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

حسین آروئی[1]*، لیلا شکاری[2]، امین میرشکاری[3]،حسین نعمتی[4]

[1]استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

[2]دانشجوی دکتری باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

[3]استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، ایران

[4]استادیار، 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، ٤، ٦، ٨، ١٠ میلی‌گرم بر لیتر از منبع سلنات سدیم) کادمیوم (صفر، ١٠، ١٥، ٢٠، ٢٥ میکرومولار از منبع کلریدکادمیوم) نیکل (صفر، ٥٠، ١٠٠، ١٥٠، ٢٠٠ میکرومولار از منبع کلریدنیکل) و سرب (صفر، ٢٠، ٤٠، ٦٠، ١٠٠ میکرومولار از منبع کلریدسرب) صورت پذیرفت. تیمارها در آزمایش دوم شامل سلنیوم (صفر و ٨ میلی‌گرم بر لیتر)، کادمیوم (صفر و ٢٥ میکرومولار)، نیکل (صفر و ٢٠٠ میکرومولار) و سرب (صفر و ١٠٠ میکرومولار) بودند. نتایج نشان داد که حضور عناصرسنگین 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 قابل‌توجهی داشت. همچنین تیمار با سلنیوم در شرایط سمیت فلزات‌سنگین باعث بهبود چشمگیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در برگ گردید ولی بیشترین تاثیر 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

*نویسنده مسئول: aroiee@ferdowsi.um.ac.ir

شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش خسارات ناشی حضـور همزمـان عناصـر سنگین (Cd، Ni، Pb به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر) در گیاهچه خیار می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، پایداری غشاء سلولی، تنش عناصر سنگین، جوانه‌زنی، شاخص مالون دی آلدئید

مقدمه

رشد و نمو از جوانه‌زنی بذر آغاز شده و این مرحله ای بحرانی در چرخه زندگی گیاه اسـت. بـرای ادامـه حیـات، گیاهچه باید بتواند خود را با شرایط محیطی مطابقت داده و در خـاک مسـتقر گـردد. تحمـل شـرایط تـنش زا در طـی جوانه‌زنی برای استقرار گیاهچه بسیار حیاتی است و اگر بتواند این مرحله را با موفقیت سپری کند شانس زنده‌مـانی و استقرار آن افزایش می‌یابد (Ekiz and Yilmaz, 2003). گیاهچه از نخستین مراحل جوانه‌زنی در حال تعامل با شـرایط زیست محیطی (نظیر نور، دما و رطوبت) عوامل وابسته بـه سـاختار خـاک (ماننـد شـوری) و عوامـل زیسـتی (ماننـد علف‌های‌هرز و پاتوژن‌ها) است که تمام این شرایط گیاه را تحت استرس‌های درونـی قـرار مـی‌دهـد (Levitt, 1980). علاوه بر این، حضور مقادیر سمی فلزات سنگین به دلیل فعالیت‌های انسانی به بافت خاک افزوده می‌گردد می‌تواند بـه استرس‌های بیشتر در گیاه منجر شود (Vierling, 1991).

فلزات‌سنگین به صورت قراردادی به عناصری با خصوصیات فلزی گفته می‌شود که عدد اتمی آنها بیشتر از ۲۰ بـوده و چگالی بالاتر از g/cm^3 ۵ داشته باشند (Yan-de et al., 2007). سرب (PB) کادمیوم (Cd) و نیکل (Ni) از مهمتـرین عناصر سنگین آلاینده خاک هستند (Kaffi et al., 2009; Joseph et al., 2012). تجمـع مقـادیر سـمی ایـن فلـزات در خاک سبب کاهش جوانه‌زنی گیاه و اختلال در رشد گیاهچه می‌گردد (Kolelia et al., 2004). سمیت عناصرسنگین بـا برهم‌زدن تعادل بین تولید و تخریب، منجـر بـه انباشـتگی رادیکـال‌هـای آزاد[1] (ROS) و ایجـاد خسـارات اکسـیداتیو، تخریب پروتئین‌ها و آنزیم‌ها در ساختارگیاه می‌گردد (Zeng et al., 2014).

سلنیم یک عنصر ریز مغذی با خواص آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی و آنتی‌ویروسی است که برای سـلامت انسـان و حیوانات ضروری می‌بشاد (Pilon-Smits et al., 2015). با وجود اینکه اهمیت نقش سلنیوم در افزایش رشـد، عملکـرد و تقویت سیستم دفاعی بسیاری از محصولات زراعی نظیر گندم به اثبات رسیده است ولی این عنصـر مفیـد هنـوز در شمار عناصر ضروری برای محصولات باغی و سبزیجات در نظـر گرفتـه نمـی‌شـود (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 آنتی اکسیدانی این عنصر در کـاهش بسـیاری از استرس‌های اکسیداتیو ناشی از تنش‌های دمایی، خشکی، شوری، مکانیکی، اشعه UV، پاتوژن‌ها و عناصرسنگین مـورد بررسی قرار گرفتـه اسـت (King et al., 2015; Haghighi et al., 2014; Hasanuzzaman et al., 2014; Pandey and Gupta, 2015) عنصر سلنیوم از طریق افزایش آنتی اکسـیدان‌هـای آنزیمـی (Lin et al., 2012; Saeidi et al., 2014) و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی (Schiavon et al., 2013; Sharma et al., 1420) به‌عنوان یک پایین‌آورنده اسـترس عمـل

1. Reactive oxygen species

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 دقیقا 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 وخاک کشاورزی به انواع مختلف فلزات‌سنگین از طریق فعالیت‌های صنعتی، استفاده از پسابهای صنعتی و کودهای شیمیایی این پژوهش به‌منظور بررسی بیشتر تاثیر سلنیوم به عنوان یک عنصر آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش‌زای حضور همزمان عناصرسنگین 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 عناصرسنگین کادمیوم، نیکل و سرب در گیاه خیار بود، تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح سلنیوم (صفر، ٤، ٦ ، ٨، ١٠ میلی گرم بر لیتر از منبع سلنات‌سدیم)، کادمیوم (صفر، ١٠ ، ١٥ ، ٢٠، ٢٥ میکرومولار از منبع کلریدکادمیوم) نیکل (صفر، ٥٠، ١٠٠، ١٥٠، ٢٠٠ میکرومولار از منبع کلریدنیکل) و سرب(صفر، ٢٠، ٤٠، ٦٠، ١٠٠ میکرومولار از منبع کلریدسرب) بودند. آزمایش دوم که به‌منظور بررسی اثر سلنیوم بر کاهش خسارات ناشی از حضور همزمان عناصرسنگین مورد مطالعه در محیط کشت انجام پذیرفت، پس از آنالیز آماری داده‌های آزمایش اول، غلظت بهینه عملکرد سلنیوم (صفر به‌عنوان شاهد و ٨ میلی‌گرم در لیتر)، و غلظت‌های آستانه سمیت عناصر سنگین کادمیوم (صفر به‌عنوان شاهد و ٢٥ میکرومولار)، نیکل (صفر به‌عنوان شاهد و ٢٠٠ میکرومولار) و سرب (صفر به‌عنوان شاهد و ١٠٠ 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 F_1 گیاه خیار (*Cucumis sativus* L.) رقم سوپر دامینوس (تولید شرکت سمینس ایتالیا، سال ٢٠١٥) 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 ٢٥ بذر در هر پتری وجود داشت. بذرهای تیمار شده به منظور جوانه‌زنی و رشد تا مرحله دوب رگی به مدت ١٢ روز در محیط ژرميناتور و با تنظیمات دمای ٢±٢٥ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ٥ ±٧٥ درصد رشد کردند. پتری‌ها به صورت روزانه آبیاری شدند و در طول دوره جوانه‌زنی(١٢روز) 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 ٤٨ ساعت در آون ٧٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس با ترازوی حساس وزن شدند (Soltani et al., 2001).

برای سنجش محتوای نسبی آب بافت[1] (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 ۲٤ ساعت وزن اشباع برگی اندازه‌گیری شده و برگها مجددا به مدت ۲٤ 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).

$$(2)\quad RWC=\frac{Wi-Wd}{Wf-WD}\times 100$$

وزن تازه (Wi=(gr، وزن آماس(W_f =(gr و وزن خشک نمونه‌های برگی(W_D =(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 آب‌گرم در دمای ٤۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفته و هدایت الکتریکی نمونه‌ها به کمک دستگاه EC متر مدل (Jenway) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در حمام آب‌گرم به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و مجدداًهدایت الکتریکی آنها اندازه‌گیری گردید (Sairam and Srivastava, 2002).

$$(3)\quad MSI = 1-\frac{EC1}{EC2}\times 100$$

هدایت الکتریکی در زمان ۱۰ دقیقه= EC_1 ، هدایت‌الکتریکی در زمان ۳۰ دقیقه= EC_2

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی به وسیله آزمون اسید تیوباربیتوریک (TBAT) با سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید[2] (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 فالکون انتقال یافته و به‌مدت ۵ دقیقه در g ٦۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی چهار میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربیتوریک بود اضافه شد. مخلوط فوق به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب‌گرم (۹۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردیدند. سپس مخلوط حاصل بلافاصله در حمام یخ سرد شد و بعد از آن در سرعت g٦۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. میزان جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر و ضریب تصحیح ۰/۱۵۵ ($\mu\ mol^{-1}\ cm^{-1}$) محاسبه و براساس واحد میکرومول برگرم وزن‌تر ($\mu mol\ g^{-1}\ FW$) بیان شد (Heath and Packer, 1968).

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

به‌منظور استخراج عصاره آنزیمی جهت سنجش فعالیت سه آنزیم کاتالاز، گایاکول‌پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز ۰/۵ گرم از بافت گیاهی در ۵ میلی‌لیتر بافرفسفات‌پتاسیم (pH= ۷/۵ و غلظت ۵۰ میلی‌مولار) حاوی PVP یک درصد، Na2 EDTA ۱میلی‌مولار سائیده شد. سپس عصاره آنزیمی به‌مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور و دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با استفاده از روش Abi (1984) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافرفسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH= ۷) محتوی ۰/۲ میلی‌لیتر H_2O_2 یکدرصد و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره استخراجی

1. Relative Water Contents
2. Memberance Stability

بود. فعالیت آنزیم کاتالاز به‌صورت کاهشی در جذب طی یک دقیقه در طول موج ۲٤۰ 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 میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH= ۷) محتوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربات سدیم یک میلی‌مولار، ۰/۲ میلی‌لیتر H_2O_2 یکدرصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت APX به صورت کاهش در جذب H_2O_2 طی یک دقیقه در طول موج ۲٤۰ نانومتر محاسبه شد (mM-1cm-18/2 = ضریب خاموشی).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) به‌عنوان نمونه‌ای از پراکسیدازها با استفاده از روش Dixon و همکاران (۱۹۷۵) مورد ارزیابی قرارگرفت. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH= ۷) محتوی یک میلی‌لیتر گایاکول یک درصد، یک میلی‌لیتر H_2O_2 یک درصد و ۰/۱ میلی‌لیترعصاره ی استخراجی بود. فعالیت GPX به صورت کاهش در جذب گایاگول اکسید شده طی یک دقیقه در طول موج ٤۷۰ نانومتر محاسبه شد ($m\ M^{-1}\ cm^{-1}$ ۲٦/٦=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 قرارگرفتند و به طورکلی افزایش غلظت این عنصر تا تیمار هشت میلی‌گرم بر لیتر باعث بهبود و افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی گردید و سپس در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر شاهد بروز آثار سمیت سلنیوم و کاهش شاخص‌های اندازه‌گیری شده بودیم. تیمار عناصرسنگین به طور قابل ملاحظه ای 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 بذر خیار نشان دهنده تاثیر قابل ملاحظه و معنی دار (جدول ۱) تنش بر شاخص‌های جوانه‌زنی بود. درصد جوانه‌زنی بذور با اعمال تیمارهای عناصرسنگین 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 بذر 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 شاهدگردید. به جز تیمار ترکیبی Ni×Cd که کاهش کمتری نشان داد، بین سایر تیمارهای عناصر سنگین (به

تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. تیمار Se باعث افزایش قابل‌توجه سرعت جوانه‌زنی بذور گردید ولی کاربرد این عنصر در تیمارهای کادمیوم، نیکل و سرب به تنهایی (جدول ۲) تأثیر بیشتری نسبت به تیمارهای ترکیبی عناصرسنگین نشان داد.

جدول ۱: میانگین مربعات اثر سلنیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور خیار تحت تنش همزمان عناصر سنگین کادمیوم،نیکل و سرب

منابع تغییرات	درجه ازادی	میانگین مربعات					
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ساقه چه	طول ریشه چه	وزن تر گیاهچه	وزن خشک گیاهچه
سلنیوم	۱	۲۰۵۸/۴۵*	۷۵۲/۳۴۷*	۱۱/۹۶۶۷*	۱۴۲/۲۱۰*	۰/۲۵۳۱۷*	۸/۹۲۷E-0۴*
کادمیوم	۱	۲۰۱/۴۵*	۱۵۸/۰۵۰*	۴/۵۰۱۸۷*	۳/۲۸۷*	۰/۰۹۷۹۲*	۲/۰۴۲E-0۴*
نیکل	۱	۶۱۸/۷۲*	۱۴۵/۴۸۷*	۳/۷۵۹۴۷*	۱/۴۲۱*	۰/۰۳۶۱۹*	۱/۱۱۰E-0۴*
سرب	۱	۱۵۳۰/۰۲*	۲۱۰/۴۲۲*	۳/۷۹۶۸۸*	۵/۶۰۸*	۰/۰۳۴۴۵*	۱/۱۱۰E-0۴*
سلنیوم×کادمیوم	۱	۶۳/۰۲*	۰/۰۵۳*	۰/۰۵۵۵۸*	۰/۰۱۱*	۰/۰۰۱۴۵*	۱/۳۶۷E-0۴*
سلنیوم×نیکل	۱	۱۱۱/۰۲*	۰/۴۱۶*	۰/۰۰۱۱۳*	۱/۲۳۵*	۰/۰۰۰۰۳*	۶/۰۲۱E-0۶*
سلنیوم×سرب	۱	۷۷/۵۲*	۳۱/۵۷۹*	۲/۳۱۵E-05*	۰/۰۵۶*	۰/۰۰۰۱۱*	۲/۵۵۲E-0۵*
کادمیوم×نیکل	۱	۱۱/۰۲*	۴۶۰/۸۶۷*	۱/۴۵۸۳۶*	۵/۶۵۸*	۰/۰۹۴۷۰*	۴/۶۲۵E-0۴*
کادمیوم×سرب	۱	۵۰۰/۵۲*	۵۸۹/۸۶۸*	۱/۹۳۳۳۶*	۵/۰۰۵*	۰/۰۴۹۱۵*	۳/۲۵۵E-0۴*
نیکل×سرب	۱	۰/۵۲*	۶۴۳/۳۷۹*	۰/۹۹۱۸۷*	۴/۷۱۳*	۰/۰۶۴۹۷	۵/۰۵۳۵E-0۴*
سلنیوم× کادمیوم× نیکل	۱	۰/۱۱*	۵۱/۳۲۲*	۰/۰۸۰۵۸*	۱/۲۸۱*	۰/۰۰۷۳۰*	۱/۱۰۲E-0۵*
سلنیوم× کادمیوم× سرب	۱	۲/۲۲*	۱۵/۶۰۸*	۰/۲۵۵۲۱*	۰/۳۱۷*	۰/۰۰۰۱۹*	۳/۵۲۱E-0۶*
سلنیوم× نیکل× سرب	۱	۱۶/۷۲*	۱۹/۹۷۸*	۰/۰۴۲۸۰*	۰/۳۰۷*	۰/۰۰۰۱۳*	۳/۵۰۲E-0۵*
کادمیوم× نیکل× سرب	۱	۴۴/۷۲*	۴۷۶/۹۱۰*	۰/۳۷۳۳۶*	۳/۴۶۷*	۰/۰۴۲۲۵*	۵/۲۶۷E-۰۴*
سلنیوم× کادمیوم× نیکل× سرب	۱	۲۶۶/۰۲*	۳/۹۲۹*	۰/۱۲۳۳۶*	۱/۱۵۲*	۰/۰۰۷۰۱*	۴/۶۸۷E-0۶*
خطا	۳۰	۳۲/۸۲	۱۳/۹۲۹	۰/۰۸۵۹۸	۰/۲۴۵	۰/۰۰۲۷۷	۲/۲۱۱E-0۵
ضریب تغییرات		۸/۲۸	۵/۹۰	۸/۹۷	۵/۲۵	۴/۱۹	۶/۹۲

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

بر اساس نتاج این پژوهش حضور عناصرسنگین (به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر) در محیط جوانه‌زنی باعث کاهش معنی‌دار طول ساقه‌چه شد (جدول ۱) و با افزایش ترکیب عناصر در محیط کشت کاهش بیشتری در طول ساقه‌چه 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 ساقه‌چه در گیاهان تحت تیمار نسبت به شرایط تنش و بدون کاربرد سلنیوم شد. تاثیر 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 ساقه‌چه نشان داد (جدول۲).

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

نیکل و سرب باعث کاهش آسیب‌های ناشی ازشرایط تنش‌زا گردید که بیشترین تاثیر این عنصر در تیمارهای Se×Ni، Se×Cd و Se×Ni×Cd مشاهده گردید (جدول۲).

حضور عناصرسنگین در محیط‌کشت 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 سلنیوم به محیط جوانه‌زنی باعث افزایش معنی‌دار وزن‌تر گیاهچه گردید. کمترین تاثیر این عنصر در شرایط بیشینه تنش (Se×Cd×Ni×Pb) مشاهده شد ولی بین سایر تیمارها تفاوت معنی داری وجود نداشت (جدول۲). 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×Ni×Pb) مشاهده گردید. وزن خشک گیاهچه نیز با افزودن سطح بهینه سلنیوم به محیط‌کشت در شرایط تنش عناصر سنگین افزایش معنی‌داری یافت. بیشینه این تاثیر در تیمارهای Se×Ni و Se×Cd×Ni مشاهده شد (جدول۲).

جدول۲- مقایسه میانگین اثر سلنیوم 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	٤/۳۷۷b	۱۰/۲۲۰c	۱/٤٤٤b	۰/۰۸٤a
کادمیوم	٦۹/۵۵٦cd-f	۵۵/۵۳۳d	۲/٦٤٤f-h	۷/٤۲۰de	۱/۰۹۸f	۰/۰۵۸gh
نیکل	۷۱/۲۲۲c-f	۵٤/۹۳۹d	۲/۹۵۵ef	۷/۳۳۰de	۱/۱۷۰ef	۰/۰٦۰e-h
سرب	٦۱/۷۷۸fg	۵۲/۹۳۰d	۳/۸٤٤e-g	۷/٤۳۰de	۱/۱۲۱f	۰/۰٦۰e-h
کادمیوم×سرب	۵۲/٤٤٤gh	۵۳/۰۰٦d	۲/۳۵۵gh	۷/۰۹۷de	۱/۱۲۸f	۰/۰٦۳d-h
کادمیوم×نیکل	۵۸/۲۲۲gh	۵۷/۲۵۰cd	۳/۲۳۰ef	۷/٤۰۷ed	۱/۱۳۱f	۰/۰٦۱e-h
سرب× نیکل	۵۳/٤٤٤gh	۵۳/۳۵۰d	۲/۲۸۸h	۸/٦۳۰d-f	۱/۱۵۷f	۰/۰٦۵c-g
کادمیوم×نیکل×سرب	٤۹/۱۱۱h	۵۲/٤۸۳d	۲/۲٦٦h	۷/۸۰۷d	۱/۰۹۸f	۰/۰۵٦h
سلنیوم	۸۹/۳۳۳a	۸۳/٤۰۰a	۵/۱۱۱a	۱۲/۷۰۷a	۱/۵۵۳a	۰/۰۸۷a
سلنیوم×کادمیوم	۷٤/۰۰۰b-e	٦۲/۹۳۳bc	۳/٤۷۷bc	۱۱/۲۰۷b	۱/۳۱٦c	۰/۰۷۰b-d
سلنیوم×نیکل	۷۸/٦٦۷bc	٦۳/۱٦۱bc	۳/۷۸۸c	۱۱/۲۰۷b	۱/۳۲۱c	۰/۰۷۱b
سلنیوم×سرب	٦۸/۸۸۹ef	٦۲/٤۸۳bc	۳/۷۸۸c	۱۰/٤۷۳bc	۱/۳۲۵c	۰/۰٦۷b-f
سلنیوم×کادمیوم×سرب	۷۸/۸۸۹bc	٦۷/۰۷۲b	۳/۵۱۱cd	۱۰/۷۵۳bc	۱/۳۰٤c	۰/۰٦۹b-d
سلنیوم×کادمیوم×نیکل	۷۸/۳۳۳b-d	٦٤/٦۱۱b	۳/۵۳۳cd	۱۱/۲٤۰b	۱/۲۵۹c-e	۰/۰۷۳b
سلنیوم×نیکل×سرب	٦۹/۵۵٦c-f	٦۷/٦٤٤b	۳/۷٦٦cd	۱۰/۷۲۰bc	۱/۲۹۳c	۰/۰٦۸b-e
سلنیوم×کادمیوم×نیکل×سرب	٦۸/۰۰۰ef	٦۳/۰٦۱b	۳/۱۷۷de	۱۰/۹۰۷bc	۱/۲۵٤c-e	۰/۰٦۲c-g

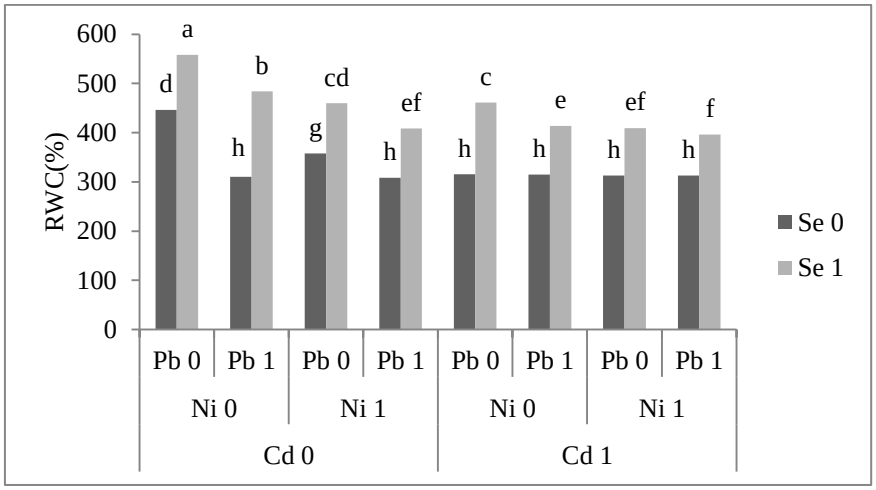
میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی دار دارند.

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

منابع تغییرات	درجه ازادی	میانگین مربعات					
		شاخص پایداری غشا سلولی	محتوای نسبی آب بافت	مالون دی الدئید	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	اسکوربات پراکسیداز
سلنیوم	۱	*٦٧٠٦/٥٦	*١٤١٩٧١	*٠٤E-٩/١٠٠	*٤٢/٦٣٥٩	*٠/٠٠١٦٨	*٠/٠٠١٣٧
کادمیوم	۱	٤٠٣/٩٩	*٢٩٨١٦	*-٠٥E٧/٨٠٣	*٣/١٣٧٣	*٠/٠٠٣٤٨	*٠٠١١٨
نیکل	۱	*٤٢٢/٤٦	*٢٧٢١٩	*-٠٥E٨/٣٢١	*٢/٧٣٣٧	*٠/٠٠١٢٦	*٠٠١٩٢
سرب	۱	*٤٩٩/٩٥	*٢٥٤٥٢	*-٠٥E١/٠٨٣	*٣/٢٥٩٥	*٠/٠٠٢٨١	*٠٠٢٠٢
سلنیوم×کادمیوم	۱	*٤/٦٢	*٦٦	*-٠٥E٣/٨١٦	*٠/٨٨٧٩	*٥/٥٤١	*١/٤٧٠
سلنیوم×نیکل	۱	*٠/٠٨	*٢٠٩١	*-٠٥E٣/٤٨٦	*١/٢٢٨٤	*١/٤٤٣	*٢/٣٢٨
سلنیشم×سرب	۱	*٠/٠٥	*١٢٨٧	*-٠٧E٩/٦٣٣	*١/٤١٧٢	*٢/١٨٢	*٦/١٣٩
کادمیوم×نیکل	۱	*٠/٧٨	*٧٠٥٧	*-٠٦E٥/٤٦٧	*٢/٨٢٨٢	*٠/٠٠٢٣٧	*٤/٩٢٣
کادمیوم×سرب	۱	*٤/٧٨	*٧٩٩٤	*-٠٥E٦/٦٧٤	*١/٧١٨٦	*١/٦٣٤	*١/٩٢٠
نیکل×سرب	۱	*٤/٦٢	*٣٨٤٧	*-٠٥E٨/٤٨٠	٠/٩٣١٩	*٤/٢٠٢	*٠/٠٠١٩٠
سلنیوم× کادمیوم× نیکل	۱	*٢٢٣/١٠	*٧٩٤	*-٠٥E١/٢٦٧	*٠/٠١٨١	*١/٤١٤	*٨/٨١٦
سلنیوم× کادمیوم× سرب	۱	*٢٧٩/٢٤	*١١٢٠	*-٠٥E٣/٢٣٤	*٠/٦٤٣١	*١/٧٤٧	*١/٠١٢
سلنیوم× نیکل× سرب	۱	*٥٤٥	*٥٤٥	*-٠٥E٣/٣٦٧	*٠/١٠٠٢	*٢/١٤٨	*٢/٢٠٤
کادمیوم× نیکل× سرب	۱	*١٧٩	*٣٣٩١٠	*-٠٥E٢/١٨٧	*١/٦١٠٦	*٠/٠٠٢٢٩	*٠/٠٠١١٢
سلنیوم× کادمیوم× نیکل× سرب	۱	*٥٤٦	*٩١٠٦	*-٠٥E٣/٢٦٧	*٠/٠٩٨٠	*٤/١٤٣	*١/١٥٨
خطا	٣٠	٩٤	٦٧٥٠	-٠٧E٥/٦٩٦	٠/٣٣٨١	١/١٥١	٦/٩٠٧
ضریب تغییرات		٤/٤٥	٩/٥٠	٥/٨٩	١٠/١٥	٧/٨٠	٧/٢٨

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

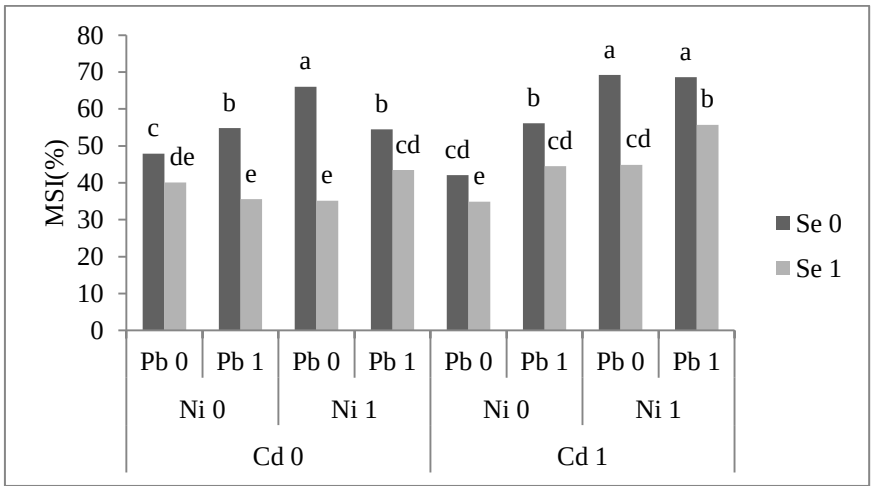
سمیت عناصر سنگین در تمامی تیمارهای آزمایشی باعث کاهش معنی‌دار در محتوای نسبی آب گیاهچه خیار گردید(جدول ۳). در بین تیمارهای آزمایشی تیمار Ni (بدون ترکیب با سایر عناصر) سمیت کمتری نسبت به سایر تیمارها نشان داد ولی در بین سایر تیمارها تفاوت معنی داری وجود نداشت. کاربرد سلنیوم نیز در شرایط عدم حضور کادمیوم، 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 عناصرسنگین 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)

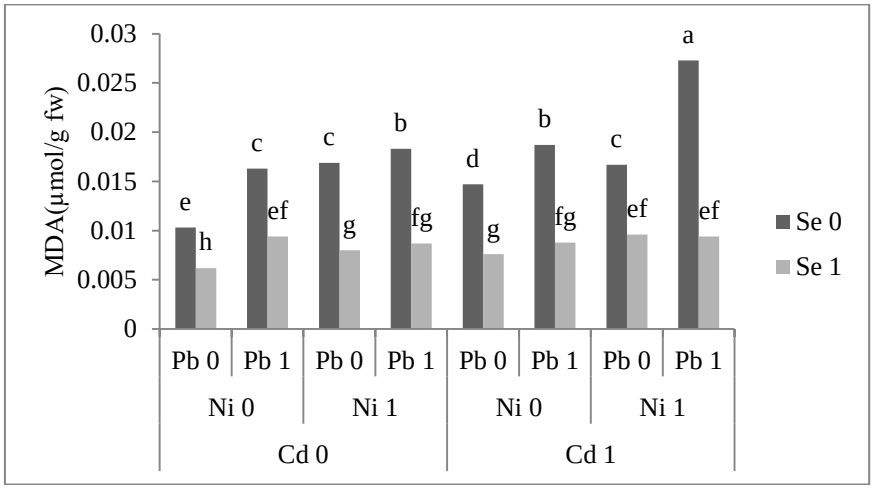
حضور عناصرسنگین در محیط رشد باعث کاهش معنی‌دار شاخص پایداری غشاء سلول گردید (جدول ۳) به نحوی‌که در تمامی تیمارهای آزمایشی سمیت عناصر سنگین باعث افزایش معنی‌دار درصدی نشت‌یونی در گیاهان تیمار شده نسبت به تیمار شاهد گردید. که بیشترین میزان سمیت در سه تیمار Ni (بدون ترکیب با سایر عناصر)، Cd×Ni و Cd×Ni×Pb 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 نشت‌یونی 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 عناصرسنگین 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.

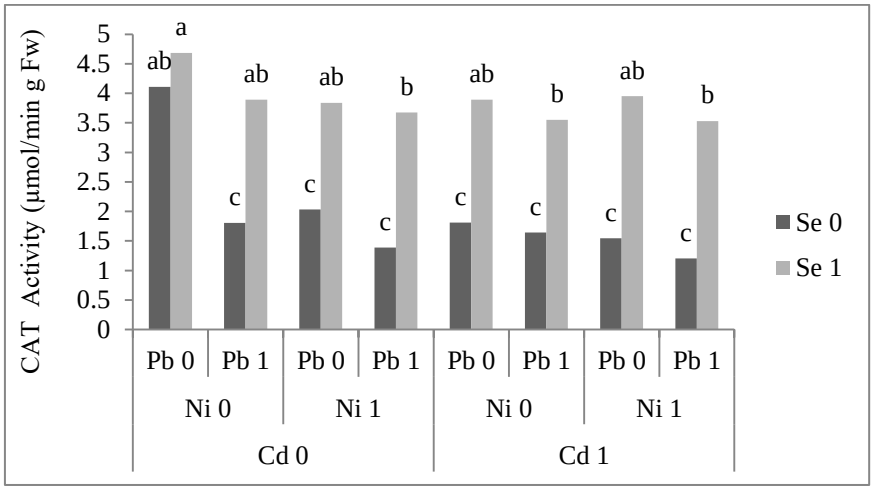


شکل ۳: اثر سلنیوم (Se) بر محتوای مالون دی آلدئید (MDA) گیاهچه خیار تحت تنش همزمان عناصر سنگین کادمیوم (Cd)، نیکل (Ni) و سرب (Pb)

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 عناصرسنگین در تمامی تیمارهای آزمایشی به شدت نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (شکل ٤). اما کاربرد سلنیوم به طور معنی داری توانست باعث جبران اثرات مخرب این عناصرسنگین 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.

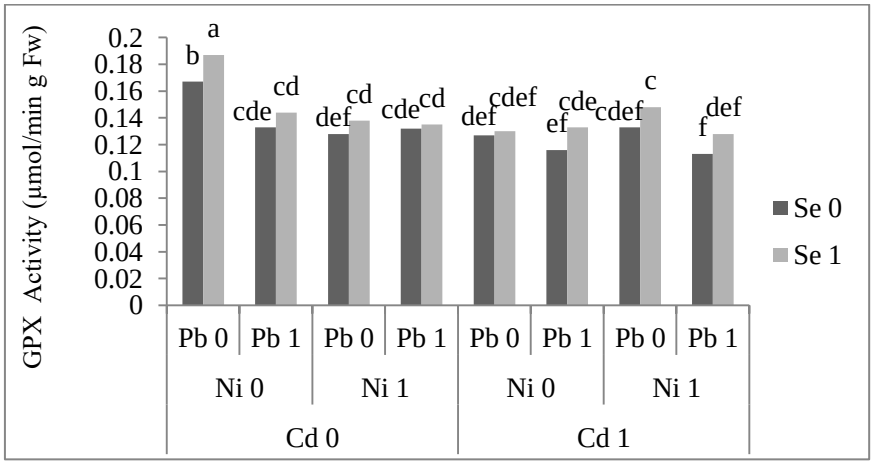
تحت تاثیر سمیت عناصر سنگین کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز برگ مشاهده شد (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین(شکل ۵) نشان داد که تیمار با سلنیوم در شرایط تنش توانست باعث بهبود شرایط تنش و افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برگ گیاهچه گردد. بر اساس نتایج حاصله به‌طورکلی 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 آسکوربات‌پراکسیداز 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 ٦).



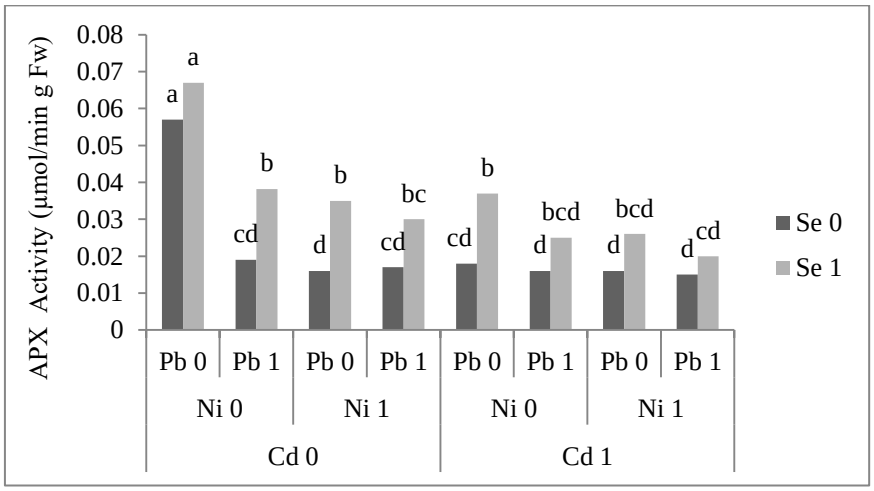
شکل٤: اثر سلنیوم (Se) بر فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در گیاهچه خیار

تحت تنش همزمان عناصر سنگین کادمیوم (Cd)، نیکل (Ni) و سرب (Pb)



شکل٥: 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 ٦: اثر سلنیوم (Se) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) 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 قابل‌توجهی در سرعت و درصد جوانه‌زنی 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 می‌باشد. An و همکاران (۲۰۰٤) گزارش دادند که آلودگی محیط کشت به غلظت‌های سمی عناصر سنگین کادمیوم، مس و روی باعث کاهش جوانه‌زنی بذر خیار گردید و با افزایش غلظت عناصر شاخص‌های جوانه‌زنی به طور چشمگیری کاهش یافت که مطابق با نتایج حاصل از این پژوهش می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی‌های Hoshmandfar and Moraghebi (2011) بر روی جوانه‌زنی 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 جوانه‌زنی بذر آفتابگردان نشان داد که سمیت عناصر سنگین باعث کاهش معنی دار شاخص‌های جوانه‌زنی بذور در گیاهان مختلف می‌گردد. Shafiq و همکاران (۲۰۰۸) در طی یک بررسی کاهش جوانه‌زنی 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 افزایشی سلنیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی که در این بررسی مشاهده گردید می‌تواند به‌دلیل خاصیت تعدیل‌کنندگی این عنصر بر جذب و انتقال عناصر سمی کادمیوم، نیکل و سرب به بافت گیاهچه باشد و کاهشی که در اثر بخشی سلنیوم در شرایط حضور سه عنصر در محیط کشت دیده شد می‌تواند به دلیل افزایش تنش اکسیداتیو ناشی از حضور همزمان غلظت‌های سمی سه عنصر سنگین در محیط کشت و هچمنین تاثیر متقابل عناصرسنگین 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 ریشه‌چه جذب نمی‌گردد یا در صورت جذب این فلزات توسط بافت‌های گیاهچه با تشکیل این مجموعه‌ها از اثرات سمی این عناصر می‌کاهد.

تحت تاثیر غلظت‌های سمی کادمیوم، نیکل و سرب کاهش معنی‌داری در طول ساقه‌چه و ریشه‌چه 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 معنی‌دار طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و همچنین سایر شاخص‌های جوانه‌زنی را به‌طور مستقیم متناسب با افزایش تجمع عناصرسنگین در محیط کشت گیاه گزارش دادند که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر همخوانی دارد. Shekari و همکاران (۲۰۱٦) 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 ساقه‌چه و رشه‌چه گیاه ذرت را در اثر تیمار با غلظت‌های 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 فعالیت‌های آنزیم‌های دخیل در سنتز و هیدرولیز نشاسته و پروتیئن باعث فراهم شدن سوبسترای لازم برای جوانه‌زنی و رشد گیاه فراهم می‌شود.

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه‌های آماری، سمیت ناشی از حضور عناصر سنگین کادمیوم، نیکل و سرب به تنهایی و با ترکیب با یکدیگر در محیط جوانه‌زنی بذور خیار باعث کاهش معنی‌دار در وزن‌تر و خشک گیاهچه گردید. نتایج این تحقیق در راستای نتایج به‌دست آمده از مطالعات Shekari و همکاران (۲۰۱٦) بر روی گیاه فلفل و Sharifi و

همکاران(۲۰۱۰) بر روی گیاه عدس بود. Arzoo et al. (۲۰۱٤) گزارش دادند که وزن‌تر و خشک گیاه *Macrotyloma uniflorum* با افزایش غلظت عناصرسنگین 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 عناصرسنگین مورد مطالعه در این پژوهش باعث افزایش وزن‌تر 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. Haghighi et al. (۲۰۱٦) 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 تاثیر 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 تاثیر 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 موئین 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 تاثیر قرار داد. نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات Eskandari 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 مالون‌دی آلدئید 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 مالون‌دی‌الدئید که شاخصی جهت سنجش میزان آسیب به غشاهای بیولوژیکی است بالا می‌رود (Shri et al., 2009).

Bahman Ziari et al. (۲۰۱۲) در طی بررسی تاثیر 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 فلزات‌سنگین از طریق کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و تعدیل سیستم محافظتی آنتی اکسیدانی 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. پراکسیدهیدروژن 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 تنایج حاصل از تجزیه های آماری تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت عناصر سنگین در تمامی تیمارهای آزمایشی باعث کاهش معنی دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ گیاهچه خیار شد. Siddiqui et al. (۲۰۱٤) 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 آسکوربات‌پراکسیداز 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 آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی گردید ولی کاربرد سلنیوم در شرایط تنش باعث افزایش رشد و فعالیت آنتی اکسیدانی 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 فوق العاده‌ای در کاهش خسارات ناشی از تنش کادمیوم و کاهش تاثیر سمیت این عنصر بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پر اکسیداز داشت. طبق نظر Feng et al. (۲۰۱۳) تاثیر سلنیوم در بهبود جذب و انتقال عناصر ضروری در گیاه می تواند مکانیسمی مهم در تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آزاد (ROS) در شرایط تنش‌های محیطی باشد.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این پژوهش حضور غلظت‌های بالای عناصرسنگین 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 عناصرسنگین مورد مطالعه در محیط کشت آثار مخرب این عناصر در پیکره گیاه افزایش می‌یابد. از سویی دیگر کاربرد سلنیوم می تواند باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی درگیاه در شرایط تنش ناشی از ترکیبات مختلف عناصرسنگین 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.

Refrences

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 seawage 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*) verdc. 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 Nutriation. 24: 1085-1097.

Bahman ziari, H., Khoshgoftarmanesh, A.H., Sanaii ostovar, A., Shirvani, M. and Haghighi, M. 2012. Effect of different levels nickel in nutrient solution containing ammonium nitrate onperoxidation of lipids and antioxidant enzyme activity of cucumber leaves. Science and Technology of Greenhouse Culture. 3(12): 91-103.

Balakhninaa, 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 satvius*, L. Var. Sativing) plant subjected to cadmium strees. Journal of stress Phsiology 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-marlche, 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., Sheibanirad, A., and Pessarakli, 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., Borzoii, 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 an mitigates cadmium toxicity in rice. Jornal 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. AnaleleUniversitatii 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. Enviromental 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 uncleolytic 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 Buonoa, D., D'amatoa, R., Tedeschinib, E. and Businellia, 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.

Saffaryazdi, A., Lahouti, M., Ganjeali, A. and Bayat, H. 2012. Impact of selenium supplementation on growth and selenium accumulation on spinach (*Spinacia oleraceae* 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 Leucaenaleucocephala. 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 selniferous 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 rhizobcteria in phytoremidiation of heavy metal comtaminated soil. Journal of Zhejiang University Sciene 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.

Journal of Seed Research, Vol. 8, No. 2, Summer 2018

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

Aroiee, H.[1], shekari, L.[2], Mirshekari, A.[3], Nemati, H.[1]

[1]Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

[2]Horticulture doctoral student, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

[3]Department 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) e 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