

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

ناصر کریمی^{۱*} و زینب صیدی خواه^۲

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۱/۲۵)

چکیده

شبه فلز سلنیوم به عنوان یک عنصر مفید در غلظت‌های پایین باعث افزایش رشد گیاه می‌شود در حالی که غلظت‌های بالای آن موجب ایجاد سمیت در گیاهان می‌گردد. هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر رشد و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی دو گونه *Allium iranicum* (تره ایرانی) و *Allium ampeloprasum* (تره کوهی) در شرایط کنترل شده بود. بدین منظور گیاهان در شرایط کشت گلدانی و در مرحله‌ی چهار برگگی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم (۰، ۲۰، ۴۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ میکرومولار) معادل غلظت‌های (۰، ۲، ۴، ۱۱ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سلنیوم، میزان رشد (وزن غده و بخش هوایی و همچنین محتوی کلروفیل) دو گونه به طور معنی‌داری کاهش یافت به طوری که بیشترین کاهش مربوط به تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر بود. محتوای مالون دی-آلدئید در تیمارهای بیش از ۲ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. به دنبال افزایش سطوح سلنیوم، فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش ولی مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همانند کربوهیدرات و پروتئین افزایش یافت. نتایج نشان داد که غلظت‌های کم سلنیوم (۰ تا ۲ میلی‌گرم بر لیتر) با افزایش محتوای کلروفیل و همچنین سنتز کربوهیدرات موجب افزایش رشد می‌شود، ولی غلظت‌های بالاتر سلنیوم (۴ تا ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر) به دلیل تولید انواع اکسیژن فعال، موجب کاهش زیست توده می‌شود. به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سطوح مختلف سلنیوم، تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک غده و بخش هوایی دو گونه داشت؛ مهمترین علائم ریخت‌شناسی سمیت سلنیوم به صورت کلروز برگ‌های جوان و کاهش رشد غده و بخش هوایی مشاهده شد.

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

مقدمه

تجمع فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی امری بدیهی است (Wong et al., 2002). انباشت فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی سبب تخریب ساختار خاک و کاهش رشد گیاه شده و با ایجاد اختلال در زنجیره غذایی، سلامتی انسان را تهدید می‌کند (Lee et al., 2006). سلنیوم به عنوان یک عنصر کمیاب با عدد اتمی ۳۴ در گروه

خاک‌های کشاورزی به طور مستقیم و غیرمستقیم از راه تولیدات غذایی روی سلامت عمومی انسان تأثیر می‌گذارند، بنابراین حفاظت از این منبع و اطمینان از پایداری آن حایز اهمیت می‌باشد. با توجه به پیشرفت سریع صنایع و افزایش رهاسازی مواد شیمیایی به محیط زیست، نگرانی در مورد

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

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

نتایج مطالعات مختلف حاکی از نقش حمایتی سلنیوم در برابر تنش اکسیداتیو است که این امر از راه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله گلوکوتاتیون پراکسیداز جهت کاهش میزان رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش پراکسیداسیون لیپیدها صورت می‌گیرد (Xue *et al.*, 2000). بنابراین، سلنیوم دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌تواند از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد خسارت‌های ناشی از تنش اکسیداتیو را خنثی کند (Hartikainen and Txue, 1999). انواع ROS ها با افزایش سطوح مالون دی‌آلدئید غشا (Dan *et al.*, 2013) و تخریب کلروفیل (Hawrylak *et al.*, 2007) سبب کاهش رشد گیاه می‌شوند. در مقابل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با جذب رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند و موجب افزایش زیست‌توده گیاه می‌گردند (Yang, 1991). پیاز خوراکی به‌عنوان یکی از گونه‌های جنس پیاز (Allium) است که در سال ۲۰۰۵ طبق آمار فائو تولید آن به

ششم جدول تناوبی قرار دارد (Freman *et al.*, 2006). این عنصر به‌طور طبیعی به فرم‌های سلنات (Selenate) و سلنیت (selenite) در رسوبات آتشفشانی و منابع اتمسفری یافت می‌شود (Srivastava *et al.*, 2009). سلنیوم علاوه بر حفاظت بدن انسان و حیوانات در برابر تنش اکسیداتیو و سرطان (Combs *et al.*, 2001)، جزو ساختار آنزیم‌هایی از جمله گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX; Glutathione Peroxidase) می‌باشد (Macleod *et al.*, 1996). سلنیوم به شکل سلنات یا سلنیت جذب گیاهان شده و به سلنومتیونین (Selenomethionine) و یا سلنوسیستئین (Selenocysteine) تبدیل می‌شود (Lyons *et al.*, 2009; Navarro and Cabrera, 2008). جذب سلنات با مصرف ATP همراه بوده ولی سلنیت به شکل غیرفعال جذب می‌شود (sors *et al.*, 2005). به‌علت تشابه شیمیایی سلنیوم با سولفور، گیاهان سلنیوم را از طریق ناقلین سولفور از خاک جذب می‌کنند (Spadoni *et al.*, 2007). میزان انتقال سلنیوم به اندام‌های مختلف گیاهی بسته به گونه گیاه، مرحله رشد، دما و رطوبت خاک متفاوت است (Spadoni *et al.*, 2007). گیاهان از نظر کارایی انباشت سلنیوم به دو دسته انباشت‌گر (سیر، تره‌فرنگی و گون) و غیر انباشت‌گر تقسیم می‌شوند (Bulska *et al.*, 2006; Emese *et al.*, 2009). غلظت‌های پایین سلنیوم به عنوان محرک رشد، افزایش نمو و فعالیت فتوسنتزی در گیاهان را به‌دنبال دارد (Pennanen *et al.*, 2002) اما تیمارهای بالای این عنصر (۴ تا ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر)، منجر به کلروز و نکروز برگ، کاهش رشد و در نهایت مرگ پیش از بلوغ گیاه می‌شود (Terry *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2012). به‌طور کلی مقادیر سمی سلنیوم با غیرفعال کردن آنزیم‌ها، کلاته کردن مولکول‌های متابولیکی، جانشینی با عناصر ضروری و گسستگی غشا، رشد گیاه را مختل می‌کند (LaRocca *et al.*, 2009).

تنش ناشی از سمیت سلنیوم موجب تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygene Species) و در نتیجه ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند (Spallholz and Hoffman, 2002). ROS ها می‌توانند به‌طور

از موسسه جنگل‌ها و مراتع جهاد کشاورزی (کرج) خریداری شد و بذر گونه تره ایرانی (*Allium iranicum*) از مراتع شهرستان‌های مختلف اطراف کرمانشاه جمع‌آوری گردید. در این پژوهش ۱۵ عدد از بذر دو گونه در گلدان‌های پلاستیکی محتوی ماسه و خاک با نسبت یکسان کاشته شد و سپس گلدان‌ها هر سه روز یک‌بار آبیاری گردید. پس از رسیدن گیاهان به مرحله چهار برگی، گلدان‌ها به گروه‌های سه گلدانی (هر تیمار، سه تکرار) تقسیم شدند و تحت تیمار سلنیوم در غلظت‌های ۰، ۲۰، ۴۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ میکرومولار (معادل ۰، ۲، ۴، ۱۱ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر) قرار گرفتند. تیمارهای سلنیوم به‌وسیله نمک سلنات سدیم ($\text{Na}_2\text{O}_4\text{Se}$) تهیه و از راه آب آبیاری به خاک گلدان‌ها اضافه شدند. پس از پایان تیماردهی، برخی پارامترهای رشد و فیزیولوژیک در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه رازی اندازه‌گیری شد.

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

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل کل با استفاده از روش آرنون (۱۹۴۹) انجام شد. ۰/۱ گرم از وزن تر گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. محلول حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید، سپس جذب توسط اسپکتروفتومتر مدل Bausch & Lomb 70) در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر خوانده شد. در نهایت میزان کلروفیل کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بر اساس رابطه (۱-۳) محاسبه گردید (Arnon, 1949).

$$(1) \text{ کلروفیل } a = [(12/7 \times \text{جذب } 663) - (2/6 \times \text{جذب } 645)]$$

میلی‌لیتر استون / میلی‌گرم بافت

$$(2) \text{ کلروفیل } b = [(22/9 \times \text{جذب } 645) - (2/6 \times \text{جذب } 663)]$$

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

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

مواد و روش‌ها

کشت گلدانی: بذر گونه تره کوهی (*Allium ampeloprasum*)

میلی لیتر استون / میلی گرم بافت

(۳) کلروفیل کل = کلروفیل a + کلروفیل b

محتوای قندهای محلول گیاه با استفاده از روش فنل-اسیدسولفوریک اندازه‌گیری شد. برای استخراج قند از بافت گیاهی، ۰/۰۱ گرم از بافت خشک با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر گرم ساییده و با کمک کاغذ صافی واتمن صاف گردید. ۲ میلی لیتر از عصاره استخراج شده با ۵۰ میکرو لیتر فنل ۸۰ درصد مخلوط و سپس ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به آن اضافه شد. این محلول ۱۵ دقیقه در دمای محیط نگهداری و سپس به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جذب این محلول در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز میزان قندهای محلول بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید (Dubois et al., 1956).

اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از روش هیس و پاکر (۱۹۶۸) انجام شد. بدین منظور ۰/۱ گرم برگ تازه با ۵۰۰ میلی لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. ۲۵۰ میکرو لیتر از محلول رویی با ۷۵۰ میکرو لیتر محلول مالون‌دی‌آلدهید که حاوی تری‌کلرو استیک اسید (TCA) ۲۰ درصد و تیوباربتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد است، مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در بن ماری حرارت داده شد، سپس بلافاصله در آب یخ گذاشته شد و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. جذب این محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیر-اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از مقدار حاصل کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA (بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر) طبق فرمول ۴ از ضریب خاموشی معادل Mm^{-1} 155 Cm^{-1} استفاده شد.

(۴)

$\text{MDA}(\mu\text{mol/gFW}) = [(A_{532} - A_{600}) * W] / 155 * 1000$

W = وزن نمونه برگی مورد استفاده

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و تعیین مقدار

پروتئین محلول در نمونه‌ها، ابتدا عصاره‌گیری به عمل آمد. برای تهیه ۵۰ میلی لیتر بافر استخراج، ۰/۶۰۷ گرم بافر تریس را با ۰/۰۵ گرم پلی‌وینیل فسفات (Poly vinyl phosphate) در ۴۰ میلی لیتر آب مقطر به خوبی حل کرده و سپس با اسیدکلریدریک pH محلول را در ۷/۸ تنظیم و بعد از آن محلول را به حجم نهایی ۵۰ میلی لیتر رسانده و از این بافر برای عصاره‌گیری پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده گردید. جهت عصاره‌گیری، ابتدا به ۰/۲ گرم وزن تر هر نمونه، ۱ میلی لیتر بافر فوق اضافه و در داخل هاون چینی به‌طور کامل یکنواخت شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰، سانتریفیوژ شده و پس از آن فاز بالایی جهت قرائت میزان پروتئین و فعالیت آنزیم جدا گردید. به منظور حفظ فعالیت آنزیمی، تمامی مراحل استخراج و اندازه‌گیری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

بررسی میزان فعالیت کاتالاز بر اساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر برای یک دقیقه انجام شد (Sinha, 1976). بنابراین مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۱۵ میلی مولار با pH برابر با ۷ بود. ۵۰ میکرو لیتر از عصاره آنزیمی استوک و ۱۳۵۰ میکرو لیتر از محلول واکنش با هم ترکیب شدند. با شروع تجزیه H_2O_2 در محیط، واکنش آغاز شد و میزان کاهش جذب در طول زمان در طول موج ۲۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از ضریب خاموشی مولی ($\epsilon = 39/4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد در میلی گرم وزن تر) اندازه‌گیری گردید.

برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین محلول از روش برادفورد (۱۹۷۶) استفاده شد. جهت تهیه معرف، مقدار ۰/۰۵ گرم کوماسی بریانت بلو G۲۵۰ در ۵۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد در تاریکی حل شد و سپس ۲۵ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد را قطره قطره به مخلوط فوق اضافه کرده و حجم نهایی محلول با آب مقطر به ۵۰۰ میلی لیتر رسید. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین هر نمونه ۵۰ میکرو لیتر عصاره استخراج شده با ۲/۵ میلی لیتر معرف کوماسی بلو تازه مخلوط و سپس میزان جذب

بر لیتر رسید و میانگین وزن تر بخش هوایی تره کوهی در مورد مشابه، از ۰/۰۲۴۴ میلی گرم به ۰/۰۰۶۹ میلی گرم رسید و کاهش ۷۲ درصدی را نشان می دهد. در دو گونه تیمارهای بیش از ۲ میلی گرم بر لیتر با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان دادند.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده ها به روش دانکن نشان می دهد، در تره ایرانی کمترین میزان کلروفیل کل مربوط به تیمار ۱۱ میلی گرم بر لیتر بوده و کاهش ۲۷ درصدی را نسبت به گروه شاهد نشان داد (شکل ۳). به علاوه، تنها گروه شاهد و تیمار ۲ میلی گرم بر لیتر با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند. محتوی کلروفیل کل در تره کوهی روند یکسانی را نشان نداد به طوری که حداقل میزان کلروفیل کل در تیمار ۴ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد و ۲۱ درصد کاهش را نسبت به گروه کنترل نشان داد. در تره کوهی تنها گروه شاهد با دیگر تیمارها اختلاف معنی دار را نشان داد.

مقایسه میانگین داده های حاصل از سنجش محتوی مالون دی آلدئید در غده تحت تیمار نشان می دهد که بیشترین محتوی مالون دی آلدئید در تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر دو گونه دیده شد (شکل ۴). در تره ایرانی تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر افزایش ۱۱۸ درصدی را نسبت به گروه شاهد نشان داد و تره کوهی در مورد مشابه، ۱۰۷ درصد افزایش یافت. در تره ایرانی اختلاف معنی دار بین تیمارهای بیش از ۲ میلی گرم بر لیتر سلنیوم مشاهده گردید، در حالی که تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر تره کوهی با دیگر تیمارها اختلاف معنی دار را نشان داد.

اثر غلظت های مختلف سلنیوم بر محتوی مالون دی آلدئید بخش هوایی در شکل (۵) نشان داده شد. به طوری که در تره ایرانی محتوی مالون دی آلدئید بخش هوایی تحت غلظت های مختلف سلنیوم متفاوت بود و اختلاف معنی دار بین گروه شاهد و تیمارهای ۱۱ و ۲۲ میلی گرم بر لیتر دیده شد. با افزایش غلظت سلنیوم محتوی مالون دی آلدئید بخش هوایی تره کوهی افزایش معنی داری نشان داد. غلظت مالون دی آلدئید بخش هوایی تره ایرانی در تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر افزایش ۱۲۶ درصدی را نسبت به گروه شاهد نشان داد و این میزان افزایش

به وسیله کورت شیشه ای در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین هر نمونه (بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر) با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین به دست آمد.

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

نتایج

اثر غلظت های مختلف سلنیوم بر پارامترهای رشد و فیزیولوژیکی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های مربوط به ویژگی های رشد دو گیاه تره ایرانی و تره کوهی نشان داد که اثر سلنیوم بر وزن تر و محتوی مالون دی آلدئید غده و بخش هوایی معنی دار است (جدول ۱).

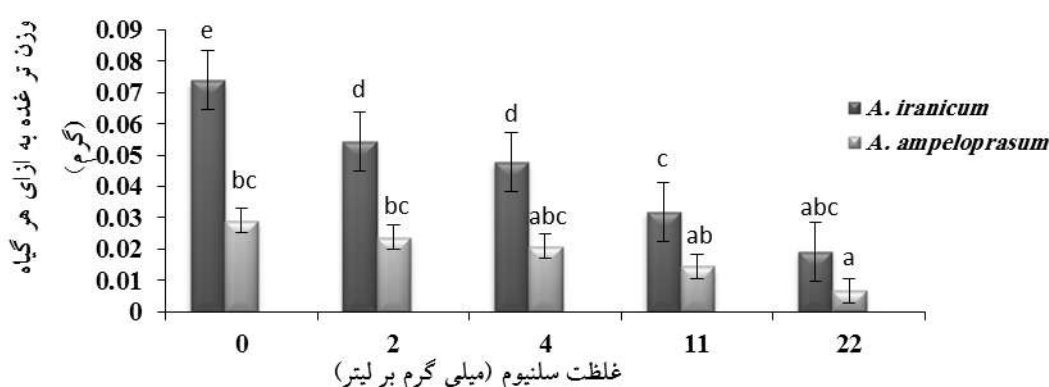
بر اساس نتایج بدست آمده مقایسه میانگین آزمون دانکن و با اعمال تیمار سلنیوم، وزن تر دو گونه کاهش معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد (شکل ۱). حداکثر وزن تر غده در گروه شاهد (تره ایرانی ۰/۰۷۳۹۱۵ میلی گرم، تره کوهی ۰/۰۲۹۱۳۹ میلی گرم) و حداقل آن در غلظت ۲۲ میلی گرم بر لیتر (تره ایرانی ۰/۰۱۹۱۴۴ میلی گرم، تره کوهی ۰/۰۰۶۶۸۶ میلی گرم) مشاهده شد. در تره ایرانی اختلاف معنی دار بین گروه شاهد و تیمارهای ۱۱ و ۲۲ میلی گرم بر لیتر دیده شد ولی در تره کوهی تیمارهای شاهد و ۲ میلی گرم بر لیتر با تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر اختلاف معنی داری را نشان ندادند.

مقایسه میزان وزن تر بخش هوایی دو گونه در شکل (۲) نشان می دهد که غلظت های مختلف سلنیوم موجب کاهش معنی دار وزن تر بخش هوایی می شود (شکل ۲). به ترتیب در تره ایرانی میانگین وزن تر کاهش ۷۲/۴۲ درصدی را نشان می دهد، به طوری که میانگین وزن تر بخش هوایی از ۰/۰۳۶ میلی گرم در گروه شاهد به ۰/۰۱۰ میلی گرم در غلظت ۲۲ میلی گرم

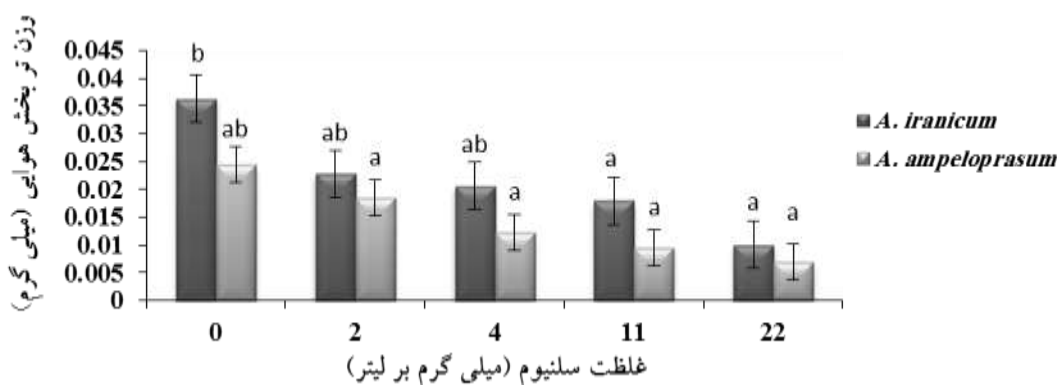
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف سلنیوم بر صفات رشد اندازه گیری شده در غده و اندام هوایی دو گیاه تره ایرانی و تره کوهی.

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر غده	وزن تر بخش هوایی	محتوی کلروفیل کل	محتوی مالون دی آلدهید غده	محتوی مالون دی آلدهید بخش هوایی
گونه	۱	۷۳/۲۹۴**	۴/۴۷۰	۶۲۴	۰/۳۳۹ ^{ns}	۰/۲۹۶ ^{ns}
سلنیوم	۴	۱۸/۳۷۴**	۴/۷۰۱**	۵/۸۴۵ ^{ns}	۳۰/۸۶۱**	۲۲/۱۴۷**
سلنیوم × گونه	۴	۳/۲۹۴*	۰/۲۱۷ ^{ns}	۰/۲۱۷ ^{ns}	۲/۷۱۶ ^{ns}	۲/۳۵۳ ^{ns}
خطا		۷/۱۷۹	۸/۶۷۸	۰/۱۵۶	۴۶۹/۵۳۶	۱۳۹/۸۴۰

ns و ** و *** به ترتیب معنی داری در سطح پنج درصد، معنی داری در سطح یک درصد و عدم وجود تفاوت معنی دار



شکل ۱- اثر غلظت های مختلف سلنیوم بر وزن تر غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی دار بودن اثر تیمارها بر میانگین وزن تر غده با استفاده از آزمون دانکن می باشد. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SE است.



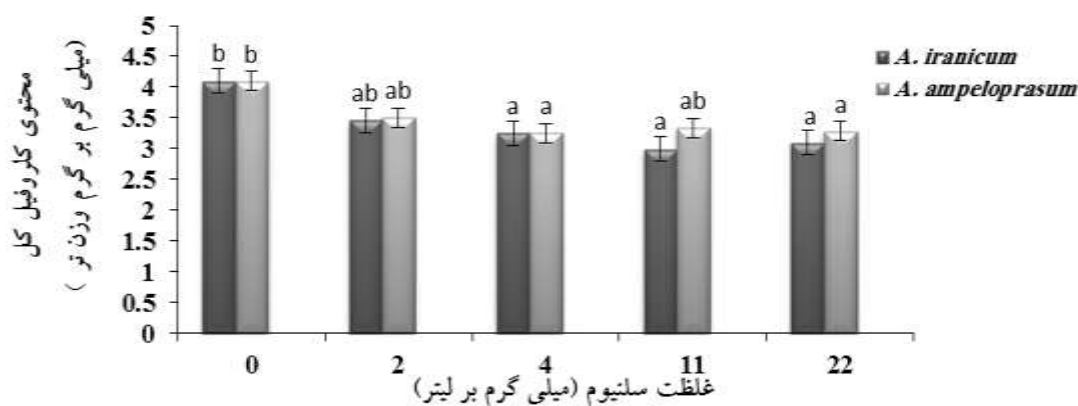
شکل ۲- اثر غلظت های مختلف سلنیوم بر وزن تر بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی دار بودن اثر تیمارها بر میانگین وزن تر بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می باشد. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SE است.

سلنیوم اثر معنی داری بر محتوای کربوهیدرات در سطح یک درصد دارد (جدول ۲).

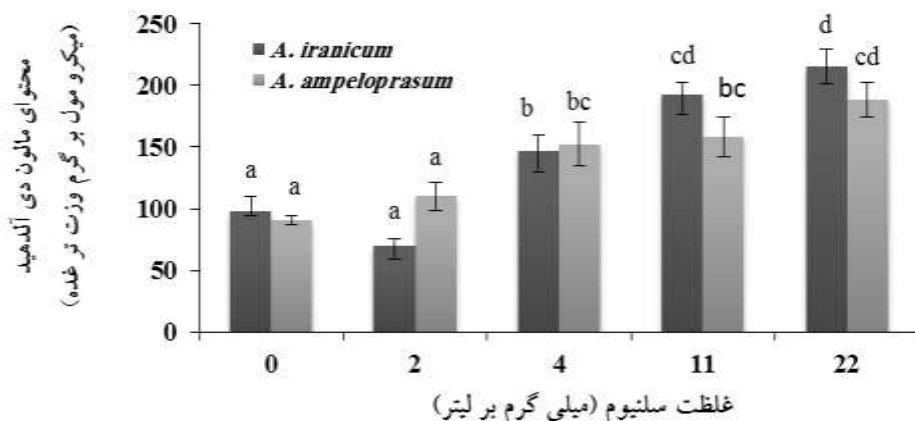
نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن برای بررسی اثر غلظت های مختلف سلنیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی در

در تره کوهی ۱۰۶ درصد می باشد.

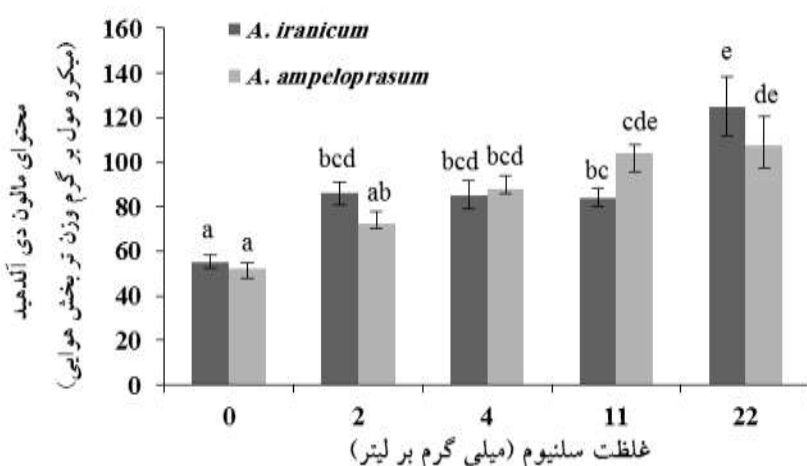
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های مربوط به ویژگی های فیزیولوژیک دو گیاه تره ایرانی و تره کوهی نشان داد که اثر سلنیوم بر فعالیت آنزیم کاتالاز غده و محتوای پروتئین غده و بخش هوایی در سطح پنج درصد معنی دار است. همچنین



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



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میانگین محتوای مالون‌دی‌آلدئید غده با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار \pm SE است.

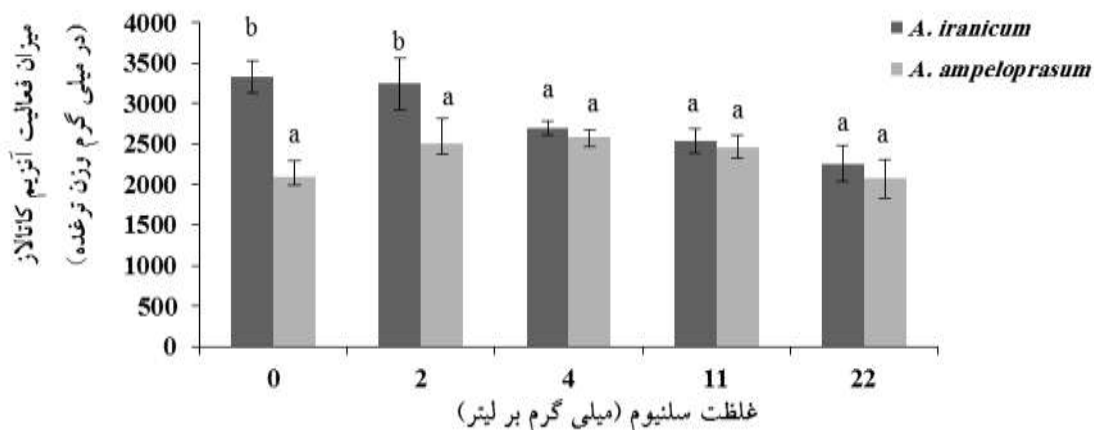


شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میانگین محتوای مالون‌دی‌آلدئید بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SE است.

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

منبع تغییرات	فعالیت کاتالاز غده	فعالیت کاتالاز بخش هوایی	محتوی کربوهیدرات	محتوی پروتئین غده	محتوی پروتئین بخش هوایی
گونه‌ها	۱۶/۱۲۶**	۱۱/۵۳۷**	۸/۴۶۱**	۶/۱۸۱ *	۳۳/۷۴۸**
سلنیوم	۴/۱۸۰*	۰/۲۲۴ ^{ns}	۲۴/۵۰۴**	۲/۹۲۶*	۲/۸۹۷*
گونه×سلنیوم	۳/۸۲۲*	۵/۲۸۹**	۰/۳۸۵ ^{ns}	۶/۹۹۷**	۳/۵۸۴*
خطا	۱۰۷/۲۸۵	۳۵۰/۱۹۶	۶/۳۰۸	۶/۵۵۲	۴/۶۹۶

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



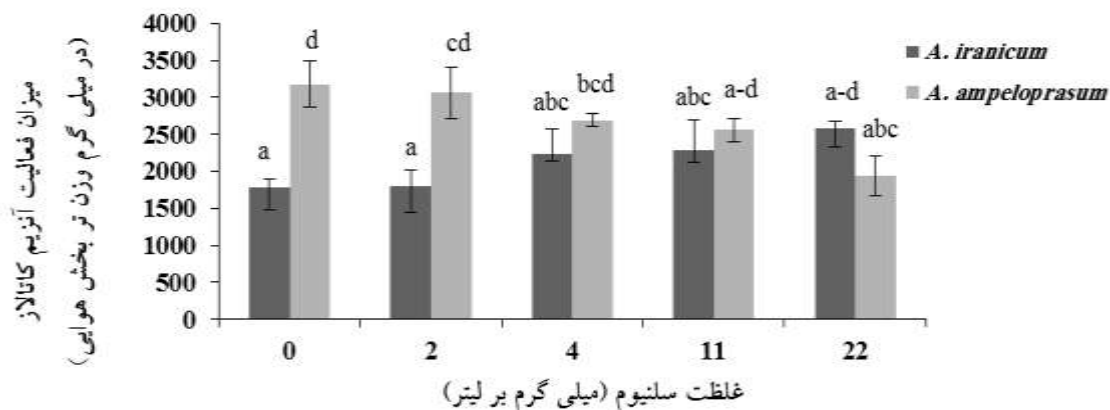
شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز غده با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار \pm SE است.

مختلف، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی افزایش یافت که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. با افزایش غلظت سلنیوم در تره کوهی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی کاهش یافت و حداقل میزان فعالیت آنزیم در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد.

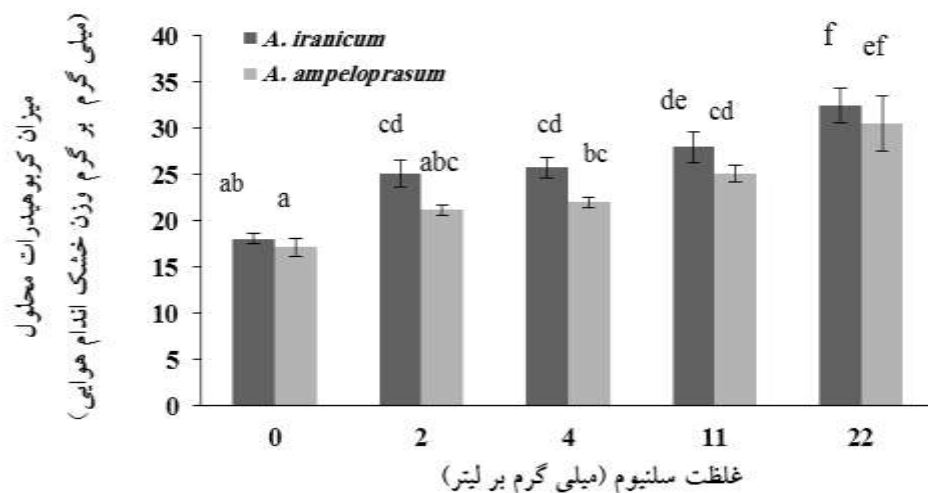
شکل (۸) اثر سلنیوم بر محتوی کربوهیدرات محلول دو گونه تره ایرانی و تره کوهی تحت تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد. در تره ایرانی حداکثر میزان کربوهیدرات محلول در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد و حدود ۸۰ درصد افزایش را نسبت به گروه شاهد نشان داد. بررسی محتوای کربوهیدرات محلول در بخش هوایی گونه تره کوهی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

شکل (۶) نشان داده شده است. در گونه تره ایرانی روند کاهشی تقریباً منظمی در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد، به‌طوری‌که تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر حداقل میزان فعالیت آنزیم را نشان داد و بین غلظت‌های مختلف سلنیوم اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید. در گونه تره کوهی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تا تیمار ۴ میلی‌گرم بر لیتر افزایش و سپس در غلظت‌های بالاتر کاهش یافت و غلظت‌های مختلف سلنیوم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری از این نظر نشان ندادند.

مقایسه میانگین داده‌ها و آزمون دانکن حاصل از اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی در شکل (۷) نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم کاتالاز دو گونه دارای روند متفاوتی در بین غلظت‌های مورد بررسی بود. در گونه تره ایرانی، با افزایش سطوح سلنیوم در تیمارهای



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



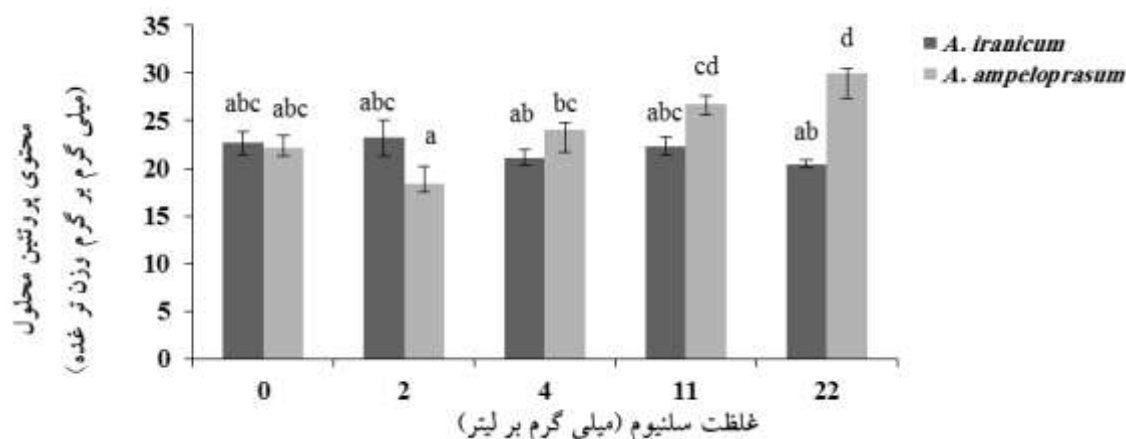
شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف سلیوم بر محتوای کربوهیدرات محلول بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر محتوای کربوهیدرات محلول بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار \pm SE است.

بیش از ۲ میلی‌گرم بر لیتر، محتوی پروتئین محلول افزایش یافت و این روند افزایش معنی‌دار بود. بیشترین میزان پروتئین محلول در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر وجود داشت که نسبت به گروه شاهد ۳۵ درصد افزایش نشان داد.

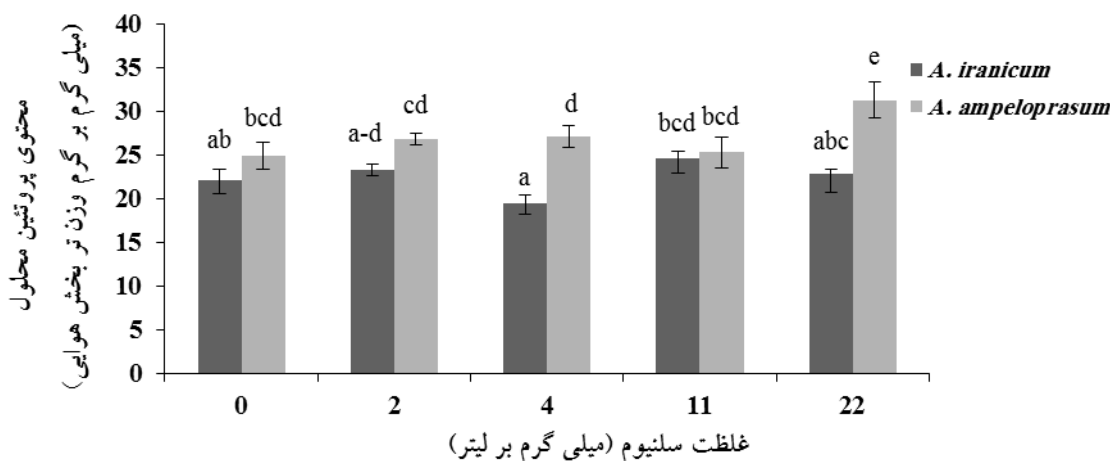
همان‌طور که در شکل (۱۰) مشاهده می‌شود، در تره ایرانی دو غلظت ۲ و ۱۱ میلی‌گرم بر لیتر سلیوم باعث افزایش محتوای پروتئین محلول بخش هوایی نسبت به گروه شاهد شد که این افزایش، از لحاظ آماری معنی‌دار بود. همچنین کاربرد سلیوم در غلظت ۴ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش معنی‌دار محتوی پروتئین محلول بخش هوایی نسبت به گروه

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

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



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



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

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

شاهد شد. در تره کوهی بیشترین میزان پروتئین محلول در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد که نسبت به گروه شاهد افزایش حدود ۲۶ درصدی را نشان داد و اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای ۲، ۴ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر وجود دارد.

بحث

در این پژوهش مشخص شد که سلینیوم در غلظت پایین (۰ تا ۴ میلی‌گرم بر لیتر)، باعث تحریک رشد گیاهان تره ایرانی و تره کوهی می‌شود. غلظت‌های بیش از ۴ میلی‌گرم بر لیتر سلینیوم باعث کاهش رشد گیاهان مزبور می‌شود که علایم سمیت آن مانند کلروز برگ جوان مشاهده گردید.

احتمالاً به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و یا افزایش اسید آسکوربیک و گلوکاتیون است. مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص تنش اکسیداتیو، بیانگر میزان پراکسیداسیون لیپیدها است که در اثر افزایش تنش اکسیداتیو و تجمع رادیکال‌های آزاد، میزان پراکسیداسیون لیپیدها و به دنبال آن، محتوای این شاخص افزایش می‌یابد. چنین نتایجی از اثر سلنیوم نیز بر گیاهان صخره‌ای توسط خطاب و همکاران (۱۳۸۳) گزارش شده است. از سوی دیگر در شرایط تنش، به علت عدم تعادل در تولید انواع اکسیژن فعال و ایجاد تنش اکسیداتیو پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی افزایش می‌یابد (Wu *et al.*, 2006). همچنین افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در تنش سلنیوم در علف هرز (Cartes *et al.*, 2005) و *Pteris vittata* (Feng *et al.*, 2012) گزارش شده است، که همسو با نتایج حاصل از این پژوهش است.

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

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

بیشتر گزارش‌ها حاکی از کاهش محتوای کلروفیل تحت تأثیر سلنیوم بوده است (Chen *et al.*, 2005; Hawrylak *et al.*, 2007). این در حالی است که شواهدی نیز از اثر افزایشی غلظت‌های پایین سلنیوم بر محتوای کلروفیل گیاهان تحت تنش گزارش شده است (Pennanen *et al.*, 2002) که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. غلظت‌های پایین سلنیوم با محافظت از آنزیم‌های کلروپلاستی (Pennanen *et al.*, 2002) و همچنین افزایش کارایی فتوسیستم II باعث افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شوند (Hasanuzzaman *et al.*, 2010). طبق مطالعات صفاریزدی (۱۳۹۰) به نظر می‌رسد کاهش میزان کلروفیل در غلظت‌های ۶ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم احتمالاً به دلیل کاهش سطح پهنک برگ و افزایش تراکم کلروفیل a, b و کلروفیل کل در واحد سطح برگ باشد. همچنین کاهش فتوسنتز می‌تواند به علت قرار گرفتن سلنیوم به جای منیزیم در ساختار کلروفیل (Padmaja *et al.*, 1989) و تأثیر منفی سلنیوم بر آنزیم پورفوبیلینوژن سنتتاز (Porphobilinogen Synthase) باشد (Hawrylak *et al.*, 2007). این نتایج در توافق نتایج پادماجا و همکاران (۱۹۹۵) است که مطالعات مشابهی را روی گیاهان لوبیا و کاهو انجام داده بودند.

نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید غده و بخش هوایی دو گونه نشان داد که غلظت‌های بالای سلنیوم موجب افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌شوند، به طوری که حداکثر محتوای مالون‌دی‌آلدئید در تیمار ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم مشاهده شد. مطالعات انجام شده توسط Pennanen و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که در غلظت‌های پایین سلنیوم، محتوای مالون‌دی‌آلدئید کاهش می‌یابد که

افزایش داده و باعث حمایت انواع پروتئین‌ها می‌شوند (خطاب و همکاران، ۱۳۸۳). همچنین مطالعات انجام شده دیگری نشان داد که سلول‌های گیاهی، اسیدهای آلی یا پلی‌پپتیدهایی سنتز می‌کنند که یون‌های فلزی را کلاته می‌کند و موجب افزایش مقاومت گیاه در برابر انواع تنش‌ها می‌شود (Jackson *et al.*, 1990). بنابراین افزایش و کاهش پروتئین‌ها در شرایط تنش را می‌توان به نقش‌های متفاوت رادیکال‌های آزاد یا ROS نسبت داد.

نتیجه‌گیری کلی

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

نتایج مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تنش سلنیوم بر محتوای کربوهیدرات بخش هوایی دو گونه نشان داد که با افزایش غلظت سلنیوم در محلول‌های تیمار، میزان کربوهیدرات بخش هوایی افزایش معنی‌داری داشته است، درحالی‌که در تیمارهای ۲ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر این افزایش معنی‌دار نیست. مطالعات قبلی نشان داد که کاهش پلی‌ساکارید در غلظت ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم ممکن است به‌علت تأثیر سلنیوم روی فتوسنتز باشد که از سنتز کلروفیل جلوگیری می‌کند (Zhang *et al.*, 2003). افزایش نشاسته در تیمار سلنیوم، نشان دهنده افزایش فتوسنتز، کاهش انتقال کربوهیدرات به ریشه و یا کاهش تجزیه نشاسته می‌باشد (Mazzafera, 1998). به نظر می‌رسد که سلنیوم با افزایش محتوای کاروتنوئید و کاهش تنش اکسیداتیو، موجب افزایش میزان قندهای موجود در گیاهان می‌شود. قندهای محلول علاوه بر حفظ تعادل اسمزی، انرژی مورد نیاز گیاه را نیز در شرایط تنش تامین می‌کنند و باعث حفظ بقای گیاه می‌شوند (Dubey and Singh, 1999). نتایج مشابه روی گیاه پریوش (*Catharanthus roseus*) (Arvi *et al.*, 1995) و قهوه (*Coffea arabica*) (Mazzafera, 1998) تحت تیمار سلنیوم به‌دست آمد و با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد.

در این پژوهش با افزایش غلظت سلنیوم در محیط خاک، روند یکسانی در تغییرات محتوای پروتئین غده و بخش هوایی تره ایرانی مشاهده نگردید و اغلب تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. از سوی دیگر محتوای پروتئین غده و بخش هوایی تره کوهی در تیمارهای بیش از ۲ میلی‌گرم بر لیتر افزایش یافت که از لحاظ آماری معنی‌دار بود. تنش اکسیداتیو و تولید انواع اکسیژن فعال که با افزایش پر-اکسیداسیون لیپید همراه است باعث آسیب به بافت گیاه شده و میزان پروتئین را کاهش می‌دهد (کریمی و همکاران ۱۳۸۸). این رادیکال‌های آزاد میل ترکیبی زیادی با پروتئین‌ها دارند و باعث اکسید شدن آن‌ها می‌شوند (خودسر و همکاران، ۱۳۸۰). در غلظت‌های بالای سلنیوم (۱۰۰ میکرومولار) افزایش گونه-های فعال اکسیژن، عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی (آنزیم‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) را از راه افزایش پاکسازی ROS

منابع

- اشرف، م. و فولاد، م. ر. (۱۳۸۶) نقش گلیسین بتائین و پرولین در بهبود مقاومت به تنش ناشی از عوامل غیرزنده در گیاه، مجله گیاه شناسی زیست محیطی و تجربی ۵۹: ۲۱۶-۲۰۶.
- خاتون، س. م. ب.، علی، ی. ج. و هان، ک. ی. (۱۳۸۷) مسمومیت با مس در سومنیفرا: پاسخ های آنزیم های آنتی اکسیدان و رشد گیاهان در شرایط آزمایشگاهی، مجله گیاه شناسی زیست محیطی و تجربی ۶۴: ۲۸۵-۲۷۹.
- خطاب، چ. ی.، امام، م. ا. و امام، م. م. و همکاران (۱۳۸۳) پاسخ های متابولیک و اکسیداتیو مرتبط با قرارگیری گیاهان *Erucasativa* (صخره ای) در معرض سطوح مختلف سلنیوم، مجله بین المللی کشاورزی و زیست شناسی ۶: ۱۱۰۶-۱۱۰۱.
- خودسر، ت.، محمودالظفر، م. و اقبال، م. (۱۳۸۰) تغییرات القا شده با کادمیوم در اپیدرم برگ، میزان فتوسنتز و محتوی رنگدانه در *Cajanus cajan*، مجله زیست شناسی ۴۴: ۶۴-۵۹.
- کریمی، ن.، قادریان، س. م.، راب، آ.، فلدمن، ج. و مهارگ، آ. آ. (۱۳۸۸) بررسی میزان انباشت آرسنیک در گونه مقاوم *Isatis cappadocica*، مجله نیو فوتولوژیست ۱۸۴: ۴۷-۴۱.
- صفار یزدی، ا. (۱۳۹۰) بررسی تأثیر غلظت های مختلف Se بر جوانه زنی، رشد رویشی و برخی ویژگی های مورفوفیزیولوژیکی گیاه *Spinaciaoleracea L*. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.
- موسوی، ع.، کاشی، ع.، داوودی، د. و صناعی شریعت پناهی، م. (۱۳۸۵) بررسی شیوه کاشت تره در ایران (تره ایرانی)، مجله گیاه شناسی بلژیک ۱۳۹: ۱۲۳-۱۱۵.
- Agumas B., Abewa A. and Abebe D. (2014) Response of irrigated onion (*Allium cepa* L.) to nitrogen and phosphorus fertilizers at Ribb and Koga irrigation schemes in Amhara region, North western Ethiopia. International Research Journal of Agricultural and Soil Science 4(5): 95-100.
- Arnon, D. (1949) Copper enezymys in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.
- Arvy, M. P. A. and Thiersault, P. (1995) Relationship between selenium, micronutrients, carbohydrates and alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* cells. Journal of Plant Nutrition 18: 1535-1346.
- Baruchin, A. M., Sagi, A. and Yoe, B. and Ronen, M. (2001) Garlic burns. Burns 27: 781-782.
- Bates, L. S., Walderd, R. O. P. and Teare, I. D. (1973) Raoid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-208.
- Bawa, S. S., Dhillon, K. S. and Dhillon, S. K. (1992) Screening of different fodders for selenium absorption capacity. Indian Journal of Dai Science 45: 457-460.
- Benavides, M. P., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2005) Cadmium toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology 17: 3-20.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
- Bulska, E., Wysocka, I. A. and Werzbicka, M. H., Proost, K., Janssens, K., Falkenberg, G. (2006) In vivo investigation of the distribution and the Local speciation of selenium in *Allium cepa* L. by means of microscopic X-ray absorption near-edge structure spectroscopy and confocal microscopic X-ray fluoescence analysis. Analytical Chemistry 78: 7616-7624.
- Burton, G. W. and Ingold, K. U. (1984) Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. Science 224: 569-573.
- Candan, T. and Tarhan, L. (2003) Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activites and lipid peroxidation level in Zn stressed *Mentha pulegium*. Turkish Journal of Chemistry 27: 21-30.
- Cartes, P., Gianfreda, L. and Mora, M. L. (2005) Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms. Plant and Soil 276: 359-367
- Chen, C. and Dickman, M. B. (2005) Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America 102: 3459-3464.
- Chen, T. F., Zheng, W. J. Luo, Y., Yang, F., Bai, Y. and Tu, F. (2005) Effects of selenium stress on photosynthetic pigment contents and growth of *Chlorella vulgaris*. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology 31: 369-373.

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

- Pennanen, A., Xue, T., Hartikainen, H. and Xue, T. L. (2002) Protective role of selenium in plant subjected to severe UV irradiation stress. *Journal of Applied Botany and food Quality* 76: 66-76.
- Rechinger, K. H. (1970) *Flora Iranica*. Akademische druck-u.verlaganstalt GrazAustria 157: 573.
- Abbas, S. M. (2012) Effects of low temperature and selenium application on growth and the physiological changes in sorghum seedlings. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 8: 268-286.
- Sandalio, L. M., Dalurzo, M., Gomez, M. C. and Romero Puertaan delRioL, A. (2001) Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany* 52: 2115-2126.
- Schrauzer, G. N. (2000) Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *Journal of Nutrition* 130: 1653-656.
- Sinha, A. K. (1972) Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry* 47: 389-395.
- Siriporndulsil, S., Traina, S., Verma, D. P. and Sayre, R. T. (2002) Molecular mechanism of proline mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. *Plant Cell* 14: 2837-47.
- Sors, T. G., Ellis, D. R. and Salt, D.E. (2005) Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research* 86 (3): 373-389.
- Spadoni, M., Voltaggio, M., Carcea, M., Coni, E., Raggi, A. and Cubadda, F. (2007) Bioaccessible selenium in Italian agricultural soils: comparison of biogeochemical and pedoclimatic variables. *Science of Total Environment* 376: 160-177
- Spallholz, J. and Hoffman, D. (2002) Selenium toxicity: Cause and effect in aquatic birds. *Aquat Toxicology* 57: 27-37.
- Srivastava, M., Ma, L. Q., Rathinasabapathi, B. and Srivastata, P. (2009) Effects of selenium on arsenic uptake in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Bioresource Technology* 100: 1115-1121.
- Tapiero, H., Townsend, D. and Mand Tew, K. D. (2003) The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 57 (3-4): 134-144.
- Terry, A. M., Zayed, M. P. and de-Souza, A. S. and Tarun de-Souza, M. P. (2000) Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 401-432
- Thompson, J. E., Legge, R. L. and Barber, R. F. (1987) The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytologist* 105 (3): 317-344
- Wang, Y. D., Wang, X. and Wong, Y. S. (2012) Proteomics analysis reveals multiple regulatory mechanisms in response to selenium in rice. *Journal of Proteomics* 75: 184-1866.
- Ward, O. P and Singh, A. (2004) Soil bioremediation and phytoremediation- An overview. In: Singh, A., Ward, O.P. (Eds). *Applied Bioremediation and Phytoremediation* 1: 1-11.
- Wong, S. C., Li, X. D. and Zhang, G. Q. i. S. H. and Min, Y. S. (2002) Heavy metals in agricultural soils of the Pearl River Delta, South China. *Environmental Pollution* 119: 33-44
- Wu, L. and Huang, Z. Z. (1991) Chloride and sulfate salinity effects on selenium accumulation by Tall Fescue. *Crop Science Society of American* 31: 114-118.
- Wu, X., Zhu, L. and Zhu, W. M. (2006) Physiological effects of exogenous nitric oxide in tomato seedlings under NaCl stress. *Scientia Agricultura Sinica* 3: 575-581.
- Xiong, L. and Zhu, J. K. (2002) Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant Cell and Environment* 25: 131-139.
- Xue, T., Hharkikainen, H. and Piironen, V. (2000) Association of antioxidative enzymes with synergistic effect of selenium and UV irradiation in enhanceing plant growth. *Agricultural and Food Science Finland* 9: 177-186.
- Xue, T., Hartikainen, H. and Piironen, V. (2001) Antioxidative and grow-promoting effect of selenium in senescing lettuce. *Plant Soil* 27: 55-61.
- Yang, A. J. (1991) The photoprotective role of caratenoids in higher plants. *Plant Physiology* 83:702-708.
- Zhang, F. W., Shi, Z. and Jin, Z. (2003) Response of antioxidative enzymes in cucumber chloroplasts to cadmium toxicity. *Journal of Plant Nutrition* 26: 1779-1788.
- Zhiyong, L. G., Siyuan, L. and Lin, Z. Y., Li, S. Y., Guo, L. (2003) Bio effects of selenium on the growth of *Spiraling platensis* and its biotransformation. *Bioresource Technology* 89: 171-176.
- Zhu, Y. G., Huang, Y. and Hu, Y., Liu, Y., Christie P. (2004) Interaction between selenium and iodine uptake by spinach (*Spinacia oleracea* L.) in solution culture. *Plant and Soil* 261: 99-105.

