

تأثیر محلول پاشی سلنات سدیم و نانوسلنیوم بر ویژگی‌های رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) در شرایط تنش شوری

مهسا ترابیان، سپیده کلانه‌جاری* و مرضیه قنبری‌جهرمی

گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۴/۰۲/۱۶)

چکیده

استفاده از تعدیل‌کننده‌های تنش به صورت خارجی در بسیاری از موارد در کاهش اثرات تنش‌های محیطی مؤثر است. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد تا دو فرم مختلف سلنیوم (سلنات سدیم و نانوسلنیوم) از نظر تأثیر بر کاهش اثرات منفی تنش شوری در گیاه بادرنجبویه مقایسه شوند. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح تنش شوری (صفر، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر) و پنج سطح محلول‌پاشی (شاهد (صفر)، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات سدیم و ۲ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر نانوسلنیوم) بودند. بر اساس نتایج، تنش شوری و تیمار منابع مختلف سلنیوم بر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز و غلظت مالون دی‌آلدهید، محتوای نسبی آب برگ، پرولین، فنول کل، فلاونوئید کل و عملکرد اسانس تأثیر معنی‌داری داشتند. بیشترین وزن تر اندام هوایی در تیمار سلنات سدیم ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر و بدون تنش شوری مشاهده شد. تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی (۲۴/۱۹ درصد نسبت به شاهد) شد، در حالیکه محلول‌پاشی با منابع سلنیوم (سلنات سدیم و نانوسلنیوم) این کاهش را جبران کرد. کلروفیل کل در تیمار تنش شوری شدید (۲۲/۶۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت و بیشترین مقدار آن در تیمار نانوسلنیوم ۲ میلی‌گرم در لیتر و بدون تنش شوری حاصل شد. در تیمار تنش شوری شدید و بدون محلول‌پاشی فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز ۶۹/۸۱ درصد و مقدار مالون دی‌آلدهید ۳۹/۱۹ درصد نسبت به شاهد کاهش و در تیمار تنش شوری ملایم و محلول‌پاشی سلنات سدیم ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان فلاونوئید کل نسبت به شاهد ۳۱/۳۰ درصد و در تیمار تنش شوری ملایم و محلول‌پاشی نانوسلنیوم ۲ میلی‌گرم بر لیتر درصد اسانس بادرنجبویه ۳۱/۰۳ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان دادند. بیشترین عملکرد اسانس (۱۲/۵۴ گرم در بوته) در تیمار نانوسلنیوم ۲ میلی‌گرم در لیتر و بدون تنش شوری مشاهده شد. نسبت‌های عناصر معدنی (پتاسیم، نیتروژن، سلنیوم و کلر) در ریشه و برگ نیز تحت تأثیر تنش شوری و محلول‌های تیماری قرار گرفتند. به طوریکه در تنش شوری شدید و سلنات سدیم ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت پتاسیم ریشه به برگ (۱/۲۵) و نسبت نیتروژن ریشه به برگ (۱/۶۳) بیش از سایر تیمارها بود، در تیمار تنش شوری شدید و بدون محلول‌پاشی نسبت سلنیوم ریشه به برگ ۰/۳۹۳ بود که بیانگر تجمع سلنیوم بیشتر در برگ بود. مجموع می‌توان گفت فرم نانوسلنیوم نسبت به سلنات سدیم اثربخشی بهتری در تخفیف اثر منفی تنش شوری در گیاه دارویی بادرنجبویه داشت.

واژه‌های کلیدی: بیشبود عناصر، تنش شوری، سمیت، مقاومت، نسبت کلر به پتاسیم

مقدمه

نعنایان (Lamiaceae) گیاهی علفی، گلدار، یک یا چندساله

است. این گیاه معطر (بویی شبیه به لیمو) بوده و در زیستگاه

گیاه بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* از تیره

مقاومت گیاه را در برابر تنش‌های اکسیداتیو بهبود می‌بخشد (Hussein et al., 2019a). سلنات سدیم فرم مرسوم کود سلنیوم است که اخیراً برای تعدیل تنش‌های محیطی در گیاهان استفاده می‌شود (Karimi et al., 2020).

نانوذرات سلنیوم (Se NPs) دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه و همچنین سمیت کم به دلیل حالت ردوکس صفر (Se 0) هستند (Hussein et al., 2019a). در کشت بادام‌زمینی (*Arachis hypogaea* L.) فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی افزایش داشتند (Hussein et al., 2019b). آن‌ها همچنین ظرفیت فتوسنتزی، تجمع پروتئین و کربوهیدرات‌های محلول را برای محافظت اسمزی در محصول خیار بهبود بخشیدند (Zahedi et al., 2019).

در تحقیقی با هدف تعیین اثر محلول‌پاشی سلنیوم و نانوسلنیوم بر برخی متابولیت‌های ثانویه به‌لیمو در شرایط تنش شوری نتایج نشان داد که سلنیوم و نانوسلنیوم بیوستتر متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس‌ها، محتوای فنلی کل و ترکیبات فلاونوئیدی را در شرایط بدون تنش و شوری افزایش دادند (Ghanbari et al., 2023).

در تحقیقی اثر نانوذرات سلنیوم (۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر)، نانوذرات سیلیسیوم (۲۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نانوذرات مس (۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر خصوصیات کمی و کیفی فلفل (*Capsicum annuum*) در شرایط تنش شوری (۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار NaCl) بررسی شد. تنش سبب کاهش محتوای کلروفیل و بتاکاروتن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید و گلوکاتایون شد. نانوذره سلنیوم با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش کلروفیل (۵۰ درصد) و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ (۴۸ درصد)، فنول (۲۱ درصد) و فلاونوئید میوه (۲۰ درصد) و غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش کاتالاز (۱۲۸ درصد) گردید (Gonzalez-Garcia et al., 2021). در بررسی اثر سلنیوم بر متابولیت‌های ثانویه و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه بادرنجبویه، نتایج نشان داد که غلظت کم (۰/۲ میکرومولار) سلنیوم باعث افزایش خصوصیات رشدی گیاه مانند وزن تر

خود تا ارتفاع ۱۰۰-۵۰ سانتی‌متر رشد می‌کند (Ghazizadeh et al., 2021). اندام‌های هوایی آن به‌خصوص برگ‌ها دارای اسانس، اسید رزمارینیک، اسیدهای فنولیک و فلاونوئید است (Pirbalouti et al., 2019; Chindo et al., 2021).

شوری خاک یک مشکل در حال افزایش برای کشاورزی جهان است. تجمع نمک در خاک زمین‌های قابل‌کشت، عمدتاً ناشی از آبیاری با آب حاوی مقادیر جزئی کلرید سدیم (NaCl) و آب شور است. افزایش غلظت نمک در خاک از طرفی موجب کاهش توانایی گیاه در جذب آب و از طرف دیگر هنگامی که سدیم و کلر به مقدار زیاد توسط ریشه‌ها جذب می‌شوند، هر دو با مختل کردن فرایندهای متابولیکی و کاهش کارایی فتوسنتز، تأثیرات منفی بر رشد گیاه می‌گذارند (Isayenkov and Maathuis, 2019). در تمام فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاه توت‌فرنگی یون‌های اضافی مانند Na^+ و Cl^- منجر به استرس اسمزی و سمیت یونی؛ در نتیجه، مهار رشدونمو گیاه توسط مختل کردن فرآیندهای فیزیولوژیکی متعدد مانند جذب آب، فرآیندهای متابولیکی، ترکیب مواد مغذی، اسمزی تنظیم و هدایت هیدرولیکی می‌شوند (Zahedi et al., 2019). برای مقابله با تنش یونی ناشی از سدیم، گیاهی مانند نعنا (Bharti et al., 2014) و فلفل (Penella et al., 2016) این یون را از بافت برگ دفع کرده و عمدتاً در واکنش‌ها تجمع می‌دهند. اگرچه این سازوکار به کاهش خسارات کمک می‌کند، اما تنش شوری در نهایت منجر به کاهش عملکرد محصولات کشاورزی می‌شود (Ma et al., 2020).

سلنیوم یک ریزمغذی سودمند با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی و ضدویروسی برای سلامت موجودات مختلف است (Hasanuzzaman et al., 2020) و نقش محافظتی و آنتی‌اکسیدانی در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از دما، خشکسالی، شوری، استرس مکانیکی، اشعه ماوراءبنفش، عوامل بیماری‌زا و فلزات سنگین دارد. سلنیوم از طریق فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و همچنین افزایش سطح ترکیبات غیرآنزیمی مانند گلوکاتایون،

ضد عفونی و در گلدان‌های ۳ لیتری حاوی پرلیت و کوکوپیت با نسبت ۱:۲ کشت شدند. در فروردین ماه در هر گلدان پنج بذر کاشته شد، از آنجایی که بذرها رکود نداشتند خیلی سریع (پنج روز) جوانه‌زنی رخ داد، پس از رسیدن به مرحله چهار برگی یک گیاه باقی ماند. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار و دو مشاهده صورت گرفت. شوری در سه سطح (صفر، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر از منبع کلرید سدیم) و تیمارها در پنج سطح (صفر (شاهد)، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر سلنات سدیم و ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر نانو سلنیوم) استفاده شد. در دوره انجام آزمایش هفته‌ای دوبار گیاهان با کود کامل تجاری (NPK) ۲۰:۲۰:۲۰ به صورت کودآبیاری و برای هر گلدان ۲۰۰ سی‌سی تغذیه شدند.

در مرحله چهار برگی، اولین محلول پاشی برگ‌ها با تیمارها در سه نوبت ۱۵ روزه و تنش شوری پس از مرحله شش برگی به مدت ۵۰ روز، با استفاده از ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر و با حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلول کلرید سدیم برای هر گلدان به مدت ۴۰ روز اعمال گردید. به منظور عدم تجمع نمک در گلدان‌ها، پس از هر چهار مرتبه آبیاری با آب شور تمامی گلدان‌ها یکبار با آب معمولی (بدون شوری، $EC=1.1 \text{ dS/m}$) آبیاری شدند. ۱۰ روز پس از اتمام تیمارها (سه ماه پس از کشت)، گیاهان برداشت و صفات مورد نظر ارزیابی شدند.

برای اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی، گیاه کشت شده در هر گلدان از یقه توسط قیچی قطع شد و وزن تمام قسمت‌های هوایی گیاه (ساقه، گل و برگ) با ترازوی دیجیتال *Digital scale* با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد. پس از خشک کردن اندام هوایی در دستگاه آون در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، وزن خشک آن‌ها به دست آمد (*Inbar et al.*, 1994).

کلروفیل کل و نسبت کلروفیل a به کلروفیل b:

اندازه‌گیری میزان محتوای کلروفیل با روش Arnon (۱۹۶۷) انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا ۰/۱ گرم نمونه برگ‌ها را در هاون چینی با ۳ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد کاملاً ساییده شد

اندام هوایی و ریشه، وزن خشک ریشه حدود ۱/۵ برابر و بهبود صفات فیزیولوژی آن از جمله میزان اسید آسکوربیک (۴ برابر)، پروتئین (۱/۸ برابر)، آنزیم (کاتالاز (۵ برابر)، آسکوربات پراکسیداز (۴ برابر)، پراکسید هیدروژن (۲۵ درصد)، کاربوفیلین (۸ درصد) و اکسید کاربوفیلین نسبت به شاهد شد (*Tavakoli et al.*, 2020).

کاربرد نانوذره سلنیوم (۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) منجر به کاهش آسیب‌های تنش نمک یا شوری و افزایش جذب مواد معدنی نیتروژن، فسفر و پتاسیم گیاه دارویی بادرنجبویه شد (*Ghasemian et al.*, 2021). در تحقیقی اثر نانوذرات سلنیوم (۲۵ میلی‌گرم در لیتر) و سیلیکون (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و آب اکسیژنه (۲۰ نانومول بر لیتر) بر رشد گیاه خیار (*Cucumis sativus*) بررسی شد. نتایج نشان داد که محلول پاشی برگ‌ها نانوذرات سلنیوم (۲۵ میلی‌گرم در لیتر) به طور واضحی سبب افزایش ارتفاع (۴۵ درصد) و سطح برگ گیاه (۲ برابر) نسبت به شاهد شد. نانوذرات سلنیوم دارای اثرات به نسبت قوی‌تری نسبت به نانوذرات سلنیوم در افزایش خصوصیات آنتی‌اکسیدانی گیاه شدند (*Shalaby et al.*, 2021).

از آنجا که تاکنون گزارشی در راستای مقایسه تأثیر محلول پاشی دو فرم مختلف سلنیوم جهت بهبود اثرات منفی تنش ارائه نشد تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر این ترکیبات بر رشد و ویژگی‌های فیتوشیمیایی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) در شرایط تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به منظور بررسی اثر تیمارهای سلنات سدیم و نانو سلنیوم در شرایط تنش شوری در فروردین ۱۴۰۱ در گلخانه‌ای در کرج با طول جغرافیایی $35^{\circ}48'08''$ و عرض جغرافیایی $51^{\circ}00'01''$ و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۶۵ تا ۸۰ درصد، حداکثر دما ۲۹ و حداقل دمای ۱۵ درجه سلسیوس که کنترل دما به وسیله فن صورت می‌گرفت، به مدت سه ماه انجام شد.

بذرهای بادرنجبویه (تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان)

Wang *et al.* (UV-160) در طول موج ۲۹۰ نانومتر به دست آمد (۲۰۰۶).

مالون دی آلدئید: جهت تعیین میزان پراکسید شدن چربی‌های غشایی با آزمون تیوباربیتوریک اسید (TBAT) از طریق تعیین غلظت مالون دی آلدئید استفاده شد. به منظور تعیین غلظت مالون دی آلدئید در نمونه گیاهی ابتدا نیم گرم برگ تازه را در محلول ۲۰ درصد تیوکرو استیک اسید (TCA) که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید بود کاملاً پودر کرده، مخلوط حاصل به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس در دستگاه بن‌ماری گرم شد و سپس به حمام یخ منتقل و غلظت مالون دی آلدئید در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Visible/UV-45 Lambda اندازه‌گیری شد (Valentovic *et al.*, 2006).

محتوای نسبی آب برگ: برای تعیین RWC، از برگ‌های کامل و توسعه‌یافته استفاده شد. پس از وزن اولیه برگ، در آب مقطر قرار داده شده و ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری و ۲۴ ساعت دیگر در آن با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و وزن خشک آن‌ها ثبت و در نهایت RWC با فرمول زیر محاسبه شد (Ritchie *et al.*, 1990):

$$RWC = (FW - DW) / (SW - DW) \times 100$$

در این رابطه FW وزن تازه برگ، SW وزن اشباع برگ و DW وزن خشک برگ است.

پروکلین: میزان پروکلین با روش واکنش نین‌هیدرین (Bates *et al.*, 1973) تعیین گردید. ۳۰۰ میلی‌گرم از ساقه - برگ با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ هموژنیزه و سپس با کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف گردید. ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف شده برداشته و به آن ۲ میلی‌لیتر محلول نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال افزوده شد و محلول حاصل پس از یک ساعت قرارگیری در بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای توقف واکنش بر روی یخ قرار داده شد. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شده و پس از چند دقیقه همزدن شدید، محلول صورتی رنگ فوقانی برای قرائت جذب

و حجم نهایی عصاره به ۱۵ میلی‌لیتر رسید. سپس عصاره با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت $5000 \times g$ صاف شد. از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160) برای اندازه‌گیری میزان جذب نمونه‌ها استفاده شد. ابتدا دستگاه با استون ۸۰ درصد صفر شده و سپس میزان جذب عصاره استخراج‌شده در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. سپس با استفاده از رابطه‌های زیر کلروفیل a (رابطه ۱) و کلروفیل b (رابطه ۲) برحسب (میلی‌گرم کلروفیل در هر گرم برگ تر) محاسبه شد.

رابطه ۱

$$Chl\ a = [(12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645})] \times V / 1000 \times W$$

رابطه ۲

$$Chl\ b = [(22.9 \times A_{645}) - (4.69 \times A_{663})] \times V / 1000 \times W$$

در رابطه‌های بالا، A میزان جذب در طول موج مورد نظر، V حجم نهایی استون ۸۰ درصد برحسب میلی‌لیتر و W اندازه برگ تازه برحسب گرم است.

از تقسیم مقدار کلروفیل a بر کلروفیل b، نسبت این دو به دست آمد.

آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز PAL: ۰/۳ گرم از بافت تازه ساقه را وزن کرده و در ۶/۵ میلی‌لیتر بافر HCL، ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۸/۸) که حاوی بتامرکاپتو اتانول ۱۵ میلی‌مولار است، سائیده و عصاره حاصل به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی برای شناسایی استفاده شد. مخلوطی از یک میلی‌لیتر بافر استخراجی رویی، ۰/۵ میلی‌لیتر فنیل آلانین ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۴ میلی‌لیتر آب و ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی، در حمام آب گرم ۳۷ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت قرار داده شد. سپس واکنش توسط ۰/۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید شش مولار متوقف گردید. در نهایت به محلول حاصل ۱۵ میلی‌لیتر اتیل استات افزوده شد. فاز روغنی تشکیل شده جدا و باقی‌مانده در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا تبخیر شود، سپس باقی‌مانده که همان سینامیک اسید است در سه میلی‌لیتر سود ۰/۰۵ مولار حل شد و غلظت سینامیک اسید با اندازه‌گیری میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu

در طول موج ۵۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Visible/UV-45 Lambda قرار گرفت و میزان پرولین در عصاره با منحنی استاندارد پرولین خالص محاسبه شد.

فنول کل: پس از عصاره‌گیری متانولی، عصاره‌های حاصل پس از صاف شدن با دستگاه تبخیرکننده چرخان با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و میزان ترکیب‌های فنلی موجود در عصاره این گیاه از طریق رنگ‌سنجی به روش فولین - سیوکالتو مورد بررسی قرار گرفت (Singleton and Rossi jaj, 1965).

مطابق روش Mc Donald و همکاران (۲۰۰۱)، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی با ۵ میلی‌لیتر معرف فولین - سیوکالتو (که با آب مقطر ۱۰ برابر رقیق شد) و ۴ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم یک مولار به خوبی مخلوط گردید. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Visible/UV-45 Lambda در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد (Oroojalian et al., 2010). بدین منظور روش رنگ‌سنجی (فولین - سیوکالتو) نیز روی محلول‌های استاندارد اسید تانیک با غلظت‌های مختلف انجام شد. منحنی استاندارد در برابر جذب اسید تانیک رسم گردید ($Y=0/00114X+0/01062$ ، عدد جذب و X غلظت بر حسب ppm). برای تعیین غلظت فنل نمونه‌ها اعداد جذب به دست آمده از اسپکتروفتومتر را در معادله بالا (Y) قرار داده و میزان غلظت ترکیب‌های فنلی موجود در نمونه‌ها بر حسب ppm (X) محاسبه گردید. در نهایت مقادیر فنول تام عصاره با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره اندازه‌گیری شد.

در طول موج ۵۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Visible/UV-45 Lambda قرار گرفت و میزان پرولین در عصاره با منحنی استاندارد پرولین خالص محاسبه شد.

فنول کل: پس از عصاره‌گیری متانولی، عصاره‌های حاصل پس از صاف شدن با دستگاه تبخیرکننده چرخان با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و میزان ترکیب‌های فنلی موجود در عصاره این گیاه از طریق رنگ‌سنجی به روش فولین - سیوکالتو مورد بررسی قرار گرفت (Singleton and Rossi jaj, 1965).

مطابق روش Mc Donald و همکاران (۲۰۰۱)، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی با ۵ میلی‌لیتر معرف فولین - سیوکالتو (که با آب مقطر ۱۰ برابر رقیق شد) و ۴ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم یک مولار به خوبی مخلوط گردید. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Visible/UV-45 Lambda در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد (Oroojalian et al., 2010). بدین منظور روش رنگ‌سنجی (فولین - سیوکالتو) نیز روی محلول‌های استاندارد اسید تانیک با غلظت‌های مختلف انجام شد. منحنی استاندارد در برابر جذب اسید تانیک رسم گردید ($Y=0/00114X+0/01062$ ، عدد جذب و X غلظت بر حسب ppm). برای تعیین غلظت فنل نمونه‌ها اعداد جذب به دست آمده از اسپکتروفتومتر را در معادله بالا (Y) قرار داده و میزان غلظت ترکیب‌های فنلی موجود در نمونه‌ها بر حسب ppm (X) محاسبه گردید. در نهایت مقادیر فنول تام عصاره با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره اندازه‌گیری شد.

فلانوئید کل: از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلانوئیدها استفاده شد. هر کدام از عصاره‌های متانولی گیاهی (نیم میلی‌لیتر از ۱:۱۰ گرم بر میلی‌لیتر) به صورت جداگانه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰ درصد متانولی)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (۱M) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. جذب هر ترکیب واکنشی در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل

درصد و عملکرد اسانس: جهت اندازه‌گیری وزن خشک سرشاخه گلدار گیاه و نیز آماده‌سازی نمونه برای تهیه اسانس، گیاهان پس از برداشت به مدت دو هفته در دمای معمولی در شرایط سایه، در محیط آزمایشگاه خشک شدند. جهت محاسبه درصد اسانس موجود در گیاه ابتدا مقدار ۱۰۰ گرم نمونه خشک گیاه با ترازوی دیجیتال توزین گردید، سپس آن را به داخل بالن ۵۰۰ میلی‌لیتری انتقال داده و ۲۰ عدد پرل شیشه‌ای به همراه ۲۵۰ میلی‌لیتر آب به محتویات داخل بالن اضافه گردید. پس از آن بالن به دستگاه اسانس‌گیری (کلونجر) متصل گردید و برای مدت چهار ساعت عمل استخراج اسانس موجود در گیاه انجام گرفت. در زیر بالن یک اجاق الکتریکی قرار داده شد. درجه حرارت اجاق الکتریکی را باید طوری تنظیم نمود که سرعت خروج مایع از قسمت مبرد دستگاه در حدود ۲ تا ۳ میلی‌لیتر در دقیقه باشد. پس از ختم اسانس‌گیری، اسانس جمع‌آوری شده در قسمت مدرج دستگاه جهت تعیین مقدار آن به یک لوله آزمایش منتقل گردید. جهت خروج بهتر و استخراج تمام اسانس گرفته شده از دستگاه ۲ میلی‌لیتر کلرومتان ۳۶ درجه در قسمت مدرج دستگاه ریخته و اسانس حل شده در دی‌کلرومتان را در یک بشر ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و مقداری سولفات سدیم بی‌آب به آن اضافه شد تا کاملاً عاری از آب شود. سپس مقدار اسانس با ترازوی دقیق آزمایشگاهی LIBROR AEL مدل 40SM با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد. از حاصل ضرب درصد اسانس در وزن خشک، عملکرد اسانس به دست آمد (Sefidkon et al., 2006).

اندازه‌گیری پتاسیم برگ و ریشه: برگ‌های گیاه بعد از برداشت در هوای آزاد کاملاً خشک شدند. سپس با استفاده از

$N =$ نرمالیته اسید، $A =$ حجم اسید مصرفی، $W =$ وزن نمونه
اندازه‌گیری کلر برگ و ریشه: برای اندازه‌گیری کلر ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی پودر شده درون لوله فالکن ریخته و پس از افزودن ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید ۰/۵ مولار و قراردادی آن به مدت یک ساعت در دمای ۸۰ درجه سلسیوس خشک‌کن، عصاره‌گیری انجام شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر از عصاره برای قرائت کلر طبق روش رنگ‌سنجی در طول موج ۴۸۰ نانومتر توسط دستگاه اپوچ (Epoch) استفاده شد (Munns and Tester, 2008).

نسبت عناصر از تقسیم مقادیر عددیشان محاسبه گردید. داده‌های به‌دست آمده حاصل از اندازه‌گیری متغیرها در تحقیق، ابتدا در Excel ثبت شده و سپس با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۳ آنالیز شد. مقایسه میانگین داده‌ها در سطح معنی‌دار ۵ درصد با آزمون دانکن بررسی شد.

نتایج

صفات مورفولوژیکی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده تیمار تنش شوری بر وزن تر و خشک اندام هوایی، نسبت کلروفیل a به کلروفیل b، کلروفیل کل، فعالیت آنزیم PAL و مقدار مالون دی‌آلدهید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تیمارهای محلول‌پاشی تأثیر معناداری بر وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال ۵ درصد و بر کلروفیل کل، فعالیت آنزیم PAL و میزان مالون دی‌آلدهید در سطح احتمال ۱ درصد داشتند. همچنین، اثر متقابل تنش شوری و تیمارهای محلول‌پاشی بر وزن تر اندام هوایی، کلروفیل کل و مالون دی‌آلدهید در سطح ۵ درصد و بر فعالیت آنزیم PAL در سطح ۱ درصد معنادار بود (جدول ۱).

وزن تر اندام هوایی: نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین وزن تر اندام هوایی در تیمار سلنات سدیم ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر و بدون شوری حاصل شد، اگرچه با تیمارهای نانو سلنیوم ۲ میلی‌گرم در لیتر و سلنات سدیم ۵ میلی‌گرم در لیتر در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۲).

وزن خشک اندام هوایی: نتایج مقایسه میانگین نشان داد

هاون نمونه‌ها پودر شدند. ۰/۳ از نمونه‌های پودر شده را توزین کرده و در کوره با دمای ۵۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۶ ساعت خاکستر شدند و سپس در ۵ میلی‌لیتر محلول اسید نیتریک ۲ مولار حل شدند. حجم محلول در نهایت با آب دو بار تقطیر به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. سپس با دستگاه فلیم‌فتمتری (مدل PFP7 ساخت کمپانی JENWAY انگلستان) اندازه‌گیری شد (Chapman and Pratt, 1962).

$$N\% = A \times N \times 1.4 / W$$

$N =$ نرمالیته اسید، $A =$ حجم اسید مصرفی، $W =$ وزن نمونه

اندازه‌گیری سلنیوم برگ و ریشه: برای اندازه‌گیری سلنیوم

نمونه‌های گیاهی پس از خشک‌شدن در دمای ۷۵ درجه سلسیوس پودر گردیده و پس از هضم جهت سوزاندن مواد آلی برای اندازه‌گیری مقدار سلنیوم به روش کالریمتری ۱۰ میلی‌لیتر عصاره حاصل از هضم به همراه ۱ میلی‌لیتر ماده رنگی فنوتیازین و همچنین ۴ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۱۰ مولار به درون لوله‌های ۱۵ میلی‌لیتری انتقال یافتند مقدار جذب محلول‌ها در طول‌موج ۵۱۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160) خوانده شد (Mahaveer and Jaldappa, 2000).

اندازه‌گیری نیتروژن برگ و ریشه: نیتروژن با روش

کجلدال اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ۰/۵ گرم گیاه + ۱۵ سی‌سی اسید سولفوریک غلیظ + یک عدد قرص کجلدال استفاده شد. سپس ترکیب ایجاد شده را در لوله مخصوص هضم در اجاق به مدت نیم ساعت و در دمای ۴۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا اینکه رنگ نمونه به سبز شفاف تغییر یافت. سپس نمونه را در جهت تقطیر در دستگاه کجلدال به مدت ۳ دقیقه روی سود ۶ تنظیم شد. در این مدت NH_4^+ به NH_3 تبدیل شد و آمونیاک در هنگام جوشیدن محلول تبخیر شد. سپس محلول سبز رنگ با اسید سولفوریک یک صدم نرمال تیترا گردید تا به رنگ قرمز روشن تبدیل شد. حجم اسید مصرفی یادداشت و از روش زیر نیتروژن محاسبه شد (Sparks, 1996).

$$N\% = A \times N \times 1.4 / W$$

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر صفات وزن، کلروفیل و فعالیت آنزیمی گیاه دارویی بادنجنوبیه

میانگین مربعات						
منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	نسبت کلروفیل a به کلروفیل b	کلروفیل کل	آنزیم PAL
شوری	۲	۷۳/۶۳**	۲/۶۳**	۱/۱۸**	۰/۵۷**	۲۰/۸۰**
تیمارهای محلول پاشی	۴	۳/۴۲ ^{ns}	۰/۲۹*	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۵**	۱/۱۱**
شوری × تیمارهای محلول پاشی	۸	۰/۲۳**	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱*	۰/۸۷**
خطا	۳۰	۱/۷۵	۰/۱۰	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۱۸
ضریب تغییرات	-	۱۰/۵۷	۱۰/۷۹	۴/۹۹	۵/۶۹	۱۴/۸۶

**، * و ns: به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود تفاوت معنی دار است.

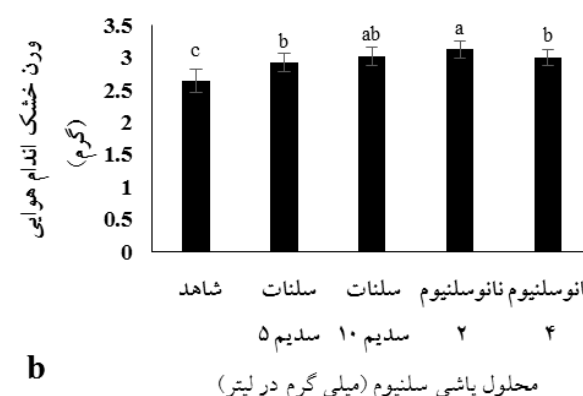
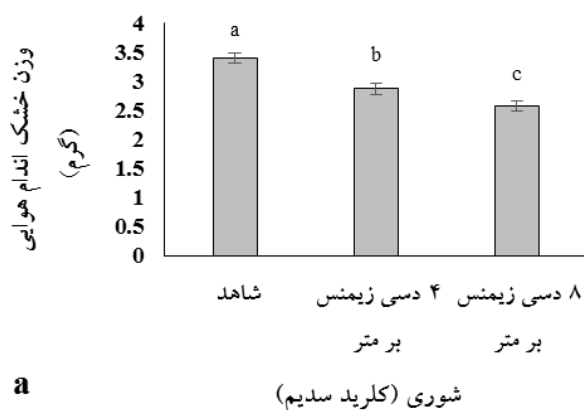
جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار تنش شوری و تیمار بر وزن تر اندام هوایی و کلروفیل کل گیاه بادنجنوبیه

تنش شوری (دسی زیمنس بر متر کلرید سدیم)	تیمار	وزن تر اندام هوایی (گرم)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)
صفر (شاهد)	صفر (شاهد)	۱۳/۶۰ ^b	۱/۸۱ ^d
سلنات سدیم ۵	سلنات سدیم ۵	۱۴/۸۷ ^a	۱/۹۰ ^c
صفر (شاهد)	سلنات سدیم ۱۰	۱۵/۳۰ ^a	۱/۹۶ ^b
	نانوسلنیوم ۲	۱۵/۰۰ ^a	۲/۰۱ ^a
	نانوسلنیوم ۴	۱۴/۶۷ ^a	۱/۹۶ ^b
	صفر (شاهد)	۱۱/۹۷ ^d	۱/۶۱ ^g
	سلنات سدیم ۵	۱۲/۴۳ ^{cd}	۱/۷۰ ^f
۴ دسی زیمنس بر متر	سلنات سدیم ۱۰	۱۲/۸۷ ^{bcd}	۱/۷۴ ^{ef}
	نانوسلنیوم ۲	۱۳/۲۷ ^{bc}	۱/۷۷ ^{de}
	نانوسلنیوم ۴	۱۲/۷۰ ^{bed}	۱/۷۶ ^e
	صفر (شاهد)	۸/۹۳ ^f	۱/۴۰ ⁱ
	سلنات سدیم ۵	۱۰/۱۷ ^e	۱/۵۰ ^h
۸ دسی زیمنس بر متر	سلنات سدیم ۱۰	۱۰/۵۰ ^e	۱/۵۸ ^g
	نانوسلنیوم ۲	۱۰/۹۷ ^e	۱/۶۰ ^g
	نانوسلنیوم ۴	۱۰/۷۳ ^e	۱/۶۱ ^g

حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار بین تیمارهاست.

افزایش وزن خشک اندام هوایی شد به طوریکه افزایش ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۱۵ درصدی وزن خشک اندام هوایی به ترتیب با کاربرد ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر سلنات سدیم و ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر نانوسلنیوم بدست آمد (شکل ۱b).

که وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش شوری کاهش معنی داری نشان داد. کاهش ۱۶ و ۲۴ درصدی وزن خشک اندام هوایی به ترتیب در شرایط شوری ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد (شکل ۱a). محلول پاشی برگی منابع سلنیوم سبب



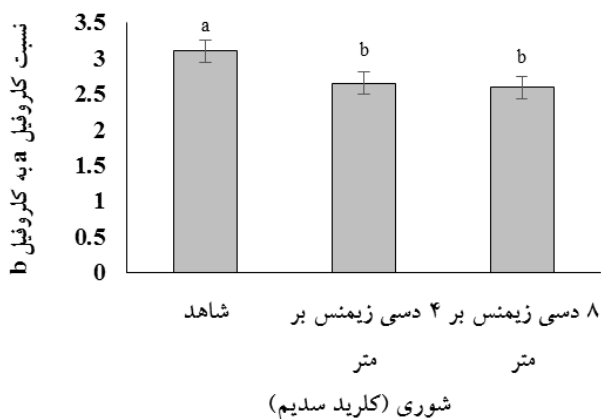
شکل ۱- اثر ساده تنش شوری (a) و محلول پاشی سلینیوم (b) بر وزن خشک اندام هوایی بادرنجبویه. حروف لاتین مشابه به معنی عدم تفاوت معنی دار در آزمون دانکن است. بارهای روی نمودار خطای استاندارد است.

کلروفیل کل: بیشترین کلروفیل کل در تیمار نانوسلینیوم ۲ میلی گرم در لیتر در شرایط بدون شوری و کمترین آن در تیمار شوری شدید (۸ دسی زیمنس بر متر NaCl) و بدون محلول پاشی مشاهده شد (جدول ۲).

کاهش مقدار رنگیزه های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری می تواند عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل ها، واکنش آن ها با رادیکال اکسیژن، تخریب پیش ماده های سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل های جدید و فعال شدن آنزیم های تجزیه کننده کلروفیل از جمله کلروفیلاز و اختلالات هورمونی باشد (نورزاد و همکاران، ۱۳۹۴؛ Pan et al., 2022). علاوه بر این، تنش شوری در جذب برخی عناصر ضروری نظیر نیتروژن، آهن و منیزیم اختلال ایجاد می کند که این عناصر در سنتز کلروفیل ضروری هستند (Wungrampha et al., 2018). کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش شوری به دلیل فعالیت بیشتر کلروفیلاز است. بعضی از مواد تنظیم کننده رشد مانند اسید آسبزیک و اتیلن که میزان آن ها در شرایط تنش افزایش می یابد موجب تحریک فعالیت این آنزیم می شود. همچنین کاهش میزان سبزینه می تواند به دلیل تغییر سوخت و ساز نیتروژن در رابطه با ساخت ترکیب هایی اسید آمینه پرولین باشد که در شرایط تنش برای تحقق تنظیم اسمزی تولید می شود (Amiripour et al., 2021). کاهش کلروفیل b به مراتب بیشتر از کلروفیل a بود. در شرایط تنش، کمپلکس های دریافت کننده

اثر سمی یون های نمک سدیم و کلر می تواند بر فتوسنتز، فیتوهورمون ها، تعادل وضعیت آب گیاه و هموستاز مواد مغذی تأثیر منفی بگذارد که سبب کاهش رشد می شود. با افزایش غلظت املاح، فشار اسمزی محلول خاک زیاد می شود، در نتیجه مقدار انرژی که گیاه باید صرف جذب آب از خاک نماید افزایش می یابد که این عمل باعث کاهش جذب آب، افزایش تنفس و کاهش رشد گیاه می شود (Ahmadi and Souri, 2018; Amiripour et al., 2021). در این مطالعه، نانوذره سلینیوم در غلظت کم (۲ میلی گرم در لیتر)، اثر بهتری نسبت به غلظت زیاد آن داشت. در تحقیقات پیشین نشان داده شد که سلینیوم در گیاهان دارای محدوده حساسی بین مقدار ضروری و سمی آن است. سلینیوم در سطوح بهینه رشد گیاه را تحریک و تحمل نمک را در گیاه افزایش می دهد نانوذرات به مراتب اثر بهتری نسبت به سلنات سدیم داشتند. نانوذرات پس از ورود با گیاهان در سطوح سلولی و درون سلولی برهمکنش می کنند و تغییرات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مولکولی را افزایش می دهند (Khan et al., 2019). در تحقیقی مشابه، Kiumarzi و همکاران (۲۰۲۲) به نقش مهم نانو سلینیوم در کاهش تنش شوری در گیاه نعنای آناناسی با افزایش وزن گیاه اشاره کردند.

نسبت کلروفیل a به کلروفیل b: نتایج نشان داد بیشترین نسبت کلروفیل a به کلروفیل b مربوط به تیمار شاهد (عدم وجود تنش شوری) بود (شکل ۲).



شکل ۲- اثر ساده تنش شوری بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b برگ گیاه دارویی بادرنجبویه. حروف لاتین مشابه به معنی عدم تفاوت معنی دار در آزمون دانکن است. بارهای روی نمودار خطای استاندارد است.

در شرایط تنش شدید به این دلیل است که سلنیوم شرایط گیاه را نرمال و با تعدیل تنش گیاه را به سمت پایداری هدایت می کند و در این صورت مقدار رادیکال آزاد اکسیژن (ROS) کمتر و در نتیجه فعالیت آنزیمی کمتر می شود. همچنین این کاهش فعالیت آنزیمی در شرایط تنش شدید با کاربرد محرک های رشد ناشی از این است که رادیکال های آزاد تولید شده در شرایط کاربرد این مواد کاهش یافته و فعالیت آنزیمی نیز کاهش می یابد (Zahedi et al., 2019). در تحقیقی مشابه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی با کاربرد شوری در گیاه بادرنجبویه توسط Ghasemian و همکاران (۲۰۲۱) گزارش شد که همسو با نتایج تحقیق حاضر است.

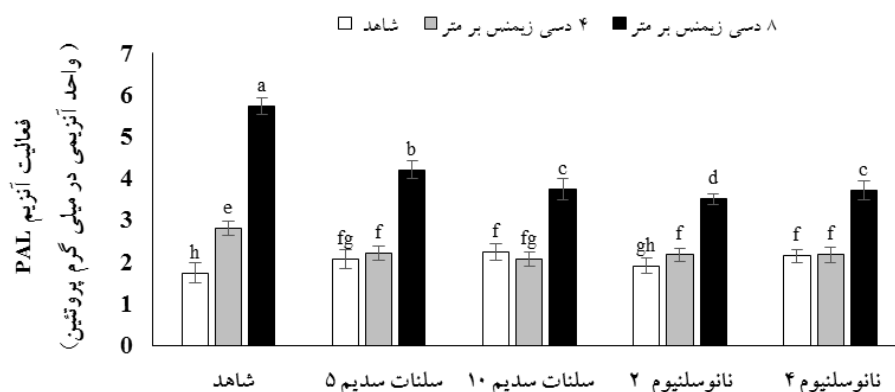
میزان مالون دی آلدئید: اثر متقابل شوری و سلنیوم نشان داد که تیمار تنش شوری شدید (۸ دسی زیمنس بر متر NaCl) بدون سلنیوم دارای بیشترین غلظت مالون دی آلدئید با ۶۴ درصد افزایش نسبت به شاهد بود. در شرایط تنش شدید، سلنات سدیم ۵ و ۱۰ و نانو سلنیوم ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر به ترتیب سبب کاهش ۸، ۱۰، ۷ و ۱۲ درصدی مالون دی آلدئید شدند (شکل ۴).

در شرایط تنش، تولید زیاد رادیکال آزاد اکسیژن سبب تخریب غشای سلولی شده و در نهایت منجر به مرگ سلولی خواهد شد. افزایش تجمع مالون دی آلدئید یکی از نشانه های تخریب سلولی و تشدید شرایط نامطلوب برای گیاه است. از طرفی دیگر سلنیوم به ویژه سطح پایین نانو سلنیوم سبب کاهش

نور بیشتر به کلروپلاست و کلروفیل b آسیب می بیند که باعث کاهش شدید کلروفیل تحت تنش خواهد شد (Garriga et al., 2014). کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش شوری به عنوان یک علامت معمولی از فوتو اکسیداسیون رنگدانه و تخریب کلروفیل در نظر گرفته شده است (Hajhashemi and Ehsanpour, 2013). غلظت های پایین سلنیوم سبب محافظت از آنزیم های کلروپلاستی و همچنین افزایش کارایی فتوسنتز می شود که منجر به افزایش محتوای رنگدانه های فتوسنتزی در گیاه می شود. افزایش محتوای فتوسنتزی تحت تأثیر نانو ذرات سلنیوم در شرایط تنش شوری برای گیاهان خیار توسط Mousavi و همکاران (۲۰۲۲) گزارش شد که همسو با نتایج تحقیق حاضر است.

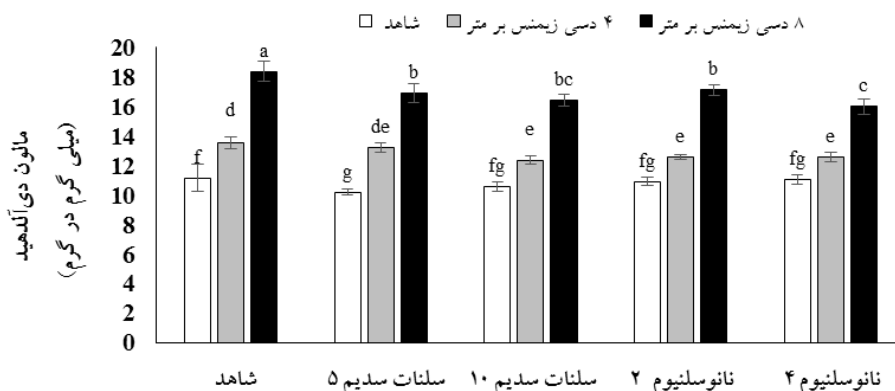
فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL): اثر متقابل شوری و سلنیوم نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL) در تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر بدون کاربرد سلنیوم با ۲۶ درصد افزایش نسبت به شاهد بدست آمد (شکل ۳).

در این مطالعه، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی PAL در شرایط شوری افزایش یافت. آنزیم PAL یکی از مهمترین آنزیم ها در مسیر تولید فنیل پروپانویدها در گیاهان است که نقشی کلیدی در تنظیم تولید این ترکیبات داشته و با انجام عمل دامیناسیون اسید آمینه ال- فنیل آلانین را به ترانس سینامیک اسید تبدیل می کند. کاهش مقدار آنزیم PAL با کاربرد سلنیوم



شوری (دسی زمینس بر متر) × سلنیوم (میلی گرم در لیتر)

شکل ۳- اثر متقابل شوری و سلنیوم بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز بادرنجوبیه. حروف لاتین مشابه به معنی عدم تفاوت معنی دار در آزمون دانکن است. بارهای روی نمودار خطای استاندارد است.



شوری (دسی زمینس بر متر) × سلنیوم (میلی گرم در لیتر)

شکل ۴- اثر متقابل شوری و سلنیوم بر تجمع مالون دی آلدئید برگ بادرنجوبیه. حروف لاتین مشابه به معنی عدم تفاوت معنی دار در آزمون دانکن است. بارهای روی نمودار خطای استاندارد است.

درصد معنی دار بود، اثر ساده تیمار سلنیوم بر صفات مذکور در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی دار نشان داد. اثر متقابل تیمارها بر محتوای نسبی آب برگ، درصد و عملکرد اسانس در سطح احتمال یک درصد و بر فنول کل و فلاونوئید کل در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود (جدول ۳).

محتوای نسبی آب برگ: اثر متقابل شوری و سلنیوم نشان داد که تیمار بدون تنش با نانوذرات سلنیوم دارای بیشترین مقدار این صفت بود. در شرایط تنش شدید، سلنات سدیم ۵ و ۱۰ و نانوسلنیوم ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر به ترتیب سبب

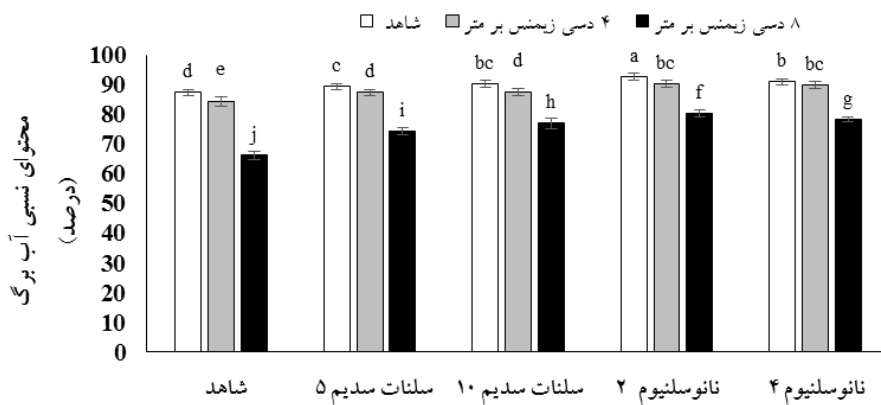
غلظت مالون دی آلدئید در گیاه شد. در تحقیقی مشابه افزایش غلظت مالون دی آلدئید در شرایط تنش شوری در گیاهان توت فرنگی (Zahedi et al., 2019) و کلزا (Bybordi, 2016) گزارش شد، درحالیکه سلنیوم سبب کاهش تجمع مالون دی آلدئید در این گیاهان شد.

صفات بیوشیمیایی و فیتوشیمیایی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده تنش شوری بر محتوای نسبی آب برگ، پرولین، فنول کل و عملکرد اسانس در سطح احتمال یک درصد و بر فلاونوئید کل و درصد اسانس در سطح احتمال پنج

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر صفات بیوشیمیایی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		محتوای نسبی آب برگ	پرولین	فنول کل	فلاونوئید کل	درصد عملکرد اسانس
شوری	۲	۹۶۵/۷۵**	۲۴۸۰/۶۹**	۳۹/۵۷**	۱۰/۴۴*	۳۶/۰۲**
تیمارهای محلول پاشی	۴	۹۴/۸۳**	۲۳۱/۹۱**	۲۲/۸۵*	۷/۵۲**	۱۵/۹۶**
شوری × تیمارهای محلول پاشی	۸	۱۱/۷۸**	۱۰۳/۱۶ ^{ns}	۰/۸۷*	۰/۸۴*	۰/۲۶**
خطا	۳۰	۶/۸۷	۲۱۱/۰۷	۶/۷۵	۳/۶۱	۰/۴۸
ضریب تغییرات	-	۳/۱۰	۸/۴۳	۸/۶۸	۱۲/۱۶	۱۹/۰۰

**،* به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح ۱ و ۵ درصد است.



شوری (دسی زمینس بر متر) × سلنیوم (میلی گرم در لیتر)

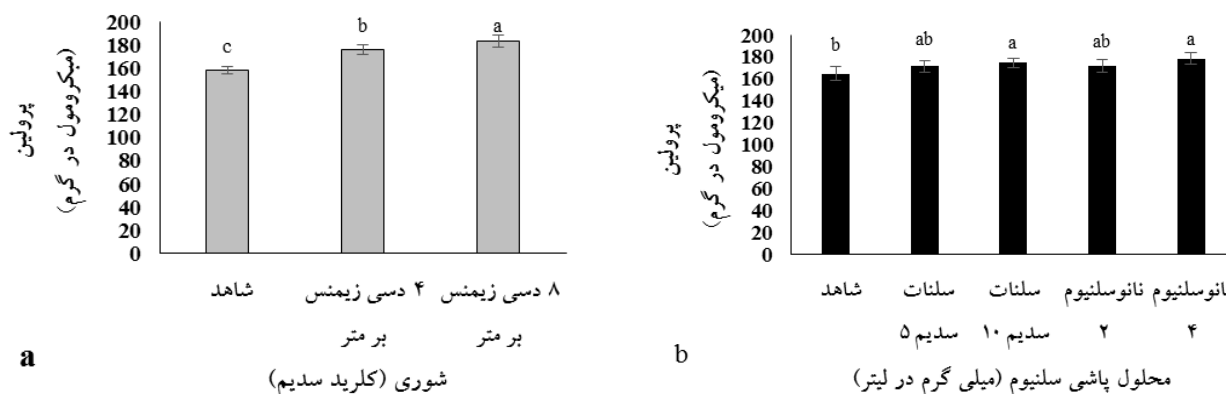
شکل ۵- اثر متقابل شوری و سلنیوم بر محتوای نسبی آب برگ بادرنجبویه. حروف لاتین مشابه به معنی عدم تفاوت معنی دار در آزمون دانکن است. بارهای روی نمودار خطای استاندارد است.

امر ناشی از اندازه کوچک و سطح ویژه بالای نانوذرات است که توسط Afshari و همکاران (۲۰۲۱) روی گشنیز با تأثیر نانوذرات سیلیکون و فرم عادی آن بدست آمد.

پرولین: براساس نتایج مقایسه میانگینها، میزان پرولین برگ تحت تأثیر تنش شوری به صورت معنی داری افزایش یافت. به طوری که در سطوح شوری ۴ و ۸ دسی زمینس بر متر، به ترتیب افزایش ۱۳ و ۱۶ درصدی پرولین برگ نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۶a). همچنین، کاربرد منابع مختلف سلنیوم نیز منجر به افزایش معنی دار پرولین برگ گردید. مقایسه میانگینها نشان داد که کمترین مقدار پرولین (۱۶۴/۶ میکرومول بر گرم) مربوط به تیمار شاهد و بیشترین مقدار

افزایش ۱۲، ۱۶، ۲۱ و ۱۸ درصدی محتوای نسبی آب برگ شدند (شکل ۵).

سلنیوم سبب تقویت سیستم ریشه ای گیاه و افزایش ظرفیت نگهداری آب در گیاه می شود (Mousavi et al., 2022). افزایش محتوای نسبی آب برگ با نانوذرات سلنیوم در شرایط تنش شوری در انگور (*Vitis vinifera*) توسط Karimi و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شد که تأییدکننده نتایج تحقیق حاضر است. Farag و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که ۵ میکرومولار سلنیوم سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ ولی ۲۰ میکرومولار آن سبب کاهش این صفت شد. نتایج نشان داد که اثرات نانوسلنیوم به مراتب بهتر از سلنات سدیم بود که این



شکل ۶- اثر ساده تنش شوری (a) و محلول پاشی سلنیوم (b) بر میزان پروکسید با درنجه بویه. حروف لاتین مشابه به معنی عدم تفاوت معنی دار در آزمون دانکن است. بارهای روی نمودار خطای استاندارد است.

پراکسیداسیون لیپیدی را متوقف می‌کند. علاوه بر این، فلاونوئیدها توسط پراکسیداز اکسید می‌شوند و به عنوان مهارکننده H_2O_2 عمل می‌کنند (Bartwal et al., 2013). در شرایط تنش شوری، ترکیبات فلاونوئیدی نقش مهمی در کاهش اثرات تنش بازی می‌کنند (Azeem et al., 2023). افزایش محتوای فنول و فلاونوئید در گیاه برنج تحت تنش شوری توسط Xuan و همکاران (۲۰۲۲) گزارش شد. در تحقیقی مشابه، Alawamleh و همکاران (۲۰۲۳) افزایش محتوای فلاونوئیدی با کاربرد نانوذرات سلنیوم گزارش کردند که همسو با نتایج تحقیق حاضر است.

درصد اسانس: نتایج برهمکنش شوری و سلنیوم نشان داد که تلفیق شوری متوسط با کاربرد نانوسلنیوم، بیشترین تأثیر مثبت را بر درصد اسانس گیاه داشت. تحت تنش شوری شدید (۸ دسی زمینس بر متر)، کلیه تیمارهای سلنیوم منجر به افزایش معنی دار میزان اسانس شدند؛ به طوری که محلول پاشی با مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنات سدیم به ترتیب ۱۲ و ۱۸ افزایش، و تیمارهای ۲ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر نانوسلنیوم نیز به ترتیب ۲۶ و ۲۲ افزایش در محتوای اسانس ایجاد کردند (شکل ۸).

عملکرد اسانس: اثر متقابل شوری و سلنیوم نشان داد که بیشترین عملکرد اسانس مربوط به تیمار نانوسلنیوم ۲ میلی‌گرم در لیتر و بدون تنش شوری بود (جدول ۴).

اسانس‌ها یکی از مهمترین مواد مؤثره گیاهان دارویی را

در تیمار نانوسلنیوم ۴ میلی‌گرم در لیتر ثبت شد (شکل ۶b).

در تحقیقات مشابه، افزایش پروکسید در شرایط تنش برای بهبود شرایط رشد گیاه گزارش شده است (Liu et al., 2020; Singh et al., 2022). پروکسید به عنوان یک اسیدآمین مهم، نقش مهمی در حفظ متابولیسم و رشد گیاهان در شرایط تنش غیرزیستی دارد. تولید بیش از حد پروکسید در سلول‌های گیاهی به حفظ هموستاز سلولی، جذب آب، تنظیم اسمزی و تعادل ردوکس برای بازبانی ساختارهای سلولی و کاهش آسیب اکسیداتیو کمک می‌کند. بسیاری از گزارش‌ها نشان می‌دهند که گیاهان تراریخته، به ویژه آن‌هایی که ژن‌هایی را که برای تجمع پروکسید بیش از حد بیان می‌کنند، سازگاری بهتری با تنش‌های غیرزیستی نشان می‌دهند (Ghosh et al., 2022).

فنول کل: اثر متقابل شوری و سلنیوم نشان داد که بیشترین مقدار فنول کل در تیمار شوری متوسط (۴ دسی زمینس بر متر) و نانوسلنیوم ۲ میلی‌گرم در لیتر گزارش شد (جدول ۴).

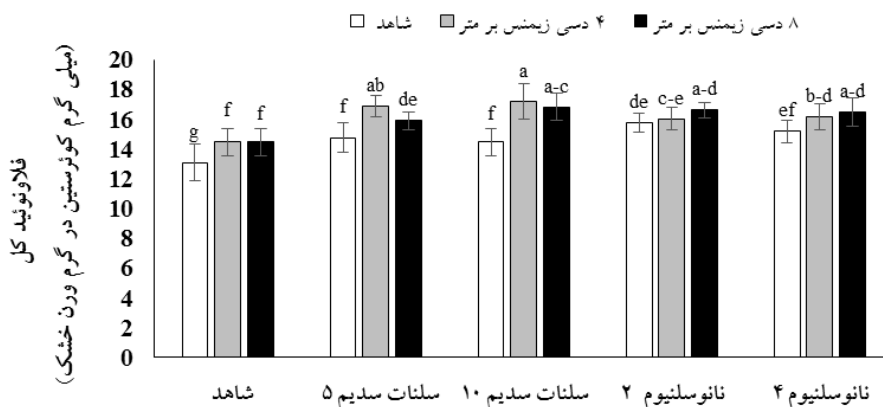
فلاونوئید کل: اثر متقابل شوری و سلنیوم نشان داد که بیشترین مقدار فلاونوئید کل در تیمار شوری متوسط و سلنات سدیم ۱۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش شد (شکل ۷).

فنول و فلاونوئید که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند در پاسخ به افزایش ROS تحت تنش‌های زنده و غیرزنده تحریک می‌شود. این ترکیبات مستقیماً گونه‌های مولکولی اکسیژن فعال را از بین برده و با به دام انداختن رادیکال لیپیدی آلکوکسیل،

جدول ۴- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار تنش شوری و تیمار بر میزان فنول کل و عملکرد اسانس گیاه بادرنجبویه

عملکرد اسانس (گرم در بوته)	فنول کل (میلی گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک)	تیمار (میلی گرم در لیتر)	تنش شوری (دسی زیمنس بر متر کلرید سدیم)
۹/۱۴ ^{gh}	۲۶/۲۰ ^j	صفر (شاهد)	
۱۰/۵۸ ^{de}	۲۷/۶۰ ⁱ	سلنات سدیم ۵	
۱۲/۱۰ ^{ab}	۲۹/۸۷ ^{ef}	سلنات سدیم ۱۰	صفر (شاهد)
۱۲/۵۴ ^a	۳۰/۵۰ ^{cde}	نانوسلنیوم ۲	
۱۱/۷۱ ^{bc}	۲۸/۹۳ ^{fgh}	نانوسلنیوم ۴	
۸/۲۴ ^{ij}	۲۹/۲۰ ^{efg}	صفر (شاهد)	
۹/۱۹ ^{gh}	۳۲/۱۰ ^{ab}	سلنات سدیم ۵	
۱۰/۲۶ ^{ef}	۳۱/۸۳ ^{abc}	سلنات سدیم ۱۰	۴ دسی زیمنس بر متر
۱۱/۴۷ ^{bc}	۳۳/۱۷ ^a	نانوسلنیوم ۲	
۱۱/۲۲ ^{cd}	۳۲/۴۳ ^{ab}	نانوسلنیوم ۴	
۶/۰۵ ^k	۲۷/۱۷ ^{ij}	صفر (شاهد)	
۷/۸۳ ^j	۲۸/۳۷ ^{ghi}	سلنات سدیم ۵	
۸/۵۹ ^{hij}	۲۹/۶۷ ^{efg}	سلنات سدیم ۱۰	۸ دسی زیمنس بر متر
۹/۵۶ ^{fg}	۳۱/۶۳ ^{bcd}	نانوسلنیوم ۲	
۸/۷۲ ^{hi}	۳۰/۲۷ ^{def}	نانوسلنیوم ۴	

حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار بین تیمارهاست.

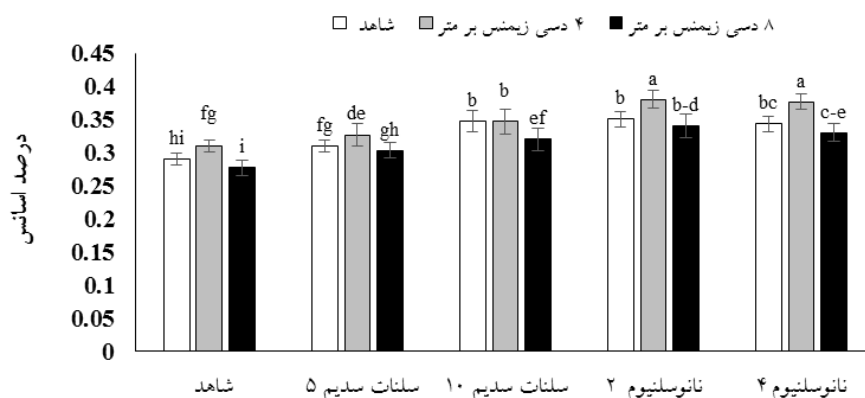


شوری (دسی زیمنس بر متر) × سلنیوم (میلی گرم در لیتر)

شکل ۷- اثر متقابل شوری و سلنیوم بر فلاونوئید کل برگ بادرنجبویه. حروف لاتین مشابه به معنی عدم تفاوت معنی دار در آزمون دانکن است. بارهای روی نمودار خطای استاندارد است.

محتوای اسانس گیاهان مختلف تحت تأثیر محرک های بیرونی ناشی از تغییر در اندازه و تعداد غده های ترشحی اسانس در واحد سطح می باشد که سبب تغییر در مقدار اسانس می شود

تشکیل می دهند. این مواد در قسمت های مختلف بسیاری از گیاهان دارویی وجود دارند (Ali-arab et al., 2022). نقش اسانس ها در شرایط تنش محافظت از گیاه است. افزایش



شوری (دسی زیمنس بر متر) × سلنیوم (میلی گرم در لیتر)

شکل ۸- اثر متقابل شوری و سلنیوم بر درصد اسانس بادرنجبویه. حروف لاتین مشابه به معنی عدم تفاوت معنی دار در آزمون دانکن است. بارهای روی نمودار خطای استاندارد است.

سلنیوم ریشه به سلنیوم برگ، نسبت کلر ریشه به کلر برگ، نسبت پتاسیم ریشه به کلر ریشه و نسبت پتاسیم برگ به کلر برگ در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل تیمارها بر نسبت پتاسیم ریشه به پتاسیم برگ، نسبت نیتروژن ریشه به نیتروژن برگ، نسبت سلنیوم ریشه به سلنیوم برگ، نسبت پتاسیم ریشه به کلر ریشه و نسبت پتاسیم برگ به کلر برگ در سطح احتمال یک درصد و بر نسبت کلر ریشه به کلر برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود (جدول ۵).

با توجه به نتایج مقایسه میانگین بیشترین مقدار عددی در میزان نسبت پتاسیم ریشه به پتاسیم برگ مربوط به تیمارهای عدم وجود تنش و عدم محلول پاشی، عدم وجود تنش و محلول پاشی با سلنات سدیم ۱۰ میلی گرم در لیتر، تنش شوری شدید و محلول پاشی با نانوسلنیوم ۴ میلی گرم در لیتر و تنش شوری شدید و محلول پاشی با سلنات سدیم ۱۰ میلی گرم در لیتر بود (جدول ۶).

بر اساس نتایج مقایسه میانگینها بیشترین نسبت نیتروژن ریشه به نیتروژن برگ مربوط به تیمارهای تنش شوری شدید و محلول پاشی با سلنات سدیم ۵۴ میلی گرم در لیتر و تنش شوری شدید و محلول پاشی با سلنات سدیم ۱۰ میلی گرم در لیتر بود (جدول ۶).

با استفاده از تیمارها نسبت سلنیوم ریشه به سلنیوم برگ در

(Mirzaie et al., 2020). افزایش درصد اسانس در شرایط شوری در گیاه بادرنجبویه توسط Ghasemian و همکاران (۲۰۲۱) در شرایط تنش متوسط با کاربرد نانوسلنیوم گزارش شد که تأییدکننده نتایج تحقیق حاضر است.

سلنیوم با تعدیل اثرات مضر تنش شوری سبب بهبود عملکرد اسانس شد. تنش های غیرزیستی می توانند بر تولید اسانس در گیاهان معطر تأثیر بگذارند (Memari-Tabrizi et al., 2021). کاهش سطح برگ و افزایش تعداد غدد اسانس در سطح برگ منجر به افزایش تولید اسانس می شود (Mirzaie et al., 2020). در تحقیقی مشابه روی گشنیز، کاهش عملکرد اسانس در تنش شدید شوری (بیشتر از ۱۰۰ میلی مولار) گزارش شد که همسو با نتایج تحقیق حاضر است (Amiripour et al., 2021). در تحقیقی مشابه، Afshari و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که نانوسیلیکون به مراتب اثر بهتری بر عملکرد اسانس گشنیز نسبت به فرم عادی آن داشت که چنین دستاوردی در تحقیق حاضر نیز حاصل شد.

عناصر معدنی: اثر ساده تنش شوری بر نسبت پتاسیم ریشه به پتاسیم برگ، نسبت نیتروژن ریشه به نیتروژن برگ، نسبت سلنیوم ریشه به سلنیوم برگ، نسبت کلر ریشه به کلر برگ، نسبت پتاسیم ریشه به کلر ریشه و نسبت پتاسیم برگ به کلر برگ در سطح احتمال یک درصد و اثر ساده تیمارها بر نسبت

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر میزان نسبت جذب عناصر معدنی در گیاه بادرنجبویه

میانگین مربعات							منبع تغییرات
نسبت پتاسیم	نسبت	نسبت کلر	نسبت سلنیوم	نسبت نیتروژن	نسبت پتاسیم	درجه آزادی	
برگ به کلر	پتاسیم ریشه	ریشه به کلر	ریشه به سلنیوم برگ	ریشه به نیتروژن برگ	ریشه به پتاسیم برگ		
۸/۸۸**	۱۰/۳۰**	۰/۳۷**	۰/۰۱**	۱/۲۸**	۰/۰۳**	۲	شوری
۰/۱۷**	۰/۱۷**	۰/۰۳**	۰/۰۹**	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۵ ^{ns}	۴	تیمارهای محلول پاشی
۰/۰۸**	۰/۰۶**	۰/۰۱*	۰/۰۰۳**	۰/۰۴**	۰/۰۰۸**	۸	شوری × تیمارهای محلول پاشی
۰/۰۱	۱/۲۶	۰/۰۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۲	۳۰	خطا
۸/۱۹	۷/۳۰	۵/۴۶	۱۲/۴۴	۵/۴۲	۳/۸۷	-	ضریب تغییرات

** بیانگر معنی داری در سطح ۱ درصد است.

جدول ۶- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار تنش شوری و تیمار بر نسبت عناصر معدنی به یکدیگر در گیاه بادرنجبویه

تنش شوری (دسی زیمنس بر متر کلرید سدیم)	تیمار (میلی گرم در لیتر)	نسبت پتاسیم	نسبت نیتروژن	نسبت سلنیوم	نسبت کلر	نسبت پتاسیم	نسبت پتاسیم
		ریشه به برگ	ریشه به برگ	ریشه به برگ	ریشه به برگ	ریشه به برگ	برگ به کلر
صفر (شاهد)	۱/۲۷ ^a	۱/۳۲ ^d	۰/۲۴ ^c	۱/۳۲ ^{de}	۲/۱۰ ^{ab}	۲/۱۷ ^a	۲/۱۷ ^a
سلنات سدیم ۵	۱/۱۶ ^{bcd}	۱/۳۵ ^{cd}	۰/۰۷۰ ^{de}	۱/۱۱ ^f	۲/۲۲ ^a	۲/۱۳ ^a	۲/۱۳ ^a
صفر (شاهد)	۱/۲۶ ^a	۱/۳۵ ^{cd}	۰/۰۵۳ ^e	۱/۳۵ ^{cd}	۲/۰۳ ^b	۲/۱۷ ^a	۲/۱۷ ^a
نانوسلنیوم ۲	۱/۲۴ ^{ab}	۱/۳۲ ^d	۰/۰۷۰ ^{de}	۱/۲۱ ^{ef}	۲/۱۹ ^a	۲/۱۴ ^a	۲/۱۴ ^a
نانوسلنیوم ۴	۱/۲۴ ^{ab}	۱/۳۳ ^d	۰/۰۵۳ ^e	۱/۲۱ ^{ef}	۲/۱۷ ^a	۲/۱۱ ^a	۲/۱۱ ^a
صفر (شاهد)	۱/۱۱ ^e	۱/۲۶ ^d	۰/۲۸ ^b	۱/۵۲ ^{ab}	۰/۷۰ ^f	۰/۹۶ ^d	۰/۹۶ ^d
سلنات سدیم ۵	۱/۱۳ ^{cde}	۰/۹۳ ^e	۰/۰۹۰ ^d	۱/۶۳ ^a	۱/۰۷ ^e	۱/۵۴ ^c	۱/۵۴ ^c
سلنات سدیم ۱۰	۱/۱۹ ^{abcd}	۰/۹۲ ^e	۰/۰۷۳ ^{de}	۱/۵۶ ^{ab}	۱/۲۳ ^d	۱/۶۲ ^{bc}	۱/۶۲ ^{bc}
نانوسلنیوم ۲	۱/۲۱ ^{ab}	۰/۹۱ ^e	۰/۰۸۷ ^d	۱/۴۵ ^{bcd}	۱/۴۵ ^c	۱/۷۴ ^b	۱/۷۴ ^b
نانوسلنیوم ۴	۱/۱۳ ^{cde}	۰/۹۵ ^e	۰/۰۶۸ ^{de}	۱/۴۴ ^{bcd}	۱/۳۰ ^d	۱/۶۶ ^{bc}	۱/۶۶ ^{bc}
صفر (شاهد)	۱/۲۱ ^{abc}	۱/۴۶ ^{bc}	۰/۳۹۳ ^a	۱/۵۹ ^{ab}	۰/۳۲ ^h	۰/۴۲ ^g	۰/۴۲ ^g
سلنات سدیم ۵	۱/۲۳ ^{ab}	۱/۶۴ ^a	۰/۰۹۳ ^d	۱/۴۵ ^{bcd}	۰/۴۹ ^g	۰/۵۸ ^{fg}	۰/۵۸ ^{fg}
سلنات سدیم ۱۰	۱/۲۵ ^a	۱/۶۳ ^a	۰/۰۸۷ ^d	۱/۵۴ ^{ab}	۰/۵۲ ^g	۰/۶۴ ^{ef}	۰/۶۴ ^{ef}
نانوسلنیوم ۲	۱/۱۳ ^{de}	۱/۵۷ ^{ab}	۰/۰۸۰ ^{de}	۱/۴۸ ^{bc}	۰/۵۸ ^{fg}	۰/۷۷ ^e	۰/۷۷ ^e
نانوسلنیوم ۴	۱/۲۶ ^a	۱/۵۸ ^{ab}	۰/۰۸۳ ^d	۱/۴۵ ^{bcd}	۰/۵۶ ^g	۰/۶۵ ^{ef}	۰/۶۵ ^{ef}

حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار بین تیمارهاست.

نسبت سلنیوم ریشه به سلنیوم برگ (۰/۳۹۳) در تیمار تنش شوری شدید و بدون محلول پاشی مشاهده شد (جدول ۶).

هر سه سطح تنش کاهش یافت؛ اگرچه با افزایش شدت تنش شوری این نسبت افزایش پیدا کرد. بیشترین مقدار عددی

پراکسیداسیون لیپیدی با فعال کردن کانال‌های جریان پتاسیم باعث نشت پتاسیم می‌شود (Fathi et al., 2019). نسبت سدیم به پتاسیم غشای سلولی نقش مهمی در باز و بسته شدن منافذ روزنه و کنترل فرآیند فتوسنتز دارند. بنابراین، تنظیم غلظت عناصر در روزنه‌ها برای حفظ ظرفیت فتوسنتزی بهینه در شرایط تنش شوری مورد نیاز است. حفظ نسبت سدیم به پتاسیم مهمترین عامل در تحمل به شوری است. که سلنیوم، رشد گیاه را با افزایش تولید اکسین درون‌زا بهبود می‌بخشد. بنابراین، تقسیم سلولی را فعال می‌کند، یکپارچگی غشاء را حفظ می‌کند، فسفولیپیدها را ذخیره و سنتز پروتئین را بهبود می‌بخشد، محتوای کلروفیل را افزایش داده و رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برد و در نهایت مواد مغذی را منتقل می‌کند (Ghasemian, Babashpour et al., 2022). همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که سلنیوم در شرایط تنش شوری مانع تجمع سدیم و کلر در اندام هوایی گیاه بادرنجبویه شد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش شوری باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی معنی‌دار در گیاه می‌شود، از جمله کاهش وزن خشک اندام هوایی، کاهش محتوای کلروفیل و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها (با افزایش MDA). با این حال، کاربرد منابع سلنیوم، به‌ویژه نانوسلنیوم، توانست اثرات منفی تنش شوری را تا حد قابل‌توجهی کاهش دهد. این ترکیبات با بهبود فعالیت آنزیم PAL، افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه (فنول‌ها و فلاونوئیدها) و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، مقاومت گیاه به تنش شوری را افزایش دادند. همچنین، سلنیوم باعث بهبود جذب و توزیع عناصر معدنی (پتاسیم، نیتروژن و کلر) در اندام‌های گیاهی شد. نتایج این مطالعه حاکی از آن است که نانوسلنیوم در مقایسه با سلنات سدیم، کارایی بیشتری در کاهش اثرات منفی تنش شوری و بهبود عملکرد گیاه دارد. بنابراین، استفاده از نانوسلنیوم به‌عنوان یک راهکار بیوتکنولوژیک برای افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری و بهبود عملکرد آن‌ها در شرایط

بیشترین نسبت پتاسیم ریشه به کلر ریشه در تیمار بدون تنش شوری و سلنات سدیم ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و پس از آن در تیمارهای بدون تنش شوری و محلول‌پاشی نانوسلنیوم ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد (جدول ۶).

با افزایش شدت تنش شوری نسبت پتاسیم برگ به کلر برگ کاهش یافت. بیشترین مقدار نسبت پتاسیم برگ به کلر برگ (۰/۳۹۳) در تیمارهای بدون تنش شوری و در هر ۵ سطح تیمار مشاهده شد (جدول ۶).

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تنش شوری تأثیرات قابل توجهی بر توزیع و جذب عناصر معدنی مانند پتاسیم، نیتروژن، سلنیوم و کلر در گیاه دارد (جدول ۶). تنش شوری به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل استرس‌زای محیطی، ناشی از تجمع بیش از حد نمک‌های محلول در ناحیه ریزوسفر (منطقه اطراف ریشه) است. غلظت‌های زیاد نمک‌های محلول با افزایش فشار اسمزی، سمیت یونی و محدود کردن جذب آب از ریشه بر رشد گیاهان و در نتیجه تولید کشاورزی اثر می‌گذارند. بخش اصلی بازدارندگی رشد، با تجمع سدیم اضافی در خاک ایجاد می‌شود (Jouyban, 2012). غلظت بالای سدیم در گیاه می‌تواند منجر به آسیب اسمزی و استرس اکسیداتیو شود و متابولیسم‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را تحت تأثیر قرار دهد و در نتیجه باعث کاهش رشد گیاه شود (Gupta and Huang, 2014).

Sabra و همکاران (۲۰۱۲) روی سه گونه سرخارگل (*Echinacea purpurea*، *Echinacea pallida* و *Echinacea angustifolia*) نشان دادند که شوری سبب افزایش غلظت سدیم و کلر در ریشه و اندام هوایی شد. در تحقیقی مشابه، Bistgani و همکاران (۲۰۱۸) کاهش عناصر پتاسیم، کلسیم و منیزیم و افزایش کلر و سدیم تحت تنش شوری در گیاهان *Thymus vulgaris* و *Thymus daenensis* را گزارش کردند. در شرایط تنش شوری، سطوح بالای سدیم نه تنها از جذب پتاسیم توسط ریشه جلوگیری می‌کند و محتوای پتاسیم را کاهش می‌دهد، بلکه یکپارچگی غشای ریشه را مختل می‌کند و بر نفوذپذیری انتخابی آن تأثیر می‌گذارد. در نتیجه،

نامساعد محیطی پیشنهاد می‌شود. این یافته‌ها می‌تواند در برنامه‌های مدیریت کشاورزی پایدار و تولید گیاهان مقاوم به شوری مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

- نورزاد، سودابه، احمدیان، احمد، و مقدم، محمد (۱۳۹۴). بررسی میزان پرولین، شاخص کلروفیل، کربوهیدرات و مقدار جذب عناصر غذایی در گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) تحت تأثیر تنش خشکی و تیمار کودی. پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۳(۱)، ۱۳۱-۱۳۹. <https://doi.org/10.22067/gsc.v13i1.26013>
- Afshari, M., Pazoki, A., & Sadeghipour, O. (2021). Foliar-applied silicon and its nanoparticles stimulates physio-chemical changes to improve growth, yield and active constituents of coriander (*Coriandrum Sativum* L.) essential oil under different irrigation regimes. *Silicon*, 13, 4177-4188. <https://doi.org/10.1007/s12633-021-01101-8>
- Ahmadi, M., & Souri, M. K. (2018). Growth and mineral content of coriander (*Coriandrum sativum* L.) plants under mild salinity with different salts. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(11), 1-8. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2773-x>
- Alawamleh, H. S. K., Jabbari, H., Moradkhani, S., & Babashpour-Asl, M. (2023). Cold plasma and foliar-applied selenium nanoparticles modulated cadmium toxicity through changes in physio-biochemical properties and essential oil profile of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-15. <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01152-3>
- Ali-Arab, H., Bahadori, F., Mirza, M., Badi, H. N., & Kalate-Jari, S. (2022). Variability in essential oil composition and phenolic acid profile of *Thymus daenensis* Celak. populations from Iran. *Industrial Crops and Products*, 178, 114345. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114345>
- Amiripour, A., Ghanbari Jahromi, M., Soori, M. K., & Mohammadi Torkashvand, A. (2021). Changes in essential oil composition and fatty acid profile of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves under salinity and foliar-applied silicon. *Industrial Crops and Products*, 168, 113599. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113599>
- Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Journal of Agronomy*, 23, 112-121.
- Azeem, M., Pirjan, K., Qasim, M., Mahmood, A., Javed, T., Muhammad, H., ... & Rahimi, M. (2023). Salinity stress improves antioxidant potential by modulating physio-biochemical responses in *Moringa oleifera* Lam. *Scientific Reports*, 13(1), 2895. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29954-6>
- Babashpour-Asl, M., Farajzadeh-Memari-Tabrizi, E., & Yousefpour-Dokhanieh, A. (2022). Foliar-applied selenium nanoparticles alleviate cadmium stress through changes in physio-biochemical status and essential oil profile of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(53), 80021-80031. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19941-1>
- Bartwal, A., Mall, R., Lohani, P., Guru, S. K., & Arora, S. (2013). Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32, 216-232. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9272-x>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/bf00018060>
- Bharti, N., Barnawal, D., Awasthi, A., Yadav, A., & Kalra, A. (2014). Plant growth promoting rhizobacteria alleviate salinity induced negative effects on growth, oil content and physiological status in *Mentha arvensis*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36, 45-60. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1385-8>
- Bistgani, Z. E., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., Pirbalouti, A. G., Hashemi, M., Maggi, F., & Morshedloo, M. R. (2018). Application of combined fertilizers improves biomass, essential oil yield, aroma profile, and antioxidant properties of *Thymus daenensis* Celak. *Industrial Crops and Products*, 121, 434-440. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.048>
- Bybordi, A. (2016). Influence of zeolite, selenium and silicon upon some agronomic and physiologic characteristics of canola grown under salinity. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 47(7), 832-850. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1146898>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/224-6614.2748>
- Chapman, H. D., & Pratt, P. F. (1962). Methods of analysis for soils, plants and waters. *Soil Science*, 93, 68. <https://doi.org/10.1097/00010694-196201000-00015>
- Chindo, B. A., Howes, M. J. R., Abuhamdah, S., Yakubu, M. I., Ayuba, G. I., Battison, A., & Chazot, P. L. (2021). New insights into the anticonvulsant effects of essential oil from *Melissa officinalis* L. (Lemon Balm). *Frontiers in*

- Pharmacology*, 12, 760674. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.760674>
- Fathi, S., Kharazmi, M., & Najafian, S. (2019). Effects of salicylic acid foliar application on morpho-physiological traits of purslane (*Portulaca oleracea* L.) under salinity stress conditions. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 9(2), 1-9. (With Persian abstract). <https://sid.ir/paper/388449/en>
- Farag, H. A. S., Ibrahim, M. F. M., El-Yazied, A. A., El-Beltagi, H. S., El-Gawad, H. G. A., Alqurashi, M., Shalaby, T. A., Mansour, A. T., Alkhateeb, A. A., & Farag, R. (2022). Applied selenium as a powerful antioxidant to mitigate the harmful effects of salinity stress in Snap bean seedlings. *Agronomy*, 12(12), 3215. <https://doi.org/10.3390/agronomy12123215>
- Garriga, M., Retamales, J. B., Romero-Bravo, S., Caligari, P. D. S., & Lobos, G. A. (2014). Chlorophyll, anthocyanin, and gas exchange changes assessed by spectroradiometry in *Fragaria chiloensis* under salt stress. *Journal of Integrative Plant Biology*, 56(6), 505-515. <https://doi.org/10.1111/jipb.12193>
- Ghanbari, F., Bag-Nazari, M., & Azizi, A. (2023). Exogenous application of selenium and nano-selenium alleviates salt stress and improves secondary metabolites in lemon verbena under salinity stress. *Scientific Reports*, 13, 5352. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32436-4>
- Ghasemian, S., Masoudian, N., Saeid Nematpour, F., & Safipour Afshar, A. (2021). Selenium nanoparticles stimulate growth, physiology, and gene expression to alleviate salt stress in *Melissa officinalis*. *Biologia*, 76(10), 2879-2888. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00854-2>
- Ghazizadeh, J., Sadigh-Eteghad, S., Marx, W., Fakhari, A., Hamedeyazdan, S., Torbati, M., ... & Mirghafourvand, M. (2021). The effects of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) on depression and anxiety in clinical trials: A systematic review and meta-analysis. *Phytotherapy Research*, 35(12), 6690-6705. <https://doi.org/10.1002/ptr.7252>
- Ghosh, U. K., Islam, M. N., Siddiqui, M. N., Cao, X., & Khan, M. A. R. (2022). Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: Understanding the physiological mechanisms. *Plant Biology*, 24(2), 227-239. <https://doi.org/10.1111/plb.13363>
- Gonzalez-Garcia, M., Alvarez, J. C., Perez, E. Z., Fernandez-Carriba, S., & Lopez, J. G. (2021). Feasibility of a brief online mindfulness and compassion-based intervention to promote mental health among university students during the Covid-19 pandemic. *Mindfulness*, 12(7), 1685-1695. <https://doi.org/10.1007/s12671-021-01632-6>
- Gupta, B., & Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: Physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*, 701596. <https://doi.org/10.1155/2014/701596>
- Hajihashemi, S., & Ehsanpour, A. A. (2013). Influence of exogenously applied paclobutrazol on some physiological traits and growth of *Stevia rebaudiana* under *in vitro* drought stress. *Biologia*, 68, 414-420. <https://doi.org/10.2478/s11756-013-0165-7>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Raza, A., Hawrylak-Nowak, B., Matraszek-Gawron, R., Al Mahmud, J., ... & Fujita, M. (2020). Selenium in plants: Boon or bane?. *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104170. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104170>
- Hussein, H. A., Darwesh, O. M., & Mekki, B. B. (2019a). Environmentally friendly nano-selenium to improve antioxidant system and growth of groundnut cultivars under sandy soil conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101080>
- Hussein, H. A. A., Darwesh, O. M., Mekki, B. B., & Hallouty, S. M. (2019b). Evaluation of cytotoxicity, biochemical profile and yield components of groundnut plants treated with nano-selenium. *Biotechnology Reports*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00377>
- Inbar, J., Abramsky, M., Cohen, D., & Chet, I. (1994). Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 100(5), 337-346. <https://doi.org/10.1007/bf01876444>
- Isayenkov, S. V., & Maathuis, F. J. M. (2019). Plant salinity stress: Many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*, 10, 80. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080>
- Jouyban, Z. (2012). The effects of salt stress on plant growth. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 2, 7-10.
- Karimi, R., Ghabooli, M., Rahimi, J., & Amerian, M. (2020). Effects of foliar selenium application on some physiological and phytochemical parameters of *Vitis vinifera* L. cv. Sultana under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 43(14), 2226-2242. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1766072>
- Khan, A., Khan, A. L., Muneer, S., Kim, Y. H., Al-Rawahi, A., & Al-Harrasi, A. (2019). Silicon and salinity: Crosstalk in crop-mediated stress tolerance mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 7(10), 1429. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01429>
- Kiumarzi, F., Morshedloo, M. R., Zahedi, S. M., Mumivand, H., Behtash, F., Hano, C., ... & Lorenzo, J. M. (2022). Selenium nanoparticles (Se-NPs) alleviates salinity damages and improves phytochemical characteristics of pineapple mint (*Mentha suaveolens* Ehrh.). *Plants*, 11(10), 1384. <https://doi.org/10.3390/plants11101384>
- Liu, M., Yu, H., Ouyang, B., Shi, C., Demidchik, V., Hao, Z., Yu, M., & Shabala, S. (2020). NADPH oxidases and the evolution of plant salinity tolerance. *Plant, Cell and Environment*, 43(12), 2957-2969.

<https://doi.org/10.1111/pce.13907>

- Ma, Y., Dias, M. C., & Freitas, H. (2020). Drought and salinity stress responses and microbe-induced tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 591911. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.591911>
- Mahaveer, B. M., & Jaldappa, S. (2000). Spectrophotometric determination of selenium (IV) using methdilazine hydrochloride. *Turkish Journal of Chemistry*, *24*, 287-290.
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Autolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, *73*, 73-84. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(00\)00288-0](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(00)00288-0)
- Memari-Tabrizi, E. F., Yousefpour-Dokhanieh, A., & Babashpour-Asl, M. (2021). Foliar-applied silicon nanoparticles mitigate cadmium stress through physio-chemical changes to improve growth, antioxidant capacity, and essential oil profile of summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, *165*, 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.04.040>
- Mirzaie, M., Ladanmoghadam, A. R., Hakimi, L., & Danaee, E. (2020). Water stress modifies essential oil yield and composition, glandular trichomes and stomatal features of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *22*(6), 1575-1585. (With Persian abstract). <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.16807073.2020.22.6.15.1>
- Mousavi, S. A., Roosta, H. R., Esmailizadeh, M., & Eshghi, S. (2022). Alleviating the adverse effects of salinity and alkalinity stresses on some physiological traits by selenium and silicon foliar applications on cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. *Journal of Plant Nutrition*, *46*(2), 1-18. <https://doi.org/10.1080/01904167.2022.2043370>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, *59*, 651-81. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M., & Bassami, M. R. (2010). Phytochemical composition of the essential oils from three apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chemistry*, *120*, 765-770. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.008>
- Pan, Y., Kang, P., Tan, M., Hu, J., Zhang, Y., Zhang, J., Song, N., & Li, X. (2022). Root exudates and rhizosphere soil bacterial relationships of *Nitraria tangutorum* are linked to k-strategists bacterial community under salt stress. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 997292. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.997292>
- Penella, C., Landi, M., Guidi, L., Nebauer, S. G., Pellegrini, E., & San Bautista, A., et al. (2016). Salt-tolerant rootstock increases yield of pepper under salinity through maintenance of photosynthetic performance and sinks strength. *Journal of Plant Physiology*, *193*, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.02.007>
- Pirbalouti, A. G., Nekoei, M., Rahimmalek, M., & Malekpoor, F. (2019). Chemical composition and yield of essential oil from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under foliar applications of jasmonic and salicylic acids. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *19*, 101144. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101144>
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T., & Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, *30*, 105-111. <https://doi.org/10.2135/cropsci.1990.0011183x003000010025x>
- Sabra, A., Adam, L. R., Daayf, F., & Renault, S. (2012). Salinity-induced changes in caffeic acid derivatives and alkaloids/ ketones in three Echinacea species. *Environmental and Experimental Botany*, *77*, 234. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.11.013>
- Sefidkon, F., Abbasi K., & Khaniki, G. B. (2006). Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*, *99*, 19-23. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.026>
- Shalaby, T. A., Abd-alkarim, E., El-Aidy, F., Hamed, E. S., Sharaf-Eldin, M., Taha, N., El-Ramady, H., Bayoumi, Y., & Dos Reis, A. R. (2021). Nano-selenium, silicon and H₂O₂ boost growth and productivity of cucumber under combined salinity and heat stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *212*, 111962. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111962>
- Singh, S., Singh, P., Tomar, R. S., Sharma, R. A., & Singh, S. K. (2022). Proline: A key player to regulate biotic and abiotic stress in plants. *In Towards Sustainable Natural Resources*, 333-346. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-06443-2-18>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*, 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Sparks, D. L. (1996). *Methods of Soil Analysis Part 3: Chemical Methods*. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, Madison.
- Tavakoli, S., Enteshari, S., & Yousefifard, M. (2020). Investigation of the effect of selenium on growth, antioxidant capacity and secondary metabolites in *Melissa officinalis*. *Iranian Journal of Plant Physiology*, *10*, 3125-3134. (With Persian abstract). <https://doi.org/10.30495/ijpp.2020.672572>
- Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L., & Gasparikova, O. (2006). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant Soil and Environment*, *52*(4), 184. <https://doi.org/10.17221/3364-pse>

- Wang, J., Zheng, L., Wu, J., & Tan, R. (2006). Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammoniolyase activation and Taxol production induced by lowenergy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. *Cell Physiology*, 14, 391-397. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2006.04.261>
- Wungrampha, S., Joshi, R., Singla-Pareek, S. L., & Pareek, A. (2018). Photosynthesis and salinity: Are these mutually exclusive? *Photosynthetica*, 56(1), 366-381. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0763-7>
- Xuan, T. D., Huong, C. T., Quan, N. V., Anh, L. H., Khanh, T. D., & Rayee, R. (2022). Improvement of salinity tolerance in rice seedlings by exogenous magnesium sulfate application. *Soil Systems*, 6(3), 69. <https://doi.org/10.3390/soilsystems6030069>
- 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.2019.04.078>

The effect of foliar application of sodium selenate and nano-selenium on growth traits and biochemical characteristics of *Melissa officinalis* under salt stress conditions

Mahsa Torabian, Sepideh Kalateh Jari*, Marzieh Ghanbari Jahromi

Department of Horticulture and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: 2025/02/16, Accepted: 2025/05/06)

Abstract

The external application of stress modulators is often effective in reducing the effects of environmental stresses. This research was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications to compare two different forms of selenium (sodium selenate and nano-selenium) in mitigating the adverse effects of salt stress on *Melissa officinalis*. The experimental treatments included three levels of salt stress (0, 4, and 8 dS/m) and five levels of foliar application (control (zero), 5 and 10 mg/L sodium selenate, and 2 and 4 mg/L nano-selenium). Based on the results, salt stress and different selenium treatments significantly affected phenylalanine ammonia-lyase (PAL) enzyme activity, malondialdehyde (MDA) concentration, relative leaf water content, proline, total phenols, total flavonoids, and essential oil yield. The highest fresh weight of the aerial parts was observed in the treatment with 10 mg/L sodium selenate and no salt stress. Salt stress significantly reduced the dry weight of the aerial parts (19.24% compared to the control), while foliar application of selenium sources (sodium selenate and nano-selenium) compensated for this reduction. Total chlorophyll decreased by 22.65% under severe salt stress compared to the control, with the highest amount obtained in the treatment with 2 mg/L nano-selenium and no salt stress. Under severe salt stress without foliar application, PAL enzyme activity decreased by 69.81%, and MDA content decreased by 39.19% compared to the control. In mild salt stress with 10 mg/L sodium selenate foliar application, total flavonoids increased by 31.30%, while under mild salt stress with 2 mg/L nano-selenium foliar application, the essential oil percentage of lemon balm increased by 31.03% compared to the control. The highest essential oil yield (12.54 g per plant) was observed in the treatment with 2 mg/L nano-selenium and no salt stress. The ratios of mineral elements (potassium, nitrogen, selenium, and chlorine) in the roots and leaves were also affected by salt stress and treatment solutions. Under severe salt stress with 10 mg/L sodium selenate, the root-to-leaf potassium ratio (1.25) and root-to-leaf nitrogen ratio (1.63) were higher than in other treatments. In severe salt stress without foliar application, the root-to-leaf selenium ratio was 0.393, indicating greater selenium accumulation in the leaves. Overall, it can be concluded that nano-selenium was more effective than sodium selenate in alleviating the negative effects of salt stress on the medicinal plant lemon balm.

Keywords: Chloride-to-potassium ratio, Elemental toxicity, Resistance, Salt stress, Toxicity

Corresponding author, Email: kalatehjari@srbiau.ac.ir