

## اثر سلنات سدیم بر برخی آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه آفتابگردان تحت تنش شوری

فرزانه نجفی<sup>۱\*</sup>، رمضانعلی خاوری نژاد<sup>۱و۲</sup> و مهتاب رشیدی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کد پستی ۱۴۹۱-۱۵۷۱۹، تهران، ایران

<sup>۲</sup>گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۱۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۱۰/۲۸)

### چکیده:

یکی از مضرترین عوامل محدود کننده رشد گیاهان زراعی تنش شوری می باشد. سلنیوم (Se) یک عنصر شبه فلز است که بعنوان یک آنتی اکسیدان در گیاهان، جانوران و تغذیه انسان مطرح است. دراین پژوهش تاثیر سلنات سدیم و شوری بر گیاه آفتابگردان مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان تحت تیمارهای مختلف سلنات سدیم در غلظت های ۰، ۱۰ و ۲۰ میکرو مولار و کلرید سدیم در غلظت های ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار قرارگرفتند. نتایج نشان داد در گیاهانی که در معرض کلرید سدیم قرار داشتند، در مقایسه با گیاهان شاهد، با افزایش غلظت کلرید سدیم، میزان پروتئین کاهش یافت اما گیاهانی که در معرض همزمان کلرید سدیم و سلنات سدیم قرارداشتند، در مقایسه با گیاهانی که تنها در معرض تنش شوری بودند، در غلظت های یکسان کلرید سدیم، میزان پروتئین بیشتری را نشان دادند. با افزایش غلظت کلرید سدیم، فعالیت آنتی اکسیدان های آنزیمی از جمله کاتالاز، گاپاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت. فعالیت آنزیم های فوق در گیاهانی که تحت تیمار کلرید سدیم و سلنات سدیم بودند نسبت به گیاهان تحت تیمار با کلرید سدیم افزایش بیشتری را نشان دادند. میزان مالون دی آلدئید (MDA) نیز با افزایش غلظت کلرید سدیم افزایش معنی داری نشان داد. بیشترین میزان مالون دی آلدئید در تیمار ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم مشاهده گردید که نشان دهنده مکانیزم های در گیر در تنش اکسیداتیو می باشد. کاربرد سلنات سدیم در همه تیمارهای کلرید سدیم موجب کاهش میزان پراکسیداسیون لیپید گردید. این نتایج نشان می دهند که سلنات سدیم سبب افزایش بردباری به تنش شوری و کاهش اثرات مضر کلرید سدیم در گیاه آفتابگردان شده است.

واژه های کلیدی: آفتابگردان، پراکسیداسیون لیپیدها، تنش اکسیداتیو، سلنیوم.

### مقدمه:

و موجب سمیت یونی، تنش اسمزی و کمبود مواد غذایی در سلول های گیاهی می گردد (Munns and Tester, 2008). Roshandel و Flowers در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که سمیت ناشی از تجمع یون های کلر و سدیم در گیاه برنج موثر تر از تنش اسمزی می باشد و موجب تغییر در بیان ژن پروتئین های غنی از پرولین، پروتئین های مربوط به پیری و پروتئین های شوک حرارتی، در گیاه برنج می گردد. گیاهان برای کاهش تنش شوری، سیستم دفاع آنتی اکسیدانی را به کار می گیرند و انواع فعال اکسیژن را حذف می کنند

یکی از خطرات جدی علیه مزارع کشاورزی، تنش شوری می باشد که مزارع سرسبز را به زمینهای خشک و غیر قابل کشت تبدیل کرده و رشد گیاه و محصولات گیاهی را کاهش می دهد (Khan et al., 2010). بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی سطح کره زمین (FAO, 2008) تحت تاثیر شوری قرار دارند که این مقدار بالغ بر ۶ درصد کل خاک های جهان می باشد (Seckin et al., 2010).

شوری سبب تغییر فرایندهای فیزیولوژیکی در گیاهان گرددیده

\*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: f\_najafi@yahoo.com

(Demiral and Turkan, 2005). تولید انواع فعال اکسیژن ناشی از تنش های زیستی و غیرزیستی سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، تخریب پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک می شود (Jiang and Zhang, 2001). گیاهان برای کاهش اثر مخرب گونه های اکسیژن فعال مکانیسم های متفاوتی دارند. از جمله این مکانیسم ها می توان به سیستم دفاع آنتی اکسیدانی اشاره کرد. این سیستم شامل سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی است. آنزیم های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در پاکسازی رادیکال های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند. در پاسخ به افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن، ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان افزایش می یابد (Gressel and Galun, 1994). اولین آنزیم پاکسازی کننده سوپراکسید دیسموتاز است که تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن که یک مولکول با خاصیت غیررادیکالی است را بر عهده دارد. پراکسید هیدروژن تولید شده توسط آنزیم کاتالاز و یا آسکوربات پراکسیداز تبدیل به آب و اکسیژن می شود (Comba et al., 1998). آنزیم پراکسیداز نقش مهمی را در جاروب کردن پراکسید هیدروژن دارد که این عمل با کمک اسید آسکوربیک به عنوان یک دهنده الکترون برای احیای پراکسید هیدروژن به آب صورت می گیرد. در طی این واکنش اسید آسکوربیک به مونودیدروآسکوربات تبدیل می شود. پراکسیدازها گلیکوپروتئین هایی هستند که فنل ها را مانند یک دهنده هیدروژن مصرف کرده و در فرایندهای نمو، لیگنین سازی، بیوسنتز اتیلن، دفاع و التیام زخم ها شرکت می کنند (Michalak, 2006) تغییرات در میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در تنش های محیطی مختلف گزارش شده است. همچنین تخریب پروتئین ها و انباشت برخی اسیدهای آمینه آزاد جهت حفظ و تنظیم فشار اسمزی سلول و کاهش سنتز پروتئین در شرایط تنش مشاهده شده است (Hissao, 1973).

سلیوم در بسیاری از موجودات زنده مانند گیاهان، جانوران و انسانها به عنوان یک عنصر کم مصرف مطرح می باشد که ویژگی آنتی اکسیدانی آن برای انسان، حیوانات و گیاهان تایید شده است. اولین گزارش در مورد اثرات مفید سلیوم در سال ۱۹۵۷ منتشر شد (Schwarz and Foltz, 1957).

در جلبک *Spirulina platensis* نشان داده شده که سلیوم برای رشد ایده آل آن ضروری می باشد (Chen et al., 2008). احتمالا اولین اثر مثبت سلیوم روی رشد گیاه (*Brassica juncea*) بوسیله Singh و همکاران (۱۹۸۰) گزارش شد. اگر چه ضرورت آن در رشد و نمو همه گیاهان هنوز اثبات نشده است اما وجود آن برای رشد و نمو گونه های انباشت کننده، ضروری می باشد (Shanker, 2006). از آن جا که گیاهان غیر انباشت کننده مانند انواع گیاهان زراعی حساسیت بیشتری به این عنصر دارند، به نظر نمی رسد که این عنصر برای رشد آن ها، ضروری باشد (Terry et al., 2000). در حدود ۳۰ سلنو آنزیم و سلنو پروتئین شناخته شده که سلول را در مقابل رادیکال های آزاد حفاظت می کنند. سلیوم با ورود به ساختار پروتئین، بافت ها و غشاهای سلولی را در برابر تخریب ناشی از تنش اکسیداتیو محافظت می کند (Turakainen, et al. 2004). غلظت های پائین سلیوم روی متابولیسم سلول های گیاهی اثرات مفیدی داشته و میزان آنزیم های حذف کننده  $H_2O_2$  (مانند آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون پراکسیداز) و ترکیبات آنتی اکسیدانی (مانند گلوکاتایون، آسکوربات و پرولین) را افزایش داده که می توانند مقادیر  $H_2O_2$  را در گیاه کاهش دهند (Rios et al., 2009).

عنصر سلیوم ابتدا به وسیله اثرات سمی آن در غلظت های بالا شناخته شد (Wu et al., 1996). Germ و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که اگر چه سلیوم برای گیاهان در غلظتهای بالا خطرناک است، اما می تواند آثار مفیدش را در غلظتهای پائین نشان دهد. اثرات مفید این عنصر در افزایش مقاومت به تنش های غیر زیستی گزارش شده است (Hasanuzzaman et al., 2010). سلیوم می تواند تنش اکسیداتیو القا شده توسط دمای بالا (Seppanen et al., 2003)، خشکی (Yao et al., 2009) فلزات سنگین (Xiaoqin et al., 2009)، سرما (Chu et al., 2010)، اشعه ماورای بنفش (Yao et al., 2010) و شوری (Sun et al., 2010)، اشعه ماورای بنفش (Yao et al., 2010) و شوری (Kong et al., 2005; Hawrylak-Nowak, 2009; Djanaguiraman et al., 2005) را کاهش دهد و تحمل گیاهان را نسبت به این تنش ها بالا ببرد.

رشد جمعیت جهان و افزایش تقاضا برای تولیدات گیاهی منجر به زیر کشت رفتن خاکهای شور گردیده است. برای

گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی گراد در شب در نظر گرفته شد. طول دوره روشنایی و تاریکی به ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت تنظیم شد سپس گلدان ها در این شرایط نوری مناسب به مدت ۱۴ روز با محلول هوگلند آبیاری شدند. جهت تهیه محلول غذایی هوگلند، از هر یک از عناصر ماکرو، محلولهای مادر یک مولار تهیه کرده و از محلولهای مادر حجمهای تعیین شده را برداشته همراه با یک میلی لیتر از محلول مادر عناصر میکرو و یک میلی لیتر Fe-EDTA با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانیده شد (Hogland and Arnon, 1950). pH در تمام محلولهای غذایی تهیه شده در حد ۶ تنظیم گردید. زمانی که گیاهان ۲۰ روزه شدند تیماردهی آغاز شد. گیاهان تحت تیمار کلرید سدیم (NaCl) در چهار سطح ۰، ۲۰، ۵۰ و ۷۵ میلی مولارو تیمار سلنات سدیم در سه سطح ۰، ۱۰ و ۲۰ میکرو مولار قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۲ تیمار (0NaCl+0Se)، (0NaCl+10Se)، (0NaCl+20Se)، (25NaCl+0Se)، (25NaCl+10Se)، (25NaCl+20Se)، (50NaCl+0Se)، (50NaCl+10Se)، (50NaCl+20Se)، (75NaCl+0Se)، (75NaCl+10Se)، (75NaCl+20Se) و چهار تکرار انجام شد. در طول دوره تیماردهی، هفته‌ای دوبار گلدان‌ها با محلول غذایی مورد نظر آبیاری شدند. درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی گراد در شب در نظر گرفته شد. طول دوره روشنایی و تاریکی به ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت تنظیم شد. برای به حداقل رساندن اثرات میکروکلیمایی در محیط رشد گیاه در گلخانه گردش وضعی و جابه جایی تصادفی گلدان‌ها به صورت روزانه در دوره رشد انجام پذیرفت. بعد از ۳۹ روز گیاهان جهت سنجش های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی برداشت شدند.

**سنجش پروتئین:** اندام هوایی تازه گیاهان پس از توزین، توسط ۲ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH ۶/۸) به صورت هموژن درآمد. پس از همگن سازی، هر کدام از نمونه‌ها به ویال های ۲ میلی لیتری منتقل شدند. سپس سانتریفوژ نمونه‌ها در ۱۵۰۰۰ g به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام شد سپس محلول رویی جدا شد که این عصاره جهت

مبارزه با اثرات شوری سیاستهای مختلفی اتخاذ شده است (Ashraf, 2009)، در مورد کاربرد مواد معدنی و تحمل شوری نیز گزارشاتی موجود می‌باشد (Khan et al., 2010; Khorshidi et al., 2009). اغلب این مطالعات روی عناصر پر مصرف مانند کلسیم (Khavari-Nejad and Chaparzadeh, 1998)، فسفر (Kaja et al., 2002) و گوگرد (Nazar et al., 2011) انجام شده است. از جمله ریز مغذی هایی که در کاهش تنش های غیر زیستی مانند شوری موثر است، عنصر سلنیوم می‌باشد (Hawrylak-Nowak, 2009; Djanaguiraman et al., 2005). سلنیوم اثرات مفید بر رشد و تحمل گیاهان در مقابل تنش ها را به وسیله بالا بردن ظرفیت آنتی اکسیدانی آن ها انجام می‌دهد (Hasanuzzaman et al., 2010; Djanaguiraman et al., 2005; Rios et al., 2009).

به دلیل اهمیت اقتصادی گیاه آفتابگردان که علاوه بر صنایع غذایی، در صابون سازی و تولید رنگ پلاستیک نیز مورد استفاده قرار می گیرد (Karaaslan et al., 2010) و استفاده از خاکهای زراعی شور که امری اجتناب ناپذیر است، پژوهش فوق انجام شد. در پژوهش حاضر اثرات سلنات سدیم در برهم کنش با سطوح مختلف تنش شوری بر فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدان و میزان پروتئین در گیاه آفتابگردان بررسی شده و تاثیر سلنیوم بر بهبود تنش ناشی از کلرید سدیم در گیاه مورد توجه قرار گرفته است.

#### مواد و روش‌ها:

کشت و تیمار گیاهان: بذر های گیاه آفتابگردان، رقم رکورد (*Helianthus annuus* L. CV. Record) از موسسه اصلاح بذر و نهال کرج تهیه شد. تعدادی بذر یکنواخت و همگن انتخاب شدند و توسط هیپوکلریت سدیم ۵ درصد برای جلوگیری از آلودگی قارچی به مدت یک دقیقه ضد عفونی شدند و چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. بعد از این که بذرها در درون ظروف پتری جوانه زدند گیاهک ها به گلدان های حاوی ماسه مرطوب شده با آب مقطر منتقل شدند. شدت نور  $60 \text{ mol } \mu\text{h}^{-1} \text{ s}^{-1}$  بود. درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی

بود، شروع شد. کاهش جذب نور به علت پراکسیداسیون اسید آسکوربیک در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم براساس واحد آنزیمی به ازای هر میلی گرم پروتئین برای تمام نمونه‌ها محاسبه و بیان گردید (Dazy et al., 2008).

**سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ:** فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، به صورت زیر مورد ارزیابی قرار گرفت. محیط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۲۵ میلی مولار (pH ۶/۸) و پراکسید هیدروژن ۴۰ میلی مولار و گایاکول ۲۰ میلی مولار بود. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره ی آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی لیتر آغاز گردید. افزایش جذب به وسیله‌ی تشکیل تترآگایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم براساس واحد آنزیمی به ازای هر میلی گرم پروتئین برای تمام نمونه‌ها محاسبه شد (Dazy et al., 2008).

**سنجش پراکسیداسیون لیپید ریشه:** اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی به وسیله تست تیوباربتوریک اسید (TBAT) با سنجش میزان مالون‌دی‌آلدهید انجام شد. ۰/۲ گرم بافت تر ریشه در ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد همگن شده سپس عصاره ی حاصل به فالکون انتقال یافته و به مدت ۵ دقیقه در ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی ۴ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک‌اسید بود اضافه شد. مخلوط فوق به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۵ درجه سانتی گراد)، انکوبه گردیدند. سپس مخلوط حاصل بلافاصله در حمام یخ سرد شد و بعد از آن در سرعت ۶۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. میزان جذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Shimadzu UV-120-02 در طول موج ۵۳۲ نانومتر تعیین و جذب ناویژه در ۶۰۰ نانومتر از آن کسر شد. غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) با استفاده از ضریب تصحیح ( $\mu \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) ۰/۱۵۵ محاسبه و براساس واحد میکرومول بر گرم وزن تر ( $\mu \text{mol g}^{-1} \text{F.W.}$ ) بیان شد (Health and Packer, 1968).

**آنالیز آماری:** این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی

سنجش های آنزیمی نیز مورد استفاده قرار گرفت. از بخش رویی عصاره جهت سنجش غلظت پروتئین عصاره های گیاهی با استفاده از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد.

**سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگ:** مخلوط واکنش برای سنجش فعالیت آنزیم شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، متیونین ۰/۱۳ مولار، EDTA ۰/۱ میکرومولار و ریوفلاوین ۲ میکرومولار آماده گردید و در تاریکی کامل نگهداری شد. بلافاصله پس از اضافه کردن ریوفلاوین، ۳ میلی لیتر از آن را درون لوله آزمایش ریخته و به هر لوله ۱۰۰ میکرولیتر نمونه عصاره پروتئینی اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۱۶ دقیقه در فاصله ۳۰ سانتی متری از منبع نور قرار گرفتند و در این فاصله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر و توسط محلول تاریکی به عنوان شاهد تنظیم شد. پس از ۱۶ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج مذکور خوانده شد. از آنجائیکه یک واحد آنزیم مذکور عبارت است از میزانی از آنزیم که ۵۰ درصد بازداشت ایجاد می کند، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس واحد آنزیمی به ازای هر میلی گرم پروتئین برای تمام نمونه‌ها محاسبه گردید (Giannopolitis and Ries, 1977).

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز برگ:** بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH ۷) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی مولار بود. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی لیتر آغاز گردید. تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم براساس واحد آنزیمی به ازای هر میلی گرم پروتئین برای تمام نمونه‌ها محاسبه گردید (Dazy et al., 2008).

**سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ:** برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۲۵۰ میلی مولار (pH ۷)، آب اکسیژنه ۱/۲ میلی مولار، اسید آسکوربیک ۰/۵ میلی مولار و EDTA ۰/۱ میلی مولار بود. با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش که محتوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره ی آنزیمی فعالیت آنزیمی

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ به ترتیب ۲۸.۰۶٪، ۴۱.۶٪ و ۱۳۸.۲٪ نسبت به شاهد افزایش یافت. در تیمارهای برهم کنش گیاهان با محلول های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم و محلول ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم نسبت به تیمار شوری بدون سلنات سدیم میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب ۶۱.۴۲٪ و ۷۴.۶۱٪ نسبت به همین تیمار شوری بدون سلنات سدیم افزایش نشان داد. در تیمارهای برهم کنش گیاهان با محلول های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم و محلول ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم مذکور نسبت به تیمار شوری بدون سلنات سدیم به ترتیب ۸۵.۱٪ و ۱۱۵.۵۶٪ افزایش مشاهده گردید. نتایج مشابهی در تیمارهای برهم کنش با ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم و محلول ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم به دست آمد (شکل ۳).

**نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ:** بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار کلرید سدیم، سلنات سدیم و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار شوری با افزایش غلظت کلرید سدیم از ۲۵ تا ۵۰ و ۷۵ میلی مولار میزان فعالیت آنزیم مزبور به ترتیب ۷۸.۰۷٪، ۱۱۹.۲۵٪ و ۱۳۴.۸۱٪ نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. در تیمارهای برهم کنش محلول ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم با محلول های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به ترتیب ۵۰.۰۲٪ و ۷۲.۴۹٪ نسبت به تیمار شوری بدون سلنات سدیم افزایش یافته است. در تیمارهای برهم کنش گیاهان با محلول ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم و محلول ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم مذکور نسبت به تیمار شوری بدون سلنات سدیم به ترتیب ۱۰۲.۸۵٪ و ۹۵.۹٪ افزایش مشاهده گردید. نتایج مشابهی در تیمارهای برهم کنش با محلول های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم و محلول ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم به دست آمد (شکل ۴).

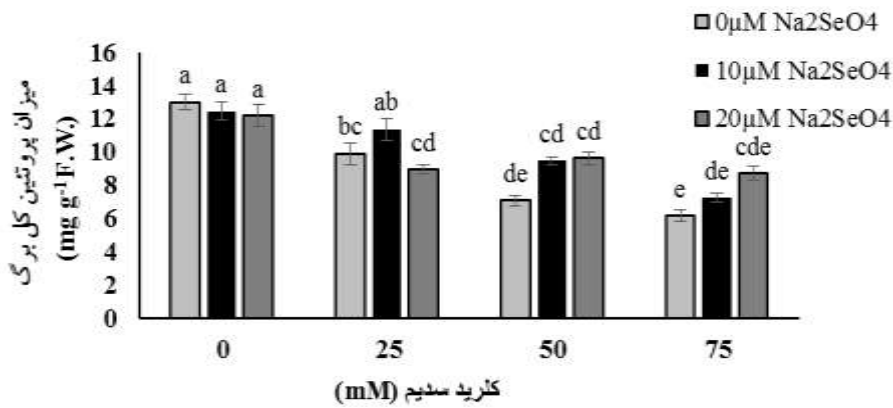
انجام شد و برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت. برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن استفاده شد.

### نتایج:

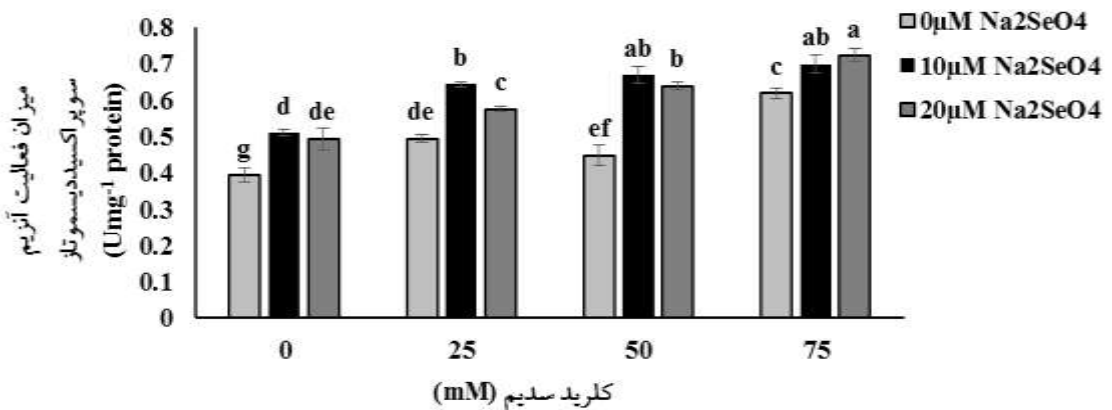
**نتایج مربوط به میزان پروتئین کل برگ:** بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده ها نشان داد که در تیمار شوری با افزایش غلظت کلرید سدیم از ۲۵ تا ۵۰ و ۷۵ میلی مولار میزان پروتئین کل برگ به ترتیب ۲۴.۲۵٪، ۴۵.۲۷٪ و ۵۹.۳۳٪ نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. در تیمارهای برهم کنش با محلول ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم و ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم میزان پروتئین کل برگ به ترتیب ۲۲/۴۳٪ و ۱۰٪ نسبت به تیمار شوری بدون سلنات سدیم افزایش یافته است و نیز در تیمار با محلول ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم و غلظت های ذکر شده از سلنات سدیم به ترتیب ۲۶/۱۴٪ و ۲۰/۲۳٪ نسبت به تیمار شوری بدون سلنات سدیم افزایش داشته است. در تیمار با محلول ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم و غلظت های ذکر شده از سلنات سدیم نسبت به تیمار شوری بدون سلنات سدیم نیز نتایج مشابه مشاهده شد (شکل ۱).

**نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز برگ:** همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده، در تیمار گیاهان با محلول های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به ترتیب ۱۰.۲۶٪، ۱۲.۸۲٪ و ۴۸.۷۱٪ نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. در تیمار برهم کنش غلظت ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم با محلول های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم میزان فعالیت آنزیم فوق به ترتیب ۴۸.۸۳٪ و ۳۲.۵۶٪ نسبت به همین تیمار شوری بدون سلنات سدیم افزایش مشاهده شد. نتایج مشابه در تیمار با غلظت های مختلف شوری و سلنات سدیم مشاهده شد.

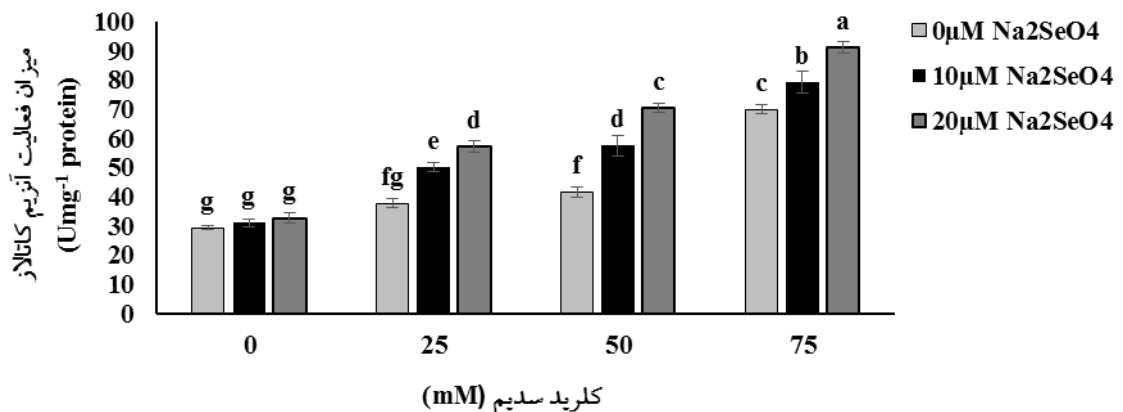
**نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ:** در تیمار گیاهان با غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم



شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان پروتئین کل برگ. حروف یکسان نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار است.



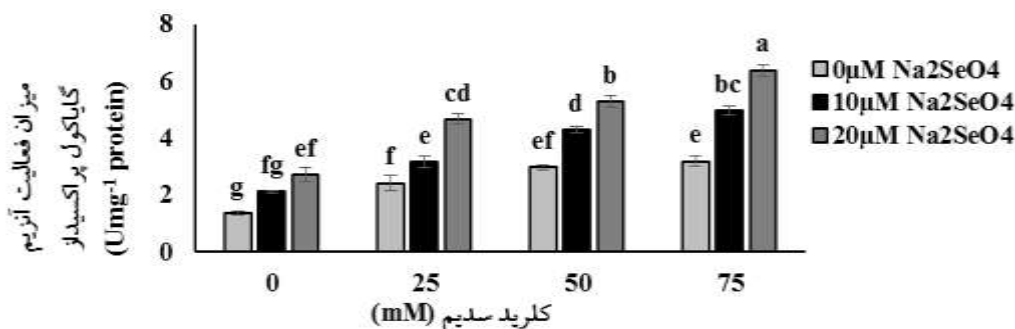
شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز برگ. حروف یکسان نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار است.



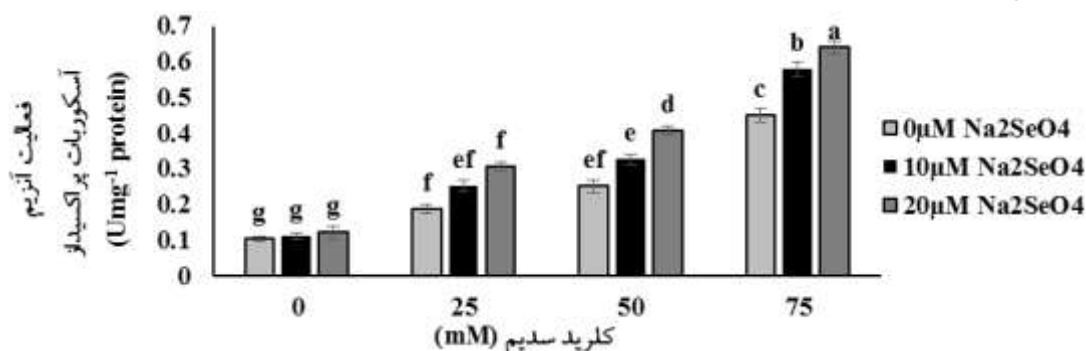
شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ. حروف یکسان نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار است.

شاهد افزایش نشان داد. در تیمار برهم کنش غلظت ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم با ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم میزان فعالیت آنزیم فوق به ترتیب ۱۲۵.۶۳٪ و ۱۵۵.۰۶٪ نسبت به همین تیمار شوری بدون سلنات سدیم افزایش مشاهده شد. در گیاهان تحت تیمار برهم کنش ۲۵ و ۵۰ میلی مولار کلرید

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ: میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ در شکل ۵ مشاهده می شود. در تیمار گیاهان با غلظت های ۵۰ و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ترتیب ۸۰.۶۷٪، ۱۴۴.۱۵٪ و ۳۳۹.۰۲۴٪ نسبت به



شکل ۴- اثر غلظت های متفاوت تیمار سلنات سدیم و سلنات سدیم بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ. حروف یکسان نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار است.



شکل ۵- اثر تیمارهای مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ. حروف یکسان نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار است.

پروتئین های محلول در گیاه کتان تحت تنش شوری کاهش یافت. تنش های غیر زیستی باعث مهار سنتز بعضی از پروتئین ها شده ولی سنتز بعضی دیگر از پروتئین ها را افزایش می دهند اما در کل باعث کاهش میزان پروتئین می گردند (Ericson and Alfinito, 1984). تنش خشکی در گندم سبب کاهش میزان پروتئین شد (Xiaoqin *et al.*, 2009). پروتئینها به وسیله پروتئازها هیدرولیز می شوند تا اسیدهای آمینه را برای ذخیره شدن، انتقال و تنظیم اسمزی افزایش دهند. تنظیم اسمزی، محافظت از ماکرومولکول های سلولی، ذخیره نیتروژن، ثابت نگه داشتن pH سلول، سمیت زدایی سلول ها و مهار رادیکال آزاد جزء اعمال پیشنهادی برای تجمع آمینواسیدهای آزاد شده از پروتئین تحت تنش هستند (Paridaa *et al.*, 2004).

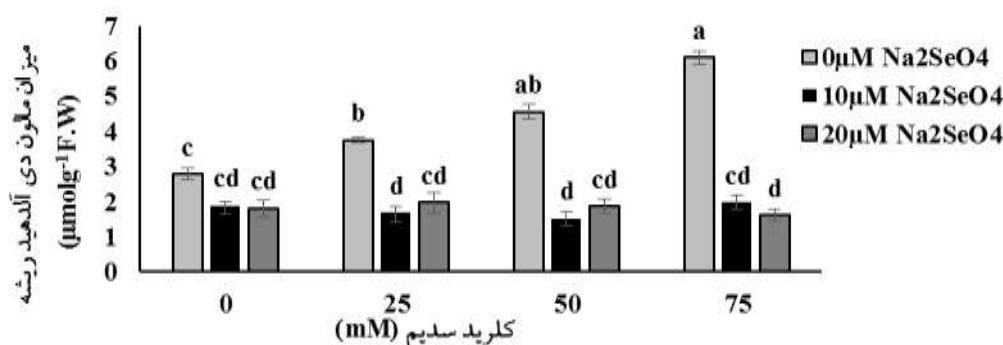
Pareek و همکاران (1997) اظهار داشتند که روند تغییرات میزان پروتئین همیشه یکسان نیست و تا حد زیادی به گونه گیاهی و شرایط محیطی وابسته است. افزایش میزان پروتئین

سدیم و غلظت های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم نتایج مشابه به دست آمد.

**نتایج مربوط به میزان پراکسیداسیون لیپید ریشه:** نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها نشان داد که با افزایش شوری میزان مالون دی آلدهید به ترتیب ۱۳۴.۸۹٪، ۱۶۳.۳۶٪ و ۲۱۹.۴۲٪ نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در تیمار برهم کنش با محلول ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم و محلول های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم به ترتیب ۵۹.۱۷۱٪ و ۴۷.۴۶٪ نسبت به تیمار شوری بدون سلنات سدیم میزان مالون دی آلدهید کاهش نشان داد و نیز در گیاهان تحت تیمار برهم کنش ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم و غلظت های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم نتایج مشابه به دست آمد (شکل ۶).

#### بحث:

در پژوهش حاضر تنش شوری سبب کاهش میزان پروتئین شد. Jiang و همکاران (2006) مشاهده کردند که میزان



شکل ۶- اثر غلظت های مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان مالون دی آلدئید ریشه. حروف یکسان نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار است.

هیدروکسیل ( $\text{OH}\cdot$ ) می گردد، بسیاری از ترکیبات سلولی از قبیل لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین ها تخریب می شوند. جاروب کردن گونه های فعال اکسیژن به وسیله ی آنزیم هایی از قبیل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز صورت می گیرد (Gill and Tuteja, 2010). افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان تحت تنش شوری در بسیاری از گیاهان از جمله کتان (Desingh and Kanagaraj, 2007)، توت فرنگی (Sudhakar *et al.*, 2001)، گوجه فرنگی (Mittova *et al.*, 2002) و برنج (Vaidyanathan *et al.*, 2003) گزارش شده است که با نتایج ما مطابقت دارد.

نتایج نشان می دهد که در تیمار گیاهان با محلول های مختلف کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد که مطابق نتایج در گندم (Sairam *et al.*, 2002) می باشد. در تیمارهای برهم کنش شوری و سلنیوم در گیاه ترشک نیز فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت (Kong *et al.*, 2005) که با نتایج پژوهش حاضر در تیمارهای برهم کنش کلرید سدیم و سلنات سدیم مطابقت دارد. در گیاهان مسن تیمار سلنیوم باعث پیشگیری از کاهش غلظت توکوفرول و بالا بردن فعالیت سوپراکسید دیسموتاز می گردد (Xue *et al.*, 2001). همچنین کارهای پژوهشی روی پیری در کاهو و سویا نشان داد که سلنات، کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در روند پیری را کندتر کرده و سبب جلوگیری از تخریب اکسیداتیو می گردد (Djanaguiraman *et al.*, 2005).

در پژوهش حاضر تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز برگ در

تحت تنش شوری را می توان به دلیل افزایش میزان آنزیم های آنتی اکسیدان و سایر پروتئین های ضد تنش دانست (Tada and Kashimura, 2009).

نتایج این پژوهش نشان می دهد که با افزایش غلظت کلرید سدیم، محتوای پروتئین در گیاهانی که تنها تحت تنش شوری قرار داشتند نسبت به شاهد، کاهش یافته است. افزایش شوری سبب کاهش مقادیر پروتئین می گردد و این کاهش می تواند به علت کاهش سنتز پروتئین یا افزایش هیدرولیز آن باشد (Parasher, 1987). گزارش های متعددی مبنی بر کاهش مقدار پروتئین در گیاهانی که تحت تنش شوری قرار داشتند وجود دارد که از جمله می توان به گزارش هایی از اثر شوری بر روی ذرت خوشه ای (Neto *et al.*, 2004) و جو (Khosravinejad *et al.*, 2009) اشاره کرد.

نتایج این پژوهش حکایت از آن دارد که در گیاهانی که تحت تنش شوری و سلنات سدیم قرار داشتند در مقایسه با گیاهانی که تنها تحت تنش شوری واقع شده بودند در غلظت های یکسان کلرید سدیم، محتوای پروتئین بیشتری مشاهده شده است. یک علت آن مربوط است به افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز از طریق افزایش بیان ژن آن و علت دیگر آن این است که سلنیوم از طریق برهم کنش با آنزیمهای دارای گروه سولفیدریل مانند نیترات ردوکتاز در افزایش میزان پروتئین موثر می باشد (Nowak *et al.*, 2004).

از آن جا که تنش شوری منجر به ایجاد تنش آبی در گیاه شده که موجب تشکیل انواع فعال اکسیژن (ROS) از قبیل سوپراکسید ( $\text{O}_2\cdot^-$ )، پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) و رادیکال



سلنیوم همراه با تنش خشکی، افزایش میزان فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان مشاهده شد (Sajedi *et al.*, 2011) یعنی سلنیوم ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاهان تحت تنش های مختلف را بالا می برد (Djanguiraman *et al.*, 2005). بعلاوه سلنیوم فعالیت کاتالاز و گلوکاتایون ترانسفراز را تحت تاثیر قرار داده است (Hartikainen *et al.*, 2000). Xue و همکاران (2001) نشان دادند که در سیب زمینی سلنیوم کاهش توکوفرول ها را به تاخیر انداخته است. در گزارش دیگری Nowak و همکاران (2004) افزایش قابل ملاحظه ای در میزان فعالیت نترات ردوکتاز گیاهان گندم تحت تیمار سلنیوم مشاهده کردند که احتمالاً به دلیل اتصال سلنوسیستئین به یک جایگاه فعال آنزیم، که NADPH باند می شود، می باشد. زیرا سلنوسیستئین قدرت نوکلئوفیلی بیشتر و PK (لگاریتم منفی ثابت تعادل) کمتری را نسبت به سیستئین دارا می باشد.

یکی از واکنش‌هایی که در حضور انواع فعال اکسیژن سرعت بیشتری پیدا می‌کند پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که باعث تولید آلدئیدهایی مثل مالون دی آلدئید (MDA) و ترکیباتی مثل اتیلن می‌شوند (Qiuji *et al.*, 1996). اثر رادیکال‌های اکسیژن بر لیپیدها و پراکسیداسیون آنها ناشی از اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع می باشد که واکنشهای زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک کرده و منجر به تخریب اسیدهای چرب می‌شوند. رادیکال‌های هیدروکسیل و یا اکسیژن یکتایی با گروه‌های متیلن اسیدهای چرب غیر اشباع واکنش داده و تولید رادیکالهای پراکسی و هیدرو پراکسی لیپید می‌کنند (Bandyopadhyay *et al.*, 1999). میزان پراکسیداسیون لیپید در گیاهان اغلب برای ارزیابی اثر تنش های محیطی تعیین می‌شود. پراکسیداسیون لیپید یک فرایند وابسته به رادیکال‌های آزاد است. رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آنیون‌های سوپراکسید به اسیدهای چرب غیراشباع حمله کرده، در نتیجه منجر به تغییر ساختار و عمل غشا و در نهایت شکل‌گیری تولیدات سنتزی مانند آلدئیدها می‌شود. معمولاً افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها به عنوان شاخص افزایش تنش اکسیداتیو مطرح شده است. افزایش پراکسیداسیون لیپید در گیاهان تحت تیمار با کلرید

همه تیمارهای برهم کنش شوری و سلنات معنی دار بود. Yao و همکاران (۲۰۰۹) پیشنهاد کردند که تحت تنش خشکی پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیکی دانه رست‌ها بستگی به غلظت سلنیوم دارد. تیمار گیاهان با غلظت کم سلنیوم موجب تجمع مقدار پرولین و افزایش فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز شده، محتوای کلروفیل را افزایش داده و مقدار MDA دانه‌رست‌های گندم را کاهش داد. اما در پژوهش دیگری کاربرد سلنیوم به تنهایی تأثیری روی فعالیت کاتالاز و پراکسیداز نداشته، در صورتی که در گیاهان تحت تیمار خشکی و سلنیوم به طور قابل ملاحظه‌ای فعالیت آنزیم های فوق افزایش یافت (Xiaoqin *et al.*, 2009).

Rios و همکاران (2009) مشاهده کردند که تیمار سلنات در غلظت‌های کم سبب القای سیستم آنتی اکسیدانی در گیاه کاهو گردیده و فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون پراکسیداز را افزایش داد، همچنین ترکیبات آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی مثل آسکوربات و گلوکاتایون را نیز افزایش داد. سلنیوم بعنوان یک آنتی اکسیدان عمل می‌کند و ممانعت کننده پراکسیداسیون لیپید در علف چمن می‌باشد (Hartikainen *et al.*, 2000). چندین مطالعه نشان داده که نقش حفاظتی سلنیوم در مقابل تنش اکسیداتیو در گیاهان عالی با بالا بردن فعالیت پراکسیداز و کاهش پراکسیداسیون لیپید منطبق است (Djanaguiraman *et al.*, 2005)، تاخیر فرایند پیری و بالا بردن ظرفیت آنتی اکسیدانی که با افزایش فعالیت پراکسیداز همراه است، حضور پراکسیداز وابسته به سلنیوم را پیشنهاد می‌کند (Hartikainen *et al.*, 2000).

Wala و همکاران (2010) گزارش کردند در دانه رست های خیار تحت تنش شوری و سلنات افزایش فعالیت آنزیم ها به دلیل نقش حفاظتی سلنیوم می باشد که به دلیل، کاهش رادیکال های اکسیژن، تنظیم فشار اسمزی به وسیله اسمولیت هایی مثل پرولین ، افزایش بیوستتز آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی مثل فنل ها به وسیله افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیولیز، القای فعالیت بعضی آنتی اکسیدان های آنزیمی و بیوستتز ایزوزیم های جدید پراکسیداز می باشد. در تیمار

همکاران (2009) مشاهده کردند پراکسیداسیون لیپیدها در گیاه *Pteris vittata* L. تحت تنش آرسنیک در حضور ۵ و ۱۰ میکرومول سلنات سدیم کاهش نشان داد و باعث افزایش سطوح تیولها و گلووتاتیون گردید. این نتایج نشان داد که سلنیوم هم یک آنتی اکسیدان است و تنش اکسیداتیو را با تنظیم ژن های سیستم دفاعی کاهش می دهد. سلنیوم توانایی آنتی اکسیدانی را بالا برده و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در قسمت های هوایی دانه رست های گندم در معرض اشعه-UV B را کاهش می دهد (Yao et al., 2010). آزمایشاتی که توسط Djanaguiraman و همکاران (2005) روی سویا انجام شد نشان داد که سلنیوم تشکیل MDA را مهار می کند و سبب تاخیر پیری می شود. به نظر می رسد سلنات سدیم تحمل گیاهان را نسبت به شوری افزایش می دهد.

#### نتیجه گیری کلی:

بررسی های انجام شده نشان دهنده درگیری تنش اکسیداتیو تحت تنش شوری است و همچنین استراتژی های سازگاری یا دفاعی در برابر آن می باشد. کلرید سدیم با تولید انواع فعال اکسیژن ها و  $H_2O_2$  باعث جلوگیری از رشد گیاه، پراکسیداسیون لیپید و اکسیداسیون پروتئین ها می شود. سلنات سدیم در غلظت های مناسب سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدان های آنزیمی (SOD, CAT, POX و APX) که نقش کلیدی در کاهش تخریب اکسیداتیو و اثر حفاظتی در برابر تنش حاصل از شوری در گیاه آفتابگردان را دارد. در پایان می توان گفت افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه و توانایی گیاه در تحمل شوری در غلظت های استفاده شده در اینجا می تواند نتیجه ای از سمیت زدایی انواع فعال اکسیژن به وسیله سیستم آنتی اکسیدانی گیاه باشد. بنابراین مقاوم سازی گیاهان از طریق مسیرهای فیزیولوژیکی در زمین هایی که در معرض شوری قرار دارند امکان پذیر می باشد.

سدیم ناتوانی مکانیسم تحمل گیاه به تنش های اکسیداتیو را نشان می دهد و کاهش در مقدار آن نشان دهنده استحکام مکانیسم های تحمل در گیاه می باشد (Tohidi et al., 2009).

در پژوهش حاضر نیز اثر تیمار های مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان پراکسیداسیون لیپیدها در گیاه آفتابگردان مورد بررسی قرار گرفت. تنش شوری موجب خسارت به غشا گردیده و پراکسیداسیون لیپیدها را تشدید نموده است. همانطور که در شکل ۵ مشاهده می شود با افزایش غلظت کلرید سدیم محتوای مالون دی آلدهید که شاخصی برای پراکسیداسیون لیپیدها می باشد افزایش یافته که با نتایج بسیاری از محققین مطابقت دارد (Singh and Usha, 2003). لیپیدها جزء ترکیباتی هستند که علاوه بر دارا بودن نقش انرژی زایی، در ساختار غشاهای سلولی وجود دارند. به طوری که هرگونه تغییر در ساختمان لیپیدها در نفوذ پذیری و تمامیت غشاء اثر می گذارد. مشاهده شده است که با تنش شوری کمیت لیپیدها تغییر می کند (Ashraf and Harris, 2004). از این رو تغییر کمیت لیپیدها به عنوان یکی از شاخص های تنش شوری مطرح است. در تنش شوری اسیدهای چرب دارای پیوند مضاعف در معرض حمله رادیکال های آزاد اکسیژن قرار می گیرند که این امر منجر به تشکیل یک محصول سمی به نام مالون دی آلدهید می شود که نشانگر میزان پراکسیداسیون لیپیدها می باشد (Kavi Kishor, et al., 1995). تشکیل مالون دی آلدهید تحت تنش شوری می تواند به دلیل تولید گونه های فعال اکسیژن یا به وسیله ی تخریب مستقیم اسیدهای چرب غیر اشباع باشد (Sairam, et al., 2002).

سلنیوم بعنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و ممانعت کننده پراکسیداسیون لیپید در علف چمن در غلظت پایین می باشد (Hartikainen, et al., 2000). چندین مطالعه نشان داده که نقش محافظتی سلنیوم در مقابل تنش اکسیداتیو در گیاهان عالی با کاهش پراکسیداسیون لیپید منطبق است (Xue et al., 2001). در برگ های دانه رست خیار تیمار با سلنیوم، این ماده غشاء سلولی را در مقابل پراکسیداسیون لیپید ناشی از تنش شوری محافظت می کند (Hawrylak-Nowak, 2009). Srivastava و

#### منابع:

Ashraf, M. and Harris, P. J. C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*

- 166: 3-16.
- Ashraf, M. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnological Advances* 27: 84-93.
- Bandyopadhyay, U., Das, D. and Banerjee, R. K. (1999). Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. *Current Science* 77: 658-666.
- Bartels, D. and Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Science* 24: 23-58.
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and sensitive method for the a quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding, *Analytical Biochemistry* 72 : 248-254 .
- Chen, T-F., Zheng, W-J., Wong, Y-S. and Yang, F. (2008). Selenium – induced changes in activities of antioxidant enzymes and content of photosynthetic pigments in *Spirulina platensis*. *Journal of Integrative Plant Biology* 50 :40-48.
- Chu, J., Yao, X. and Zhang, Z.(2010). Response of wheat seedlings to exogenous selenium supply under cold stress. *Biological Trace Element Research* 136:355-363.
- Comba, M. E., Benavides, M. P. and Tomaro, M. L. (1998). Effect of salt stress on antioxidant defence system in soybean root nodules. *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 665-671.
- Dazy, M., Jung, V., Ferard, J. and Masfaraud, J. (2008). Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: Role of plant antioxidant enzymes and possible implication in site restoration. *Chemosphere* 74: 57-63.
- Demiral, T. and Turkan, I. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental Experimental Botany* 53: 247-257.
- Desingh, R. and Kanagaraj, G. (2007). Influence of salinity stress on photosynthesis and antioxidative systems in two cotton varieties. *General and Applied Plant Physiology* 33: 221-234.
- Djanaguiraman, M., Durga Devi, D., Shanker, A. K., Sheeba, J. A. and Bangarusamy, U. (2005). Selenium – an antioxidative protectant in soybean during senescence. *Plant and Soil* 272: 77-86.
- Ericson, M. C. and Alfinito, A. E. (1984). Proteins produced during salt stress in tobacco cell cultures. *Plant Physiology* 74: 506-509.
- FAO (2008). Land and Plant Nutrition Management Service, <http://www.fao.org>.
- Germ, M. Stibilj, V. Kreft, I. (2007). Metabolic Importance of Selenium for Plants. *The European Journal of Plant Science Biotechnolog* 1: 91-97.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309- 314.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909-930.
- Gressel, J. and Galun, E. (1994). Genetic controls of photooxidant tolerance. In: *Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence Systems in Plants* (Eds. C.H., Foyer, Mullineaux, P. M.). Pp. 237-274. CRC Press Boca Raton:
- Hartikainen, H. Xue, T. and Piironen, V. (2000). Selenium an oxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant and Soil* 225: 193-200.
- Hasanuzzaman, M. Anwar Hossain, M. and Fujita, M. (2010). Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. *Journal of Plant Sciences* 5: 354-375.
- Hawrylak-Nowak, B. (2009). Beneficial effect of exogenous selenium on cucumber seedlings subjected to salt stress. *Biological Trace Element Research* 132: 259-269.
- Health, R. L. and Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hissao, T. (1973). Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* 24: 519-570.
- Jiang, M. and Zhang, J. (2001). Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiology* 42: 1265- 1273.
- Jiang, L., Duan, L., Tian, X., Wang, B., Zhang, H., Zhang, M. and Li, Z. (2006). NaCl salinity stress decreased *Bacillus thuringiensis* (Bt) protein content of transgenic Bt cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedlings. *Environmental Experimental Botany* 55:315-320.
- Kaja, C. Higgs, D. Sakar, E. (2002). Response of two leafy vegetables grown at high salinity to supplementary potassium and phosphorus during different growth stages. *Journal of Plant Nutrition* 25:2663-2676.
- Karaaslan, D. Hatipoglu, A. Turk, Z. Kaya, Y. (2010). Determination of potential Sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars for the irrigated conditions of diyarbakir. *Helia* 33:145-152.
- Kavi Kishor, P. B., Hong, Z. Miao, G-H., Hu, C. A. A. and Verma, D. P. S. (1995). Overexpression of  $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylic acid synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology* 108: 1387-1394.
- Khan, N. A. Syeed, S. Masood, A. Nazar, R. and Iqbal, N. (2010). Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mung bean and alleviates adverse effects of salinity stress. *International*

Journal of Plant Biology 1: 1-8.

- Khavari-Nejad, R. A. and Chaparzadeh, N. (1998). The effects of NaCl and CaCl<sub>2</sub> on photosynthesis and growth of alfalfa plants. *Photosynthetica* 35: 461-466.
- Khorshidi, M. B. Yarnia, M. Hassanpanah, D. (2009). Salinity effect on nutrients accumulation in alfalfa shoots in hydroponic condition. *Journal of Food Agriculture and Environment* 7: 787-790.
- Khosravinejad, F., Heydari, R. and Farboodnia, T. (2009). Effect of salinity on organic solutes contents in barley. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12: 158-162.
- Kong, L. Wang, M. and Bi, D. (2005). Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation* 45: 155-163.
- Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies* 15: 523-530.
- Mittova, V. Guy, M. Tal, M. and Volokita, M. (2002). Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt dependent oxidative stress: increased activities of antioxidant enzymes in root plastids. *Free Radical Research* 36: 195-202.
- Munns, R. and Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651-681.
- Nazar, R. Iqbal, N. Masood, A. Syeed, S. Khan, N. A. (2011). Understanding the significance of sulfur in improving salinity tolerance in plants. *Environmental and Experimental Botany* 70:80-87.
- Neto, A.D.D.A., Prisco, J.T., Eneas-Filho, J., Lacerda, C. F.D., Silva, J. V., Costa, P. H.A.D. and Gomes-Filho, E. (2004). Effects of salt stress on plant growth, stomata response and solute accumulation of different maize genotypes. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 16: 31-38.
- Nowak, J. Kaklewski, K. and Ligocki, M. (2004). Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 1553-1558.
- Parasher, A. (1987). Effect of different levels of soil salinity on the chemical composition of wheat. *Plant Physiology and Biochemical, India*, 14: 153-158.
- Pareek, A., Singla S. L. and Grover A. (1997). Salt responsive proteins/genes in crop plants. In: Jaiwal, P. K, Singh RP and Gulati A: Strategies for improving salt tolerance in higher plants. Oxford and IBH Publishing Company, New Delhi, 365-391.
- Parida, A. K. Dasa, A. B., Mittra, B. and Mohanty, P. (2004). Salt-stress Induced Alterations in Protein Profile and Protease Activity in the Mangrove *Bruguiera parviflora* 408-414.
- Qiujie, D., Bin, Y.S., Xiao, Z. and Wang, Z. (1996). Flooding – induce membrane damage, lipid oxidation and activated oxygen generation in Corn leaves. *Plant and Soil* 179: 261-268.
- Rios, J. J., B. Blasco, L. M. Cervilla, M. A. Rosales, E. Sanchez-Rodriguez, L. Romero, J. M. Ruiz (2009). Production and detoxification of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in lettuce plants exposed to selenium. *Annals of Applied Biology*, 154: 107-116.
- Roshandel, P. and Flowers, T. (2009). The ionic effects of NaCl on physiology and gene expression in rice genotypes differing in salt tolerance. *Plant and Soil* 315: 135-147.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163: 1037-1046.
- Sajedi, N. A., Ardakani, M. R., Madani, H., Naderi, A. and Miransari, M. (2011). The effect of selenium and other micronutrients on the antioxidant activity and yield of corn (*Zea mays* L. under drought stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 17: 215-222.
- Schwarz, K. C. M. Foltz. (1957). Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *Journal of the American Chemical Society* 79: 3292-93.
- Seckin, B., Turkan, I., Sekmen, A. H. and Ozfidan, C. (2010). The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (sea barleygrass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley). *Environmental and Experimental Botany* 69: 76-85.
- Seppanen, M. Turakainen, M. Hartikainen, H. (2003). Selenium effects on oxidative stress in potato. *Plant Science* 165:311-319.
- Shanker, A.K. (2006). Counteracting UV-B stress in plants: Does selenium have a role? *Plant Soil* 282:21-26.
- Singh, B. and Usha, K. (2003). Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation* 39: 137-141.
- Singh, M. Singh, H. and Bhandari, D.K. (1980). Interaction of selenium and sulphur on the growth and chemical composition of raya. *Soil Science* 129:155-164.
- Srivastava, M., Ma, L. Q., Rathinasabapathi, B. and Srivastava, P. (2009). Effects of selenium on arsenic uptake in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Bioresource Technology* 100: 1115-1121.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridarakumar, S. (2001). Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science* 161:613-619.
- Sun, H.W. Ha, J. Liang, S.X. and Kang, W.J. (2010). Protective role of selenium on garlic growth under cadmium stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 41:1195-1204.

- Tada, Y and Kashimura, T. (2009). Proteomic Analysis of Salt-Responsive Proteins in the oxidativestress in *Oryza sativa* L. roots. *Plant Physiology* 30: 95-110.
- Terry, N. Zayed, A. M. de Souza, M.P. and Tarun, A.S. (2000). Selenium in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiology and Molecular Biology of Plants* 51: 401-432.
- Tohidi, Z., Baghizadeh, A. and Enteshari, S. (2009). The effect of aluminum and phosphorous on Brassica napus. *Agricultural and Environment* 6: 137-142.
- Turakainen, M. Hartikainen, H, Seppänen, M. M. (2004). Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *JO urnal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 5378-5382.
- Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R. and Thomas, G. (2003). Scavening of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) differential response in slt-tolerant and sensitive varieties. *Plant Science* 165: 1411-1418.
- Walaa, A. E., Shatlah, M. A., Atteia, M. H. and Srar, H. A. M. (2010). Selenium Induces Antioxi daant defensive enzyme and promotes tolerance against salinity stress in cucumber seedlings (*Cucumis sativus*) Arab University Journal Agricultural Science 18(1): 65-76.
- Wu, L, P. J. V. Mantgem, X. Guo. (1996). Effects of forage plant and field legume species on soil selenium redistribution, leaching, and bioextraction in soils contaminated by agricultural drain water sediment. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 31: 329-38.
- Xiaoqin, Y., Jianzhou, C. and Guangyin, W. (2009). Effects of drought stress and selenium supply on growth and physiological characteristics of wheat seedlings. *Agricultural and Food Science Finland* 9: 177-186.
- Xue, T. L., Hartikainen, H. and Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting, effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil* 237: 55-61.
- Yao, X. Q., Chu, J. Z. and Ba, C. J. (2010). Antioxidant responses of wheat seedlings exogenous selenium supply under enhanced ultraviolet-B. *Biological Trace Element Research* 136: 96-105.
- Yao, X., Chu, J. and Wang, G. (2009). Effect of selenium on wheat seedlings under drought stress. *Biological Trace Element Research* 130: 283-290.

