University of Birjand

Journal homepage:
https://escs.birjand.ac.ir

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences

Vol. 16, No. 1, pp. 101-114 (Spring 2023)

http://dx.doi.org/10.22077/escs.2021.3563.2019

Original article

Effect of selenium priming on antioxidant properties and photosynthetic pigments of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under PEG drought stress

Sh. Gholami[1], M. AminiDehaghi[2*], A.M. Naji[3]

1. PhD student in Agriculture, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran
2. Associate Professor and Scientific Board of the Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran
3. Assistant Professor and Scientific Board of the Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

Received 8 June 2021; Accepted 12 September 2021

Extended abstract

Introduction

Plants often encounter unfavorable conditions, which interrupts their growth and productivity. Among the various abiotic stresses, drought is the major factor that limits crop productivity worldwide. Shortage of water causes drought that is the most dangerous hazard to food security all over the world. Because water supply is limited all over the world, food demand becomes a major problem. Priming of plant seeds is an easy, low-cost, low-risk, and effective approach to improve plant tolerance under stressful environment. . Priming of plant seeds is an easy, low-cost, low-risk, and effective approach to improve plant tolerance under stressful environments. In nutrient priming, seeds are pretreated (primed) in solutions containing the limiting nutrients instead of being soaked just in water. The physico-chemical and anti-oxidative properties of selenium (Se) have raised the curiosity of biologists in recent past. Research shows that selenium promotes the plant growth and may act as heavy metal opponent as it is a necessary micronutrient with some physiological and anti oxidative properties. However, for plants, studies has shown that although low concentrations of selenium can effectively promote plant growth, high concentrations of selenium have a significant toxic effect on plants.

Materials and Methods

Thus in order to investigate different concentrations of selenium (Na2Seo4) on antioxidant properties and photosynthetic pigments of quinoa under experimental drought stress conditions with 5 levels of selenium priming with sodium selenate source (0.5, 1.5, 3, 4.5 and 6 mg l^{-1}), and two levels of hydropriming without priming and three levels of drought stress using polyethylene glycol (PEG) (0.4, 0.8 and 1.2 MPa) with three replications in Seed Technology Laboratory of Shahed University of Agricultural Sciences was conducted in 1398. Measured traits include antioxidant enzymes including catalase, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and photosynthetic pigments, proline, and protein. Statistical analysis of the data included analysis of variance using AS 9.1 software and comparison of mean of traits evaluated by LSD test at 5% probability level.

* Corresponding author: Majid Amini Dehaghi; E-Mail: amini@shahed.ac.ir

© 2023, The Author(s). Published by University of Birjand. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0).

Results and discussion
The results showed that the application of drought and prime stress with sodium selenate had a positive and significant effect on antioxidant enzymes, photosynthetic pigments, proline and protein content. Seed priming with sodium selenate increased the activity of antioxidant enzymes including catalase, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase under drought stress. Based on the results under stress conditions, protein content and photosynthetic pigments showed a decreasing trend and prime with sodium selenate slowed down this decreasing trend. The highest amount of proline in stress of 1.2 MPa and prime with sodium selenate with a concentration of 4.5 mg l^{-1} showed a 66% increase compared to drought stress of 0.4 MPa and no priming.

***Keywords*:** Catalase enzyme, Chlorophyll content, Protein content, Sodium selenate, Superoxide dismutase enzyme

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد شانزدهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۲

http://dx.doi.org/10.22077/escs.2021.3563.2019

مقاله پژوهشی

اثر پرایمینگ با سلنیوم بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd.) در شرایط تنش خشکی با پلی‌اتیلن گلیکول

شکوفه غلامی[۱]، مجید امینی‌دهقی[۲]*، امیرمحمد ناجی[۳]

۱. دانشجوی دکتری زراعت، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران
۲. دانشیار و هیئت‌علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران
۳. استادیار و عضو هیئت‌علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

مشخصات مقاله

واژه‌های کلیدی:
آنزیم کاتالاز
سلنات سدیم
سوپراکسید دیسموتاز
محتوای پروتئین
میزان کلروفیل

تاریخ دریافت:
۱۴۰۰/۰۳/۱۸

تاریخ پذیرش:
۱۴۰۰/۰۶/۲۱

تاریخ انتشار:
بهار ۱۴۰۲
۱۶(۱): ۱۰۱-۱۱۴

چکیده

خواص فیزیکی و شیمیایی و آنتی‌اکسیدانی سلنیوم و نقش آن در تقویت رشد گیاه، کنجکاوی زیست‌شناسان را اخیراً جهت تحقیقات بیشتری برانگیخته است. به‌منظور بررسی غلظت‌های مختلف سلنیوم (Na_2SeO_4) بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه کینوا در شرایط تنش خشکی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با ۵ سطح پرایمینگ با سلنیوم از منبع سلنات سدیم (۰/۵، ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۶ میلی‌گرم در لیتر)، و دو سطح هیدروپرایمینگ و بدون پرایمینگ (شاهد) و سه سطح تنش خشکی با استفاده از پلی‌اتیلن گلایکول (PEG) (۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ مگاپاسکال) با سه تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۸ انجام گرفت. اعمال تنش خشکی و پرایم با سلنات سدیم بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای پرولین و پروتئین اثر مثبت و معنی‌داری داشت. پرایمینگ بذر با سلنات سدیم، باعث افزایش فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش خشکی شد. بر اساس نتایج در شرایط تنش، محتوای پروتئین و رنگیزه‌های فتوسنتزی روندی کاهشی را نشان داده و پرایمینگ با سلنات سدیم این روند کاهشی را آهسته‌تر کرد. بیشترین میزان پرولین در تنش ۱/۲ مگاپاسکال و پرایمینگ با سلنات سدیم با غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر، موجب افزایشی ۶۶ درصدی نسبت به تنش خشکی ۰/۴ مگاپاسکال و عدم پرایمینگ شد؛ بنابراین جهت بهبود تحمل به تنش خشکی گیاه کینوا می‌توان با پرایمینگ بذر با استفاده از سلنیوم به نتیجه بهتری رسید.

مقدمه

یکی از مخرب‌ترین محدودیت‌هایی که رشد و تولید گیاهان را در سراسر جهان مختل می‌کند تنش خشکی است (Farooq et al., 2014). در واقع باتوجه‌به تغییرات شرایط محیطی و بارندگی‌های نامنظم، تولیدات گیاهی دستخوش کاهش شدیدی شد، به‌طوری‌که انتظار می‌رود که تقاضا و نیاز در آینده چالش‌برانگیز شود (Tilman et al., 2011). تنش کمبود آب، به‌شدت رشد و عملکرد گیاهان را تحت‌تأثیر قرارداده و همچنین بر بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، انتقال مواد به دانه، گسترش سلول و تقسیم و ذخیره و انتقال مواد مغذی تأثیر می‌گذارد (Devnarain et al., 2016). به‌طورکلی تنش خشکی باعث تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) می‌شود که اغلب مسئول تداخل‌های مختلف از جمله فتوسنتز و هدایت روزنه-ای هستند (Djanaguiraman et al., 2010).

گیاهان همواره به‌وسیله مکانیسم‌های پیچیدهٔ مختلف مورفولوژیکی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مولکولی که منجر

* نگارنده پاسخگو: مجید امینی‌دهقی. پست الکترونیک: amini@shahed.ac.ir

به اجتناب از خشکی، فرار از خشکی و تحمل به خشکی در بین گونه‌های گیاهی مختلف شده، به تنش آب سازگار شده و پاسخ می‌دهند (Aslam et al., 2014). روشی کم‌هزینه، کم‌خطر و آسان جهت بهبود تحمل گیاه در محیط‌های استرس‌زا پرایمینگ بذر است (Nawaz et al., 2013). اشباع بذرها با غلظت مشخصی از مواد مغذی برای یک دوره خاص قبل از کاشت را نوتری‌پرایمینگ[1] می‌گویند (Shivay et al. 2016).

گیاهان منبع اصلی سلنیوم برای انسان و حیوانات هستند و اغلب گونه‌ها سلنیوم معدنی موجود در خاک را به ترکیبات سلنیوم آلی تبدیل می‌کنند، و بدین‌وسیله آن را برای موجودات قابل‌دسترس می‌سازند (Slencu et al., 2012). تحقیقات نشان می‌دهد که سلنیوم رشد گیاه را تقویت کرده و به‌عنوان یک ضد (رقیب) فلزات سنگین و یک ماده مغذی ضروری با برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی است (Nawaz et al., 2014). پاسخ انواع مختلف محصولات در کاربرد غلظت‌های متفاوت سلنیوم و روش‌های گوناگون کاربرد آن هنوز کاملاً شناخته نشده است (Li et al., 2015). سلنیوم به‌عنوان مکانیسمی برای فعال‌سازی آنتی‌اکسیدان‌ها، کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی عمل می‌کند (Feng et al., 2013). در واقع سلنیوم با تجمع اسمولیت‌ها در شرایط تنش خشکی موجب کاهش پتانسیل اسمزی و در نتیجه افزایش جذب در این شرایط می‌شود (Nawaz et al., 2012). مکانیسم اثر سلنیوم بر کاهش تنش خشکی عمدتاً روی اثر سلنیوم بر فعالیت‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان‌ها متمرکز است (Hajiboland, 2012; Feng et al., 2013). مکمل سلنیوم در شرایط تنش رطوبتی با تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود (Hasanuzzaman and Fujita, 2011). تیمار با سلنیوم در غلظت مناسب با افزایش شاخص سطح برگ و سنتز رنگ‌دانه فتوسنتزی کلروفیل سبب حفظ و بهبود رشد گیاه گندم و اسفناج شد (Khan et al., 2015; Saffaryazdi et al., 2012). تیمار با سلنیوم در غلظت مناسب سبب افزایش جذب نیتروژن در گیاه و در نتیجه افزایش پروتئین در برگ‌ها می‌شود (Hajiboland and Sadeghzadeh, 2014). کاربرد سلنیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) و میزان پرولین در ارقام گندم دیم در مقایسه با شاهد شد درحالی‌که میزان مالون دی آلدئید را به طور معنی‌داری کاهش داد (Sajedi and Boojar, 2013). استفاده از ارقام بومی متحمل به خشکی و سازگار به شرایط آب‌وهوایی متفاوت یکی دیگر از روش‌های کم‌کردن آثار مخرب تنش خشکی است. کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd) از خانواده Amaranthaceae، هالوفیت اختیاری که جزو شبه غلات و بومی مناطق آمریکای جنوبی و ارتفاعات آند است (Adolf et al., 2012; Martinez et al., 2015). این گیاه به دلیل داشتن پروتئین بالا (اسید آمینه‌های ضروری)، فاقد گلوتن بودن و فیبر بالا، کربوهیدرات‌های پیچیده و ویتامین‌های B1، B2، B6 و آهن دارای ارزش غذایی بالایی است (Gordillo-Bastidas et al., 2016; Graf et al., 2016). هدف از این پژوهش ارزیابی اثر پرایمینگ با سلنیوم بر میزان تحمل به تنش خشکی و بررسی واکنش آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاه کینوا و مناسب‌ترین غلظت سلنات‌سدیم جهت تحمل به تنش است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر پرایمینگ با غلظت‌های مختلف سلنات سدیم بر واکنش‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای پرولین در گیاه کینوا تحت تنش خشکی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل غلظت‌های مختلف سلنیوم از منبع سلنات سدیم (۰/۵، ۱/۵، ۳، ۴/۵و ۶ میلی‌گرم در لیتر)، هیدروپرایمینگ و بدون پرایمینگ و سه سطح تنش خشکی با پلی‌اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ در سه سطح (۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسکال) بود. سلنیوم مورداستفاده، از سلنات سدیم (Na_2SeO_4) شرکت مرک آلمان تهیه شده است. بذر رقم Giza 1 از مؤسسه اصلاح و نهال بذر کرج تهیه شد.

ایجاد تنش خشکی بر پایه روش میشل و کافمن (Michel and Kaufman, 1973) با استفاده از PEG 6000 اعمال شد. در ابتدا بذرهای کینوا با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی و سپس سه مرتبه با آب مقطر شسته شدند. سپس جهت اعمال پرایمینگ با محلول سلنات سدیم، به مدت‌زمان ۶ ساعت در دمای ۲۰ درجه

[1] Nutripriming

سانتی‌گراد درون محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف قرار گرفتند (Nawaz et al., 2013). پس از خشک‌شدن کامل بذرهای پرایم شده ۵۰ عدد بذر سالم و خالص کینوا را درون پتری ستون (استریل) ۲۰ سانتی‌متری قرار داده و به هر پتری دیش ۱۰ میلی‌لیتر خشکی‌هایی با غلظت‌های ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسکال اضافه شده و پتری دیش‌ها به ژرمیناتور با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰ درصد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال یافتند. نخستین شمارش بذرهای جوانه‌زده ۲۴ ساعت پس از انتقال آن‌ها به ژرمیناتور صورت گرفت و بذرهایی که ریشه‌چه آن‌ها قابل رویت بود، به‌عنوان جوانه‌زده شمارش شدند. پس از مرحله ۲ برگی شدن گیاهچه‌ها اندازه‌گیری میزان کلروفیل از روش آرنون (Arnon, 1949) و کاروتنوئید از روش گئو و همکاران (Guo et al, 2008) انجام شد. به‌این‌ترتیب که ۰/۲ گرم بافت تازه برگ را با ۴ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد به طور کامل عصاره‌گیری شد سپس عصارهٔ حاصل را از کاغذ صافی عبور داده و آن را به حجم ۸ میلی‌لیتر رسانده، به مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و به‌وسیله اسپکتروفوتومتر مدل UV-Vis Cary 60 میزان کلروفیل در طول‌موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و میزان کاروتنوئید در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت کلروفیل‌های a، b و کل و کاروتنوئید از رابطه‌های ۱ تا ۴ محاسبه شد:

$$Chl.\ a\ (mg.g\ FW^{-1}) = 12.7\ (A663) - 2.69\ (A645) \times V/1000W \quad [1]$$

$$Chl.\ b\ (mg.gFW^{-1}) = 22.9\ (A645) - 2.69\ (A663) \times V/1000W \quad [2]$$

$$Chl.\ T\ (mg.gFW^{-1}) = 20.2\ (A645) + 8.02\ (A663) \times V/1000W \quad [3]$$

$$Carotenoid\ (mg.gFW^{-1}) = 7.6\ (A470) - 14.9\ (A510) \times VD/1000W \quad [4]$$

که در آن C: غلظت بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ، A:میزان جذب نوری V: حجم عصاره، W: وزن نمونه، D: نسبت رقت هستند.

اندازه‌گیری پروتئین

میزان پروتئین برگ نیز با استفاده از روش برادفورد (Bradfod,۱۹۷۶) تعیین شد. به این منظور ۰/۲ گرم از نمونه موردنظر در هاون چینی سرد با قراردادن در ظرف یخ با ۲ میلی‌لیتر بافر ۰/۱ مولار با اسیدیته ۶/۸ هموژن و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ گردید. فاز رویی عصاره به‌دست‌آمده برای اندازه‌گیری فعالیت ۳ آنزیم کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز و همچنین مقدار پروتئین محلول مورداستفاده قرار گرفت. فاز رویی عصاره به میکروتیوپ انتقال داده شد و در یخچال با دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از فاز بالایی عصاره برداشته و ۲/۵ میلی‌لیتر برادفورد اضافه کرده و در طول موج ۵۹۵ قرائت گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT[۲])

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر و با روش موتووی و دیندسا (Dhindsa and Motowe ,1981) انجام شد. میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش پس از ۱ دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی (ε=۰/۲۸ $mMol^{-1}cm^{-1}$) و فرمول $A=\varepsilon bc$ محاسبه شد که نشان‌دهنده میزان فعالیت آنزیم کاتالاز است.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD[۳])

جهت تعیین مقدار SOD از روش سیرام و همکاران (Sairam et al., 2002) استفاده شد. برای تهیه ترکیب واکنش از ۱۳ میلی مول متیونین، ۲۵ میکرومول نیتروبلوتترازولیوم[۴] (NBT)، ۶ میکرو مول محلول ۰/۵ مولار EDTA، ۶۰ میکرومول ریبوفلاوین ۱ میلی‌مولار و ۵۰ میلی مول سدیم بی‌کربنات استفاده شد. سپس ۲/۹ میلی‌لیتر از مخلوط حاصل را در داخل تیوب استریل ریخته، بلافاصله پس از افزودن ۲ میکرومول ریبوفلاوین و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، به مدت ۱۵ دقیقه زیر نور لامپ فلورسانس ۶×۱۵ قرار داده شد. جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم SOD در طول موج ۵۶۰ نانومتر طیف‌سنجی گردید.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX[۵])

در این سنجش به دنبال اکسید شدن آسکوربات با شروع واکنش آنزیمی، کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر، دو دقیقه پس

[2] Catalase
[3] Super Oxid Dismotase
[4] Nitro Blue Tetrazolium
[5] Ascorbate Peroxidase

از شروع واکنش نسبت به زمان شروع واکنش محاسبه شد. با استفاده از تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر، میزان آسکوربات برجای‌مانده پس از ۲ دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981).

سنجش میزان پرولین محلول

برای تعیین مقدار پرولین بافت برگ، از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد. ابتدا مقدار ۰/۲ گرم از نمونه گیاهی تر بافت برگ توزین و ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد درون هاون چینی به‌خوبی ساییده شد. ماده همگن حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، دو میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده را به لوله‌های درب‌دار منتقل نموده و به همه لوله‌ها مقدار دو میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال، اضافه شد. پس از بستن درب لوله‌ها، آن‌ها به مدت یک ساعت در آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از سرد شدن در حمام یخ، به هر یک از لوله‌ها مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. سپس لوله‌ها به مدت ۱۵ - ۲۰ ثانیه جهت مخلوط شدن محلول ورتکس شدند و در نهایت پس از ۱- ۲ دقیقه فاز روی که به رنگ قرمز درآمده بود و حاوی پرولین محلول در تولوئن بود را جدا کرده و هم‌زمان با نمونه‌های استاندارد، میزان جذب آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید و غلظت پرولین برحسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ، با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد. نهایتاً تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با هم مقایسه شدند.

نتایج و بحث

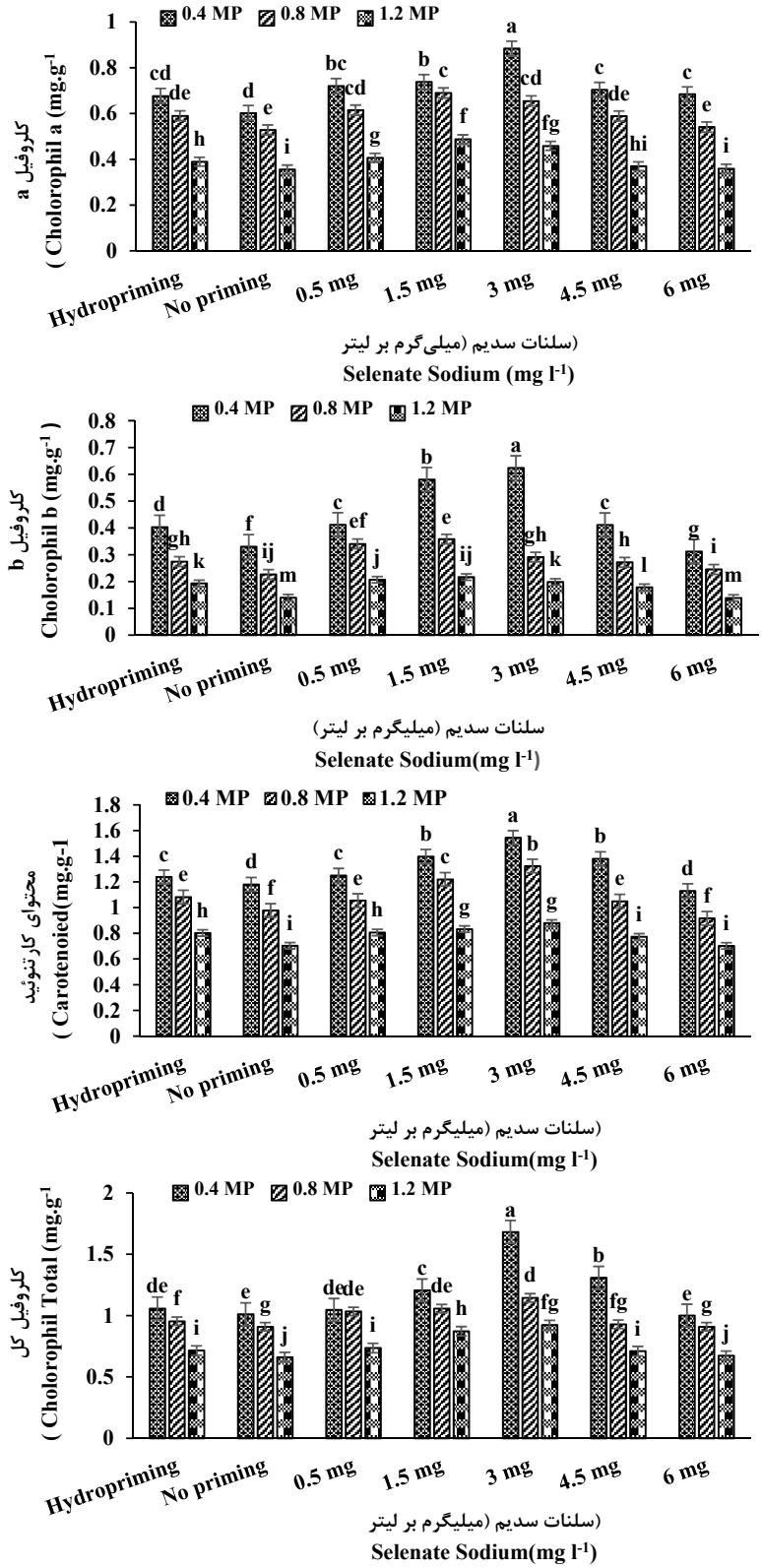
رنگیزه‌های فتوسنتزی

در بررسی اثر ساده پرایمینگ با سلنات سدیم و خشکی و اثر متقابل تیمارها نتایج حاکی از تأثیر مثبت و معنی‌دار بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید بود (جدول ۱). مقایسات میانگین نشان داد با افزایش سطوح تنش خشکی محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش یافت. به نظر می‌رسد کاهش غلظت کلروفیل در شرایط خشکی عمدتاً به دلیل فعالیت آنزیم کلروفیلاز پراکسیداز و ترکیبات فنلی است که منجر به تخریب کلروفیل می‌شود (Ramírez et al., 2014). همچنین پرایمینگ با سلنات سدیم تا غلظت ۳ میلی‌گرم بر لیتر روندی افزایشی داشت؛ اما با افزایش غلظت سلنات سدیم این روند کاهشی شد. در واقع غلظت‌های بالای سلنات سدیم هم اثر کاهشی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد (شکل۱). بررسی‌ها نشان داده احتمالاً غلظت‌های کم سلنیوم با محافظت از آنزیم‌های کلروپلاستی، بیوسنتز رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی را افزایش می‌دهد، اما با افزایش غلظت سلنیوم، این عنصر آنزیم‌های بیوسنتز کننده کلروفیل را مهار کرده و از این طریق تأثیر منفی بر سنتز کلروفیل می‌گذارد. جایگزینی سلنیوم به‌جای منیزیم موجود در ساختار کلروفیل نیز یکی از مکانیسم‌های آسیب به کلروفیل است (Dhillon and Bañuelos, 2017) تأثیر مثبت سلنیوم بر محتوای کاروتنوئید، کلروفیل a، کلروفیل b توسط اوراقی اردبیلی و همکاران (Oraghi Ardebili et al., 2014) گزارش شده است. یائو و همکاران (Yao et al., 2011) گزارش نمودند که در گیاهچه‌های گندم تیمار شده با سلنیوم محتوی کلروفیل a و b به ترتیب ۱۳ و ۱۲ درصد افزایش یافتند.

محتوای پرولین

اثر پرایمینگ با سلنات سدیم و تنش خشکی و اثر متقابل این تیمارها بر محتوای پرولین در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری بود (جدول ۱).

با افزایش تنش خشکی محتوای پرولین روندی افزایشی را نشان داد به‌طوری‌که در تنش ۱/۲- مگاپاسکال بیشترین مقدار پرولین مشاهده شد. همچنین با افزایش سطوح پرایمینگ با سلنات سدیم تا غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر محتوای پرولین افزایش یافت؛ ولی در غلظت‌های بالاتر کاهش داشت. در واقع بیشترین محتوای پرولین (۲/۸۷۶ میکرو مول بر گرم وزن تر برگ) در پرایمینگ با غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر سلنات و تنش شدید (۱/۲- مگاپاسکال) و کمترین محتوای پرولین (۰/۹۶۴۱ میکرو مول بر گرم وزن تر برگ) در شرایط عدم پرایمینگ و تنش ۰/۴- مگاپاسکال مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۱. مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B) کلروفیل کل (C)، کاروتنوئید گیاهچه (D) کینوا در شرایط تنش خشکی

Fig. 1. Comparison of the mean effect of different selenium concentrations on the amount of chlorophyll a (A), of chlorophyll b(B), total chlorophyll (C), seedling carotenoids (D) in drought stress conditions in quinoa

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سلنیوم بر برخی صفات مطالعه شده گیاه کینوا تحت تنش خشکی

Table 1. Analysis of variance the effect of different selenium levels on some studied traits of quinoa under drought stress

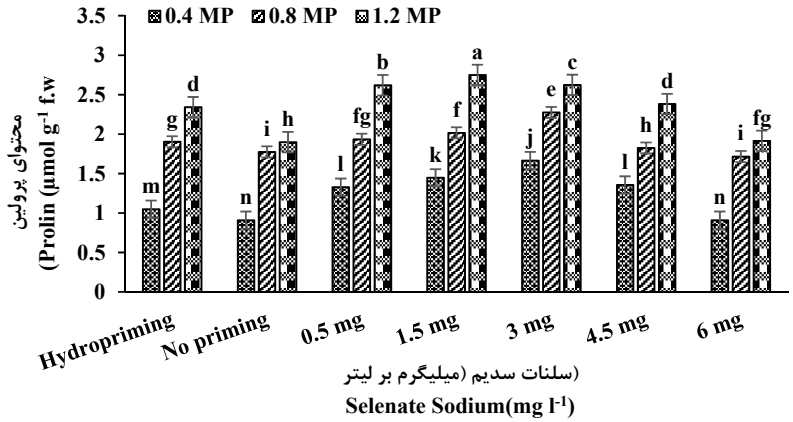
S.O.V منابع تغییر	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئید Carotenoids
تنش خشکی Drought stress (D)	2	0.50024**	0.2887**	1.5436**	1.2719**
غلظت سلنیوم Selenium concentrations (S)	6	0.23127**	0.35462**	1.1319**	0.66006**
تنش خشکی× سلنیوم D × S	12	0.01851**	0.0308**	0.0841**	0.03799**
خطا Error		0.00100	0.00129	0.00261	0.00502
ضریب تغییرات CV(%)		*4.22*	*6.301*	*4.644*	*6.029*

Table 1. Continued **جدول ۱. ادامه**

S.O.V منابع تغییر	درجه آزادی df	پرولین Prolin	آنزیم کاتالاز Catalase	پروتئین Protein	آسکوربات Ascorbat	سوپراکسید دیسموتاز SOD
تنش خشکی Drought stress (D)	2	8.7366**	10.536**	11.400**	8.902**	5.785**
غلظت سلنیوم Selenium concentrations (S)	6	1.9381**	3.232**	1.1737**	0.5981**	1.9975**
تنش خشکی× سلنیوم D × S	12	0.05373**	0.4932**	0.5489**	0.7313**	0.7118**
خطا Error		0.1304	0.07008	0.05217	0.06863	0.03870
CV(%)		*0.07008*	*7.077*	*16.046*	*19.460*	*5.6184*

*، ** و ns به ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح پنج درصد، یک درصد و عدم معنی‌داری

*, **, and ns represent significant at of 5% and 1% probability level and not significant, respectively.



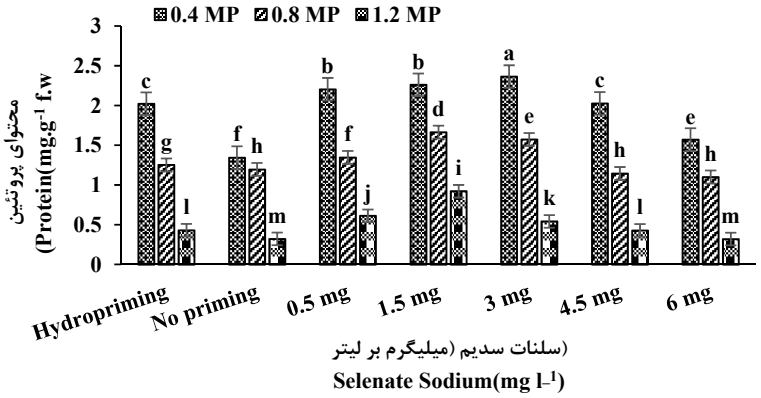
شکل ۲. مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای پرولین در شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا

Fig. 2. Comparison of the mean effect of different selenium concentrations on proline content in drought stress conditions in quinoa

پرولین از طریق افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی از غشاهای سلولی در برابر اکسیداسیون محافظت می‌کند و از این طریق رشد گیاه در شرایط تنش تسهیل می‌گردد (Ashraf and Foolad,2007). افزایش میزان پرولین برگ گیاه سویا تحت‌تأثیر سلنیوم افزایش معنی‌داری را نشان داد (Djanaguiraman., et al 2005). کاربرد سلنیوم سبب افزایش تجمع پرولین در گیاهچه گندم در شرایط تنش خشکی شد (Yao et al., 2013).

محتوای پروتئین

بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس تیمار پرایمینگ با سلنات سدیم، و تنش خشکی با و اثر بر متقابل این تیمارها بر محتوای پروتئین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. (جدول ۱). با افزایش سطوح تنش خشکی محتوای پروتئین کاهش یافت. با افزایش غلظت سلنات سدیم تا ۳ میلی‌گرم بر لیتر روندی افزایشی در محتوای پروتئین به دست آمد. به‌طوری‌که بر اساس مقایسات میانگین بیشترین محتوای پروتئین (۲/۳۶۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در پرایمینگ با ۳ میلی‌گرم در لیتر سلنات سدیم و تنش خفیف (۰/۴- مگاپاسکال) مشاهده شد (شکل۳). در طی تنش آب سنتز پروتئین آهسته و هیدرولیز ممکن است اتفاق افتاده و باعث افزایش اسیدهای آمینه آزاد شود (Krasensky and Jonak,2012). در بررسی اثر سلنیوم بر گیاه گندم تیمار با سلنیوم سبب افزایش جذب نیتروژن در گیاه و در نتیجه افزایش پروتئین در برگ‌ها می‌شود (Hajiboland and Sadeghzadeh,2014).



شکل ۳. مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای پروتئین در شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا

Fig. 3. Comparison of the mean effect of different selenium concentrations on protein content in drought stress conditions in quinoa.

آنزیم کاتالاز

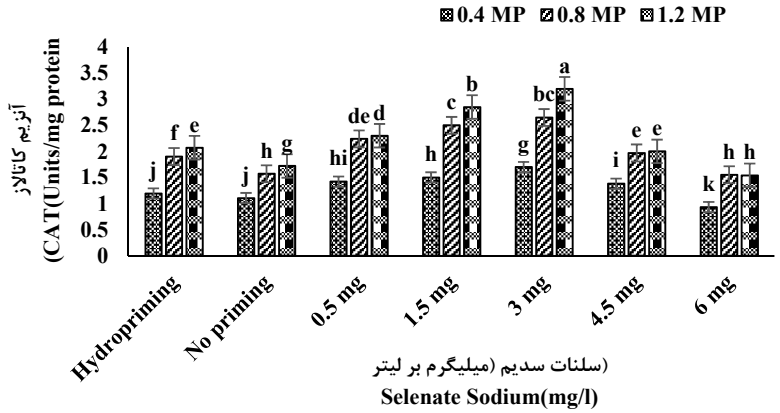
اثر پرایمینگ با سلنات سدیم و تنش خشکی و اثر متقابل این تیمارها بر میزان آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری بود (جدول ۱). بیشترین میران آنزیم کاتالاز در تنش خشکی ۱/۲ مگاپاسکال و غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر سلنات سدیم و کمترین میزان این آنزیم در تنش خفیف (۰/۴- مگاپاسکال) و غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر سلنت سدیم مشاهده شد (شکل ۴).

جهت جلوگیری و یا مقابله با عمل اکسیداسیون به‌وسیله رادیکال‌های آزاد اکسیژن گیاهان دارای آنزیم‌هایی هستند که می‌توانند از آسیب اکسیداتیو جلوگیری کنند و یا آن را کاهش دهند در میان آن‌ها کاتالاز یکی از مهم‌ترین این آنتی‌اکسیدان ها در حذف پراکسید هیدروژن ناشی از اختلالات اکسیداتیو است (Del Buono et al., 2011a). دوزهای مناسب سلنیوم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را بهبود می‌بخشد و رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برد (Saidi et al., 2014). فعالیت آنتی‌اکسیدانی سودمند سلنیوم در شرایط تنش وقتی که رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید می‌شوند افزایش پیدا می‌کند (Sieprawska et al., 2015).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

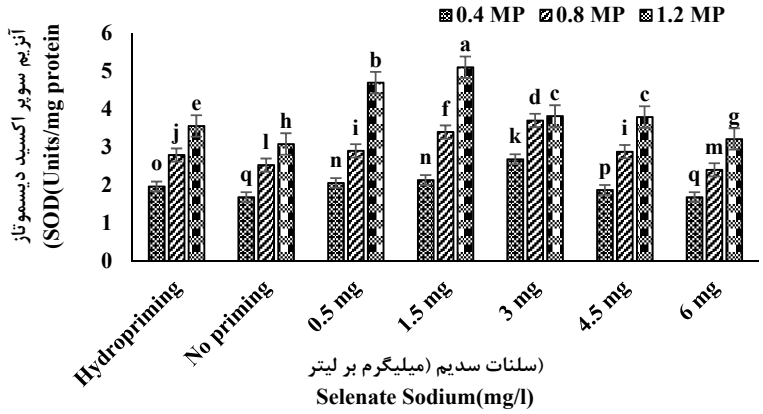
اثر تنش خشکی و پرایمینگ با سلنات سدیم و اثرات متقابل این تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در بررسی اثر سطوح تنش خشکی بر میزان آنزیم سوپر اکسید

دیسموتاز، با افزایش تنش خشکی میزان این آنزیم روندی افزایشی داشت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در با میانگین (۴/۶۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در تنش شدید ۱/۲ مگاپاسکال و غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر سلنات سدیم، و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در شرایط تنش ۰/۴ مگاپاسکال و شرایط عدم پرایمینگ با سلنات سدیم مشاهده شد (شکل ۵).



شکل ۴. مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر میزان آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا

Fig. 4. Comparison of the mean effect of different selenium concentrations on the amount of catalase enzyme in drought stress conditions in quinoa



شکل ۵. مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا

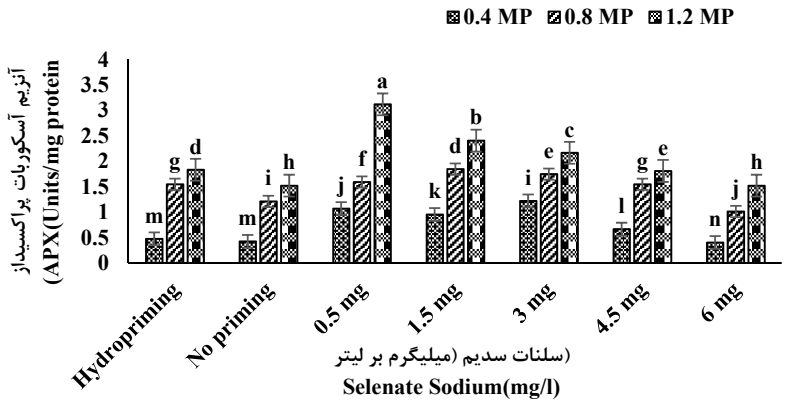
Fig. 5. Comparison of the mean effect of different selenium concentrations on the amount of superoxid dismotaz enzyme in drought stress conditions in quinoa

قرارگرفتن در معرض تنش‌های غیرزنده از جمله خشکی، استرس اکسیداتیو را از طریق افزایش بیش از حد ROS بالا برده که بسیار سمی بوده و موجب آسیب به کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، چربی‌ها و DNA می‌شود، ازاین‌رو سبب کاهش متابولیسم طبیعی در گیاهان از طریق آسیب اکسیداتیو و در نهایت مرگ سلول می‌گردد (Gill and Tuteja,2010). در بررسی اثر تنش خشکی بر گیاه گندم، نتایج نشان داد که تنش آبی می‌تواند فعالیت SOD را با کاهش تولید رادیکال-های آزاد اکسیژن افزایش دهد (Hameed et al.,2011). در واقع در برخی از گیاهان علفی خاص در معرض تنش‌های مختلف، کاربرد سلنیوم فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی را افزایش می‌دهد (Djanaguiraman et al.,2010). کاربرد سلنیوم در دوزهای پایین با افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی و تحریک چندین ژن پاسخگو به

استرس تأثیرات مثبتی بر تحمل تنش گیاه دارد (Naz et al., 2015).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

اثر تیمار پرایمینگ با سلنات سدیم و تنش خشکی و اثر متقابل این تیمارها بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش سطوح تنش خشکی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز روندی افزایشی داشت. بیشترین فعالیت (۳/۱۱ میلی‌گرم از پروتئین) آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تنش شدید (۱/۲ مگاپاسکال) و غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر سلنات سدیم و کمترین میزان این آنزیم در تنش خفیف (۰/۴ مگاپاسکال) عدم پرایمنیگ با سلنات سدیم مشاهده شد (شکل ۶). در مطالعه دل بونو و همکاران (Del Buono et al., ۲۰۱۱) آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) به عنوان یک دهنده الکترون جهت کاهش اکسیداسیون نقش مهمی در حفظ وضعیت بازسازی سلول‌های تحت تنش‌های زنده و غیر زنده دارد. در واقع کاربرد سلنیوم می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی بر رشد و تحمل به تنش گیاهان تأثیر داشته باشد (Rios et al., 2009) و از این طریق باعث کاهش تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد اکسیژن شود (Feng et al., 2013) تیمار با سلنیوم سبب افزایش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و در نتیجه کاهش فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه نخودفرنگی شد (Silva et al., 2018).



شکل ۶. مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا

Figure 6. Comparison of the mean effect of different selenium concentrations on the amount of Ascorbat peroxidase enzyme in drought stress conditions in quinoa

نتیجه‌گیری نهایی

در بررسی اثر تیمار پرایمینگ با سلنات سدیم در شرایط تنش خشکی با PEG تیمار با سلنات تا حدی توانست با تولید آنزیم های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را کاهش دهد و باعث تحمل گیاه در شرایط تنش خشکی شود. همچنین در شرایط تنش خشکی که محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی تا حد زیادی تحت‌تأثیر قرار گرفت و روندی کاهشی پیدا کرد تیمار با سلنات سدیم می‌تواند سبب افزایش فعالیت رنگیزه‌های فتوسنتزی شود و درنهایت افزایش فتوسنتز در گیاه کینوا در شرایط تنش خشکی شود. در پایان می‌توان نتیجه گرفت که پرایمینگ بذر با سلنیوم جهت تعدیل اثرات منفی ناشی از تنش خشکی می‌تواند یک روش مفید باشد

منابع

Adolf, V.I., Jacobsen, S.E., Shabala, S., 2012. Salt tolerance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Environmental and Experimental Botany. 92, 43 -54.

Arnon, D.I., 1949. Copper enzyme in isolated chlroplasts; polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology. 24, 1-15.

Ashraf, M., Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59, 206–216.

Aslam, M., Zamir, M.S.I., Anjum, S.A., Khan, I., Tan-veer, M., 2014. An investigation into morphological and physiological approaches to screen maize (*Zea mays* L.) hybrids for drought tolerance. Cereal Research Communications. 43(1), 41–51.

Bates, L.S., Waldron, R. P., Teaxe, I.W., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39, 205–207.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annual Review of Biochemistry. 72, 248–254.

Del Buono, D., Ioli, G., Nasini, L., Proietti, P., 2011. A comparative study on the inter-ference of two herbicides in wheat and Italian ryegrass and on their antioxidant activities and detoxification rates. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59, 12109–12115.

Devnarain, N., Crampton, B.G., Chikwamba, R., Becker, J.V.W., O'Kennedy, M.M., 2016. Physiological responses of selected African sor-ghum landraces to progressive water stress and re-watering. South African journal of Botny. 103, 69.-61.

Dhillon, K.S., Bañuelos, G.S., 2017. Overview and Prospects of Selenium Phytoremediation Approaches. In: Pilon-Smits, E., Winkel, L., Lin, Z.Q. (eds.), Selenium in Plants. Plant Ecophysiology, vol 11. Springer, Cham.

Dhindsa, R.S., Motowe, W., 1981. Drought tolerance in two mosses: correlation with enzymatic defense against lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany. 32, 79-91.

Djanaguiraman, M., Prasad, P.V.V., Seppänen, M., 2010. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. Plant Physiology and Biochemistry. 48, 999–1007.

Djanaguiraman, M., Devi, D.D., Shanker, A.K., Sheeba, J.A., Bangarusamy, U., 2005. Selenium-an antioxidative protectant in soybean during senescence. Plant and Soil, 272, 77-86.

Farooq, M., Hussain, M., Siddique. K.H.M., 2014. Drought stress in wheat during flowering and grain-filling periods. Critical Reviews in Plant Sciences. 33, 331-349.

Feng, R., Wei, C., Tu, S., 2013. The roles of selenium protecting plants against abiotic stresses. Environmental and Experimental Botany. 87, 58-68.

Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry. 48, 909–930.

Graf, B.L., Rojo, L.E., Delatorre-Herrera, J., Poulev, A., Calfio, C., Raskin, I. 2016. Phytoecdysteroids and flavonoid glycosides among Chilean and commercial sources of Chenopodium quinoa: variation and correlation to physico-chemical characteristics. Journal of the Science of Food and Agriculture. 96, 633-643.

Gordillo-Bastidas, E., Díaz-Rizzolo, D., Roura, E., Massanés, T., Gomis, R., 2016. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), from nutritional value to potential health benefits: an integrative review. Journal of Nutrition and Food Sciences. 6, 41-72 .

Guo, S., Ouyang, C., Wang, S., Xu, Y., Tang, L., Chen, E., 2008. Effect of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. Plant, Soil and Environment. 54, 374-381.

Hajiboland, R., 2012. Effect of micronutrient deficiencies on plant stress responses. In: Ahmad, P., Prasad, M.N.V. (eds.), Abiotic Stress Responses in Plants. New York, Springer. 283-329, DOI: 10.1007/978-1-4614-0634-1_16.

Hajiboland, R., Sadeghzadeh, N., 2014. Effect of selenium supplementation on CO_2 and NO_3^- assimilation under low and adequate N supply in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. Photosynthetica. https://doi.org/10.1007/s11099-014-0058-1

Hameed, A., Bibi, N., Akhter, J., Iqbal, N., 2011. Differential changes in antioxidants, proteases, and lipid peroxidation in fl ag leaves of wheat genotypes under different levels of water deficit conditions. Plant Physiology and Biochemistry. 49, 17 8 –18 5.

Hasanuzzaman, M., Fujita, M., 2011. Selenium pretreatment up-regulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification

system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. Biological Trace Element Research143, 1758–1776.

Khan, M.I.R., Nazir, F., Asgher, M., Per, T.S., Khan, N.A., 2015. Selenium and sulfur influence ethylene formation and alleviate cadmium-induced oxidative stress by improving proline and glutathione production in wheat. Journal of Plant Physiology. 173, 9-18.

Krasensky, J., Jonak, C., 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. Journal of Experimental Botany https://doi.org/10.1093/jxb/err460

Li, J., Liang, D., Qin, S., Feng, P., Wu, X., 2015. Effects of selenite and selenite application on growth and shoot selenium accumulation of pak choi (*Brassica chinesis* L.) during successive planting conditions. Environmental Science and Pollution Research. 22, 11076-11086.

Martínez, E.A., Fuentes, F.F., Bazile. D., 2015. History of quinoa: Its origin, domestication, diversification and cultivation with particular reference to the Chilean context. In: Murphy, K., Matanguihan J., (eds.), Quinoa: Improvement and Sustainable Production. Hoboken: Wiley-Blackwell, p. 19-24. (World Agriculture Series).

Michel, B.E., Kaufman, M.R., 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology. 51, 914-916.

Nakano, Y., Asado, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology. 22, 867.

Nawaz, F., Ashraf, M.Y., Ahmad, R., Waraich, E.A., & Shabbir, R.N. 2014. Selenium (Se) regulates seedling growth in wheat under drought stress. Advances in Chemistry. Article ID 143567. https://doi.org/10.1155/2014/143567

Naz, F.S., Yusuf, M., Khan, T.A., Fariduddin, Q., Ahmad, A., 2015. Low level of selenium increases the efficacy of 24-epibrassinolide through altered physiological and biochemical traits of *Brassica juncea* plants. Food Chemistry. 185, 441–448.

Oraghi Ardebili, N., Saadatmand, S., Niknam V., Khavari-Nejad, R.A., 2014. The alleviating effects of selenium and salicylic acid in salinity exposed soybean. Acta Physiologiae Plantarum. 36, 3199-3205

Ramírez, D.A., Yactayo, W., Guti´errez, R., Mares, V., De Mendiburu, F., Posadas, A., 2014. Chlorophyll concentration in leaves is an indicator of potato tuber yield in water-shortage conditions. Scientia Horticulturae. 168, 202-209.

Rios, J.J., Blasco, B., Cervilla, L.M., Rosales, M.A., Sanchez-Rodriguez, E., Romero, L., Ruiz, J.M., 2009. Production and detoxification of H_2O_2 in lettuce plants exposed to selenium. Annals of Applied Biology. 154, 107-116.

Saffaryazdi, A., Lahouti, M., Ganjeali, A., Bayat, H., 2012. Impact of selenium supplementation on growth and selenium accumulation on Spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants. Notulae Scientia Biologicae. 4, 95-100.

Saidi, I., Chtourou, Y., Djebali, W., 2014. Selenium alleviates cadmium toxicity by preventing oxidative stress in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. Journal of Plant Physiology .171, 85– 91.

Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Agarwal, S., Meena, R., 2005. differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biologia Plantarum. 49, 85-91.

Sajedi, N.A., Mashhadi Akbar Boojar, M., 2013. Response of antioxidant compounds to selenium and salicylic acid in wheat cultivar dry land conditions. Acta Agronomica Hungarica. 61, 79-87.

Shivay, Y.S., Singh, U., Prasad, R., Kaur, R., 2016. Agronomic interventions for micronutrient biofortification of pulses. Indian Journal of Agronomy. 61(4th IAC Special Issue),161–172.

Silva, V.M., Boleta, E.H.M., Lanza, M.G.D.B., Lavres, J., Martins, J.T., Santos, E.F., Broadley, M.R., 2018. Physiological, biochemical, and ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants. Environmental and Experimental Botany. 150, 172–182.

Sieprawska, A., Korna´s, A., Filek, M., 2015. Involvement of selenium in protective mechanisms of plants under environmental stress conditions—Review. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica. 57, 9–20.

Şlencu, B.G., Ciobanu, C., Cuciureanu R., 2012. Cuciureanu, Selenium content in food stuffs

and its nutritional requirement for human. Clujul Medical. 85, 139 –145.

Tilman, D., Balzer, C., Hill, J., Befort, B. L., 2011 Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. Proceedings of the National Academy of Sciences. 108, 20260.4.

Yao, X., Chu, J., He, X., Ba, C., 2011 . Protective Role of selenium in Wheat seedlings Subjected to Enhanced UVB Radiation. Russian Journal of Plant Physiology. 58, 283–289.

Yao, X., Jianzhou, C., Xueli, H., Binbin, L., Jingmin, L., Zhaowei, Y., 2013. Effects of selenium on agronomical characters of winter wheat exposed to enhanced ultraviolet-B. Ecotoxicology and Environmental Safety. 92, 320–326.