

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

فرزانه نجفی^{۱*}، رمضانعلی خاوری نژاد^۲ و مهتاب رسیدی^۱

^۱ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کد پستی ۱۴۹۱-۱۵۷۱۹، تهران، ایران

^۲ 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. در این 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 قرار گرفتند. 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 قرار داشتند، 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 تمیار کلرید سدیم و سلنات سدیم بودند نسبت به گیاهان تحت تیمار با کلرید سدیم افزایش بیشتری را نشان دادند. میزان مالون دی آلدھید (MDA) نیز با افزایش غلظت کلرید سدیم افزایش معنی داری نشان داد. بیشترین میزان مالون دی آلدھید در تمیار 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 دهد که سلنات سدیم سبب افزایش برداری 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). Flowers و Roshandel (2009) در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که سمتی 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 فعل اکسیژن را حذف می کنند

یکی از خطرات جدی علیه مزارع کشاورزی، تنش شوری می باشد که مزارع سرسیز 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 مسئول، نشانی پست الکترونیکی: f_najafi@yahoo.com

در جلبک *Spirulina platensis* نشان داده شده که سلنیوم برای رشد ایده آل آن ضروری می باشد (Chen *et al.*, 2008). احتمالاً اولین اثر مثبت سلنیوم 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 انباست کننده، ضروری می باشد (Shanker, 2006). از آن جا که گیاهان غیر انباست کننده مانند انواع گیاهان زراعی حساسیت بیشتری به این عنصر دارند، به نظر نمی رسد که این عنصر برای رشد آنها، ضروری باشد (Terry *et al.*, 2000). در حدود ۳۰ سلنیوم آنزیم و سلنیو پروتئین شناخته شده که سلول را در مقابل رادیکال های آزاد حفاظت می کنند. سلنیوم با ورود به ساختار پروتئین، بافت ها و غشاها سلولی را در برابر تخریب ناشی از تنش اکسیداتیو محافظت می کند (Turakainen, *et al.* 2004).

غلظت های پائین سلنیوم روی متابولیسم سلول های 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 می توانند مقادیر H_2O_2 را در گیاه کاهش دهند (Rios *et al.*, 2009).

عنصر سلنیوم ابتدا به وسیله اثرات سمعی آن در غلظت های بالا شناخته شد (Wu *et al.*, 1996). Germ و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که اگر چه سلنیوم برای گیاهان در غلظتهاي بالا خطرناک است، اما می تواند آثار مفیدش را در غلظتهاي پائين نشان دهد. اثرات مفید اين عنصر در افزایش مقاومت به تنش هاي غير زیستي گزارش شده است (Hasanuzzaman *et al.*, 2010).

سلنیوم می تواند تنش اکسیداتیو القا شده توسط دمای بالا (Yao *et al.*, 2009; Seppanen *et al.*, 2003)، خشکی (Chu *et al.*, 2010)، سرما (Xiaoqin *et al.*, 2009)، فلزات سنگین (Sun *et al.*, 2010)، اشعه ماوراء بخش (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 سور گردیده است. برای

(Demiral and Turkcan, 2005) از تنش های زیستي و غیرزیستي سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، تخریب پروتئين ها و اسیدهای نوکلئیك می شود 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 غیرآنزیمی است. آنزیم های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسیدیسموتاز 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 پراکسیدهیدروژن که یک مولکول با خاصیت غیررادیکالی است را بر عهده دارد. پراکسید هیدروژن تولید شده توسط آنزیم کاتالاز 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 مونوهیدروآسکوربات تبدیل می شود. پراکسیدازها گلیکوپروتئین هایی هستند که فنل ها را مانند یک دهنده هیدروژن مصرف کرده و در فرایندهای نمو، لیگنین سازی، بیوستزر 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 انباست 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).

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 هوگلندر آبیاری شدند. جهت تهیه محلول غذایی هوگلندر، 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 محلول های غذایی تهیه شده در حد ۶ تنظیم گردید. زمانی که گیاهان ۲۰ روزه شدند تیمار دهی آغاز شد. گیاهان تحت تیمار کلرید سدیم (NaCl) در چهار سطح ۰، ۲۰، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار رو تیمار سلنات سدیم در سه سطح ۰، ۱۰ و ۲۰ میکرو مولار قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار (0NaCl+ 20Se)، (0NaCl+10Se)، (0NaCl+0Se)، (25NaCl+20Se)، (25NaCl+10Se)، (25NaCl+0Se)، (50NaCl+ 20Se)، (50NaCl+10Se)، (50NaCl+0Se) و (75NaCl+ 20Se)، (75NaCl+10Se)، (75NaCl+0Se) و چهار تکرار انجام شد. در طول دوره تیمار دهی، هفت‌های دوبار گلدان ها 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 جایی تصادفی گلدان ها 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 شدن بار با آب مقطر شستشو داده شدند. بعد از این ویال های ۲ میلی لیتری منتقل شدند. سپس سانتریفوژ نمونه ها در ۱۵۰۰۰ g به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام شد سپس محلول رویی جدا شد که این عصاره جهت

مبازه با اثرات شوری سیاستهای مختلفی اتخاذ شده است (Ashraf, 2009) گزارشاتی موجود می باشد (Khan et al., 2010; Khorshidi et al., 2009). غالب این مطالعات روی عناصر پر مصرف مانند کلسیم (Khavari-Nejad and Chaparzadeh, 1998) و گوگرد (Kaja et al., 2002) شده است. از جمله ریز مغذی هایی که در کاهش تنش های غیر زیستی مانند شوری موثر است، عنصر سلنیوم می باشد (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 می دهد (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 فعلیت برخی آنزمیم 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 روش ها:

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 پتی جوانه زدند گیاهک ها به گلدان های حاوی ماسه مريطوب شده با آب مقطر منتقل شدند. شدت نور $s^{-1} \mu\text{mol}^{-6}$ 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).

سنجهش 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 گذب آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی لیتر آغاز گردید. افزایش مدت ۳ دقیقه ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم براساس واحد محاسبه شد (Dazy *et al.*, 2008).

سنچش پراکسیداسیون لیپید ریشه: اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی به وسیله تست تیوباریتومریک اسید (TBAT) با سنچش میزان مالوندی‌آلدهید انجام شد.^{۰/۲} گرم بافت تر ریشه در ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد همگن شده سپس عصاره‌ی حاصل به فالکون انتقال یافته و به مدت ۵ دقیقه در g ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی ۴ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباریتومریک اسید 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 ۶۰۰۰ 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 (cm^{-۱} mol^{-۱}) ۰/۱۵۵ محاسبه و براساس واحد میکرومول بر گرم وزن تر (F.W.) $\mu\text{mol g}^{-1}$ بیان شد.^۰ (Health and Packer, 1968)

آنالیز آماری: این بروهش د، قالب یک طرح کاملاً تصادفی.

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

سنجدش فعالیت آنژیم سوپراکسید دیسموتاز برگ: مخلوط واکنش برای سنجدش فعالیت آنژیم شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، متیونین ۱۳/۰ مولار، EDTA ۱/۰ 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 ۱۶ دقیقه در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از منبع نور قرار گرفتند و در این فاصله دستگاه اسپکتروفتومتر 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 آنجاییکه یک واحد آنژیم مذکور عبارت است از میزانی از آنژیم که ۵۰ درصد بازداشت ایجاد می‌کند، فعالیت آنژیم سوپراکسید دیسموتاز براساس واحد آنژیمی به ازای هر میلی گرم پروتئین برای تمام نمونه‌ها محاسبه گردید.

سنجهش 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 ($7\text{H}_2\text{O}_2$) 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).

سنجدش فعالیت آنزیم آسکوربیات پراکسیداز برگ: برای
سنجدش فعالیت آنزیم آسکوربیات 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 ۶٪/۲۸.۰ 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 ۶۱.۴٪ و ۷۴.۶٪ 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 ۱۱۵.۰٪ 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 داده ها نشان داد که در تیمار شوری با افزایش غلظت کلرید سدیم از ۲۵ تا ۵۰ و ۷۵ میلی مولار میزان فعالیت آنزیم مذکور 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 ۴۳٪/۲۲ 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 ۱۴٪/۲۶ و ۲۳٪/۲۰ 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).

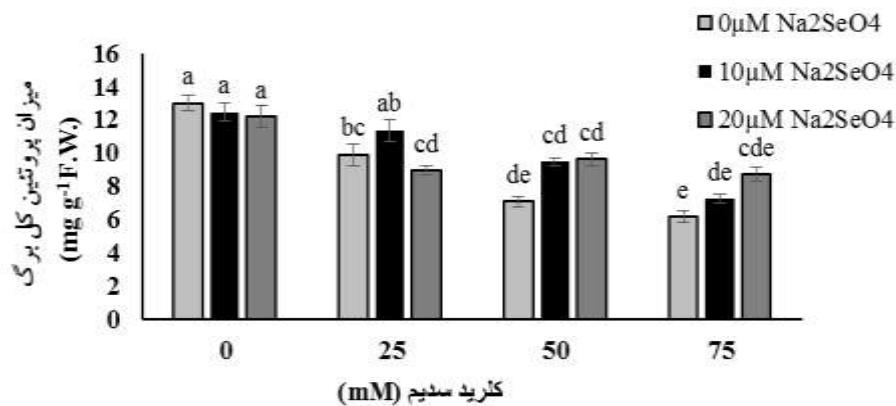
انجام شد و برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت. برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن استفاده شد.

نتایج:

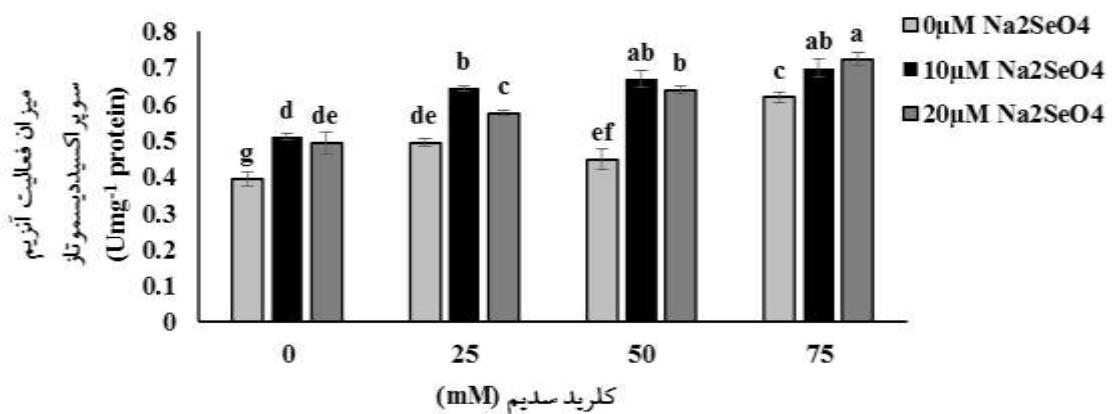
نتایج مربوط به میزان پروتئین کل برگ: بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده ها نشان داد که در تیمار شوری با افزایش غلظت کلرید سدیم از ۲۵ تا ۵۰ و ۷۵ میلی مولار میزان پروتئین کل برگ به ترتیب ۴۵.۲۷٪/۲۴.۲۵٪ و ۵۹.۳۳٪ نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. در تیمارهای برهم کنش با محلول ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم و ۱۰ و ۲۰ میکرومولار سلنات سدیم میزان پروتئین کل برگ به ترتیب ۴۳٪/۲۲ 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 ۱۴٪/۲۶ و ۲۳٪/۲۰ 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 سوپراکسیدیسموتاز 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 سوپراکسیدیسموتاز 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.

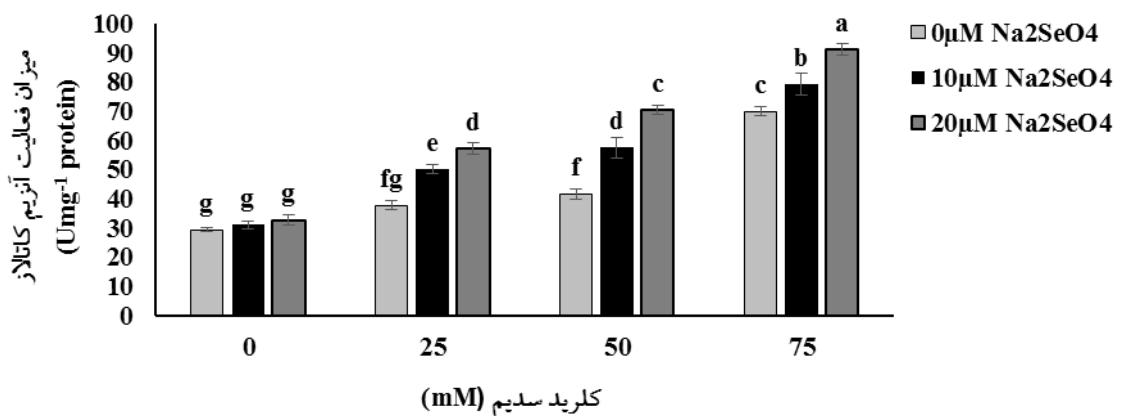
نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ: در تیمار گیاهان با غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم



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



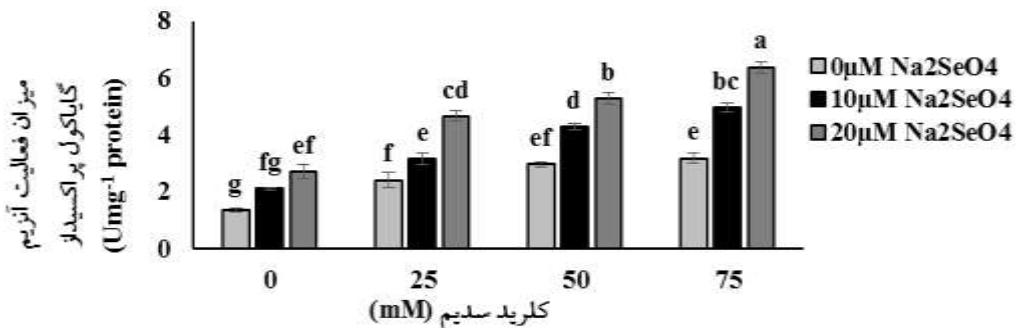
شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز برگ. حروف یکسان نشان دهندهٔ عدم تفاوت معنی دار است.



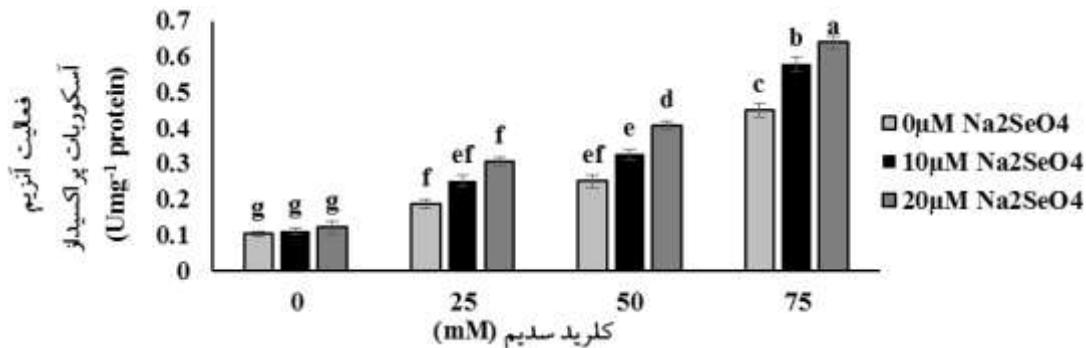
شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ. حروف یکسان نشان دهندهٔ عدم تفاوت معنی دار است.

شاهد افزایش نشان داد. در تیمار برهم کنش غلطت 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 آسکوربیات پراکسیداز برگ: میزان فعالیت آنزیم آسکوربیات پراکسیداز برگ در شکل ۵ مشاهده می شود. در تیمار گیاهان با غلطت های ۵۰ و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم آسکوربیات پراکسیداز به ترتیب ۸۰.۶۷٪، ۱۴۴.۱۵٪ و ۲۳۹.۰۲٪ 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 عدم تفاوت معنی دار است.



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

پروتئین های محلول در گیاه کتان تحت تنش شوری کاهش یافت. تنش های غیر زیستی باعث مهار سترز بعضی از پروتئین ها شده ولی سترز 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 اسمری افزایش دهند. تنظیم اسمری، 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).

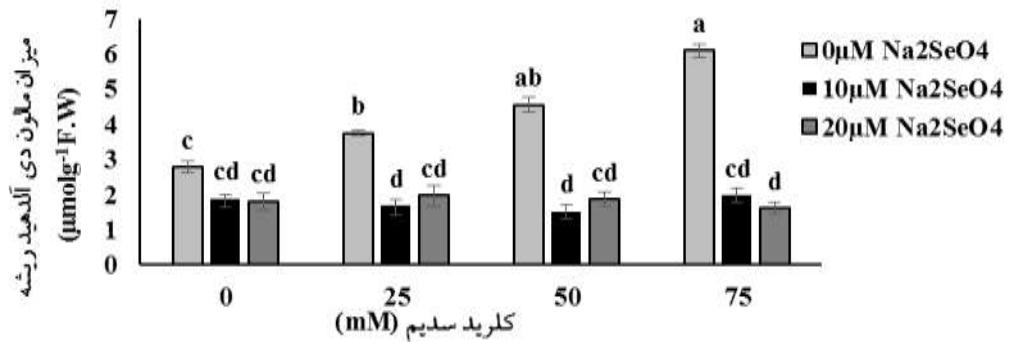
Pareek و همکاران (1997) اظهار داشتند که روند تغییرات میزان پروتئین همیشه یکسان نیست و تا حد زیادی به گونه گیاهی و شرایط محیطی وابسته است. افزایش میزان پروتئین

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

نتایج مربوط به میزان پراکسیداسیون لپید ریشه: نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها نشان داد که با افزایش شوری میزان مالون دی آلدید 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 آلدید کاهش نشان داد و نیز در گیاهان تحت تیمار برهم کنش ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم و غلظتهاي 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 آلدھید ریشه. حروف یکسان نشان دهندهٔ عدم تفاوت معنی دار است.

هیدروکسیل (OH⁻) می‌گردد، بسیاری از ترکیبات سلولی از قبیل لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها تخریب می‌شوند. جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن به وسیلهٔ آنزیم‌هایی از قبیل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز صورت می‌گیرد (Gill and Tuteja, 2010). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تنش شوری در بسیاری از گیاهان از جمله کتان (Desingh and Sudhakar *et al.*, 2001)، توت فرنگی (Kanagaraj, 2007) گوجه فرنگی (Mittova *et al.*, 2002) و برنج (Vaidyanathan *et al.*, 2003) گزارش شده است که با نتایج ما مطابقت دارد. نتایج نشان می‌دهد که در تیمار گیاهان با محلول‌های مختلف کلرید سدیم میزان افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز 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 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 می‌گردد (Xue *et al.*, 2001). همچنین کارهای پژوهشی روی پیری در کاهو و سویا نشان داد که سلنات، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در روند پیری را کنترل کرده و سبب جلوگیری از تخریب اکسیداتیو می‌گردد (Djanaguiraman *et al.*, 2005).

در پژوهش حاضر تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز برگ در

تحت تنش شوری را می‌توان به دلیل افزایش میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدان و سایر پروتئین‌های ضد تنش دانست (Tada and Kashimura, 2009).

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد 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 می‌گردد و این کاهش می‌تواند به علت کاهش سنتز پروتئین یا افزایش هیدرولیز آن باشد (Parasher, 1987). گزارش‌های متعددی مبنی بر کاهش مقدار پروتئین در گیاهانی که تحت تنش شوری قرار داشتند وجود دارد که از جمله می‌توان به گزارش‌هایی از اثر شوری بر روی ذرت خوش‌ای (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 غلظت‌های 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 می‌باشد (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 (O₂⁻), پراکسید هیدروژن (H₂O₂) 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). علاوه سلنیوم فعالیت کاتالاز و گلوتاتیون ترانسفراز را تحت تاثیر قرار داده است 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 ردوكتاز گیاهان گندم تحت تیمار سلنیوم مشاهده کردند که احتمالاً به دلیل اتصال سلنوسیستئین به یک جایگاه فعل آنزیم، که NADPH باند می شود، می باشد. زیرا سلنوسیستئین قدرت نوکلوفیلی بیشتر و PK (لگاریتم منفی ثابت تعادل) کمتری را نسبت به سیستئین دارا می باشد.

یکی از واکنش هایی که در حضور انواع فعل اکسیژن سرعت بیشتری پیدا می کند پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی (MDA) است که باعث تولید آلدهیدهایی مثل مالون دی آلدهید (Qiujie *et al.*, 1996) و ترکیباتی مثل اتیلن می شوند (Hartikainen *et al.*, 2000). اثر رادیکال های اکسیژن بر لیپیدها و پراکسیداسیون آنها ناشی از اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع می باشد که واکنشهای زنجیره ای پراکسیداسیون را تحریک کرده و منجر به تخریب اسیدهای چرب می شوند. رادیکال های هیدروکسیل و یا اکسیژن یکتاپی با گروه های متیلن اسیدهای چرب غیر اشباع واکش داده و تولید رادیکالهای پراکسی و هیدرو پراکسی لیپید می کنند (Bandyopadhyay *et al.*, 1999). میزان پراکسیداسیون لیپید در گیاهان اغلب برای ارزیابی اثر تنش های محیطی تعیین می شود. پراکسیداسیون لیپید یک فرایند وابسته به رادیکال های آزاد است. رادیکال های آزاد اکسیژن و آنیون های سوپراکسید به اسیدهای چرب غیراشباع حمله کرده، در نتیجه منجر به تغییر ساختار و عمل غشا و در نهایت شکل گیری تولیدات سنتزی مانند آلدهیدها می شود. معمولاً افزایش پراکسیداسیون چربی ها 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 رست ها بستگی به غلظت سلنیوم دارد. تیمار گیاهان با غلظت کم سلنیوم موجب تجمع مقدار پرولین و افزایش فعالیت آنزیم های پراکسیداز و MDA کاتالاز شده، محتوای کلروفیل را افزایش داده و مقدار دانه رست های گندم را کاهش داد. اما در پژوهش دیگری کاربرد سلنیوم به تنها یک تأثیری روی فعالیت کاتالاز و پراکسیداز نداشت، در صورتی که در گیاهان تحت تیمار خشکی و سلنیوم به طور قابل ملاحظه ای فعالیت آنزیم های فوق افزایش یافت (Xiaoqin *et al.*, 2009).

Rios و همکاران (2009) مشاهده کردند که تیمار سلنات در غلظت های 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 گلوتاتیون را نیز افزایش داد. سلنیوم بعنوان یک آنتی اکسیدان عمل می کند و ممانعت کننده پراکسیداسیون لیپید در علف چمن می باشد (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 های دلیل نقش حفاظتی سلنیوم می باشد که به دلیل، کاهش رادیکال های اکسیژن، تنظیم فشار اسمزی به وسیله اسмолیت هایی مثل پرولین، افزایش بیوسنتر آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی مثل فنل ها به وسیله افزایش فعالیت فنل آلانین آمونیولیاز، القای فعالیت بعضی آنتی اکسیدان های آنزیمی و بیوسنتر ایزوژیم 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 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 و سبب تاخیر پیری می‌شود. به نظر می‌رسد 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 غلاظت‌های مناسب سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی (SOD, CAT, POX) و (APX) که نقش کلیدی در کاهش تخرب اکسیداتیو و اثر حفاظتی در برابر تنش حاصل از شوری درگیاه آفتباگردن را دارد. در پایان می‌توان گفت افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه و توانایی گیاه در تحمل شوری در غلاظت‌های استفاده شده در اینجا می‌تواند نتیجه‌های از سمیت‌زادی ا نوع 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 می‌باشد.

.

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 تیمارهای مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان پراکسیداسیون لیپیدها در گیاه آفتباگردن مورد بررسی قرار گرفت. تنش شوری موجب خسارت به غشا گردیده و پراکسیداسیون لیپیدها را تشدید نموده است. همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با افزایش غلاظت کلریدسدیم محتوای مالون دی آلدھید 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 انتڑی زایی، در ساختار غشاها سلولی وجود دارند. به طوری که هرگونه تغییر در ساختمان لیپیدها در نفوذ پذیری و تمامیت غشاء اثر می‌گذارد. 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 شاخص‌های تنش شوری مطرح است. در تنش شوری اسیدهای چرب دارای پیوند مضاعف در معرض حمله رادیکال‌های آزاد اکسیژن قرار می‌گیرند که این امر منجر به تشکیل یک محصول سمی به نام مالون دی آلدھید می‌شود که نشانگر میزان پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد (Kavi Kishor, *et al.*, 1995). تشکیل مالون دی آلدھید تحت تنش شوری می‌تواند به دلیل تولید گونه‌های فعال اکسیژن یا به وسیله‌ی تخریب مستقیم اسیدهای چرب غیر اشبع باشد (Sairam, *et al.*, 2002).

سلنیوم بعنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و ممانعت کننده پراکسیداسیون لیپید در علف چمن در غلاظت پایین می‌باشد (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 برگ‌های دانه رست خیار تیمار با سلنیوم، این ماده غشاء سلولی را در مقابل پراکسیداسیون لیپید ناشی از تنش شوری محافظت می‌کند (Hawrylak-Nowak, 2009).

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 Reviewes 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 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 Element 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 thuringiensis* (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 $\Delta 1$ -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*

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 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.
- 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.

- 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). Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. Plant Science165: 1411-1418.
- Walaa, A. E., Shatlah, M. A., Atteia, M. H. and Sror, H. A. M. (2010). Selenium Induces Antioxidant defensive enzyme and promotes tolerance against salinity stress in cucumber seedlings (*Cucumis sativus*) Arab University Jurnal 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.

