیکون بدون NaCl افزایش یافت ولی در اثر تیمار سیلیکون- شوری تجمع میزان پرولین در مقایسه با نمونه شاهد معنی‌دار نشد.

میزان تجمع گلایسین بتائین نیز در اثر تیمار خشکی و سیلیکون- خشکی در هر دو رقم افزایش یافت (شکل b- ۶). نتایج این آزمایش با بررسی‌های انجام شده توسط نایدو و همکاران (Naidu *et al.*, 2003)، که میزان تجمع گلایسین بتائین را تحت تنش خشکی در گیاه پنبه مورد مطالعه قرار دارند مطابقت دارد. گلایسین بتائین یک ترکیب آمفوتری است که از نظر الکتریکی خنثی بوده و در محدوده وسیعی از pH های فیزیولوژیکی فعال است.

ساختار مولکولی گلایسین بتائین به آن این امکان را می‌دهد که با دمین‌های آب گریز و آب دوست مولکول‌های پروتئین و آنزیم‌ها برهم کنش داشته باشد (Sakamoto and Murata, 2002). شوبرت (Schobert, 1977) بیان داشت که گلایسین بتائین بواسطه یک لایه آبی، اطراف پروتئین‌ها را احاطه می‌کند. این فعالیت هیدراسیونی ویژه، در زمان وقوع تنش مانع از صدمات اکسیدکننده به پروتئین‌ها می‌شود. بر اساس نظریه شوبرت در پروتئین‌های آب گریز، گلایسین بتائین به دمین‌های آب گریز پروتئین متصل شده و لایه‌های آبی که در این اتصال وجود دارند، در زمان تنش آزاد شده و در دسترس سلول قرار می‌گیرند. گلایسین بتائین با این عمل دمین‌های آب گریز پروتئین را در برابر مولکول‌های آب قابل دسترس کرده و باعث افزایش سطح تماس مولکول‌های آب با پروتئین می‌گردد، در نتیجه از واسرشتگی پروتئین که در اثر پسابیدگی صورت می‌گیرد ممانعت می‌کند. در تحقیق حاضر دو ژنوتیپ گندم از نظر میزان تجمع گلایسین بتائین اختلاف معنی دار نداشتند.

نتیجه گیری کلی

براساس نتایج این تحقیق سیلیکون با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده و کاهش محتوای رادیکال‌های آزاد در سلول، مانع از خسارات اکسنده به سلول‌های گیاهی شد، همچنین این ماده با بالا بردن محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین و گلایسین بتائین) و حفظ تعادل آبی سلول از کاهش شدید محتوی نسبی آب برگ جلوگیری کرد که این امر سبب پایداری ساختار سلول در برابر تنش کم آبی شد. با توجه به اینکه این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای انجام شد پیشنهاد می‌شود که در شرایط مزرعه‌ای و در شرایط تنش‌های مختلف محیطی، برای گندم و سایر گیاهان نیز مورد ارزیابی قرار گیرد تا بتوان با اطمینان بیشتری در مورد مصرف کودهای سیلیکون که حاوی فرم قابل دسترس آن ($Si_2(OH)_4$) می‌باشند، اظهارنظر کرد.

References

Aebi, H. E. 1984. Catalase *in vitro*. Methods Enzymology 105: 121-126.

AL-Aghabary, K., Zhujun, Z., and Qinhua, S. 2004. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. Plant Nutrition 27: 2101-2115.

Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Poly pheol oxide in *Beta vulgaris.* Plant Physiology 24: 1-15.

Arora, A., Sairam, R. K., and Srivastava, G. C. 2002. Oxidative stress and antioxidant system in plants. Plant Physiology 82: 1227-1237.

Bai, L., and Sui, F. 2006. Effect of soil drought stress on leaf of maize. Pedosphere 16: 326-332.

Bates, L. S., Waldron, R. P., and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-217.

Beachamp, C., and Fridovich, F. 1971. Superoxide dismutase: cadmium assay and an assay applicable to acryl amide gels. Annual Biochemistry 44: 276-27.

Blokhina, O., Virolainen, E., and Fagested, K. 2002. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annual of Botany 91: 179-194.

Bradford, M. M. 1979. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Brisson, L., Zelitch, I., and Havir, E. 1998. Manipulation of catalase levels produces altered photosynthesis in transgenic tobacco plants. Plant Physiology 116:259-269.

Chance, B., and Maehly, A. 1955. Assay of catalase and peroxidase. Methods Enzymology 2: 764-817.

Epstein, E. 1994. The anomaly of silicon in plant biology. Proceedings of the National Academy of Science 91: 11-17.

Epstein, E. 1999. Silicon. Plant Physiology 50: 641-664.

Gong, H. Z., Chen, K., Wang, S., and Zhang, C. 2005. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. Elesevier Science, Shannon, IRLANDE 169: 313-321.

Grieve, C. M., and Grattan, S. R. 1983. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. Plant Soil 70: 303-307.

Gunes, A., Inala, A., Bagcia, E. G., Cobana, S., and Pilbeam, D. J. 2007. Silicon mediates changes to some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach (*Spinacia oleracea* L.) grown under B toxicity. Scientia Horticulture 113: 113-119.

Hart, M. A., Tyson, H., and Bloomberg, B. 1971. Measurement of activity of peroxidase isoenzymes in flax. Biochemical and Biophysical Research Communications 92: 247-250.

Hattori, T., Inanaga, S., Araki, H., An, P., Morita, S., Miroslavaluxova, M., and Lux, A. 2005. Application of silicon enhanced drought tolerance in sorghum bicolor. Physiologia Plantarum 123: 459-466.

Johnson, R. C., Nguyen, H. T., and Croy, L. 1984. Osmotic adjustment and solute accumulation in two wheat genotype differing in drought resistance. Crope Science 24: 947-962.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage *T4*. Nature 227: 680-685.

Li, Q. F., Ma, C. C., and Shang, Q. L. 2007. Effects of silicon on photosynthesis and antioxidative enzymes of maize under drought stress. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao18: 531-536.

Liang, Y., Chen, Q., Zhang, W., and Ding, R. 2003. Exogenous silicon increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in root of salt-stressed bareley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Physiology 160: 1157-67.

Mussa, H. R. 2006. Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). Agriculture and Biology Journal 2: 293-297.

Naidu, B. P., Cameron, D. F., and Konduri, S. V. 2003. Improving drought tolerance of cotton by glycinebetaine application and selection. CSIRO Tropical Agriculture, Cunningham Laboratory. 4067.

Nakano, Y., and Asada, K. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: in inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. Plant Cell Physiology 28: 131-140.

Oncel, I., Keles, Y., and Ustun, A. S. 2000. Interactive of temperature and heavy metal stress on the growth and some biological compounds in wheat seedling. Environmental Pollution 107: 315-320.

Ranjan, R., Bohra, S. P., and Jeet, A. M. 2001. Book of plant senescence. Jodhpur, Agrobios New York. Pp. 18-42.

Rao, M. V., Paliyath, G., and Ormrod, D. P. 1996. Ultraviolet-B and ozone- induced of protein biochemical change in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiology 110: 125-136.

Robertson, E. F., Dannelly, H. K., Malloy, P. J., and Reeves, H.C. 1987. Rapid isoelectric focusing in a vertical polyacrylamide minigel system. Annual Biochemistry 167: 290-294.

Romero-Aranda, M. R., Jurado, O., and Cuartero, J. 2006. Alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. Plant Physiology 163: 847-855.

Rybicki, E. D., and Purves, M. 2003. SDS polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Department of Microbiology, University of Cape Town.

Sakamoto, A., and Murata, N. 2002. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress. Plant Cell and Environment 25: 163-171.

Sang, G. K., Ki, W. K., Eun, W. P., and Doil, C. 2002. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: A possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. Phytopathology 92: 1095-1103.

Schobert, B. 1977. Is there an osmotic regulatory mechanism in algae and higher? Theoretical Biology plants 68: 17–26.

Schonfeld, M. A., Jhonson, R., Carver, B. F., and Mornhinweg, D. W. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. Crop Science 28: 526-531.

Sharma, P., and Dubey, R. S. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation 46: 209-221.

Spra, V. T. E., Savage, A. Anele, O., and Beyl, C. A. 1991. Varietal difference of wheat and triticale to water stress. Crop Science 167: 23-28.

Zhu, Z., Wei, G., Li, J., Qian, Q., and Yu, J. 2004. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). Plant Science 167: 527-533.