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

فرزانه نجفی[1*]، رمضانعلی خاوری نژاد[1و2] و مهتاب رشیدی[1]

[1]گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کد پستی ١٤٩١- ١٥٧١٩، تهران، ایران

[2]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ٩٣/١٠/١٢، تاریخ پذیرش نهایی: ١٣٩٤/١٠/٢٨)

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 ٠، ١٠ و ٢٠ میکرو مولار و کلرید سدیم در غلظت های ٠، ٢٥، ٥٠ و ٧٥ 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 وسلنات 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 آنتی‌اکسیدان های آنزیمی از جمله کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت. فعالیت آنزیم ها ی 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 آلدهید (MDA) نیز با افزایش غلظت کلرید سدیم افزایش معنی داری نشان داد. بیشترین میزان مالون دی آلدهید در تیمار ٧٥ 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:

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 از٨٠٠ میلیون هکتار از اراضی سطح کره زمین (FAO, 2008) تحت تاثیر شوری قرار دارند که این مقدار بالغ بر ٦ درصد کل خاک های جهان می باشد (Seckin *et al.*, 2010).

شوری سبب تغییر فرایندهای فیزیولوژیکی در گیاهان گردیده و موجب سمیت یونی، تنش اسمزی و کمبود مواد غذایی در سلول های گیاهی می‌گردد (Munns and Tester, 2008). Roshandel وFlowers در سال ٢٠٠٩ نشان دادند که سمیت ناشی از تجمع یون های کلر و سدیم در گیاه برنج موثر تر از تنش اسمزی می با شد 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 می‌کنند

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: f_najafi@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]

(Demiral and Turkan, 2005). تولید انواع فعال اکسیژن ناشی از تنش های زیستی و غیرزیستی سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، تخریب پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Jiang and Zhang, 2001) . گیاهان برای کاهش اثر مخرب گونه های اکسیژن فعال مکانیسم های متفاوتی دارند. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنتی اکسیدانی اشاره کرد. این سیستم شامل سیستم آنزیمی و غیرآنزیمی است. آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز در پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند. در پاسخ به افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن، ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان افزایش می یابد (Gressel and Galun, 1994). اولین آنزیم پاکسازی کننده سوپراکسید دیسموتاز است که تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن 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. درطی این واکنش اسید آسکوربیک به مونودهیدروآسکوربات تبدیل می شود. پراکسیدازها گلیکوپروتئین‌هایی هستند که فنل‌ها را مانند یک دهنده هیدروژن مصرف کرده و در فرایندهای نمو، لیگنین سازی، بیوسنتز اتیلن، دفاع و التیام زخم‌ها شرکت می‌کنند (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) .

سلنیوم 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 سلنیوم در سال ۱۹۵۷ منتشر شد(Schwarz and Foltz, 1957). در جلبک *Spirulina platensis* نشان داده شده که سلنیوم برای رشد ایده آل آن ضروری می باشد(Chen *et al*., 2008) . احتمالا اولین اثر مثبت سلنیوم روی رشد گیاه (*Brassica juncea*) بوسیله Singh و همکارن (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. سلنیوم با ورود به ساختار پروتئین،بافت ها و غشاهای سلولی را در برابر تخریب ناشی از تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند (Turakainen, *et al*. 2004). غلظت‌های پائین سلنیوم روی متابولیسم سلول‌های گیاهی اثرات مفیدی داشته و میزان آنزیم های حذف کننده H_2O_2 (مانند آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز) و ترکیبات آنتی اکسیدانی (مانند گلوتاتیون، آسکوربات و پرولین) را افزایش داده که می‌توانند مقادیر H_2O_2 را در گیاه کاهش دهند (Rios *et al*., 2009).

عنصر سلنیوم 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 سلنیوم 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). سلنیوم می تواند تنش اکسیداتیو القا شده توسط دمای بالا (Seppanen *et al*.,2003)، خشکی (Yao *et al*., 2009; Xiaoqin *et al*., 2009)، سرما (Chu *et al*., 2010)، فلزات سنگین (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 تنش‌ها بالا ببرد.

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]

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 وتحمل 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 وتیمار 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 $۶۰ mol\ \mu h^{-1}\ s^{-1}$ بود. درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی گراد در شب در نظرگرفته 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 ٦ تنظیم گردید. زمانی که گیاهان ۲۰ روزه شدند تیماردهی آغاز شد. گیاهان تحت تیمار کلرید سدیم (NaCl) درچهار سطح ۰، ۲۰، ۵۰ و ۷۵ میلی مولارو تیمار سلنات سدیم در سه سطح ۰، ۱۰ و ۲۰ میکرو مولارقرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با 12 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 ٦/٨) به صورت هموژن درآمد. پس از همگن سازی، هر کدام از نمونه‌ها به ویال های ۲ میلی لیتری منتقل شدند. سپس سانتریفوژ نمونه ها در g ۱۵۰۰۰ به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی گراد انجام شد سپس محلول رویی جدا شد که این عصاره جهت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]

سنجش های آنزیمی نیز مورد استفاده قرار گرفت. از بخش رویی عصاره جهت سنجش غلظت پروتئین عصاره های گیاهی با استفاده از روش Bradford (۱۹۷٦) استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگ: مخلوط واکنش برای سنجش فعالیت آنزیم شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، متیونین ۰/۰۱۳ مولار، EDTA ۰/۱ میکرومولار و ریبوفلاوین ۲ میکرومولار آماده گردید و در تاریکی کامل نگهداری شد. بلافاصله پس از اضافه کردن ریبوفلاوین، 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 ۱٦ دقیقه در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از منبع نور قرار گرفتند و در این فاصله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵٦۰ نانومتر و توسط محلول تاریکی به عنوان شاهد تنظیم شد. پس از ۱٦ 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 سوپراکسیددیسموتاز 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 ۲٤۰ 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 ۲٤۰ 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 بود، شروع شد. کاهش جذب نور به علت پراکسیداسیون اسید آسکوربیک در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر 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 ٦/۸) و پراکسید هیدروژن ٤۰ 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 تتراگایاکول در طول موج ٤۷۰ 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 تیوباربیتوریک اسید (TBAT) با سنجش میزان مالون‌دی‌آلدهید انجام شد.۰/۲ گرم بافت تر ریشه در ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک‌اسید (TCA) ۰/۱ درصد همگن شده سپس عصاره ی حاصل به فالکون انتقال یافته و به مدت ۵ دقیقه در g ٦۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی ٤ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک‌اسید 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 g ٦۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. میزان جذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu UV-120-02 در طول موج ۵۳۲ نانومتر تعیین و جذب ناویژه در ٦۰۰ نانومتر از آن کسر شد. غلظت مالون‌دی آلدهید (MDA) با استفاده از ضریب تصحیح ($\mu\ mol^{-1}\ cm^{-1}$) ۰/۱۵۵ محاسبه و براساس واحد میکرومول بر گرم وزن تر (µmol g-1 F.W.) بیان شد (Health and Packer, 1968).

آنالیز آماری: این پژوهش در قالب یک طرح کاملا تصادفی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]

انجام شد و برای هرتیمار 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 24.25٪، 45.27٪ و59.33٪ نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. درتیمارهای برهم کنش با محلول ۲۵ میلی مولار کلریدسدیم 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 کلریدسدیم 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 کلریدسدیم و غلظت های ذکر شده از سلنات سدیم نسبت به تیمار شوری بدون سلنات سدیم نیز نتایج مشابه مشاهده شد(شکل ۱).

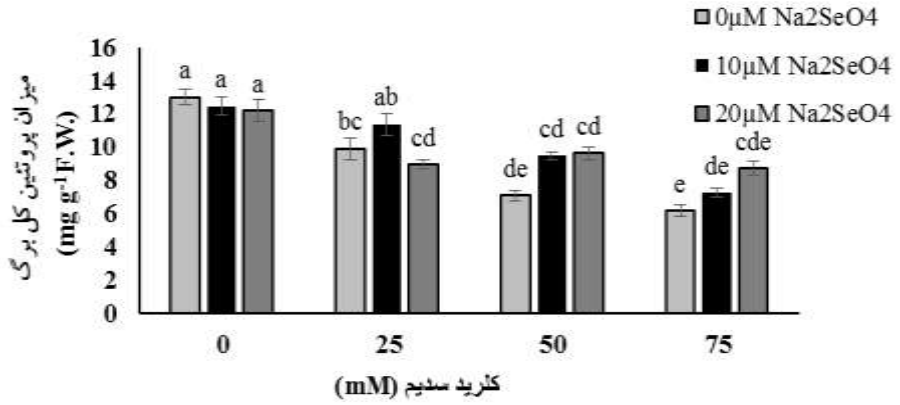
نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز برگ: همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده، در تیمار گیاهان با محلول های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به ترتیب ۱۰.۲۶٪، ۱۲.۸۲٪ و ۴۸.۷۱٪ نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. در تیمار برهم کنش غلظت ۲۵ میلی مولار کلرید 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: درتیمار گیاهان باغلظت های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم 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. درتیمارهای 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(شکل۳).

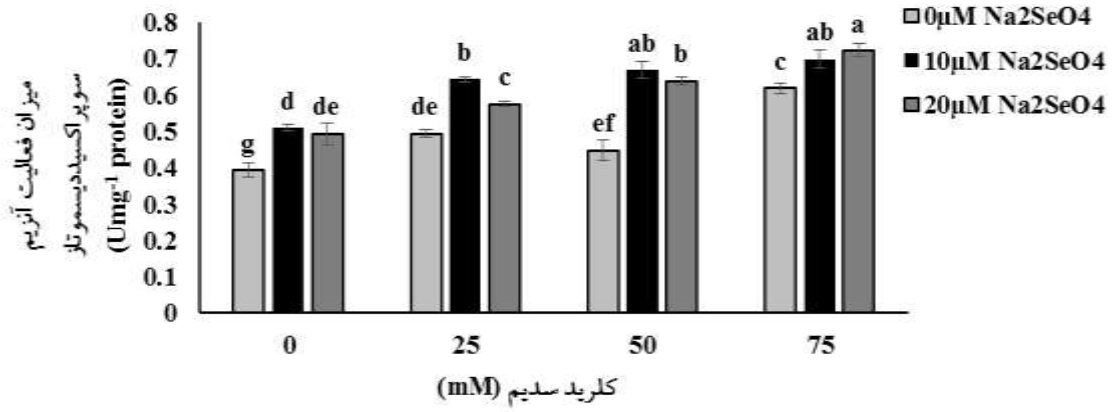
نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ:بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار کلرید سدیم،سلنات سدیم واثرات متقابل آن ها بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی داربود. میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تیمار شوری با افزایش غلظت کلرید سدیم از ۲۵ تا۵۰ و ۷۵ میلی مولار میزان فعالیت آنزیم مزبور به ترتیب ۷۸.۰۷٪، ۱۱۹.۲۵٪ و ۱۳۴.۸۱٪ نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. درتیمارهای برهم کنش محلول ۲۵ میلی مولار کلریدسدیم با محلول‌های 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. درتیمارهای 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 ٤).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

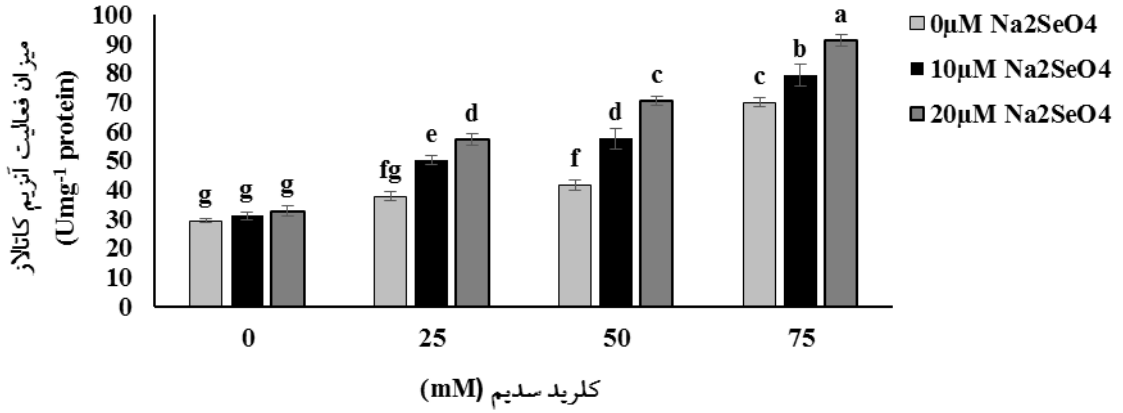
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]



شکل۱- اثرتیمارهای مختلف کلریدسدیم وسلنات سدیم بر میزان پروتئین کل برگ. حروف یکسان نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار است.



شکل۲- اثرتیمارهای مختلف کلریدسدیم وسلنات سدیم بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز برگ. حروف یکسان نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار است.

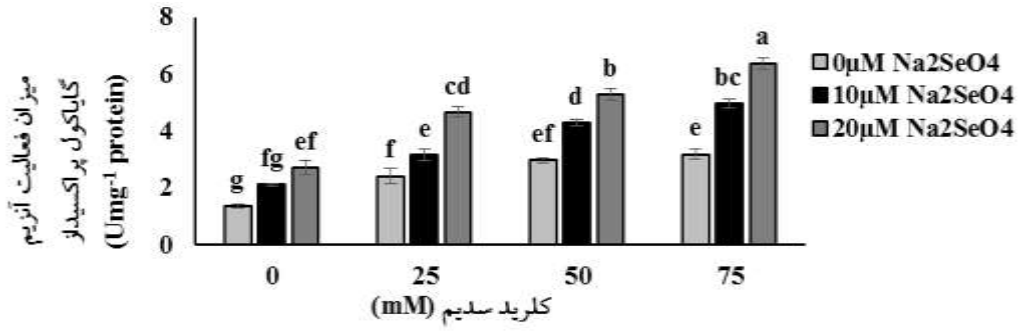


شکل ۳- اثرتیمارهای مختلف کلریدسدیم وسلنات سدیم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ. حروف یکسان نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار است.

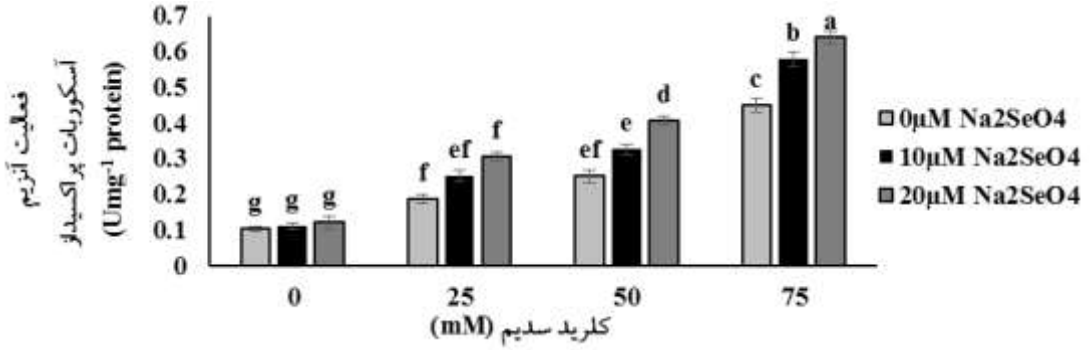
نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ: میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ در شکل ۵ مشاهده می شود. در تیمار گیاهان با غلظت های ۵۰ و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ترتیب ۸۰.۶۷٪، ۱۴۴.۱۵٪ و ۳۳۹.۰۲۴٪ نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در تیمار برهم کنش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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]



شکل ٤- اثرغلظت 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 ٥- اثرتیمارهای مختلف کلریدسدیم وسلنات سدیم بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ. حروف یکسان نشان دهندهی عدم تفاوت معنیدار است.

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

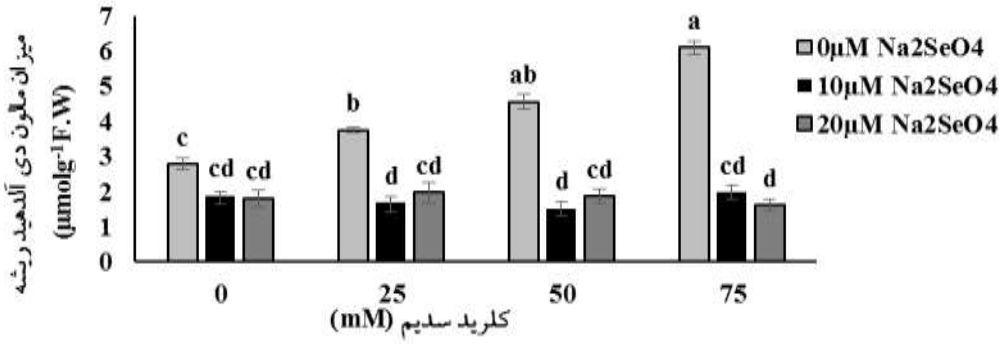
نتایج مربوط به میزان پراکسیداسیون لیپید ریشه: نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها نشان داد که با افزایش شوری میزان مالون دی آلدهید به ترتیب ۱۳٤.۸۹٪، ۱٦۳.۳٦٪ و ۲۱۹.٤۲٪ نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در تیمار برهم کنش با محلول ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم و محلول های ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم به ترتیب ۵۹.۱۷۱ ٪ و ٤۷.٤٦ ٪ 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 غلظتهای ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم نتایج مشابه به دست آمد(شکل٦).

بحث:

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]



شکل ٦- اثر غلظت های مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان مالون دی آلدهید ریشه. حروف یکسان نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار است.

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 کلریدسدیم، 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 کلریدسدیم، 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 ($O_2^{\bullet-}$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\bullet}$) 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 ازجمله 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 سوپراکسیددیسموتاز نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد که مطابق نتایج در گندم(Sairam *et al.*, 2002) می‌باشد. 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 درتیمارهای بر هم کنش کلرید سدیم و سلنات سدیم مطابقت دارد. در گیاهان مسن تیمار سلنیوم باعث پیشگیری از کاهش غلظت توکوفرول و بالا بردن فعالیت سوپراکسیددیسموتاز 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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]

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 درغلظت‌های کم سبب القای سیستم آنتی اکسیدانی در گیاه کاهو گردیده و فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش داد، همچنین ترکیبات آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی مثل آسکوربات و گلوتایتون 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 می کند (Hartikainen *et al*., 2000).

Walaa 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 بیوسنتز آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی مثل فنل ها به وسیله افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیولیاز، القای فعالیت بعضی آنتی اکسیدان های آنزیمی و بیوسنتز ایزوزیم های جدید پراکسیداز می باشد. در تیمار 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 گلوتاتیون 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 نیترات 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 آلدهیدهایی مثل مالون دی آلدهید (MDA) و ترکیباتی مثل اتیلن می‌شوند (Qiujie *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 آلدهیدها می شود. معمولاً افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها به عنوان شاخص افزایش تنش اکسیداتیو مطرح شده است. افزایش پراکسیداسیون لیپید در گیاهان تحت تیمار با کلرید

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]

سدیم ناتوانی مکانیسم تحمل گیاه به تنش‌های اکسیداتیو را نشان می‌دهد و کاهش در مقدار آن نشان دهنده استحکام مکانیسم‌های تحمل در گیاه می‌باشد (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 کلریدسدیم محتوای مالون‌دی آلدهید که شاخصی برای پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد 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 می‌کند (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 می‌باشد (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 می‌کند (Hawrylak-Nowak, 2009). Srivastava و 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 گلوتاتیون گردید. این نتایج نشان داد که سلنیوم هم یک آنتی‌اکسیدان است و تنش اکسیداتیو را با تنظیم ژن های سیستم دفاعی کاهش می‌دهد. 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 می‌دهد (Yao *et al*., 2010). آزمایشاتی که توسط Djanaguiraman و همکاران (2005) روی سویا انجام شد نشان داد که سلنیوم تشکیل MDA را مهار می‌کند وسبب تاخیر پیری می‌شود. به نظر می رسد سلنات سدیم تحمل گیاهان را نسبت به شوری افزایش می‌دهد.

نتیجه‌گیری کلی:

بررسی‌های انجام شده نشان‌دهنده درگیری تنش اکسیداتیو تحت تنش شوری است و همچنین استراتژی‌های سازگاری یا دفاعی در برابر آن می‌باشد. کلرید سدیم با تولید انواع فعال اکسیژن ها و H_2O_2 باعث جلوگیری از رشد گیاه، پراکسیداسیون لیپیدو اکسیداسیون پروتئین‌ها می‌شود. سلنات سدیم در غلظت های مناسب سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی(SOD، CAT، POX و APX) که نقش کلیدی در کاهش تخریب اکسیداتیو و اثر حفاظتی در برابر تنش حاصل از شوری درگیاه آفتابگردان را دارد. در پایان می توان گفت افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه و توانایی گیاه در تحمل شوری در غلظت‌های استفاده شده در اینجا می‌تواند نتیجه‌ای از سمیت‌زدایی انواع فعال اکسیژن به وسیله سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه باشد. بنابراین مقاوم سازی گیاهان از طریق مسیرهای فیزیولوژیکی در زمین هایی که در معرض شوری قرار دارند امکان پذیر می‌باشد.

.

منابع:

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]

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 Reviwes 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 Elemement 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 ManagementService,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). Benefical effect of exogenous selenium on cucumber seedlings subjected to salt stress. Biological Trace Elemement Research 132: 259-269.
Health, R. L. and Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast.I.Kinetics andstoichiometry 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 efence 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 thurigiensis (Bt) protein content of transgenic Bt cotton (*Gussypium hirsutun* 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 Δ1-pyrroline-5-carboxylic acid synthetase increases proline production and confers osmotolernace intransgenic 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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]

Journal of Plant Biology 1: 1-8.
Khavari-Nejad, R. A. and Chaparzadeh, N. (1998). The effects of NaCl and CaCl2 on photosynthesis and growth of alfa alfa plants. Photosynthetica 35: 461-466.
Khorshidi, M. B. Yarnia, M. Hassanpanah, D. (2009). Salinity effect on nutrients accumulation in alfa-alfa 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 pennelliito* salt dependent oxidative stress: increasedactivities of antioxidant enzymes in root plastids. Free Radical Research 36: 195-202.
Munns, R. and Tester, M. (2008).Mechanisms of salinity tolerance. Annual Reviwe 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.
Paridaa, A. K. Dasa, A. B., Mittrac, B. and Mohantyb, 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 H2O2 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 longterm 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 70: 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). Environtal and Experimental Botany 69: 76–85.
Seppanen, M. Turakainen a,M. Hartikainen,H (2003). Selenium effects on oxidative stress in potato.Plant Science 165:311-319.
Shanker, A.K.(2006). Counterhng UV-B stress in plants: Dose selenium have a role? Plant Soil 282:21-26.
Singh, B. and Usha, K. (2003). Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheatseedlings 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.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]

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 sensetive varieties. Plant Science165: 1411-1418.

Walaa, A. E., Shatlah, M. A., Atteia, M. H. and Sror, H. A. M. (2010). Selenium Induces Antioxidaant 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 charactristics 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.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-07]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.8.6]