

## تاثیر سیلیکون بر تحمل به خشکی در گندم

سارا طالع احمد<sup>۱\*</sup> و رحیم حداد<sup>۲</sup>

## چکیده

اثر سیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسیدان کاتالاز (CAT)، سوپراکساید دیسموتاز (SOD)، آسکوربیت پراکسیداز (APX) و پراکسیداز (POD) در شرایط تنش خشکی در گندم (*Triticum aestivum* L.) در گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با اعمال ۳ تیمار شاهد، خشکی و سیلیکون-خشکی (۱ میلی مولار سیلیکات سدیم در هر کیلوگرم خاک) در ۳ تکرار صورت گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که در مقایسه با گیاهانی که تنها تحت تیمار خشکی بوده‌اند، تیمار سیلیکون باعث افزایش در فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند CAT، SOD، APX و POD و همچنین افزایش در محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و پروتئین محلول در برگ‌هایی که تحت تنش خشکی قرار گرفته‌اند گردید. تیمار خشکی باعث اختلاف معنی‌دار در فعالیت آنزیم CAT نشد. بین آنزیم‌های مورد بررسی در تیمار سیلیکون، آنزیم پراکسیداز دارای بیشترین فعالیت بود. افزایش در فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند و بررسی الگوی بانندی آیزوایم‌های این آنزیم‌ها روی ژل اکریل آمید نشان داد که ظهور باندهای آیزوایمی جدید مرتبط با تیمار سیلیکون بود. به علاوه سیلیکون باعث محافظت از بافت‌های گیاهی در مقابل حملات اکسیدکننده ناشی از تنش خشکی شد. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه به نظر می‌رسد که سیلیکون احتمالاً در تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی جهت افزایش مقاومت به خشکی در گیاهان نقش داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: گندم، تحمل به خشکی، آنزیم‌های ضد اکسند، سیلیکون

۱. کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج  
 ۲. عضو هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

\*: نویسنده مسوول

اثرات سیلیکون را بر روی مقاومت به شوری در گوجه فرنگی بررسی کردند. این آزمایش شامل سه تیمار (۲/۵ میلی مولار Si، ۱۰۰ میلی مولار NaCl و ۲/۵ میلی مولار Si<sup>+</sup> ۹۷/۵ میلی مولار NaCl) بود. نتایج آزمایش نشان داد که سیلیکون به طور ویژه‌ای باعث کاهش اثرات منفی نمک و ایجاد مقاومت در گوجه فرنگی گردید. طی آزمایشی گانگ و همکاران (۲۰۰۵) اثرات سیلیکون را بر روی گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت تنش خشکی مورد بررسی قرار دادند. طی این بررسی مشخص شد که در مقایسه با تیمار خشکی کاربرد Si باعث افزایش در فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند (SOD، CAT و GR) گردید. در اثر تنش خشکی میزان پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) افزایش یافت، در حالی که اعمال Si منجر به کاهش میزان (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)، فعالیت اسید فسفولپاز (AP) و خسارات ناشی از تنش اکسید کننده گردید. موسی (۲۰۰۶) طی آزمایشی اثرات سیلیکون خارجی را در گیاه ذرت تحت تنش شوری مورد بررسی قرار داد. او گزارش کرد که تحت تنش شوری محتوای کلروفیل گیاه به طور معنی داری کاهش می‌یابد در صورتی که حضور Si در محیط کشت باعث افزایش در محتوای کلروفیل a و b در مقایسه با تنش شوری می‌شود. لی و همکاران (۲۰۰۷) اثرات سیلیکون را بر روی میزان مقاومت به خشکی گیاه ذرت تحت شرایط گلخانه مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آزمایش نشان داد که تحت شرایط تنش ملایم و شدید اعمال سیلیکون به ترتیب باعث افزایش عملکرد به میزان ۳۳٪-۳۱٪ و ۴۰٪-۲۳٪ می‌شود. در تیمار سیلیکون محتوای کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند POD، SOD و CAT در مقایسه با نمونه‌های شاهد افزایش یافت. همچنین سیلیکون باعث افزایش نفوذپذیری غشاء پلاسمایی و نرخ فتوسنتزی گردید.

در بین غلات گندم اهمیت ویژه‌ای دارد به دلیل اینکه این گیاه زراعی یکی از محصولات غذایی عمده دنیای امروزی به شمار می‌رود. با توجه به نیاز شدید مردم به این محصول و نیز با در نظر گرفتن اینکه کشور ما دارای آب و هوای خشک و نیمه خشک است و بخش اعظمی از این سرزمین دارای محدودیت زراعی از جمله آب می‌باشد، نیاز اقدام به تولید و عرضه محصولاتی با

تنش‌های محیطی مهم‌ترین عوامل کاهش دهنده محصولات کشاورزی در سطح جهان هستند. تنش خشکی علت اصلی کاهش رشد گیاهان و عملکرد آن‌ها در مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌شود که موجب تحریک گیاه به یک سری پاسخ‌های دفاعی در سطوح مختلف مولکولی، سلولی، فیزیولوژیکی و رشدی می‌گردد (شارما و دبی، ۲۰۰۵). کمبود آب در گیاه اغلب باعث افزایش مقادیر انواع اکسیژن فعال ROS<sup>۱</sup> می‌شود. گیاهان از دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی برای دفاع در مقابل ROS استفاده می‌کنند (آل‌آقاباری و همکاران، ۲۰۰۴). سیستم آنزیمی شامل آنزیم‌های ضد اکسند مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، اسکوربیت پراکسیداز (APX) و گلوکاتایون ردوکتاز (GR) بوده و سیستم غیر آنزیمی در برگیرنده ترکیباتی از قبیل اسید آسکوربیک، کارتنوئیدها، گلوکاتایون و توکوفرول می‌باشد.

سیلیکون جزء یکی از عناصر فراوان موجود در خاک است، به دلیل این که در دسته عناصر ضروری برای رشد گیاهان قرار نگرفته توجه زیادی به نقش بیولوژیکی آن در گیاه نشده است. اخیراً در پژوهش‌های صورت گرفته به اثرات مفید و حاصل‌خیزی آن در چندین گونه گیاهی اشاره شده است، به‌ویژه در زمان بروز تنش‌های محیطی، با افزایش در فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند و بالا بردن محتوای اسمولیت‌ها نقش مهمی را در ایجاد مقاومت به تنش‌های زنده و غیر زنده در گیاهان ایفا می‌کند. این ماده همچنین با کاهش در نرخ کاربرد علف کش‌ها و مواد سمی مانع از آلودگی محیط زیست از اثرات مضر ناشی از استعمال سموم کشاورزی می‌شود (اپستین، ۱۹۹۹). علی‌رغم فراوان بودن این ماده در سطح کره زمین به دلیل همراه بودن آن با سایر عناصر از دسترس گیاه خارج است. بنابراین می‌توان با افزودن کودهای سیلیکون که حاوی فرم قابل دسترس آن Si<sub>2</sub>(OH)<sub>4</sub> می‌باشد، گیاه را در برابر تنش‌های محیطی مقاوم نمود (اپستین، ۱۹۹۴). آل‌آقاباری و همکاران (۲۰۰۴)

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT, EC ۱.۱۱.۱.۶) از روش ایبی (۱۹۸۴) و به وسیله نمایش میزان تغییرات ایجاد شده در جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر و در نتیجه تجزیه پراکسید هیدروژن استفاده شد و میزان فعالیت آنزیم به صورت  $\Delta_{240} / \text{mgPro}/\text{min}$  بیان گردید. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX, EC ۱.۱۱.۱.۱۱) و بر اساس میزان اکسیداسیون اسید آسکوربیت از طریق دنبال کردن کاهش در جذب، در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت سه دقیقه تخمین زده شد و میزان فعالیت آنزیم به صورت  $\Delta_{290} / \text{mgPro}/\text{min}$  بیان گردید. فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX, EC ۱.۱۱.۱.۷) به روش چانس و مهلی (۱۹۵۵) اندازه گیری شد که این آنزیم با استفاده از ترکیبات فنولی گوئیکول پراکسید هیدروژن را به آب احیاء می کند. در اثر این عمل، گوئیکول به تتراگوئیکول تبدیل می شود که حداکثر جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر صورت می گیرد. فعالیت آنزیم در اثر افزایش در میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر، به صورت  $\Delta / \text{mgPro}/\text{min}$  فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (SOD, EC ۱.۱۵.۱.۱) از طریق اندازه گیری توانایی آن در جلوگیری از احیاء نوری نیتروبولوترازولیوم (NBT) به فورمازون به روش بیوشامپ و فریدوویچ (۱۹۷۱) تعیین گردید که میزان بیان فعالیت آنزیم به صورت Unit/mg Pro بود. جهت آشکارسازی تغییرات مقدار پروتئین کل در طول دوره آزمایش از روش الکتروفورز پروتئین کل (SDS-PAGE) طبق روش لاملی (۱۹۷۰) از ژل جداکننده ۱۲/۵٪ و ژل متراکم کننده ۴/۵٪ استفاده گردید. الکتروفورز در دمای اتاق با ولتاژ ۱۰۰ ولت انجام شد. به منظور مشاهده باندهای پروتئینی از رنگ آمیزی کوماسی بلو بر اساس روش ریپیک و پیروس (۲۰۰۳) و برای جداسازی و الکتروفورز آنزیم های ضد اکسنده از روش الکتروفورز بومی ژل (Native-PAGE) طبق روش لاملی (۱۹۷۰) استفاده شد. به منظور الکتروفورز بومی آنزیم کاتالاز و پراکسیداز از ژل جداکننده ۶٪ و ژل متراکم کننده ۴٪ استفاده گردید، رنگ آمیزی اختصاصی آنزیم کاتالاز بر اساس روش روبرتسون و همکاران (۱۹۸۷) و آنزیم پراکسیداز

عملکرد بالاتر و قابلیت تحمل بیشتر به شرایط تنش بیش از پیش احساس می شود. این آزمایش با هدف بررسی اثرات سیلیکون بر میزان فعالیت آنزیم های ضد اکسنده و محتوای پروتئین محلول در شرایط تنش خشکی در گندم به اجرا در آمد.

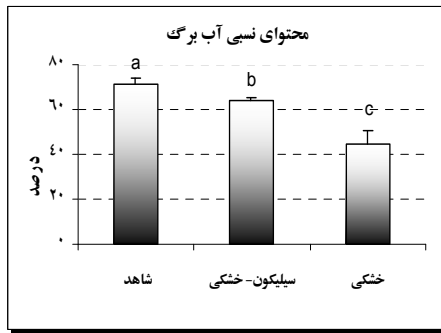
## مواد و روش ها

به منظور بررسی اثرات سیلیکون در افزایش مقاومت به خشکی، رقم گندم نان (وری ناک) در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با سه تیمار شاهد (آبیاری کامل)، سیلیکون-خشکی (یک مگاپاسکال) و تنش خشکی (یک مگاپاسکال) مورد ارزیابی قرار گرفت. تیمار سیلیکون با افزودن سیلیکات سدیم (یک میلی مولار در هر کیلوگرم خاک) قبل از کاشت صورت گرفت. این آزمایش در گلخانه با شرایط متوسط دمای حداقل و حداکثر به ترتیب ۱۷ و ۳۶/۵ درجه سانتی گراد و میزان رطوبت ۲۲ تا ۳۱ درصد انجام گرفت. خاک مورد استفاده ترکیبی از ماسه، خاک زراعی و مواد آلی به نسبت ۱:۱:۱ بود. برای ارزیابی رطوبت خاک گلدان ها و اعمال تیمار خشکی از بلوک گچی<sup>۱</sup> استفاده گردید. نمونه برداری در مرحله ۴ برگگی صورت گرفت.

میزان نسبی آب برگ<sup>۲</sup> با استفاده از وزن تر برگ (FW<sup>۳</sup>)، وزن خشک (DW<sup>۴</sup>) و وزن تورژسانس برگ (TW<sup>۵</sup>) اندازه گیری شد (تورنر، ۱۹۸۱). جهت استخراج پروتئین محلول کل از بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷) استفاده شد. میزان پروتئین محلول کل طبق روش بردفورد (۱۹۷۹) اندازه گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی<sup>۶</sup> استفاده گردید. میزان کلروفیل بر اساس روش آرنون (۱۹۴۹) محاسبه گردید.

فعالیت آنزیم های ضد اکسنده به روش اسپکتروفتومتری<sup>۷</sup> اندازه گیری شد. به منظور محاسبه

1. Gypsum Block. (Eijkelkamp 14. Model 22)
2. Relative Water Content =  $(FW-DW)/(TW-DW) \times 100$
3. Fresh weight
4. Drought weight
5. Turgescence weight
6. Bovin serum albumin (BSA)
7. UV-3200, Labomed USA



شکل ۱: تغییرات محتوای نسبی آب برگ بر اساس تیمارهای شاهد، سیلیکون-خشکی و خشکی

همان‌گونه که در نمودار ۲ دیده می‌شود در اثر تیمار خشکی محتوای کلروفیل a و b در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۱)، در صورتی‌که حضور سیلیکون در محیط کشت مانع از کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش گردید. در شرایط تنش اکسند و تنش‌های محیطی مانند خشکی میزان تولید رادیکال‌های فعال و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی افزایش می‌یابد (گانگ و همکاران، ۲۰۰۵). مشخص شده است که تخریب کلروفیل نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و تشکیل هیدروپراکسید اسیدهای چرب موجود در غشاء می‌باشد (گانگ و همکاران، ۲۰۰۵). بنابراین قسمتی از کاهش کلروفیل در زمان تنش اکسند می‌تواند نتیجه پراکسیداسیون غشاهای کلروپلاستی باشد. اعمال سیلیکون باعث افزایش در فعالیت‌های فتوسنتزی تحت شرایط خشکی می‌گردد که موازی با افزایش در فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزیک ریبولوز بیس فسفات کربوکسیلاز و گلیسرآلدئید-۳- فسفات دهیدروژناز می‌باشد. سیلیکون با قرار گرفتن در آپوپلاسم دیواره‌های خارجی سلول‌های اپیدرمی، علاوه بر استحکام برگ باعث تولید بافت ناهمواری در دو سطح برگ می‌شود که این امر باعث به تاخیر انداختن مرگ برگ در نتیجه افزایش در محتوای کلروفیل و کاهش در میزان تعرق روزنه‌ای می‌گردد. افزایش در محتوای کلروفیل در این بررسی با پژوهش‌های صورت گرفته در گیاه گندم (گانگ و همکاران، ۲۰۰۵) و ذرت تحت تنش خشکی (یانگ و همکاران، ۲۰۰۷) و جو در شرایط غلظت بالای NaCl (لیانگ و همکاران، ۲۰۰۳) مطابقت دارد. طی این

بر اساس روش هارت و همکاران (۱۹۷۱) انجام شد. برای الکتروفورز بومی آنزیم سوپراکساید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز از ژل جداکننده ۱۰٪ و ژل متراکم کننده ۴٪ استفاده گردید. رنگ‌آمیزی اختصاصی آنزیم سوپراکساید دیسموتاز طبق روش بیوشامپ و فریدوویچ (۱۹۷۱) و رنگ‌آمیزی اختصاصی آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس روش راتو و همکاران (۱۹۹۶) انجام شد. برای الکتروفورز آنزیم‌های فوق از دمای  $4^{\circ}\text{C}$  و  $25^{\circ}\text{C}$  میلی‌آمپر استفاده گردید.

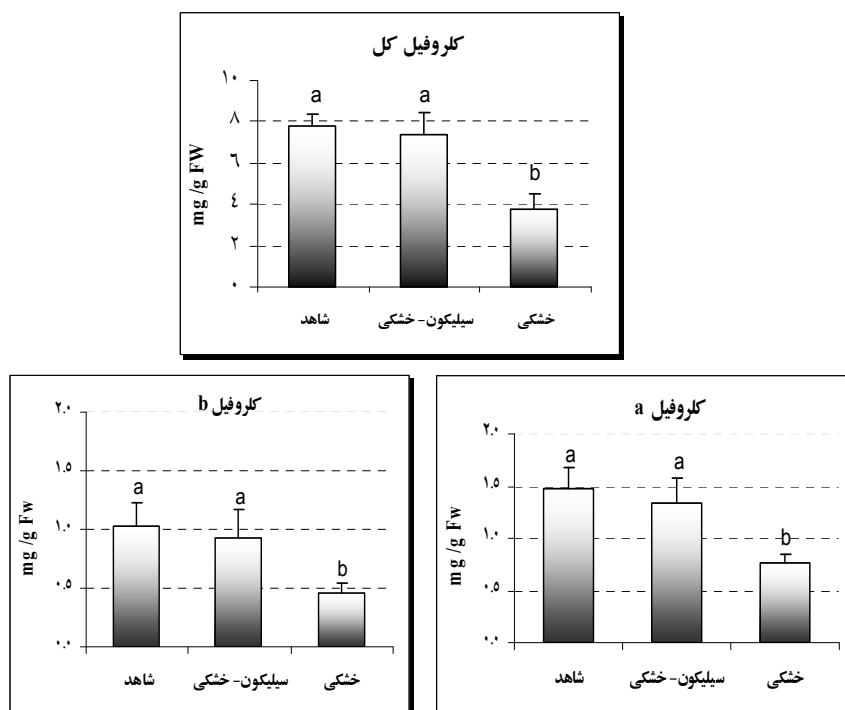
تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS 11.5 و MSTATC انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که در اثر تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، در حالی‌که اعمال سیلیکون مانع از کاهش RWC در مقایسه با تیمار خشکی می‌گردد (شکل ۱). یکی از دلایل افزایش در محتوای RWC در اثر اعمال سیلیکون در شرایط تنش خشکی افزایش استحکام بافت برگ می‌باشد. بررسی‌های صورت گرفته در این زمینه نشان می‌دهد که 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 (سنگ و همکاران، ۲۰۰۲). زمانی‌که دیواره سلولی سخت‌تر می‌شود در اثر دهیدراسیون برگ، کاهش بیشتری در پتانسیل آب اتفاق می‌افتد (جانسون و همکاران، ۱۹۸۴). پس در محتوای نسبی آب مورد نظر شیب پتانسیل آبی از برگ تا خاک در تیمار سیلیکون در مقایسه با تیمار شاهد تندتر است. در نتیجه در این حالت گیاه برای گسترش شیب مورد نیاز جهت تامین آب از خاک خشک، به تعرق کمتری نیاز دارد. بنابراین این ماده با کاهش هدر رفت آب و افزایش راندمان فتوسنتزی باعث افزایش وزن خشک و در نتیجه افزایش عملکرد می‌گردد.

خواهد بود. کاهش در میزان کلروفیل a و b در تیمار سیلیکون- خشکی در مقایسه با شاهد به ترتیب معادل ۹/۲۳٪ و ۱۰/۱۴٪ بود. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که اختلاف معنی داری بین تیمار شاهد و سیلیکون از نظر میزان کلروفیل a و b وجود ندارد (شکل ۲) و هر دو تیمار در یک گروه آماری قرار دارند (جدول ۲). از جمله دلایل افزایش میزان کلروفیل b در تیمار سیلیکون می توان به تاثیر سیلیکون در افزایش کارایی فتوسیستم II اشاره کرد که توسط آل آفاباری و همکاران (۲۰۰۴) در گیاه گوجه فرنگی که تحت تنش شوری قرار گرفته بود گزارش شده است.

بررسی در اثر تنش خشکی میزان کلروفیل a و b در مقایسه با شاهد به ترتیب به میزان ۴۷/۰۱٪ و ۵۵/۳۰٪ کاهش یافت. با توجه به داده های حاصل می توان نتیجه گرفت که میزان خسارت وارده به کلروفیل b تحت تنش خشکی بیشتر بوده است. اونسل و همکاران (۲۰۰۰) بیان داشتند که مقدار زیادی از کلروفیل b موجود در کلروپلاست در کمپلکس های برداشت کننده نور در فتوسیستم II قرار دارد. این پژوهش گران بیان می دارند که در شرایط تنش، کمپلکس های برداشت کننده نور بیشتر آسیب می بینند که باعث کاهش شدید کلروفیل b در کلروپلاست و افزایش نسبت a به b تحت تنش



شکل ۲: تغییرات کلروفیل کل، a و b تحت تاثیر تیمارهای شاهد، سیلیکون- خشکی و خشکی

جدول ۱: میانگین مربعات تجزیه واریانس محتوای نسبی آب برگ، پروتئین، کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b، فعالیت آنزیم های ضد اکسنده کاتالاز (CAT)، سوپراکساید دیسموتاز (SOD)، آسکوربیت پراکسیداز (APX) و پراکسیداز (POD)

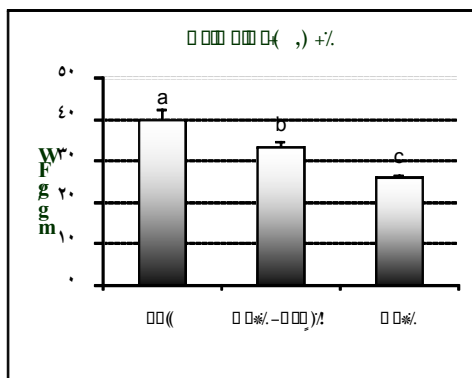
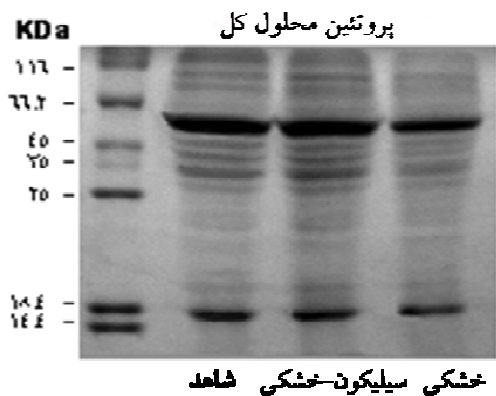
آنزیم		پروتئین		کلروفیل		RWC	درجه آزادی	منبع تغییرات	
POD	APX	SOD	CAT	محلول کل	کل				b
۸/۵**	۰/۵۴۷**	۶۸/۷۳**	۱/۱۷*	۳۰۱**	۲۹/۷۸*	۰/۵۴۷**	۰/۸۶۷**	۱۲۲۷/۱**	۲ تیمار
۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۵/۵۰۱	۰/۰۰۰۳	۰/۹۹۶	۰/۵۶۹	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	۴/۸۳	۱۵ خطا
۹	۵/۶	۹/۸	۳/۳	۳/۰۲	۱۲	۶/۷	۵/۸	۸	%CV

\*\* معنی دار در سطح ۱٪، \* معنی دار در سطح ۵٪

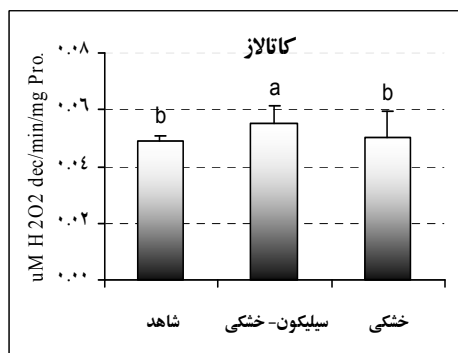
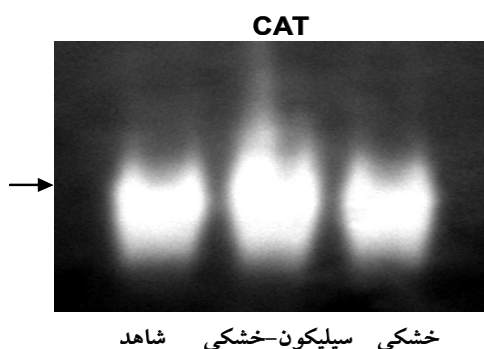
و خشکی به ترتیب به میزان ۱۲/۱۲٪ و ۱۰/۵۵٪ افزایش یافت (شکل ۴). این آنزیم قادر است بدون نیاز به عامل احیاء کننده  $H_2O_2$  موجود در سلول را به  $H_2O$  و  $O_2$  تبدیل کند (تورکان و همکاران، ۲۰۰۵). حدود ۹۰ درصد از ماده خشک گیاهی از تثبیت  $CO_2$  به وسیله آنزیم روبیسکو حاصل می‌شود. این آنزیم قادر است با اکسیژن نیز واکنش داده و در عوض فسفوگلیسرات، فسفوگلیکولات تولید کند که در نهایت به آزاد شدن  $CO_2$  می‌انجامد. پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) اضافی در دمای بالا از طریق دکربوکسیلاسیون فسفوگلیکولات به آزاد شدن  $CO_2$  و تسریع تنفس نوری کمک می‌کند، از آنجائی که تنفس نوری با تولید  $CO_2$  و مصرف ATP همراه است باعث هدر رفتن انرژی سلول می‌شود. کاتالاز سبب زدودن  $H_2O_2$  از محیط می‌گردد، بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم در تیمار سیلیکون به کاهش تنفس نوری و کاهش نقطه جبرانی  $CO_2$  کمک می‌کند. کاتالاز علاوه بر این که  $H_2O_2$  را از محیط حذف می‌کند کمبود اکسیژن حاصل از واکنش ملر را نیز جبران می‌نماید (آرورا و همکاران، ۲۰۰۰). در نتیجه ارتباط بین مقاومت 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 نیز مرتبط باشد. طی این بررسی میزان فعالیت آنزیم SOD در اثر اعمال سیلیکون در مقایسه با تیمار خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۵) به طوری که در اثر این تیمار ۴ آیزوزایم این آنزیم تظاهر یافت (شکل ۵). این نتایج توسط سایر پژوهش‌گران نیز گزارش شده است، آل‌آقباری و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که تنش شوری باعث کاهش در فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD می‌گردد، در حالی که در تیمار سیلیکون فعالیت این دو آنزیم افزایش پیدا کرد. آنان بیان داشتند افزایش فعالیت این آنزیم‌ها تحت تیمار سیلیکون باعث کاهش در محتوای  $H_2O_2$  سلول می‌گردد، در نتیجه مانع از خسارات اکسید کننده ناشی از  $H_2O_2$  شده و باعث افزایش در وزن خشک گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری می‌گردد.

تنش خشکی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش در محتوای پروتئین محلول گردید. اعمال سیلیکون مانع از تجزیه پروتئین در شرایط تنش شده و این روند کاهشی را کمتر می‌کند. نتایج به‌دست آمده از آشکارسازی ژل، داده‌های حاصل از سنجش اسپکتروفتومتری را تأیید می‌کند (شکل ۳). روبیسکو آنزیم موثر در فتوسنتز است که ۵۰ درصد پروتئین برگ را تشکیل می‌دهد. بنابراین تغییر در پروتئین‌های محلول برگ با تغییر در محتوای این آنزیم همراه است (اوستن و همکاران، ۱۹۹۵). به‌نظر می‌رسد که کاهش محتوای پروتئین تحت تنش خشکی با کاهش سنتز آن (رنجان و همکاران، ۲۰۰۱)، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین و نیز تجمع اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین مرتبط است. گانگ و همکاران (۲۰۰۵) طی آزمایشی دریافتند که میزان گروه‌های کربونیل که در اثر اکسیده شدن پروتئین تولید می‌گردند تحت تنش خشکی در گیاه افزایش یافته، در صورتی که افزودن سیلیکون خارجی به محیط کشت باعث کاهش در محتوای گروه‌های کربونیل گردیده که نشان دهنده کاهش خسارات اکسیداتیو به پروتئین می‌باشد.

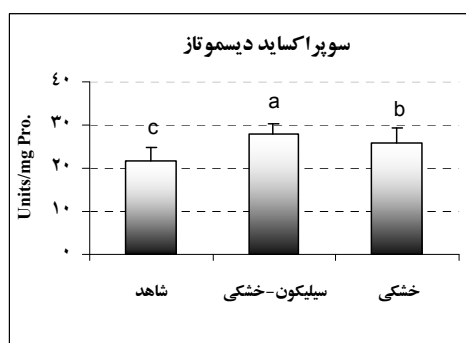
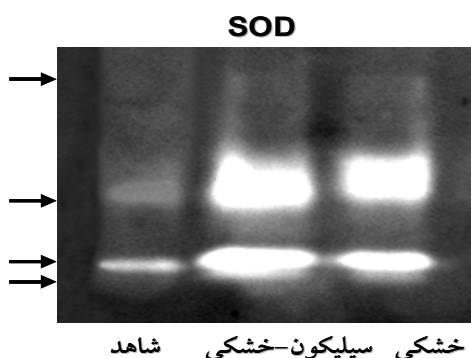
در پژوهش حاضر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی SOD، APX و POD در اثر تنش خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (شکل‌های ۵، ۶ و ۷). در حالی که تحت این شرایط تغییری در میزان فعالیت آنزیم CAT مشاهده نگردید و همان‌گونه که در شکل ۴ مشاهده می‌گردد میزان فعالیت این آنزیم در تیمار شاهد و خشکی فاقد اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱) و لذا هر دو تیمار در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۲). نتایج مشابه توسط سایر پژوهش‌گران نیز گزارش شده است. گانگ و همکاران (۲۰۰۵) مشاهده کردند که در نمونه‌های برگ گندم، فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی APX، POD و GR در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد. بر اساس گزارش بای و سوئی (۲۰۰۶) در گیاه ذرت تحت شرایط تنش کم آبی تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت در مقایسه با نمونه‌های شاهد مشاهده نگردید. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که فعالیت آنزیم CAT در تیمار سیلیکون در مقایسه با تیمار شاهد



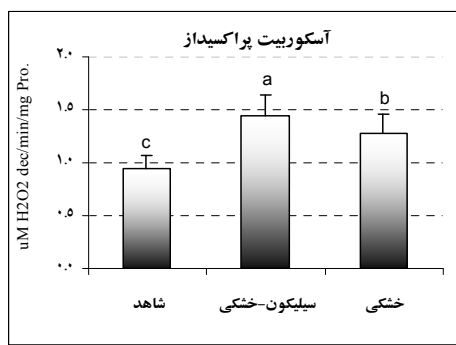
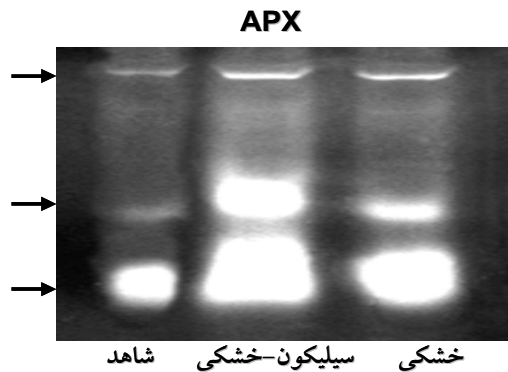
شکل ۳: تغییرات غلظت پروتئین محلول کل (سمت راست) و آشکارسازی آن بر روی ژل (سمت چپ)، در تیمار شاهد، سیلیکون-خشکی و خشکی



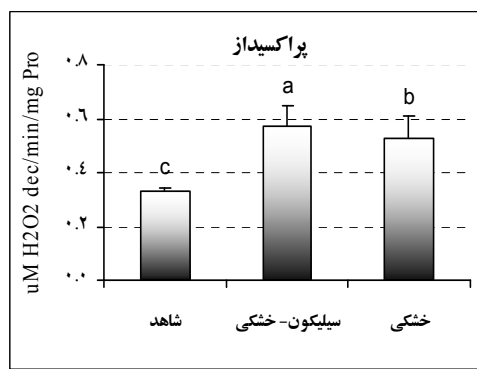
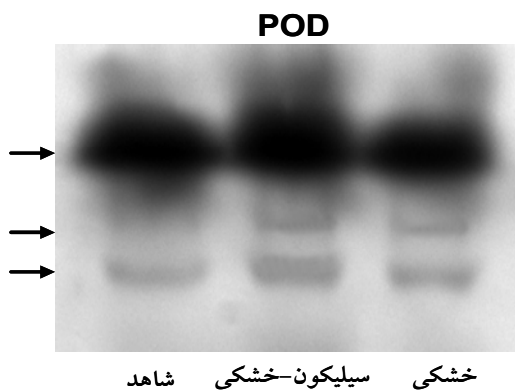
شکل ۴: تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز (سمت راست) و آشکارسازی آن بر روی ژل (سمت چپ)، در تیمار شاهد، سیلیکون-خشکی و خشکی



شکل ۵: تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (سمت راست) و آشکارسازی آن بر روی ژل (سمت چپ)، در تیمار شاهد، سیلیکون-خشکی و خشکی



شکل ۶: تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز (سمت راست) و آشکارسازی آن بر روی ژل (سمت چپ)، در تیمار شاهد، سیلیکون-خشکی و خشکی.



شکل ۷: تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز (سمت راست) و آشکارسازی آن بر روی ژل (سمت چپ)، در تیمار شاهد،

جدول ۲: مقایسه میانگین‌های صفات اندازه گیری شده با استفاده از آزمون دانکن بر اساس تیمارهای اعمال شده (شاهد، سیلیکون-خشکی و خشکی)

تیمار	RWC	کلروفیل		پروتئین محلول کل	آنزیم		
		a	b		APX	SOD	POD
شاهد	۷۱/۶۴ <sup>a</sup>	۱/۴۷ <sup>a</sup>	۱/۰۲ <sup>a</sup>	۴۰ <sup>a</sup>	۰/۴۹۵ <sup>b</sup>	۲۱/۷۸ <sup>c</sup>	۰/۳۳۲ <sup>c</sup>
سیلیکون-خشکی	۶۳/۹۱ <sup>b</sup>	۱/۳۳ <sup>a</sup>	۰/۹۲۷ <sup>a</sup>	۳۳/۳ <sup>b</sup>	۰/۵۵۵ <sup>a</sup>	۲۷/۹۸ <sup>a</sup>	۰/۵۷۳ <sup>a</sup>
خشکی	۴۴/۳۷ <sup>c</sup>	۰/۷۶ <sup>b</sup>	۰/۴۵۰ <sup>b</sup>	۲۵/۸۶ <sup>c</sup>	۰/۵۰۲ <sup>b</sup>	۲۴/۷۸ <sup>b</sup>	۰/۵۲۱ <sup>b</sup>

میانگین‌های هر ستون که دارای حرف مشترک نیستند، با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار می‌باشند.

بافت‌های گیاهی دو آنزیم کاتالاز و آسکوربیت پراکسیداز نقش مهمی را در زدودن پراکسید هیدروژن ایفا می‌کنند، در نتیجه در راستای افزایش در فعالیت آنزیم SOD، افزایش فعالیت این دو آنزیم نیز قابل پیش‌بینی است. همان‌گونه که ذکر شد آنزیم کاتالاز قادر به زدایش H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> از محیط می‌باشد، اما از آنجائی‌که این آنزیم در پراکسی‌زوم سلول‌های برگ‌ی واقع شده و در کلروپلاست یافت نمی‌شود، در نتیجه H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> تولید شده در

ژو و همکاران (۲۰۰۴) نیز نتایج مشابه‌ای را در اثر اعمال سیلیکون در محیط کشت نمونه‌های خیار که تحت تنش شوری قرار گرفته بودند گزارش کردند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز زداینده مهم رادیکال سوپراکسید در داخل سلول است که در تمام موجودات هوازی و غیر هوازی رادیکال سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. بنابراین با افزایش فعالیت این آنزیم در سلول میزان پراکسید هیدروژن نیز افزایش می‌یابد. در



جلوگیری می‌کند. سیلیکون با محافظت از غشاهای سلولی از دسترسی پروتئازها به پروتئین‌های داخلی غشا و تخریب و بهم ریختگی غشاء سلولی ممانعت می‌کند (موسی، ۲۰۰۶؛ گانگ و همکاران ۲۰۰۵؛ لیانگ و همکاران، ۲۰۰۳).

### نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که تیمار سیلیکون باعث افزایش در محتوای RWC، رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین محلول کل و همچنین افزایش در فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند CAT، SOD، APX و POD در مقایسه با تیمار خشکی می‌گردد. همچنین تغییراتی که در مورد نحوه بیان و فعالیت آیزوزایم‌های این آنزیم‌ها بر روی ژل اکریل امید مشاهده شد، بر اساس نتایج حاصل از سنجش اسپکتروفوتومتری قابل پیش‌بینی بود. مطالعه الگوی باندهای آیزوزایم‌های این آنزیم‌ها، روی ژل اکریل امید نشان دهنده این است که می‌توان ظهور و شدت باندهای آیزوزایمی مرتبط با افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در تیمار سیلیکون را به‌عنوان نشان‌گرهای بیوشیمیایی پاسخ به تنش خشکی در نظر گرفت. در نتیجه سیلیکون علاوه بر اثرات مکانیکی که در ایجاد مقاومت به تنش در گیاه ایجاد می‌نماید، با تاثیر بر روی فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی از سلول‌های گیاهی در برابر خسارات ناشی از تنش‌های اکسید کننده محافظت می‌کند. پیشنهاد می‌گردد اثرات این ماده بر روی ارقام حساس و مقاوم به خشکی و نیز در شرایط مزرعه‌ای نیز مورد بررسی قرار گیرد.

کلروپلاست به‌وسیله دو فرم tAPX و sAPX از محیط حذف می‌گردند. به همین دلیل در این بررسی همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم SOD و APX دیده می‌شود (\* $0/887$ ) و به موازات افزایش فعالیت آنزیم SOD، میزان فعالیت آنزیم APX نیز افزایش می‌یابد. در پژوهش حاضر در اثر اعمال سیلیکون میزان فعالیت آنزیم APX در مقایسه با تیمار خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۶) در بین آنزیم‌های ضداکسند APX از توزیع درون سلولی بسیار خوبی برخوردار است ضمن آن‌که فضای بین سلولی و خارج سلولی را در کنترل خود دارد نوعی ارتباط بین این دو فضا برقرار کرده و بالاترین کارایی را در زدودن  $H_2O_2$  دارد. سیستم پراکسیداز گیاهان به‌صورت آیزوفرم‌های چندگانه موجود است که به‌طور دقیق تنظیم شده و در پاسخ به محرک‌های محیطی فعال می‌گردد. افزایش در فعالیت این آنزیم از جمله پاسخ‌های عمومی به انواع تنش‌های اکسید کننده می‌باشد و گزارش شده است که ایزوزایم‌های پراکسیداز نقش کلیدی در مقاومت به تنش دارند. این آنزیم با استفاده از ترکیبات فنولی گئیکول به عنوان دهنده الکترون  $H_2O_2$  را به آب احیاء می‌کند (شارما و دی، ۲۰۰۵). در پژوهش حاضر افزایش در فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر اعمال سیلیکون در مقایسه با شاهد، بیشتر از سایر آنزیم‌های مورد بررسی بود (شکل ۷). مطالعات صورت گرفته نشان داده است که میزان فعالیت آنزیم‌های ضداکسند در اثر حضور این ماده در گیاه افزایش یافته و با کاهش محتوای  $H_2O_2$  و رادیکال‌های آزاد از تخریب سلول‌های گیاهی در برابر حمله ROS

## منابع

- Aebi, H. E. 1984. Catalase *in vitro*. Method's Enzymology, 105: 121-126.
- AL-Aghabary, K., Zhujun, Z. and Qinhuia, 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., Byrem, T. M., Nair, M. G. and Strasburg, G. M. 2000. Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. Archives of Biochemistry and Biophysics, 373: 102-109.
- Bai, L. and Sui, F. 2006. Effect of soil drought stress on leaf of maize. Pedosphere, 16: 326-332.
- Beachamp, C. and Fridovich, F. 1971. Superoxide dismutase: cadmium assay and an assay applicable to acrylamide gels. Anal Biochem, 44: 276-27.
- 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.
- Chance, B., Maehly, A. 1955. Assay of catalase and peroxidase. Methods Enzymol, 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.
- Hart M. A., Tyson H. and Bloomberg B. 1971. Measurement of activity of peroxidase isoenzymes in flax. Bioch Biophy Rec Commun, 92:247-250.
- Johnson, R. C., Nguyen, H. T. and Croy, L. 1984. Osmotic adjustment and solute accumulation in two wheat genotype differing in drought resistance. Crops 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 barley (*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.
- 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.
- Oosten, V., Wilkins, D. and Bestford, R. T. 1995. Acclimation of tomato different carbon dioxide concentration relationships between biochemistry and gas exchange during leaf development. New Phytology, 130: 357-367.
- Ranjan, R., Bohra, S. P. and Jeet, A. M. 2001. Plant Senescence. Jodhpur, Agrobios, 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 Biochem, 167: 290-294.
- Rybicki, E. D and Purves, M. 2003. SDS polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Dept Microbiology, University of Cape Town.

- 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.
- 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.
- Turkan, I., Bor M., Ozdemir, F. and Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168: 223-231.
- Turner, N. C. 1981. Techniques and experimental approaches for measurement of plant water status. *Plant and Soil*, 58: 339 – 366.
- Yong, Y., Tai S. and Bao, X. 2007. Effects of silicon on photosynthesis and antioxidative enzymes of maize under drought stress. *Plant Science*, 18: 531-536.
- 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.
-

## Effect of Silicon on Drought Tolerance in Wheat

Tale Ahmad<sup>1\*</sup>, S. and Haddad<sup>2</sup>, R.

### Abstract

The effect of exogenous silicon (Si) on the activity of the major antioxidant enzymes including catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and peroxidase (POD) in wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress was investigated. Complete randomized design was performed with three treatments control, drought and silicon-drought (1 mmol silicate sodium kg<sup>-1</sup>) and three replications in the green-house. Result showed that compared to the plants treated with drought alone, Si treatment caused to increase the activity of CAT, SOD, APX, and POD and also the contents of photosynthetic pigments and soluble protein under drought-stressed leaves. There was no significant difference in CAT activity between the drought and control treatments. Moreover, among the all studied enzymes, POD revealed the highest activity under silicon treatment. It is concluded that higher activity of antioxidant enzymes and isoenzymes electrophoretic banding patterns are depended to the silicon treatment. Moreover, Si causes to protect the plant tissues from oxidative damage under drought stress. The results of the present experiment coincided with the conclusion that Si may be involved in the metabolic or physiological changes to increase drought tolerance in wheat plant.

**Keywords:** Wheat, Drought tolerant, Antioxidant enzymes, Silicon

---

1. MS of Plant Biotechnology, Department of Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj

2. Faculty member of Agricultural Biotechnology of Imam Khomeini International University, Qazvin

\*. *Corresponding Author*

---