

اثر سیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند 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 طالع احمد^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

طالع احمد، س. و حداد، ر. ۱۳۸۹. اثر سیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند و محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی در دو ژنوتیپ گندم نان در شرایط تنش خشکی. مجله به‌زراعی نهال و بدر ۲-۲۶ (۲): ۲۰۷-۲۲۵.

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.) ویری ناک و پشته‌از آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با اعمال سه تیمار شاهد، خشکی و سیلیکون- خشکی (۲ میلی مولار سیلیکات سدیم / کیلوگرم خاک) در سه تکرار در گلخانه اجرا شد. بدین منظور محتوای پرولین و گلاسیسین بتائین، فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند 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 گلاسیسین بتائین گردید. اثر سیلیکون در ژنوتیپ ویری ناک بیشتر از رقم پشته‌از 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 ضد اکسند 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، گلاسیسین بتائین و محتوای نسبی آب برگ.

مقدمه

اسید آسکوربیک، کارتنوئیدها، گلوکاتیون 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. علی‌رغم 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 سیلیسیک اسید Si(OH)_4 آن می‌باشند، 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 تنش‌های زنده و غیر زنده در گیاهان ایفا می‌کند. این ماده همچنین با کاهش در میزان کاربرد علف کش‌ها 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

تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده محصولات کشاورزی در سطح جهان هستند، تنش موجب می‌شود که تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)^۱ 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^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل (HO^\bullet)، رادیکال الکاکیل (RO^\bullet)، رادیکال پروکسیل (ROO^\bullet)، هیدروپراکسیدهای آلی (ROOH)، اکسیژن منفرد ($^1\text{O}_2$) و رادیکال پرهیدروکسیل (HO_2^\bullet)، می‌باشند می‌شود (Arora *et al.*, 2002). ROS به طور بالقوه دارای پتانسیلی است که با بسیاری از ترکیب‌های 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 ترکیب‌های آنزیمی (سوپراکساید دی‌سموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، گلوکاتیون پراکسیداز، اسکوربیت پراکسیداز و گلوکاتیون ردوکتاز) و غیر آنزیمی

1- Reactive Oxygen Species

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 ضد اکسند 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

فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند و کاهش میزان ROS در سلول‌های 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 آنزیم‌های ضد اکسند (SOD، CAT و GR) می‌گردد، نتایج حاصل از بررسی آنان نشان داد که تنش خشکی منجر به افزایش در میزان H₂O₂ گردید در حالی که Si میزان H₂O₂، 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 ضد اکسند‌های 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 می‌یابد، در صورتیکه در مطالعه آن‌ها 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 معنی‌داری کاهش می‌یابد 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

و میزان رطوبت ۲۲ تا ۳۱ درصد انجام گرفت. کشت در گلدان‌های 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 گلدان‌ها 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 برگگی، 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 (-80°C) قرار داده شدند. محتوای نسبی آب برگ $\text{Relative Water Content}$ (بر اساس روش شونفلد و همکاران (Schonfeld et al., 1988))، با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

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

که در این رابطه (FW)^۱ وزن تر نمونه برگگی، (SW)^۲ وزن تورژسانس و (DW)^۳

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 آنزیم‌های ضد اکسنده، محتوای H_2O_2 و میزان پرولین و گلایسین بتائین در شرایط تنش خشکی در گندم به اجرا درآمد.

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 بین‌المللی 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 سانتی‌گراد

1- Fresh Weight

2- Saturated Weight

3- Dry Weight

به منظور مشاهده باندهای پروتئینی از رنگ آمیزی کوماسی بلو بر اساس روش ریبیک و پیروس (Rybicki and Purves, 2003) و برای جداسازی و الکتروفورز آنزیم‌های ضد اکسنده از روش الکتروفورز بلو-سومی ژل (Native-PAGE) طبق روش لاملی (Laemmli, 197) استفاده شد. رنگ آمیزی 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)، رنگ آمیزی 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 4°C و 25 میلی آمپر استفاده گردید.

استخراج پرولین از روش بیتز و همکاران (Bates *et al.*, 1973) با استفاده از بافت تر برگ 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.

وزن خشک می‌باشد.

جهت استخراج پروتئین محلول کل، یک گرم بافت برگ در حضور بافر استخراج (فسفات پتاسیم 50 میلی مولار ($\text{pH}=7$) و سدیم متابی سولفات) له شد. جهت عصاره گیری، مخلوط حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ انتقال داده شده و در 15000 rpm و دمای 4°C به مدت 30 دقیقه (Beckman Culter مدل Allegra-64) 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) اندازه گیری 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.

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 ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) در آپوپلاست دیواره سلولی رسوب کرده و باعث استحکام بافت می‌گردد (Sang *et al.*, 2002). زمانیکه دیواره سلولی سخت‌تر می‌شود، در اثر پسایدگی 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

اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 و MSTATC تجزیه واریانس شدند. برای مقایسه میانگین‌ها 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

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	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	گلیسین بتائین Glycine betaine
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 ^{ns}	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

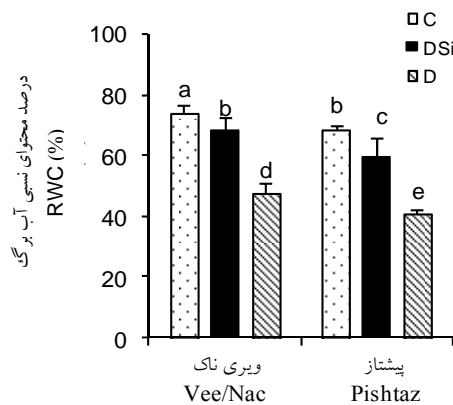
* and **: Significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively

ns : Non-significant

* و **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

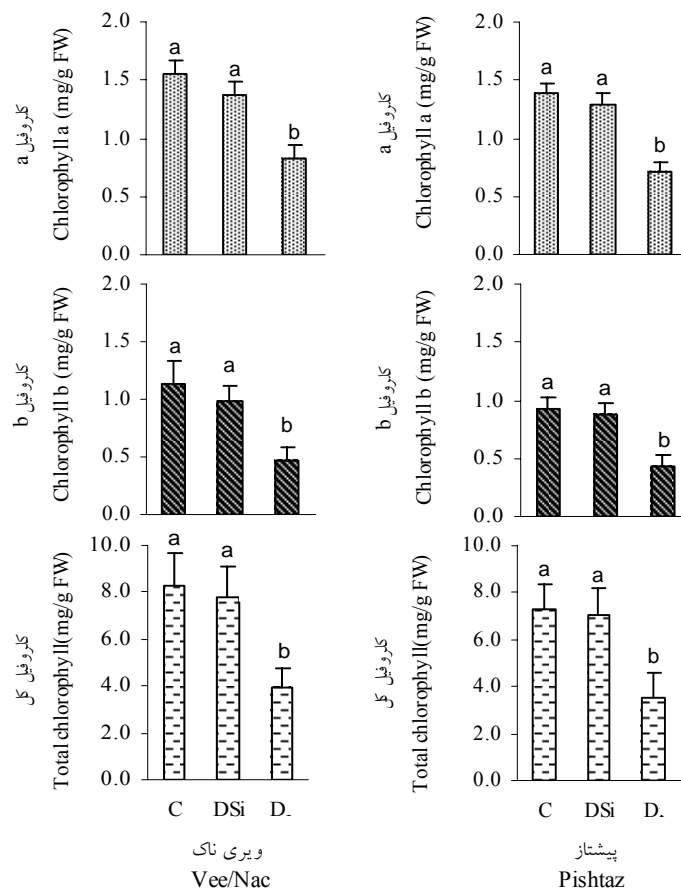
ns : غیر معنی دار

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

کمپلکس‌ها سه به یک است. در حالیکه این نسبت در کل کلروپلاست یک به سه است. این محققین بیان می‌دارند که در شرایط تنش، کمپلکس‌های دریافت کننده نور بیشتر آسیب می‌بینند که باعث کاهش شدید کلروفیل b در کلروپلاست و افزایش نسبت a به b تحت تنش خواهد شد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که سیلیکون باعث کاهش خسارات ناشی از تنش گردیده و میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در اثر تیمار سیلیکون در مقایسه با تیمار خشکی به طور معنی داری افزایش یافتند، بطوریکه میزان کاهش کلروفیل a و b طی تیمار سیلیکون در مقایسه با تیمار شاهد در ژنوتیپ ویری ناک به ترتیب معادل ۰/۱۸ و ۰/۱۶ و در رقم پیشتاز معادل ۰/۰۹ و ۰/۰۵ میلی گرم بر گرم بود که نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمار شاهد و سیلیکون می‌باشد (شکل ۲). از جمله دلایل افزایش میزان کلروفیل در تیمار سیلیکون می‌توان به تأثیر سیلیکون در افزایش کارایی فتوسیستم II اشاره کرد که توسط آل-آقاباری و همکاران (Al-Aghabary *et al.*, 2004) در گیاه گوجه‌فرنگی که تحت تنش شوری قرار گرفته بود گزارش شده است.

محتوای پروتئین محلول کل

میزان پروتئین محلول کل در اثر تنش خشکی در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت (شکل ۳). به نظر می‌رسد که کاهش محتوای

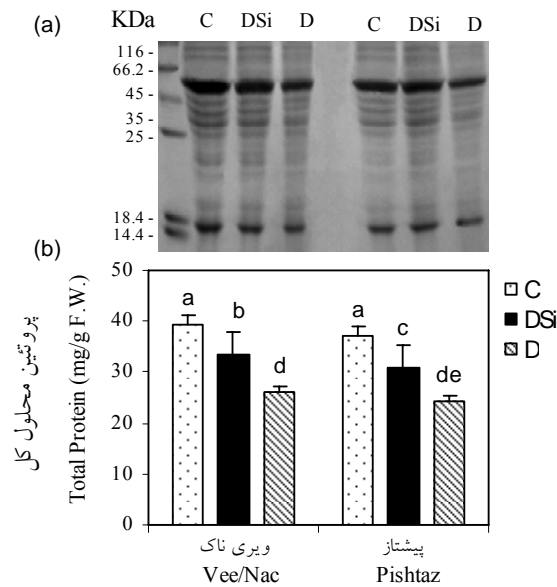
معنی‌داری کاهش یافت. کاهش غلظت کلروفیل در شرایط کم آبی می‌تواند به عنوان یک عامل محدود کننده غیر روزنه‌ای به حساب آید. یکی از دلایل این کاهش افزایش میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز است که تحت شرایط تنش بیان این آنزیم القاء می‌شود (Ranjan *et al.*, 2001). از عوامل دیگر می‌توان به حمله رادیکال‌های آزاد، ناشی از تنش اکسیدکننده اشاره کرد. طی این بررسی میزان کلروفیل a و کلروفیل b در اثر تنش خشکی در مقایسه با شاهد به ترتیب به میزان ۰/۸۳ و ۰/۶۶ در ژنوتیپ ویری ناک و به میزان ۰/۶۷ و ۰/۴۹ میلی گرم بر گرم در رقم پیشتاز کاهش یافت، در تیمار خشکی دو ژنوتیپ فاقد اختلاف معنی دار بودند (شکل ۲). بیشتر مطالعات نشان می‌دهد که تحت شرایط تنش خشکی کاهش میزان فتوسنتز با اختلال در واکنش‌های بیوشیمیایی همراه می‌باشد، فتوسیستم نوری دو (PSII) بسیار حساس به عوامل بازدارنده محیطی بوده و تنش خشکی موجب خسارت به مراکز واکنش PSII می‌شود (Oncel *et al.*, 2000). با توجه به داده‌های حاصل می‌توان نتیجه گرفت که میزان خسارت وارده به کلروفیل b تحت تنش خشکی بیشتر بوده است. اونسل و همکاران (Oncel *et al.*, 2000) بیان داشتند که مقدار زیادی از کلروفیل b موجود در کلروپلاست در کمپلکس‌های دریافت کننده نور در فتوسیستم II قرار دارد. نسبت کلروفیل b به a در این

پروتئین‌های جدید و یا افزایش سطح پروتئین‌های مرتبط با سازگاری و تطابق گیاه به شرایط خشکی می‌باشد، که می‌توان به آنزیم‌های ضد اکسند اشاره کرد که در تیمار سیلیکون به میزان زیادی افزایش پیدا کرد.

فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند

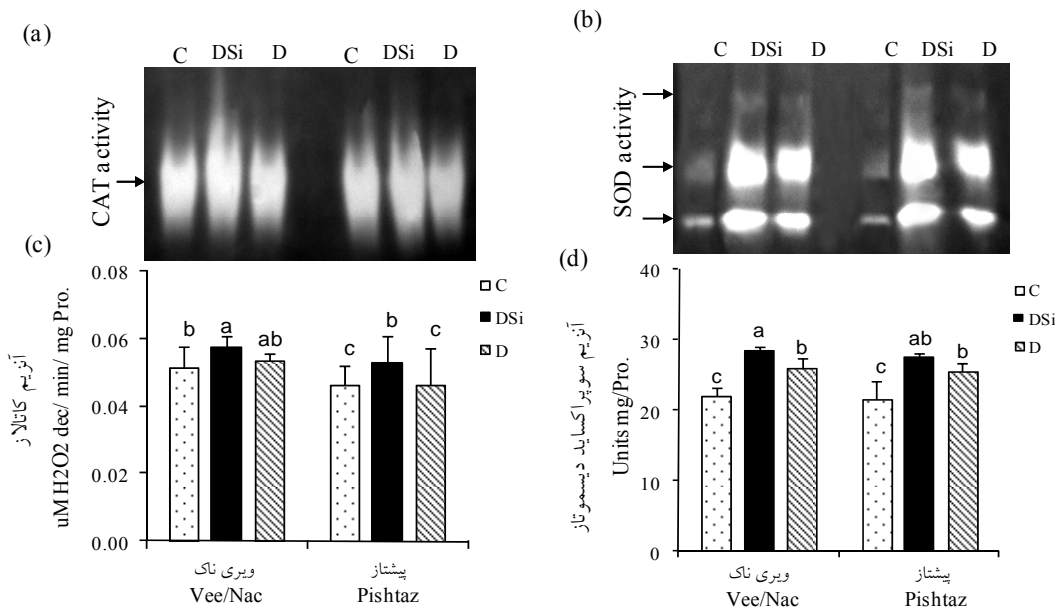
در تنش خشکی به علت عدم توازن بین دریافت نور و مصرف آن، فعالیت فتوسنتزی مختل می‌گردد. تنظیم نامناسب فتوسیستم II موجب عدم توازن بین تولید و مصرف الکترون گشته که منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن ROS می‌شود. رادیکال‌های آزاد اکسیژن علاوه بر صدمه به سلول‌های گیاهی، به عنوان مولکول‌های نشانگر عمل کرده و 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 ضد اکسندگی آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند. در این تحقیق فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند SOD، APX 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.

پروتئین تحت تنش خشکی در نتیجه واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییر اسید آمینه، 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 بانندی نتایج حاصل از ژل الکتروفورز SDS-PAGE می‌باشد، بطوریکه تفکیک باندهای پروتئینی در شکل ۳، نشان می‌دهد که میزان پروتئین زیر واحد بزرگ آنزیم رایسکو 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



شکل ۳- پروفایل (a) و تغییرات غلظت پروتئین محلول کل (b) در رقم پشتهاز 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 پشتهاز 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.

بیشتر از رقم پیشتاز بود. تنش خشکی با افزایش در محتوای رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث افزایش در محتوای مالون دی آلدئید^۱ 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 ۴-a). 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 دو گانه بوده و قادر است با اکسیژن نیز واکنش داده و به جای فسفوگلیسرات، فسفوگلیکولات تولید کند که در نهایت به

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 و ۵)، 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 ۴-b). 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 ۴-b دیده می‌شود میزان فعالیت آنزیم SOD طی دو تیمار خشکی و سیلیکون- خشکی در ژنوتیپ ویری ناک

1- Malondialdehyde

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 پراکسی زوم سلول‌های برگ‌ی واقع شده و در کلروپلاست یافت نمی‌شود، بنابراین H_2O_2 تولید شده در کلروپلاست بوسیله دو فرم $tAPX$ و $sAPX$ 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 ۵-a دیده می‌شود آیزوزایم‌های این آنزیم تحت تیمار سیلیکون دارای باندهای پررنگتری در مقایسه با تیمارهای شاهد و خشکی می‌باشد.

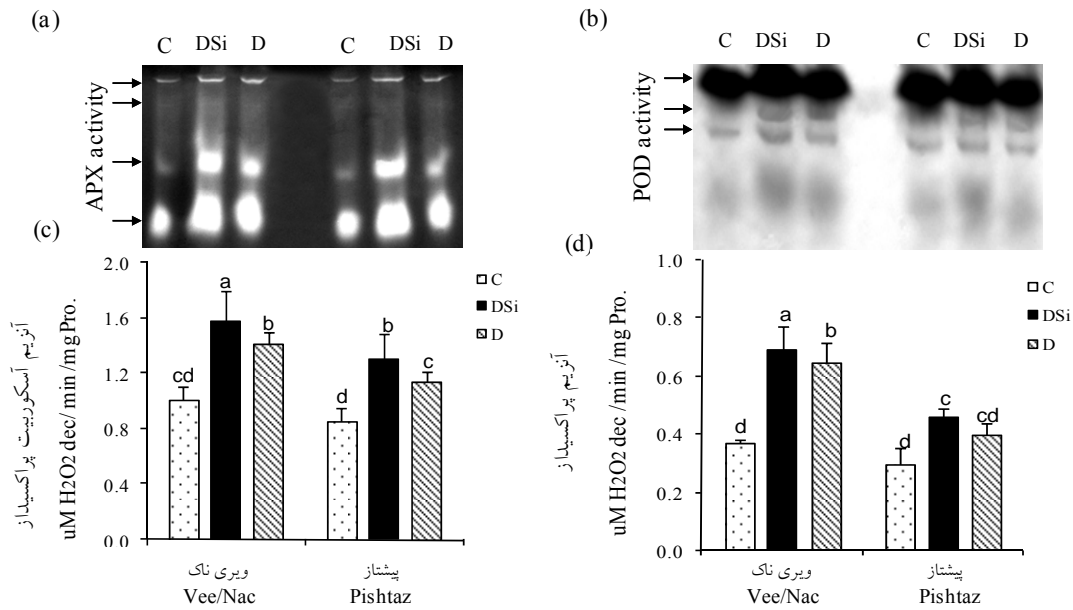
نظام پراکسیداز گیاهان به صورت آیزوفرم‌های چندگانه موجود است که به طور دقیق تنظیم شده و در پاسخ به محرک‌های محیطی فعال می‌گردد. افزایش در فعالیت این آنزیم از جمله پاسخ‌های عمومی به انواع

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 ضد اکسندگی آن، به نحوه عمل این آنزیم در کاهش تنفس نوری مرتبط باشد. موسی (Mussa, 2006) بالاترین میزان فعالیت آنزیم SOD و CAT 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 ضد اکسندگی در واکنش به فاکتورهای تنش‌زا افزایش می‌یابد. همانگونه که در شکل ۵-a دیده می‌شود،

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.

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 نشانی 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 H₂O₂ دارد.

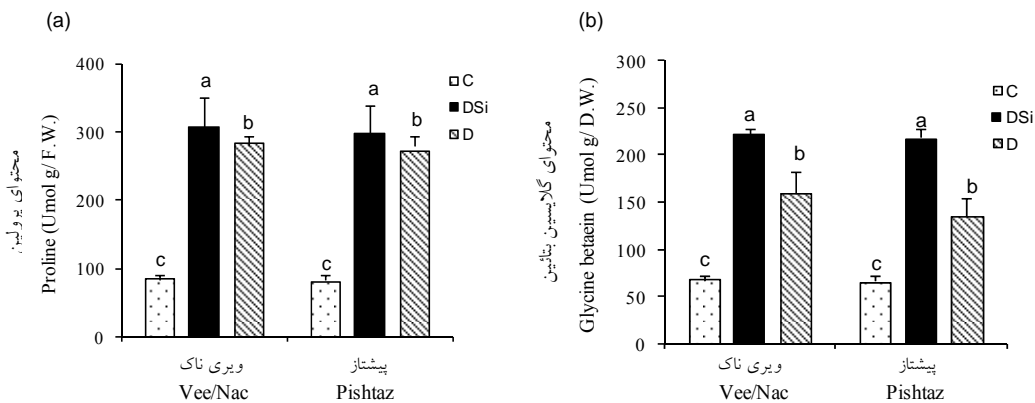
محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی

در شرایط تنش خشکی میزان پرولین و

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 ۵-b) و از آنجائیکه این آنزیم کارایی بالایی در محافظت از نظام‌های گیاهی در برابر تنش‌های اکسیدکننده دارد، بنابراین می‌توان یکی از دلایل افزایش تحمل این ژنوتیپ در شرایط تنش خشکی را افزایش فعالیت آنزیم

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.

گلایسین بتائین در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت (شکل a-6). 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-6 مشاهده می‌شود، سیلیکون باعث افزایش



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 betaine (b) Content of Pishtaz and Vee/Nac genotypes under Control (C), Silicon-Drought (DSi) and Drought (D) treatments

میزان تجمع گلایسین بتائین نیز در اثر تیمار خشکی و سیلیکون- خشکی در هر دو رقم افزایش یافت (شکل b-6). 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.

در بررسی‌های انجام شده توسط آل-آقاباری 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 معنی دار نشد.

حاضر دو ژنوتیپ گندم از نظر میزان تجمع گلاسیسین بتائین اختلاف معنی دار نداشتند.

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج این تحقیق سیلیکون با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی و کاهش محتوای رادیکال‌های آزاد در سلول، مانع از خسارات اکسندگی به سلول‌های گیاهی شد، همچنین این ماده با بالا بردن محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین و گلاسیسین بتائین) و حفظ تعادل آبی سلول از کاهش شدید محتوای 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، اظهار نظر کرد.

ساختار مولکولی گلاسیسین بتائین به آن این امکان را می‌دهد که با دمین‌های آب‌گریز و آب‌دوست مولکول‌های پروتئین و آنزیم‌ها برهم‌کنش داشته باشد (Sakamoto and Murata, 2002). شوبرت (Schobert, 1977) بیان داشت که گلاسیسین 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 آب‌گریز، گلاسیسین بتائین به دمین‌های آب‌گریز پروتئین متصل شده و لایه‌های آبی که در این اتصال وجود دارند، در زمان تنش آزاد شده و در دسترس سلول قرار می‌گیرند. گلاسیسین بتائین با این عمل دمین‌های آب‌گریز 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

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 phenol 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. *Elsevier 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 Bao* 18: 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.