اثر سلنیوم بر رشد و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی دو گونه تره ایرانی (*Allium iranicum* Wendelbo) و تره کوهی (*Allium ampeloprasum* L.)

ناصر کریمی[1*] و زینب صیدی خواه[2]

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱٦، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۱/۲۵)

چکیده

شبه فلز سلنیوم به‌عنوان یک عنصر مفید در غلظت‌های پایین باعث افزایش رشد گیاه می‌شود درحالی‌که غلظت‌های بالای آن موجب ایجاد سمیت در گیاهان می‌گردد. هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر رشد و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی دو گونه *Allium iranicum* (تره ایرانی) و *Allium ampeloprasum* (تره کوهی) در شرایط کنترل شده بود. بدین منظور گیاهان در شرایط کشت گلدانی و در مرحله‌ی چهار برگی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم (۰، ۲۰، ٤۰، ۱۲۰ و ۲٤۰ میکرومولار) معادل غلظت‌های (۰، ۲، ٤، ۱۱ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سلنیوم، میزان رشد (وزن غده و بخش هوایی و همچنین محتوی کلروفیل) دو گونه به طور معنی‌داری کاهش یافت به‌طوری‌که بیشترین کاهش مربوط به تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر بود. محتوای مالون دی-آلدهید در تیمارهای بیش از ۲ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. به دنبال افزایش سطوح سلنیوم، فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش ولی مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همانند کربوهیدرات و پروتئین افزایش یافت. نتایج نشان داد که غلظت‌های کم سلنیوم (۰ تا ۲ میلی‌گرم بر لیتر) با افزایش محتوای کلروفیل و همچنین سنتز کربوهیدرات موجب افزایش رشد می‌شود، ولی غلظت‌های بالاتر سلنیوم (٤ تا ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر) به دلیل تولید انواع اکسیژن فعال، موجب کاهش زیست توده می‌شود. به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سطوح مختلف سلنیوم، تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک غده و بخش هوایی دو گونه داشت؛ مهمترین علایم ریخت‌شناسی سمیت سلنیوم به صورت کلروز برگ‌های جوان و کاهش رشد غده و بخش هوایی مشاهده شد.

کلمات کلیدی: پاسخ آنتی‌اکسیدانی، سلنیوم، کاتالاز، مالون‌دی‌آلدهید، *Allium ampeloprasum*، *Allium iranicum*

مقدمه

خاک‌های کشاورزی به‌طور مستقیم و غیرمستقیم از راه تولیدات غذایی روی سلامت عمومی انسان تأثیر می‌گذارند، بنابراین حفاظت از این منبع و اطمینان از پایداری آن حایز اهمیت می‌باشد. با توجه به پیشرفت سریع صنایع و افزایش رهاسازی مواد شیمیایی به محیط زیست، نگرانی در مورد تجمع فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی امری بدیهی است (Wong *et al.*, 2002). انباشت فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی سبب تخریب ساختار خاک و کاهش رشد گیاه شده و با ایجاد اختلال در زنجیره غذایی، سلامتی انسان را تهدید می‌کند (Lee *et al.*, 2006).

سلنیوم به‌عنوان یک عنصر کمیاب با عدد اتمی ۳٤ در گروه

[*]نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: nkarimi@razi.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

ششم جدول تناوبی قرار دارد (Freman *et al*., 2006) . این عنصر به‌طور طبیعی به فرم‌های سلنات (Selenate) و سلنیت (selenite) در رسوبات آتشفشانی و منابع اتمسفری یافت می شود (Srivastava *et al*., 2009). سلنیوم علاوه‌بر حفاظت بدن انسان و حیوانات در برابر تنش اکسیداتیو و سرطان (Combs *et al*., 2001)، جزو ساختار آنزیم‌هایی از جمله گلوتاتیون پراکسیداز (GPX; Glutathione Peroxidase) می باشد (Macleod *et al*., 1996). سلنیوم به شکل سلنات یا سلنیت جذب گیاهان شده و به سلنومتیونین (Selenomethionine) و یا سلنوسیستئین (Selenocysteine) تبدیل می‌شود (Lyons *et al*., 2009; Navarro and Cabrera, 2008) . جذب سلنات با مصرف ATP همراه بوده ولی سلنیت به شکل غیرفعال جذب می‌شود (sors *et al*., 2005). به‌علت تشابه شیمیایی سلنیوم با سولفور، گیاهان سلنیوم را از طریق ناقلین سولفور از خاک جذب می‌کنند (Spadoni *et al*., 2007). میزان انتقال سلنیوم به اندام‌های مختلف گیاهی بسته به گونه گیاه، مرحله رشد، دما و رطوبت خاک متفاوت است (Spadoni *et al*., 2007). گیاهان از نظر کارایی انباشت سلنیوم به دو دسته انباشت‌گر (سیر، تره فرنگی و گون) و غیر انباشت‌گر تقسیم می‌شوند (Bulska *et al*., 2006; Emese *et al*., 2009). غلظت‌های پایین سلنیوم به عنوان محرک رشد، افزایش نمو و فعالیت فتوسنتزی در گیاهان را به‌دنبال دارد (Pennanen *et al*., 2002) اما تیمارهای بالای این عنصر (٤ تا ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر)، منجر به کلروز و نکروز برگی، کاهش رشد و در نهایت مرگ پیش از بلوغ گیاه می‌شود (Terry *et al*., 2000; Wang *et al*.., 2012). به‌طور کلی مقادیر سمی سلنیوم با غیرفعال کردن آنزیم‌ها، کلاته کردن مولکول‌های متابولیکی، جانشینی با عناصر ضروری و گسستگی غشا، رشد گیاه را مختل می‌کند (LaRocca *et al*., 2009).

تنش ناشی از سمیت سلنیوم موجب تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygene Species) و در نتیجه ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند (Spallholz and Hoffman, 2002). ROS ها می‌توانند به‌طور مستقیم سبب تخریب پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و تحریک پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شوند (Kunwar, 2011). گیاهان مکانیسم‌های دفاعی متعددی برای کنترل و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌کار می‌گیرند. آن‌ها سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان با سازوکارهای آنزیمی و غیرآنزیمی دارند که می تواند رادیکال‌های آزاد اکسیژن را تا حدی خنثی کند و خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش دهد (Thompson *et al*., 1987). بسیاری از گیاهان جهت مقابله با آسیب‌های سلنیوم، سیستم‌های حفاظتی متشکل از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (کاروتنوئید، آسکوربات و پرولین) را فعال می‌کنند (Hasanuzzaman *et al*., 2010). اهمیت آنزیم‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به توانایی آن‌ها در از بین بردن ROS ها و در نهایت جلوگیری از بروز تنش اکسیداتیو می‌باشد (خاتون و همکاران، ۱۳۸۷). گیاهان مقاوم دارای ترکیبات مختلف سلنیوم آلی هستند که توانایی اتصال به پروتئین‌ها و ایجاد سمیت را ندارند. همچنین این گیاهان می‌توانند سلنیوم را به انواع ترکیبات فرار (دی‌متیل سلنید) تبدیل کنند (Terry *et al*., 2000).

نتایج مطالعات مختلف حاکی از نقش حمایتی سلنیوم در برابر تنش اکسیداتیو است که این امر از راه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدان از جمله گلوتاتیون پراکسیداز جهت کاهش میزان رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش پراکسیداسیون لیپیدها صورت می‌گیرد (Xue *et al*., 2000). بنابراین، سلنیوم دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌تواند از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد خسارت‌های ناشی از تنش اکسیداتیو را خنثی کند (Hartikainen and Txue, 1999). انواع ROS ها با افزایش سطوح مالون دی‌آلدهید غشا (Dan *et al*., 2013) و تخریب کلروفیل (Hawrylak *et al*., 2007) سبب کاهش رشد گیاه می‌شوند. در مقابل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با جذب رادیکال های آزاد اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می کنند و موجب افزایش زیست‌توده گیاه می‌گردند (Yang, 1991).

پیاز خوراکی به‌عنوان یکی از گونه‌های جنس پیاز (Allium) است که در سال ۲۰۰۵ طبق آمار فائو تولید آن به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

۵۷ میلیون تن در دنیا رسید (Agumas *et al*., 2014). پیاز علاوه براین‌که به‌عنوان طعم دهنده غذا به‌کار می‌رود، دارای خواص درمانی متعدد نیز می‌باشد (Baruchin *et al*., 2001). تره ایرانی گیاهی از خانواده آلیاسه (Alliaceae) و بومی ایران، با رشد زیاد و متراکم دارای برگ‌هایی است که غلاف آن‌ها در قسمت ابتدایی با هم همپوشانی داشته و به همراه یکدیگر یک ساقه کوتاه مجازی را ایجاد می‌کنند (موسوی و همکاران، ۱۳۸۵). گیاه تره کوهی دارای غده تقریباً بزرگ و پوشیده از پوشش غشایی و کاغذین است. همچنین این گیاه دارای جام زنگی شکل با تقسیمات تخم‌مرغی و پهن دراز است که در سطح پشتی تقریباً صاف می‌باشد (Rechinger, 1970).

با توجه به‌این‌که اعضای خانواده آلیاسه جزو گیاهان سلنوفروز (Seleniferous) هستند که سلنیوم معدنی را به راحتی از خاک جذب و به فرم آلی تبدیل می‌کنند و همچنین این گیاهان جزو گیاهان مورد مصرف انسان هستند، لذا بررسی کارایی گیاهان این خانواده در انباشت سلنیوم و همچنین واکنش گونه‌های مختلف خانواده آلیاسه در برابر غلظت‌های مختلف سلنیوم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. نظر به‌اینکه تره ایرانی و تره کوهی هر دو به‌عنوان گیاهان تک لپه از تیره سوسن (*Liliaceae*) و جنس آلیوم (Allium) با مزه خاص و ویژگی‌های ریخت‌شناسی خاص خود جزو سبزی‌های پیازی محسوب می‌شوند، دارای ویژگی‌های سلولی و ترکیبات بیوشیمیایی منحصربه‌فرد هستند که می‌تواند در واکنش آن‌ها به سلنیوم مؤثر باشد (Barimizadeh *et al*., 2015). هدف از این پژوهش، بررسی اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر رشد و برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیوژیک گونه تره ایرانی در مقایسه با گونه تره کوهی بود. سمیت ناشی از غلظت‌های بالای سلنیوم از یک سو و ضرورت وجود آن در انسان از سوی دیگر نشان دهنده اهمیت شناخت علایم مسمومیت این عنصر در گیاه است.

مواد و روش‌ها

کشت گلدانی: بذر گونه تره کوهی (*Allium ampeloprasum*) از موسسه جنگل‌ها و مراتع جهاد کشاورزی (کرج) خریداری شد و بذر گونه تره ایرانی (*Allium iranicum*) از مراتع شهرستان‌های مختلف اطراف کرمانشاه جمع‌آوری گردید. در این پژوهش ۱۵ عدد از بذر دو گونه در گلدان‌های پلاستیکی محتوی ماسه و خاک با نسبت یکسان کاشته شد و سپس گلدان‌ها هر سه روز یک‌بار آبیاری گردید. پس از رسیدن گیاهان به مرحله چهار برگی، گلدان‌ها به گروه‌های سه گلدانی (هر تیمار، سه تکرار) تقسیم شدند و تحت تیمار سلنیوم در غلظت‌های ۰، ۲۰، ٤۰، ۱۲۰ و ۲٤۰ میکرومولار (معادل ۰، ۲، ٤، ۱۱ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر) قرار گرفتند. تیمارهای سلنیوم به‌وسیله نمک سلنات سدیم (Na_2O_4Se) تهیه و از راه آب آبیاری به خاک گلدان‌ها اضافه شدند. پس از پایان تیماردهی، برخی پارامترهای رشد و فیزیولوژیک در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه رازی اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد و فیزیولوژیک: پس از برداشت گیاهان، ابتدا بخش هوایی و ریشه از یکدیگر جدا شدند. سپس نمونه‌های برداشت شده به دو قسمت مجزا تبدیل شدند. یک بخش از نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری وزن خشک و برخی پارامترها مانند پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در داخل آون ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت سه روز خشک شدند. بخش دوم نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری دیگر پارامترهای بیوشیمیایی بلافاصله پس از برداشت به فریزر منتقل شدند.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل کل با استفاده از روش آرنون (۱۹٤۹) انجام شد. ۰/۱ گرم از وزن تر گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. محلول حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و در ٤۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید، سپس جذب توسط اسپکتروفتومتر مدل Bausch & Lomb 70) در طول موج‌های ٦٦۳ و ٦٤٥ نانومتر خوانده شد. در نهایت میزان کلروفیل کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بر اساس رابطه (۱-۳) محاسبه گردید (Arnon,1949).

(۱) کلروفیل a = [(۱۲/۷ × جذب٦٦۳) − (۲/٦ × جذب٦٤٥)]
میلی‌لیتر استون / میلی‌گرم بافت

(۲) کلروفیل b = [(۲۲/۹ × جذب٦٤٥) − (۲/٦ × جذب٦٦۳)]

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

میلی‌لیتر استون / میلی‌گرم بافت

(۳) کلروفیل کل = کلروفیل a + کلروفیلb

محتوای قندهای محلول گیاه با استفاده از روش فنل-اسیدسولفوریک اندازه‌گیری شد. برای استخراج قند از بافت گیاهی، ۰/۰۱ گرم از بافت خشک با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر گرم ساییده و با کمک کاغذ صافی واتمن صاف گردید. ۲ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده با ۵۰ میکرولیتر فنل ۸۰ درصد مخلوط و سپس ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به آن اضافه شد. این محلول ۱۵ دقیقه در دمای محیط نگهداری و سپس به‌مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جذب این محلول در طول موج ٤۹۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد گلوگز میزان قندهای محلول بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید (Dubois *et al*., 1956).

اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از روش هیس و پاکر (۱۹٦۸) انجام شد. بدین‌منظور ۰/۱ گرم برگ تازه با ۵۰۰ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رویی با ۷۵۰ میکرولیتر محلول مالون دی‌آلدهید که حاوی تری‌کلرو استیک اسید (TCA) ۲۰ درصد و تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد است، مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در بن ماری حرارت داده شد، سپس بلافاصله در آب یخ گذاشته شد و دوباره به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. جذب این محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیر-اختصاصی در ٦۰۰ نانومتر تعیین و از مقدار حاصل کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA (بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر) طبق فرمول ٤ از ضریب خاموشی معادل Mm^{-1} ۱۵۵ Cm^{-1} استفاده شد.

(٤)

$$MDA(u(mol/gFW))=[((A532-A600)*W)/155]*1000$$

W = وزن نمونه برگی مورد استفاده

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و تعیین مقدار پروتئین محلول در نمونه‌ها، ابتدا عصاره‌گیری به عمل آمد. برای تهیه ۵۰ میلی‌لیتر بافر استخراج، ۰/٦۰۷ گرم بافر تریس را با ۰/۰۵ گرم پلی‌وینیل فسفات (Poly vinyl phosphate) در ٤۰ میلی‌لیتر آب مقطر به خوبی حل کرده و سپس با اسیدکلریدریک pH محلول را در ۷/۸ تنظیم و بعد از آن محلول را به حجم نهایی ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و از این بافر برای عصاره‌گیری پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده گردید. جهت عصاره‌گیری، ابتد ابه ۰/۲ گرم وزن تر هر نمونه، ۱ میلی‌لیتر بافر فوق را اضافه و در داخل هاون چینی به‌طور کامل یکنواخت شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰، سانتریفیوژ شده و پس از آن فاز بالایی جهت قرائت میزان پروتئین و فعالیت آنزیم جدا گردید. به منظور حفظ فعالیت آنزیمی، تمامی مراحل استخراج و اندازه‌گیری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

بررسی میزان فعالیت کاتالاز بر اساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن در طول موج ۲٤۰ نانومتر برای یک دقیقه انجام شد (Sinha, 1976). بنابراین مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۱۵ میلی‌مولار با pH برابر با ۷ بود. ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی استوک و ۱۳۵۰ میکرولیتر از محلول واکنش با هم ترکیب شدند. با شروع تجزیه H_2O_2 در محیط، واکنش آغاز شد و میزان کاهش جذب در طول زمان در طول موج ۲٤۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از ضریب خاموشی مولی (ε=۳۹/۴$mM^{-}Mm^{-1}cm^{-1}$) میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد در میلی گرم وزن تر) اندازه‌گیری گردید.

برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین محلول از روش برادفورد (۱۹۷٦) استفاده شد. جهت تهیه معرف، مقدار ۰/۰۵ گرم کوماسی‌بریانت‌بلو G۲۵۰ در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درصد در تاریکی حل شد و سپس ۲۵ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد را قطره قطره به مخلوط فوق اضافه کرده و حجم نهایی محلول با آب مقطر به ۵۰۰ میلی‌لیتر رسید. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین هر نمونه ۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف کوماسی بلو تازه مخلوط و سپس میزان جذب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

به‌وسیله کوت شیشه‌ای در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین هر نمونه (بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر) با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین به‌دست آمد.

این پژوهش در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی، با سه تکرار اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌های مربوط به هر دو گیاه با یکدیگر با استفاده از آزمون دانکن و مقایسه دو گونه با استفاده از آزمون تی تست (Student's t-test) انجام گردید. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل (Excel) انجام شد.

نتایج

اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر پارامترهای رشد و فیزیولوژیک: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ویژگی‌های رشد دو گیاه تره ایرانی و تره کوهی نشان داد که اثر سلنیوم بر وزن تر و محتوی مالون‌دی‌آلدهید غده و بخش هوایی معنی‌دار است (جدول ۱).

بر اساس نتایج بدست آمده مقایسه میانگین آزمون دانکن و با اعمال تیمار سلنیوم، وزن تر دو گونه کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد (شکل ۱). حداکثر وزن تر غده در گروه شاهد (تره ایرانی ۰/۰۷۳۹۱۵ میلی‌گرم، تره کوهی ۰/۰۲۹۱۳۹میلی‌گرم) و حداقل آن در غلظت ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر (تره ایرانی ۰/۰۱۹۱٤٤ میلی‌گرم، تره کوهی ۰/۰۰٦٦۸٦ میلی‌گرم) مشاهده شد. در تره ایرانی اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد و تیمارهای ۱۱ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر دیده شد ولی در تره کوهی تیمارهای شاهد و ۲ میلی‌گرم بر لیتر با تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند.

مقایسه میزان وزن تر بخش هوایی دو گونه در شکل (۲) نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف سلنیوم موجب کاهش معنی‌دار وزن تر بخش هوایی می‌شود (شکل۲). به‌ترتیب در تره ایرانی میانگین وزن تر کاهش ۷۲/٤۲ درصدی را نشان می دهد، به‌طوری‌که میانگین وزن تر بخش هوایی از ۰/۰۳٦ میلی گرم در گروه شاهد به ۰/۰۱۰ میلی‌گرم در غلظت ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر رسید و میانگین وزن تر بخش هوایی تره کوهی در مورد مشابه، از ۰/۰۲٤٤ میلی‌گرم به ۰/۰۰٦۹ میلی‌گرم رسید و کاهش ۷۲ درصدی را نشان می‌دهد. در دو گونه تیمارهای بیش از ۲ میلی‌گرم بر لیتر با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها به روش دانکن نشان می‌دهد، در تره ایرانی کمترین میزان کلروفیل کل مربوط به تیمار ۱۱ میلی‌گرم بر لیتر بوده و کاهش ۲۷ درصدی را نسبت به گروه شاهد نشان داد (شکل ۳). به‌علاوه، تنها گروه شاهد و تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند. محتوی کلروفیل کل در تره کوهی روند یکسانی را نشان نداد به‌طوری‌که حداقل میزان کلروفیل کل در تیمار ٤ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد و ۲۱ درصد کاهش را نسبت به گروه کنترل نشان داد. در تره کوهی تنها گروه شاهد با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار را نشان داد.

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از سنجش محتوی مالون‌دی‌آلدهید در غده تحت تیمار نشان می‌دهد که بیشترین محتوی مالون‌دی‌آلدهید در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر دو گونه دیده شد (شکل ٤). در تره ایرانی تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر افزایش ۱۱۸ درصدی را نسبت به گروه شاهد نشان داد و تره کوهی در مورد مشابه، ۱۰۷ درصد افزایش یافت. در تره ایرانی اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای بیش از ۲ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم مشاهده گردید، درحالی‌که تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر تره کوهی با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار را نشان داد.

اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای مالون‌دی‌آلدهید بخش هوایی در شکل (۵) نشان داده شد. به‌طوری‌که در تره ایرانی محتوای مالون‌دی‌آلدهید بخش هوایی تحت غلظت‌های مختلف سلنیوم متفاوت بود و اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد و تیمارهای ۱۱ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر دیده شد. با افزایش غلظت سلنیوم محتوای مالون‌دی‌آلدهید بخش هوایی تره کوهی افزایش معنی‌داری نشان داد. غلظت مالون‌دی‌آلدهید بخش هوایی تره ایرانی در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر افزایش ۱۲٦ درصدی را نسبت به گروه شاهد نشان داد و این میزان افزایش

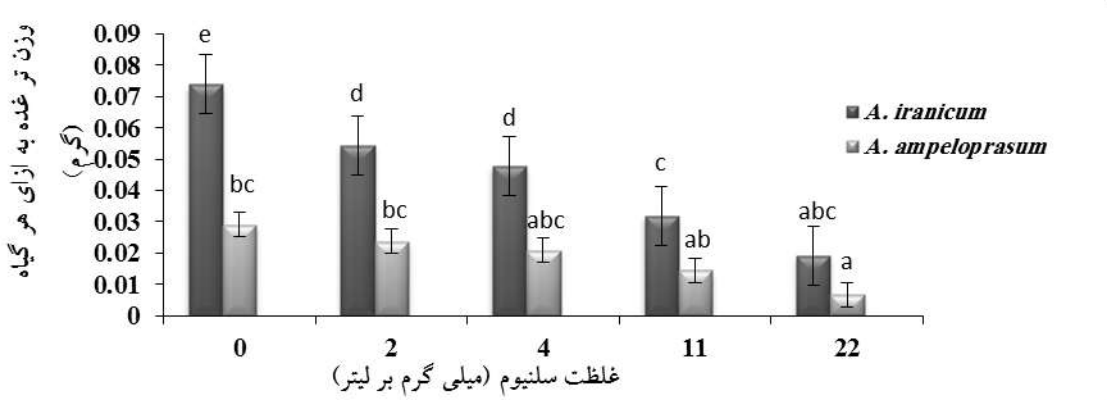
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

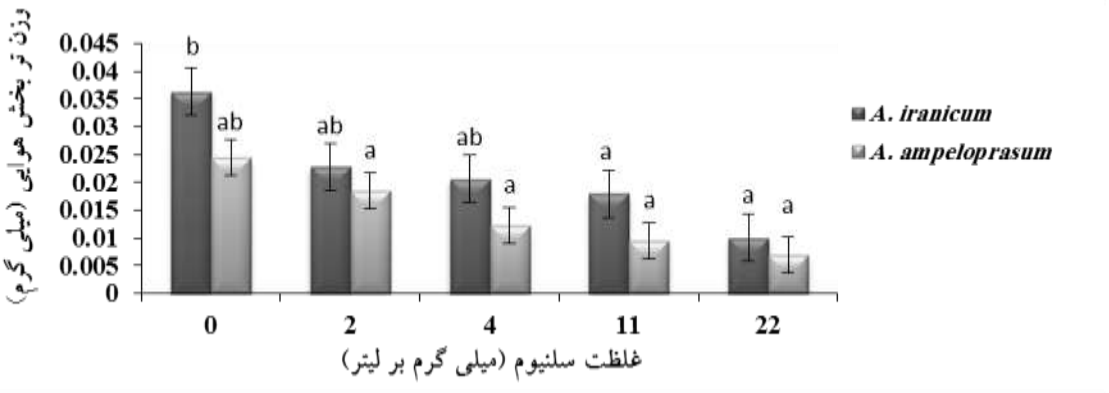
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف سلنیوم بر صفات رشد اندازه‌گیری شده در غده و اندام هوایی دو گیاه تره ایرانی و تره کوهی.

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر غده	وزن تر بخش هوایی	محتوی کلروفیل کل	محتوی مالون‌دی آلدهید غده	محتوی مالون‌دی آلدهید بخش هوایی
گونه	۱	۷۳/۲۹٤**	٤/٤۷۰	٦۲٤	۰/۳۳۹ ns	۰/۲۹٦ ns
سلنیوم	٤	۱۸/۳۷٤**	٤/۷۰۱**	۵/۸٤۵ ns	۳۰/۸٦۱**	۲۲/۱٤۷**
سلنیوم ×گونه	٤	۳/۲۹٤*	۰/۲۱۷ ns	۰/۲۱۷ ns	۲/۷۱٦ ns	۲/۳۵۳ ns
خطا		۷/۱۷۹	۸/٦۷۸	۰/۱۵٦	٤٦۹/۵۳٦	۱۳۹/۸٤۰

***، ** و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح پنج درصد، معنی‌داری در سطح یک درصد و عدم وجود تفاوت معنی‌دار**



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر وزن تر غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میانگین وزن تر غده با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر میانگین سه تکرار ± SE است.



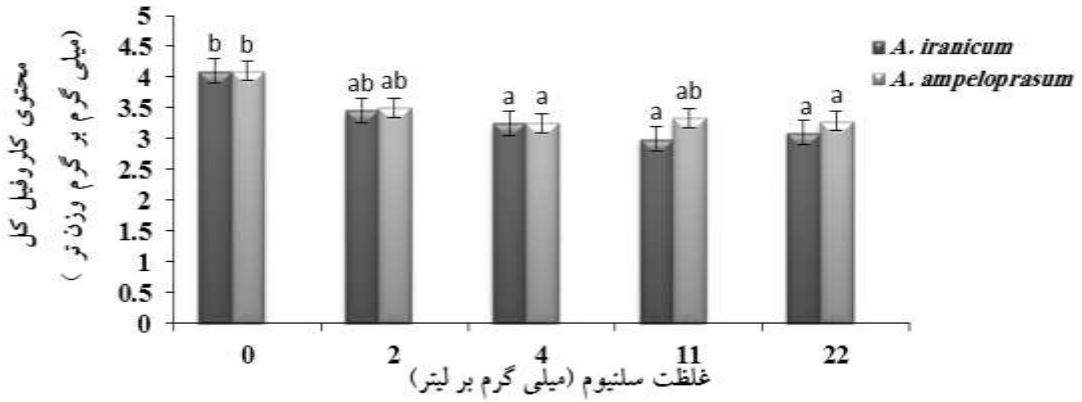
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر وزن تر بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میانگین وزن تر بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE است.

در تره کوهی ۱۰٦ درصد می‌باشد.

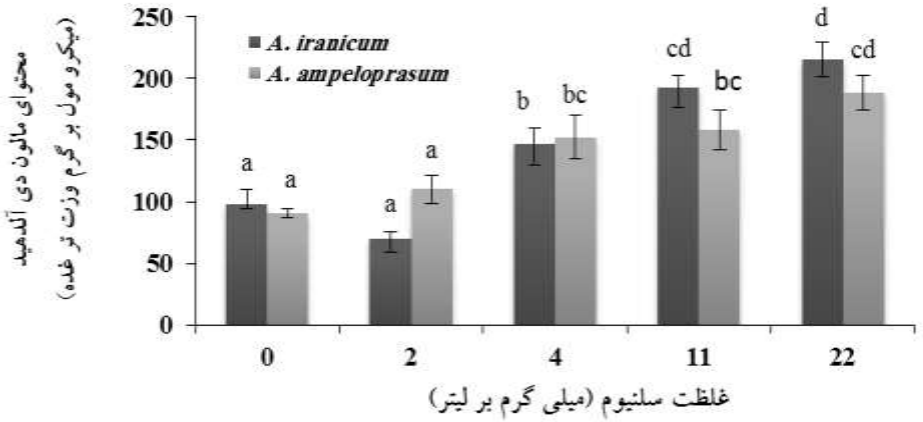
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ویژگی های فیزیولوژیک دو گیاه تره ایرانی و تره کوهی نشان داد که اثر سلنیوم بر فعالیت آنزیم کاتالاز غده و محتوای پروتئین غده و بخش هوایی در سطح پنج درصد معنی‌دار است. همچنین سلنیوم اثر معنی‌داری بر محتوای کربوهیدرات در سطح یک درصد دارد (جدول ۲).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن برای بررسی اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی در

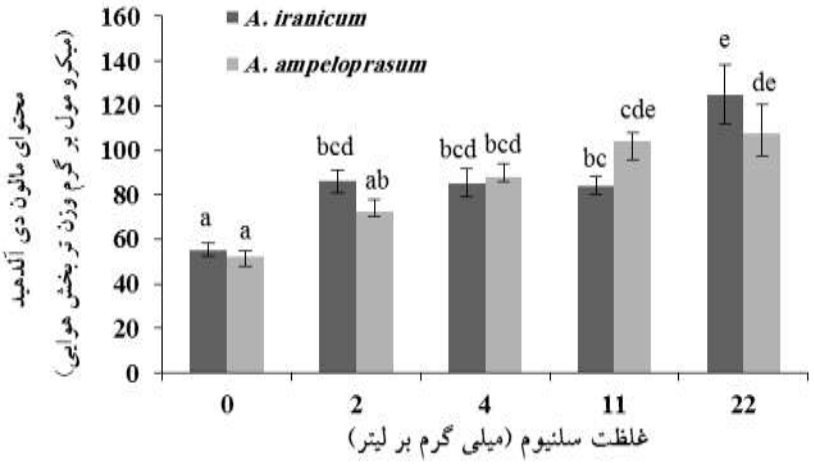
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای کلروفیل کل دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میانگین محتوی کلروفیل کل با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر میانگین سه تکرار ± SE است.



شکل٤- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوی مالوندی‌آلدهید غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میانگین محتوی مالوندی‌آلدهید غده با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE است.



شکل ٥- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای مالوندی‌آلدهید بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میانگین محتوی مالوندی‌آلدهید بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر میانگین سه تکرار ± SE است.

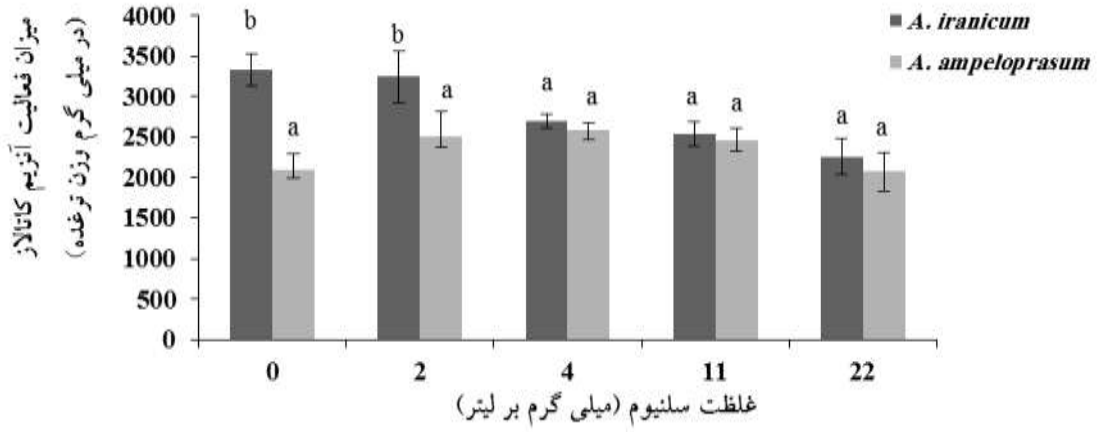
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف سلنیوم بر صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده در غده و بخش هوایی دو گیاه تره ایرانی و تره کوهی.

منبع تغییرات		فعالیت کاتالاز غده	فعالیت کاتالاز بخش هوایی	محتوی کربوهیدرات	محتوی پروتئین غده	محتوی پروتئین بخش هوایی
F مقدار	گونه‌ها	۱٦/۱۲٦**	۱۱/٥۳۷**	۸/٤٦۱**	٦/۱۸۱ *	۳۳/۷٤۸**
	سلنیوم	٤/۱۸۰*	۰/۲۲٤^{ns}	۲٤/٥۰٤**	۲/۹۲٦*	۲/۸۹۷*
	گونه×سلنیوم	۳/۸۲۲*	٥/۲۸۹**	۰/۳۸٥^{ns}	٦/٦۹۷**	۳/٥۸٤*
	خطا	۱۰۷/۲۸٥	۳٥۰/۱۹٦	٦/۳۰۸	٦/٥٥۲	٤/٦۹٦

***، ** و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح پنج درصد، معنی‌داری در سطح یک درصد و عدم وجود تفاوت معنی‌دار**



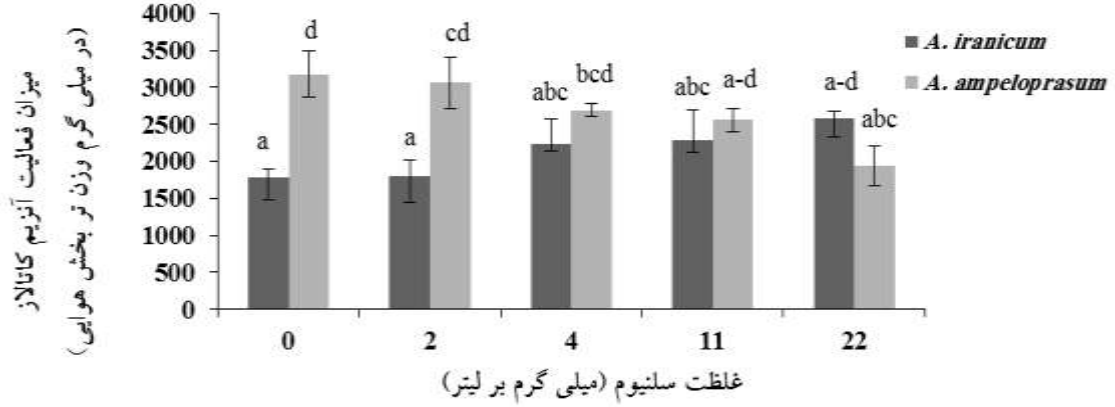
شکل ٦- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز غده با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE است.

شکل (٦) نشان داده شده است. در گونه تره ایرانی روند کاهشی تقریباً منظمی در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد، به‌طوری‌که تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر حداقل میزان فعالیت آنزیم را نشان داد و بین غلظت‌های مختلف سلنیوم اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید. در گونه تره کوهی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تا تیمار ٤ میلی‌گرم بر لیتر افزایش و سپس در غلظت‌های بالاتر کاهش یافت و غلظت‌های مختلف سلنیوم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری از این نظر نشان ندادند.

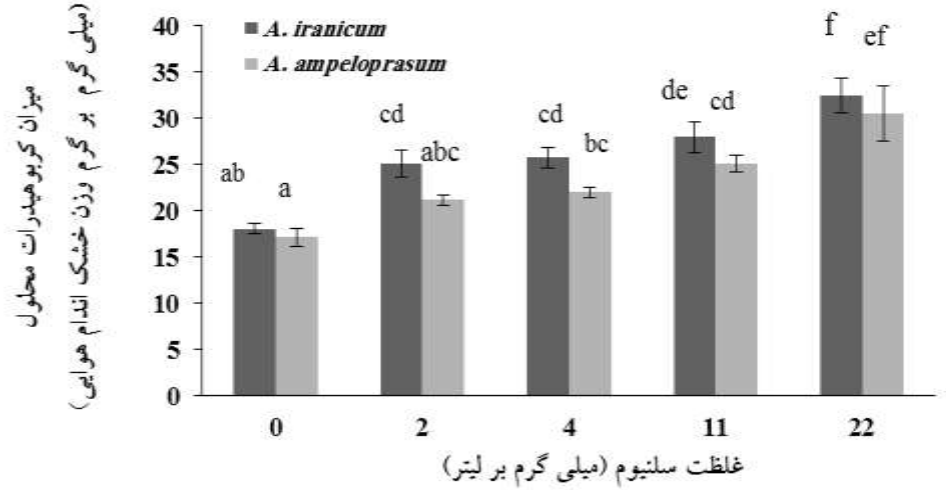
مقایسه میانگین داده‌ها و آزمون دانکن حاصل از اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی در شکل (۷) نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم کاتالاز دو گونه دارای روند متفاوتی در بین غلظت‌های مورد بررسی بود. در گونه تره ایرانی، با افزایش سطوح سلنیوم در تیمارهای مختلف، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی افزایش یافت که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. با افزایش غلظت سلنیوم در تره کوهی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی کاهش یافت و حداقل میزان فعالیت آنزیم در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد.

شکل (۸) اثر سلنیوم بر محتوی کربوهیدرات محلول دو گونه تره ایرانی و تره کوهی تحت تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد. در تره ایرانی حداکثر میزان کربوهیدرات محلول در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد و حدود ۸۰ درصد افزایش را نسبت به گروه شاهد نشان داد. بررسی محتوای کربوهیدرات محلول در بخش هوایی گونه تره کوهی هم در پاسخ به سطوح تیمارهای سلنیوم روند افزایشی را نشان داد. به‌طوری‌که تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر، حداکثر میزان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر میانگین سه تکرار ± SE است.



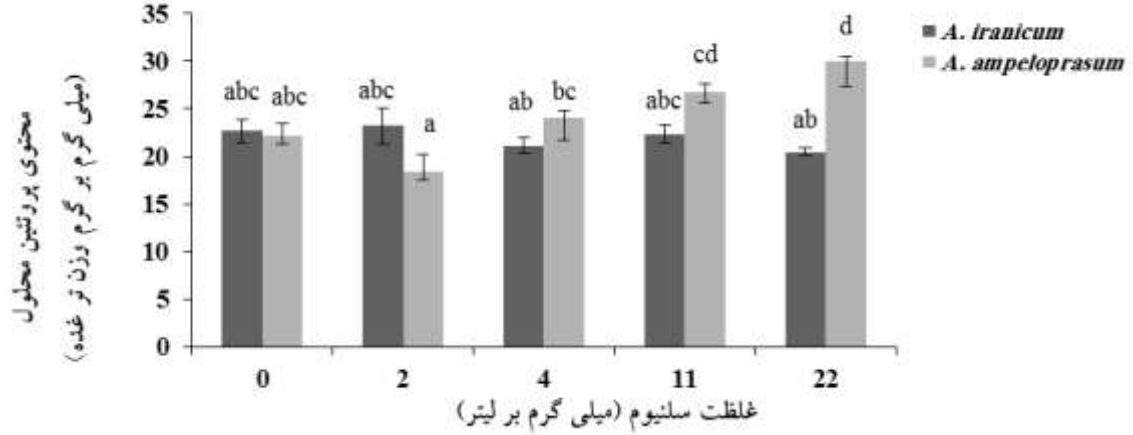
شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای کربوهیدرات محلول بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر محتوی کربوهیدرات محلول بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE است.

کربوهیدرات محلول را دارا بوده (۳۰/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و افزایش ۷۷ درصدی را نسبت به گروه شاهد نشان داد.

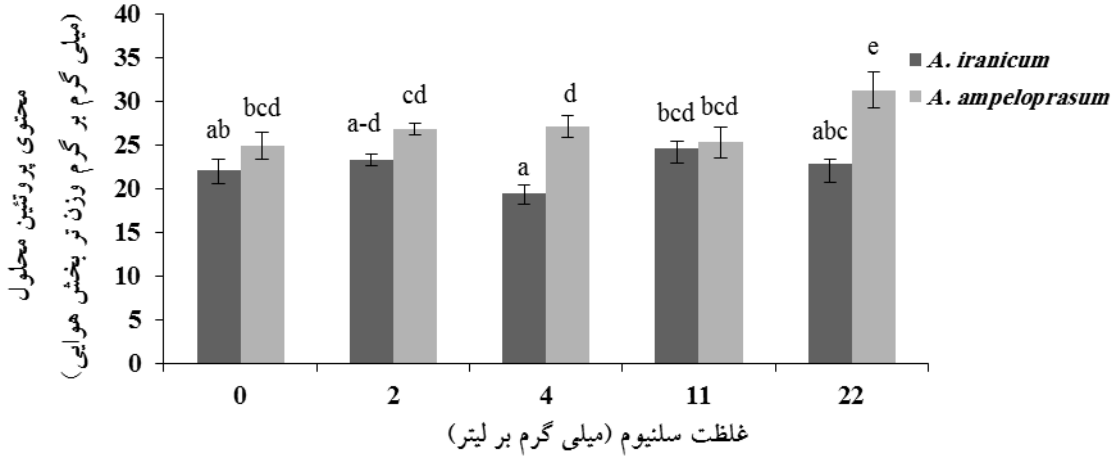
نتایج حاصل از تأثیر سلنیوم بر محتوای پروتئین محلول غده در شکل (۹) آورده شده است. محتوی پروتئین محلول غده تره ایرانی، روند یکسانی را نشان نداد. حداقل میزان پروتئین غده مربوط به تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر بوده و کاهش حدود ۱۰ درصدی را نسبت به گروه شاهد نشان داد. همچنین بین غلظت‌های مختلف سلنیوم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. در تره کوهی به موازات افزایش غلظت سلنیوم، در تیمارهای بیش از ۲ میلی‌گرم بر لیتر، محتوی پروتئین محلول افزایش یافت و این روند افزایش معنی‌دار بود. بیشترین میزان پروتئین محلول در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر وجود داشت که نسبت به گروه شاهد ۳۵ درصد افزایش نشان داد.

همان‌طور که در شکل (۱۰) مشاهده می‌شود، در تره ایرانی دو غلظت ۲ و ۱۱ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم باعث افزایش محتوای پروتئین محلول بخش هوایی نسبت به گروه شاهد شد که این افزایش، از لحاظ آماری معنی‌دار بود. همچنین کاربرد سلنیوم در غلظت ٤ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش معنی‌دار محتوی پروتئین محلول بخش هوایی نسبت به گروه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]



شکل ۹- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای پروتئین محلول غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میزان پروتئین محلول غده با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE است.



شکل ۱۰- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای پروتئین محلول بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی-دار بودن اثر تیمارها بر محتوای پروتئین محلول بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± SE است.

شاهد شد. در تره کوهی بیشترین میزان پروتئین محلول در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد که نسبت به گروه شاهد افزایش حدود ۲٦ درصدی را نشان داد و اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای ۲، ٤ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر وجود دارد.

بحث

در این پژوهش مشخص شد که سلنیوم در غلظت پایین (۰ تا ٤ میلی‌گرم بر لیتر)، باعث تحریک رشد گیاهان تره ایرانی و تره کوهی می‌شود. غلظت‌های بیش از ٤ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم باعث کاهش رشد گیاهان مزبور می‌شود که علایم سمیت آن مانند کلروز برگ جوان مشاهده گردید.

در این پژوهش نتایج حاصل از تجزیه پارامتر وزن تر نشان داد که تنش ناشی از سلنیوم در گیاهان مورد آزمایش باعث کاهش معنی‌دار وزن تر غده و بخش هوایی نسبت به گروه شاهد شد. غلظت‌های پایین سلنیوم، احتمالاً از راه افزایش میزان نشاسته در کلروپلاست‌ها، رشد گیاه را افزایش داده و به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی از غشاء سلولی این گیاهان در برابر پراکسیداسیون لیپیدها محافظت می‌کند (Han-Wens *et al*., 2010). کاهش زیست‌توده گیاه با افزایش غلظت سلنیوم می‌تواند به‌دلیل تغییر در نفوذپذیری غشاء نسبت به یون‌های سدیم، پتاسیم و کلسیم باشد (Dziubinskaa *et al*,. 2010) که باعث اختلال در تنفس و جذب آب می‌شود

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

(John *et al*., 2009). همچنین بررسی گیاهان مختلف ازجمله جو دوسر و شبدر (Bawa *et al*., 1992)، قهوه (Mazzafera, 1998)، ذرت و لوبیا (Jahid *et al*., 2010) و چندین گونه گیاهی دیگر نشان داد که غلظت‌های بالای سلنیوم باعث کاهش رشد می‌شود که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد.

بیشتر گزارش‌ها حاکی از کاهش محتوای کلروفیل تحت تأثیر سلنیوم بوده است (Chen *et al*., 2005; Hawrylak *et al*., 2007). این در حالی است که شواهدی نیز از اثر افزایشی غلظت‌های پایین سلنیوم بر محتوای کلروفیل گیاهان تحت تنش گزارش شده است (Pennanen *et al*., 2002) که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. غلظت‌های پایین سلنیوم با محافظت از آنزیم-های کلروپلاستی (Pennanen *et al*., 2002) و همچنین افزایش کارایی فتوسیستم II باعث افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شوند (Hasanuzzaman *et al*., 2010). طبق مطالعات صفاریزدی (۱۳۹۰) به نظر می‌رسد کاهش میزان کلروفیل در غلظت‌های ٦ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم احتمالاً به‌دلیل کاهش سطح پهنک برگ و افزایش تراکم کلروفیل a، b و کلروفیل کل در واحد سطح برگ باشد. همچنین کاهش فتوسنتز می‌تواند به‌علت قرار گرفتن سلنیوم به جای منیزیم در ساختار کلروفیل (Padmaja *et al*., 1989) و تأثیر منفی سلنیوم بر آنزیم پورفوبیلینوژن سنتتاز (Porphobilinogen Synthase) باشد (Hawrylak *et al*., 2007). این نتایج در توافق نتایج پادماجا و همکاران (۱۹۹۵) است که مطالعات مشابهی را روی گیاهان لوبیا و کاهو انجام داده بودند.

نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای مالون‌دی‌آلدهید غده و بخش هوایی دو گونه نشان داد که غلظت‌های بالای سلنیوم موجب افزایش محتوای مالون‌دی-آلدهید و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌شوند، به‌طوری‌که حداکثر محتوای مالون‌دی‌آلدهید در تیمار ۲۲ میلی-گرم بر لیتر سلنیوم مشاهده شد. مطالعات انجام شده توسط Pennanen و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که در غلظت‌های پایین سلنیوم، محتوای مالون‌دی‌آلدهید کاهش می‌یابد که احتمالاً به‌علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و یا افزایش اسید آسکوربیک و گلوتاتیون است. مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص تنش اکسیداتیو، بیانگر میزان پراکسیداسیون لیپیدها است که در اثر افزایش تنش اکسیداتیو و تجمع رادیکال های آزاد، میزان پراکسیداسیون لیپیدها و به دنبال آن، محتوای این شاخص افزایش می‌یابد. چنین نتایجی از اثر سلنیوم نیز بر گیاهان صخره‌ای توسط خطاب و همکاران (۱۳۸۳) گزارش شده است. از سوی دیگر در شرایط تنش، به‌علت عدم تعادل در تولید انواع اکسیژن فعال و ایجاد تنش اکسیداتیو پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی افزایش می‌یابد (Wu *et al*., 2006). همچنین افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدهید در تنش سلنیوم در علف هرز (Cartes *et al*., 2005) و *Pteris vittata* (Feng *et al*., 2012) گزارش شده است، که همسو با نتایج حاصل از این پژوهش است.

با افزایش غلظت سلنیوم، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز غده و بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی کاهش نشان داد (به غیر از بخش هوایی تره ایرانی) و این کاهش در اغلب تیمارها معنی‌دار نبود که نشان دهنده مقاومت بالای دو گونه به سلنیوم است. میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز تحت تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابد، که به‌دلیل افزایش کاتالیز اکسیداسیون دامنه وسیعی از ترکیبات آلی و معدنی در حضور پراکسید هیدروژن تولید شده در تنش می‌باشد (خاتون و همکاران، ۱۳۸۷). از سوی دیگر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در غلظت-های بالای سلنیوم (بیش از ۱۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کاهش می‌یابد، زیرا آن‌ها نمی‌توانند H_2O_2 اضافی را که در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تولید می‌شود را از بین ببرند (Feng, 2012). (آنزیم کاتالاز به دلیل نقش متابولیسمی مکملی که با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز دارد، این دو آنزیم نقش حفاظتی مهمی در فرآیند حذف H_2O_2 و O_2^- دارند (Benavides *et al*., 2005). کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز ممکن است به‌علت اختلال در فعالیت آنزیم توسط گونه‌های اکسیژن فعال باشد (Sandalio *et al*., 2001).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

نتایج مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تنش سلنیوم بر محتوای کربوهیدرات بخش هوایی دو گونه نشان داد که با افزایش غلظت سلنیوم در محلول‌های تیمار، میزان کربوهیدرات بخش هوایی افزایش معنی‌داری داشته است، درحالی‌که در تیمارهای ۲ و ٤ میلی‌گرم بر لیتر این افزایش معنی‌دار نیست. مطالعات قبلی نشان داد که کاهش پلی‌ساکارید در غلظت ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم ممکن است به‌علت تأثیر سلنیوم روی فتوسنتز باشد که از سنتز کلروفیل جلوگیری می‌کند (Zhang *et al*., 2003). افزایش نشاسته در تیمار سلنیوم، نشان دهنده افزایش فتوسنتز، کاهش انتقال کربوهیدرات به ریشه و یا کاهش تجزیه نشاسته می‌باشد (Mazzafera, 1998). به نظر می‌رسد که سلنیوم با افزایش محتوای کاروتنوئید و کاهش تنش اکسیداتیو، موجب افزایش میزان قندهای موجود در گیاهان می‌شود. قندهای محلول علاوه بر حفظ تعادل اسمزی، انرژی مورد نیاز گیاه را نیز در شرایط تنش تامین می‌کنند و باعث حفظ بقای گیاه می‌شوند (Dubey and Singh, 1999). نتایج مشابه روی گیاه پریوش (*Catharanthus roseus*) (Arvi *et al*., 1995) و قهوه (*Coffea arabica*) (Mazzafera, 1998) تحت تیمار سلنیوم به‌دست آمد و با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد.

در این پژوهش با افزایش غلظت سلنیوم در محیط خاک، روند یکسانی در تغییرات محتوای پروتئین غده و بخش هوایی تره ایرانی مشاهده نگردید و اغلب تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. از سوی دیگر محتوای پروتئین غده و بخش هوایی تره کوهی در تیمارهای بیش از ۲ میلی‌گرم بر لیتر افزایش یافت که از لحاظ آماری معنی‌دار بود. تنش اکسیداتیو و تولید انواع اکسیژن فعال که با افزایش پر-اکسیداسیون لیپید همراه است باعث آسیب به بافت گیاه شده و میزان پروتئین را کاهش می‌دهد (کریمی و همکاران ۱۳۸۸). این رادیکال‌های آزاد میل ترکیبی زیادی با پروتئین‌ها دارند و باعث اکسید شدن آن‌ها می‌شوند (خودسر و همکاران، ۱۳۸۰). در غلظت‌های بالای سلنیوم (۱۰۰ میکرومولار) افزایش گونه-های فعال اکسیژن، عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی (آنزیم‌ها و ترکیبات آنتی اکسیدانی) را از راه افزایش پاکسازی ROS افزایش داده و باعث حمایت انواع پروتئین‌ها می‌شوند (خطاب و همکاران، ۱۳۸۳). همچنین مطالعات انجام شده دیگری نشان داد که سلول‌های گیاهی، اسیدهای آلی یا پلی‌پپتیدهایی سنتز می کنند که یون‌های فلزی را کلاته می‌کند و موجب افزایش مقاومت گیاه در برابر انواع تنش‌ها می‌شود (Jackson *et al*., 1990). بنابراین افزایش و کاهش پروتئین‌ها در شرایط تنش‌را می‌توان به نقش‌های متفاوت رادیکال‌های آزاد یا ROS نسبت داد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، سلنیوم در مقادیر پایین به‌عنوان یک عنصر مفید عمل کرده و موجب رشد و نمو گیاه می‌شود، درحالی‌که همین عنصر در غلظت‌های بالا به عنوان یک شبه فلز سمی، موجب اختلال در فرآیندهای متابولیکی و بازدارندگی رشد در بیشتر گونه‌های گیاهی می‌شود. کاهش رشد می‌تواند یک راهکار دفاعی برای حفظ گیاه در شرایط تنش باشد. بررسی‌های فیزیولوژیک انجام شده نشان دادند که محتوای کلروفیل کل اغلب تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند، که این روند بیانگر مقاومت بالای دو گونه مورد بررسی در برابر سطوح مختلف سلنیوم می‌باشد. به‌طور کلی با افزایش سطوح سلنیوم در محیط خاک، میزان تجمع مالون‌دی-آلدهید افزایش یافت که نشان دهنده ایجاد تنش اکسیداتیو و تخریب لیپیدهای غشایی است. به‌نظر می‌رسد که سلنیوم با حفاظت از پروتئین‌ها، موجب افزایش میزان قندهای محلول در گیاهان می‌شود و قند علاوه بر نقش اصلی خود (تولید انرژی)، در تنظیم اسمزی نیز به گیاهان کمک می‌کند. کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در تنش اکسیداتیو ناشی از حضور سلنیوم می تواند با افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی جبران گردد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که دو گونه تره ایرانی و تره کوهی علاوه بر کاهش رشد با افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، باعث جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو و بهبود تحمل گیاه به تنش می‌گردند. همچنین با توجه به این‌که میزان تخریب لیپیدهای غشا در تره ایرانی محسوس‌تر است، می‌توان گفت که این گونه به غلظت‌های مختلف سلنیوم حساس‌تر است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

منابع

اشرف، م. و فولاد، م. ر. (۱۳۸٦) نقش گلیسین بتائین و پرولین در بهبود مقاومت به تنش ناشی از عوامل غیرزنده در گیاه، مجله گیاه شناسی زیست محیطی و تجربی ۵۹: ۲۱٦-۲۰٦.

خاتون، س. م. ب.، علی، ی. ج. و هان، ک. ی. (۱۳۸۷) مسمومیت با مس در سومنیفرا: پاسخ های آنزیم های آنتی اکسیدان و رشد گیاهان در شرایط آزمایشگاهی، مجله گیاه شناسی زیست محیطی و تجربی ٦٤: ۲۸۵-۲۷۹.

خطاب، چ. ی.، امام، م. ا. و امام، م. م. و همکاران (۱۳۸۳) پاسخ‌های متابولیک و اکسیداتیو مرتبط با قرارگیری گیاهان *Erucasativa* (صخره‌ای) در معرض سطوح مختلف سلنیوم، مجله بین‌المللی کشاورزی و زیست شناسی ٦: ۱۱۰٦-۱۱۰۱.

خودسر، ت.، محمودالظفر، م. و اقبال، م. (۱۳۸۰) تغییرات القا شده با کادمیوم در اپیدرم برگ، میزان فتوسنتز و محتوی رنگدانه در *Cajanus cajan*، مجله زیست شناسی ٤٤: ٦٤-۵۹.

کریمی، ن.، قادریان، س. م.، راب، آ.، فلدمن، ج. و مهارگ، آ. آ. (۱۳۸۸) بررسی میزان انباشت آرسنیک در گونه مقاوم *Isatis cappadocica*، مجله نیو فوتولوژیست ۱۸٤: ٤۷-٤۱.

صفار یزدی، ا. (۱۳۹۰) بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف Se بر جوانه‌زنی، رشد رویشی و برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه *Spinaciaoleracea* L. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

موسوی، ع.، کاشی، ع.، داوودی، د. و صناعی شریعت پناهی، م. (۱۳۸۵) بررسی شیوه کاشت تره در ایران (تره ایرانی)، مجله گیاه شناسی بلژیک ۱۳۹: ۱۲۳-۱۱۵.

Agumas B., Abewa A. and Abebe D. (2014) Response of irrigated onion (*Allium cepa* L.) to nitrogen and phosphorus fertilizers at Ribb and Koga irrigation schemes in Amhara region, North western Ethiopia. International Research Journal of Agricultural and Soil Science 4(5): 95-100.

Arnon, D. (1949) Copper enezyms in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.

Arvy, M. P. A. and Thiersault, P. (1995) Relationship between selenium, micronutrients, carbohydrates and alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* cells. Journal of Plant Nutrition 18: 1535-1346.

Baruchin, A. M., Sagi, A. and Yoe, B. and Ronen, M. (2001) Garlic burns. Burns 27: 781–782.

Bates, L. S., Walderd, R. O. P. and Teare, I. D. (1973) Raoid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-208.

Bawa, S. S., Dhillon, K. S. and Dhillon, S. K. (1992) Screening of different fodders for selenium absorption capacity. Indian Journal of Dai Science 45: 457–460.

Benavides, M. P., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2005) Cadmium toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology 17: 3–20.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Bulska, E., Wysocka, I. A. and Werzbicka, M. H., Proost, K., Janssens, K., Falkenberg, G. (2006) In vivo investigation of the distribution and the Local speciation of selenium in *Allium cepa* L. by means of microscopic X-ray absorption near-edge structure spectroscopy and confocal microscopic X-ray fluorescence analysis. Analytical Chemistry 78: 7616–7624.

Burton, G. W. and Ingold, K. U. (1984) Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. Science 224: 569–573.

Candan, T. and Tarhan, L. (2003) Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activites and lipid peroxidation level in Zn stressed *Mentha pulegium*. Turkish Journal of Chemistry 27: 21-30.

Cartes, P., Gianfreda, L. and Mora, M. L. (2005) Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms. Plant and Soil 276: 359–367

Chen, C. and Dickman, M. B. (2005) Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America 102: 3459-3464.

Chen, T. F., Zheng, W. J. Luo, Y., Yang, F., Bai, Y. and Tu, F. (2005) Effects of selenium stress on photosynthetic pigment contents and growth of *Chlorella vulgaris*. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology 31: 369-373.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

Chen, Z., Ricigliano, J. R. and Klessig, D. F. (1993) Purification and characterization of a soluble salicylic acid binding protein from tobacco. Soil Science 90: 9533-9537.
Combs, J. R. G. F., Clark, L. C. and Turnbull, B. W. (2001) An analysis of cancer prevention by selenium. Biofactors 14(1–4): 153–159.
Dan, H., Xihong, L. i. and Shuanglian, X. i., Shuxing, T. u, Zhenguo, C. h, Jinping, L. i, Zhijian, X. (2013) Selenium uptake, speciation and stress response of *Nicotina tabacum* L. Envermental and Experimental Botany 95: 6-14.
Dubey, R. S. and Singh, A. K. (1999) Salinity induces accumulation of soluble sugars and alter the activity of sugar metabolizing enzymes in rice plant. Biologia Plantarum 53: 1147-1153.
Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28(3): 350-356.
Dziubinskaa, H., Filekb, M., Krol, E. and Trebacz, K. (2010) Cadmium and selenium modulate slow vacuolar channels in rape *(Brassica napus*) vacuoles. Journal of Plant Physiology 167: 1566–1570.Emese, K., Hillestroma, P. R. and Laursen, K. H., Husted, S., Larsen, E. H. (2009) Effect of foliar application of selenium on its uptake and speciation in carrot. Food Chemistry 115: 1357-1363.
Feng, R. W., and Wei, C. Y. (2012) Antioxidative mechanisms on selenium accumulation in *Pteris vittata* L., a potential Se phytoremediation plant. Plant, Soil and Environment 58: 105–110.
Freeman, J. L., Hong, Z. and Matthew, A. M., Sirine, F., Steve, P. M., Pilon-Smits, E. A. H. (2006) Spatial imaging, speciation, and quantification of selenium in the hyperaccumulator plants *Astragalusbisulcatus* and *Stanleya pinnata*. Plant Physiology 142: 124-134.
Han-Wens, S., Jing, H., Shu-Xuan, L. and Wei-Jun, K. (2010) Protective role of selenium on garlic growth under cadmium stress. Plant Analysis 41: 1195-1204.
Hartikainen, H. and Txue, H. (1999) The promotive effect of selenium on plant grow as triggereed by ultraviolet irradiation. Journal of Environmental Quality 28: 1372-1375.
Hasanuzzaman, M., A., Hossain, M. and Masayuki, F. (2010) Selenium in higher plants physiology role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. Journal of Plant Science 5: 354-375.
Hawrylak, B., Matraszek, R. and Szynanska, M. (2007) Response of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to selenium in nutrient solution contaminated with nickel.Vegetable Crops Research Bulletin 67: 63-70.
Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. 1. Kinetics and stechiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry Biophysics 125: 189-198.
Jackson, P. J., Unkefer, E. and Delhaize, N. J. (1990) Mechanisms of trace metal tolerance in plants. In: Katterman, F. (ed.). Environmental Injury to Plants 231–255.
Jahid, A. M., Kumar. T. P *et al*. (2010) Promotion of growth in mungbean *(Phaseolusaureus Roxb.*) by selenium is associated with stimulation of carbohydrate metabolism. Biological Trace Element Resarch 143(1): 530-539.
John, R., Ahmad, P., Gadgil, K. and Sharma, S. (2009) Heavy metal toxicity: Effect plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. International Journal of Plant Production 3: 65-75.
Kunwar, A. (2011) Freeradicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. Journal of the History Medicine and Allied Sciences 1(2): 53–60.
LaRocca, N., Andreoli, C.,Giacometti, G. M., Rascio, N. and Moro, I. (2009) Responses of the Antarctic microalga *Koliella antartica* (Trebouxiophyceae Chlorophyta) to cadmium contamination. Photosynthetica 47: 471-479.
Lee, C. S., Li, X. and Shi, W. (2006) Metal contamination in urban, suburban, and country park soils of Hong Kong: A study based on GIS and multivariate statistics. Science of the Total Environment 356(1–3): 45–61.
Lyons, G. H., Lewis, J., Lorimer, M. F., Holloway, R. E., Brace, D. M. and Graham, R. D. (2009) Highselenium wheat: agronomic biofortification strategies to improve human nutrition. Food Agricultural Environment 2: 171–8.
Macleod, F., Mcgaw, B. A. and Shand, C. A. (1996) Stable isotope dilution-mass spectrometry for determining total selenium levels in plants, soils and sewage sludges. Talanta 43: 1091–1098.
Madaan, N., and Mudgal, V. (2011) Phytotoxic effect of selenium on the accessions of wheat and safflower. Journal of Environmental Science 5: 82-87
Matysik, J., Alia Bhalu, B. and Mohanty, P. (2002) Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. Current Science 82: 525-532.
Mayland, H. F., James, L. F. and planter, K. E., Sonderreger, J. L. (1989) Selenium in Agricultur and the Environment. Journal of Soil Science 23: 15Mazzafera, P. (1998) Growth and biochemical alternations in coffee due to selenite toxicity. Plant and Soil 201: 189–196.
Navarro, M. and Cabrera, C. (2008) Selenium in food and the human body. Science Direct 400: 115 – 141.
Padmaja, K., Prasad, D. D. K. and Prasad, A. R. K. (1989) Effect of selenium on chlorophyll biosynthesis in mung bean seedlings. Phytochemistry 28: 3321-3324.
Padmaja, K. B. V. and Somasekharaiah, A. R. K. (1995) Inhibition of chlorophyll synthesis by selenium: involvement of lipoxygenase mediated lipid peroxidation and antioxidant enzymes. Photosynthesis 31: 1–7.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

Pennanen, A., Xue, T., Hartikainen, H. and Xue, T. L. (2002) Protective role of selenium in plant subjected to severe UV irradiation stress. Journal of Applied Botany and food Quality 76: 66-76.
Rechinger, K. H. (1970) Flora Iranica. Akademische druck-u.verlagnstalt GrazAustria 157: 573.
Abbas, S. M. (2012) Effects of low temperature and selenium application on growth and the physiological changes in sorghum seedlings. Journal of Stress Physiology & Biochemistry 8: 268-286.
Sandalio, L. M., Dalurzo, M., Gomez, M. C. and Romero Puertaan delRioL, A. (2001) Cadmium–induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. Journal of Experimental Botany 52: 2115–2126.
Schrauzer, G. N. (2000) Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. Journal of Nutrition1 30: 1653-656.
Sinha, A. K. (1972) Colorimetric assay of catalase. Analytical Biochemistry 47: 389-395.
Siriporndulsil, S., Traina, S., Verma, D. P. and Sayre, R. T. (2002) Molecular mechanism of proline mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. Plant Cell 14: 2837-47.
Sors, T. G., Ellis, D. R. and Salt, D.E. (2005) Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. Photosynthesis Research 86 (3): 373–389.
Spadoni, M., Voltaggio, M., Carcea, M., Coni, E., Raggi, A. and Cubadda, F. (2007) Bioaccessible selenium in Italian agricultural soils: comparison of biogeochemical and pedoclimatic variables. Science of Total Environment 376: 160–177
Spallholz, J. and Hoffman, D. (2002) Selenium toxicity: Cause and effect in aquatic birds. Aquat Toxicollogy 57: 27-37.
Srivastava, M., Ma, L. Q., Rathinasabapathi, B. and Srivastata, P. (2009) Effects of selenium on arsenic uptake in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. Bioresource Technology 100: 1115-1121.
Tapiero, H., Townsend, D. and Mand Tew, K. D. (2003) The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. Biomedicine and Pharmacotherapy 57 (3–4): 134–144.
Terry, A. M., Zayed, M. P. and de–Souza, A. S. and Tarun de–Souza, M. P. (2000) Selenium in higher plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 51: 401–432Thompson, J. E., Legge, R. L. and Barber, R. F. (1987) The role of free radicals in senescenceand wounding. New Phytologist 105 (3): 317–344
Wang, Y. D., Wang, X. and Wong, Y. S. (2012) Proteomics analysis reveals multiple regulatory mechanisms in response to selenium in rice. Journal of Proteomics 75: 184–1866.
Ward, O. P and Singh, A. (2004) Soil bioremediation and phytoremediation- An overview. In: Singh, A., Ward, O.P. (Eds). Applied Bioremediation and Phytoremediation 1: 1-11.
Wong, S. C., Li, X. D. and Zhang, G. Q. i. S. H. and Min, Y. S. (2002) Heavy metals in agricultural soils of the Pearl River Delta, South China. Environmental Pollution 119: 33-44Wu, L. and Huang, Z. Z. (1991) Chloride and sulfate salinity effects on selenium accumulation by Tall Fescue. Crop Science Society of American 31: 114-118.
Wu, X., Zhu, L. and Zhu, W. M. (2006) Physiological effects of exogenous nitric oxide in tomato seedlings under NaCl stress. Scientia Agricultur a Sinica 3: 575-581.
Xiong, L. and Zhu, J. K. (2002) Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. Plant Cell and Environment 25: 131-139.
Xue, T., Hhartikainen, H. and Piironen, V. (2000) Association of antioxidative enzymes with synergistic effect of selenium and UV irradiation in enhanceing plant growth. Agricultural and Food Science Finland 9: 177-186.
Xue, T., Hartikainen. H. and Piironen, V. (2001) Antioxidative and grow-promoting effect of selenium in senescing lettuce. Plant Soil 27: 55-61.
Yang, A. J. (1991) The photoprotective role of caratenoids in higher plants. Plant Physiology 83:702-708.
Zhang, F. W., Shi, Z. and Jin, Z. (2003) Response of antioxidative enzymes in cucumber chloroplasts to cadmium toxicity. Journal of Plant Nutrition 26: 1779–1788.
Zhiyong, L. G., Siyuan, L. and Lin, Z. Y., Li, S. Y., Guo, L. (2003) Bio effects of selenium on the growth of *Spiraling platensis* and its biotransformation. Bioresource Technology 89: 171-176.
Zhu, Y. G., Huang, Y. and Hu, Y., Liu, Y., Christie P. (2004) Interaction between selenium and iodine uptake by spinach (*Spinacia oleracea* L.) in solution culture. Plant and Soil 261: 99-105.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.24.1.6] [Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]