

اثر محلول پاشی برگ‌گی با نانو ذره سلنیوم در کاهش صدمات ناشی از تنش سرما در گیاه خیار

مرجان امینی، فاطمه نصیبی*، عفت السادات احمدی موسوی و عادلہ برند

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۸/۲۲)

چکیده

خسارت ناشی از سرما یکی از عوامل مهم کاهش عملکرد گیاهان زراعی و باغی در سطح جهان است. گیاه خیار یکی از محصولات کشاورزی است که در مناطق گرم کشور در فصل پاییز و زمستان کاشت شده و گاهی در معرض تنش سرما ناگهانی قرار می‌گیرد. در چند سال اخیر، کشاورزان ایرانی از آسیب‌های ناشی از سرما در امان نبوده و بخش عمده‌ای از محصولشان را از دست داده‌اند. در تحقیق حاضر اثر محلول پاشی گیاه خیار با نانو ذره سلنیوم به منظور افزایش مقاومت در برابر تنش سرمازدگی مورد مطالعه قرار گرفت. در این پژوهش گیاه خیار در مرحله سه تا چهار برگ‌گی با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر نانو ذره سلنیوم محلول پاشی شدند. نتایج نشان داد در گیاه خیار مقدار کلروفیل تحت تنش سرما کاهش یافت اما فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، مقدار مالون دآلدئید، پراکسید هیدروژن، ترکیبات فنلی، پرولین و کربوهیدرات‌های محلول، به طور چشمگیری افزایش پیدا کردند. استفاده از نانو ذره سلنیوم به صورت محلول پاشی توانست به میزان معنی داری مقدار مالون دآلدئید و پراکسید هیدروژن را کاهش داده و از تخریب کلروفیل ممانعت نماید. همچنین باعث افزایش مقدار پرولین، قندهای محلول، ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاهان تحت تنش سرما در مقایسه با گیاهان تیمار نشده با سلنیوم گردید که نتیجه آن مقاومت بیشتر گیاهان در برابر سرمازدگی بود. این نتایج بیانگر نقش کارا و موثر سلنیوم به عنوان یک عنصر مفید و یک فعال کننده سیستم آنتی اکسیداتیو گیاه در کاهش آسیب‌های سرمازدگی گیاهان است.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها، تنش سرما، قندهای محلول

مقدمه

تجربه می‌کنند که باعث کاهش جوانه زنی بذر، کاهش رشد، عملکرد و بقاء گیاهان و تراکم جغرافیایی آنها می‌شود. کاهش عملکرد ناشی از سرمازدگی محصولات زراعی و باغی، ضررهای اقتصادی زیادی را در برداشته است (Levitt, 1980). تنش سرمازدگی فرایندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهد (Chinnusamy et al., 2010). یکی از پاسخ‌های ثانویه به تنش سرمازدگی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند اکسیژن یکتایی، پراکسید

گیاهان رشد کرده در اقلیم‌های مختلف روی زمین دائماً در معرض تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند کم‌آبی، غرقابی، نوسان دما، شوری، کمبود مواد معدنی و سمیت آنها قرار دارند (Anderson et al., 2020). از نظر هواشناسی هوای سرد به صورت کاهش دما همراه با نور ضعیف آفتاب و باد سرد مرطوب در نظر گرفته می‌شود. هنگامی که دمای هوا بین صفر تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد، گیاهان تنش سرما را

هیدروژن، آنیون سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال پراکسیل است که در گیاهان ایجاد تنش اکسیداتیو می‌کنند (Hossain et al., 2012). بنابراین، تحمل گیاه به تنش سرما با افزایش ظرفیت پاکسازی و سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن ارتباط نزدیکی دارد. علاوه بر این، گیاهان تلاش می‌کنند تا با افزایش سنتز اسمولیت‌هایی مانند پرولین، گلیسین-بتائین، پروتئین و قندهای محلول تأثیرات مضر تنش سرما را خنثی کنند (Jan et al., 2018). گزارش شده است که تجمع برخی از این اسمولیت‌ها مانند قندها، پرولین و γ -آمینوبوتیریک اسید با حفظ فشار اسمزی نقش مهمی در حفظ پروتئین‌ها و غشاها از آسیب انجماد دارند (Kaplan et al., 2007).

خیار (*Cucumis sativas* L.) گیاه علفی است که در مناطق گرمسیر کشور در فصل پاییز کشت می‌شود و چون در مقابل سرما حساس است، یکی از عمده‌ترین مشکلات این گیاه در این مناطق، کاهش شدید و ناگهانی دما و آسیب سرمازدگی به آن است تا جایی که در برخی سال‌ها عمده محصول این مناطق بر اثر سرمازدگی از بین رفته است (Saydpour et al., 2015). لذا بررسی مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مربوط به افزایش تحمل به سرما در این گونه گیاهی، دارای اهمیت ویژه است.

سلنیوم (Se) دارای خواص فیزیکی و شیمیایی متوسط بین فلز و غیرفلز است و به عنوان یک عنصر مفید برای زندگی سالم طبیعی گیاهان، حیوانات، انسان و میکروارگانیسم‌های خاص در نظر گرفته می‌شود (Masuda, 2012; Zhou et al., 2020). اگر چه اهمیت سلنیوم در گیاهان به‌طور کامل مشخص نشده است اما بسیاری از مطالعات اثرات مفید آن را در گیاهان مختلف گزارش کرده‌اند. اثرات این عنصر در گیاهان مختلف متفاوت بوده اما به رشد و نمو کلی گیاه در شرایط تنش و بدون تنش کمک می‌کند. سلنیوم در حفظ ساختارهای سلولی و عملکرد آنها مؤثر بوده، همچنین موجب بهبود عملکرد فتوسنتز و رشد و نمو گیاه می‌شود. بررسی‌ها نشان دادند که سلنیوم در غلظت‌های بالا برای گیاهان سمی بوده و با تولید بیش از حد ROS در گیاه، مهار بیوسنتز کلروفیل، و سرکوب

فرآیندهای رشد و نمو باعث خسارت به گیاه می‌شود و نوعی تنش محسوب می‌گردد (Hasanuzzaman et al., 2010). اما اثرات سودمند غلظت‌های پایین سلنیوم در بهبود فتوسنتز، فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی، کاهش گونه‌های فعال اکسیژن و فعال‌سازی مکانیسم‌های کاهش‌دهنده تنش‌های اکسیداتیو نیز در پژوهش‌های متفاوتی گزارش شده است (Hasanuzzaman and Fujita, 2011; Mroczek-Zdyrska et al., 2017). بهینه سلنیوم به گونه گیاهی، مرحله رشد، بستر رشد، روش کاربرد و نوع آن بستگی دارد (Hasanuzzaman et al., 2020). به عنوان مثال، کمترین غلظت سلنیوم که باعث کاهش بیوماس خیار شد، ۲۰ میکرومولار برای SeO_3^{2-} و ۸۰ میکرومولار برای SeO_4^{2-} بود ولی آستانه سمیت در کاهو برای SeO_3^{2-} و SeO_4^{2-} به ترتیب ۱۵ و ۲۰ میکرومولار بود (Hawrylak-Nowak, 2013). علاوه بر این، Mroczek-Zdyrska و Wojcik (2012) اثر دوگانه SeO_3^{2-} را بر روی ریشه‌های لوبیا تحت تنش سرب نشان دادند. در غلظت کم (۱/۵ میکرومولار)، سلنیوم سمیت سرب را کاهش داد درحالی‌که در غلظت بالاتر (۶ میکرومولار)، به عنوان یک پرواکسیدانت عمل کرده و آسیب‌های تنش اکسیداتیو را در ریشه‌های تیمار شده با سرب افزایش داد (Mroczek-Zdyrska and Wojcik, 2012). تنظیم سطوح ROS توسط سلنیوم، یک مکانیسم کلیدی آن برای جلوگیری از تنش در گیاهان گزارش شده است. سلنیوم می‌تواند سطوح گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را در گیاهان تحت تنش، از طریق سه مسیر تنظیم کند: ۱) با تحریک تغییر شکل خود به خودی O_2^{2-} به H_2O_2 ، ۲) با واکنش مستقیم بین ترکیبات حاوی سلنیوم با ROS و ۳) با تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش ROS اضافی در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی قرار داشته‌اند. سلنیوم عمدتاً در چهار حالت مختلف اکسیداسیون وجود دارد: سلنید (SeO^{2-})، سلنیوم (Se^0)، سلنیت (SeO_3^{2-}) و سلنات (SeO_4^{2-}). نانوذره سلنیوم (Se NPs)، شکل اصلی سلنیوم عنصری است که سمیت سلولی کمتری نسبت به سایر فرم‌ها نشان می‌دهد و دارای

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی منحصر به فردی است و درجه بالایی از ایمنی زیستی را دارا است (Djanaguiraman *et al.*, 2018; Morales-Espinoza, 2019). نانوذرات سلنیوم به دلیل واکنش پذیری بالا، سطح ویژه وسیع و قابلیت جذب بالا، سمیت کمتری نسبت به سایر اشکال سلنیوم دارند (Deng *et al.*, 2011; Poldma *et al.*, 2019). گزارش شده است که نانوذرات سلنیوم همچنین تنش‌های غیرزیستی مختلف ناشی از فلزات، خشکی و دما را کاهش داده اند (Ikram *et al.*, 2020; Zahedi *et al.*, 2019).

امروزه با استفاده از فناوری نانو و از طریق استفاده از نانوکودها، علف‌کش‌های کارآمد، آفت‌کش‌ها و ... به طور بالقوه بهره‌وری کشاورزی افزایش یافته است. با توجه به خسارت سرمازدگی در مناطق جنوب کشور در فصل پاییز، هدف از پژوهش حاضر بررسی امکان استفاده از نانو ذره سلنیوم به صورت کاربرد برگی به عنوان یک عنصر مفید و بدون عوارض جانبی در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از سرمازدگی در گیاه خیار بوده است.

مواد و روش‌ها

کاشت گیاه و اعمال تیمارها: بذره‌های خیار در این پژوهش از شرکت پاکان بذر تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. بذره‌های ضد عفونی شده در گلدان‌های به قطر دهانه ۱۲ و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر کاشته و در شهریورماه در محیط گلخانه دانشگاه شهید باهنر کرمان قرار داده شدند (دمای روز گلخانه حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دمای شب حدود ۱۴ درجه سانتی‌گراد بود. رطوبت گلخانه نیز حدود ۴۰ درصد کنترل گردید). ترکیب خاک شامل مخلوط ماسه بادی الک‌شده: پیت‌ماس (به نسبت ۱:۲) بود. با توجه به نیاز آبی گیاه خیار، برای جلوگیری از خشک شدن خاک گلدان‌ها، آبیاری روزانه انجام شد و هر دو هفته‌ای یک بار در جهت برآورده کردن عناصر غذایی، محلول غذایی هوگلند به مقدار یکسان به گلدان‌ها داده شد. اندام هوایی گیاهچه‌های خیار بعد از وارد شدن به مرحله سه تا چهار برگی در طی یک هفته به فاصله یک روز در میان، توسط

محلول‌های ۰/۲، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سلنیوم در اوایل صبح محلول پاشی شدند (نانو ذره سلنیوم به صورت محلول پایه با خلوص ۹۹/۹ درصد، به رنگ آجری، با مرفولوژی تقریباً کروی و دانسیته حدود 3 g/cm^3 از شرکت پیشگامان نانو مواد مشهد خریداری شده و مشخصات آن در تصویر ۱ نیز آورده شده است). در این مرحله گیاهان گروه کنترل با آب مقطر اسپری شدند. در پژوهش حاضر برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. یک روز بعد از اعمال آخرین تیمار محلول پاشی سلنیوم و آب مقطر، گلدان‌های هر تیمار به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول جهت تیمار سرما، طی دو روز متوالی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سردخانه قرار گرفتند و سپس به گلخانه برگشت داده شدند. گروه دوم به عنوان کنترل در گلخانه باقی ماندند و تنش سرما دریافت نکردند. بعد از ۲۴ ساعت از برگشت گلدان‌ها به محیط گلخانه، برگ ردیف سوم نمونه‌ها (شمارش از پایین) برداشت و بلافاصله در ازت مایع فریز و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت اندازه‌گیری‌های بعدی نگهداری شدند.

صفات مورد اندازه گیری، ارتفاع اندام هوایی: طول ساقه

با استفاده از خط‌کش با دقت ۰/۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری گردید. **رنگی‌های فتوسنتزی:** برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد و پس از صاف کردن، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. غلظت رنگی‌های گیاهی با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید.

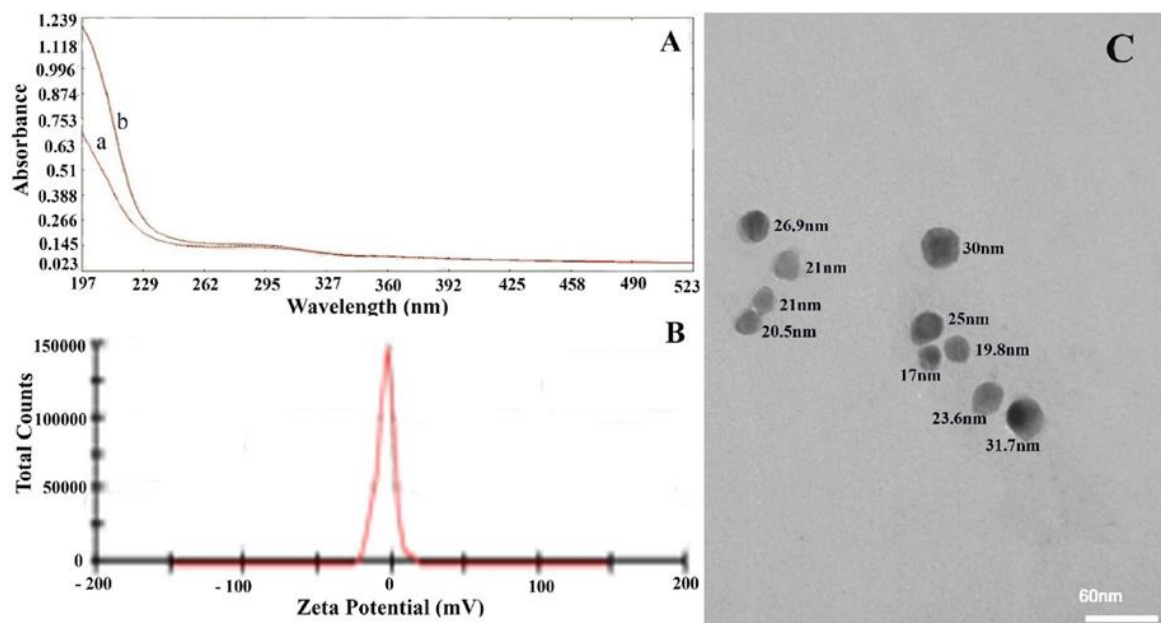
$$\text{Chl}_a \text{ (mg/ml)} = (12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8})$$

$$\text{Chl}_b \text{ (mg/ml)} = (21.21A_{646.8} - 5.1 A_{663.2})$$

$$\text{Chl}_T \text{ (mg/ml)} = \text{Chl}_a + \text{Chl}_b$$

پراکسیداسیون لیپیدها: اندازه‌گیری مقدار مالون دال‌دئید

(MDA) به روش Packer و Heath (۱۹۶۹) انجام شد. سنجش مقدار سایر آلدئیدها نیز با روش Meir و همکاران (۱۹۹۲)



تصویر ۱- خصوصیات شیمیایی نانوذره سلنیوم. (A) طیف UV-VIS نانوذره در غلظت‌های ۱۰ (a) و ۲۰ (b) میلی‌گرم بر لیتر. (B) طیف Zeta potential (C) تصویر میکروسکوپ الکترونی TEM

گردید و سپس الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل در ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه در یک لوله آزمایش ریخته شد و ۵ میلی‌لیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن به مدت ۱۷ دقیقه در بن ماری ۹۰°C قرار گرفت و پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در ۶۲۵ نانومتر خوانده شد.

پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین از روش Bates (۱۹۷۳) استفاده شد. ۰/۲ گرم بافت گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر محلول سه درصد سولفوسالسیلیک اسید سائیده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۴۰۰۰ xg سانتریفوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط شد و یک ساعت در دمای ۱۰۰°C در حمام آب‌گرم قرار گرفت و بلافاصله لوله‌های محتوی مخلوط در حمام یخ سرد گردید. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و لوله‌ها به خوبی تکان داده شدند. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه دو لایه مجزا تشکیل، مقدار جذب لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود در ۵۲۰ نانومتر تعیین شد. برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده و نتایج برحسب میکرومول بر گرم

انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت گیاه با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۴۰۰۰ xg سانتریفوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی ۴ میلی‌لیتر محلول TCA ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب‌گرم حرارت داده شده سپس بلافاصله در یخ، سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ xg سانتریفوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۵۳۲ و ۴۵۵ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی و مزاحم در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید.

$$\text{MDA (میلی‌مول بر لیتر غلظت)} = (A_{532} - A_{600}) / 155$$

$$\text{سایر آلدئیدها (میلی‌مول بر لیتر)} = (A_{455} - A_{600}) / (0.457 \times 10^5)$$

قندهای محلول: محتوی قند نمونه‌ها با استفاده از معرف

آنترون و بر اساس روش Roe (۱۹۵۵) تعیین گردید. ۰/۱ گرم بافت تر برگ در ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در دمای ۹۵°C به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفت و کربوهیدرات‌های محلول استخراج شدند. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف

وزن تر محاسبه گردید.

ترکیبات فنلی: محتوی ترکیبات فنلی با استفاده از روش Gao و همکاران (۲۰۰۰) انجام گرفت. ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی در ۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد سائیده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در $400 \times g$ سانتریفیوژ شدند و از محلول رویی برای سنجش فنل استفاده گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۰/۲ میلی لیتر معرف فولین و ۲ میلی لیتر آب مخلوط گردید و پس از گذشت سه دقیقه ۱ میلی لیتر کربنات سدیم ۱۵ درصد به آن اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت دو ساعت در تاریکی نگهداری شد و سپس جذب هر نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت ترکیبات فنلی برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

آنزیم کاتالاز (EC 1.11.1.6): سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با $pH=7$ و پراکسید هیدروژن ۱۵ mM بود. با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط ذکر شده، واکنش آنزیمی تجزیه آب اکسیژنه شروع می گردد. میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش پس از یک دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی ($\epsilon = 40 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) و فرمول $A = \epsilon bc$ محاسبه شد که نشان دهنده میزان فعالیت آنزیم کاتالاز است.

آنزیم گایاکل پراکسیداز (EC 1.11.1.7): سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکل و اندازه گیری میزان جذب تراگایاکل تشکیل شده از گایاکل در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در ۴۷۰ نانومتر انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل ۲/۷۷ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با $pH=7$ ، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن یک درصد و ۱۰۰ میکرولیتر گایاکل چهار درصد است. واکنش با افزودن ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش در ۲۵ درجه سانتی گراد آغاز شد. با استفاده از ضریب خاموشی تراگایاکل ($\epsilon = 25/5 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) و فرمول $A = \epsilon bc$ ، مقدار تراگایاکول تشکیل شده محاسبه شد (Plewa et al., 1991).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز: ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش

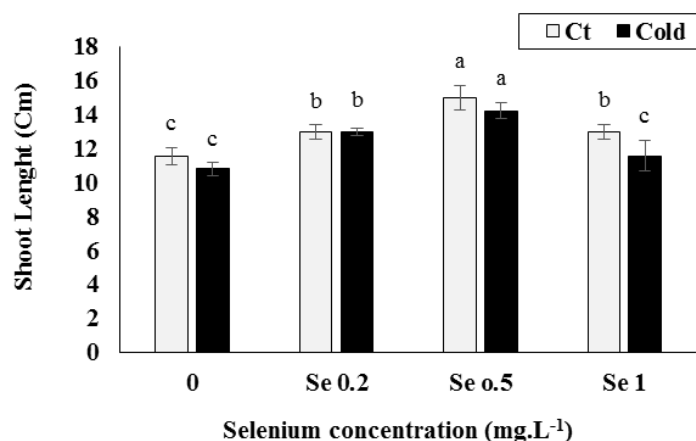
حاوی ۲۶۸۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی لیتر مولار، آسکوربات ۰/۵ میلی مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۳۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار بود. فعالیت آسکوربات پراکسیداز بر اساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب، در طول موج ۲۹۰ نانومتر در بازه سه دقیقه ای اندازه گیری شد (Nakano and Asada, 1981).

تجزیه و تحلیل های آماری در این مطالعه به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار صورت گرفت. تجزیه و تحلیل های آماری داده های با استفاده از نرم افزار SPSS و اختلاف میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شدند. شکل های مربوطه نیز با نرم افزار اکسل ۲۰۰۷ رسم شد.

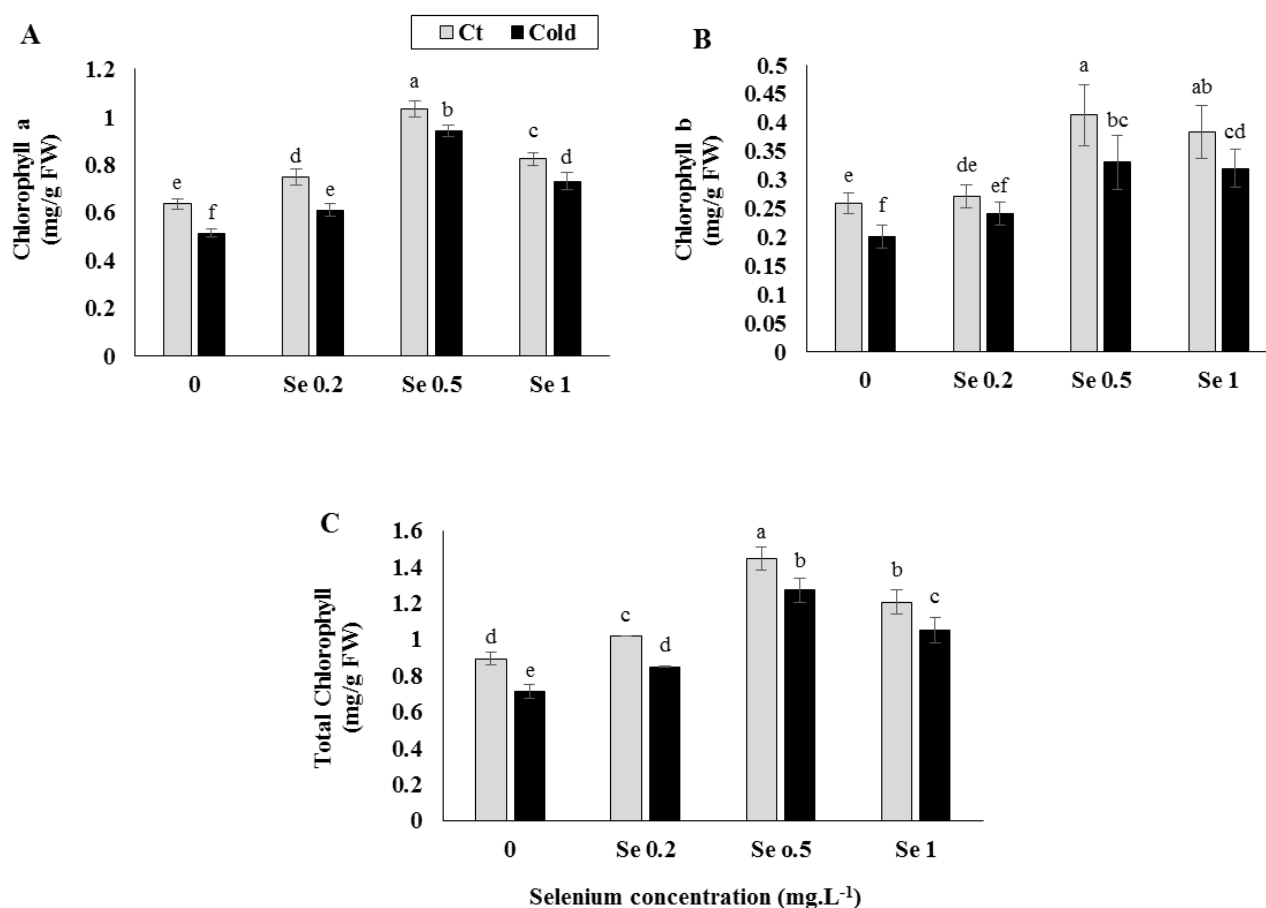
نتایج

طول ساقه گیاهان: داده های حاصل از اندازه گیری طول ساقه نشان داد که تنش سرما اثر معنی داری بر رشد قسمت هوایی گیاه خیار نداشت اما محلول پاشی گیاهان با سلنیوم رشد گیاه را هم در شرایط کنترل و هم تنش سرما افزایش داد و در بین غلظت های مختلف سلنیوم اثر غلظت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بیشتر از سایر غلظت ها بود (شکل ۱). در شرایط تنش سرما، محلول پاشی گیاه با غلظت یک میلی گرم بر لیتر سلنیوم اثر معنی داری بر رشد ساقه در مقایسه با گیاهان پیش تیمار نشده با سلنیوم نداشت.

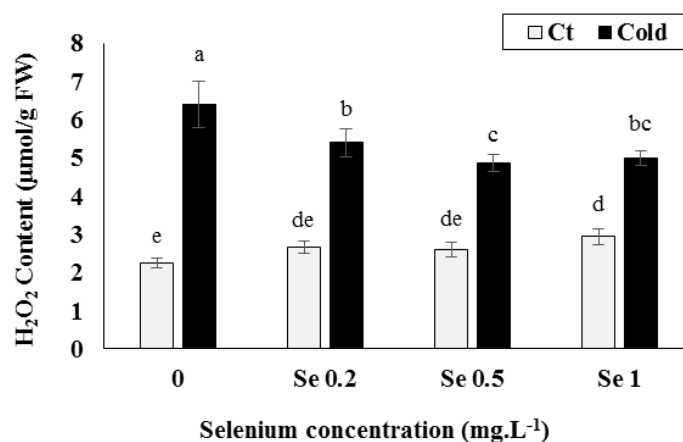
سنجش محتوای کلروفیل: کلروفیل a و b و کلروفیل کل تحت تنش سرما کاهش معنی داری نشان دادند. محلول پاشی گیاهان با سلنیوم در تمام غلظت های به کار رفته محتوی کلروفیل های گیاهان را در هر دو شرایط کنترل و تنش سرما افزایش داد (شکل ۲). در بین غلظت های سلنیوم بکار رفته غلظت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر مؤثر تر از بقیه بوده و مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل را در شرایط تنش سرما به ترتیب به میزان ۸۴٪، ۶۵٪ و ۷۸٪ نسبت به گیاهان پیش تیمار نشده افزایش داده است.



شکل ۱- اثر پیش تیمار گیاه خیار با نانوذره سلنیوم بر طول اندام هوایی، تحت شرایط کنترل و تنش سرما. داده‌ها میانگین سه تکرار $\pm$ SE است و با آزمون دانکن مقایسه شده‌اند. $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن و میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.



شکل ۲- اثر پیش تیمار گیاه خیار با نانوذره سلنیوم بر محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B) و کلروفیل کل (C) تحت شرایط کنترل و تنش سرما. داده‌ها میانگین سه تکرار $\pm$ SE است و با آزمون دانکن مقایسه شده‌اند. $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن و میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.



شکل ۳- اثر پیش‌تیمار گیاه خیار با نانوذره سلنیوم بر محتوی پراکسید هیدروژن تحت شرایط کنترل و تنش سرما. داده‌ها میانگین سه تکرار $\pm$ SE است و با آزمون دانکن مقایسه شده‌اند. $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن و میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

محلول‌پاشی گیاهان با نانوذره سلنیوم مقدار قندهای محلول را هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان تحت تنش سرما افزایش داد. محلول‌پاشی با نانوذره سلنیوم به میزان ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر تا ۷۳ درصد مقدار قندهای محلول را در گیاهان شاهد افزایش داد. در شرایط تنش سرما نیز محلول‌پاشی با نانوذره سلنیوم ۰/۲، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب باعث افزایش ۳۰، ۷۳ و ۶۱ درصدی قندهای محلول در مقایسه با گیاهان پیش‌تیمار نشده گردید (شکل ۵).

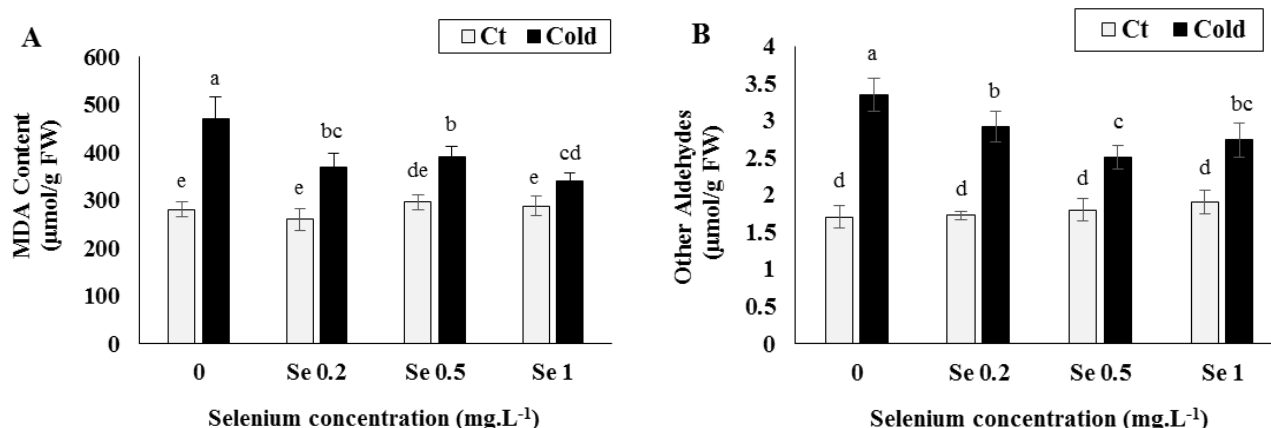
اندازه‌گیری مقدار پرولین نیز نشان داد که تنش سرما باعث افزایش حدود ۴۸ درصدی پرولین در گیاه خیار شده است. در گیاهان شاهد، محلول‌پاشی با نانوذره سلنیوم ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر اثر معنی‌داری بر مقدار پرولین نسبت به گیاهان پیش‌تیمار نشده، نداشت اما محلول‌پاشی با نانوذره سلنیوم ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر مقدار پرولین را به میزان معنی‌داری افزایش داد. در گیاهان تحت تنش سرما، محلول‌پاشی گیاه با نانوذره سلنیوم ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر مقدار پرولین را کاهش داد اما پیش‌تیمار با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر اثر معنی‌داری بر مقدار پرولین گیاه تحت تنش سرما در مقایسه با گیاهان پیش‌تیمار نشده، نداشت (شکل ۵).

مقدار فنل‌های کل: داده‌های حاصل از سنجش مقدار فنل‌های کل نشان داد که مقدار این ترکیبات تحت تنش سرما

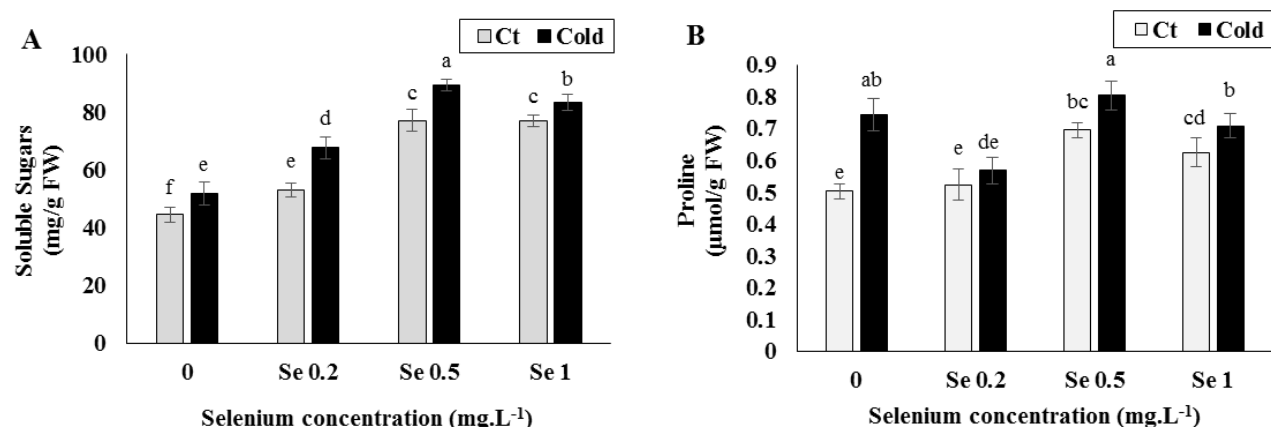
اندازه‌گیری مقدار پراکسید هیدروژن: در پژوهش حاضر تنش سرما باعث افزایش تقریباً سه برابری در مقدار پراکسید هیدروژن در برگ‌های گیاه خیار گردید. محلول‌پاشی گیاهان با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم به ترتیب باعث کاهش ۱۶، ۲۵ و ۲۲ درصدی پراکسید هیدروژن در گیاهان تحت تنش سرما در مقایسه با گیاهان پیش‌تیمار نشده با سلنیوم شد. (شکل ۳).

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی: اندازه‌گیری مالون دآلدئید (MDA) و سایر آلدئیدها به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها و تنش اکسیداتیو نشان داد که تنش اکسیداتیو ناشی از سرما خسارت زیادی به غشا وارد کرده است. مقدار مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها در گیاهان تحت تنش سرما به ترتیب به میزان ۶۷ و ۹۶ درصد افزایش داشته است. اما محلول‌پاشی گیاهان با نانوذره سلنیوم باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا تحت تنش سرما گردید و کمترین تأثیر مربوط به غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم بود (شکل ۴). کاربرد سلنیوم در شرایط کنترل تأثیر معنی‌داری بر پرکسیداسیون لیپیدهای غشایی نداشت.

مقدار قندهای محلول و پرولین: اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول در این پژوهش نشان داد که تنش سرما باعث افزایش ۱۶ درصدی قندهای محلول گردیده است.



شکل ۴- اثر پیش تیمار گیاه خیار با نانوذره سلنیوم بر پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، MDA (A) و سایر آلدئیدها (B) تحت شرایط کنترل و تنش سرما. داده‌ها میانگین سه تکرار $\pm$ SE است و با آزمون دانکن مقایسه شده‌اند. $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن و میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.



شکل ۵- اثر پیش تیمار گیاه خیار با نانوذره سلنیوم بر محتوی قندهای محلول (A) و پرولین (B) تحت شرایط کنترل و تنش سرما. داده‌ها میانگین سه تکرار $\pm$ SE است و با آزمون دانکن مقایسه شده‌اند. $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن و میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

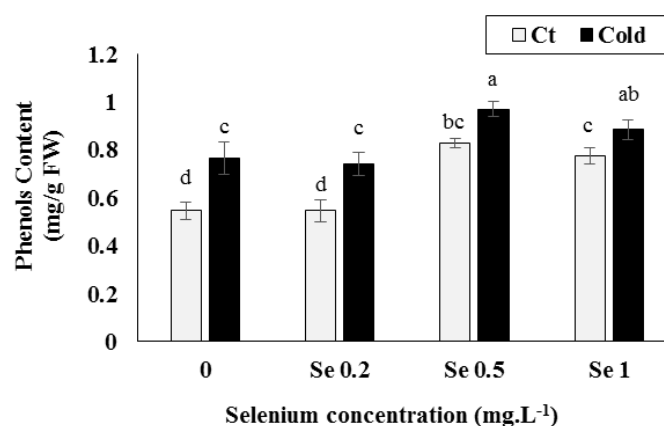
نانوذره سلنیوم در تمام غلظت‌ها، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان تحت تنش سرما افزایش داد اما بیشترین تأثیر در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد (شکل ۷).

بحث

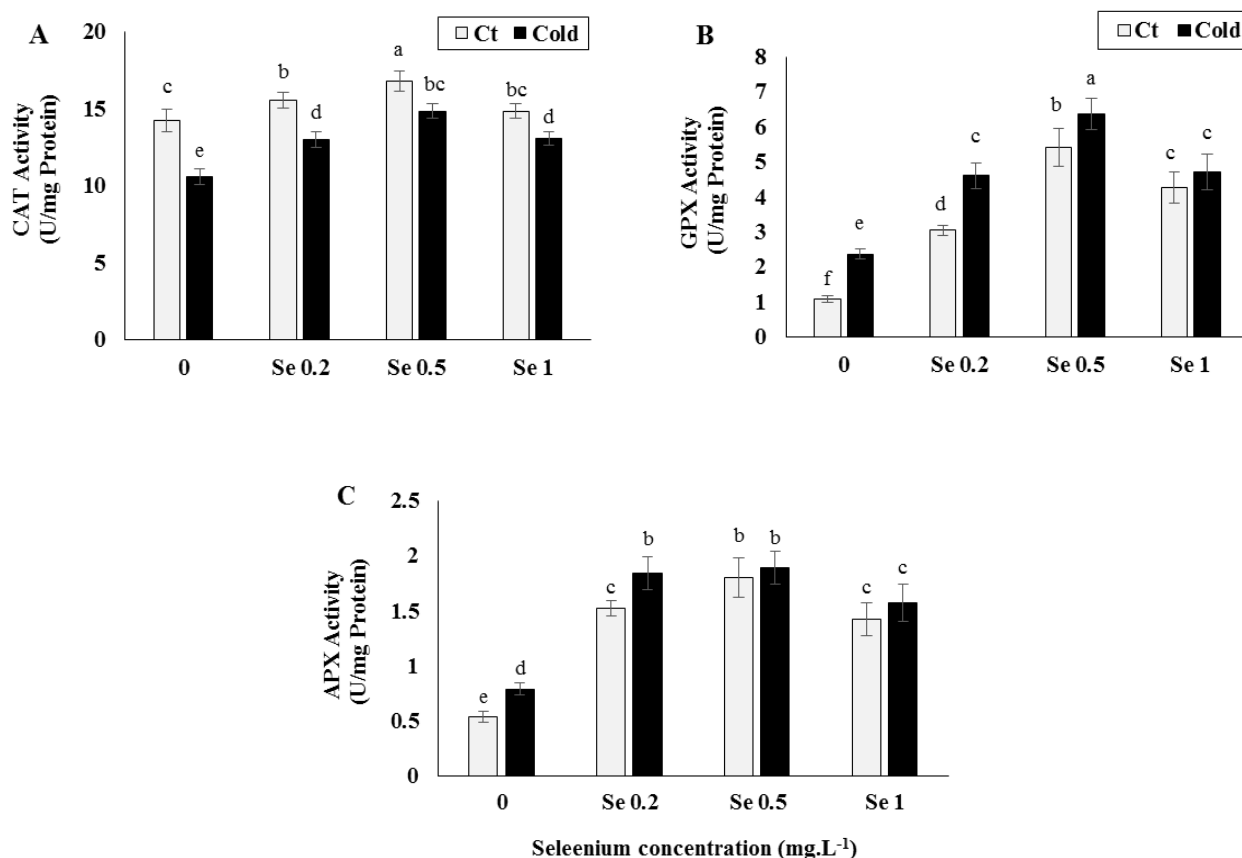
دمای نقاط مختلف سطح زمین بسیار متفاوت بوده و در طی فصل‌های مختلف و همچنین شب و روز تغییر می‌کند. دمای پایین (سرما) به عنوان یک تنش غیرزیستی بر فرآیندهای

افزایش معنی‌داری نسبت به گیاهان کنترل داشت. محلول‌پاشی گیاهان با نانو ذره سلنیوم در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر مقدار فنل‌ها را در هم در گیاهان شاهد و هم گیاهان تحت تنش سرما افزایش داد هر چند غلظت ۰/۲ سلنیوم نقش معنی‌داری در افزایش فنل‌ها نداشت (شکل ۶).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: سنجش فعالیت آنزیم‌های CAT، APX و GPX نشان داد که در گیاهان تحت تنش سرمادگی فعالیت آنزیم‌های APX و GPX افزایش یافتند در حالی‌که فعالیت آنزیم CAT کاهش یافت. تیمار گیاهان با



شکل ۶- اثر پیش تیمار گیاه خیار با نانوذره سلینیوم بر محتوی فنل کل تحت شرایط کنترل و تنش سرما. داده‌ها میانگین سه تکرار $\pm$ SE است و با آزمون دانکن مقایسه شده‌اند. $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن و میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.



شکل ۷- اثر پیش تیمار گیاه خیار با نانوذره سلینیوم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (A) CAT، (B) APX و (C) GPX تحت شرایط کنترل و تنش سرما. داده‌ها میانگین سه تکرار $\pm$ SE است و با آزمون دانکن مقایسه شده‌اند. $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن و میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، جوانه‌زنی، رشد و نمو گیاهان و بهره‌وری محصول تأثیر می‌گذارد (Yan et al., 2010). در این

تحقیق مشاهده شد که نانوذره سلنیوم موجب افزایش معنی‌دار طول اندام هوایی گیاه خیار در هر دو شرایط کنترل و تنش سرما گردید (شکل ۱). اثرات مثبت کاربرد غلظت‌های پایین سلنیوم بر رشد و عملکرد گیاه توسط چندین محقق گزارش شده است (Terry et al., 2000; Chu et al., 2010; Yao et al., 2009). مطالعات نشان دادند که در غلظت‌های پایین، سلنیوم با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان، تأثیر مثبتی بر رشد و تحمل گیاهان تحت تنش دارد، در نتیجه عملکرد گیاه را نیز بهبود می‌بخشد (Kong and Wang, 2005). سلنیوم با کاهش اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و حفظ غشاء، موجب بهبود فتوسنتز نیز می‌شود. علاوه بر این سلنیوم می‌تواند جذب و تجمع مواد معدنی را که برای متابولیسم گیاه مهم هستند تغییر دهد (Chu et al., 2010). به نظر می‌رسد همه این اثرات در نهایت باعث رشد بهتر گیاه در شرایط تنش می‌شوند. تغییر محتوی کلروفیل برگ، شاخص مهمی برای نشان دادن میزان تحمل گیاه در برابر سرما در نظر گرفته می‌شود (Mishra et al., 2011). در این پژوهش، کاهش مقدار کلروفیل گیاهان تحت تنش، نشان‌دهنده حساسیت گیاه خیار به شرایط دمای پایین است. روند تغییر مقدار کلروفیل‌های گزارش شده در گیاه برنج نیز با نتایج حاصل از این مطالعه در پاسخ به تنش سرما تطابق دارد و در آن پژوهش بیان شده که کاهش بیوسنتز کلروفیل تا حدی به دلیل مهار بیوسنتز ۵-آمینولولنیک اسید است (Boese and Huner, 1990). همچنین چندین مطالعه نشان داده که تنش سرما با کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی و سطح جذب نور، سطح انرژی لازم برای تحریک فتوسیستم‌ها (Ps) را کاهش می‌دهد و فتوسنتز را مهار می‌کند (Demmig-Adams and Adams, 2006). در این تحقیق نقش مثبت سلنیوم در افزایش محتوی کلروفیل‌ها در گیاهان تحت تنش سرما، چشمگیر بود و احتمالاً یکی از دلایل افزایش رشد گیاه در این شرایط است. سلنیوم ممکن است در سنتز پیش‌سازهای کلروفیل به شکل اسیدآمینو (Se-آمینو) شرکت داشته و سنتز کلروفیل را افزایش دهد (Feng et al., 2013). در گیاهچه‌های توت‌فرنگی، تیمار سلنیوم موجب کاهش تخریب کلروفیل‌های

برگ شد که به علت حفظ دستگاه فتوسنتزی و سیستم غشایی سلول‌ها در برابر سرما بوده است (Gao et al., 2016). یکی از اثرات تنش‌های زیستی و غیرزیستی، افزایش و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و ایجاد تنش اکسیداتیو است. پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به عنوان یک اکسیدان قوی باعث آسیب غشاء سلول شده و بر عملکردهای متابولیک سلول تأثیر می‌گذارد. ROSهای دیگر نیز تجمع می‌یابند و اثرات مستقیم و یا غیرمستقیم بر سلول دارند، از جمله پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را ایجاد کرده که با افزایش مالون دآلدئید همراه است (Huang et al., 2018). در این تحقیق مشاهده شده که محتوی پراکسید هیدروژن، مقدار مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها به عنوان شاخص تنش اکسیداتیو در گیاه خیار تحت تنش سرما به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرده است (شکل ۳ و ۴). در این مطالعه کاربرد برگی نانو ذره سلنیوم باعث کاهش محتوی MDA و H_2O_2 و همچنین آسیب‌های غشایی سلول‌ها شد که احتمالاً به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی آن است (Gouveia et al., 2020).

از دست رفتن آب و پژمردگی سلول از مهمترین اثرات تنش سرما در گیاهان است به همین دلیل هنگامی که گیاهان در معرض شرایط تنش‌زا قرار می‌گیرند، مجموعه‌ای از متابولیت‌های اسمز را تجمع می‌دهند تا بتوانند فشار اسمزی خود را حفظ نمایند. قندهای محلول و پرولین از ترکیبات اصلی تنظیم اسمز در برگ‌ها هستند (Li et al., 2011). قندها و پرولین با حفظ تورگر سلولی، تثبیت غشای سلولی و تعادل اسمزی، تحمل گیاه را در برابر عوامل تنش‌زا افزایش داده و در نتیجه از نشت الکترولیت‌ها جلوگیری می‌کنند (Munns, 2005). علاوه بر این، ترکیبات نامبرده در برخی مواقع خاصیت آنتی‌اکسیدان نشان می‌دهند و می‌توانند در ترکیب با آب، اطراف ماکرومولکول‌ها را پوشانده و به عنوان رباپنده گونه فعال اکسیژن عمل کرده و آن‌ها را از آسیب رادیکال‌های آزاد اکسیژن حفظ و باعث تثبیت غشاء شوند و غلظت گونه‌های فعال اکسیژن را در محدوده نرمال قرار می‌دهند (Slewiniski and Braun, 2010). افزایش میزان قند و پرولین نیز در این

مطالعه می‌تواند به همین دلیل باشد. گزارش شده که در جو و تربچه نیز پرولین تحت تنش سرما به سرعت تجمع می‌یابد (Chu et al., 1974). گزارش شده است که تنش سرما تجمع کربوهیدرات و گلوکز^۲ به رقم استویا را نیز افزایش داده است (Adams et al., 2014). به طور مشابه افزایش قابل توجهی در مقدار قند بافت آبکش رگبرگ‌های گیاهان *Athaliana* و *Spinacia oleracea* در پاسخ به تنش سرما نیز گزارش شده است (Domon et al., 2013). در این تحقیق محلول پاشی گیاهان خیار با نانوذره سلنیوم موجب افزایش معنی‌دار مقدار قندها در گیاهان تحت تنش سرما شد اما اثر معنی‌داری بر مقدار پرولین گیاهان تحت تنش سرما نداشت. ترکیبات فنلی گروه بزرگی از ترکیبات ثانویه هستند که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات ناشی از ویژگی‌های احیاءکنندگی آن‌ها می‌باشد که نقش مهمی در جذب سطحی و خشی کردن رادیکال‌های آزاد، خاموش کردن اکسیژن یکتایی و تجزیه پراکسیدها دارد (Zheng and Wang, 2001). بیان شده که تنش سرما باعث القاء تولید فنل‌های محلول می‌شود. در این پژوهش نیز مشاهده شد تحت تنش سرما مقدار فنل‌ها گیاهان خیار افزایش یافت که در گیاهان محلول پاشی شده با نانوذره سلنیوم (غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌گرم در لیتر) افزایش مقدار فنل بیشتر بود.

برای کاهش یا جلوگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش، گیاهان مکانیسم‌هایی را برای از بین بردن گونه‌های سمی و فعال اکسیژن از طریق آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز دارند (Zhang et al., 2019). نقش مستقیم یا غیرمستقیم سلنیوم در کاهش صدمات ناشی از تنش اکسیداتیو در برخی مطالعات گزارش شده است. گزارش‌هایی از اثرات سلنیوم در گیاهان تحت تنش‌های مختلف، بر فعالیت آنزیم کاتالاز وجود دارد (Dubravina et al., 2005). به‌طور مثال بیان شده که محلول پاشی سلنیوم به‌طور معنی‌داری باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌های سورگوم تحت تنش سرما شد (Zhou et al., 2005). در این پژوهش نیز مشاهده شد که

کاربرد نانوذره سلنیوم با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵ و یک میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان خیار تحت تنش سرما شد. همچنین گزارش شده که پس از کاربرد سلنیوم در برگ‌های گیاه توت‌فرنگی، فعالیت آنزیم کاتالاز در طی تنش سرما افزایش یافته است که احتمالاً به دلیل تبدیل سیستئین به سلنوسیستئین و جایگزینی گوگرد توسط سلنیوم است، که با نقش سلنیوم در وارد کردن سلنوسیستئین به محل‌های فعال آنزیم مطابقت داشته و در نتیجه فعالیت آنزیم افزایش می‌یابد (Han et al., 2013).

به علاوه در این پژوهش مشاهده شد که میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در طی تنش سرما افزایش می‌یابد (شکل ۷). در گیاه توت‌فرنگی نیز مشاهده شده که سطح فعالیت آسکوربات پراکسیداز در طی پنج تا شش ساعت بعد از تیمار سرما افزایش می‌یابد. همچنین در این مطالعه کاربرد سلنیوم به طور قابل توجهی سطوح فعالیت آسکوربات پراکسیداز را در مقایسه با گیاهان پیش‌تیمار نشده، افزایش داد. آسکوربات پراکسیداز از آسکوربات به عنوان یک دهنده الکترون برای احیاء H_2O_2 به آب استفاده می‌کند. سپس گلوکاتایون احیاء با عمل گلوکاتایون ردوکتاز و با استفاده از NADPH از GSSG بازسازی می‌شود که کاربرد سلنیوم این عملکرد را بیشتر تشویق می‌کند (Luo et al., 2007). در این مطالعه مشاهده شد که سلنیوم نقش مؤثری در فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی گیاه خیار تحت تنش سرمازدگی داشته است و به همین دلیل میزان خسارت در گیاهان محلول پاشی شده با نانو ذره سلنیوم کمتر بوده است.

نتیجه‌گیری

نتیجه این پژوهش نشان داد که محلول پاشی برگی نانوذره سلنیوم هم از طریق بهبود وضعیت فتوسنتز (به دلیل حفظ رنگیزه‌های فتوسنتزی و غشاهای زیستی) و هم افزایش اسمولیت‌ها و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه خسارات ناشی از سرمازدگی در خیار را کاهش داده است لذا می‌توان از محلول پاشی گیاهان با این نانوذره جهت پیشگیری از خسارات

ناشی از سرمازدگی استفاده کرد. در گیاه خیار بهترین نتیجه مشاهده شده در این تحقیق، کاربرد برگی نانو ذره سلنیوم در غلظت ۰/۵ میلی مولار بود.

این مقاله با حمایت دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شده است و بدین وسیله نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی این دانشگاه تشکر می نمایند.

سیاسگزاری

منابع

- Adams, W. W., Muller, O., Cohu, C. M., & Demmig-Adams, B. (2014). Photosystem II efficiency and non-photochemical quenching in the context of source-sink balance in non-photochemical quenching and energy dissipation in plants, algae and cyanobacteria. *Advances in Photosynthesis and Respiration*, 503-529. http://dx.doi.org/10.1007/978-94-017-9032-1_23
- Anderson, R., Bayer, P. E., & Edwards, D. (2020). Climate change and the need for agricultural adaptation. *Current Opinion in Plant Biology*, 19, 30121-30129. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.12.006>
- Bates, L. S. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060>
- Boese, S. R., & Huner, N. P. A. (1990). Effect of growth temperature and temperature shifts on spinach leaf morphology and photosynthesis. *Plant Physiology*, 94, 183-190. <https://doi.org/10.1104/pp.94.4.1830>
- Chinnusamy, V., Zhu, J. K., & Sunkar, R. (2010). Gene regulation during cold stress acclimation in plants. In: *Plant Stress Tolerance: Methods and Protocols*. (ed. Sunkar, R.) Pp. 39-55. Humana Press, Totowa. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-702-0_3
- Chu, T. M., Aspinall, D., & Paleg, L. G. (1974). Stress metabolism. VI. temperature stress and the accumulation of proline in barley and radish. *Plant Biology*, 1, 87-97. <https://doi.org/10.1071/PP9740087>
- Chu, X., Yao, Z., & Zhang, Z. (2010). Responses of wheat seedlings to exogenous selenium supply under cold stress. *Biological Trace Element Research*, 136, 355-363. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8542-3>
- Djanaguiraman, M., Belliraj, N., Bossmann, S. H., & Prasad, P. V. V. (2018). High-temperature stress alleviation by selenium nanoparticle treatment in grain sorghum. *ACS Omega*, 13(3), 2479-2491. doi: 10.1021/acsomega.7b01934. PMID: 31458542; PMCID: PMC6641442.
- Dhindsa, R. S., Dhindsa, P., & Thorpe, A. T. (1981). Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32, 93-101. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/32.1.93>
- Demmig-Adams, B., & Adams, W. W. (2006). Photoprotection in an ecological context: The remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytology*, 172, 11-21. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01821.x>
- Deng, W., Wang, H., Wu, B., & Zhang, X. (2019). Selenium-layered nanoparticles serving for oral delivery of phytochemicals with hypoglycemic activity to synergistically potentiate the antidiabetic effect. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 9(1), 74-86. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.11.001>
- Domon, J. M., Baldwin, L., Acket, S., Caudeville, E., Arnoult, S., & Zub, H. (2013). Cell wall compositional modifications of *Miscanthus* ecotypes in response to cold acclimation. *Phytochemistry*, 85, 51-61. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.09.001>
- Dubravina, G. A., Zaytseva, S. M., & Zagorskina, N. V. (2005). Changes in formation and localization of phenolic compounds in the tissues of European and Canadian yew during differentiation in vitro. *Russian Journal of Plant physiology*, 52, 678-672. <https://doi.org/10.1007/s11183-005-0100-z>
- Feng, R. W., Wei, C. Y., & Tu, S. X. (2013). The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 87, 58-68. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.002>
- Gao, M., Qi, Y., Song, W., & Xu, H. (2016). Effects of di-n-butyl phthalate and di (2-ethylhexyl) phthalate on the growth, photosynthesis, and chlorophyll fluorescence of wheat seedlings. *Chemosphere*, 151, 76-83. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.032>
- Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Bjork, L., & Trajkovski, V. (2000). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruit of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 1458-1490. <https://doi.org/10.1021/jf991072g>
- Gouveia, G. C. C., Galindo, F. S., Lanza, M. G. D. B., da Rocha Silva, A. C., de Brito Mateus, M. P., da Silva, M. S., Tavanti, R. F. R., Tavanti, T. R., Lavres, J., & Dos Reis, A. R. (2020). Selenium toxicity stress-induced phenotypical, biochemical and physiological responses in rice plants: characterization of symptoms and plant metabolic adjustment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 202, 916-950. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110916>

- Han, D., Li, X. H., Xiong, S. L., Tu, S. X., Chen, Z. G., Li, J. P., & Xie, Z. J. (2013). Selenium uptake, speciation and stressed response of *Nicotiana tabacum* L. *Environmental and Experimental Botany*, 95, 6-14. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.12.006>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, B., Raza, A., Hawrylak-Nowak, B., Matraszek-Gawron, R., Al Mahmud, J., Nahar, K., & Fujita, M. (2020). Selenium in plants: Boon or bane? *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104-117. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104170>
- Hasanuzzaman, M., & Fujita, M. (2011). Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. *Biological Trace Elements Research*, 143, 1758-1776. <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8878-8>
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., & Fujita, M. (2010). Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. *Journal of Plant Science*, 354-375. 10.3923/jps.2010.354.375
- Hawrylak-Nowak, B. (2013). Comparative effects of selenite and selenate on growth and selenium accumulation in lettuce plants under hydroponic conditions. *Plant Growth Regulation*, 70, 149-157. <https://doi.org/10.1007/s10725-013-9783-x>
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 125, 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Hossain, Z., Nouri, M. Z., & Komatsu, S. (2012). Plant cell organelle proteomics in response to abiotic stress. *Journal of Proteome Research*, 11, 37-48. <https://doi.org/10.1021/pr200863r>
- Huang, C., Qin, N., Sun, L., Yu, M., Hu, W., & Qi, Z. (2018). Selenium improves physiological parameters and alleviates oxidative stress in strawberry seedlings under low-temperature stress. *International Journal of Molecular Science*, 7, 13-19. <https://doi.org/10.3390/ijms19071913>
- Ikram, M., Raja, N. I., Javed, B., Hussain, M., Hussain, M., Ehsan, M., & Akram, A. (2020). Foliar applications of bio-fabricated selenium nanoparticles to improve the growth of wheat plants under drought stress. *Green Process Synthesis*, 9(1), 706-714. <https://doi.org/10.1515/gps-2020-0067>
- Jan, N., Majeed, U., & Andrabi, K. I. (2018). Cold stress modulates osmolytes and antioxidant system in *Calendula officinalis*. *Acta Physiologiae Plantarum*. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2649-0>
- Kaplan, F., Kopka, J., Sung, D. Y., Zhao, W., Popp, M., Porat, R., & Guy, C. L. (2007). Transcript and metabolite profiling during cold acclimation of Arabidopsis reveals an intricate relationship of cold-regulated gene expression with modifications in metabolite content. *Plant Journal*, 50, 967-981. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2007.03100.x>
- Kong, L., & Wang, B. 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. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-2533-0>
- Levitt, J. (1980). Responses of Plants to Environmental Stress, Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses. Academic Press, Cambridge. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-445501-6.50016-6>
- Li, Y. R., Fang, F. X., Wu, J. M., Li, X., Zhang, R. H., Liu, X. H., He, H., Yang, R. Z., Yang, L. T., Chen, G. L., Su, S. Q., & Wang, M. (2011). Survey of frost and cold damage on sugarcane production in Guangxi in 2010/2011 milling season and countermeasures. *Journal of Southern Agriculture*, 1, 37-42. 10.3969/j.issn.2095-1191.2011.10.012
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382. [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Luo, Y., Tang, H. R., & Zhang, Y. (2007). Effect of low temperature stress on activities of SOD and enzymes of ascorbate-glutathione cycle. *Acta Horticulturae Sinica*, 34, 1405-1410. 10.11926/j.issn.1005-3395.2016.06.013
- Masuda, H. I. (2012). Iron biofortification in rice by the introduction of multiple genes involved in iron nutrition. *Scientific Reports*, 2, 543-549. <https://doi.org/10.1038/srep00543>
- Meirs, S., Philosophadas, S., & Aharoni, N. (1992). Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid-peroxidation products detected during parsley by a newly developed method. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117, 128-132. <http://dx.doi.org/10.21273/JASHS.117.1.128>
- Mishra, A., Mishra, K. B., Hoermiller, I. I., Heyer, A. G., & Nedbal, L. (2011). Chlorophyll fluorescence emission as a reporter on cold tolerance in *Arabidopsis thaliana* accessions. *Plant Signal Behavior*, 6, 301-310. <https://doi.org/10.4161/psb.6.2.15278>
- Morales-Espinoza, M. C., Cadenas-Pliego, G., Perez-Alvarez, M., Hernandez-Fuentes, A. D., Cabrera de la Fuente, M., Benavides-Mendoza, A., Valdes-Reyna, J., & JuarezMaldonado, A. (2019). Se nanoparticles induce changes in the growth, antioxidant responses, and fruit quality of tomato developed under NaCl stress. *Molecules*, 24. <https://doi.org/10.3390/molecules24163030>
- Mroczek-Zdyrska, M., & Wojcik, M. (2012). The influence of selenium on root growth and oxidative stress induced by lead in *Vicia faba* L. minor plants. *Biological Trace Element Research*, 147, 320-328. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9292-6>

- Mroczek-Zdyrska, M., Strubinska, J., & Hanaka, A. (2017). Selenium improves physiological parameters and alleviates oxidative stress in shoots of lead-exposed *Vicia faba* L. minor plants grown under phosphorus-deficient conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(1), 186-199. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9629-7>
- Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: Bringing them together. *New Phytology*, 167, 645-63. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01487.x>
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22, 867-880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Plewa, M. J., Smith, S. R., & Wagner, E. D. (1991). Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutant Research and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 247, 57-64. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(91\)90030-K](https://doi.org/10.1016/0027-5107(91)90030-K)
- Poldma, P., Tonutare, T., Viitak, A., Luik, A., & Moor, U. (2011). Effect of selenium treatment on mineral nutrition, bulb size, and antioxidant properties of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 26, 549-555. <https://doi.org/10.1021/jf1046032>
- Roe, J. H. (1955). The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 212, 335-343. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)71120-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)71120-4)
- Saydpour, F., Sayyari, M., & Ghanbari, F. (2015). Effect of glycine betaine on chilling tolerance of cucumber seedlings. *Journal of Crop Improvement*, 17(1), 53-67. <https://doi.org/10.22059/jci.2015.54788>
- Slewiniski, T. L., & Braun, D. M. (2010). Current perspectives on the regulation of whole-plant carbohydrate partitioning. *Plant Science*, 178(4), 341-349. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.01.010>
- Terry, N., Zayed, M. P., de Souza, J., & Tarun, A. S. (2000). Selenium in higher plants. *Annual Review of Physiology. Plant Molecular Biology*, 51, 401-432. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.51.1.401>
- Zahedi, S. M., Abdelrahman, M., Hosseini, M. S., Hoveizeh, N. F., & Tran, L. S. P. (2019). Alleviation of the effect of salinity on growth and yield of strawberry by foliar spray of selenium-nanoparticles. *Environmental Pollution*, 253, 246-258. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.001>
- Zhang, W., Jiang, B., Li, W., Song, H., & Yu, Y. (2019). Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativa* L.) through modulating antioxidative system. *Scientia Horticulturae*, 122, 200-208. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.045>
- Zheng, W., & Wang, S. Y. (2001). Nitroxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 516-523. <https://doi.org/10.1021/jf0106971>
- Zhou, B., Guo, Z., & Liu, Z. (2005). Effects of abscisic acid on antioxidant systems of *Stylosanthes guianensis* under chilling stress. *Crop Science*, 45, 599-605. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.0599>
- Zhou, N., Long, H., Wang, C., Yu, L., Zhao, M., & Liu, X. (2020). Research progress on the biological activities of selenium polysaccharides. *Food Function*, 11, 4834. <https://doi.org/10.1039/D0FO00721C>
- Yao, X., Chu, J., & Wang, G. (2009). Effects of selenium on wheat seedlings under drought stress. *Biological Trace Element Research*, 83-90. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8328-7>

The effect of foliar spraying of selenium nanoparticles in reducing cold stress damages in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.)

Marjan Amini, Fatemeh Nasibi*, Effat Ahmadi Mousavi, Adeleh Barand

Biology Department, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

(Received: 2023/02/04, Accepted: 2024/11/12)

Abstract

Cold stress is a significant factor that limits agricultural production. Cucumber, a crop that thrives in warm regions, is often grown in the autumn and winter but can be suddenly exposed to cold stress. Recently, Iranian farmers have faced considerable losses due to cold damage to their cucumber crops. This research investigated the effects of pretreating cucumber plants with selenium nanoparticles (SeNP) to enhance their resistance to cold stress. In the experiment, cucumbers were sprayed with SeNP solutions at concentrations of 0.2, 0.5, and 1 mg L⁻¹ during the three to four leaf stages. The findings revealed that under cold stress, the chlorophyll content decreased, while the activity of antioxidant enzymes, malondialdehyde content, hydrogen peroxide levels, phenolic compounds, proline, and soluble carbohydrates all significantly increased. However, pretreating the plants with SeNP effectively reduced the amounts of malondialdehyde and hydrogen peroxide, helped preserve chlorophyll content, and enhanced the levels of proline, soluble sugars, phenolic compounds, and antioxidant enzyme activity when compared to plants that were not treated with selenium. These results highlight the beneficial role of selenium as an active antioxidant in mitigating cold stress damage.

Keywords: Antioxidant, Cold stress, Lipid peroxidation, Soluble sugars