Journal of Horticultural Plants Nutrition
Vol.4, No.2, Autumn & Winter 2021-22
Research Paper

DOI: 10.22070/HPN.2022.15335.1158

Improvement of the quantitative and qualitative properties of spinach with the use of selenium and green selenium nanoparticles

Mohammad Rezaei Nik [1] ***, Ahmadreza Abbasifar*** [2*] ***, Babak ValizadehKaji*** [3]

1- Msc student of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
mjm.rezaei@gmail.com
2- Corresponding Author and Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
abbasifar1965@yahoo.com
3- Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
valizadehkaji@yahoo.com

Received Date: 2021/10/15 Accepted Date: 2021/05/31

Abstract

Introduction: Leafy vegetables are widely consumed in many countries due to their high nutritional value. However, leafy vegetables are the primary source of nitrate accumulation, and therefore, daily consumption of nitrate-containing vegetables can cause many problems for human health. Spinach (*Spinacia oleraceae* L.) is one of the leafy vegetables that accumulate nitrate. Many nutrients are involved in reducing nitrate accumulation and metabolic and physiological processes in plants. Among the elements, selenium, which is known as a beneficial element, at low concentrations, it can have beneficial effects on plant metabolism as well as reducing nitrate accumulation.

Material and methods: This study was conducted to investigate the effect of selenium and selenium green nanoparticles on nitrate accumulation in spinach in a randomized complete block design with seven treatments and seven replications. Treatments included sodium selenite (Na_2SeO_3) at concentrations of 1, 2, and 4 mg l^{-1} and green nanoparticles of sodium selenite (Se NPs) at concentrations of 1, 2, and 4 mg l^{-1} and control (without the use of selenium), which used as foliar sprays.

Results and discussion: The results showed that most of the nutrient treatments, especially the concentration of 4 mg l^{-1} sodium selenite and 1 mg l^{-1} Se NPs, significantly increased the fresh and dry weight of the plant, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, and the activity of nitrate reductase and decreased the concentration of nitrate. In most of the nutrient treatments, the levels of phosphorus, potassium, and selenium were higher than the control. In contrast, the control plants showed significantly more Zn than the plants treated with different selenium levels.

Conclusions: As demonstrated by the results of current research, foliar application of Se, especially Se NPs, have a high potential for obtaining better quantity and reducing the nitrate accumulation in spinach.

Keywords: Foliar application, Green nanoparticles, Nitrate, Selenium, Spinach.

نشریه علمی تغذیه گیاهان باغی
دوره ۴، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۰، (ص ۱۴۴- ۱۲۹)
مقاله پژوهشی

DOI: 10.22070/HPN.2022.15335.1158

بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاه اسفناج با کاربرد سلنیوم و نانوذرات سبز سلنیوم

محمد رضایی نیک [۱]، احمدرضا عباسی فر [۲*]، بابک ولی‌زاده کاجی [۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
mjm.rezaei@gmail.com
۲- نویسنده مسئول و دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
abbasifar1965@yahoo.com
۳- دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
valizadehkaji@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۳ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۰**

چکیده

گیاه اسفناج (*Spinacia Oleraceae* L.) یکی از سبزی‌های برگی است که در گروه گیاهان تجمع کننده نیترات قرار گرفته است. سلنیوم که به عنوان یک عنصر مفید شناخته شده است، در غلظت‌های پایین می‌تواند اثرات مفیدی بر متابولیسم گیاهان و همچنین کاهش تجمع نیترات داشته باشد. این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر عنصر سلنیوم بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیتوشیمیایی و میزان تجمع نیترات در گیاه اسفناج در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در هفت تیمار و با هفت تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل سلنیت سدیم (Na_2SeO_3) در غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر و نانوذرات سبز سلنیت سدیم (Se NPs) در غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر و شاهد (بدون کاربرد سلنیوم) بودند که به‌صورت محلول‌پاشی برگی مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد اکثر تیمارهای تغذیه‌ای، به‌ویژه غلظت چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم و یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم به‌طور معنی داری باعث افزایش وزن تر و خشک بوته، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و کاهش غلظت نیترات شدند. در اکثر تیمارهای تغذیه‌ای، میزان عناصر فسفر، پتاسیم و سلنیوم بیشتر از شاهد بود. در مقابل، گیاهان تیمار شاهد به طور معنی داری مقدار روی بیشتری نسبت به گیاهان تیمار شده با مقادیر مختلف سلنیوم نشان دادند.

کلمات کلیدی: اسفناج، سلنیوم، محلول پاشی، نانوذرات سبز، نیترات.

مقدمه

اهمیت کود در سبزی‌کاری بیش از سایر بخش‌های کشاورزی است، زیرا جذب عناصر غذایی از زمین به وسیله سبزی‌ها قابل توجه می‌باشد. بنابراین، جبران عناصر غذایی جذب شده فقط با کود امکان پذیر است. کودهای نیتروژنه از جمله کودهای پر مصرف در سبزی‌کاری هستند. در سبزی‌های برگی، مصرف نیتروژن باعث تسریع رشد سبزینه‌ای آن‌ها می‌گردد. علی‌رغم اینکه سبزی‌ها بر سلامتی انسان تأثیر مثبت دارند، اما از سطوح نیترات و نیتریت آن‌ها نباید چشم پوشی کرد. عمده راه ورود نیترات به بدن انسان از طریق غذا به ویژه مصرف سبزی‌ها است که حدود ۷۰ تا ۹۰ درصد نیترات وارده به بدن انسان را به‌خود اختصاص می‌دهند (EFSA, 2008). مصرف بیش از اندازه کودهای نیتروژنه، شرایط جذب بیش از اندازه نیترات توسط گیاه را فراهم می‌کند و در این بین، سبزی‌ها مهمترین محصولاتی هستند که بیشترین جذب نیترات را دارند (Thorup Krisensen, 2001).

در مطالعات قبلی مشخص شد که افزودن سلنیوم به گیاهان می‌تواند بر متابولیسم نیتروژن در گیاهان تأثیر بگذارد و این تأثیر بستگی به میزان غلظت سلنیوم دارد (Rios et al., 2010; Zhong-Hua et al., 2020). علاوه بر این، کاربرد سلنیوم می‌تواند باعث افزایش میزان فتوسنتز در گیاهان مخصوصاً تحت تنش‌های مختلف شود (Feng et al., 2013). در واقع یکی از مهمترین عوامل مؤثر بر میزان تجمع نیترات در گیاهان، میزان فتوسنتز است و تجمع نیترات در گیاهان ارتباط مستقیمی با میزان کربوهیدرات‌های گیاه دارد که در طی فتوسنتز تولید می‌شوند (Zhong-Hua et al., 2020). از آنجا که عناصری مانند سلنیوم می‌توانند کربن و انرژی مورد نیاز برای کاهش نیترات در گیاه را فراهم کنند (Zhong-Hua et al., 2020)، بنابراین فرض بر این است که سلنیوم علاوه بر القای فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم نیتروژن، از طریق حفظ ظرفیت فتوسنتزی و تنظیم آن و انتقال نیترات، به طور مثبتی باعث کاهش میزان نیترات در گیاه می‌شود (Mohammadi, 2020).

خاک‌های ایران دارای کمبود سلنیوم هستند (Ani, 2008). عمده پژوهش‌های انجام شده در دنیا و ایران روی سلنیوم در زمینه تأثیرات آنتی اکسیدانی این عنصر در مواجهه با انواع تنش‌های محیطی می‌باشد و مسأله غنی‌سازی گیاهان با سلنیوم و تأثیر آن بر تجمع نیترات در گیاهان کمتر مورد بررسی قرار داده است (Gholami et al., 2012). از طرف دیگر، یافته‌های پژوهشگران نشان داد که محلول پاشی سلنیوم موثرترین روش برای افزایش غلظت سلنیوم در بیشتر محصولات است و کودهای نانو به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم زیاد، نسبت به کودهای معمولی برای محلول پاشی موثرتر هستند (DeRosa et al., 2010; Ros et al., 2010).

بنابراین یکی از مهم‌ترین اهداف این مطالعه بررسی کاربرد برگی سلنیوم و نانوذرات سبز سلنیوم بر میزان تجمع نیترات در گیاه اسفناج بود. از دیگر اهداف این مطالعه، مقایسه بین تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیت سدیم با غلظت‌های مختلف نانوذرات سلنیوم بر صفات کمی و کیفی اسفناج و همچنین تأثیر احتمالی عنصر سلنیوم بر جذب سایر عناصر در این گیاه و در نهایت تعیین غلظت مناسب مصرف سلنیوم و نانوذرات سبز سلنیوم برای گیاه اسفناج بود.

مواد و روش‌ها

انتخاب تیمارها

این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر سلنیت سدیم و نانوذرات سبز سلنیوم بر تجمع نیترات در اسفناج، در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اراک در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار شامل محلول‌پاشی سلنیت سدیم (Na_2SeO_3) با غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر و نانوذرات سبز سلنیوم با غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر به‌همراه

شاهد (عدم استفاده از سلنیوم) و با هفت تکرار اجرا شد.

سنتز نانوذرات سبز سلنیوم

برای ساخت نانوذرات سبز سلنیوم از عصاره گیاه رزماری استفاده گردید. برای تهیه عصاره رزماری، ابتدا گیاه رزماری را با آب معمولی شسته و سپس خشک گردید. ۲۰ گرم از گیاه خشک به ۵۰۰ میلی‌لیتر آب افزوده شد، سپس مخلوط به‌دست آمده به‌مدت ۳۰ دقیقه بر روی دستگاه هیتر استیرر با دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. مخلوط حاصل با کاغذ صافی فیلتر شده تا عصاره مورد نظر به‌دست آمد. مقدار ۱/۷۳۸ گرم از نمک سدیم سلنیت تهیه شده از شرکت مرک آلمان در نیم لیتر آب حرارت داده شد. سپس مقدار ۸۰ میلی‌لیتر از محلول سدیم سلنیت با ۲۰ میلی‌لیتر عصاره رزماری مخلوط شد. در پایان محلول به‌دست آمده در دمای ۵۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴ ساعت حرارت داده شد تا رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز در محلول ایجاد شود. در این حالت محلول ۰/۰۱ مولار نانوذرات سبز سلنیوم به‌دست آمد. تغییر رنگ محلول بعد از اضافه شدن محلول رزماری در فرآیند سنتز نشان دهنده تشکیل نانوذرات می باشد. (Abbasifar et al., 2019).

تعیین مشخصات نانوذرات

برای تعیین مشخصات نانوذرات از دو آزمون میکروسکوپ الکترونی (SEM) و آزمون XRD استفاده شد. آزمون میکروسکوپ الکترونی توسط مرکز پژوهش متالوژی رازی تهران و به منظور تعیین اندازه ذرات مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱). آزمون XRD نیز در آزمایشگاه پژوهشی دانشگاه صنعتی شریف و جهت تعیین فاز و ساختار کریستاله و ترکیبات شیمیایی محلول انجام شد (شکل ۲).

مواد آزمایشی و نحوه اجرای آزمایش

در این آزمایش، از بذرهای اسفناج رقم ویروفلای (Viroflay) استفاده شد. تعداد پنج عدد بذر در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و وزن خالی ۲۵۰ گرم که هر یک به میزان مناسب از خاک مورد نظر (یک قسمت خاک مزرعه و یک قسمت ماسه و یک قسمت کود دامی پوسیده) پر شده بودند، کشت گردید. پس از کاشت بذرها و جوانه زنی، فقط از آب معمولی (بدون کاربرد هر نوع کود) جهت آبیاری گیاهچه‌های جوان استفاده شد. پس از رشد گیاهچه‌ها به‌منظور ایجاد تراکم مناسب و اعمال تیمار در هر گلدان دوگیاهچه نگه‌داری و مابقی حذف شدند. تمامی مراحل داشت از قبیل آبیاری، حذف علف‌های هرز و مبارزه با آفات در این مدت به‌طور مرتب و به صورت یکنواخت برای تمامی گلدان‌ها انجام گرفت.

با توجه به وضعیت رشد مطلوب گیاهان آزمایشی و برای تأمین عناصر ماکرو، در طی مراحل رشد گیاه و با توجه به نیاز آنها، کود N, P, K (20. 20. 20) با غلظت ۲ گرم بر لیتر و برای تمامی تیمارها و گیاهان شاهد به‌صورت یکسان و در دو مرحله (۵ و ۸ برگی) در بین مراحل اعمال تیمارهای سلنیوم، به بستر کاشت گیاهان آزمایشی اضافه شد. تیمارهای سلنیت سدیم و نانوذرات سبز سلنیوم به‌صورت محلول‌پاشی در سه مرحله، ۴ برگی، ۸ برگی و ۱۰ برگی اعمال شدند و هم‌زمان گیاهان شاهد فقط با آب معمولی محلول‌پاشی شدند. برای تأمین نیتروژن کافی و به منظور تجمع نیترات، محلول‌دهی نیتروژن با مقدار ۱/۵ گرم نیتروژن، در سه مرحله (۲تا ۴ برگی، ۴ تا ۶ برگی و ۶ تا ۸ برگی) و به‌مقدار ۰/۵ گرم در هر مرحله همراه با آب آبیاری به خاک گلدان‌ها اضافه شد. گیاهان ۷۰ روز پس از کشت از محل طوقه قطع و برای اندازه گیری صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی به آزمایشگاه منتقل شدند.

صفات مورفولوژیکی

در این مطالعه، صفات مورفولوژیکی مانند ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن خشک و وزن تر اندام هوایی گیاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ‌ها

میزان کلروفیل a، b و کل با روش Arnon (۱۹۴۹) اندازه‌گیری شد. میزان ۰/۰۱ گرم از برگ‌های تازه با کمک استون ۸۰ درصد در عدم حضور نور تا زمان حل شدن و سفید شدن کامل برگ‌ها در هاون چینی ساییده شد. سپس حجم آن با استون ۸۰ درصد به ده میلی‌لیتر رسانده شد و در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. با استفاده از عصاره به‌دست آمده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر میزان کلروفیل در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با فرمول‌های زیر برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. جذب خوانده شده را در فرمول‌های زیر قرار داده و مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل بر حسب میلی‌گرم وزن تر کلروفیل استخراج شده از هر گرم بافت برگ محاسبه گردید.

$$\text{Chlorophyll A} = 12.9\,(A663) - 2.9\,(A645) \times \frac{V}{1000} \times W$$

$$\text{Chlorophyll B} = 22.9(A645) - 4.68\,(A663) \times \frac{V}{1000} \times W$$

$$\text{Chlorophyll Total} = 20.2\,(A645) + 8.02\,(A663) \times \frac{V}{1000} \times W$$

V= حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A= جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

W= وزن تر نمونه بر حسب گرم

اندازه‌گیری میزان نیترات برگ

برای اندازه‌گیری میزان نیترات گیاه از روش پیشنهادی Cataldo (1975) استفاده شد. بر اساس این روش نمونه خشک گیاه آسیاب گردید و سپس ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌ها درون ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر محلول شد. محلول‌ها در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت نگهداری شدند. سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد. از عصاره‌های به‌دست آمده به‌میزان ۰/۲ میلی‌لیتر برداشته و درون ارلن‌مایر ۵۰ میلی‌لیتر ریخته شد. سپس ۰/۸ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۵٪ به عصاره‌ها اضافه و با یکدیگر مخلوط شدند. محلول‌ها ۲۰ دقیقه در دمای اتاق به‌منظور خنک شدن نگهداری شدند. پس از خنک شدن محلول‌ها، ۱۹ میلی‌لیتر سود ۲ نرمال به آن‌ها اضافه گردید. شدت رنگ زرد حاصل شده در نمونه‌ها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه استاندارد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات، ۰/۷۲۲ گرم از نیترات پتاسیم در یک لیتر آب حل شد. برای تهیه محلول‌های استاندارد با غلظت ۰، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، ۰، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میلی‌لیتر از محلول استاندارد به‌طور جداگانه به بالن‌هایی منتقل و با اسید استیک ۲ درصد به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. در نهایت، مقدار نیترات در نمونه‌های گیاهی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$\text{غلظت نیترات در ماده خشک} = a - b \times \frac{50}{W} \times \frac{100}{D.M}$$

a: غلظت نیترات در عصاره بر حسب میلی‌گرم بر لیتر

b: غلظت نیترات در شاهد بر حسب میلی‌گرم بر لیتر

W: وزن نمونه گیاه بر حسب گرم

D.M: درصد ماده خشک گیاه

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز از روش پیشنهادی Jaworski (1971) استفاده گردید. در این روش ابتدا محلول‌های آزمایش شامل محلول بافر فسفات با pH ۷/۵، محلول سولفانیل آمید، محلول اِن (۱-نفتیل) اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید تهیه گردید.

برای انجام کار ۵ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات درون لوله‌های آزمایش ریخته شد. به مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه-های برگ تازه گیاه وزن شد و به قطعات حدود یک سانتی‌متر خرد شد و درون لوله‌های فوق ریخته شد. به‌هر لوله ۵۰ میکرولیتر اپروپانول به‌وسیله سمپلر اضافه شد و درب لوله‌ها توسط پارافیلم بسته شد. بعد از این مرحله، با استفاده از سیلندر نیتروژن شرایط خلاء با فشار ۵ میکروبار درون لوله‌ها ایجاد گردید و سپس با استفاده از فویل آلومینیومی برای لوله‌ها شرایط تاریکی فراهم شد. لوله‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در لوله‌های آزمایش دیگری (لوله‌های خالی) مقدار دو میلی‌لیتر از محلول سولفانیل آمید ریخته شد. از لوله‌های حاوی عصاره‌ی گیاهی مقدار یک سی سی به لوله‌های حاوی سولفانیل آمید اضافه شد و سپس دو سی سی از معرف ان- نفتیل به لوله‌ها اضافه شد. شدت رنگ ارغوانی حاصل شده در نمونه‌ها، با استفاده از روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه منحنی استاندارد نیترات ردوکتاز از ۰/۱ تا ۰/۴ (۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴) میکرومول نیتریت سدیم استفاده شد و به ازاء مقدار نیتریت تولید شده در گرم بافت تر، فعالیت آنزیم محاسبه شد.

آنالیز عناصر

در این پژوهش اندازه‌گیری میزان عنصر پتاسیم از روش Flame photometric توسط دستگاه جذب اتمی (VARIAN-880) و عناصر فسفر، روی و سلنیوم از طریق روش XRF توسط دستگاه (Analytical instruments-BOUREVESTNIK) انجام شد. مراحل انجام آنالیز، نمونه‌های خشک گیاهی در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه اراک انجام گردید.

آنالیز آماری

تجزیه واریانس داده‌ها به روش GLM و با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

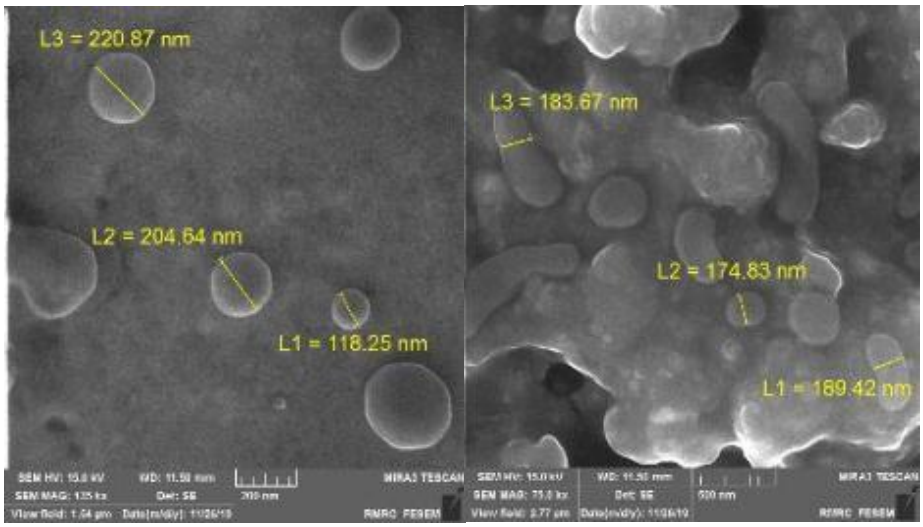
نتایج

آزمون‌های سنتز نانوذرات

در مطالعه حاضر، سنتز نانوذرات سبز عنصر سلنیوم از طریق احیاء یون‌های سلنیوم، طی قرار گرفتن در معرض عصاره گیاه رزماری صورت گرفت. نتایج به‌دست آمده از تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) نشان داد، ذرات به‌دست آمده در اشکال کروی و نامنظم هستند و اندازه آن-ها در محدوده‌ی ۲۲۰-۱۱۸ نانومتر است (شکل ۱). ساختار بلوری نانوذرات سلنیوم توسط آزمون پراش اشعه ایکس (XRD) ثبت و تأیید شد. آنالیز کیفی این آزمون نشان داد که ساختار متشکل از چند فاز بود. فاز نانوذرات سلنیوم در محدوده ۷۰-۴۰ درجه مشخص گردید و بالاترین پیک در محدوده ۴۰ تا ۵۰ درجه قرار داشت (شکل ۲).

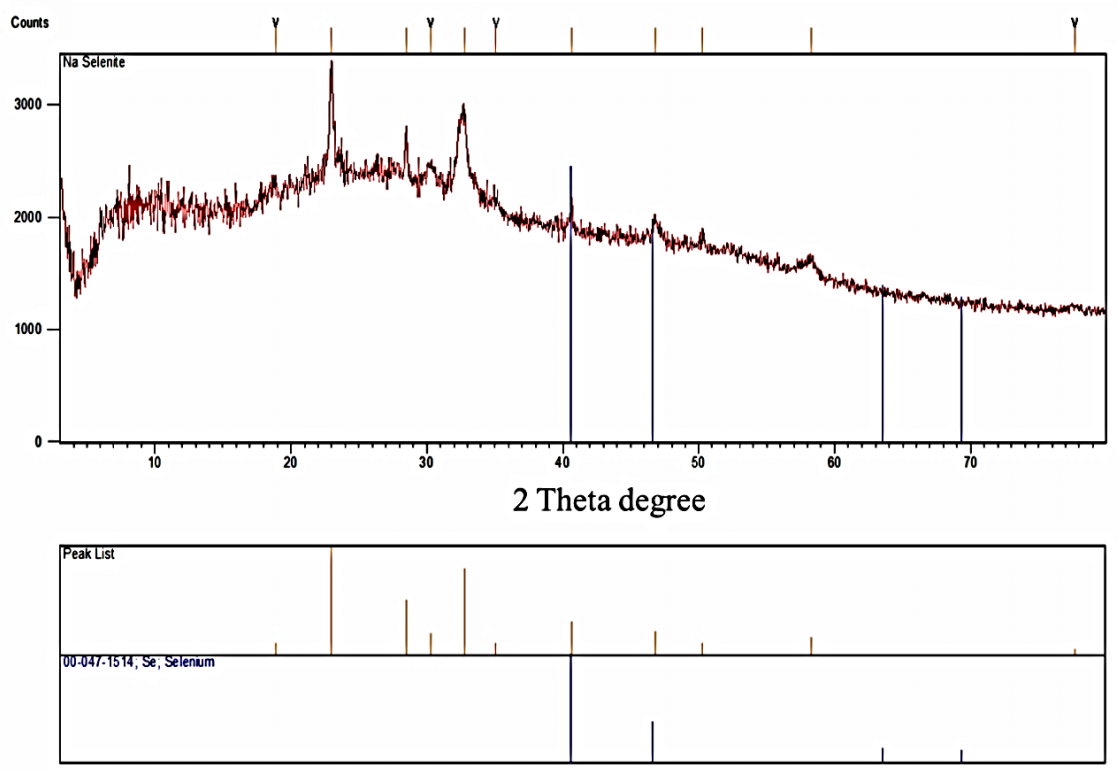
صفات مورفولوژیکی

با بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای مورد مطالعه روی صفات مورفولوژیکی مشخص شد که اثر تیمارهای تغذیه‌ای روی صفات ارتفاع بوته و تعداد برگ معنی‌دار نبوده، اما در صفات وزن تر و وزن خشک گیاهان به ترتیب در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱).



شکل ۱. آنالیز SEM نانوذرات سبز سلنیوم

Figure 1. SEM analysis of green synthesized Se nanoparticles



شکل ۲. آنالیز XRD نانوذرات سبز سلنیوم

XRD analysis of green synthesized Se NPs

جدول ۱. تأثیر محلول‌پاشی برگی سلنیت سدیم و نانوذرات سبزسلنیوم بر پارامترهای رشد بوته اسفناج
Table 1. Effect of foliar spray of sodium selenite and green Se NPs on growth parameters of spinach bush

Treatments (mg/L)	Fresh weight (g per pot)	Dry weight (g)	Leaf number	Plant height (cm)
Control	9.07 b	1.26 c	9.14	102.42
Sodium selenite (1)	11.64 ab	2.15 ab	9.14	112.14
Sodium selenite (2)	11.91 ab	2.48 ab	8.85	116.71
Sodium selenite (4)	14.55 a	2.81 a	9.14	120.42
Se NPs (1)	14.27 a	2.69 a	8.71	119.14
Se NPs (2)	11.67 ab	2.22 ab	8.85	115.71
Se NPs (4)	10.47 b	1.88 b	9.00	111.42
Significance	*	**	ns	ns

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. *، ** و ns به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۱ و عدم معنی داری است.

Mean values followed by the similar letters within a column are not significantly different from each other at $P \leq 0.05$ (Duncan's multiple range test). *, ** and ns are significant at $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$ and not significant, respectively.

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اندازه‌گیری وزن تر گیاهان نشان داد، بیشترین وزن تر (۱۴/۵۵گرم) مربوط به تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد (۹/۰۷ گرم) و تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم (۱۰/۴۸گرم) نشان داد، درحالی‌که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک گیاهان نشان داد که اختلاف معنی داری بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. بیشترین وزن خشک (۲/۸۲ گرم) مربوط به تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم بود که با تیمارهای یک و دو میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم و یک و دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم تفاوت معنی‌داری نداشت، در حالی‌که با تیمار شاهد و تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول ۱).

مقادیر کلروفیل

اثر تیمارهای مختلف سلنیت سدیم و نانوذرات سبز سلنیوم بر صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، میزان نیترات و فعالیت نیترات آنزیم ردوکتاز در سطح احتمال یک درصد معنی دار بوده است (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل a نشان داد مقدار این صفت در تمامی تیمارهای تغذیه‌ای نسبت به شاهد (۱/۴۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بیشتر بود، اما تیمارهای یک میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم و چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشتند. بیشترین میزان کلروفیل a (۲/۳۴۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مربوط به تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم بود که البته اختلاف معنی‌داری با تیمارهای دو میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم و یک و دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم نشان نداد (جدول ۲).

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اندازه‌گیری تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل b نشان داد همه تیمارها به جز تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم، تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند. بیشترین میزان کلروفیلb (۰/۸۴۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مربوط به تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم بود که با تیمار یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم اختلاف

معنی‌داری نشان نداد. کمترین میزان با ۰/۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نیز متعلق به شاهد بود (جدول ۲).

میانگین داده‌های حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل کل نشان داد بیشترین میزان کلروفیل کل (۳/۱۹۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مربوط به تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم بود که با سایر تیمارها به جزء تیمار یک میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم اختلاف معنی‌داری نشان داد. کمترین میزان کلروفیل کل (۱/۷۸۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) نیز مربوط به تیمار شاهد بود، با این وجود بین تیمار شاهد و تیمارهای یک میلی‌گرم سلنیت سدیم و چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲).

جدول ۲. تأثیر محلول‌پاشی برگی سلنیت سدیم و ناتوذرات سبز سلنیوم بر مقادیر کلروفیل گیاهان اسفناج

Table 2. Effect of foliar spray of sodium selenite and green Se NPs on chlorophyll contents of spinach plants

Treatments (mg/L)	Chlorophyll (mg/g FW)		
	a	b	Total
Control	1.464 c	0.318 c	1.782 c
Sodium selenite (1)	1.582 c	0.492 b	2.074 c
Sodium selenite (2)	2.098 a	0.556 b	2.655 b
Sodium selenite (4)	2.349 a	0.846 a	3.196 a
Se NPs (1)	2.311 a	0.770 a	3.081 a
Se NPs (2)	2.004 ab	0.587 b	2.592 b
Se NPs (4)	1.657 bc	0.471 bc	2.128 c
Significance	**	**	**

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. ** بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۱ است.

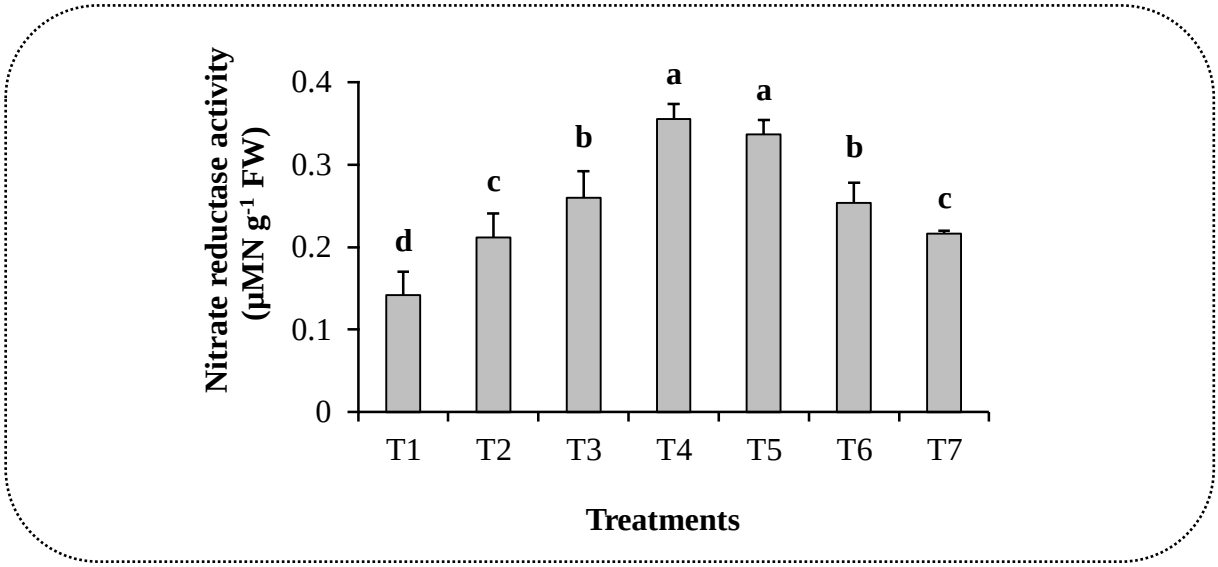
Mean values followed by the similar letters within a column are not significantly different from each other at $P \leq 0.05$ (Duncan's multiple range test). ** is significant $P \leq 0.0$.

فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به تأثیر تیمارهای مختلف تغذیه‌ای بر میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نشان داد بیشترین میزان فعالیت این آنزیم (۰/۳۵۵ میکرومول نیترات بر گرم وزن تازه) مربوط به تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم بود که با سایر تیمارها (به جز تیمار یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم) اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین میزان فعالیت آنزیم (۰/۱۴۱ میکرومول نیترات بر گرم وزن تازه) مربوط به تیمار شاهد بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۳).

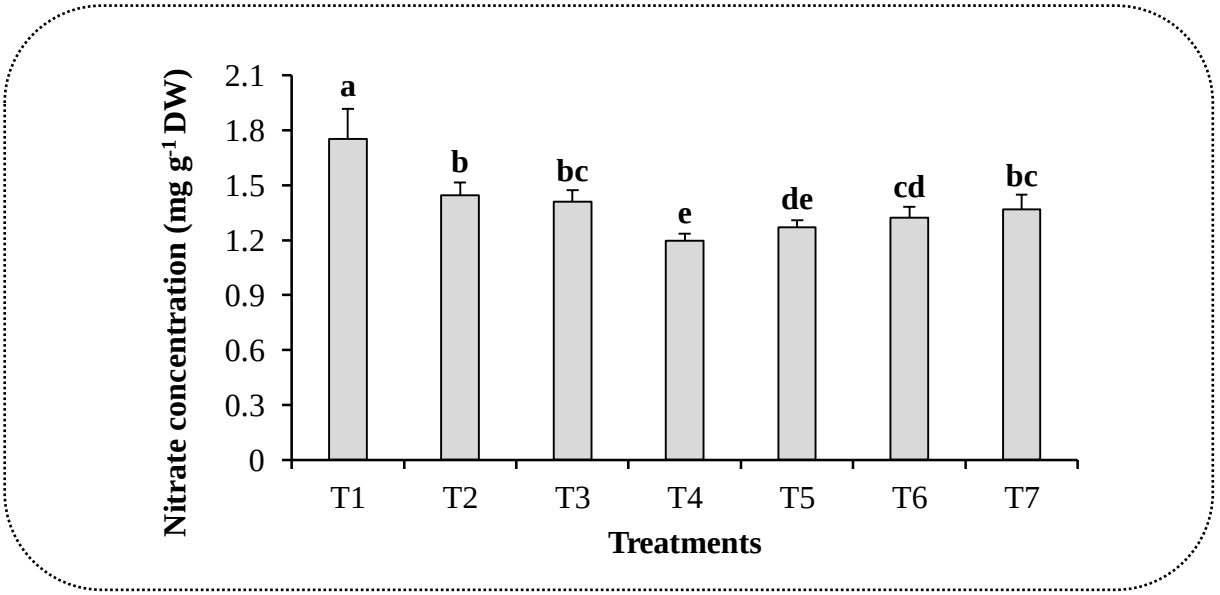
غلظت نیترات

با بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان نیترات گیاه مشخص شد بیشترین میزان نیترات (۱/۷۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مربوط به تیمار شاهد بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت. از طرف دیگر کمترین میزان نیترات (۱/۱۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مربوط به تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد (به جز با تیمار یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم) (شکل ۴). استانداردهای مختلفی برای غلظت مجاز نیترات در سبزی‌ها ارائه شده است، اتحادیه اروپا حداکثر غلظت مجاز نیترات برای اسفناج را در کشت‌های بهاره (آبکشت)، حدود ۴۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تازه گیاهی توصیه کرده است. این مقادیر برای کشتهای مزرعه‌ای حدود ۲۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم است (European Union, 2002).



شکل ۳. تأثیر تیمارهای مختلف تغذیه‌ای بر میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز گیاهان اسفناج. **T1** (شاهد)، **T2** (یک میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، **T3** (دو میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، **T4** (۴ میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، **T5** (یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم)، **T6** (دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم) و **T7** (چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم). حروف بالای هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها (در سطح احتمال پنج درصد) می‌باشد. خطوط عمودی بالای هر ستون بیانگر انحراف استاندارد می‌باشد.

Figure 3. Effect of different nutrient treatments on nitrate reductase activity of spinach plants. T1 (control), T2 (1 mg/L sodium selenite), T3 (2 mg/L sodium selenite), T4 (4 mg/L sodium selenite), T5 (1 mg/L Se NPs), T6 (2 mg/L Se NPs) and T7 (4 mg/L Se NPs). Different letters at the top of columns indicate significant differences (P ≤ 0.05) among treatments. Vertical bars indicate standard deviation



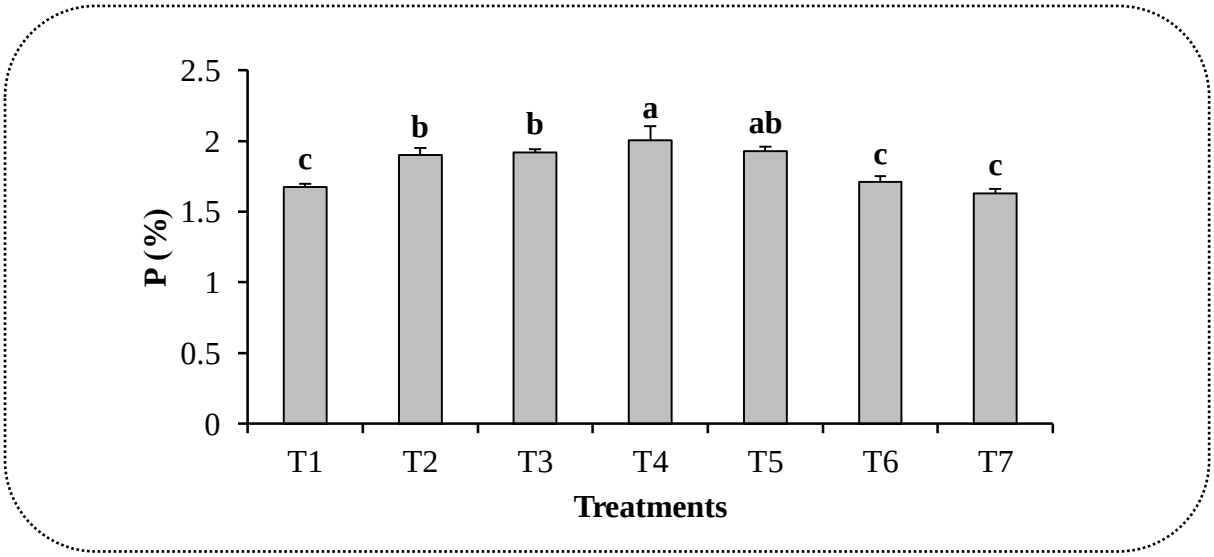
شکل ۴. تأثیر تیمارهای مختلف تغذیه‌ای بر غلظت نیترات گیاهان اسفناج. **T1** (شاهد)، **T2** (یک میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، **T3** (دو میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، **T4** (۴ میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، **T5** (یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم)، **T6** (دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم) و **T7** (چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم). حروف بالای هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها (در سطح احتمال پنج درصد) می‌باشد. خطوط عمودی بالای هر ستون بیانگر انحراف استاندارد می‌باشد.

Figure 4. Effect of different nutrient treatments on nitrate concentration of spinach plants. T1 (control), T2 (1 mg/L sodium selenite), T3 (2 mg/L sodium selenite), T4 (4 mg/L sodium selenite), T5 (1 mg/L Se NPs), T6 (2 mg/L Se NPs) and T7 (4 mg/L Se NPs). Different letters at the top of columns indicate significant differences (P ≤ 0.05) among treatments. Vertical bars indicate standard deviation.

مقادیر عناصر برگ

نتایج به‌دست آمده نشان داد که اثر تیمارهای مختلف تغذیه‌ای بر مقدار عناصر فسفر و پتاسیم در سطح احتمال پنج درصد و بر مقدار عناصر روی و سلنیوم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است.

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان فسفر گیاه نشان داد که کمترین میزان فسفر (۱/۶۳ درصد) در تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم به‌دست آمد که با تیمار شاهد و تیمار دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین بیشترین میزان فسفر (۲ درصد) در تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم به‌دست آمد که با سایر تیمارها به غیر از تیمار یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۵).

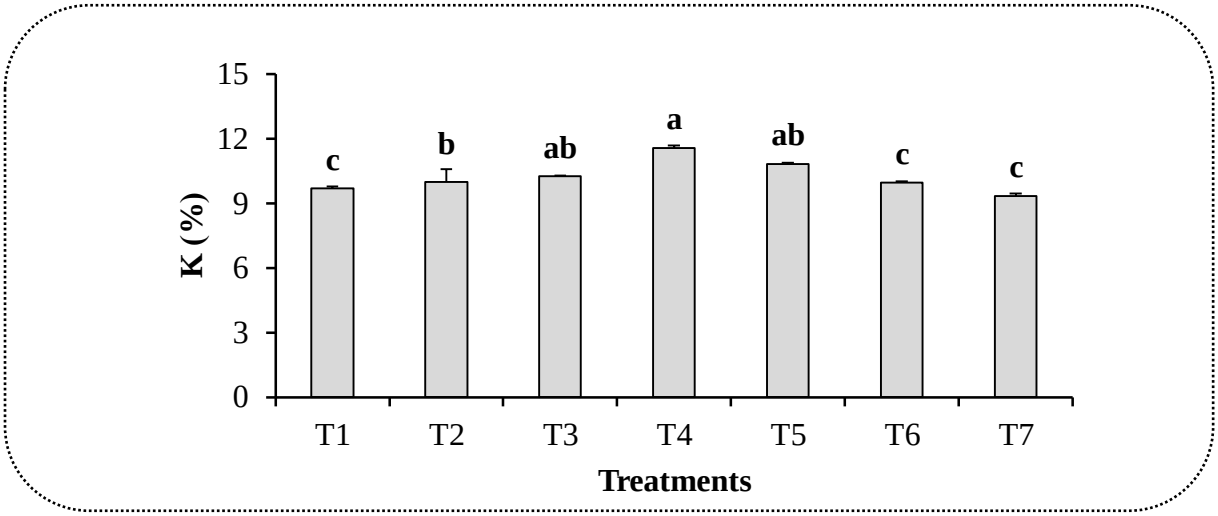


شکل ۵. تأثیر تیمارهای مختلف تغذیه‌ای بر مقادیر فسفر گیاهان اسفناج. T1 (شاهد)، T2 (یک میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T3 (دو میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T4 (۴ میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T5 (یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم)، T6 (دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم) و T7 (چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم). حروف بالای هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها (در سطح احتمال پنج درصد) می‌باشد. خطوط عمودی بالای هر ستون بیانگر انحراف استاندارد می‌باشد.

Figure 5. Effect of different nutrient treatments on P contents of spinach plants. T1 (control), T2 (1 mg/L sodium selenite), T3 (2 mg/L sodium selenite), T4 (4 mg/L sodium selenite), T5 (1 mg/L Se NPs), T6 (2 mg/L Se NPs) and T7 (4 mg/L Se NPs). Different letters at the top of columns indicate significant differences ($P \leq 0.05$) among treatments. Vertical bars indicate standard deviation.

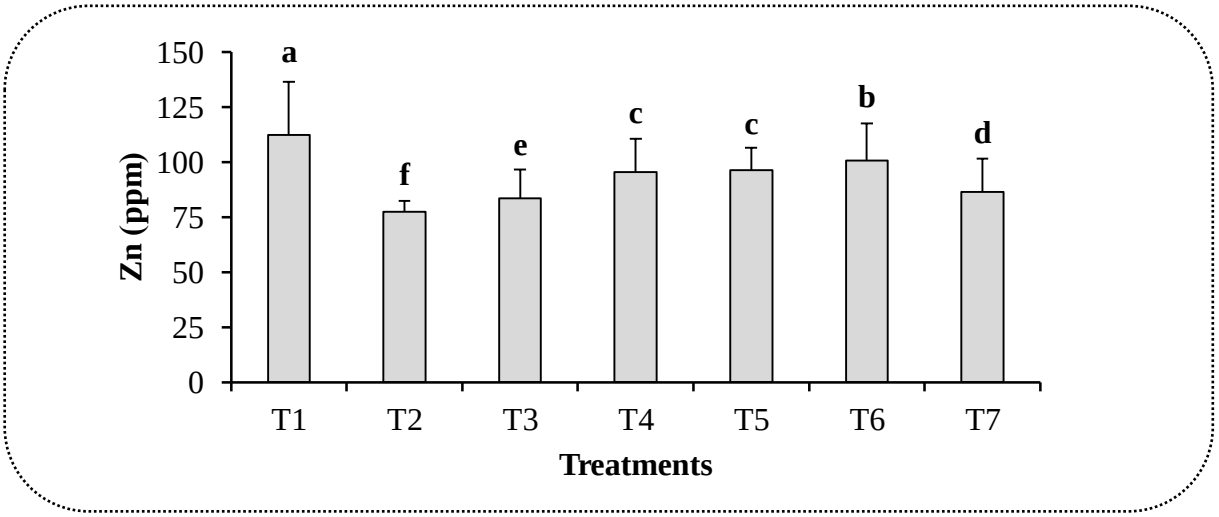
مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان عنصر پتاسیم در گیاه نشان داد که کمترین میزان پتاسیم (۹/۳۵ درصد) در تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم به‌دست آمد که با تیمار شاهد و تیمار دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم تفاوت معنی‌داری نداشت. بیشترین میزان پتاسیم (۱۱/۵۶ درصد) در تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم به‌دست آمد که البته اختلاف معنی‌داری با تیمارهای دو میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم و یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم نشان نداد ولی با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت (شکل ۶).

مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان عنصر روی در گیاه نشان داد تیمار شاهد دارای بیشترین مقدار روی (۱۱۲/۴ ppm) بود که اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها نشان داد. کمترین میزان عنصر روی (۷۷/۵ ppm) مربوط به تیمار یک میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (شکل ۷).



شکل ۶. تأثیر تیمارهای مختلف تغذیه‌ای بر مقادیر پتاسیم گیاهان اسفناج. T1 (شاهد)، T2 (یک میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T3 (دو میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T4 (۴ میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T5 (یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم)، T6 (دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم) و T7 (چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم). حروف بالای هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها (در سطح احتمال پنج درصد) می‌باشد. خطوط عمودی بالای هر ستون بیانگر انحراف استاندارد می‌باشد.

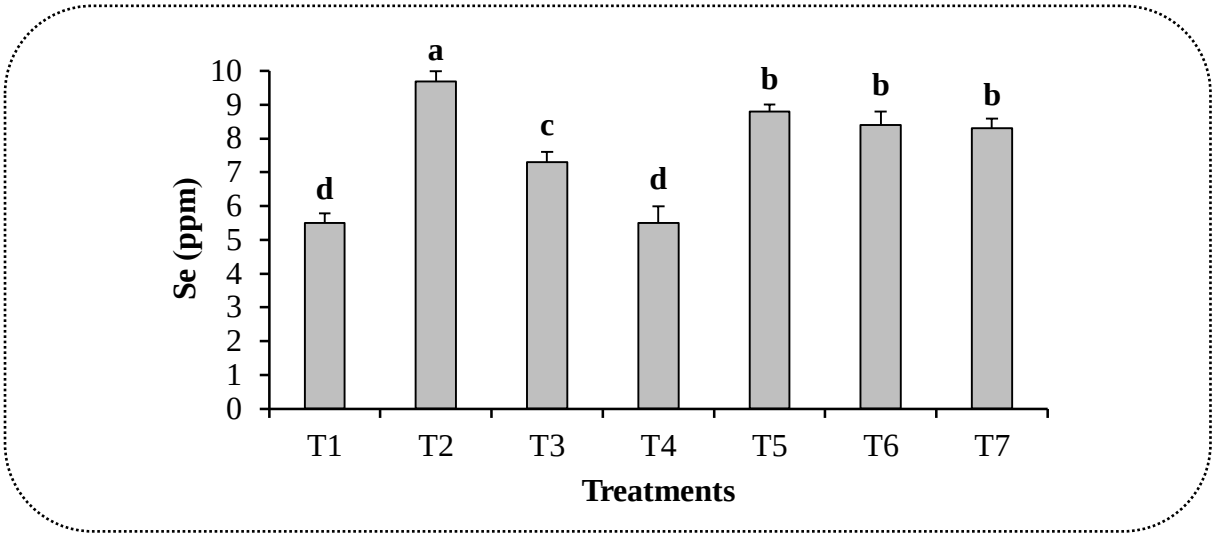
Figure 6. Effect of different nutrient treatments on K contents of spinach plants. T1 (control), T2 (1 mg/L sodium selenite), T3 (2 mg/L sodium selenite), T4 (4 mg/L sodium selenite), T5 (1 mg/L Se NPs), T6 (2 mg/L Se NPs) and T7 (4 mg/L Se NPs). Different letters at the top of columns indicate significant differences (P ≤ 0.05) among treatments. Vertical bars indicate standard deviation.



شکل ۷. تأثیر تیمارهای مختلف تغذیه‌ای بر مقادیر روی گیاهان اسفناج. T1 (شاهد)، T2 (یک میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T3 (دو میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T4 (۴ میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T5 (یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم)، T6 (دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم) و T7 (چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم). حروف بالای هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها (در سطح احتمال پنج درصد) می‌باشد. خطوط عمودی بالای هر ستون بیانگر انحراف استاندارد می‌باشد.

Figure 7. Effect of different nutrient treatments on Zn contents of spinach plants. T1 (control), T2 (1 mg/L sodium selenite), T3 (2 mg/L sodium selenite), T4 (4 mg/L sodium selenite), T5 (1 mg/L Se NPs), T6 (2 mg/L Se NPs) and T7 (4 mg/L Se NPs). Different letters at the top of columns indicate significant differences (P ≤ 0.05) among treatments. Vertical bars indicate standard deviation.

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان عنصر سلنیوم گیاه اسفناج نشان داد بیشترین مقدار سلنیوم (۹/۷ ppm) مربوط به تیمار یک میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. کمترین میزان عنصر سلنیوم (۵/۵ppm) در تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم به‌دست آمد که با همه تیمارها به‌جزء تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد. تیمارهای نانوذرات سلنیوم اختلاف معنی‌داری باهم نداشتند (شکل ۸).



شکل ۸. تأثیر تیمارهای مختلف تغذیه‌ای بر مقادیر سلنیوم گیاهان اسفناج. T1 (شاهد)، T2 (یک میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T3 (دو میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T4 (۴ میلی‌گرم بر لیتر سلنیت سدیم)، T5 (یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم)، T6 (دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم) و T7 (چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم). حروف بالای هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها (در سطح احتمال پنج درصد) می‌باشد. خطوط عمودی بالای هر ستون بیانگر انحراف استاندارد می‌باشد.

Figure 8. Effect of different nutrient treatments on Se contents of spinach plants. T1 (control), T2 (1 mg/L sodium selenite), T3 (2 mg/L sodium selenite), T4 (4 mg/L sodium selenite), T5 (1 mg/L Se NPs), T6 (2 mg/L Se NPs) and T7 (4 mg/L Se NPs). Different letters at the top of columns indicate significant differences ($P \leq 0.05$) among treatments. Vertical bars indicate standard deviation.

بحث

ضرورت عنصر سلنیوم برای گیاهان هنوز اثبات نشده است، اما سلنیوم با افزایش مقاومت در برابر تنش‌های اکسیداتیو (Pilon-Smits et al., 2009)، برای بسیاری از گونه‌های گیاهی یک عنصر غذایی مفید محسوب می‌شود (Hartikainen, 2005). عنصر سلنیوم در غلظت‌های پایین اثر سمی بر گیاه ندارد ولی در سطوح بالا سمی است (Terry et al., 2000). نکته بسیار مهمی که در غنی‌سازی گیاهان با سلنیوم باید به آن توجه داشت این است که مرز بین سمیت و کمبود سلنیوم بسیار باریک بوده و بستگی زیادی به شکل شیمیایی سلنیوم دارد (Orero-Iserte et al., 2004). گیاهان به آسانی سلنیوم را جذب و تجمع می‌کنند و حیوانات و انسان‌ها می‌توانند از این گیاهان استفاده کرده و سلنیوم مورد نیاز خود را تأمین کنند (El Mehdawi et al., 2012). با توجه به گونه گیاهی و نوع رقم، میزان سمیت سلنیوم از ۶ تا ۱۰۰ پی‌پی‌ام متغیر گزارش شده است (Hasanuzzaman et al., 2020).

بهبود و افزایش پارامترهای مورفولوژیکی با کاربرد سلنیوم در گیاهان مختلف از جمله اسفناج (Saffaryazdi et al., 2012)، کاهو (Zhong-hua et al., 2020) و همچنین با کاربرد سلنیوم به صورت نانوذرات سبز در گیاهان کاهو (Mohammadi, 2020) و شاهی (Khosravi, 2020) گزارش شده است که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق (جدول ۱) همخوانی دارد. با این وجود، بر خلاف نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، Ferrarese et al. (2012) گزارش دادند که عملکرد اسفناج تحت تأثیر تیمار سلنیوم

قرار نمی‌گیرد و شرایط محیطی و فصل تأثیر بیشتری در عملکرد اسفناج دارد (Alberici et al., 2008). سلنیوم به‌عنوان یک عامل ضد پیری عمل کرده و از طریق حفظ ترکیبات و فعالیت‌های سلولی به بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاه کمک می‌کند (Hasanuzzaman et al., 2020).

یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در همه تیمارها نسبت به شاهد افزایش داشته است (جدول ۲). با این وجود، نانوذرات سبز سلنیوم در غلظت‌های بالاتر از دو میلی‌گرم بر لیتر تأثیر منفی بر مقدار کلروفیل داشت (جدول ۲). این نتایج با یافته‌های محققین دیگر در کاهو (Mohammadi, 2020) و در شاهی (Khosravi, 2020) مطابقت دارد. افزایش کلروفیل ممکن است به دلیل نقش سلنیوم در محافظت از آنزیم‌های کلروپلاست و افزایش بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی باشد (Saffaryazdi et al., 2012). کاهش مقدار کلروفیل در غلظت‌های بالای تیمارهای نانوذرات ممکن است به دلیل تأثیر و جذب بیشتر سلنیوم در حالت نانو ذارت در گیاه باشد که طبق گزارشات Padmaja et al. (1989) سلنیوم در غلظت‌های بالا آنزیم‌های بیوسنتز کننده کلروفیل را مهار کرده و و از این طریق تأثیر منفی بر کلروفیل می‌گذارد.

به‌طور کلی مشخص شده که سلنیوم فعالیت نیترات ردوکتاز را افزایش می‌دهد و منجر به کاهش سطح نیترات در گیاهان می‌شود (Pilon-Smits, 2015). این بدان معنی است که متابولیسم سلنیوم و نیتروژن به طور جدایی‌ناپذیری با یکدیگر مرتبط هستند (Rios et al., 2010; Pilon-Smits, 2015). افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاهان غنی شده با سلنیوم به عنوان مثال، سیب زمینی (Munshi and Mindy, 1992) و گندم (Hajiboland and Sadeghzade, 2014) و در نتیجه کاهش سطح نیترات به‌خوبی مشخص شده است. از طرف دیگر، سلنیوم با دخالت در جذب مولیبدن که کوفاکتور نیترات ردوکتاز است، می‌تواند متابولیسم نیتروژن را تحت تأثیر قرار دهد (Harris et al., 2014) و در نتیجه باعث کاهش نیترات شود (Schiavon et al., 2017). در این پژوهش نیز تیمارهای سلنیوم و نانوذرات سبز سلنیوم باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نسبت به شاهد شدند، با این حال، با افزایش غلظت نانوذرات سبز سلنیوم، میزان فعالیت این آنزیم نیز روند کاهشی نشان داد (شکل ۳) که با یافته‌های Rioz et al. (2010) و Mohammadi (2020) و Khosravi (2020) مطابقت دارد.

در مطالعه حاضر، کاربرد تیمارهای سلنیوم و نانوذرات سبز سلنیوم باعث کاهش میزان نیترات در گیاهان نسبت به شاهد شد (شکل ۴) که با یافته‌های Mohammadi (2020) در کاهو و Khosravi (2020) در گیاه شاهی مطابقت دارد. دلیل کاهش نیترات می‌تواند افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و در نتیجه تبدیل نیترات به آمینو اسیدها و ترکیبات پروتئینی باشد. از طرف دیگر، نتایج این پژوهش با یافته‌های Golubkina et al. (2012) که بر روی سه نوع پیاز انجام شد، مطابقت نداشت. آنها گزارش کردند که بر خلاف سلنات و سلنیت، نانوذرات سلنیوم می‌تواند تجمع نیترات در گیاه را افزایش دهد و شدت چنین روندی بستگی به گونه پیاز مورد مطالعه دارد. همچنین نتایج این تحقیق با نتایج خادمی و همکاران (۱۳۹۳) مطابقت ندارد. آن‌ها گزارش کردند که در کلم تکمه‌ای، سلنیوم به طور کلی باعث افزایش میزان نیترات در برگ‌های جوان و پیر در مقایسه با شاهد می‌شود.

اثر متقابل بین سلنیوم و سایر عناصر بستگی به مقدار آن‌ها دارد و ممکن است تأثیر بین آن‌ها افزایشی یا کاهشی باشد. در آزمایش حاضر، میزان فسفر در تمامی تیمارهای سلنیوم نسبت به شاهد افزایش داشت ولی تیمارهای نانوذرات سلنیوم نسبت به تیمارهای سلنیوم روند کاهشی را نشان دادند (شکل ۵). در اسفناج (Moteshare zadeh et al., 2020) و کاهو (Mohammadi, 2020) نیز افزایش مقدار فسفر با کاربرد سلنیوم نشان داده شد. در نتایج Mohammadi (2020) غلظت‌های بیش از دو میلی‌گرم بر

لیتر نانوذرات باعث کاهش میزان فسفر شده بود که مطابق با نتایج این تحقیق است. در حالی‌که در گیاه شاهی (Khosravi, 2020) کاربرد تیمارهای سلنیوم و نانوذرات سلنیوم باعث کاهش معنی‌دار مقدار فسفر گیاه نسبت به شاهد شد که مغایر با نتایج به‌دست آمده در این مطالعه است. برهمکنش‌های بین فسفر و سلنیوم به نوع کود سلنیوم بستگی دارد (Mohammadi, 2020).

آنالیز انجام شده بر روی عنصر پتاسیم در این پژوهش نشان داد، میزان این عنصر در تیمارهای سلنیومی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است، در حالی‌که تأثیر تیمارهای نانوذرات سلنیوم در مقدار پتاسیم گیاه کمتر بوده و تنها غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز سلنیوم افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشته است (شکل ۶). این نتایج با یافته‌های سایر محققین در اسفناج (Moteshare zadeh et al., 2020) و کاهو (Mohammadi, 2020) مطابقت دارد. از طرف دیگر، Saffaryazdi و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند سلنیوم تأثیر معنی‌داری بر مقدار پتاسیم گیاه اسفناج ندارد و حتی غلظت‌های بالای سلنیوم باعث کاهش مقدار پتاسیم می‌شود که با نتایج این تحقیق همخوانی ندارد.

در این تحقیق، بالاترین مقدار عنصر روی در تیمار شاهد مشاهده شد، به طوری‌که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد (شکل ۷) که با یافته‌های Moteshare zadeh et al. (۲۰۲۰) در اسفناج، Mohammadi (2020) در کاهو و Khosravi (2020) در شاهی همخوانی ندارد. با این حال، در نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، با افزایش غلظت در تیمارهای سلنیت سدیم، میزان عنصر روی روند افزایشی معنی‌داری داشت، ولی در تیمارهای نانوذرات سلنیوم، بیشترین مقدار عنصر روی در غلظت دو میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلینوم مشاهده شد و در تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سلنیوم به صورت معنی‌داری کاهش پیدا کرد (شکل ۷) که می‌تواند ناشی از تأثیر منفی مقادیر بیشتر نانوذرات باشد. به‌طور کلی، کاربرد خارجی سلنیوم باعث تغییر در جذب، انتقال و تجمع عناصر غذایی معدنی در گیاهان می‌شود (Pilon-Smits et al., 2009).

در این پژوهش، به طور کلی با کاربرد تیمارهای سلنیوم، میزان سلنیوم گیاهان نسبت به شاهد افزایش داشته است، اما با افزایش غلظت سلنیوم و نانوذرات سبز سلنیوم، میزان سلنیوم گیاه روند کاهشی نشان داد (شکل ۸) که مطابق با یافته‌های Mohammadi (2020) در کاهو می‌باشد. از طرف دیگر در اسفناج (Saffaryazdi et al., 2012; Moteshare zadeh et al., 2020) و شاهی (Khosravi, 2020) مشخص شده که مقدار سلنیوم گیاه با افزایش غلظت مصرف سلنیوم و نانوذرات سلنیوم افزایش می‌یابد که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مغایرت دارد. جذب و تجمع سلنیوم در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است و تحت تأثیر غلظت سلنیوم خاک، خصوصیات خاک و اشکال شیمیایی سلنیوم می‌باشد (Wu et al., 2020). اسفناج جزو سبزی‌هایی است که مقادیر زیادی سلنیوم انباشت می‌کند (Saffaryazdi et al., 2012). یکی از سازوکارهای گیاهان انباشت کننده سلنیوم جهت جلوگیری از بروز علائم سمیت سلنیوم، انتقال سلنیوم اضافی به بخش‌های زیر زمینی گیاه و تبدیل آن به سلنیوم آلی است (Hasanuzzaman et al., 2020). در این آزمایش نیز یکی از دلایل کمتر بودن غلظت سلنیوم در برگ گیاهان تیمار شده با نانوذرات سلنیوم و غلظت‌های بالاتر سلنیوم می‌تواند به‌همین دلیل باشد.

فعل و انفعالات بین جذب سلنیوم و سایر عناصر در بسیاری از گیاهان مورد مطالعه قرار گرفته است. پاسخ عناصر مختلف به تیمار سلنیوم هنوز مبهم است. سلنیوم انتقال یا جذب سایر عناصر غذایی معدنی را تغییر می‌دهد. سلنیوم می‌تواند جذب فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، گوگرد، آهن، منگنز، مس، روی و مولیبدن را در گیاهان بهبود بخشد. با این حال، نشان داده شد که جذب سلنیوم می‌تواند غلظت عناصر دیگر را کاهش دهد. مکانیسم تعامل بین جذب سلنیوم و سایر عناصر معدنی خیلی واضح

نیست و احتمالاً به غلظت سلنیوم و شرایط خـاک بسـتگی دارد (Mohammadi, 2020).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که محلول پاشی سـلنیوم بـه صورت سلنیت سدیم و نانوذرات سلنیوم بر اکثـر صـفات اندازه گیری شده گیاه اسفناج از جمله پارامترهای رویشی، مقدار کلروفیل، فعالیت آنـزیم نیتـرات ردوکتـاز و غلظـت سلنیوم تأثیر مثبت و معنی داری داشت، در حالی که باعث کاهش غلظت نیترات در برگ‌های اسفناج شد.

منابع

Alberici, A., Quattrini, E., Penati, M., Martinetti, L., Marino Gallina, P., and Ferrante, A., 2008. Effect of the reduction of nutrient solution concentration on leafy vegetables quality grown in floating system. ActaHorticulturae. 801:1167–1176.

Ani, M., 2008. Selenium Bioavailability and Its Biological Significance, 5th Iranian Nutrition Congress, Tehran, Iranian Nutrition Association.

Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *beta vulgaris*. Plant Physiology. 24(1): 1–15.

Cataldo, D.A., Schrader, L.E. and Youngs, V.L., 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 6: 71–80.

Derosa, M., Monreal, C., Schnitzer, M., Walsh, R.P., and Sultan, Y., 2010. Nanotechnology in fertilizers. Nature Nanotech Nature Nanotechnology. 5(2), 91.

EFSA. 2008. Nitrate in vegetables: scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. European Food Safety Authority Journal. 689: 1–79.

El Mehdawi, A.F., Cappa, J.J., Fakra, S.C., Self, J., Pilon-Smits, E.A.H., 2012. Interactions of selenium hyperaccumulators and nonaccumulators during cocultivation on seleniferous or nonselenifer- ous soil – the importance of having good neighbors. New Phytol. 194: 264–277.

European Union. 2002. Commission Regulation (EC) No563/2002 of 2 April 2002 amending regulation (EC) No466/2001 setting maximum levels for certain contaminants infoodstuffs. Official Journal 77: 1-13.

Feng, R., Wei, C., and Tu, S., 2013. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. Environmental and Experimental Botany. 87: 58–68.

Ferrarese, M., Mahmoodi, M., Quattrini, E., Schiavi, M., and Ferrante, A., 2012. Biofortification of Spinach Plants Applyng Selenium in the Nutrient Solution of Floating System. Vegetable Crops Research Bulletin. 76: 127–136.

Gholami, M., Sajedi, N.A., and Gomarian, M., 2012. The effect of application of superabsorbent polymer, zinc and selenium compounds on yield and yield components of durum wheat. Iranian New agricultural findings. 7: 69–81.

Golubkina, N.A., Folmanis, G.E., and Tananaev, I.G., 2012. Comparative evaluation of selenium accumulation by *Allium* species after foliar application of selenium nanoparticles, sodium selenite and sodium selenate. Doklady Biological Sciences. 444: 176–179.

Hajiboland, R., and Sadeghzade, N., 2014. Effect of selenium on CO_2 and NO_3^- assimilation under low and adequate nitrogen supply in wheat (*Triticum aestivum* L.). Photosynthetica. 52: 501–510.

Harris, J., Schneberg, K.A., and Pilon-Smits, E.A.H., 2014. Sulfur-selenium-molybdenum interactions distinguish selenium hyperaccumulator Stanleya pinnata from non-hyperaccumulator *Brassica juncea* (Brassicaceae). Planta. 239: 479–491.

Hartikainen, H., 2005. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 18: 309–318.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.H.M.B., Raza, A., Hawrylak-Nowak, B., Matraszek-Gawron, R., Nahar, K., and Fujita. M., 2020. Selenium Toxicity in Plants and Environment: Biogeochemistry and Remediation Possibilities. Plants 9, no. 12: 1711.

Jaworski, E.G., 1971. Nitrate Reductase Assay in Intact Plant Tissues. Biochemical and Biophysical Research Communications. 43: 1274–1279.

Khademi Astaneh, R., Tabatabai, S., and Bolandnazar, S., 2017. Effect of selenium on yield and vegetative characteristics of button cabbage grown in hydroponics. Journal of Horticultural Science . 31: 167–179.

Khosravi, S., 2020. Investigation of the effect of sodium selenite and green selenium nanoparticles on reducing nitrate accumulation in watercress (*Lepidium sativum* L.). MSc. Thesis on Horticulture. Arak University. 95 pages.

Mohammadi, M., 2020. Investigation of the effect of sodium selenite and green selenium nanoparticles on nitrate accumulation in lettuce (*Lactuca sativa* L.). MSc. Thesis on Horticulture. Arak University. 110 pages.

Moteshare Zadeh, B., Ghorbani, S., and Alikhani, H.A., 2020. Spinach (*Spinacia oleraceae*) Nutritional Responses to Selenium Application. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 51: 2537-2550.

Munshi, C.B., and Mondy, N.I., 1992. Glycoalkaloid and nitrate content of potatoes as affected by method of selenium application. Biological Trace Elemental Research. 33: 121–127.

Orero-Iserte, L., Roig-Navarro, A.F., and Hernandez, F., 2004. Simultaneous determination of arsenic and selenium species in phosphoric acid extracts of sediment samples by HPLC-ICP-MS. Analytica Chimica Acta. 527: 97–104.

Padmaja, K., Prasad, D.D.K., and Prasad, A.R.K., 1989. Effects of selenium on chlorophyll biosynthesis in mung bean seedling. Phytochemistry. 28: 3321–3324.

Pilon-Smits E.A.H. 2015. Selenium in Plants. In Progress in Botany, *eds*. U. Lüttge, and W. Beyschlag, 93-107. Springer Press.

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.

Rios, J.J., Blasco, B., Rosales, M.A., Sanchez-Rodriguez, E., Leyva, R., Cervilla, L.M., Romero, L., and Ruiz, J.M., 2010. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. Journal of the Science of Food and Agriculture. 90: 1914–1919.

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.

Schiavon, M., Lima, L.W., Jiang, Y., and Hawkesford, M.J., 2017. Effects of selenium on plant metabolism and implications for crops and consumers. In Selenium in plants, *eds*. E. A. Pilon-Smits, H. Winkel, L. H. E. and Z. Q. Lin, Springer International Publishing AG.

Terry, N., Zayed, A.M., De Souzam M.P., and Tarun, A.S., 2000. Selenium in higher plants. Annuals Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 51: 401–432.

Thorup Krisensen, K., 2001. Root growth and Soil nitrogen depletion by onion, lettuce, early cabbage and carrot. Acta Horticulture. 563: 201–206.

Wu, M., Cong, X., Li, M., Rao, S., Liu, Y., Guo, J., Zhu, S., Chen, S., Xu, F., Cheng, S., Liu, L., Yu, T., 2020. Effects of different exogenous selenium on Se accumulation, nutrition quality, elements uptake, and antioxidant response in the hyperaccumulation plant *Cardamine violifolia*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 204: 111045.

Zhong-hua, B., Bo, L., Rui-feng, C., Yu, W., Tao, L., and Qi-chang, Y., 2020. Selenium distribution and nitrate metabolism in hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.): Effects of selenium forms and light spectra. Journal of Integrative Agriculture. 19: 133–144.