

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

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 غلظت های پایین باعث افزایش رشد گیاه می شود در حالی که غلظت های بالای آن موجب ایجاد سمیت در گیاهان می گردد. هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت های مختلف سلنیوم بر رشد و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی دو گونه *Allium iranica* (تره ایرانی) و *Allium ampeloprasum* (تره کوهی) در شرایط کنترل شده بود. بدین منظور گیاهان در شرایط کشت گلدانی و در مرحله ی چهار برگگی تحت تأثیر غلظت های مختلف سلنیوم (۰، ۲۰، ۴۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ میکرومولار) معادل غلظت های (۰، ۲، ۴، ۱۱ و ۲۲ میلی گرم 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 معنی داری کاهش یافت به طوری که بیشترین کاهش مربوط به تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر بود. محتوای مالون دی-آلدئید در تیمارهای بیش از ۲ میلی گرم بر لیتر نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. به دنبال افزایش سطوح سلنیوم، فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش ولی مقدار ترکیبات آنتی اکسیدانی همانند کربوهیدرات و پروتئین افزایش یافت. نتایج نشان داد که غلظت های کم سلنیوم (۰ تا ۲ میلی گرم بر لیتر) با افزایش محتوای کلروفیل و همچنین سنتز کربوهیدرات موجب افزایش رشد می شود، ولی غلظت های بالاتر سلنیوم (۴ تا ۲۲ میلی گرم بر لیتر) به دلیل تولید انواع اکسیژن فعال، موجب کاهش زیست توده می شود. به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سطوح مختلف سلنیوم، تأثیر معنی داری بر ویژگی های مورفولوژیک و فیزیولوژیک غده و بخش هوایی دو گونه داشت؛ مهمترین علائم ریخت شناسی سمیت سلنیوم به صورت کلروز برگ های جوان و کاهش رشد غده و بخش هوایی مشاهده شد.

کلمات کلیدی: پاسخ آنتی اکسیدانی، سلنیوم، کاتالاز، مالون دی آلدئید، *Allium ampeloprasum*، *Allium iranica*

مقدمه

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

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

* نویسنده مسؤول، 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 گلوکاتایون 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 دی‌آلدید 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 به عنوان 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 به طور 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 گلوکاتایون 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). به علت تشابه شیمیایی سلنیوم با سولفور، گیاهان سلنیوم را از طریق ناقلین سولفور از خاک جذب می‌کنند (Spadoni *et al.*, 2007). میزان انتقال سلنیوم به اندام‌های مختلف گیاهی بسته به گونه گیاه، مرحله رشد، دما و رطوبت خاک متفاوت است (Spadoni *et al.*, 2007). گیاهان از نظر کارایی انباشت سلنیوم به دو دسته انباشت‌گر (سیر، تره فرنگی و گون) و غیر انباشت‌گر تقسیم می‌شوند (Bulska *et al.*, 2006; Emese *et al.*, 2009). غلظت‌های پایین سلنیوم به عنوان محرک رشد، افزایش نمو و فعالیت فتوسنتزی در گیاهان را به دنبال دارد (Pennanen *et al.*, 2002) اما تیمارهای بالای این عنصر (۴ تا ۲۲ میلی گرم 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). به طور 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 به طور

۵۷ میلیون تن در دنیا رسید (Agumas et al., 2014). پیاز علاوه بر این که به عنوان طعم دهنده غذا به کار می رود، دارای خواص درمانی متعدد نیز می باشد (Baruchin et al., 2001). تره ایرانی گیاهی از خانواده آلیاسه (Alliaceae) و بومی ایران، با رشد زیاد و متراکم دارای برگ هایی است که غلاف آن ها در قسمت ابتدایی با هم هم پوشانی داشته و به همراه یکدیگر یک ساقه کوتاه مجازی را ایجاد می کنند (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 تخم مرغی و پهن دراز است که در سطح پشتی تقریباً صاف می باشد (Rechinger, 1970).

با توجه به این که اعضای خانواده آلیاسه جزو گیاهان سلنوفروز (Seleniferous) هستند که سلیوم معدنی را به راحتی از خاک جذب و به فرم آلی تبدیل می کنند و همچنین این گیاهان جزو گیاهان مورد مصرف انسان هستند، لذا بررسی کارایی گیاهان این خانواده در انباشت سلیوم و همچنین واکنش گونه های مختلف خانواده آلیاسه در برابر غلظت های مختلف سلیوم از اهمیت ویژه ای برخوردار است. نظر به اینکه تره ایرانی و تره کوهی هر دو به عنوان گیاهان تک لپه از تیره سوسن (Liliaceae) و جنس آلیوم (Allium) با مزه خاص و ویژگی های ریخت شناسی خاص خود جزو سبزی های پیازی محسوب می شوند، دارای ویژگی های سلولی و ترکیبات بیوشیمیایی منحصر به فرد هستند که می تواند در واکنش آن ها به سلیوم مؤثر باشد (Barimizadeh et al., 2015). هدف از این پژوهش، بررسی اثر غلظت های مختلف سلیوم بر رشد و برخی ویژگی های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گونه تره ایرانی در مقایسه با گونه تره کوهی بود. سمیت ناشی از غلظت های بالای سلیوم 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 روش ها

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

از موسسه جنگل ها و مراتع جهاد کشاورزی (کرج) خریداری شد و بذر گونه تره ایرانی (*Allium iranicum*) از مراتع شهرستان های مختلف اطراف کرمانشاه جمع آوری گردید. در این پژوهش ۱۵ عدد از بذر دو گونه در گلدان های پلاستیکی محتوی ماسه و خاک با نسبت یکسان کاشته شد و سپس گلدان ها هر سه روز یک بار آبیاری گردید. پس از رسیدن گیاهان به مرحله چهار برگی، گلدان ها به گروه های سه گلدانی (هر تیمار، سه تکرار) تقسیم شدند و تحت تیمار سلیوم در غلظت های ۰، ۲۰، ۴۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ میکرومولار (معادل ۰، ۲، ۴، ۱۱ و ۲۲ میلی گرم بر لیتر) قرار گرفتند. تیمارهای سلیوم به وسیله نمک سلنات سدیم ($\text{Na}_2\text{O}_4\text{Se}$) تهیه و از راه آب آبیاری به خاک گلدان ها اضافه شدند. پس از پایان تیماردهی، برخی پارامترهای رشد و فیزیولوژیک در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه رازی اندازه گیری شد.

اندازه گیری پارامترهای رشد و فیزیولوژیک: پس از برداشت گیاهان، ابتدا بخش هوایی و ریشه از یکدیگر جدا شدند. سپس نمونه های برداشت شده به دو قسمت مجزا تبدیل شدند. یک بخش از نمونه ها جهت اندازه گیری وزن خشک و برخی پارامترها مانند پرولین و کربوهیدرات های محلول در داخل آن ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت سه روز خشک شدند. بخش دوم نمونه ها جهت اندازه گیری دیگر پارامترهای بیوشیمیایی بلافاصله پس از برداشت به فریزر منتقل شدند.

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

$$(۱) \text{ کلروفیل } a = [(۱۲/۷ \times \text{جذب } ۶۶۳) - (۲/۶ \times \text{جذب } ۶۴۵)]$$

میلی لیتر استون / میلی گرم بافت

$$(۲) \text{ کلروفیل } b = [(۲۲/۹ \times \text{جذب } ۶۴۵) - (۲/۶ \times \text{جذب } ۶۶۳)]$$

میلی لیتر استون / میلی گرم بافت

(۳) کلروفیل کل = کلروفیل a + کلروفیل b

محتوای قندهای محلول گیاه با استفاده از روش فنل-اسیدسولفوریک اندازه گیری 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 و آتمن 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 سانتی گراد 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).

اندازه گیری غلظت مالون دی آلدئید با استفاده از روش هیس و پاکر (۱۹۶۸) انجام شد. بدین منظور ۰/۱ گرم برگ تازه با ۵۰۰ میلی لیتر تری کلرواستیک 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 مالون دی آلدئید که حاوی تری کلرو 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 سانتی گراد 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 رنگیزه های 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 اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و تعیین مقدار

پروتئین محلول در نمونه ها، ابتدا عصاره گیری به عمل آمد. برای تهیه ۵۰ میلی لیتر بافر استخراج، ۰/۶۰۷ گرم بافر تریس را با ۰/۰۵ گرم پلی وینیل فسفات (Poly vinyl phosphate) در ۴۰ میلی لیتر آب مقطر به خوبی حل کرده و سپس با اسید کلریدریک 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 عصاره گیری پروتئین و آنزیم های آنتی اکسیدانی استفاده گردید. جهت عصاره گیری، ابتدا به ۰/۲ گرم وزن تر هر نمونه، ۱ میلی لیتر بافر فوق را اضافه و در داخل هاون چینی به طور 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 اندازه گیری در دمای ۴ درجه سانتی گراد 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 اندازه گیری 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) اندازه گیری گردید.

برای اندازه گیری 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 اندازه گیری غلظت پروتئین هر نمونه ۵۰ میکرو لیتر عصاره استخراج شده با ۲/۵ میلی لیتر معرف کوماسی بلو تازه مخلوط و سپس میزان جذب

به وسیله کوت شیشه‌ای 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 داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌های مربوط به هر دو گیاه با یکدیگر با استفاده از آزمون دانکن و مقایسه دو گونه با استفاده از آزمون تی تست (Student's t-test) انجام گردید. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل (Excel) انجام شد.

نتایج

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

بر اساس نتایج بدست آمده مقایسه میانگین آزمون دانکن و با اعمال تیمار سلنیوم، وزن تر دو گونه کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد (شکل ۱). حداکثر وزن تر غده در گروه شاهد (تره ایرانی ۰/۰۷۳۹۱۵ 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 معنی‌دار 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 معنی‌داری را نشان ندادند.

مقایسه میزان وزن تر بخش هوایی دو گونه در شکل (۲) نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف سلنیوم موجب کاهش معنی‌دار وزن تر بخش هوایی می‌شود (شکل ۲). به ترتیب در تره ایرانی میانگین وزن تر کاهش ۷۲/۴۲ درصدی را نشان می‌دهد، 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

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 می‌دهد. در دو گونه تیمارهای بیش از ۲ میلی گرم بر لیتر با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها به روش دانکن نشان می‌دهد، در تره ایرانی کمترین میزان کلروفیل کل مربوط به تیمار ۱۱ 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 معنی‌داری 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 معنی‌دار را نشان داد.

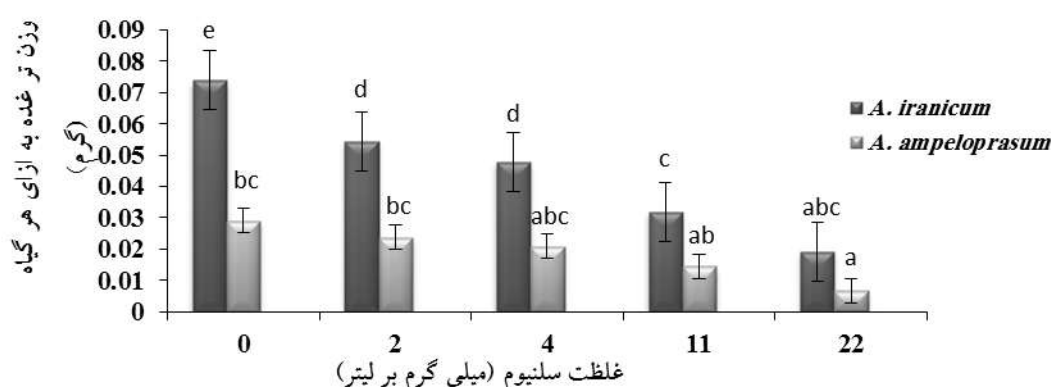
مقایسه میانگین داده‌های حاصل از سنجش محتوی مالون‌دی‌آلدهید در غده تحت تیمار نشان می‌دهد که بیشترین محتوی مالون‌دی‌آلدهید در تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر دو گونه دیده شد (شکل ۴). در تره ایرانی تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر افزایش ۱۱۸ درصدی را نسبت به گروه شاهد نشان داد و تره کوهی در مورد مشابه، ۱۰۷ درصد افزایش یافت. در تره ایرانی اختلاف معنی‌دار 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 معنی‌دار را نشان داد.

اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر محتوای مالون‌دی‌آلدهید بخش هوایی در شکل (۵) نشان داده شد. به طوری که در تره ایرانی محتوای مالون‌دی‌آلدهید بخش هوایی تحت غلظت‌های مختلف سلنیوم متفاوت بود و اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد و تیمارهای ۱۱ و ۲۲ میلی گرم بر لیتر دیده شد. با افزایش غلظت سلنیوم محتوای مالون‌دی‌آلدهید بخش هوایی تره کوهی افزایش معنی‌داری نشان داد. غلظت مالون‌دی‌آلدهید بخش هوایی تره ایرانی در تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر افزایش ۱۲۶ درصدی را نسبت به گروه شاهد نشان داد و این میزان افزایش

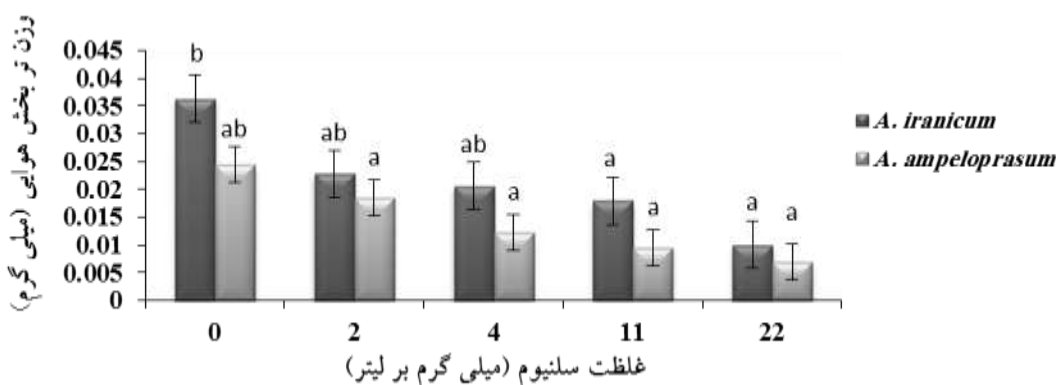
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف سلیوم بر صفات رشد اندازه گیری شده در غده و اندام هوایی دو گیاه تره ایرانی و تره کوهی.

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر غده	وزن تر بخش هوایی	محتوی کلروفیل کل	محتوی مالون دی آلدئید غده	محتوی مالون دی آلدئید بخش هوایی
گونه	۱	۷۳/۲۹۴**	۴/۴۷۰	۶۲۴	۰/۳۳۹ ^{ns}	۰/۲۹۶ ^{ns}
سلیوم	۴	۱۸/۳۷۴**	۴/۷۰۱**	۵/۸۴۵ ^{ns}	۳۰/۸۶۱**	۲۲/۱۴۷**
سلیوم × 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 ** 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 سلیوم 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.



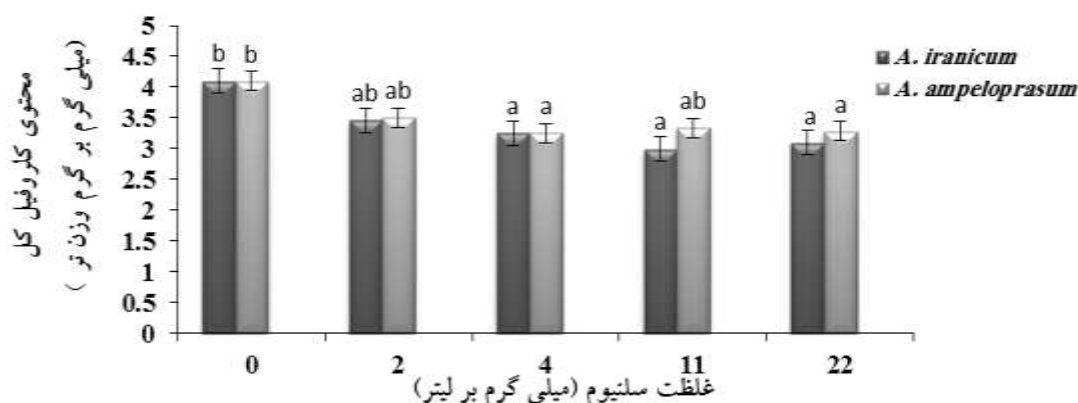
شکل ۲- اثر غلظت های مختلف سلیوم بر وزن تر بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی دار بودن اثر تیمارها بر میانگین وزن تر بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می باشد. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm$ SE است.

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

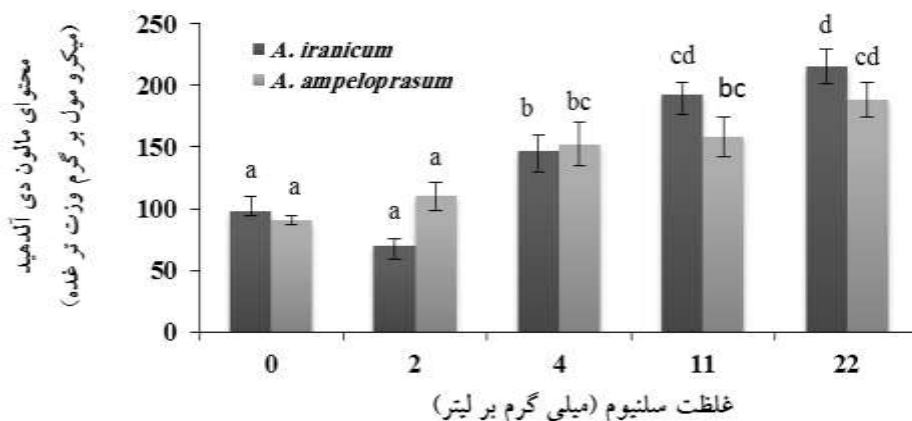
نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن برای بررسی اثر غلظت های مختلف سلیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی در

در تره کوهی ۱۰۶ درصد می باشد.

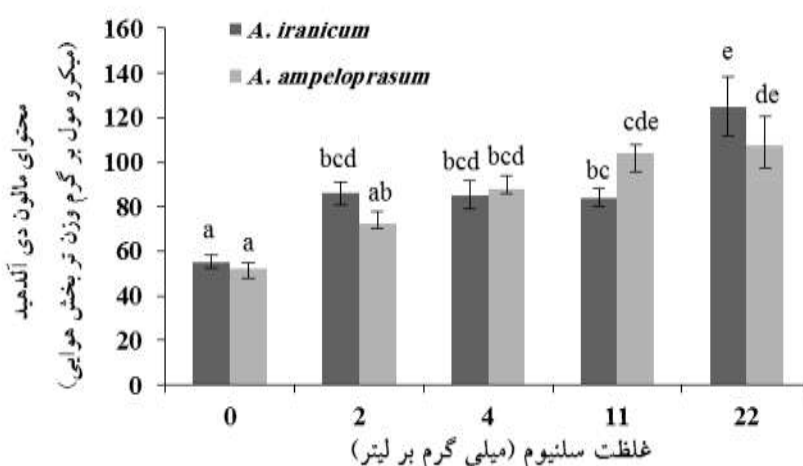
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های مربوط به ویژگی های فیزیولوژیک دو گیاه تره ایرانی و تره کوهی نشان داد که اثر سلیوم بر فعالیت آنزیم کاتالاز غده و محتوای پروتئین غده و بخش هوایی در سطح پنج درصد معنی دار است. همچنین



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف سلیوم 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 سلیوم 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.

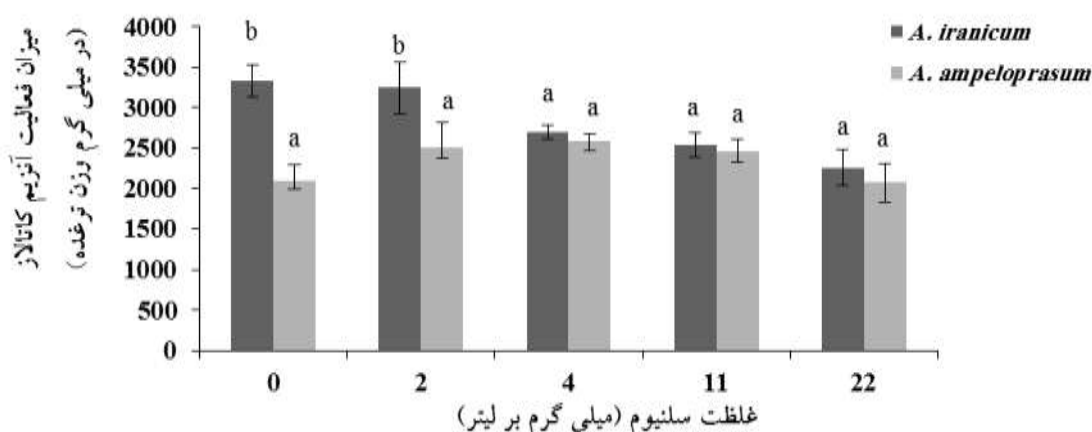


شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف سلیوم بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میانگین محتوای مالون‌دی‌آلدئید بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm$ SE است.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف سلیوم بر صفات فیزیولوژیک اندازه گیری 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**
سلیوم	۴/۱۸۰*	۰/۲۲۴ ^{ns}	۲۴/۵۰۴**	۲/۹۲۶*	۲/۸۹۷*
گونه × سلیوم	۳/۸۲۲*	۵/۲۸۹**	۰/۳۸۵ ^{ns}	۶/۶۹۷**	۳/۵۸۴*
خطا	۱۰۷/۲۸۵	۳۵۰/۱۹۶	۶/۳۰۸	۶/۵۵۲	۴/۶۹۶

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



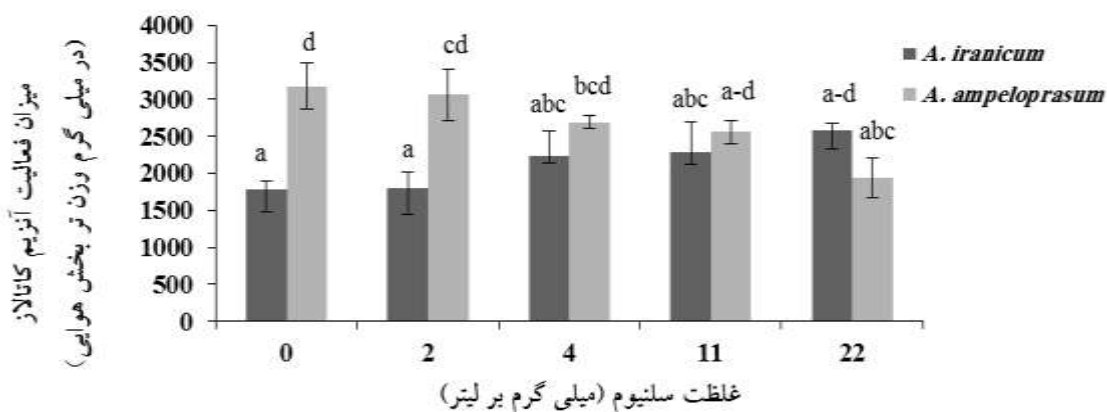
شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف سلیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی دار بودن اثر تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز غده با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است.

مختلف، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی افزایش یافت که از لحاظ آماری معنی دار نبود. با افزایش غلظت سلیوم در تره کوهی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی کاهش یافت و حداقل میزان فعالیت آنزیم در تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد.

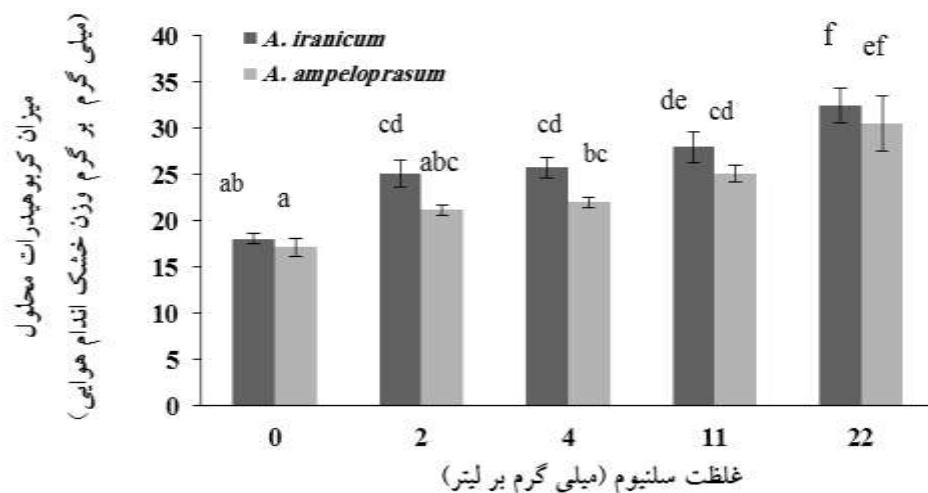
شکل (۸) اثر سلیوم بر محتوی کربوهیدرات محلول دو گونه تره ایرانی و تره کوهی تحت تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد. در تره ایرانی حداکثر میزان کربوهیدرات محلول در تیمار ۲۲ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد و حدود ۸۰ درصد افزایش را نسبت به گروه شاهد نشان داد. بررسی محتوای کربوهیدرات محلول در بخش هوایی گونه تره کوهی هم در پاسخ به سطوح تیمارهای سلیوم روند افزایشی را نشان داد. به‌طوری‌که تیمار ۲۲ میلی گرم 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 میلی گرم بر لیتر حداقل میزان فعالیت آنزیم را نشان داد و بین غلظت‌های مختلف سلیوم اختلاف معنی دار مشاهده نگردید. در گونه تره کوهی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تا تیمار ۴ میلی گرم بر لیتر افزایش و سپس در غلظت‌های بالاتر کاهش یافت و غلظت‌های مختلف سلیوم با یکدیگر اختلاف معنی داری از این نظر نشان ندادند.

مقایسه میانگین داده‌ها و آزمون دانکن حاصل از اثر غلظت‌های مختلف سلیوم 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 سلیوم 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.



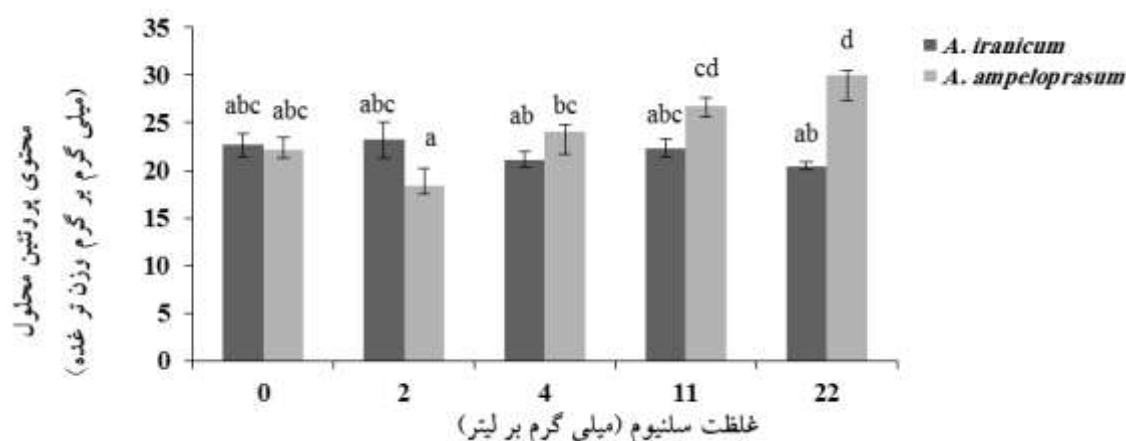
شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف سلیوم بر محتوای کربوهیدرات محلول بخش هوایی دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر محتوای کربوهیدرات محلول بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است.

بیش از ۲ میلی‌گرم بر لیتر، محتوای 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.

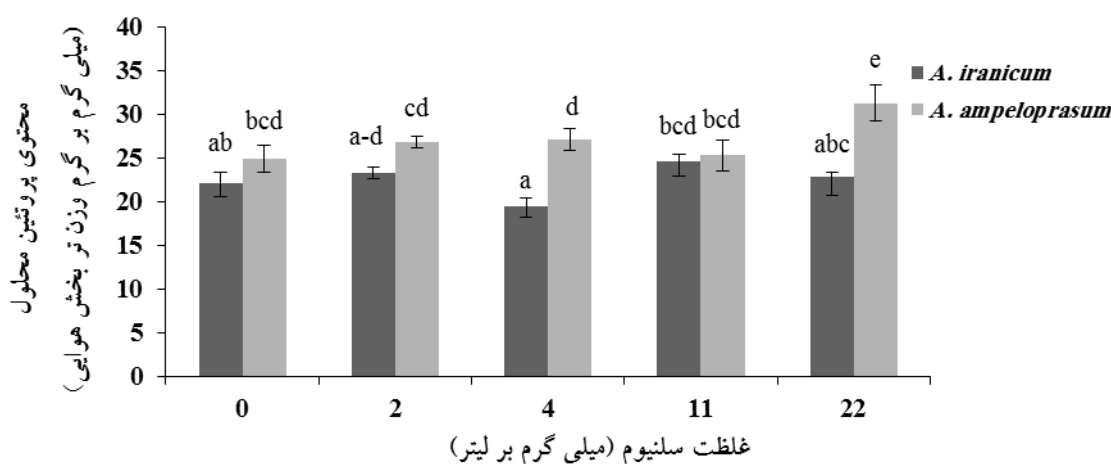
همان‌طور که در شکل (۱۰) مشاهده می‌شود، در تره ایرانی دو غلظت ۲ و ۱۱ میلی‌گرم بر لیتر سلیوم باعث افزایش محتوای پروتئین محلول بخش هوایی نسبت به گروه شاهد شد که این افزایش، از لحاظ آماری معنی‌دار بود. همچنین کاربرد سلیوم در غلظت ۴ و ۲۲ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش معنی‌دار محتوای پروتئین محلول بخش هوایی نسبت 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. محتوای 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 سلنیوم بر محتوای پروتئین محلول غده دو گونه تره ایرانی و تره کوهی، حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن اثر تیمارها بر میزان پروتئین محلول غده با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار $\pm$ SE است.



شکل ۱۰- اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم 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 سلنیوم در گیاهان مورد آزمایش باعث کاهش معنی‌دار وزن تر غده و بخش هوایی نسبت به گروه شاهد شد. غلظت‌های پایین سلنیوم، احتمالاً از راه افزایش میزان نشاسته در کلروپلاست‌ها، رشد گیاه را افزایش داده و به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی از غشاء سلولی این گیاهان در برابر پراکسیداسیون لیپیدها محافظت می‌کند (Han-Wens et al., 2010). کاهش زیست‌توده گیاه با افزایش غلظت سلنیوم می‌تواند 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 سلنیوم 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 سلنیوم 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 گلووتاتیون 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 غلظت-های بالای سلنیوم (بیش از ۱۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کاهش می‌یابد، زیرا آن‌ها نمی‌توانند H_2O_2 اضافی را که در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تولید می‌شود را از بین ببرند (Feng, 2012). (آنزیم کاتالاز به دلیل نقش متابولیسمی مکملی که با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز دارد، این دو آنزیم نقش حفاظتی مهمی در فرآیند حذف H_2O_2 و O_2^- دارند (Benavides et al., 2005). کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز ممکن است 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 آنزیم-های کلروپلاستی (Pennanen et al., 2002) و همچنین افزایش کارایی فتوسیستم II باعث افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شوند (Hasanuzzaman et al., 2010). طبق مطالعات صفاریزدی (۱۳۹۰) به نظر می‌رسد کاهش میزان کلروفیل در غلظت‌های ۶ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم احتمالاً به دلیل کاهش سطح پهنک برگ و افزایش تراکم کلروفیل a و 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 میلی-گرم 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، سلینیوم 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 سلینیوم می‌باشد. به‌طور کلی با افزایش سطوح سلینیوم در محیط خاک، میزان تجمع مالون‌دی-آلدئید افزایش یافت که نشان دهنده ایجاد تنش اکسیداتیو و تخریب لیپیدهای غشایی است. به‌نظر می‌رسد که سلینیوم 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 سلینیوم 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 سلینیوم حساس‌تر است.

نتایج مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تنش سلینیوم بر محتوای کربوهیدرات بخش هوایی دو گونه نشان داد که با افزایش غلظت سلینیوم 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 سلینیوم ممکن است به‌علت تأثیر سلینیوم روی فتوسنتز باشد که از سنتز کلروفیل جلوگیری می‌کند (Zhang *et al.*, 2003). افزایش نشاسته در تیمار سلینیوم، نشان دهنده افزایش فتوسنتز، کاهش انتقال کربوهیدرات به ریشه و یا کاهش تجزیه نشاسته می‌باشد (Mazzafera, 1998). به نظر می‌رسد که سلینیوم 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 سلینیوم به‌دست آمد و با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد. در این پژوهش با افزایش غلظت سلینیوم 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 سلینیوم (۱۰۰ میکرومولار) افزایش گونه‌های 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 fluorescence analysis. Analytical Chemistry 78: 7616-7624.
- Burton, G. W. and Ingold, K. U. (1984) Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. Science 224: 569-573.
- Candan, T. and Tarhan, L. (2003) Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activites and lipid peroxidation level in Zn stressed *Mentha pulegium*. Turkish Journal of Chemistry 27: 21-30.
- Cartes, P., Gianfreda, L. and Mora, M. L. (2005) Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms. Plant and Soil 276: 359-367
- Chen, C. and Dickman, M. B. (2005) Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America 102: 3459-3464.
- Chen, T. F., Zheng, W. J. Luo, Y., Yang, F., Bai, Y. and Tu, F. (2005) Effects of selenium stress on photosynthetic pigment contents and growth of *Chlorella vulgaris*. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology 31: 369-373.

- Chen, Z., Ricigliano, J. R. and Klessig, D. F. (1993) Purification and characterization of a soluble salicylic acid binding protein from tobacco. *Soil Science* 90: 9533-9537.
- Combs, J. R. G. F., Clark, L. C. and Turnbull, B. W. (2001) An analysis of cancer prevention by selenium. *Biofactors* 14(1-4): 153-159.
- Dan, H., Xihong, L. i. and Shuanglian, X. i., Shuxing, T. u, Zhenguo, C. h, Jinping, L. i, Zhijian, X. (2013) Selenium uptake, speciation and stress response of *Nicotina tabacum* L. *Envermental and Experimental Botany* 95: 6-14.
- Dubey, R. S. and Singh, A. K. (1999) Salinity induces accumulation of soluble sugars and alter the activity of sugar metabolizing enzymes in rice plant. *Biologia Plantarum* 53: 1147-1153.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28(3): 350-356.
- Dziubinskaa, H., Filekb, M., Krol, E. and Trebacz, K. (2010) Cadmium and selenium modulate slow vacuolar channels in rape (*Brassica napus*) vacuoles. *Journal of Plant Physiology* 167: 1566-1570.
- Emese, K., Hillestroma, P. R. and Laursen, K. H., Husted, S., Larsen, E. H. (2009) Effect of foliar application of selenium on its uptake and speciation in carrot. *Food Chemistry* 115: 1357-1363.
- Feng, R. W., and Wei, C. Y. (2012) Antioxidative mechanisms on selenium accumulation in *Pteris vittata* L., a potential Se phytoremediation plant. *Plant, Soil and Environment* 58: 105-110.
- Freeman, J. L., Hong, Z. and Matthew, A. M., Sirine, F., Steve, P. M., Pilon-Smits, E. A. H. (2006) Spatial imaging, speciation, and quantification of selenium in the hyperaccumulator plants *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 Szyńska, 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* (Trebouxiphyceae 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.

