

کاربرد سلنیوم در کاهش خسارات ناشی از تنش همزمان کادمیوم، نیکل و سرب بر جوانه‌زنی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهچه خیار (*Cucumis sativus* L.)

لیلا شکاری^۱، حسین آروئی^{۲*}، امین میرشکاری^۳، حسین نعمتی^۴

^۱دانشجوی دکتری باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

^۲استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

^۳استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، ایران

^۴استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۴/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۶/۰۶

چکیده

سلنیوم عنصری سودمند با خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌ویروسی که باعث تقویت سیستم دفاعی و افزایش سازگاری گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی می‌شود. در این پژوهش تأثیر کاربرد سلنیوم در شرایط تنش ناشی از حضور همزمان سه عنصر سنگین کادمیوم، نیکل و سرب در محیط کشت گیاه خیار (*Cucumis sativus* L. cv Super Dominus) مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور پژوهشی در دو مرحله آزمایش جوانه‌زنی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام پذیرفت. آزمایش اول با هدف تعیین سطح بهینه تأثیر سلنیوم و سطوح آستانه سمیت فلزات سنگین در گیاهچه خیار با سطوح تیمار سلنیوم (صفر، ۴، ۶، ۸، ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر از منبع سلنات سدیم) کادمیوم (صفر، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ میکرومولار از منبع کلرید کادمیوم) نیکل (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میکرومولار از منبع کلرید نیکل) و سرب (صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۱۰۰ میکرومولار از منبع کلرید سرب) صورت پذیرفت. تیمارها در آزمایش دوم شامل سلنیوم (صفر و ۸ میلی‌گرم بر لیتر)، کادمیوم (صفر و ۲۵ میکرومولار)، نیکل (صفر و ۲۰۰ میکرومولار) و سرب (صفر و ۱۰۰ میکرومولار) بودند. نتایج نشان داد که حضور عناصر سنگین در محیط کشت باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های جوانه‌زنی بذر خیار گردید و با افزایش تعداد عناصر سنگین در محیط کشت، کاهش در این شاخص‌ها مشهودتر بود ولی کاربرد سلنیوم باعث بهبود در سرعت و در صد جوانه‌زنی، افزایش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و وزن تر و خشک گیاهچه در تمامی تیمارهای آزمایشی شد. حضور عناصر سنگین (به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر) باعث کاهش معنی‌دار پایداری غشاء سلولی (EL) و افزایش میزان شاخص مالون‌دی‌آلدئید (MDA) گردید و سلنیوم در کاهش آسیب‌های غشاء سلولی در شرایط تنش تأثیر قابل توجهی داشت. همچنین تیمار با سلنیوم در شرایط سمیت فلزات سنگین باعث بهبود چشمگیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در برگ گردید ولی بیشترین تأثیر این عنصر در تیمار عناصر سنگین به تنهایی و بدون ترکیب با یکدیگر مشاهده شد. در کل نتایج نشان داد که سلنیوم از طریق بهبود

شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش خسارات ناشی حضور همزمان عناصر سنگین (Pb, Ni, Cd) به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر در گیاهچه خیار می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پایداری غشاء سلولی، تنش عناصر سنگین، جوانه‌زنی، شاخص مالون دی‌آلدئید

مقدمه

رشد و نمو از جوانه‌زنی بذر آغاز شده و این مرحله ای بحرانی در چرخه زندگی گیاه است. برای ادامه حیات، گیاهچه باید بتواند خود را با شرایط محیطی مطابقت داده و در خاک مستقر گردد. تحمل شرایط تنش زا در طی جوانه‌زنی برای استقرار گیاهچه بسیار حیاتی است و اگر بتواند این مرحله را با موفقیت سپری کند شانس زنده‌مانی و استقرار آن افزایش می‌یابد (Ekiz and Yilmaz, 2003). گیاهچه از نخستین مراحل جوانه‌زنی در حال تعامل با شرایط زیست محیطی (نظیر نور، دما و رطوبت) عوامل وابسته به ساختار خاک (مانند شوری) و عوامل زیستی (مانند علف‌های هرز و پاتوژن‌ها) است که تمام این شرایط گیاه را تحت استرس‌های درونی قرار می‌دهد (Levitt, 1980). علاوه بر این، حضور مقادیر سمی فلزات سنگین به دلیل فعالیت‌های انسانی به بافت خاک افزوده می‌گردد می‌تواند به استرس‌های بیشتر در گیاه منجر شود (Vierling, 1991).

فلزات سنگین به صورت قراردادی به عناصری با خصوصیات فلزی گفته می‌شود که عدد اتمی آنها بیشتر از ۲۰ بوده و چگالی بالاتر از 5 g/cm^3 داشته باشند (Yan-de et al., 2007). سرب (Pb) کادمیوم (Cd) و نیکل (Ni) از مهمترین عناصر سنگین آلاینده خاک هستند (Kaffi et al., 2009; Joseph et al., 2012). تجمع مقادیر سمی این فلزات در خاک سبب کاهش جوانه‌زنی گیاه و اختلال در رشد گیاهچه می‌گردد (Kolelia et al., 2004). سمیت عناصر سنگین با برهم‌زدن تعادل بین تولید و تخریب، منجر به انباشتگی رادیکال‌های آزاد^۱ (ROS) و ایجاد خسارات اکسیداتیو، تخریب پروتئین‌ها و آنزیم‌ها در ساختار گیاه می‌گردد (Zeng et al., 2014).

سلنیم یک عنصر ریز مغذی با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و آنتی‌ویروسی است که برای سلامت انسان و حیوانات ضروری می‌باشد (Pilon-Smits et al., 2015). با وجود اینکه اهمیت نقش سلنیم در افزایش رشد، عملکرد و تقویت سیستم دفاعی بسیاری از محصولات زراعی نظیر گندم به اثبات رسیده است ولی این عنصر مفید هنوز در شمار عناصر ضروری برای محصولات باغی و سبزیجات در نظر گرفته نمی‌شود (Thiruvengadam and Chung, 2015; Nawaz et al., 2015).

جذب مقادیر پایین سلنیم موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌گردد (Soleimanzade, 2012; Djanaguiraman et al., 2010; Pilon-Smits, 2015) در مطالعات اخیر نقش حفاظتی و آنتی‌اکسیدانی این عنصر در کاهش بسیاری از استرس‌های اکسیداتیو ناشی از تنش‌های دمایی، خشکی، شوری، مکانیکی، اشعه UV، پاتوژن‌ها و عناصر سنگین مورد بررسی قرار گرفته است (King et al., 2015; Haghghi et al., 2014; Hasanuzzaman et al., 2014; Pandey and Gupta, 2015) عنصر سلنیم از طریق افزایش آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (Lin et al., 2012; Saeidi et al., 2014) و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی (Schiavon et al., 2013; Sharma et al., 1420) به‌عنوان یک پایین‌آورنده استرس عمل

می‌کند. همچنین تحقیقات متعددی نشان داده که حضور این عنصر در محیط رشد علاوه بر اثرات مفید بر فعالیت گیاه، بر جذب و قابلیت دسترسی سایر عناصر نیز تاثیرگذار است (Saffaryazdi et al., 2012; Khoshgoftarmanesh, 2010; Khavari nejad et al., 2010). مکانیزم اثر سلنیوم بر کاهش سمیت ناشی از عناصر سنگین دقیقاً شناخته شده نیست، با این حال برخی شواهد نشان می‌دهد که این عنصر بسته به غلظت‌های به کار رفته در محیط ریشه می‌تواند جذب و انتقال عناصر سنگین را توسط گیاه کاهش دهد (Lin et al., 2012; Filek et al., 2012). با توجه به آلودگی منابع آب و خاک کشاورزی به انواع مختلف فلزات سنگین از طریق فعالیت‌های صنعتی، استفاده از پسابهای صنعتی و کودهای شیمیایی این پژوهش به منظور بررسی بیشتر تاثیر سلنیوم به عنوان یک عنصر آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش‌زای حضور همزمان عناصر سنگین کادمیوم، سرب و نیکل، بر جوانه‌زنی، رشد اولیه و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه خیار انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در آزمایشگاه تکنولوژی تولید بذر دانشگاه یاسوج، در تابستان ۱۳۹۵ اجرا گردید. این بررسی در دو مرحله آزمایش جوانه‌زنی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت. آزمایش اول شامل تعیین سطح بهینه سلنیوم و آستانه سمیت عناصر سنگین کادمیوم، نیکل و سرب در گیاه خیار بود، تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح سلنیوم (صفر، ۴، ۶، ۸، ۱۰ میلی گرم بر لیتر از منبع سلنات سدیم)، کادمیوم (صفر، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ میکرومولار از منبع کلرید کادمیوم) نیکل (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میکرومولار از منبع کلرید نیکل) و سرب (صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۱۰۰ میکرومولار از منبع کلرید سرب) بودند. آزمایش دوم که به منظور بررسی اثر سلنیوم بر کاهش خسارات ناشی از حضور همزمان عناصر سنگین مورد مطالعه در محیط کشت انجام پذیرفت، پس از آنالیز آماری داده‌های آزمایش اول، غلظت بهینه عملکرد سلنیوم (صفر به عنوان شاهد و ۸ میلی گرم در لیتر)، و غلظت‌های آستانه سمیت عناصر سنگین کادمیوم (صفر به عنوان شاهد و ۲۵ میکرومولار)، نیکل (صفر به عنوان شاهد و ۲۰۰ میکرومولار) و سرب (صفر به عنوان شاهد و ۱۰۰ میکرومولار) انتخاب گردید و تیمارها به صورت کاربرد عناصر به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر اعمال شد.

در هر دو مرحله آزمایشی از بذر هیبرید F₁ گیاه خیار (*Cucumis sativus* L.) رقم سوپر دامینوس (تولید شرکت سمینس ایتالیا، سال ۲۰۱۵) استفاده گردید. بذور خیار پس از ضدعفونی شدن روی کاغذ صافی و درون پتری شماره هشت قرار گرفته و تیمار شدند. از هر تیمار سه تکرار و در هر تکرار ۲۵ بذر در هر پتری وجود داشت. بذورهای تیمار شده به منظور جوانه‌زنی و رشد تا مرحله دوب رگی به مدت ۱۲ روز در محیط ژرمیناتور و با تنظیمات دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۵±۷۵ درصد رشد کردند. پتری‌ها به صورت روزانه آبیاری شدند و در طول دوره جوانه‌زنی (۱۲ روز) تعداد بذر جوانه‌زده به صورت روزانه شمارش و درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذرها پس از خروج ریشه‌چه به میزان دو میلی‌متر، محاسبه گردید. با ثابت شدن سرعت رشد، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن تر و خشک گیاهچه اندازه‌گیری گردید. برای سنجش وزن خشک، پس از تعیین وزن تر، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس با ترازوی حساس وزن شدند (Soltani et al., 2001).

برای سنجش محتوای نسبی آب بافت^۱ (RWC) ابتدا وزن تر نمونه‌ها در هر تیمار بلافاصله پس از نمونه‌برداری اندازه‌گیری و سپس در یخچال و دمای چهار درجه سانتی‌گراد درون آب مقطر قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت وزن اشباع برگی اندازه‌گیری شده و برگها مجدداً به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شده و وزن خشک هر نمونه با ترازوی دارای دقت یک ده هزارم محاسبه شد (Ritchie and Nguyen, 1990).

$$(2) RWC = \frac{W_i - W_d}{W_f - W_d} \times 100$$

وزن تازه (Wi)=(gr)، وزن آماس (Wf)=(gr) و وزن خشک نمونه‌های برگی (Wd)=(gr)

به منظور سنجش شاخص پایداری غشاء ۰/۱ گرم نمونه برگی تازه از هر تیمار آزمایشی درون لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر شده غوطه‌ور گردید، سپس در دستگاه حمام آب گرم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفته و هدایت الکتریکی نمونه‌ها به کمک دستگاه EC متر مدل (Jenway) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و مجدداً هدایت الکتریکی آنها اندازه‌گیری گردید (Sairam and Srivastava, 2002).

$$(3) MSI = 1 - \frac{EC_1}{EC_2} \times 100$$

هدایت الکتریکی در زمان ۱۰ دقیقه = EC_۱، هدایت الکتریکی در زمان ۳۰ دقیقه = EC_۲

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی به وسیله آزمون اسید تیوباربتوریک (TBAT) با سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید^۲ (MDA) انجام شد. ۰/۲ گرم بافت تر گیاهچه در پنج میلی لیتر اسید تری‌کلرواستیک (TCA) ۰/۱ درصد همگن شده سپس عصاره‌ی حاصل به فالكون انتقال یافته و به مدت ۵ دقیقه در ۶۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی چهار میلی لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربتوریک بود اضافه شد. مخلوط فوق به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردیدند. سپس مخلوط حاصل بلافاصله در حمام یخ سرد شد و بعد از آن در سرعت ۶۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. میزان جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر و ضریب تصحیح ۰/۱۵۵ (μ mol⁻¹ cm⁻¹) محاسبه و براساس واحد میکرومول بر گرم وزن تر (μmol g⁻¹ FW) بیان شد (Heath and Packer, 1968).

ده روز پس از اعمال تیمارهای آزمایشی، نمونه تازه گیاهی به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی پس از قرار گرفتن در نیتروژن مایع در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به منظور استخراج عصاره آنزیمی جهت سنجش فعالیت سه آنزیم کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز ۰/۵ گرم از بافت گیاهی در ۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH= ۷/۵ و غلظت ۵۰ میلی مولار) حاوی PVP یک درصد، Na₂ EDTA ۱ میلی مولار سائیده شد. سپس عصاره آنزیمی به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور و دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با استفاده از روش (Abi (1984) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH= ۷) محتوی ۰/۲ میلی لیتر H₂O₂ یک درصد و ۰/۳ میلی لیتر عصاره استخراجی

بود. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب طی یک دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد (m M-1 cm 0436/01 = ضریب خاموشی).

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) با استفاده از روش Nakano and Asada (1981) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH= ۷) محتوی EDTA ۰/۱ میلی مولار، آسکوربات سدیم یک میلی مولار، ۰/۲ میلی لیتر H₂O₂ یک درصد و ۰/۱ میلی لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت APX به صورت کاهش در جذب H₂O₂ طی یک دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد (mM-1cm-18/2 = ضریب خاموشی).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) به عنوان نمونه‌ای از پراکسیدازها با استفاده از روش Dixon و همکاران (۱۹۷۵) مورد ارزیابی قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH= ۷) محتوی یک میلی لیتر گایاکول یک درصد، یک میلی لیتر H₂O₂ یک درصد و ۰/۱ میلی لیتر عصاره ی استخراجی بود. فعالیت GPX به صورت کاهش در جذب گایاکول اکسید شده طی یک دقیقه در طول موج ۴۷۰ نانومتر محاسبه شد (m M⁻¹ cm⁻¹ = ۲۶/۶ ضریب خاموشی).

بررسی نتایج و تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای Statistix 10 و Excel و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌های مربوط به آزمایش اول (تعیین سطح بهینه سلنیوم و آستانه سمیت عناصر سنگین مورد مطالعه) نشان داد که صفات جوانه‌زنی بذور خیار به طور معنی‌داری تحت تأثیر سلنیوم قرار گرفتند و به طور کلی افزایش غلظت این عنصر تا تیمار هشت میلی گرم بر لیتر باعث بهبود و افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی گردید و سپس در تیمار ۱۰ میلی گرم بر لیتر شاهد بروز آثار سمیت سلنیوم و کاهش شاخص‌های اندازه‌گیری شده بودیم. تیمار عناصر سنگین به طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی گردید و متناسب با افزایش غلظت، آثار سمیت ناشی از تنش حضور این عناصر در محیط جوانه‌زنی افزایش یافت به نحوی که در تیمارهای ۲۵ میکرومولار کادمیوم، ۲۰۰ میکرومولار نیکل و ۱۰۰ میکرومولار سرب بیشترین میزان کاهش (کاهش بیش از ۵۰ درصدی نسبت به تیمار شاهد) در شاخص‌های اندازه‌گیری شده مشاهده گردید (داده‌ها نشان داده نشده است).

بررسی نتایج حاصل از این بررسی تأثیر سلنیوم در شرایط تنش ناشی از حضور همزمان عناصر سنگین کادمیوم، نیکل و سرب در محیط جوانه‌زنی بذور خیار نشان دهنده تاثیر قابل ملاحظه و معنی دار (جدول ۱) تنش بر شاخص‌های جوانه‌زنی بود. درصد جوانه‌زنی بذور با اعمال تیمارهای عناصر سنگین به طور قابل توجهی کاهش یافت (جدول ۲). همانطور که انتظار می‌رفت حضور همزمان عناصر سنگین در تیمار Ni × Pb × Cd باعث کاهش چشمگیر درصد جوانه‌زنی گردید. بر اساس نتایج در مقایسه با تیمار کادمیوم و نیکل تیمار سرب (به تنهایی و در ترکیب با سایر عناصر) باعث کاهش بیشتر جوانه‌زنی در بذور خیار گردید. افزودن سلنیوم در تمامی تیمارها باعث افزایش درصد جوانه‌زنی گردید به نحوی که افزایش ۳۸ درصدی جوانه‌زنی بذور در اثر افزودن سلنیوم به تیمار Ni × Pb × Cd مشاهده شد.

تیمار فلزات سنگین به تنهایی و یا در ترکیب با یکدیگر باعث کاهش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی بذور نسبت به تیمار شاهد گردید. به جز تیمار ترکیبی Ni×Cd که کاهش کمتری نشان داد، بین سایر تیمارهای عناصر سنگین (به

تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر) تفاوت معنی داری مشاهده نشد. تیمار Se باعث افزایش قابل توجه سرعت جوانه زنی بذور گردید ولی کاربرد این عنصر در تیمارهای کادمیوم، نیکل و سرب به تنهایی (جدول ۲) تأثیر بیشتری نسبت به تیمارهای ترکیبی عناصر سنگین نشان داد.

جدول ۱: میانگین مربعات اثر سلنیوم بر شاخص های جوانه زنی بذور خیار تحت تنش همزمان عناصر سنگین کادمیوم، نیکل و

سرب

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
وزن خشک گیاهچه	وزن تر گیاهچه	طول ریشه چه	طول ساقه چه	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی		
۸/۹۲۷E-0۴*	۰/۲۵۳۱۷*	۱۴۲/۲۱۰*	۱۱/۹۶۶۷*	۷۵۲/۳۴۷*	۲۰۵۸/۴۵*	۱	سلنیوم
۲/۰۴۲E-0۴*	۰/۰۹۷۹۲*	۳/۲۸۷*	۴/۵۰۱۸۷*	۱۵۸/۰۵۰*	۲۰۱/۴۵*	۱	کادمیوم
۱/۱۱۰E-0۴*	۰/۰۳۶۱۹*	۱/۴۲۱*	۳/۷۵۹۴۷*	۱۴۵/۴۸۷*	۶۱۸/۷۲*	۱	نیکل
۱/۱۱۰E-0۴*	۰/۰۳۴۴۵*	۵/۶۰۸*	۳/۷۹۶۸۸*	۲۱۰/۴۲۲*	۱۵۳۰/۰۲*	۱	سرب
۱/۳۶۷E-0۴*	۰/۰۰۱۴۵*	۰/۰۱۱*	۰/۰۵۵۵۸*	۰/۰۵۳*	۶۳/۰۲*	۱	سلنیوم×کادمیوم
۶/۰۲۱E-0۶*	۰/۰۰۰۰۳*	۱/۲۳۵*	۰/۰۰۱۱۳*	۰/۴۱۶*	۱۱۱/۰۲*	۱	سلنیوم×نیکل
۲/۵۵۲E-0۵*	۰/۰۰۰۱۱*	۰/۰۵۶*	۲/۳۱۵E-05*	۳۱/۵۷۹*	۷۷/۵۲*	۱	سلنیوم×سرب
۴/۶۲۵E-0۴*	۰/۰۹۴۷۰*	۵/۶۵۸*	۱/۴۵۸۳۶*	۴۶۰/۸۶۷*	۱۱/۰۲*	۱	کادمیوم×نیکل
۳/۲۵۵E-0۴*	۰/۰۴۹۱۵*	۵/۰۰۵*	۱/۹۳۳۳۶*	۵۸۹/۸۶۸*	۵۰۰/۵۲*	۱	کادمیوم×سرب
۵/۰۵۳E-0۴*	۰/۰۶۴۹۷*	۴/۷۱۳*	۰/۹۹۱۸۷*	۶۴۳/۳۷۹*	۰/۵۲*	۱	نیکل×سرب
۱/۰۲E-0۵*	۰/۰۰۷۳۰*	۱/۲۸۱*	۰/۰۸۰۵۸*	۵۱/۳۲۲*	۰/۱۱*	۱	سلنیوم×کادمیوم×نیکل
۳/۵۲۱E-0۶*	۰/۰۰۰۱۹*	۰/۳۱۷*	۰/۲۵۵۲۱*	۱۵/۶۰۸*	۲/۲۲*	۱	سلنیوم×کادمیوم×سرب
۳/۵۰۲E-0۵*	۰/۰۰۰۱۳*	۰/۳۰۷*	۰/۰۴۲۸۰*	۱۹/۹۷۸*	۱۶/۷۲*	۱	سلنیوم×نیکل×سرب
۵/۲۶۷E-۰۴*	۰/۰۴۲۲۵*	۳/۴۶۷*	۰/۳۷۳۳۶*	۴۷۶/۹۱۰*	۴۴/۷۲*	۱	کادمیوم×نیکل×سرب
۴/۶۸۷E-0۶*	۰/۰۰۷۰۱*	۱/۱۵۲*	۰/۱۲۳۳۶*	۳/۹۲۹*	۲۶۶/۰۲*	۱	سلنیوم×کادمیوم×نیکل×سرب
۲/۲۱۱E-0۵	۰/۰۰۲۷۷	۰/۲۴۵	۰/۰۸۵۹۸	۱۳/۹۲۹	۳۲/۸۲	۳۰	خطا
۶/۹۲	۴/۱۹	۵/۲۵	۸/۹۷	۵/۹۰	۸/۲۸		ضریب تغییرات

ns عدم وجود تفاوت معنی داری، * تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد

بر اساس نتایج این پژوهش حضور عناصر سنگین (به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر) در محیط جوانه زنی باعث کاهش معنی دار طول ساقه چه شد (جدول ۱) و با افزایش ترکیب عناصر در محیط کشت کاهش بیشتری در طول ساقه چه مشاهده گردید. در بین تیمارهای آزمایشی تیمارهای Ni و Ni×Cd سمیت کمتری نسبت به سایر تیمارها نشان دادند. بر اساس نتایج حاصله به طور کلی کاربرد سلنیوم در شرایط تنش باعث افزایش طول ساقه چه در گیاهان تحت تیمار نسبت به شرایط تنش و بدون کاربرد سلنیوم شد. تأثیر آنتی اکسیدانی سلنیوم در شرایط تنش در تیمار Se×Cd نسبت به سایر عناصر بیشتر بود ولی در تیمار ترکیبی Se×Cd×Ni×Pb و با افزایش تعداد عناصر سنگین در محیط کشت تأثیر کمتری بر افزایش طول ساقه چه نشان داد (جدول ۲).

عناصر سنگین همچنین باعث کاهش در طول ریشه چه در تمامی تیمارهای مورد مطالعه نسبت به تیمار شاهد شدند که کمترین طول ریشه چه در تیمار Cd×Ni×Pb مشاهده شد. کاربرد سلنیوم در شرایط تنش ناشی از سمیت کادمیوم،

نیکل و سرب باعث کاهش آسیب‌های ناشی از شرایط تنش‌زا گردید که بیشترین تاثیر این عنصر در تیمارهای $Se \times Ni$ ، $Se \times Cd$ و $Se \times Ni \times Cd$ مشاهده گردید (جدول ۲).

حضور عناصر سنگین در محیط کشت باعث کاهش معنی دار وزن تر گیاهچه‌های تحت تیمار گردید، در میان تیمارهای آزمایش تیمار Ni نسبت به سایر تیمارها سمیت کمتری نشان داد ولی بین سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. افزودن سلیوم به محیط جوانه‌زنی باعث افزایش معنی‌دار وزن تر گیاهچه گردید. کمترین تاثیر این عنصر در شرایط بیشینه تنش ($Se \times Cd \times Ni \times Pb$) مشاهده شد ولی بین سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲). بر اساس نتایج این پژوهش حضور عناصر سنگین در محیط کشت باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاهچه‌های تحت تیمار گردید و همانطور که انتظار می‌رفت بیشترین سمیت در تیمار ترکیبی بیشینه تنش ($Cd \times Ni \times Pb$) مشاهده گردید. وزن خشک گیاهچه نیز با افزودن سطح بهینه سلیوم به محیط کشت در شرایط تنش عناصر سنگین افزایش معنی‌داری یافت. بیشینه این تاثیر در تیمارهای $Se \times Ni$ و $Se \times Cd \times Ni$ مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر سلیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر خیار تحت تنش عناصر سنگین کادمیوم، نیکل و سرب

تیمارها	درصد جوانه‌زنی (%)	سرعت جوانه‌زنی (%)	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)	وزن تر گیاهچه (گرم)	وزن خشک گیاهچه (گرم)
شاهد	۸۱/۱۱۱ab	۸۱/۲۵۶a	۴/۳۷۷b	۱۰/۲۲۰c	۱/۴۴۴b	۰/۰۸۴a
کادمیوم	۶۹/۵۵۶cd-f	۵۵/۵۳۳d	۲/۶۴۴f-h	۷/۴۲۰de	۱/۰۹۸f	۰/۰۵۸gh
نیکل	۷۱/۲۲۲c-f	۵۴/۹۳۹d	۲/۹۵۵ef	۷/۳۳۰de	۱/۱۷۰ef	۰/۰۶۰e-h
سرب	۶۱/۷۷۸fg	۵۲/۹۳۰d	۳/۸۴۴e-g	۷/۴۳۰de	۱/۱۲۱f	۰/۰۶۰e-h
کادمیوم \times سرب	۵۲/۴۴۴gh	۵۳/۰۰۶d	۲/۳۵۵gh	۷/۰۹۷de	۱/۱۲۸f	۰/۰۶۳d-h
کادمیوم \times نیکل	۵۸/۲۲۲gh	۵۷/۲۵۰cd	۳/۲۳۰ef	۷/۴۰۷ed	۱/۱۳۱f	۰/۰۶۱e-h
سرب \times نیکل	۵۳/۴۴۴gh	۵۳/۳۵۰d	۲/۲۸۸h	۸/۶۳۰d-f	۱/۱۵۷f	۰/۰۶۵c-g
کادمیوم \times نیکل \times سرب	۴۹/۱۱۱h	۵۲/۴۸۳d	۲/۲۶۶h	۷/۸۰۷d	۱/۰۹۸f	۰/۰۵۶h
سلیوم	۸۹/۳۳۳a	۸۳/۴۰۰a	۵/۱۱۱a	۱۲/۷۰۷a	۱/۵۵۳a	۰/۰۸۷a
سلیوم \times کادمیوم	۷۴/۰۰۰b-e	۶۲/۹۳۳bc	۳/۴۷۷bc	۱۱/۲۰۷b	۱/۳۱۶c	۰/۰۷۰b-d
سلیوم \times نیکل	۷۸/۶۶۷bc	۶۳/۱۶۱bc	۳/۷۸۸c	۱۱/۲۰۷b	۱/۳۲۱c	۰/۰۷۱b
سلیوم \times سرب	۶۸/۸۸۹ef	۶۲/۴۸۳bc	۳/۷۸۸c	۱۰/۴۷۳bc	۱/۳۲۵c	۰/۰۶۷b-f
سلیوم \times کادمیوم \times سرب	۷۸/۸۸۹bc	۶۷/۰۷۲b	۳/۵۱۱cd	۱۰/۷۵۳bc	۱/۳۰۴c	۰/۰۶۹b-d
سلیوم \times کادمیوم \times نیکل	۷۸/۳۳۳b-d	۶۴/۶۱۱b	۳/۵۳۳cd	۱۱/۲۴۰b	۱/۲۵۹c-e	۰/۰۷۳b
سلیوم \times نیکل \times سرب	۶۹/۵۵۶c-f	۶۷/۶۴۴b	۳/۷۶۶cd	۱۰/۷۲۰bc	۱/۲۹۳c	۰/۰۶۸b-e
سلیوم \times کادمیوم \times نیکل \times سرب	۶۷/۰۰۰ef	۶۳/۰۶۱b	۳/۱۷۷de	۱۰/۹۰۷bc	۱/۲۵۴c-e	۰/۰۶۲c-g

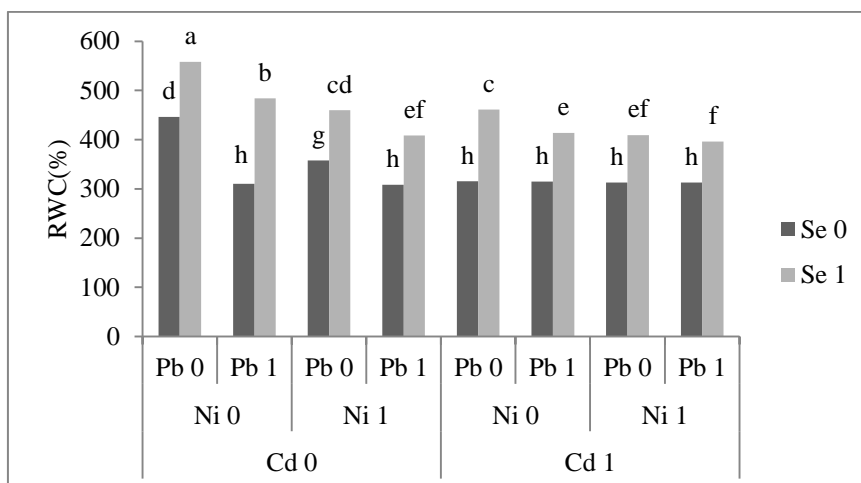
میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار دارند.

جدول ۳: میانگین مربعات اثر سلنیوم شاخص‌های فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شده در مرحله دوبرگی گیاهچه خیار تحت تنش عناصر سنگین کادمیوم، نیکل و سرب

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
اسکوربات پراکسیداز	گیاکول پراکسیداز	کاتالاز	مالون دی‌الدئید	محتوای نسبی آب بافت	شاخص پایداری غشا سلولی		
*.۰/۰۰۱۳۷	*.۰/۰۰۱۶۸	*۴۲/۶۳۵۹	*.۰۴E-۹/۱۰۰	*۱۴۱۹۷۱	*۶۷۰۶/۵۶	۱	سلنیوم
*.۰۰۱۱۸	*.۰/۰۰۳۴۸	*۳/۱۳۷۳	*-۰۰۵E۷/۸۰۳	*۲۹۸۱۶	۴۰۳/۹۹	۱	کادمیوم
*.۰۰۱۹۲	*.۰/۰۰۱۲۶	*۲/۷۳۳۷	*-۰۰۵E۸/۳۲۱	*۲۷۲۱۹	*۴۲۲/۴۶	۱	نیکل
*.۰۰۲۰۲	*.۰/۰۰۲۸۱	*۳/۲۵۹۵	*-۰۰۵E۱/۰۸۳	*۲۵۴۵۲	*۴۹۹/۹۵	۱	سرب
*۱/۴۷۰	*۵/۵۴۱	*.۰/۸۸۷۹	*-۰۰۵E۳/۸۱۶	*۶۶	*۴/۶۲	۱	سلنیوم×کادمیوم
*۲/۳۲۸	*۱/۴۴۳	*۱/۲۲۸۴	*-۰۰۵E۳/۴۸۶	*۲۰۹۱	*.۰/۰۰۸	۱	سلنیوم×نیکل
*۶/۱۳۹	*۲/۱۸۲	*۱/۴۱۷۲	*-۰۰۷E۹/۶۳۳	*۱۲۸۷	*.۰/۰۰۵	۱	سلنیوم×سرب
*۴/۹۲۳	*.۰/۰۰۲۳۷	*۲/۸۲۸۲	*-۰۰۶E۵/۴۶۷	*۷۰۵۷	*.۰/۰۰۷۸	۱	کادمیوم×نیکل
*۱/۹۲۰	*۱/۶۳۴	*۱/۷۱۸۶	*-۰۰۵E۶/۶۷۴	*۷۹۹۴	*۴/۷۸	۱	کادمیوم×سرب
*.۰/۰۰۱۹۰	*۴/۲۰۲	.۰/۹۳۱۹	*-۰۰۵E۸/۴۸۰	*۳۸۴۷	*۴/۶۲	۱	نیکل×سرب
*۸/۸۱۶	*۱/۴۱۴	*.۰/۰۱۸۱	*-۰۰۵E۱/۲۶۷	*۷۹۴	*۲۲۳/۱۰	۱	سلنیوم×کادمیوم×نیکل
*۱/۰۱۲	*۱/۷۴۷	*.۰/۶۴۳۱	*-۰۰۵E۳/۲۳۴	*۱۱۲۰	*۲۷۹/۲۴	۱	سلنیوم×کادمیوم×سرب
*۲/۲۰۴	*۲/۱۴۸	*.۰/۱۰۰۲	*-۰۰۵E۳/۳۶۷	*۵۴۵	*۵۴۵	۱	سلنیوم×نیکل×سرب
*.۰/۰۰۱۱۲	*.۰/۰۰۲۲۹	*۱/۶۱۰۶	*-۰۰۵E۲/۱۸۷	*۳۳۹۱۰	*۱۷۹	۱	کادمیوم×نیکل×سرب
*۱/۱۵۸	*۴/۱۴۳	*.۰/۰۹۸۰	*-۰۰۵E۳/۲۶۷	*۹۱۰۶	*۵۴۶	۱	سلنیوم×کادمیوم×نیکل×سرب
۶/۹۰۷	۱/۱۵۱	.۰/۳۳۸۱	-۰۰۷E۵/۶۹۶	۶۷۵۰	۹۴	۳۰	خطا
۷/۲۸	۷/۸۰	۱۰/۱۵	۵/۸۹	۹/۵۰	۴/۴۵		ضریب تغییرات

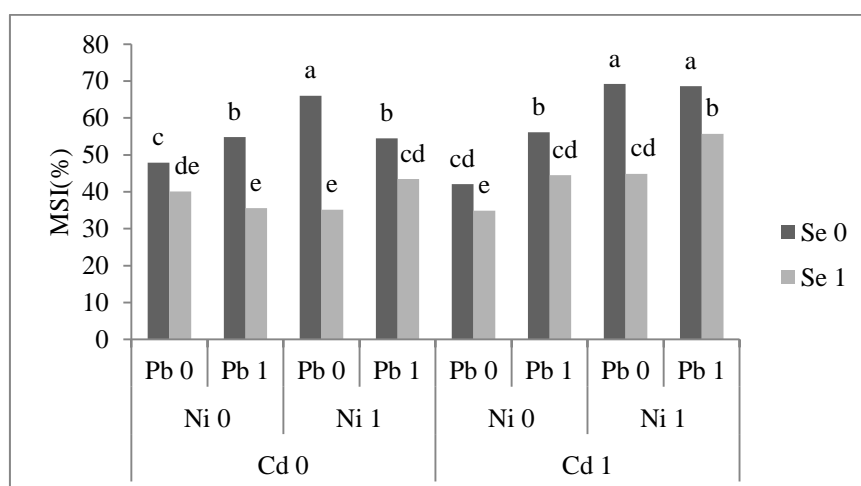
ns عدم وجود تفاوت معنی داری، * تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد

سمیت عناصر سنگین در تمامی تیمارهای آزمایشی باعث کاهش معنی‌دار در محتوای نسبی آب گیاهچه خیار گردید (جدول ۳). در بین تیمارهای آزمایشی تیمار Ni (بدون ترکیب با سایر عناصر) سمیت کمتری نسبت به سایر تیمارها نشان داد ولی در بین سایر تیمارها تفاوت معنی داری وجود نداشت. کاربرد سلنیوم نیز در شرایط عدم حضور کادمیوم، نیکل و سرب باعث افزایش چشمگیر این شاخص نسبت به تیمار شاهد گردید به نحوی که بیشترین میزان محتوای آب گیاهچه‌های خیار در این تیمار مشاهده شد. افزودن سلنیوم در شرایط سمیت عناصر سنگین مورد مطالعه نیز باعث افزایش معنی‌دار این شاخص نسبت به تیمار شاهد گردید و بیشینه این تاثیر در تیمار Se×Pb و کمترین تاثیر این عنصر در تیمار Se×Cd×Pb مشاهده شد (شکل ۱).



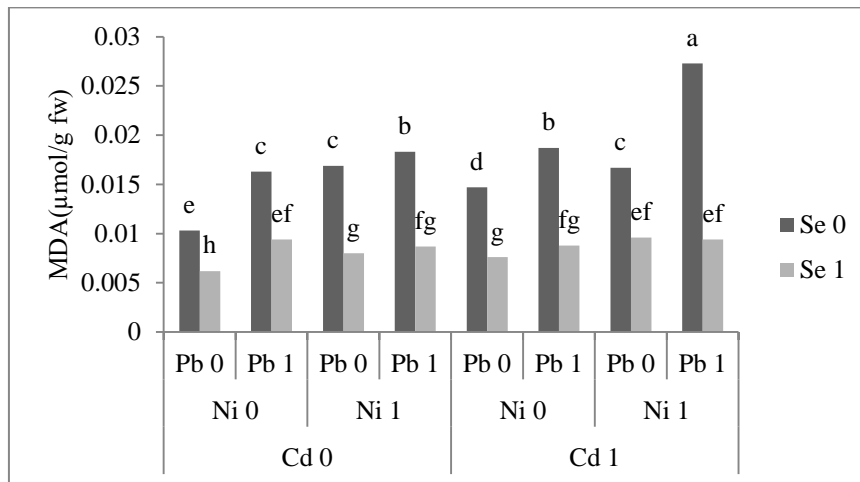
شکل ۱: اثر سلنیوم (Se) بر محتوای نسبی آب (RWC) گیاهچه خیار تحت تنش همزمان عناصر سنگین کادمیوم (Cd)، نیکل (Ni) و سرب (Pb)

حضور عناصر سنگین در محیط رشد باعث کاهش معنی دار شاخص پایداری غشاء سلول گردید (جدول ۳) به نحوی که در تمامی تیمارهای آزمایشی سمیت عناصر سنگین باعث افزایش معنی دار درصدی نشت یونی در گیاهان تیمار شده نسبت به تیمار شاهد گردید. که بیشترین میزان سمیت در سه تیمار Ni (بدون ترکیب با سایر عناصر)، Cd×Ni×Pb و کمترین میزان سمیت در تیمار Cd (بدون ترکیب با سایر عناصر) مشاهده گردید. از سویی دیگر کاربرد سلنیوم باعث افزایش پایداری غشاء سلولی و کاهش میزان نشت یونی در تمامی تیمارهای آزمایشی گردید. افزودن سلنیوم در شرایط تنش کادمیوم، نیکل و سرب (به تنهایی و بدون ترکیب با یکدیگر) باعث افزایش بیشتر پایداری غشاء سلولی گردید و به نسبت افزایش تعداد عناصر سنگین در محیط کشت میزان تاثیر سلنیوم در شرایط تنش کاهش یافت به نحوی که کمترین تاثیر این عنصر در تیمار Se×Cd×Ni×Pd مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲: اثر سلنیوم (Se) بر شاخص پایداری غشاء سلولی (MSI) گیاهچه خیار تحت تنش همزمان عناصر سنگین کادمیوم (Cd)، نیکل (Ni) و سرب (Pb)

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های آماری (شکل ۳) محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ گیاهچه خیار در اثر سمیت عناصر سنگین به طرز قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. بیشترین میزان سمیت در تیمار بیشینه تنش و حضور سه عنصر در محیط کشت (Cd×Ni×Pb) مشاهده شد. همچنین داده‌ها نشان دادند که تیمار گیاهان تحت تنش با سلنیوم تاثیر بسیار چشمگیری در بهبود شرایط تنش این عناصر و کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ در مقایسه با گیاهان تحت تنش بدون حضور سلنیوم داشت. بیشترین تاثیر آنتی اکسیدانی سلنیوم در تیمارهای Cd و Ni (بدون ترکیب با سایر عناصر) مشاهده شد.

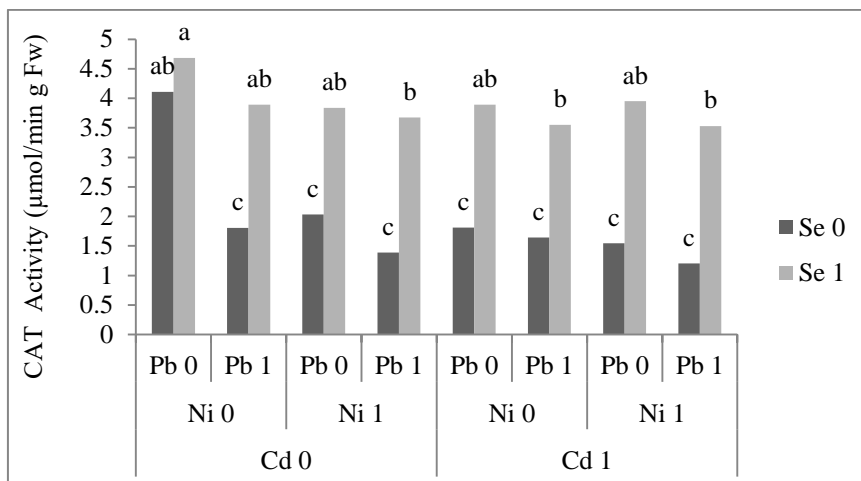


شکل ۳: اثر سلنیوم (Se) بر محتوای مالون دی آلدئید (MDA) گیاهچه خیار تحت تنش همزمان عناصر سنگین کادمیوم (Cd)، نیکل (Ni) و سرب (Pb)

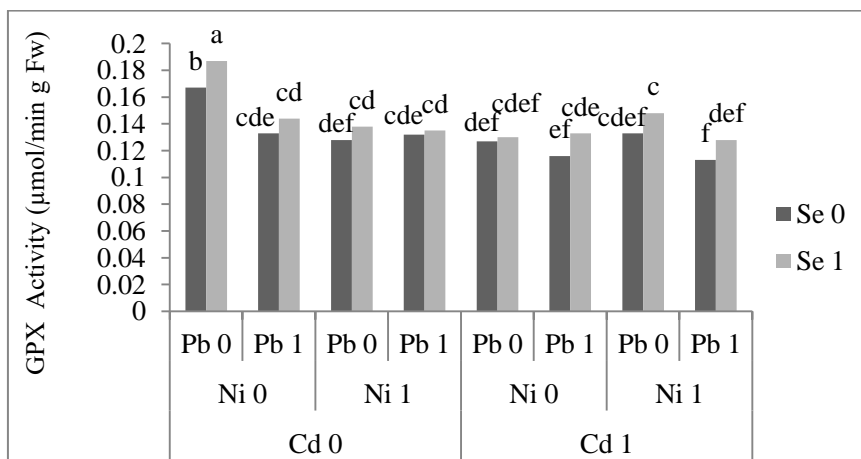
تفاوت معنی‌داری بین حضور سلنیوم و عدم حضور این عنصر در شرایط تنش عناصر سنگین بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد (جدول ۳). میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ گیاهچه خیار تحت تاثیر سمیت عناصر سنگین در تمامی تیمارهای آزمایشی به شدت نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (شکل ۴). اما کاربرد سلنیوم به طور معنی داری توانست باعث جبران اثرات مخرب این عناصر سنگین و افزایش در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ گیاهچه گردد. بیشینه این تاثیر در تیمارهای Cd، Ni، Pb (به تنهایی و بدون ترکیب با یکدیگر) و Cd×Ni مشاهده گردید.

تحت تاثیر سمیت عناصر سنگین کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ مشاهده شد (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین (شکل ۵) نشان داد که تیمار با سلنیوم در شرایط تنش توانست باعث بهبود شرایط تنش و افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برگ گیاهچه گردد. بر اساس نتایج حاصله به‌طور کلی با افزایش عناصر در محیط کشت تاثیر سلنیوم بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز کاهش یافت به نحوی که کمترین میزان این تاثیر در تیمار Se×Cd×Ni×Pb مشاهده شد.

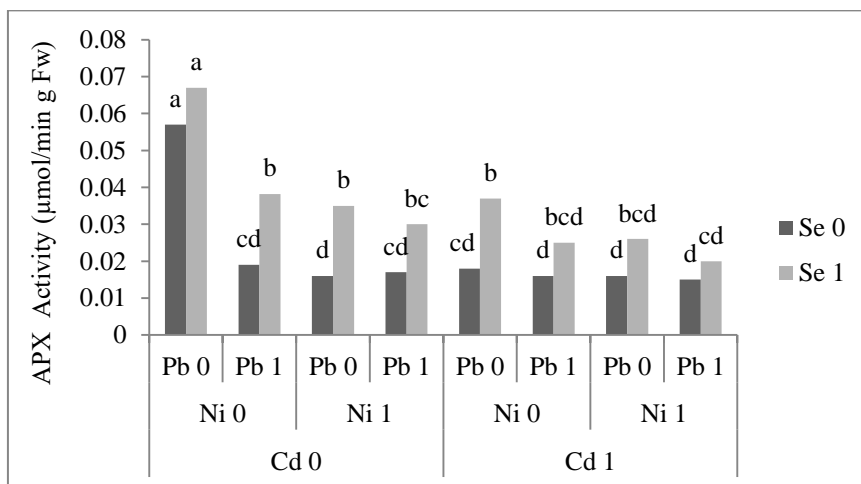
حضور عناصر سنگین باعث کاهش معنی دار میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ گیاهچه‌های تحت تیمار نسبت به تیمار شاهد گردید و بیشترین سمیت در تیمار بیشینه تنش Cd×Ni×Pb مشاهده شد. ولی اعمال سلنیوم باعث افزایش در میزان فعالیت این آنزیم نسبت به شرایط اعمال تنش بدون حضور سلنیوم گردید و بیشترین میزان تاثیر در تیمار Se×Cd×Ni مشاهده شد (شکل ۶).



شکل ۴: اثر سلنیوم (Se) بر فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در گیاهچه خیار تحت تنش همزمان عناصر سنگین کادمیوم (Cd)، نیکل (Ni) و سرب (Pb)



شکل ۵: اثر سلنیوم (Se) بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) در گیاهچه خیار تحت تنش همزمان عناصر سنگین کادمیوم (Cd)، نیکل (Ni) و سرب (Pb)



شکل ۶: اثر سلنیوم (Se) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) در گیاهچه خیار تحت تنش همزمان عناصر سنگین کادمیوم (Cd)، نیکل (Ni) و سرب (Pb)

بحث

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، تنش فلزات سنگین مورد مطالعه در محیط کشت باعث کاهش قابل توجهی در سرعت و درصد جوانه زنی بذور خیار گردید که نشان دهنده حساسیت بذور خیار نسبت به غلظت بالای فلزات سنگین و همچنین حضور همزمان فلزات سنگین مختلف در محیط کشت می باشد. An و همکاران (۲۰۰۴) گزارش دادند که آلودگی محیط کشت به غلظت های سمی عناصر سنگین کادمیوم، مس و روی باعث کاهش جوانه زنی بذور خیار گردید و با افزایش غلظت عناصر شاخص های جوانه زنی به طور چشمگیری کاهش یافت که مطابق با نتایج حاصل از این پژوهش می باشد. نتایج حاصل از بررسی های Hoshmandfar and Moraghebi (2011) بر روی جوانه زنی بذور گلرنگ در محیط کشت حاوی عناصر سنگین کادمیوم، نیکل، روی و مس و بررسی Ahmad و همکاران (۲۰۰۹) بر روی تاثیر سمیت نیکل بر جوانه زنی بذور آفتابگردان نشان داد که سمیت عناصر سنگین باعث کاهش معنی دار شاخص های جوانه زنی بذور در گیاهان مختلف می گردد. Shafiq و همکاران (۲۰۰۸) در طی یک بررسی کاهش جوانه زنی بذور تحت تیمار با ۱۰۰ ppm سرب و کادمیوم را مشاهده نمودند و اظهار داشتند که این کاهش می تواند به دلیل تجزیه مواد غذایی ذخیره شده در دانه در اثر تیمار عناصر سنگین باشد (Shafiq et al., 2008). اثر افزایش سلنیوم بر شاخص های جوانه زنی که در این بررسی مشاهده گردید می تواند به دلیل خاصیت تعدیل کنندگی این عنصر بر جذب و انتقال عناصر سمی کادمیوم، نیکل و سرب به بافت گیاهچه باشد و کاهش می دهد که در اثر بخشی سلنیوم در شرایط حضور سه عنصر در محیط کشت دیده شد می تواند به دلیل افزایش تنش اکسیداتیو ناشی از حضور همزمان غلظت های سمی سه عنصر سنگین در محیط کشت و همچنین تاثیر متقابل عناصر سنگین در جذب و انتقال یکدیگر در بافت گیاهچه باشد. به عقیده Frias و همکاران (۲۰۰۹) سلنیوم با برخی فلزات سنگین ترکیبات نامحلولی تشکیل داده که توسط ریشه چه جذب نمی گردد یا در صورت جذب این فلزات توسط بافت های گیاهچه با تشکیل این مجموعه ها از اثرات سمی این عناصر می کاهد.

تحت تاثیر غلظت های سمی کادمیوم، نیکل و سرب کاهش معنی داری در طول ساقه چه و ریشه چه مشاهده گردید و متناسب با افزایش ترکیب عناصر سنگین در محیط کشت سمیت ناشی از حضور این عناصر افزایش یافت. Mihalescu و همکاران (۲۰۱۰) کاهش معنی دار طول ساقه چه و ریشه چه و همچنین سایر شاخص های جوانه زنی را به طور مستقیم متناسب با افزایش تجمع عناصر سنگین در محیط کشت گیاه گزارش دادند که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر همخوانی دارد. Shekari و همکاران (۲۰۱۶) افزایش رشد و ارتفاع گیاه فلفل را تحت تاثیر سلنیوم در شرایط تنش کادمیوم گزارش دادند که با نتایج این بررسی مطابقت دارد. Kastori و همکاران (۲۰۱۲) کاهش طول ساقه چه و ریشه چه گیاه ذرت را در اثر تیمار با غلظت های بالای سرب گزارش دادند. همچنین Feng و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که افزودن غلظت پایینی از سلنیوم در شرایط تنش متوسط کادمیوم باعث افزایش زیست توده گردید که با نتایج بررسی Lin و همکاران (۲۰۱۲) و نتایج این پژوهش مطابقت دارد. به عقیده Jahid و همکاران (۲۰۱۰) احتمالاً سلنیوم با تاثیر بر فعالیت های آنزیم های دخیل در سنتز و هیدرولیز نشاسته و پروتئین باعث فراهم شدن سوبسترای لازم برای جوانه زنی و رشد گیاه فراهم می شود.

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه های آماری، سمیت ناشی از حضور عناصر سنگین کادمیوم، نیکل و سرب به تنهایی و با ترکیب با یکدیگر در محیط جوانه زنی بذور خیار باعث کاهش معنی دار در وزن تر و خشک گیاهچه گردید. نتایج این تحقیق در راستای نتایج به دست آمده از مطالعات Shekari و همکاران (۲۰۱۶) بر روی گیاه فلفل و Sharifi و

همکاران (۲۰۱۰) بر روی گیاه عدس بود. Arzoo et al. (۲۰۱۴) گزارش دادند که وزن تر و خشک گیاه *Macrotyloma uniflorum* با افزایش غلظت عناصر سنگین به شدت نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر همخوانی دارد. بر طبق مطالعات انجام گرفته روی گونه‌های گیاهی مختلف عناصر سنگین با ایجاد اختلال در فرایندهای مهم گیاه نظیر فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن (Gogorcena et al., 2002; Wong et al., 2002) در نتیجه اختلال در فعالیت‌های ضروری سلولی می‌تواند اثرات منفی بر رشد و تولید بیوماس گیاه داشته باشند. کاربرد سلنیوم در شرایط تنش ناشی از حضور ترکیب‌های مختلف عناصر سنگین مورد مطالعه در این پژوهش باعث افزایش وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه شد. در پژوهشی که توسط Sally و مروت (۲۰۱۱) انجام پذیرفت، نتایج نشان داد که تیمار سلنیوم باعث افزایش چشمگیری در شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه کاهو گردید. Haghghi et al. (۲۰۱۶) نیز با تیمار سلنیوم بر روی گیاه خیار افزایش معنی داری در وزن خشک ریشه مشاهده نمودند که با نتایج حاصل از بررسی حاضر همخوانی دارد. Saffaryazdi et al. (۲۰۱۲) افزایش رشد و تولید زیست توده در گیاه اسفناج را تأثیر مثبت سلنیوم بر سنتز کلروفیل، تثبیت کربن، سنتز و هیدرولیز نشاسته و تحریک تقسیم سلولی در سلول‌های مریستمی دانستند.

حضور غلظت‌های سمی کادمیوم، نیکل و سرب (به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر) در محیط جوانه‌زنی باعث کاهش معنی‌دار میزان محتوای نسبی آب بافت در سلول‌های برگ گیاهچه خیار گردید. Farokh et al. (۲۰۱۱) در طی بررسی تأثیر تنش عناصر سنگین بر گیاه تربچه کاهش در میزان نسبی آب بافت گیاه را گزارش دادند. نتایج بررسی Millan et al. (۲۰۰۹) نشان داد که سمیت عناصر سنگین باعث کاهش رشد ریشه گیاه گوجه فرنگی گردید. به عقیده این محققین سمیت عناصر سنگین با کاهش طول ریشه، جلوگیری از تولید ریشه‌های مؤین و آسیب به نوک ریشه‌های اصلی موجب ایجاد اختلال در جذب آب و به هم ریختن تعادل آبی در گیاه می‌گردد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزودن سلنیوم به محیط کشت، شاخص محتوای نسبی آب گیاهچه را در تمامی تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد. نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات Eskandari et al. (۲۰۱۲) Zanjani et al. (۲۰۱۲) بر روی گیاه کدو همخوانی دارد. Hawrylak-Nowak (2009) نیز افزایش رشد و حجم ریشه گیاه خیار را در اثر تیمار با سلنیوم در شرایط تنش شوری گزارش نمودند. Han-Wens et al. (۲۰۱۰) در طی یک بررسی بیان داشتند که سلنیوم تقسیم سلولی را در سلول‌های نوک ریشه بهبود بخشیده و با افزایش رشد و توسعه سیستم ریشه گیاه موجب جذب بیشتر آب توسط گیاهان تحت تنش‌های محیطی گردیده و در نهایت با افزایش در میزان آب بافت‌های گیاهی، شاخص محتوای آب برگ را افزایش دهد.

مقایسه داده‌های حاصل از تجزیه آماری در مورد شاخص پایداری غشاء سلول نشان داد که سمیت عناصر سنگین باعث کاهش معنی‌دار پایداری غشاء سلول و افزایش نشت یونی از دیواره سلولی در نهایت افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گیاهچه‌های تیمار شده با ترکیبات مختلف عناصر سنگین مورد مطالعه گردید. بر طبق مطالعات انجام شده رادیکال‌های آزاد ایجاد شده بر اثر تنش عناصر سنگین، باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب دیواره سلولی و در نتیجه تخریب و از هم‌پاشی غشاء می‌گردند و متعاقب آن میزان مالون‌دی‌آلدئید که شاخصی جهت سنجش میزان آسیب به غشاهای بیولوژیکی است بالا می‌رود (Shri et al., 2009).

Bahman Ziari et al. (۲۰۱۲) در طی بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عناصر سنگین بر پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلولی گزارش دادند که تیمار غلظت‌های سمی نیکل بر روی خیار باعث افزایش معنی‌داری در پراکسیداسیون

چربی‌های غشاء و افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید می‌گردد که با نتایج حاصل از بررسی حاضر همخوانی دارد. کاربرد سلنیوم در شرایط تنش کادمیوم، نیکل و سرب به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر باعث افزایش معنی‌دار در شاخص پایداری غشاء سلولی گردید. Djanaguiraman et al. (۲۰۱۰) نیز بهبود عملکرد سیستم غشاء سلولی را به واسطه حضور سلنیوم در محیط رشد گیاه گزارش دادند که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد. در بررسی که توسط Hong et al. (۲۰۱۳) بر روی تاثیر سلنیوم در کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از سمیت سرب انجام گرفت نتایج نشان داد که تیمار سلنیوم می‌تواند باعث کاهش اثرات استرس ناشی از سمیت فلزات سنگین از طریق کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و تعدیل سیستم محافظتی آنتی‌اکسیدانی گردد. Saffaryazdi et al. (۲۰۱۲) دلیل تاثیر سلنیوم بر افزایش پایداری غشاء و کاهش نشت یونی از دیواره سلولی را علاوه بر تقویت سیستم دفاعی و آنتی‌اکسیدانی گیاه، تاثیر مفید این عنصر بر افزایش میزان جذب عناصر ضروری برای حفظ پایداری غشاء سلول‌های گیاهی (از جمله پتاسیم) دانستند. Hawrylak-Nowak et al. (۲۰۱۵) نیز تاثیر مفید عنصر سلنیوم را در بهبود جذب عناصر غذایی ضروری (پتاسیم و فسفر) در گیاه خیار گزارش دادند.

گیاهان در مقابله با تنش‌های اکسیداتیو دارای سازکارهای دفاعی متعددی بوده که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله آنهاست. پراکسید هیدروژن تولید شده در شرایط تنش توسط این آنزیم‌ها تبدیل به آب و اکسیژن می‌گردد (Proietti et al., 2013). این آنزیم‌ها به‌عنوان یک شاخص زیستی مهم جهت بررسی میزان تنش‌های وارده به ساختار گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرند (Balakhninaa and Nadezhkinab, 2017). بر اساس نتایج حاصل از تجزیه‌های آماری تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت عناصر سنگین در تمامی تیمارهای آزمایشی باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ گیاهچه خیار شد. Siddiqui et al. (۲۰۱۴) گزارش دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی *Brassica rapa* در گیاهان تیمار شاهد نسبت به گیاهانی که تحت تنش عناصر سنگین پرورش یافته بودند در بالاترین میزان قرار داشت (Siddiqui et al., 2014).

Balakhninaa and Nadezhkinab (۲۰۱۷) کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را در اثر تیمار با غلظت‌های سمی سرب گزارش دادند. Hasanuzzaman et al. (۲۰۱۲) نیز کاهش چشمگیر فعالیت آنزیم کاتالاز را تحت شرایط تنش کادمیوم گزارش دادند. که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. کاربرد سلنیوم در شرایط تنش و عدم تنش تاثیر چشمگیری در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های تحت تیمار داشت. نتایج حاصل از بررسی Balakhninaa and Nadezhkinab (۲۰۱۷) نشان داد که سمیت سرب در محیط جوانه‌زنی بذور گندم باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردید ولی کاربرد سلنیوم در شرایط تنش باعث افزایش رشد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بافت گیاهچه شد. نتایج مشابهی توسط Lin et al. (۲۰۱۲) در طی بررسی تاثیر تنش عناصر سنگین بر روی گیاه برنج مشاهده شد. این محققین گزارش دادند که کاربرد سلنیوم تاثیر فوق‌العاده‌ای در کاهش خسارات ناشی از تنش کادمیوم و کاهش تاثیر سمیت این عنصر بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پر اکسیداز داشت. طبق نظر Feng et al. (۲۰۱۳) تاثیر سلنیوم در بهبود جذب و انتقال عناصر ضروری در گیاه می‌تواند مکانیسمی مهم در تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آزاد (ROS) در شرایط تنش‌های محیطی باشد.

نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج این پژوهش حضور غلظت‌های بالای عناصر سنگین کادمیوم، نیکل و سرب در محیط جوانه‌زنی بذر خیار باعث آثار مخربی بر رشد و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه می‌گردد و متناسب با افزایش حضور همزمان عناصر سنگین مورد مطالعه در محیط کشت آثار مخرب این عناصر در پیکره گیاه افزایش می‌یابد. از سویی دیگر کاربرد سلنیوم می‌تواند باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه در شرایط تنش ناشی از ترکیبات مختلف عناصر سنگین مورد بررسی شود، هرچند با افزایش آلودگی و حضور همزمان عناصر سنگین مورد مطالعه در محیط کشت تاثیر آنتی‌اکسیدانی این عنصر کاهش می‌یابد. لازم به ذکر است که غلظت‌های سمی عناصر سنگین می‌توانند بر مکانیسم اثر، کاهش و افزایش سمیت یکدیگر در محیط کشت تاثیر گذار باشند که نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌باشد که فراتر از بررسی‌های انجام گرفته در این پژوهش است. همچنین تاثیر سلنیوم بسته به گونه، رقم و آستانه تحمل گیاهان مختلف، متفاوت بوده و بر اساس نتایج این بررسی بهینه تاثیر این عنصر در گیاه خیار و رقم مورد مطالعه سوپر دامینوس در تیمار ۸ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم مشاهده گردید.

References

- Abi, H. 1984.** Catalase in vitro. *Method of Enzymology*. 105:121-126.
- Ahmad, P., Ozturk, M. and Salih, G. 2012.** Oxidative damage and antioxidants induced by heavy metal stress in two cultivars of mustard (*Brassica juncea* L.) plants. *Fresenius Environmental Bulletin*. 21(10): 2953-2961.
- An, Y.J., Kim, Y.M., Kwon, T.I. and Jeong, S.W. 2004.** Combined effect of copper, cadmium, and lead upon *Cucumis sativus* growth and bioaccumulation. *Science of the Total Environment*. 326: 85-93.
- Antoniadis, N. and Alloway, B.J. 2001.** Availability of Cd, Ni and Zn to rye grass in sewage sludge treated soil at different temperatures. *Water, Air and soil pollut.* 132:201-204.
- Arzoo, A., Kumar, S., Ashirbad, N., Kunja, M. and Satapathy, B. 2014.** Impact of nickel on germination, seedling growth and biochemical changes of *Macrotyloma uniflorum* (Lam) verde. *International Journal of Biosciences | IJB |*. 5(9): 321-331.
- Baccouch, S., Chaoui, A. and El Ferjani, E. 2001.** Ni toxicity induced oxidative damage in *Zea mays* roots. *Journal of Plant Nutrition*. 24: 1085-1097.
- Bahman ziari, H., Khoshgoftarmansh, A.H., Sanaii ostovar, A., Shirvani, M. and Haghghi, M. 2012.** Effect of different levels nickel in nutrient solution containing ammonium nitrate on peroxidation of lipids and antioxidant enzyme activity of cucumber leaves. *Science and Technology of Greenhouse Culture*. 3(12): 91-103.
- Balakhnina, T.I. and Nadezhkinab, E.S. 2017.** Effect of Selenium on Growth and Antioxidant Capacity of *Triticum aestivum* L. during Development of Lead-Induced Oxidative Stress. *Russian Journal of Plant Physiology*. 64 (2): 151-160.
- Balakhnina, T.I., Bulak, P., Matichenkov, V.V. and Kosobryukhov, A.A. 2015.** The influence of Si-rich mineral zeolite on the growth processes and adaptive potential of barley plants under cadmium stress, *Plant Growth Regulation*. 75: 557-565.
- Benavides, M.P., Gallego, S.M. and Tomaro, M.L. 2005.** Cadmium toxicity in plant. *Brazilian journal of plant physiology*. 17(1):21-34.
- Dixon, N.E., Gazzola, C., Blakeley, R.L. and Zermer, B. 1975.** Jack bean urease (EC 3.5.1.5). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel. *Journal of the American Chemical Society*. 97: 4131-4133.
- Djanaguiraman, M., Prasad, P.V.V. and Seppanen, M. 2010.** Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48: 999-1007.
- Ekiz, H. and Yilmaz, A. 2003.** Determination of the salt tolerance os some barley genotype and the characteristics affecting tolerance. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 27:253-260.
- Eskandari Zanjani K., Shirani Rad, A.H., Naeemi, M., Moradi Aghdam, A. and Taherkhani, T. 2012.** Effects of Zeolite and Selenium Application on Some Physiological Traits and Oil Yield of

- Medicinal Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) under Drought Stress. *Current Research Journal Biological Science*. 4(4): 462-470.
- Farokh, S., Mosa, A.A., Taha, A.A., Ibrahim, H.M. and Gahmary A.M.E. 2011.** Protective effect of humic acid and on Radish (*Raphanuse sativus*, L. Var. Sativing) plant subjected to cadmium stresses. *Journal of stress Physiology and Biochemistry*. 7: 99-116.
- Feng R., Wei, C., Tu, S. 2013.** The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*. 87: 58-68.
- Filek, M., Gzyl-marliche, B., Zembala, M., Bednarska, E., Laggner, P. and Kriechbaum, M. 2012.** Effect of selenium on characteristics of rape chloroplast modified by cadmium. *Journal of plant physiology*. 167: 28-33.
- Gallego, S.M. Benavides, M.P. Tomaro, M.L. 1996.** Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: Evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Science*, 121: 151-159.
- Frias, J., Gulewicz, P., Martínez-Villaluenga, C., Pilarski, C., Blazquez, E., Jiménez, B., Gulewicz, K. and Vidal-Valverde, C. 2009.** Influence of Germination with Different Selenium Solutions on Nutritional Value and Cytotoxicity of Lupin Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57 (4):1319–132.
- Gogorcena, Y., Lucena, J.J. and Abadia, J. 2002.** Effect of Cd and Pb in suger beets Plants grown in nutrient solution: Induced Fe deficiency and growth inhibition. *Functional Plant Biology*. 29:1453-1464.
- Haghighi, M., Shebanirad, A., and Pesarakli, M. 2016.** Effects of selenium as a beneficial element on growth and photosynthetic attributes of greenhouse cucumber, *Journal of Plant Nutriation*. 39(10) 1493–1498.
- Han-Wens, S., Jing, H., Shu-Xuan, L. and Wei-Jun, K. 2010.** Protective role of selenium on garlic growth under cadmium stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 41: 1195-1204.
- Hasanuzzaman, M., Alam, M.M., Nahar Jubayer, K.M.A. and Fujita, M. 2014.** Exogenous salicylic acid alleviates salt stress-induced oxidative damage in Brassica napus by enhancing the antioxidant defense and glyoxalase systems. *Australian Journal of Crop Science*. 8:631–639.
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M.A. and Fujita, M. 2012.** Exogenous selenium pretreatment protects rapeseed seedlings from cadmium-induced oxidative stress by upregulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification Systems. *Biological Trace Element Research*. 149:248–261.
- Hawrylak-Nowak, B., Matraszek, R. and Pogorzelec, M. 2015.** The dual effects of two inorganic selenium forms on the growth, selected physiological parameters and macronutrients accumulation in cucumber plants. *Acta Physiologiae Plant*. 37:41
- Hawrylak-Nowak, B. 2009.** Beneficial Effects of Exogenous Selenium in Cucumber Seedlings Subjected to Salt Stress. *Biological Trace Element Research*. 132: 259-269.
- Heath, R.L. and Packer, L. 1968.** Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125 :189-198.
- Hong, Y., Mian-Hao, H. and Zao-Hong, Z. 2013.** Selenium Alleviates Coleus from Oxidative Damage under Pb Stress by Resource Allocation and Antioxidant Defense System. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*. 6(9): 1606-1613.
- Hoshmandfar, A. and Moraghebi, F. 2011.** Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc onseed germination and seedling growth of safflower. *African Journal of Agricultural Research*. 6(5): 1182-1187.
- Jahid, A.M., Kumar, S., Thakur, P., Sharma, S., Kau Raman Preet, N., Kaur, D.P., Bhandhari, K., Kabata-Pendias, A. and Pendias H. 2001.** Cadmium. PP. 143-157. In: Kabata-Pendias, A. and H. Pendias (Eds.). *Trace Elements in Soils and Plants*, 3rd Ed. CRC Press. Boca Raton. FL
- Joseph, B., George, J., Jeevitha, M.V. 2012.** Impact of heavy metals and Hsp Response. *International Journal of Biosciences (IJB)*. 2(9): 51-64.
- Kaffi, M., Borzoi, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masomi, A. and Nabati, G. 2009.** Environmental stress in plant physiology. Mashhad University Jihad Publication.
- Kastori, R., Petrović, N., Gašić, O. and Janjatović, V. 1991.** Uticaj olova na akumulaciju i distribuciju mi neralnih materija u soji (*Glycine max*. L. Merr.). *Proceedings for Natural Sciences, Srpska*. 80: 55–65.
- Khavari nejad, R., Goshegir, Z. and Saadatmand, S. 2010.** Effect of interaction selenium and molybdenum on photosynthetic pigments in tomato leaves *Lycopersicom esculentum* Mill. *Journal of Plant Science*. 17(1): 23-14.
- Kolelia, N., Ekerb, S. and Cakmak, I. 2004.** Effect of zinc fertilization on cadmium toxicity in durum and bread wheat grown in zinc-deficient soil. *Environment Pollution*. 131: 453- 459.

- Khoshgoftarmanesh, A.H. 2010.** Advanced topics in plant nutrition. Isfahan, Isfahan University Publication Center.
- Lin, L., Zhou, W., Dai, H., Cao, F., Zhang G. and Wu F. 2012.** Selenium reduces cadmium uptake and mitigates cadmium toxicity in rice. *Journal of Hazardous Materials*. 235-236:343-351.
- Levitt, J. 1980.** Responses of Plants to Environmental Stresses: Water, Radiation, Salt and Other Stresses. vol. II. Academic Press Inc, New York, London.
- Mihalescu, L., Mare-Rosca, O.E., Marian, M. and Blidar C.F. 2010.** Research on the growth intensity of the Zea mays L. plantlets aerial parts under Cadmium treatment. *Analele Universitatii din Oradea*, Ed. Universitatii din Oradea, Tom XVII/1. ISSN 1224 – 5119, pp:147-151.
- Millan, A.F., Sagardoy, R., Solanas, M., Abadia, A. and Abadia J. 2009.** Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plant grown in hydroponics. *Environmental and Experimental Botany*. 65:376-385.
- Molassiotis, A., Satipoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G. and Therios I. 2005.** Boron induced oxidative damage and antioxidant and uncoupled responses in shoot tips culture of apple rootstock EM9 (*Malus domestica* Borkh.). *Environmental and Experimental Botany*. 56: 54-62.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1981.** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*. 22(5): 867-880.
- Nawaz, F., Ashraf, M.Y., Ahmad, R., Waraich, E.A., Shabbir, R.N. and Bukhari, M.A. 2015.** Supplemental selenium improves wheat grain yield and quality through alterations in biochemical processes under normal and water deficit conditions. *Food Chemistry*. 175:350–357.
- Pandey, C. and Gupta, M. 2015.** Selenium and auxin mitigates arsenic stress in rice (*Oryza sativa* L.) by combining the role of stress indicators, modulators and genotoxicity assay. *Journal of Hazardous Materials*. 287:384–391.
- Pilon-Smits, E.A.H., Quinn, C.F., Tapken, W., Malagoli, M. and Schiavon, M. 2009.** Physiological functions of beneficial elements. *Current Opinion in Plant Biology*. 12:267–274.
- Proietti, P., Nasinia, L., del Buono, D., D'amato, R., Tedeschini, E. and Businella, D. 2013.** Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress. *Scientia Horticulturae*. 164: 165–171.
- Qing, X., Zhao, X., Hu, C., Wang, P., Zhang, Y. and Zhang, X. 2015.** Selenium alleviates chromium toxicity by preventing oxidative stress in cabbage (*Brassica campestris* L.) leaves. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 114:179–189.
- Ritchie, S.W. and Nguyen, H.T. 1990.** Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*. 30: 105-111.
- Saffaryzadi, A., Lahouti, M., Ganjeali, A. and Bayat, H. 2012.** Impact of selenium supplementation on growth and selenium accumulation on spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants. *Notulae Scientia Biologicae*. 4: 95-100.
- Sairam, R.K. and Srivastava, G. 2002.** Changes in antioxidant activity in sub-cellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes to long term salt stress. *Plant Science* 162: 897-904.
- Sally, A.M. and Mervet, E.S. 2011.** Some Antioxidants Application in Relation to Lettuce Growth, Chemical Constituents and Yield. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5(6): 127-135.
- Schiavon, M., Dall'acqua, S., Mietto, A., Pilon-Smits, E., Sambo, P., Masi, A. and Malagoli, M. 2013.** Selenium fertilization alters the chemical composition and antioxidant constituents of tomato (*Solanum lycopersicon* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61: 10542–54.
- Shafiq, M., Iqbal, M.Z. and Athar, M. 2008.** Effect of lead and cadmium germination and seedling growth of *Leucaena leucocephala*. *Journal of Environmental Science and Management*. 12 (2): 61- 66.
- Sharifi, P., Matlabi, A., Hadi, H. and Mohamad Alipor, H. 2010.** Effect of different concentrations cadmium chloride on germination, growth parameters and soluble protein in seedling of lentils. The first national conference on sustainable agriculture and healthy crop production, agricultural and natural resources investigation center in Isfahan, http://www.civilica.com/Paper-SACP01-SACP01_269.htm
- Sharma, S., Goyal, R., and Sadana, U.S. 2014.** Selenium accumulation and antioxidant status of rice plants grown on seleniferous soil from Northwestern India. *Rice Science*. 21: 327–334.
- Shekari, L., Mozafariyan, M., Kamelmanesh, M.M., and Hasanuzzaman, M., 2016.** Role of selenium in mitigation of cadmium toxicity in pepper grown in hydroponic. *Journal of Plant Nutrition*. 40: 761-772.
- Shri, M., Kumar, S., Chakrabarty, D., Trivedi, P.K., Mallic, S. and Misra, P. 2009.** Effect of arsenic on growth, oxidative stress, and antioxidant system in rice seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72: 1102-1110.

- Siddiqui, M.M., Abbasi, B.H., Ahmad, N., Ali, M. and Mahmood, T. 2014.** Toxic effects of heavy metals (Cd, Cr and Pb) on seed germination and growth and DPPH-scavenging activity in *Brassica rapa* var. turnip. *Toxicology and Industrial Health*. 30:238-249.
- Soleimanzadeh, H. 2012.** Response of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) To Selenium Application under Water Stress. *World Applied Sciences Journal*. 17 (9): 1115-1119.
- Soltani, A., Zeinali, E., Galeshi, S., and Latifi, N. 2001.** Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea Coast of Iran. *Seed Sci. Technol.* 29: 653-662. (In Persian).
- Thiruvengadam, M. and Chung, I.M. 2015.** Selenium, putrescine, and cadmium influence health-promoting phytochemicals and molecular-level effects on turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa*). *Food Chemistry*. 173:185–193.
- Vierling, E. 1991.** The role of heat shock proteins in plants. *Annu. Rev. Plant Phys.* 42: 579–620.
- Wong, S.C., Li, X.D., Zhang, G., Qi, S.H. and Min, Y.S. 2002.** Heavy metals in agricultural soils of the Pearl River Delta, South China, *Environmental Pollution*. 119:33-44.
- Yan-de, J., Zhen-li, H.E. and Xiao-e Y. 2007.** Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Journal of Zhejiang University Science B*. 8: 192-207.
- Zeng, F.R., Wu, X.J., Qiu, B.Y., Wu, F.B., Jiang, L.X. and Zhang G.P. 2014.** Physiological and proteomic alterations in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings under hexavalent chromium stress. *Planta* 240:291–308.

Application of selenium in lowering damage of cadmium, nickel and lead stresses on germination and antioxidant activity of cucumber seedlings (*Cucumis sativus* L.)

Shekari, L.¹, Aroiee, H.^{*2}, Mirshekari, A.³, Nemati, H.¹

¹Horticulture doctoral student, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

²Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

³Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Iran

Abstract

Selenium (Se) is a beneficial element with anti-oxidant and anti-viral properties that strengthens the defense system and increases plant adaptability under environmental stress conditions. In present study we examined the effect of Se on alleviating adverse effect of Cd, Pb and Ni alone and in combination together in cucumber (*Cucumis sativus* cv. Super Dominus). The research was conducted using a completely randomized design with factorial arrangement in three replications for two germination tests. The first experiment was carried out to determine the optimal effectiveness of Se and heavy metal toxicity threshold levels, which contain levels of Se (0, 4, 6, 8, 10 mg.L⁻¹), cadmium (0, 10, 15, 20, 25 μM), nickel (0, 50, 100, 150, 200 μM) and lead (0, 20, 40, 60, 100 μM). The second experiment were consisted of two levels of Se (0 and 8 mgL⁻¹) and toxicity threshold levels of heavy metals, including cadmium (0, 25 μM), nickel (0, 200 μM) and lead (0, 100 μM) treatments. The result showed that the germination percentage and germination rate significantly reduced at all heavy metal stress and Se has beneficial effect in alleviation of toxicity of heavy metal. Heavy metals stress increased electron leakage (EL) malondialdehyde (MDA) and Se supplementation enhance EL and MDA under heavy metal stress. Cd, Pb and Ni alone or in combination together significantly reduced enzyme activity such as catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and ascorbate peroxidases (APX) in cucumber leaves and Se increased enzyme activity in stress condition in comparison with non-Se application. In general, Se has beneficial effect in alleviation of heavy metals stress in cucumber during germination by preventing oxidative damages.

Keywords: Antioxidant enzymes, Germination, Heavy metal stress, Malondialdehyde index, Membrane stability index.

*Corresponding Author: aroiee@ferdowsi.um.ac.ir