مقاله پژوهشی

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال شانزدهم، شماره ۶۲، تابستان ۱۴۰۰ / صفحات: ۱۰۸-۹۵
Doi: 10.30495/iper.2021.679526 Dor: 20.1001.1.76712423.1400.16.62.7.7

تأثیر کاربرد ریشه‌ای و برگی سلنیوم بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت تنش شوری

معصومه عابدینی*، میثم قره‌باغی دوری، سکینه مرادخانی

گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشگاه پیام نور، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۲۷

چکیده

به منظور بررسی اثر کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم (صفر و ۲۰ میکرومولار) بر روی برخی از پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) واریتهٔ چمران تحت تنش شوری (۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۶ به‌صورت هیدروپونیک در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. نتایج به دست آمده کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشدی، نسبت کلروفیل به کاروتنوئیدها، مقدار کلروفیل‌ها و پروتئین کل و افزایش معنی‌دار مالون دی‌آلدئید، پرولین، آنتوسیانین و فنل کل را در اندام هوایی گیاهان تحت تنش شوری نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. در شرایط شاهد کاربرد سلنیوم، در هر دو شکل برگی و ریشه‌ای، باعث کاهش معنی‌دار طول ریشه و افزایش معنی‌دار فنل کل شد، همچنین افزایش معنی‌دار مقدار پرولین و کاروتنوئیدها با کاربرد برگی سلنیوم در شرایط شاهد مشاهده شد. در تنش شوری کاربرد سلنیوم به‌شکل برگی باعث افزایش طول ریشه و وزن تر اندام هوایی و در هر دو شکل بکار رفته باعث بهبود سایر شاخص‌های رشدی گیاه گندم شد. همچنین افزایش معنی‌دار مقادیر کلروفیل‌ها و پروتئین با کاربرد برگی و افزایش قندهای محلول و فنل کل با هر دو شکل بکار رفته از سلنیوم در گیاهان تحت تنش شوری مشاهده شد. در تنش شوری، کاربرد سلنیوم تنها به‌شکل برگی بود که توانست موجب کاهش معنی‌دار محتوای مالون دی‌آلدئید شود. مطابق نتایج حاصل از این تحقیق، کاربرد سلنیوم، بویژه از طریق برگ‌ها، نقش قابل توجهی در تخفیف تنش شوری در گیاه گندم دارد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، سلنیوم، شوری، فنل‌ها، گندم، مالون دی‌آلدئید.

مقدمه

شوری خاک یکی از عوامل عمده محدود کنندهٔ تولید گیاهان زراعی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک است. تنش شوری موجب القاء تنش آبی، تنش یونی و تنش اکسیداتیو می‌شود که با تأثیر منفی بر فرآیندهای مختلف مانند جوانه زنی، توزیع یون‌ها، فتوسنتز و غیره موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود (Isayenkov and Maathuis, 2019; Dugasa et al., 2019; Akari and Farajpour, 2019). در سال‌های اخیر ثابت شده است که محافظت کننده‌های خارجی از قبیل محافظ‌های اسمزی، هورمون‌های گیاهی، پلی آمین‌ها، آنتی اکسیدان‌ها و انواع عناصر کمیاب برای کاهش آسیب‌های ناشی از شوری مفید هستند (Ashraf et al., 2010; Hasanuzzaman et al., 2013; Diao et al., 2014; Ashraf et al., 2018). عنصر سلنیوم یکی از این محافظت کننده‌ها است، که قادر به بهبود رشد و افزایش تحمل تنش در گیاهان می‌باشد (Namvar et al., 2018; Ashraf et al.,

*نویسنده مسئول: ms_abedini@pnu.ac.ir

2018). سلنیوم یک عنصر ضروری برای انسان و جانوران است هرچند ضرورت آن برای گیاهان عالی هنوز تأیید نشده است. بسیاری از تحقیقات نقش سلنیوم را به عنوان یک عنصر مفید در موجودات زنده گیاهی تأیید کرده‌اند (Hasanuzzaman et al., 2010; Fashami et al., 2019). سلنیوم در غلظت‌های پایین می‌تواند اثرات مفیدی در افزایش رشد و تحمل تنش های محیطی داشته باشد (Djanaguiraman et al., 2005; Sieprawska et al., 2015; Shekari et al. 2019). گزارش شده است که سلنیوم از طریق افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاهان و هموستازی یون قادر است مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های محیطی بهبود دهد. برای مثال در گیاه سیر افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز با افزودن سلنیوم به محیط کشت در تنش شوری مشاهده شد (Khademi-Astaneh et al., 2019). در گیاه جعفری نیز مطالعات نشان داده‌اند که سلنیوم باعث افزایش کارآیی فتوسنتز و کاهش تجمع سدیم در بافت‌ها در شرایط شور می‌شود (Habibi, 2017). به‌طور مشابه کاربرد سلنیوم در گیاه ذرت کاهش سطح مالون‌دی آلدئید و پراکسید هیدروژن و نیز افزایش هموستازی یون‌ها را در شرایط شور موجب شد (Ashraf et al., 2018).

گندم یک گیاه زراعی بسیار مهم است و افزایش تولید آن با توجه به پتانسیل ژنتیکی این گیاه و واکنش آن به محیط نقش بسیار عمده ای در کاهش گرسنگی و افزایش تولید غذا در سطح جهانی دارد (Saddiq et al., 2019). پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام گندم به تنش شوری بسیار متنوع است (Dugasa et al., 2019)، بنابراین شناخت سازوکارهای ایجاد تحمل اهمیت زیادی در مطالعات زراعی و فیزیولوژیکی این گیاه دارد. در این پژوهش اثرات کاربرد سلنیوم به‌صورت برگی و ریشه‌ای بر روی برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه گندم در تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شرایط کشت گیاهان: بذور گندم (*Triticum aestivum* L.) واریتهٔ چمران از مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان شرقی تهیه و پس از ضدعفونی و شستشو در تاریکی جهت جوانه‌زنی قرار گرفتند. پس از جوانه‌زنی دانه‌رست‌ها به تشتک‌های دو لیتری حاوی محلول غذایی هوگلند ۵۰ درصد با pH ۵/۸ منتقل و در اتاقک کشت با شدت نور ۱۰ کیلولوکس، فتوپریود ۱٤ ساعت و دمای روزانه ۲۵ ^{C} درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از یک هفته پیش تیمار، گیاهان به محلول هوگلند کامل منتقل شده و تیمارهای مورد نظر شامل سلنیوم (سلنات سدیم، صفر و ۲۰ میکرومولار) و شوری (کلرید سدیم، صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار) اعمال شد. کاربرد سلنیوم هفته‌ای یکبار بعد از تعویض محلول غذایی در نصف تیمارها به صورت ریشه‌ای و در نصف دیگر از طریق اسپری برگی انجام گرفت. دو هفته پس از آغاز تیمارها، گیاهان برداشت و تا زمان سنجش در دمای ۷۵ ^{C}- نگهداری شدند.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: استخراج رنگیزه‌های فتوسنتزی توسط استن ۸۰ درصد انجام گرفت. جذب نمونه‌ها پس از سانتریفیوژ در ٤۰۰۰ دور در دقیقه، در طول موج‌های ٦٦۳/۲، ٦٤٦/۸ و ٤۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) و به کمک روابط ۱-٤ محاسبه شد.

(رابطهٔ ۱): کلروفیل a = 12.25 $A_{663.2}$ - 2.79 $A_{646.8}$

(رابطهٔ ۲): کلروفیل b = 21.21 $A_{646.8}$ - 5.1 $A_{663.2}$

(رابطهٔ ۳): کلروفیل کل = Chla + Chlb

(1000A_{470} - 1.8 Chla - 85.02 Chlb)/198 = کاروتنوئیدها :(رابطهٔ ٤

سنجش مالون دی‌آلدئید: برای سنجش مالون دی‌آلدئید (MDA)، عصارهٔ برگ در محلول ۰/۱ درصد (w/v) تری کلرواستیک اسید (TCA) استخراج و به‌مدت پنج دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ گردید. نسبت ۱ به ٤ از روشناور با محلول ۲۰ درصد از TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید در لولهٔ آزمایش با هم مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای جوش $^{\circ}C$ ۹۵ قرار گرفت. سپس لوله‌ها به‌سرعت در یخ سرد شده و به مدت ۱۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شدند. غلظت مالون دی‌آلدئید با استفاده از منحنی استاندارد ۱،۱،۳،۳-تترا اتوکسی پروپان محاسبه شد (Boominathan and Doran, 2002).

سنجش آنتوسیانین: برای سنجش آنتوسیانین، ۰/۱ گرم برگ تر با ۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول: HCl (۹۹ :۱) استخراج شد و پس از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ با g ٤۵۰۰، جذب نمونه‌ها در طول موج nm ۵۵۰ اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از رابطه (۵) استفاده شد که در آن ε یا ضریب خاموشی برابر $^{-1}.M^{-1}$cm۳۳۰۰۰، B عرض کووت برابر ۱ سانتیمتر و C غلظت آنتوسیانین براساس نانومول در گرم وزن تر می‌باشد (Chaovanalikit and Wrolstad, 2004).

$A=\varepsilon BC$:(رابطهٔ ۵

سنجش فنل کل: فنل برگ‌ها به کمک متانول ۸۰ درصد استخراج و نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در g ١٤۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. برای انجام آزمایش، ۲۰۰ میکرولیتر از عصارهٔ استخراج شده به همراه ۲ میلی‌لیتر آب مقطر، ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالچئو ۱۰ درصد و ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷ درصد در یک لولهٔ آزمایش ریخته شد و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج nm ۷۵۰ اندازه‌گیری و غلظت ترکیبات فنلی کل با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد (McDonald et al., 2001).

سنجش پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین ۰/۱ گرم برگ تر با ۵ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد همگن و ۱۵ دقیقه در g ۱۵۰۰۰ سانتریفوژ شد. از عصارهٔ حاصل برای سنجش پرولین به روش Bates (۱۹۷۳) استفاده شد. برای محاسبهٔ غلظت از منحنی استاندارد پرولین استفاده شد.

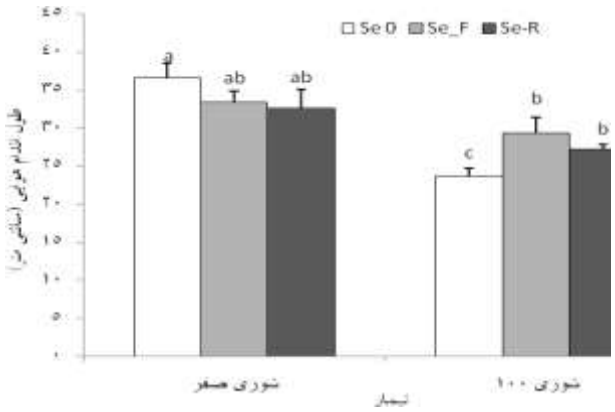
سنجش قندهای محلول: مقدار ۰/۰۱ گرم برگ خشک گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدّت یک هفته در یخچال نگه‌داری شد. سپس محلول لوله‌ها با کاغذ واتمن شمارهٔ یک صاف شدند. دو میلی‌لیتر از محلول حاصل به لوله‌های مجزا منتقل و ۱ میلی‌لیتر محلول فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد به آن‌ها افزوده شد. پس از ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج nm ٤۸۵ قرائت و غلظت قند نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه شد (Dubois et al., 1956).

سنجش پروتئین کل: عصارهٔ پروتئینی در بافر فسفات سدیم با غلظت mM ۵۰ و pH=٦/٨ استخراج و به مدت ۲۰ دقیقه در g ۱۵۰۰۰ سانتریفوژ شد. از روشناور حاصل برای سنجش پروتئین کل به روش برادفورد استفاده شد (۱۹۷٦). برای محاسبهٔ غلظت از منحنی استاندارد آلبومین گاوی استفاده شد.

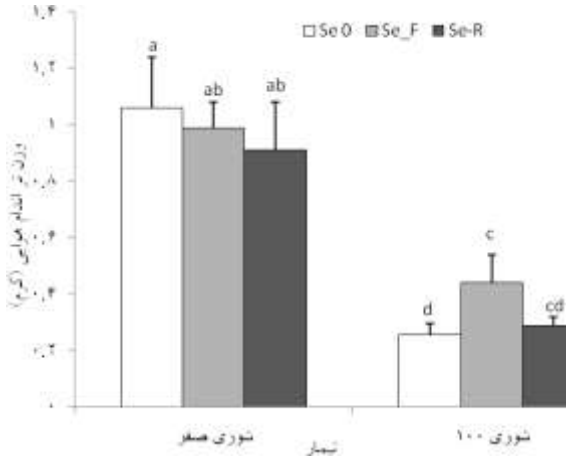
آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار مستقل برای هر تیمار به اجرا در آمد. میانگین و انحراف معیار (SD) داده‌ها و همچنین رسم نمودارها بوسیلهٔ نرم‌افزار Excel 2010 به انجام رسید. برای گروه‌بندی و مقایسهٔ میانگین‌ها از نرم افزار Instat 3 و آزمون Tukey ($p<۰/۰۵$) استفاده شد.

نتایج

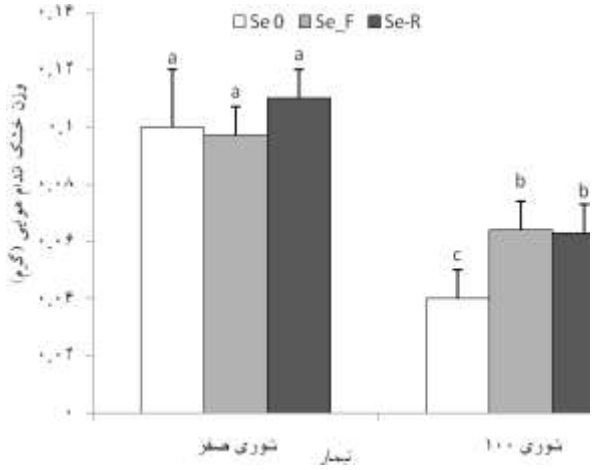
شاخص‌های رشدی: تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد اندام هوایی و ریشه گیاه گندم شد. در شرایط شاهد کاربرد سلنیوم در هر دو شکل برگی و ریشه‌ای، باعث کاهش طول ریشه به طور معنی‌دار شد ولی روی سایر شاخص‌های شامل طول اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی تأثیر قابل توجهی نداشت. در شرایط تنش شوری کاربرد برگی سلنیوم باعث افزایش تمام شاخص‌های رشدی مورد مطالعه به‌طور معنی‌دار شد. کاربرد ریشه‌ای سلنیوم نیز باعث افزایش شاخص‌های رشدی گیاه گندم شد که افزایش مشاهده شده در طول ریشه و وزن تر اندام هوایی معنی‌دار نبود ولی طول اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی افزایش معنی‌دار نشان دادند (شکل‌های ٦-١).



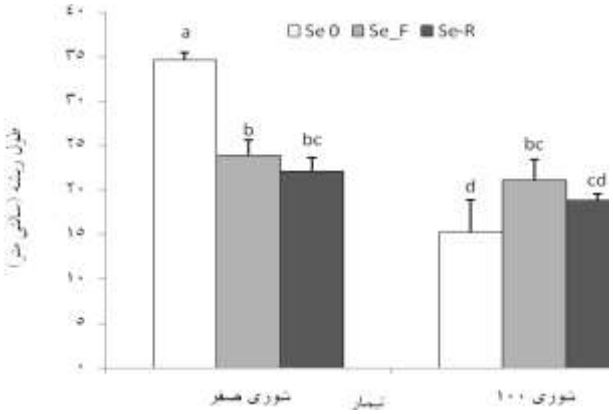
شکل ۱: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر طول اندام هوایی واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.



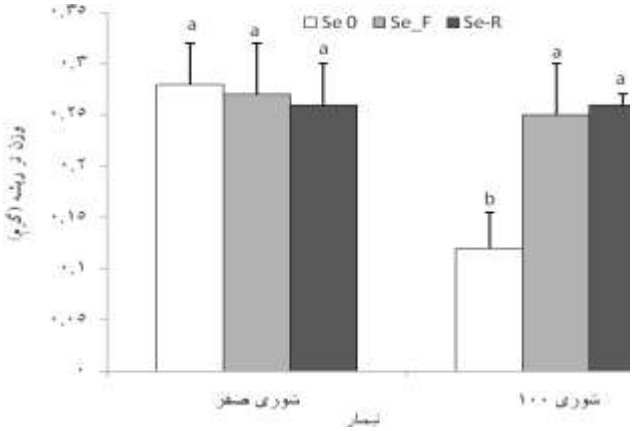
شکل ۲: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر وزن تر اندام هوایی واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.



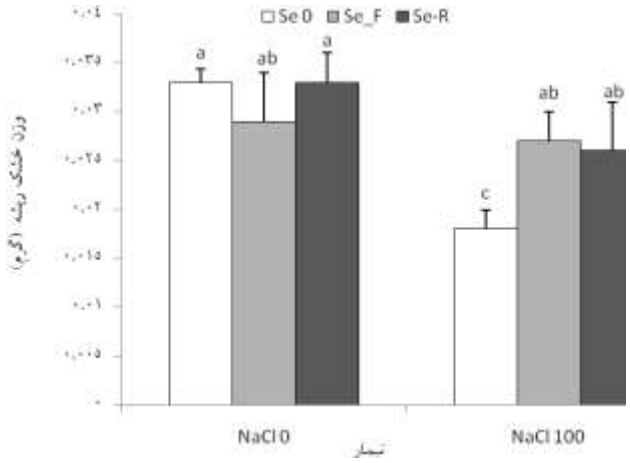
شکل ۳: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر وزن خشک اندام هوایی واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.



شکل ٤: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر طول ریشه واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.



شکل ۵: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر وزن تر ریشه واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.



شکل ٦: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر وزن خشک ریشه واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که شوری باعث کاهش معنی‌دار مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و نسبت کلروفیل به کاروتنوئیدها در گیاه گندم واریتهٔ چمران شد، درحالی‌که تأثیر چندانی روی مقدار کاروتنوئیدها نداشت. در شرایط شاهد، کاربرد سلنیوم تأثیر معنی‌داری روی محتوای کلروفیل‌های a، b و کل نداشت، ولی مقدار کاروتنوئیدها در برگ‌ها با کاربرد برگی سلنیوم افزایش معنی‌دار نشان داد که منجر به کاهش معنی‌دار نسبت کلروفیل به کاروتنوئیدها شد. کاربرد سلنیوم در شرایط شور باعث بهبود سطح رنگیزه‌های فتوسنتزی شد، به‌طوری که در کاربرد برگی آن افزایش معنی‌دار مقادیر کلروفیل‌های a، b و کل مشاهده شد ولی افزایش القاء شده در این شاخص‌ها توسط کاربرد ریشه‌ای سلنیوم معنی‌دار نبود (جدول ۱).

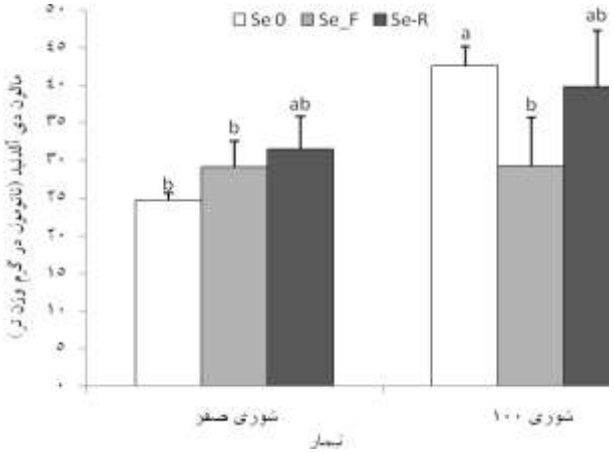
جدول ۱: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گندم درشرایط شور و غیر شور.

تیمار	کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	کاروتنوئیدها (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	کلروفیل/ کاروتنوئیدها
شاهد	٥/٩٠ ± ٠/١٧ a	٠/٣٨±٠/٠٥ c	٢/٩±٠/١٥ a	٢/٩٩±٠/٣١ ab	١٥/٥٢ ± ١/٣٨ a
شوری ١٠٠	٣/١٢ ± ٠/٣٧ c	٠/٣٣ ± ٠/٠٥ c	١/٠٦ ± ٠/١٩ c	٢/٠٦±٠/١٨ c	٩/٤٥ ± ٠/٦٣ c
Se-F	٥/٩٦ ± ٠/٣٢ a	٠/٥٦ ± ٠/٠٥ a	٢/٩١ ± ٠/١٥ a	٣/٠١±٠/١٧ ab	١٠/٦٤ ± ١/٠٢ bc
Se-R	٥/٩٨ ± ٠/٦٢ a	٠/٤٣ ± ٠/٠٣ bc	٢/٩٨ ±٠/٠٩ a	٣/١٧±٠/٠٤ a	١٣/٩٢ ± ١/٩٣ ab
Se-F و شوری ١٠٠	٥/٦٣ ± ٠/٠٥ a	٠/٣٩ ± ٠/١١ c	٢/٦٧ ±٠/١٦ ab	٢/٧٦±٠/١٧ b	١٤/٤٣ ± ١/٠٨ a
Se-R و شوری ١٠٠	٣/٩١ ± ١/٠١ bc	٠/٤٤ ±٠/٠٥ bc	١/٥٥ ±٠/٦ bc	٢/٢٥±٠/٦٩ bc	٨/٨٨ ± ١/٥٩ c

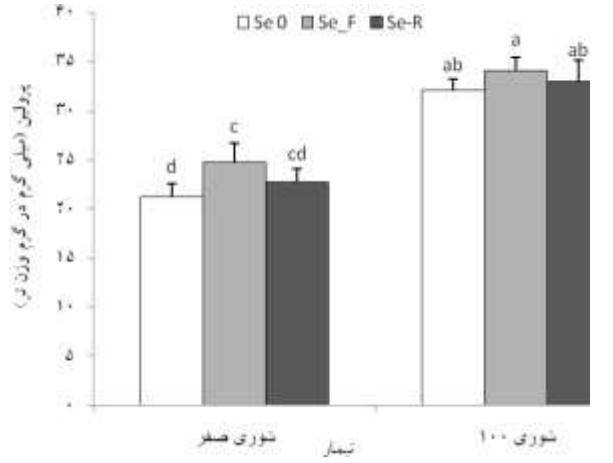
اختلاف بین مقادیر شاخص‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده است، در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار است. حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد. اختلاف بین مقادیری که با حروف مختلف نشان داده شده است از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد.

مالون دی‌آلدئید (MDA): در این مطالعه شوری باعث افزایش معنی‌دار محتوای مالون دی‌آلدئید در اندام هوایی گیاه گندم شد. کاربرد سلنیوم در شرایط فاقد نمک از نظر آماری تأثیر معنی‌داری روی این متابولیت نداشت. در شرایط تنش شوری کاربرد سلنیوم به صورت برگی باعث کاهش معنی‌دار مقدار مالون دی‌آلدئید اندام هوایی شد ولی کاهش ایجاد شده توسط کاربرد ریشه‌ای سلنیوم از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۷).

پرولین: شوری باعث تحریک تجمع پرولین در اندام هوایی گیاه گندم به صورت معنی‌دار شد. افزایش تجمع پرولین به‌طور معنی‌دار در شرایط شاهد با کاربرد برگی سلنیوم نیز مشاهده شد ولی کاربرد ریشه‌ای سلنیوم تأثیر معنی‌داری بر مقدار پرولین نداشت. در شرایط شور کاربرد سلنیوم در هر دو حالت ریشه‌ای و برگی باعث افزایش ناچیز مقدار پرولین شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۸).

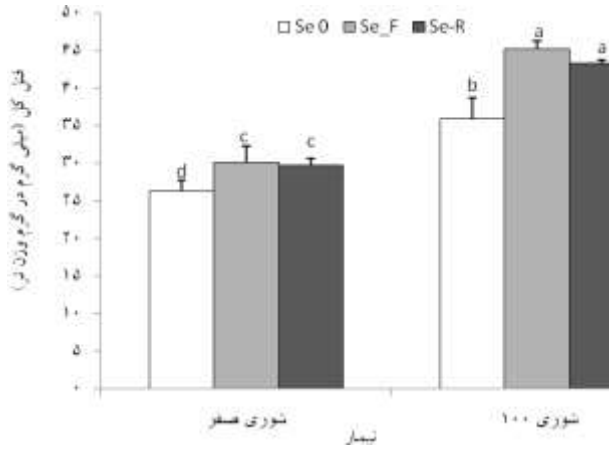


شکل ۷: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر مقدار مالون دی‌آلدئید اندام هوایی واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.

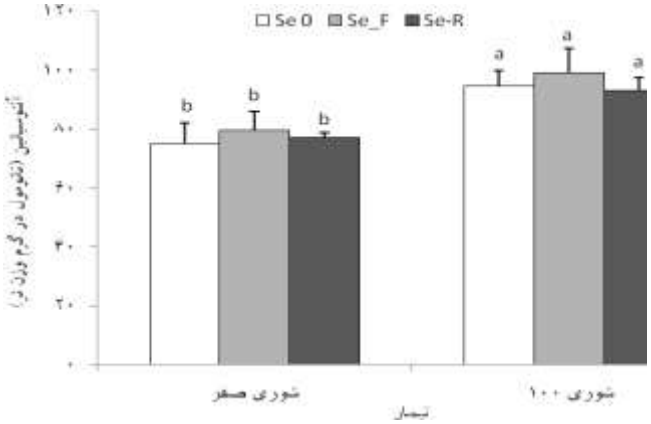


شکل ۸: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر مقدار پرولین اندام هوایی واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.

فنل کل و آنتوسیانین‌ها: افزایش معنی‌دار مقدار فنل کل در اندام هوایی گیاه گندم در شرایط شور مشاهده شد. کاربرد سلنیوم در هر دو شکل برگی و ریشه‌ای در شرایط شاهد و تنش شوری باعث افزایش معنی‌دار فنل کل در اندام هوایی شد، اگرچه افزایش مقدار فنل کل برگ‌ها با کاربرد برگی سلنیوم از افزایش القاء شده با کاربرد ریشه‌ای بیشتر بود ولی تفاوت بین آن‌ها معنی‌دار نبود (شکل ۹). تنش شوری همچنین باعث افزایش معنی‌دار مقدار آنتوسیانین‌ها در اندام هوایی گیاه گندم شد. کاربرد سلنیوم در شرایط غیر شور و شور باعث افزایش ناچیز و غیر معنی دار مقدار آنتوسیانین برگ‌های گندم شد (شکل ۱۰).

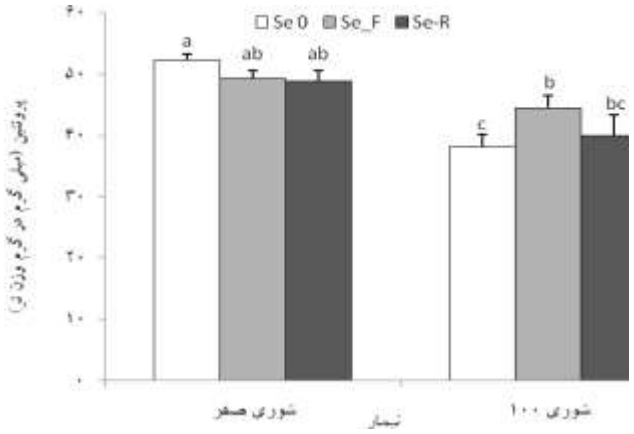


شکل ۹: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر مقدار فنل کل اندام هوایی واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.



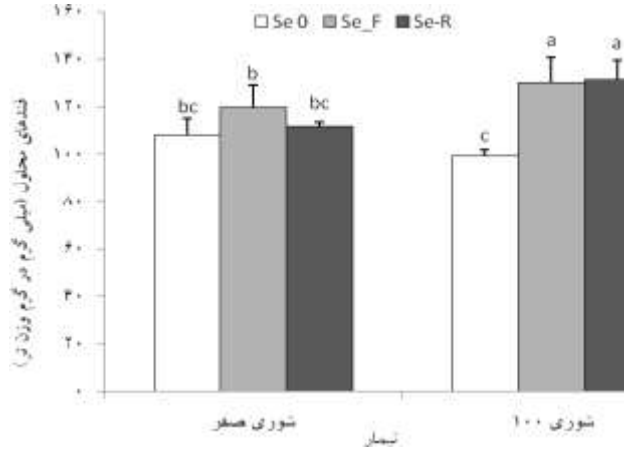
شکل ۱۰: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر مقدار آنتوسیانین اندام هوایی واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.

پروتئین کل: تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار مقدار پروتئین کل گیاه گندم شد. کاربرد ریشه‌ای و برگی سلنیوم در شرایط شاهد تأثیر قابل توجهی روی پروتئین کل نداشت. در شرایط شور کاربرد سلنیوم باعث افزایش غلظت پروتئین شد که افزایش القاء شده با کاربرد برگی سلنیوم معنی‌دار و با کاربرد ریشه‌ای آن غیرمعنی‌دار بود (شکل ۱۱).



شکل ۱۱: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر مقدار پروتئین اندام هوایی واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.

قندهای محلول: تنش شوری باعث کاهش جزئی و غیر معنی‌دار غلظت قندهای محلول در اندام هوایی گیاه گندم شد. کاربرد ریشه‌ای و برگی سلنیوم تأثیر معنی‌داری روی این ویژگی در شرایط شاهد نداشت ولی در شرایط شور باعث افزایش معنی‌دار مقدار قند محلول شد. هیچ تفاوتی بین کاربرد ریشه‌ای و برگی سلنیوم از این نظر دیده نشد (شکل ۱۲).



شکل ۱۲: تاثیر شوری و کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم بر مقدار قندهای محلول اندام هوایی واریتهٔ چمران.
حروف Se-F کاربرد برگی و Se-R کاربرد ریشه‌ای سلنیوم را نشان می‌دهد.

بحث

در این مطالعه تنش شوری باعث کاهش رشد گیاه گندم شد. با توجه به این‌که رشد با کارآیی و تولید گیاه رابطهٔ مستقیم دارد، بنابراین در اغلب مطالعات فیزیولوژیکی به‌عنوان شاخص کلیدی مورد توجه قرار گرفته می‌گیرد. شوری با القای تنش اسمزی، عدم تعادل یونی و سمیت یونی منجر به کاهش فشار تورژسانس و سنتز DNA می‌شود. مجموعهٔ تغییرات القا شده توسط شوری در متابولیسم گیاه که فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند فتوسنتز، هموستازی یون و فعالیت آنتی اکسیدانی را دربر می‌گیرد، منجر به کاهش رشد می‌شود

(Hasanuzzaman, 2010). در این مطالعه تیمار سلنیوم بویژه در کاربرد برگی، رشد گیاهان گندم در معرض تنش شوری را بهبود بخشید. هرچند که داده‌های بسیار اندکی در رابطه با اثر مقایسه‌ای کاربرد برگی و ریشه‌ای سلنیوم در بهبود تنش‌ها در دسترس می‌باشد و مثال‌های زیادی وجود دارند که نشان می‌دهند کاربرد سلنیوم رشد گیاهان را تحت تنش بهبود می‌بخشد. برای مثال کاربرد سلنیوم در گیاه نیشکر (Ashraf et al., 2010) و کدو (Hawrylak-Nowak, 2009) که در معرض تنش شوری قرار داشتند، یا در ارقام بهارهٔ کلزا (Fashami et al., 2019) باعث بهبود رشد شد. اگرچه مکانیسم تأثیر سلنیوم بر رشد گیاه به طور کامل مشخص نیست، اما گزارش شده است که سلنیوم دارای خواص آنتی اکسیدانی بوده و در شرایط تنشی سبب خنثی سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد (Malik et al., 2012). غلظت‌های پایین سلنیوم، احتمالاً از طریق افزایش فتوسنتز، رشد گیاه را افزایش داده و به‌دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی ممانعت می‌کنند (Han-Wens et al., 2010).

مشابه نتیجهٔ به دست آمده از این تحقیق، کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در تنش شوری در گیاهان مختلف گزارش شده است (Afkari and Farajpour, 2019) که می‌تواند به دلیل بازدارندگی ناشی از انباشته شدن یون در کلروپلاست‌ها، کاهش پایداری کمپلکس‌های رنگیزه-پروتئین به دلیل حضور یون‌ها و فعال شدن آنزیم کلروفیلاز باشد (Shah et al., 2017). کاربرد سلنیوم، بویژه در شکل برگی، در این مطالعه توانست باعث بهبود سطح کلروفیل گیاهان تحت تنش شوری شود. پیشنهاد شده است که سلنیوم با کاهش تنش اکسیداتیو و جلوگیری از تخریب مولکول کلروفیل مقادیر کلروفیل و کاروتنوئیدها را در برگ‌های گیاهان در معرض شوری افزایش می‌دهد (Hawrylak-Nowak, 2009, 2015). برای مثال در گوجه فرنگی کاربرد سلنیوم تنش ناشی از نمک را از طریق تنظیم سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و بهبود سیستم دفاعی کلروپلاست‌ها و بهبود کارایی فتوشیمیایی PSII کاهش داد (Diao et al., 2014).

در این مطالعه تنش شوری باعث افزایش مقدار مالون دی‌آلدئید برگ‌ها شد که با کاربرد برگی سلنیوم سطح آن به‌طور قابل توجهی تعدیل شد. مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص مهمی از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌باشد که افزایش مقدار آن، شدت آسیب را تحت شرایط تنشی نشان می‌دهد. در تنش شوری اسیدهای چرب دارای پیوند دو گانه توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن تخریب می‌شوند و مالون دی‌آلدئید تولید می‌شود (Hartikainen et al., 2000). سلنیوم با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، سبب پاکسازی اکسیژن فعال و در نتیجه کاهش اکسیداسیون چربی‌های غشاها و سطح مالون دی‌آلدئید می‌شود (Xue et al., 2001). این نتیجه برای گیاهانی مثل علف چمن (Hartikainen, 2000) و خیار (Hawrylak-Nowak, 2009) نیز در غلظت‌های پایین سلنیوم گزارش شده است.

افزایش پرولین در گیاهان تحت تنش شوری در واقع نوعی واکنش از طرف گیاه به کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه است که در این مطالعه نیز مشاهده شد. پرولین با کم کردن پتانسیل اسمزی سلول‌های ریشه شرایط لازم برای جذب آب و عناصر غذایی را فراهم می‌کند. گزارش شده است که پرولین نسخه‌برداری پروتئین‌های مقاوم به تنش شوری را القا می‌کند و تحمل نمک را در گیاهان بهبود می‌بخشد (Khedr et al., 2003). افزایش پرولین برگ‌ها در گیاهانی مثل سویا (Djanaguiraman et al., 2005) و گندم (Sajedi, 2017) تحت تنش شوری با کاربرد

سلنیوم گزارش شده است. افزایش سطح پرولین با کاربرد سلنیوم احتمالاً در مقاومت گیاهان در برابر تنش شوری نقش داشته باشد. در این مطالعه کاربرد سلنیوم تأثیر قابل توجهی روی افزایش سطح پرولین در شرایط تنش شوری در گیاه گندم نداشت. احتمال می‌رود که تنش شوری به اندازهٔ کافی باعث افزایش سطح پرولین در این گیاه شده است که بتواند بر تنش اسمزی ایجاد شده توسط شوری فائق آید و نیاز به افزایش بیشتر سطح این اسید آمینه را مرتفع کند.

ترکیبات فنلی در مهار پراکسیداسیون لیپیدها و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد نقش مهمی دارند. در این مطالعه افزایش سطح فنل کل هم با تنش شوری و هم با کاربرد سلنیوم مشاهده شد. تحت شرایط تنشی، افزایش تولید ترکیبات فنلی مکانیسمی برای افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها محسوب می‌شود (Chaovanalikit and Wrolstad, 2004). آنتوسیانین‌ها هم گروهی از رنگیزه‌های محلول در واکوئل هستند که ماهیت فنلی دارند. گزارش‌هایی حاکی از محتوای بالای آنتوسیانین در گیاهان بردبار به شوری موجود است. ترکیبات فنلی با داشتن گروه‌های هیدروکسیل آزاد متصل به حلقه آروماتیک با جاروب‌گری رادیکال‌ها و فرونشاندن اکسیژن یکتایی و کلاته کردن فلزات، آسیب‌های اکسیداتیو را کم کرده و ساختارهای سیتوپلاسمی و کلروپلاستی را از اثر منفی شوری محافظت می‌کنند. گزارش شده است که کاربرد سلنیوم در غلظت‌های مناسب می‌تواند با افزایش غلظت فنل‌ها تحمل شوری گیاهان را افزایش دهد (Sieprawska et al., 2015; Shekari et al., 2017).

تنش شوری باعث کاهش مقدار پروتئین در گیاه گندم شد. کاهش پروتئین در گیاهان تحت تنش شوری یک پدیدهٔ رایج می‌باشد. اگرچه تنش‌های محیطی باعث مهار بیوسنتز بیشتر پروتئین‌ها می‌شوند ولی سنتز پروتئین‌های خاصی را نیز تحریک می‌کنند. به نظر می‌رسد که در شرایط تنشی هیدرولیز پروتئین‌ها منجر به تجمع اسیدهای آمینه می‌شود که در تنظیم اسمزی، تأمین ازت، سمیت زدایی و مهار رادیکال‌های آزاد نقش دارند (Paridaa et al., 2004). در این مطالعه، کاربرد سلنیوم، در شکل برگی، باعث افزایش مقدار پروتئین در گیاهان تحت تنش شوری شد. هرچند که در ارتباط با تأثیر کاربرد برگی یا ریشه‌ای سلنیوم روی مقدار پروتئین اطلاعات موجود بسیار ناقص می‌باشد، ولی نتایج در دسترس نشان می دهند که در گیاه آفتابگردان، با کاربرد سلنیوم مقدار پروتئین در تنش شوری افزایش نشان داد (Najafi et al., 2018). پیشنهاد شده است که سلنیوم از طریق میانکنش با پروتئین‌های دارای گروه سولفیدریل و حفاظت آن‌ها باعث افزایش مقدار پروتئین در شرایط تنشی می‌شود، همچنین سلنیوم باعث تحریک نسخه‌برداری ژن آنزیم نیترات ردوکتاز می‌شود و از این طریق نقش مهمی در افزایش مقدار پروتئین ایفا می‌کند (Nowak et al., 2004).

در این مطالعه افزایش ناچیز در مقدار قندهای محلول در پاسخ به تنش شوری مشاهده شد ولی کاربرد سلنیوم توانست باعث افزایش معنی‌دار غلظت این متابولیت‌ها در شرایط تنشی شود. کربوهیدرات‌ها تحت شرایط تنشی علاوه بر این‌که در تنظیم اسمزی نقش دارند در مکانیسم‌های حفاظتی در برابر تنش اکسیداتیو نیز نقش ایفا می‌کنند که از طریق الکترون‌های آزاد موجود در حلقه‌های ساختاری آن‌ها صورت می‌گیرد (Labanowska et al., 2013). به‌نظر می‌رسد که افزایش تولید قندها در شرایط تنشی، تحت تأثیر سلنیوم، یک قدم مؤثر در فرایند حفاظت گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌باشد (Sieprawska et al., 2015).

نتیجه‌گیری نهایی

در واریتهٔ چمران گندم، کلرید سدیم در غلظت بکار رفته، با کاهش تولید پروتئین و رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش مالون دی‌آلدئید باعث القاء تنش شد که با کاهش رشد همراه بود. کاربرد سلنیوم توانست تا اندازه‌ای اثرات تنش را کاهش دهد و رشد گیاهان را بهبود بخشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که کاربرد برگی سلنیوم در تعدیل تنش شوری از کاربرد ریشه‌ای آن موثرتر می‌باشد.

References

Afkari, A. and Farajpour, P. (2019). Evaluation of the effect of vermicompost and salinity stress on the pigments content and some biochemical characteristics of Borage (*Borago Officinalis* L.). Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research. 14(48): 90-103. (In Persian)

Ashraf, R., Ahmad, R., Bhatti, A.S., Afzal, M., Sarwar, A., Maqsood, M.A. and Kanwal, S. (2010). Amelioration of salt stress in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) by supplying potassium and silicon in hydroponics. Pedosphere. 20(2): 153–162.

Ashraf, M.A., Akbar, A., Parveen, A., Rasheed, R., Hussain, I. and Iqbal, M. (2018). Phenological application of selenium differentially improves growth, oxidative defense and ion homeostasis in maize under salinity stress. Plant Physiology and Biochemistry 123: 268-280.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39(1): 205-207.

Boominathan, R. and Doran, P.M. (2002). Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumlator, *Alyssum bertoloni*. New phytologist. 156: 202-205.

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(1-2): 248-254.

Chaovanalikit, A. and Wrolstad, R.E. (2004). Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. Journal of Food Science. 69(1): FCT67-FCT72.

Diao, M., Ma, L., Wang, J., Cui, J., Fu, A. and Liu, H. (2014). Selenium promotes the growth and photosynthesis of tomato seedlings under salt stress by enhancing chloroplast antioxidant defense system. Journal of Plant Growth Regulation. 33(3): 671–682.

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.

Dugasa, M.T., Cao, F., Ibrahim, W. and Wu, F. (2019). Differences in physiological and biochemical characteristics in response to single and combined drought and salinity. Physiologia Plantarum 165(2): 134-143.

Fashami, M.Z., Shiranirad, A.M., Dadashi, M.R. and Khorghami, A. (2019). Evaluation of yield and yield components of spring rapeseed varieties in winter cultivation of different plant densities under selenium treatment. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research. 14(53): 90-103. (In Persian)

Habibi, G. (2017). Selenium ameliorates salinity stress in *Petroselinum crispum* by modulation of photosynthesis and by reducing shoot Na accumulation. Russian Journal of Plant Physiology 64: 368-374.

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(10): 1195-1204.

Hartikainen, H., Xue, T. and Piironen, V. (2000). Selenium an oxidant and pro-oxidant in ryegrass. Plant and Soil. 225(1-2): 193-200.

Hasanuzzaman M., Nahar K. and Fujita, M. (2013). Plant response to salt stress and Role of Exogenous Protectants to Mitigate Salt-Induced Damages. In:

Ecophysiology and responses of plants under salt stress, pp. 25-87. eds P. Ahmad, M. Azooz and M. Prasad. New York, NY: Springer.

Hasanuzzaman, M. Anwar Hossain, M. and Fujita, M. (2010). Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. Journal of Plant Sciences. 5(4): 354-375.

Hawrylak-Nowak B. (2015). Selenite is more efficient than selenate in alleviation of salt stress in lettuce plants. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica. 57(2): 49–54.

Hawrylak-Nowak, B. (2009). Beneficial effect of exogenous selenium on cucumber seedlings subjected to salt stress. Biological Trace Elopement Research. 132(1-3): 259-269.

Khademi-Astaneh, R., Bolandnazar, S., Zaare-Nahandi, F. and Oustan, S. (2019). Effects of selenium on enzymatic changes and productivity of garlic under salinity stress. South African Journal of Botany 121: 447-455.

Isayenkov, S.V. and Maathuis, F.J.M. (2019). Plant salinity stress: many unanswered questions remain. Frontiers in Plant Science, 10: article 80.

Khedr, A.H.A., Abbas, M.A., Wahid, A.A.A., Quick, W.P. and Abogadallah G.M. (2003). Proline induces the expression of salt-stress-responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancratium maritimum* L. to salt-stress. Journal of Experimental Botany. 54(392): 2553–2562.

Labanowska, M., Filek, M., Kurdziel, M., Bidzińska, E., Miszalski, Z. and Hartikainen, H. (2013). EPR spectroscopy as a tool for investigation of differences in radical status in wheat plants of various tolerances to osmotic stress induced by NaCl and PEG-treatment. Journal of Plant Physiology. 170(2): 136–145.

Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R. (1987). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. Biochemical Society Transactions. 11(5): 591-592.

Malik, J.A., Goel, S., Kaur, N., Sharma, S., Singh, I. and Nayyar, H. (2012). Selenium antagonists the toxic effects of arsenic on mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. Environmental and Experimental Botany. 77: 242-248.

McDonald, S., Prenzler, P.D., Antolovich M. and Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry. 73(1): 73-84.

Najafi, F., Khavari-Nejad, R.A. and Rashidi, M. (2018). The effect of sodium selenate on some of antioxidant enzymes activity in sunflower seedlings (*Helianthus annuus* L.) under salt stress. Journal of Plant Process and Function. 6(19): 351-364. (In Persian)

Namvar, A., Hadi, H. and Seyed sharifi, R. (2018). Role of exogenous phytoprotectants in mitigation of adverse effects of abiotic stresses. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research. 12(48): 103-128. (In Persian)

Nowak, J. Kaklewski, K. and Ligocki, M. (2004). Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. Soil Biology and Biochemistry. 36(10): 1553-1558.

Paridaa, A.K. Dasa, A.B., Mittrac, B. and Mohantyb, P. (2004). Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove *Bruguiera parviflora*. Zeitschrift fur Naturforschung C 59(5-6): 408-414.

Saddiq, M.S., Iqbal, S., Afzal, I., Ibrahim, A.H., Bakhtavar, M.A., Hafeez, M.B., Maqbool, J. and Maqbool, M.M. (2019). Mitigation of salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings through physiological seed enhancements. Journal of Plant Nutrition. 42(10): 1192-1204.

Sajedi, N.A. (2017). Evaluation of selenium and salicylic acid effect on physiological and qualitative characteristics of dry-land wheat cultivars. Iran Agricultural Research. 36(2) 91-100.

Shah, S.H., Houborg, R. and McCabe M.F. (2017). Response of chlorophyll, carotenoid and SPAD-502 measurement

to salinity and nutrient stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). Agronomy. 7(61): 1-20.

Shekari, F., Abbasi, A. and Mustafavi, S.H. (2017). Effect of silicon and selenium on enzymatic changes and productivity of dill in saline condition. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 16(4): 367-374.

Shekari, L., Aroiee, H., Mirshekari, A. and Nemati, H. (2019). Protective role of selenium on cucumber (*Cucumis sativus* L.) exposed to cadmium and lead stress during reproductive stage role of selenium on heavy metals stress. Journal of Plant Nutrition. 42(5): 529-542.

Sieprawska, A., Kornaś, A. and Filek, M. (2015). Involvement of selenium in protective mechanisms of plants under environmental stress conditions. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica. 57(1): 9–20.

Xue, T.L., Hartikainen, H. and Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effects of selenium on senescing lettuce. Plant and Soil 237(1): 55-61.

Journal of Plant Environmental Physiology, Serial 62, 16th year, Number 2, Summer 2021

The effect of biosynthesized silver nanoparticles on some physiological and biochemical parameters of viola tricolor (*Viola tricolor* L.)

Hassanvand, A.[1], Saadatmand, S.[1]*, Lari Yazdi, H.[2] and Iranbakhsh, A.R.[1]
[1]Department of Biology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
[2]Department of Biology, Islamic Azad University, Borujerd Branch, Borujerd, Iran

Received date: 2020/08/25 Accepted date: 2020/03/17

Abstract
Employing biosynthesized nanoparticles plays an important role in increasing efficiency of agricultural practices. In recent years, the use of nanoparticles in plants has been considered as pesticides, protective agents, and nutrients. *Viola tricolor* belongs to the Violaceae family, which has antibacterial, anticancer, and antiviral properties. In this study, silver nanoparticles were synthesized using silver nitrate and *Viola tricolor* extract to investigate the effect of different concentrations of silver nanoparticles on the physiologic and biochemical indexes of *Viola tricolor*. Results showed that different growth parameters including root and stem fresh weight, root and shoot length, and protein content significantly increased under AgNPs. The highest levels of these indices were observed at 0, 10, 50 and 100 ppm silver nanoparticles, respectively. Proline and carbohydrates also increased under different concentrations of AgNPs compared with the control and the highest values of these indices were observed under 100 ppm silver nanoparticles. The contents of secondary metabolites, including phenol and flavonoids, were affected under 100 ppm AgNP showing the highest increase. The maximum increase in the anthocyanin content was observed at 10 ppm AgNPs. Analysis of the antioxidant enzyme activities showed that they increased under all AgNPs concentrations of the study. Increases in the activities of antioxidant enzymes (catalase and glutathione reductase) under AgNPs treatments led to a decrease in MDA content. Based on the results of the current study, silver nanoparticles are suggested as proper stimulants for increased growth and production of antioxidant properties.

Keywords: Anthocyanin, Catalase, Glutathione reductase, Malondialdehyde, Root growth.

*Corresponding author; s_saadatmand@yahool.com