

تأثیر غلظت و نوع کاربرد سلنیوم بر کمیت و کیفیت اسانس به لیمو

*(Lippia citriodora L.)*محبوبه جلالی^{۱*}، حسن عبداللهی مقدم^۱ و فاطمه سهرابی^۲^۱ ایران، خرم‌آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و مهندسی خاک^۲ ایران، کرج، دانشگاه پیام نور واحد کرج، بیوتکنولوژی کشاورزی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۷



چکیده

سلنیوم عنصری سودمند با خواص آنتی‌اکسیدانی است که باعث افزایش رشد گیاهان می‌شود. بمنظور بررسی اثر سلنیوم بر برخی صفات فیزیولوژیکی و کمیت و کیفیت اسانس برگ‌های به لیمو، آزمایشی در محیط کشت هیدروپونیک با ۵ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. در این مطالعه، سلنیوم به صورت سلنات سدیم و به دو شکل محلول‌پاشی برگی و استفاده در محلول غذایی با غلظت‌های ۰، ۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن سلنیوم به طور معنی‌داری باعث افزایش وزن خشک برگ، سطح برگ و میزان کلروفیل کل در هر دو روش کاربرد نسبت به شاهد شد. کاربرد ۵ میکرومولار سلنیوم در محلول غذایی و ۱۰ میکرومولار به صورت محلول‌پاشی برگی باعث افزایش فنل کل و افزایش مهار رادیکال آزاد DPPH گیاه شد. کمترین میزان مالون دی‌آلدئید در روش محلول‌پاشی (۱۳/۴) و افزودن به محلول غذایی (۱۰/۷) بترتیب در تیمارهای ۱۰ و ۵ میکرومولار مشاهده شد. همچنین این عنصر در سطوح تیمار ۵ میکرومولار محلول غذایی و ۱۰ میکرومولار محلول‌پاشی برگی بترتیب باعث افزایش ۹۴/۹۲ و ۱۰۰ درصدی میزان اسانس نسبت به تیمار شاهد شد. بررسی اجزای اساس نشان داد که بیشترین میزان مونوترپن‌های اکسیژن دار به خصوص سیترال (۴۸/۳)، در اسانس نمونه‌های محلول‌پاشی شده با غلظت ۱۰ میکرومولار سلنیوم وجود داشت. در واقع نتایج نشان داد که عنصر سلنیوم در غلظت‌های کم (۵-۱۰ میکرومولار) اثرات بهبوددهنده‌ای بر شاخص‌های رشدی و کمیت و کیفیت اسانس به لیمو دارد.

واژه های کلیدی: اسانس، به لیمو، ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سلنیوم

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۳۲۴۸۷۶۲، پست الکترونیکی: jalali.mah@lu.ac.ir

مقدمه

موسیلاژ، تانن و فنل‌های اسیدی می‌باشد. اسانس به‌لیمو دارای ترکیبات مختلفی است که مهمترین آن‌ها ژرانیال، نرال، لیمونن، ۱۸- سینئول است (۱۱). ویژگی‌های کمی و کیفی برگ‌های به لیمو بستگی به شرایط محیطی و تغذیه ای گیاه دارد. تغذیه گیاهان از جمله گیاهان دارویی، یکی از مهمترین فاکتورهای تأثیر گذار در متابولیسم و میزان متابولیت‌های ثانویه است.

از سال ۱۹۵۷، سلنیوم به خاطر حضور در سیستم‌های

گیاه دارویی به‌لیمو (*Lippia citriodora L.*) درختچه‌ای است با برگ‌های کشیده، باریک و به رنگ سبز روشن که به‌دلیل خواص دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. برگ به-عنوان اندام مورد استفاده دارای خواص متعددی از جمله ضد تشنج، ضد انقباض، آرام بخش، کاهش دهنده استرس است. اسانس این گیاه نیز دارای اثرات ضد میکروبی، ضد تب و مهار اثر تحریک‌کنندگی هیستامین است (۴۲). برگ به‌لیمو علاوه بر اسانس، حاوی آلکالوئید، فلاونوئید،

های گیاهی را در جهت جذب و تحلیل سلنیوم مصرف می‌کنند، در نتیجه تیول کافی برای جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در دسترس گیاه نخواهد بود. در این شرایط گونه‌های فعال اکسیژن باعث تخریب غشاها می‌شود (۲۹).

به اعتقاد Paciolla همکاران (۲۰۱۱)، شکل سلنیوم، نحوه کاربرد و نوع گونه گیاهی در بروز علائم سمیت حاصل از سلنیوم بسیار تاثیرگذار می‌باشند (۳۱). مطالعات نشان داده که کاربرد سلنیوم به صورت محلولپاشی، موثرتر از کاربرد خاکی آن است (۴). همچنین مطالعات نشان دادند که کاربرد سلنیوم باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود که خود این موضوع باعث افزایش کمی و کیفی گوجه فرنگی، بروکلی و کاهو شده است (۱۶، ۵، ۳۹).

سلنیوم یک ماده غذایی مهم در تولید اسانس گیاهان دارویی محسوب می‌شود. سلنیوم علاوه بر تاثیر بر میزان اسانس گیاهان دارویی، بر درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس نیز تاثیرگذار است (۱۲). مطالعات نشان داده که غلظت ۸-۲ میلی گرم بر لیتر باعث افزایش معنی دار در میزان اسانس ریحان شد (۱۲). Khalid و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کرد که بیشترین میزان ترکیبات اصلی گیاه پونه در تیمار ۸ میلی گرم بر لیتر سلنیوم مشاهده شد که این میزان باعث تولید بیشترین میزان اسانس و مونوترپن‌ها (۱۹).

با توجه به روند روز افزون استفاده از گیاهان دارویی و از آنجا که افزایش کمیت و کیفیت اسانس این گیاهان، یکی از مباحث اصلی پیش روی موجود در بحث گیاهان دارویی است، لذا مطالعه عوامل موثر بر بهبود کیفیت و کمیت این گیاهان ضروری است. به همین جهت، این مطالعه با هدف بررسی تاثیر سلنیوم بر عملکرد و محتوی اسانس گیاه دارویی به لیمو به دو روش محلولپاشی برگ‌ها و استفاده در محلول غذایی انجام شد.

مواد و روشها

به منظور بررسی تاثیر غلظت و نوع کاربرد سلنیوم بر

دفاعی آنتی‌اکسیدانی مثل آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و تعادل هورمونی به عنوان یک ماده اساسی برای سلامتی انسان و حیوان شناخته شد که می‌تواند نقش یک آنتی‌اکسیدانت را در گیاهان بازی کند (۴۱). سلنیوم به شکل سلنات یا سلنیت، جذب گیاهان شده و به سلنومتیونین و یا سلنوسیستین تبدیل می‌شود. سلنیوم نمی‌تواند به طور مستقیم به غذا افزوده شود، لذا غلظت سلنیوم در گیاهان می‌تواند به روش‌های مختلفی از جمله اضافه کردن سلنیوم به خاک، خیساندن بذور در محلول سلنیوم قبل از کشت، کشت‌های هیدروپونیک و آبروپونیک در محلول غذایی حاوی ترکیبات سلنیوم و کاربرد محلولپاشی گیاهان با محلول سلنیوم، افزایش داد (۲۰).

اگرچه سلنیوم از جمله عناصر ضروری برای گیاهان به شمار نمی‌آید، اما تحقیقات نشان داده که غلظت‌های پایین این عنصر می‌تواند اثرات مفیدی بر رشد و عملکرد و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و جذب سایر یون‌ها توسط گیاه داشته باشد (۴۴). در واقع تحقیقات نشان داده که سلنیوم در سیستم‌های زیستی در سه سطح عمل می‌کند؛ در غلظت‌های کم برای رشد و نمو طبیعی گیاه لازم است، در غلظت‌های متوسط در جهت حفظ عملکرد هومئوستازیک مورد نیاز می‌باشد و سرانجام در غلظت‌های زیاد اثرات سمی دارد. تاثیر سلنیوم در غلظت‌های کم در کاهش تنش‌های محیطی شامل تنش فلزات سنگین (۹)، تنش شوری و خشکی (۱۴، ۳۵) اثبات شده است. ولی کاربرد سلنیوم در غلظت‌های بیشتر باعث تحریک تنش اکسیداتیو و تجزیه غشاها شده و کاهش رشد می‌شود (۴۴).

سلنیوم شباهت زیادی به گوگرد دارد و از این رو در واکنش‌های مختلف و در غلظت‌های بالا، جایگزین گوگرد شده و به همین دلیل است که علامت سمیت سلنیوم شباهت زیادی به سمیت گوگرد دارد. یکی دیگر از سازوکارهای سمیت سلنیوم در گیاهان این است که غلظت‌های بالای سلنیوم، بیشتر گروه تیول احیاء موجود در سلول-

روز یک‌بار کنترل شد و با توجه به شدت نور، محلول غذایی حداکثر تا یک هفته تعویض کامل می‌شد. برای تهیه محلول غذایی از پمپ‌های هوا استفاده گردید. قابل ذکر است میزان کلروفیل طی سه مرحله با فواصل زمانی ۱۰ روزه با استفاده از دستگاه کلروفیل متر (مدل SPAD-502، شرکت Konica Minolta، ژاپن) اندازه‌گیری و عدد حاصل از میانگین سه تکرار در هر تیمار به عنوان عدد نهایی ثبت شد.

برداشت و تهیه نمونه: حدود پنج هفته پس از اعمال تیمارها، گیاهان برداشت شدند. تعدادی از برگ‌های گیاهان در هر تیمار در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد خشک شدند و برای تعیین وزن خشک، میزان اسانس و اندازه‌گیری غلظت سلنیوم استفاده شد. قسمت دیگر برگ‌های گیاه، جهت اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

سنجش سلنیوم کل: برای سنجش سلنیوم کل، ابتدا پنج گرم از نمونه‌های گیاهی خشک شده در ۲۵ میلی لیتر مخلوط اسید نیتریک و اسید پرکلریک غلیظ (با نسبت حجمی ۴:۱) و در دمای ۱۳۰ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت هضم شدند. پس از خنک شدن، ۵ میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۱۵ درجه سانتیگراد حرارت داده شد. سپس عصاره‌ها به لوله‌های ۵۰ میلی‌لیتری انتقال و با آب مقطر دوبار تقطیر به حجم رسانده شدند و محلول‌های بدست آمده برای تعیین سلنیوم کل با استفاده از اسپکترومتر نشر اتمی ICP OES (spectrometer, Integra XL2, GBC Australia) مورد استفاده قرار گرفتند (۲۳).

سنجش میزان آنتوسیانین کل، فلاونوئیدها و فنل کل: برای سنجش آنتوسیانین، ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه منجمد در ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی خوب سائیده و سپس عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. محلول رویی پس از صاف شدن به مدت یک شب در

عملکرد، میزان ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کمیت و کیفیت اسانس گیاه به لیمو، آزمایشی با ۳ تکرار و ۵ تیمار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان و در محیط کشت هیدروپونیک انجام شد. در این مطالعه از سلنات سدیم (Na_2SeO_4) به عنوان منبع سلنیوم استفاده شد. چهار سطح سلنیوم (۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار) مورد مطالعه قرار گرفت. تیمار شاهد، شامل گیاهانی بود که در محلول بدون سلنیوم رشد کردند. قابل ذکر است که در این مطالعه، سلنیوم به دو صورت محلول پاشی برگ و اضافه کردن به محلول غذایی مورد استفاده قرار گرفت.

ابتدا قلمه‌های نیمه خشبی این گیاه در بستر پرلیت در شرایط گلخانه ریشه‌دار شدند. سپس نشاهای هم‌اندازه به گلدان‌های دو لیتری که با محلول نیم‌هنگام پر شده بود انتقال داده شدند. در هر گلدان ۴ نشا کاشته شد. پس از یک دوره سازگاری ۱۰ روزه، گیاهان آماده انتقال به مخزن-های اصلی و اعمال تیمارها شدند. اعمال تیمارها ۳۵ روز به طول انجامید. قابل ذکر است که محلول‌پاشی برگ هر هفته انجام شد. غلظت عناصر غذایی در محلول به شرح زیر بود: نیترات (۶/۳ میلی مولار)، آمونیوم (۰/۷ میلی-مولار)، فسفر (H_2PO_4) (۱ میلی‌مولار)، سولفات (۱ میلی-مولار)، پتاسیم (۲/۷ میلی‌مولار)، کلسیم (۲/۵ میلی‌مولار)، منیزیم (۱ میلی‌مولار)، آهن (۵۰ میکرومولار)، بور (۳۰ میکرومولار)، منگنز (۴ میکرومولار)، مس (۱ میکرومولار)، مولیبدن (۱ میکرومولار) و روی (۲ میکرومولار)

دما و رطوبت گلخانه در طول مدت آزمایش 26 ± 4 درجه سلسیوس و ۷۰ درصد رطوبت نسبی حفظ گردید. pH محلول غذایی با افزودن ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر در لیتر اسید فسفریک و ۰/۰۶۲ میلی‌لیتر در لیتر اسید نیتریک، در محدوده ۵/۷ تنظیم شد. هدایت الکتریکی (EC) نیز در محدوده ۲/۳ دسی‌زیمنس بر متر تنظیم شد. هدایت الکتریکی (EC) و pH محلول‌های غذایی هر دو

برابر بلانک حاوی متانول خوانده شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از معادله $I(\%) = 100 \times (A_0 - A_s) / A_0$ محاسبه شد. که A_0 جذب کنترل (حاوی همه اجزا و اکشنگر بدون نمونه) و A_s جذب نمونه بود. سپس نتایج بصورت IC50 (مقداری از آنتی‌اکسیدان که لازم است تا غلظت DPPH به ۵۰ درصد مقدار اولیه برسد) بیان گردید (۴۵).

سنجش مالون دی‌آلدئید: برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها که با سنجش میزان مالون دی‌آلدئید ارزیابی می‌شود، ابتدا، عصاره گیاهی در محلول ۰/۱ درصد (w/v) تری کلرو استیک اسید (TCA) استخراج شده و به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتریفوژ گردید. نسبت ۱ به ۴ از روشناور با محلول ۲۰ درصد از TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید در لوله آزمایش با هم مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس لوله‌ها به سرعت در یخ سرد شده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتریفوژ شدند و جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (۴۶).

تعیین میزان اسانس: بمنظور استخراج اسانس، ۱۰۰ گرم از برگ خشک شده از هر یک از تیمارها را به طور جداگانه وزن نموده و پس از اینکه بلافاصله قبل از اسانس‌گیری با دست کمی پودر شدند، ۸۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به داخل کلونجر افزوده شد و به مدت ۳ ساعت بعد از به جوش آمدن آب حرارت داده شد. پس از این مدت، اسانس در محل جمع‌آوری اسانس که مدرج می‌باشد جمع شد.

روش استخراج ماده مؤثره: بمنظور جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. برای آماده‌سازی نمونه‌ها، نمونه‌ها از قبل توسط سولفات سدیم رطوبت‌گیری شدند. سپس یک میکرولیتر نمونه اسانس در دو میلی‌لیتر دی‌کلرومتان رقیق گردید. ابتدا نمونه‌های آماده‌شده به دستگاه کروماتوگرافی

تاریکی قرار داده شد و سپس جذب آن در طول موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Mapada uv-1300) خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین، از ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ Cm-1M-1 استفاده شد (۴۷).

مقادیر فلاونوئیدها در نمونه عصاره‌های گیاهی به روش پورمراد و همکاران (۳۳) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد را با ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم یک مولار مخلوط کرده و سپس به آنها ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر اضافه شد. در مرحله بعد ۰/۵ میلی لیتر از محلول هر عصاره که با ۱/۵ میلی لیتر اتانول مخلوط گردیده بود، به مخلوط کلرید آلومینیوم، استات پتاسیم و آب اضافه گردید. مخلوط نهایی حاصل برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل (Mapada uv-1300) اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری میزان فنل به یک میلی لیتر از عصاره متانولی، یک میلی لیتر اسید هیدروکلریک (۶ مولار) و ۵ میلی لیتر متانول ۷۵ درصد افزوده و در لوله‌های درب دار در بن ماری ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. سپس در دمای اتاق سرد و پس از آن توسط آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. یک میلی لیتر از محلول اخیر در لوله‌ای مجزا با ۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتیو (۱۰:۱) و ۱۵ میلی لیتر Na_2CO_3 (۷ گرم درصد) مخلوط نموده و در پایان به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده و جذب آن در ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۴۷).

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد ((DPPH)diphenyl-1-picrylhydrazyl): ابتدا ۲/۵ میلی لیتر از محلول متانولی نمونه مورد نظر در یک لوله‌ی آزمایش ریخته شد. سپس به آن یک میلی لیتر محلول متانولی DPPH اضافه شد. محتویات هر لوله با ورتکس مخلوط و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، جذب آنها در طول موج ۵۱۸ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر UV/Vis مدل PhotonixAr 2015 در

تزیق شد و مناسب‌ترین برنامه‌ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس به دست آمد. سپس اسانس‌ها به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی نیز تزیق شد و طیف جرمی ترکیب‌ها به دست آمد. شناسایی ترکیب‌های اسانس با استفاده از اندیس بازداری کوتاس و بررسی طیف‌های جرمی و مقایسه با طیف‌های جرمی پیشنهادی توسط کتابخانه‌های کامپیوتر دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی صورت گرفت (۳).

آنالیز آماری: داده‌ها پس از جمع‌آوری با استفاده از برنامه آماری SPSS و آزمون واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) (برای هر فاکتور) و آنالیز دو طرفه (two-way ANOVA) (برهمکنش بین فاکتورها) (نوع کاربرد و غلظت

نتایج

نتایج جدول آنالیز واریانس نشان داد که اثر غلظت، نوع کاربرد و اثر برهمکنش غلظت در نوع کاربرد بر غلظت سلنیوم در برگ‌ها معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس دو طرفه برای غلظت سلنیوم برگ‌ها، وزن خشک برگ، سطح برگ، شاخص کلروفیل، میزان آنتوسیانین و فلاونوئید برگ، میزان فنل کل، درصد مهار رادیکال آزاد، میزما مالون دی آلدئید و درصد اسانس تحت تیمار سلنیوم

تاثیرات اصلی	فاکتورها	غلظت سلنیوم در برگ‌ها	وزن خشک برگ	سطح برگ	شاخص کلروفیل	آنتوسیانین برگ
محلول غذایی	۷/۹۷۸a	۴/۴۷۸a	۵/۶۳۴a	۱۴/۶۶۸b	۳۰/۶۲b	
نوع کاربرد	۵/۱۴۸	۴/۴۳a	۵/۲۶۲b	۱۵/۷۲۴a	a۳۵/۴۲	
غلظت سلنیوم	۰	۳/۴۰cd	۳/۶۲c	۱۰/۸۶c	۲۹/۶c	
	۲	۳/۷۲۵c	۴/۹۹۵b	۱۴/۴۲b	۳۱/۱۵b	
	۵	۵/۳۷۵a	۷a	۱۷/۲۵۵a	۳۴/۸۵ab	
	۱۰	۵/۵۹۵a	۶/۸۹۵a	۱۸/۱۹۵a	۳۷/۹۵a	
	۱۵	۴/۱۷۵b	۴/۷۳b	۱۵/۰۵b	۳۱/۵۵b	
نوع کاربرد	*	ns	*	*	*	
غلظت سلنیوم	**	*	*	*	*	
معنی داری	نوع کاربرد×غلظت	ns	*	*	*	
تاثیرات اصلی	فاکتورها	فلاونوئید برگ	میزان فنل	درصد مهار رادیکال آزاد DPPH	میزان مالون دی آلدئید	درصد اسانس
محلول غذایی	۴/۳۲a	۲۰/۶۴۴a	۶۱/۸۴a	۱۸/۱۶a	۱/۰۶۲a	
نوع کاربرد	۴/۲۵a	۱۸/۹b	b۵۹/۱۸	۱۹/۰۲a	۱/۰۷۲a	
غلظت سلنیوم	۰	۱۴/۳c	۳۶/۷c	۱۹/۹b	۰/۶۹d	
	۲	۴/۱۱۵a	۱۸/۰۵b	۱۹/۸b	۱/۰۴b	
	۵	۴/۳۸a	۲۲/۹ab	۱۴/۴۵c	۱/۳۴۵a	
	۱۰	۴/۵۴۵a	۲۵/۴۵a	۱۳/۱c	۱/۳۰۵a	
	۱۵	۴/۲۹۵a	۱۸/۱۶۵b	۵۶/۶۵b	۰/۹۵۵c	
نوع کاربرد	Ns	*	*	*	Ns	
غلظت سلنیوم	Ns	*	*	*	*	
معنی داری	نوع کاربرد×غلظت	Ns	*	*	Ns	

داده‌ها از طریق ANOVA دو طرفه، مورد ارزیابی قرار گرفتند. فاکتورها: غلظت سلنیوم و نوع کاربرد آن. از آزمون توکی ($P \leq 0.05$) برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) نمی‌باشند. علامت * نشان‌دهنده معنی‌داری بین فاکتورها در مورد مطالعه است.

افزودن سلنیوم چه به محلول غذایی و چه به فرم محلول-پاشی برگ، وزن خشک برگ، سطح برگ و میزان کلروفیل را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد (جدول ۲). تیمار ۲ و ۱۵ میکرومولار در هر دو روش کاربرد، باعث افزایش جزئی در صفات ذکر شده گردید، ولی بیشینه این تاثیر در گیاهان تیمار شده با ۵ میکرومولار در محلول غذایی و ۱۰ میکرومولار در تیمار محلول‌پاشی برگ مشاهده شد. تیمار ۵ میکرومولار سلنیوم در محلول غذایی و ۱۰ میکرومولار محلول‌پاشی برگی بترتیب باعث افزایش ۶۸/۸۲ و ۷۲/۶۴ درصدی وزن خشک برگ نسبت به شاهد شدند (جدول ۲). بیشترین میزان سطح برگ در هر دو روش کاربرد، در تیمار ۵ و ۱۰ میکرومولار بدست آمد که تفاوت معنی‌داری بین این دو تیمار در هیچ یک از روش‌ها وجود نداشت. همچنین بیشینه تاثیر سلنیوم بر روی محتوای کلروفیل، در روش کاربرد سلنیوم در محلول غذایی در تیمار ۵ میکرومولار (۱۹/۰۵) و در محلول‌پاشی برگی در تیمار ۱۰ میکرومولار (۲۰/۲۵) مشاهده شد.

نتایج نشان داد که در تیمار شاهد که هیچ‌گونه سلنیومی استفاده نشد، غلظت کمی از سلنیوم (۰/۰۱۴ میکروگرم بر گرم) مشاهده شد (جدول ۲). با افزایش غلظت سلنیوم چه در محلول غذایی و چه به فرم محلول‌پاشی برگ، غلظت سلنیوم در برگ‌های گیاه، افزایش معنی‌داری پیدا کرد. تفاوت معنی‌داری در غلظت سلنیوم در برگ‌ها بین دو روش محلول‌پاشی برگ و محلول غذایی در غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار سلنیوم مشاهده شد (جدول ۲). اما به طور کلی غلظت سلنیوم در برگ‌ها در روش استفاده در محلول غذایی بیشتر بود و این افزایش نسبت به روش محلول‌پاشی معنی‌دار بود (جدول ۱).

نتایج آنالیز واریانس تنها نشان دهنده اثر معنی‌دار غلظت سلنیوم بر وزن خشک برگ بود و تفاوت معنی‌داری در نوع کاربرد و برهمکنش غلظت در نوع کاربرد در وزن خشک برگ مشاهده نشد (جدول ۱). همچنین نتایج حاکی از اثر معنی‌دار اثر غلظت، نوع کاربرد و برهمکنش غلظت در نوع کاربرد بر سطح برگ و شاخص کلروفیل بود (جدول ۱). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که

جدول ۲- تاثیر غلظت و نوع کاربرد سلنیوم بر غلظت سلنیوم برگ، وزن خشک برگ، سطح برگ و شاخص کلروفیل

تیمار سلنیوم	غلظت سلنیوم (میکرومولار)	غلظت سلنیوم در برگها (میکروگرم بر گرم)	وزن خشک برگ (گرم در گیاه)	سطح برگ (سانتیمتر مربع)	شاخص کلروفیل (SPAD)
شاهد	۰	۰/۰۱۴ ± ۰/۰۰۱ eE	۳/۴۰ ± ۰/۲۱ Cd	۳/۶۲ ± ۰/۳۲ dC	۱۰/۸۶ ± ۰/۹۶ dC
محلول غذایی	۲	۱/۲۴ ± ۰/۱۱ d	۳/۸۹ ± ۰/۱۸ c	۵/۹۷ ± ۰/۴۵ b*	۱۴/۱۲ ± ۱/۲۴ c
	۵	۴/۸۴ ± ۰/۳۵ c*	۵/۷۴ ± ۰/۶۲ a	۷/۵۷ ± ۰/۵۷ a*	۱۹/۰۵ ± ۱/۳۳ a*
	۱۰	۱۱/۰۹ ± ۱/۰۲ b*	۵/۳۲ ± ۰/۴۵ ab	۶/۶۶ ± ۰/۵۹ ab	۱۶/۱۴ ± ۱/۰۶ b*
	۱۵	۲۲/۷۱ ± ۰/۷۶ a*	۴/۰۴ ± ۰/۳۶ c	۴/۳۵ ± ۰/۳۱ cd*	۱۳/۱۷ ± ۰/۹۵ c*
محلول‌پاشی برگی	۲	۰/۹۵ ± ۰/۰۹ D	۳/۵۶ ± ۰/۲۹ D	۴/۰۲ ± ۰/۵۲ C*	۱۴/۷۲ ± ۱/۰۲ B
	۵	۳/۰۱ ± ۰/۳۱ C*	۵/۰۱ ± ۰/۳۷ B	۶/۴۳ ± ۰/۷۰ AB*	۱۵/۸۶ ± ۱/۱۴ B*
	۱۰	۸/۲۵ ± ۰/۵۲ B*	۵/۸۷ ± ۰/۵۵ A	۷/۱۳ ± ۰/۵۵ A	۲۰/۲۵ ± ۰/۸۶ A*
	۱۵	۱۳/۵۲ ± ۱/۰۱ A*	۴/۳۱ ± ۰/۲۶ C	۵/۱۱ ± ۰/۶۵ B*	۱۶/۹۳ ± ۱/۱۷ AB*

داده‌ها از طریق ANOVA یک طرفه برای هر فاکتور (نوع کاربرد و غلظت سلنیوم) به طور جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. حروف کوچک مختلف تفاوت معنی‌دار را در بین گیاهان به دلیل افزودن سلنیوم در محلول غذایی نشان می‌دهد و حروف بزرگ نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گیاهان به دلیل محلول‌پاشی برگ است ($P \leq 0.05$). * اختلاف در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار بین دو نوع کاربرد سلنیوم بر اساس آزمون توکی.

کاربرد بر میزان آنتوسیانین برگ معنی‌دار بود (جدول ۱). تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف در روش محلول

ترکیبات فنولیک: نتایج جدول آنالیز واریانس نشان داد که اثر غلظت، نوع کاربرد و اثر برهمکنش غلظت در نوع

به لیمو با سلنیوم به طور کلی باعث افزایش میزان فنل کل در برگ‌ها نسبت به شاهد شد (جدول ۳). در روش محلول‌پاشی برگ، بیشترین میزان فنل کل در تیمار ۱۰ میکرومولار مشاهده شد. در واقع، محلول‌پاشی ۱۰ میکرومولار سلنیوم باعث افزایش ۸۹/۵ درصدی فنل کل نسبت به شاهد شد. در روش استفاده از سلنیوم در محلول غذایی، بیشترین میزان این ترکیب در تیمارهای ۵ و ۱۰ میکرومولار مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری بین آنها در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده نشد. به طور کلی، میزان فنل کل در روش استفاده از سلنیوم در محلول غذایی بیشتر از استفاده به صورت محلول‌پاشی برگ بود (جدول ۱).

غذایی وجود نداشت. اما در محلول‌پاشی برگ تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف بر میزان آنتوسیانین برگ مشاهده شد (جدول ۳). به طور کلی میانگین میزان آنتوسیانین برگ در روش محلول‌پاشی برگ (۳۵/۴۲ میکرو مول بر گرم وزن تر) نسبت به کاربرد در محلول غذایی (۳۰/۶۲ میکرو مول بر گرم وزن تر) بیشتر بود (جدول ۱). همچنین نتایج عدم تفاوت معنی‌دار میزان فلاونوئید برگ در نوع کاربرد، غلظت سلنیوم و برهمکنش نوع کاربرد در غلظت سلنیوم را نشان داد (جدول ۱). تفاوت معنی‌داری در میزان فنل کل بین تیمارهای مختلف و روش‌های مختلف کاربرد سلنیوم مشاهده شد (جدول ۱). تیمار گیاه

جدول ۳ - تاثیر غلظت و نوع کاربرد سلنیوم بر میزان آنتوسیانین، فلاونوئید و میزان فنل کل در برگ‌های به لیمو

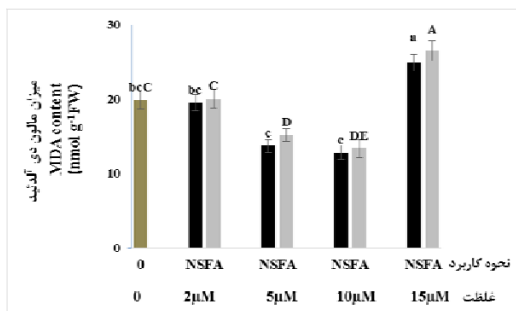
تیمار سلنیوم	غلظت سلنیوم (میکرومولار)	میزان آنتوسیانین برگ (میکرو مول بر گرم وزن تر)	میزان فلاونوئید (میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک)	میزان فنل کل (میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک)
شاهد	۰	۲۹/۶ ± ۱/۵۴ abB	۴/۰۹ ± ۰/۲۳ abAB	۱۴/۳ ± ۰/۰۵ Ccd
محلول غذایی	۲	۲۸/۵ ± ۱/۱۸ ab	۴/۱۹ ± ۰/۳۱ ab	۱۹/۶ ± ۱/۲ b*
	۵	۳۲/۱ ± ۱/۲۴ a	۴/۵۱ ± ۰/۳۰ a	۲۵/۵ ± ۲/۰۱ a*
	۱۰	۳۴/۳ ± ۲/۰۱ a*	۴/۴۸ ± ۰/۳۶ a	۲۳/۸ ± ۱/۱۲ a*
	۱۵	۲۸/۶ ± ۲/۲ ab*	۴/۳۳ ± ۰/۲۷ ab	۲۰/۰۳ ± ۰/۸۲ b*
محلول‌پاشی برگ	۲	۳۳/۸ ± ۱/۸۵ B	۴/۰۴ ± ۰/۲۲ AB	۱۶/۵ ± ۱/۰۳ C*
	۵	۳۷/۶ ± ۱/۸۶ AB	۴/۲۵ ± ۰/۲۴ AB	۲۰/۳ ± ۱/۱ B*
	۱۰	۴۱/۶ ± ۲/۰۸ A*	۴/۶۱ ± ۰/۱۹ A	۲۷/۱ ± ۱/۵ A*
	۱۵	۳۴/۵ ± ۱/۵۵ B*	۴/۲۶ ± ۰/۲۴ AB	۱۶/۳ ± ۰/۹۶ C*

داده‌ها از طریق ANOVA یک طرفه برای هر فاکتور (نوع کاربرد و غلظت سلنیوم) به طور جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. حروف کوچک مختلف تفاوت معنی‌دار را در بین گیاهان به دلیل افزودن سلنیوم در محلول غذایی نشان می‌دهد و حروف بزرگ نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گیاهان به دلیل محلول‌پاشی برگ است ($P \leq 0.05$). * اختلاف در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار بین دو نوع کاربرد سلنیوم بر اساس آزمون توکی.

صفت در تیمار ۵ و ۱۰ میکرومولار مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر در سطح احتمال ۵ درصد نداشتند. در واقع با افزایش غلظت سلنیوم به ۱۵ میکرومولار، درصد مهار این رادیکال آزاد در هر دو روش کاهش معنی‌داری نشان داد. در غلظت‌های ۲، ۵ و ۱۵ میکرومولار تفاوت معنی‌داری بین دو روش کاربرد سلنیوم مشاهده شد (شکل ۱).

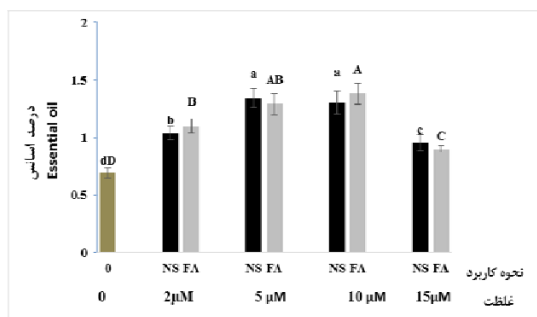
درصد مهار رادیکال آزاد DPPH و میزان مالون دی آلدئید برگ: نتایج جدول آنالیز واریانس نشان داد که نوع کاربرد، غلظت سلنیوم و برهمکنش این دو پارامتر بر هم بر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH معنی‌دار بود. (جدول ۱). بیشترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در تیمار ۵ میکرومولار سلنیوم در محلول غذایی (۸۶/۷ درصد) و کمترین آن در تیمار شاهد (۳۶/۷ درصد) مشاهده شد (شکل ۱). در محلول‌پاشی برگ نیز، بیشترین میزان این

بیشترین درصد اسانس (۱/۳۸ درصد) در تیمار ۱۰ میکرومولار و به روش محلولپاشی برگ‌گی و کمترین میزان آن در تیمار شاهد (۰/۶۹ درصد) مشاهده شد (شکل ۳).



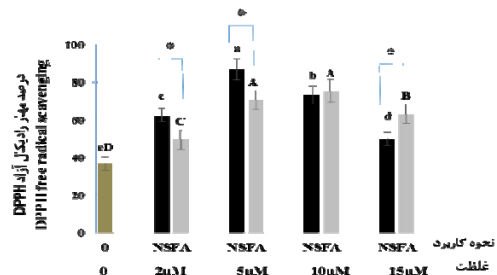
شکل ۲- تاثیر غلظت و نوع کاربرد سلنیوم بر میزان مالون دی آلدئید در برگ‌های به لیمو (NS: استفاده از سلنیوم در محلول غذایی و FA: استفاده از سلنیوم به صورت محلولپاشی برگ‌گی). اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) نمی‌باشند. * اختلاف در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار بین دو نوع کاربرد سلنیوم بر اساس آزمون توکی.

اما به طور کلی، تفاوت معنی‌داری بین دو روش کاربرد کود در میزان اسانس گیاه به لیمو مشاهده نشد.



شکل ۳- تاثیر غلظت و نوع کاربرد سلنیوم بر درصد اسانس در برگ‌های به لیمو (NS: استفاده از سلنیوم در محلول غذایی و FA: استفاده از سلنیوم به صورت محلولپاشی برگ‌گی). اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) نمی‌باشند. * اختلاف در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار بین دو نوع کاربرد سلنیوم بر اساس آزمون توکی.

درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس: طبق آنالیز اسانس‌ها (جدول ۳)، مهمترین اجزای شناسایی شده در نمونه‌های گیاهی عبارت بودند از: نرال (neral)، ژرانال (geranial)، لیمونن (limonene) و ۱،۸ سینئول (1,8-cineol).



شکل ۱- تاثیر غلظت و نوع کاربرد سلنیوم بر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در برگ‌های به لیمو (NS: استفاده از سلنیوم در محلول غذایی و FA: کاربرد سلنیوم به صورت محلولپاشی برگ‌گی). اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) نمی‌باشند. * اختلاف در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار بین دو نوع کاربرد سلنیوم بر اساس آزمون توکی.

بر طبق نتایج جدول آنالیز واریانس، تنها غلظت سلنیوم دارای تاثیر معنی‌دار بر میزان مالون دی آلدئید بود اما بین روش‌های مختلف کاربرد در هیچ‌کدام از روش‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم و نوع کاربرد این عنصر بر محتوای مالون دی آلدئید برگ به لیمو در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که غلظت‌های بالای سلنیوم موجب افزایش محتوای مالون دی آلدئید و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شد بطوریکه حداکثر محتوای مالون دی آلدئید در تیمار ۱۵ میکرومولار سلنیوم در هر دو روش کاربرد مشاهده شد.

درصد اسانس: نتایج جدول آنالیز واریانس حاکی از تاثیر معنی‌دار غلظت سلنیوم و عدم تاثیر معنی‌دار نوع کاربرد سلنیوم بر درصد اسانس گیاه به لیمو بود (جدول ۱). تیمار گیاه به لیمو با سلنیوم باعث افزایش میزان اسانس گیاه شد (شکل ۳).

در واقع با افزایش غلظت سلنیوم تا ۱۰ میکرومولار در روش محلولپاشی برگ‌گی و تا ۵ میکرومولار در روش افزودن سلنیوم به محلول غذایی، درصد اسانس به صورت معنی‌داری افزایش یافت. با افزایش بیشتر غلظت سلنیوم به ۱۵ میکرومولار، میزان اسانس کاهش معنی‌داری پیدا کرد.

سلنیوم در هر دو روش کاربرد مشاهده شد. قابل ذکر است که این روند رو به افزایش تا غلظت ۱۰ میکرومولار وجود داشت و بعد از آن در غلظت ۱۵ میکرومولار شروع به کاهش کرد.

۱، ۸-سینول: بیشترین میزان این ترکیب در تیمار ۱۰ میکرومولار در هر دو روش محلولپاشی برگگی (۵/۱) و افزودن به محلول غذایی (۵/۷) مشاهده شد.

بررسی گروه‌های اجزای اسانس: همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار بیشترین بخش ترکیب‌های اسانس به لیمو تحت تیمارهای مختلف سلنیوم را تشکیل دادند.

ترکیب‌هایی مانند گاما-المن (γ -elemene)، اسپاچولنول (spathulenol) و لینالول (Linalool) نیز در مقادیر متوسطی در اسانس مشاهده شد. در ادامه به تغییرات آنها تحت تیمارهای مختلف پرداخته می‌شود.

سیترال: به مجموع دو ترکیب نرال و ژرانیال، سیترال گفته می‌شود که مهمترین جزء اسانس به لیمو محسوب می‌گردد. بالاترین میزان سیترال (۴۸/۳) در تیمار ۱۰ میکرومولار محلولپاشی برگگی و کمترین میزان آن (۲۷/۵۶) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳). در واقع تمامی تیمارهای سلنیوم باعث افزایش میزان سیترال در برگ نسبت به شاهد شدند.

لیمونن: روند افزایش میزان لیمونن با بالا رفتن غلظت

جدول ۳- بررسی درصد اجزای اسانس برگ‌های به لیمو تحت تاثیر غلظت و نوع کاربرد سلنیوم

نام ترکیب	شاخص باzdاری	شاهد				محلول غذایی				محلولپاشی برگگی			
		۰	۲	۵	۱۰	۲	۵	۱۰	۱۵	۰	۱۰	۵	۱۵
α -pinene	۹۳۸	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۱۶	۰/۱۴	۰/۳۳	۰/۱۱	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۱۳	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۱۳
Limonene	۱۰۲۸	۳/۶	۳/۸	۵/۳	۵/۷	۳/۷	۲/۵	۴/۷	۵/۱	۴/۶	۴/۷	۵/۱	۴/۶
1,8-cineole	۱۰۳۱	۲/۹	۳/۹	۴/۱	۴/۴	۲/۲	۳/۶	۳/۵	۴/۹	۳/۲	۳/۵	۴/۹	۳/۲
γ -terpinene	۱۰۶۲	-	۱/۸۵	۰/۳۴	۰/۱۴	۱/۲	-	۰/۲۴	۰/۱	۱/۳	۰/۲۴	۰/۱	۱/۳
transpinocarveol	۱۱۴۰	۰/۴۳	۰/۹۸	۰/۱۲	-	-	۰/۳۹	-	-	۰/۸۷	-	-	۰/۸۷
cis-sabinol	۱۱۴۳	۳/۲	۲/۴۳	۰/۸۵	۰/۲۴	۳/۹۳	۱/۱۱	۱/۶۳	۰/۳۲	۱/۸۲	۱/۶۳	۰/۳۲	۱/۸۲
Neral	۱۲۳۸	۹/۹۶	۹/۴	۱۱/۶	۱۱/۹	۸/۹	۱۰/۶	۸/۶	۱۴/۱	۱۲/۴	۸/۶	۱۴/۱	۱۲/۴
Geranial	۱۲۶۷	۱۷/۶	۱۹/۹	۳۰/۲	۲۹/۶	۲۱/۲	۲۵/۴	۳۰/۵	۳۴/۲	۲۷/۳	۳۰/۵	۳۴/۲	۲۷/۳
γ -elemene	۱۴۳۹	۴/۸	۱/۳	۰/۳	۰/۵	۳/۶	۳/۶۱	۱/۳	۰/۲	۱/۴	۱/۳	۰/۲	۱/۴
spathulenol	۱۵۸۰	۳/۸۱	۴/۱۵	۲/۱۷	۳/۰۱	۳/۶۱	۳/۹۱	۴/۰۹	۱/۱۵	۳/۱۸	۴/۰۹	۱/۱۵	۳/۱۸
citronellal	۱۱۵۲	۴/۱۲	۴/۱۶	۱/۱۵	۱/۹	۴/۱۳	۳/۸۹	۳/۵۸	۱/۰۱	۴/۴	۳/۵۸	۱/۰۱	۴/۴
Caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۳/۰۴	۲/۹۴	۱/۵	۱/۵	۳/۰۵	۲/۴	۱/۰۹	۱/۳۱	۱/۰۳	۱/۰۹	۱/۳۱	۱/۰۳
Linalool	۱۱۱۱	۳/۸۱	۱/۵۸	۰/۸۱	۰/۱۵	۱/۸۱	۱/۴۱	۱/۴۱	۰/۶۱	۱/۳۴	۱/۴۱	۰/۶۱	۱/۳۴
β -pinene	۹۹۶	۰/۳۲	۰/۸۲	-	-	۰/۸۲	۰/۴۲	-	-	-	-	-	-
γ -elemene	۱۴۳۹	-	۲/۹۵	۰/۱۱	۰/۰۹	۱/۱۲	۱/۳۶	۰/۰۸	۰/۱۲	۱/۶۹	۰/۰۸	۰/۱۲	۱/۶۹
trans-Nerolidol	۱۵۶۴	۱/۰۲	۱/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۸	۱/۰۳	۰/۰۹	۰/۸۱	۰/۰۱	-	۰/۸۱	۰/۰۱	-
مونوترپن‌های هیدروکربنی	۷/۵	۵/۷۴	۵/۸۵	۸/۲۴	۶/۲۴	۵/۱۴	۳/۹۱	۳/۱۳	۳/۱۳	۶/۹۲	۳/۹۱	۳/۱۳	۳/۱۳
مونوترپن‌های اکسیژن‌دار	۱۹/۶	۲۰/۲	۲۶/۵	۲۳/۴	۱۷/۳	۲۱/۴	۲۱/۶۴	۲۵/۲	۲۵/۲	۱۵/۴	۲۱/۶۴	۲۵/۲	۱۵/۴
سزکوئی‌ترین‌های-هیدروکربنی	۵/۶	۶/۳	۴/۳۴	۳/۱۴	۶/۵۹	۵/۲۴	۵/۲۴	۵/۳۹	۵/۳۹	۶/۴۲	۵/۲۴	۵/۳۹	۶/۴۲
سزکوئی‌ترین‌های اکسیژن‌دار	۶/۶	۴/۱۲	۳/۱۳	۴/۰۵	۵/۹۷	۵/۵۴	۴/۸۵	۱/۷۶	۱/۷۶	۴/۸۶	۴/۸۵	۱/۷۶	۴/۸۶
کل ترکیبات شناسایی شده	۹۸/۳۳	۹۷/۹۸	۹۸/۵۷	۹۸/۱۸	۹۷/۶۳	۹۸/۱۲	۹۷/۳۲	۹۸/۷۷	۹۸/۲۶	۹۸/۲۶	۹۸/۷۷	۹۸/۲۶	۹۸/۲۶

تیمار ۵ میکرومولار سلنیوم در محلول غذایی بیشترین میزان مونوترین‌های اکسیژن دار (۲۶/۵) را به خود اختصاص داده ولی بیشترین میزان مونوترین‌های هیدروکربنی (۷/۵) در تیمار شاهد مشاهده شد.

بحث

در این تحقیق کاهش ویژگی‌های رشدی و شاخص کلروفیل در غلظت‌های بالای سلنیوم نشان داد کاربرد این غلظت از سلنیوم در محیط کشت هیدروپونیک برای گیاه به لیمو قابل تحمل نمی‌باشد. در بیشتر گیاهانی که شبیه به لیمو نمی‌توانند سلنیوم را در مقادیر بالا انباشته کنند، غلظت‌های بالای سلنیوم باعث بروز سمیت و مهار رشد و در عوض غلظت‌های پایین این عنصر باعث تحریک رشد و افزایش مقاومت این گیاهان در برابر تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی می‌گردد (۴۴).

بررسی گیاهان مختلف از جمله ذرت و لوبیا (۱۸) و چندین گونه گیاهی دیگر نیز نشان داد که غلظت‌های بالای سلنیوم باعث کاهش کلروفیل و کاهش رشد گیاه می‌شود که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. Han-Wens و همکاران (۲۰۱۰) نیز در طی یک بررسی بیان داشتند که سلنیوم در غلظت‌های کم، تقسیم سلولی را در سلول‌های نوک ریشه بهبود بخشیده و متعاقب آن باعث افزایش رشد و توسعه سیستم ریشه گیاه می‌گردند؛ بنابراین همین امر می‌تواند موجب جذب بیشتر آب و عناصر غذایی توسط گیاهان تحت تیمار با این عنصر شده و در نهایت با افزایش در میزان آب و عناصر غذایی، وزن خشک برگ را افزایش دهد (۱۵).

مطالعات پیشین نشان داد که غلظت‌های کم سلنیوم تاثیر سودمندی بر افزایش وزن زیست توده و محتوای رنگیزه-های فتوسنتزی داشته و با افزایش در شاخص سطح برگ گیاه، میزان جذب نور و متعاقب آن فتوسنتز و تثبیت کربن، باعث رشد بیشتر گیاه می‌گردد. ولی با افزایش غلظت و

گذشتن از حد آستانه تحمل گیاه باعث اختلال در رشد گیاه می‌گردد (۴۳). سطوح بالای این عنصر با اختلال در متابولیسم گوگرد از طریق جایگزینی در ترکیبات مختلف نظیر اسیدآمین و پروتئین و کوآنزیم‌های حاوی گوگرد، باعث تاثیر منفی بر فعالیت‌های حیاتی گیاه شده و در نتیجه از رشد گیاه می‌کاهد. همچنین کاهش زیست توده گیاه در اثر افزایش سلنیوم می‌تواند بر اثر کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و در نتیجه کاهش فتوسنتز باشد (۳۶).

تحقیقات نشان داده که کاربرد سلنیوم موجب افزایش جذب پتاسیم می‌شود و این افزایش پتاسیم، باعث باز و بسته شدن روزنه‌ها و افزایش فشار تورژسانس و در نتیجه افزایش سطح برگ می‌شود (۲۲). سطح برگ از خصوصیات مهم در رشد گیاه می‌باشد، به طوری که هر چه سطح برگ افزایش یابد، مقدار فتوسنتز یا همان ماده-سازی افزایش می‌یابد. به دنبال ماده‌سازی بیشتر، میزان ماده خشک گیاهی نیز افزایش می‌یابد. دلیل بالاتر بودن ویژگی-های رویشی در تیمار ۵ و ۱۰ میکرومولار سلنیوم، می‌تواند بالا بودن سطح برگ و در نتیجه فراهم‌آوری بالاتر آسمیلات‌ها برای رشد گیاه می‌باشد (۳۷).

همچنین Saffaryazdi و همکاران (۲۰۱۲) در آزمایش خود گزارش کردند که میزان کلروفیل اسفناج در غلظت‌های کم سلنیوم افزایش می‌یابد (۳۸). افزایش کلروفیل اسفناج تحت تاثیر سلنیوم ممکن است به دلیل محافظت آنزیم‌های کلروپلاست توسط سلنیوم و در نتیجه افزایش بیوسنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی باشد. از طرف دیگر، می‌توان افزایش محتوای کلروفیل برگ در اثر کاربرد سلنیوم را به دلیل تاثیر این عنصر بر افزایش جذب منیزیم و آهن توسط گیاه دانست (۱۵).

غلظت‌های کم سلنیوم با محافظت از آنزیم‌های کلروپلاستی و همچنین افزایش کارایی فتوسیستم II باعث افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شوند (۳۲). افزایش میزان کلروفیل احتمالا به دلیل دخالت سلنیوم در مسیر

اکسیداتیو و تجمع رادیکال‌های آزاد، میزان پراکسیداسیون لیپیدها و به دنبال آن، محتوای این شاخص افزایش می‌یابد. از سوی دیگر در شرایط تنش، به علت عدم تعادل در تولید انواع اکسیژن فعال و ایجاد تنش اکسیداتیو پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی افزایش می‌یابد (۴۰). مطالعات انجام شده توسط Pennanen و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که در غلظت‌های کم سلینیوم، میزان مالون دی‌آلدئید کاهش می‌یابد که احتمالاً به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و یا افزایش اسید آسکوربیک و گلوکاتایون است (۳۲). همچنین کرامت و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که کاربرد سلینیوم در شرایط تنش باعث کاهش میزان مالون دی‌آلدئید در گندم شد (۲).

غلظت‌های کم سلینیوم، احتمالاً از راه افزایش میزان نشاسته در کلروپلاست‌ها، رشد گیاه را افزایش داده و به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی از غشاء سلولی این گیاهان در برابر پراکسیداسیون لیپیدها محافظت می‌کند (۱۵). در گیاهان، اکسیژن فعال در فرایندهای متابولیکی شامل فتوسنتز و تنفس تولید می‌شود که ممکن است به کلروفیل، پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک آسیب وارد کرده در نتیجه پیری و مرگ سلول گیاهی را سرعت بخشند. اما سلینیوم با نقش آنتی‌اکسیدانی خود مانع از این مشکلات در گیاه می‌شود (۵).

در برخی مطالعات دیگر کاربرد غلظت‌های کم سلینیوم باعث کاهش میزان مالون دی‌آلدئید که نشان دهنده کاهش تنش اکسیداتیو در سلولهای گیاهی است مشاهده شده است (۱۳). در واقع مطالعات نشان داده که افزودن سلینیوم در غلظت‌های کم چه به فرم محلولپاشی و چه اضافه کردن به محلول غذایی، باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شده است (۵، ۳۴). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی ممکن است به دلایل زیر باشد: افزایش بیوسنتز ترکیبات فنلی و سایر متابولیت‌های ثانویه با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، تاثیر سلینیوم بر متابولیسم ریداکس

بیوسنتز کلروفیل به ویژه در نتیجه برهمکنش سلینیوم با آنزیم‌های حاوی گروه سولفیدریل (Sulfhydryl-SH)، ۵-آمینولئوئیک اسید دهیدراتاز (5-aminolevulinic acid-dehydratase) و دامیناز پورفوبیلیجن (Deaminase porfobilinogen) است (۳۰). کاهش فتوسنتز می‌تواند به علت قرار گرفتن سلینیوم به جای منیزیم در ساختار کلروفیل و تأثیر منفی سلینیوم بر آنزیم پورفوبیلینوژن سنتتاز (Porphobilinogen Synthase) باشد (۱۷). همچنین کاهش وزن خشک گیاه با افزایش غلظت سلینیوم می‌تواند به دلیل تغییر در نفوذپذیری غشاء نسبت به یون‌های سدیم، پتاسیم و کلسیم باشد که باعث اختلال در تنفس و جذب آب می‌شود (۱۰).

سلینیوم ممکن است با تأثیر بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلاز میزان فنل کل را افزایش دهد (۸). افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های UFGT و F3H که در متابولیسم آنتوسیانین شرکت دارند و در نتیجه باعث افزایش بیوسنتز این متابولیت‌ها می‌شود، در اثر تیمار گیاه کاهو با سلینیوم مشاهده شد (۲۵). همچنین زو و همکاران افزایش بیان ژن‌های کنترل‌کننده بیوسنتز فلاونوئید در اثر کاربرد سلینیوم را گزارش کردند (۴۸). اگرچه باید ذکر شود که مکانیسم تاثیر سلینیوم بر متابولیسم متابولیت‌های ثانویه هنوز مشخص نیست. از یک طرف، افزایش میزان برخی ترکیبات فنلی مثل آنتوسیانین در برگ‌های تیمار شده با سلینیوم ممکن است نشان دهنده وجود تنش در اثر حضور سلینیوم باشد و افزایش در بیوسنتز این ترکیبات به عنوان پاسخ دفاعی گیاه قلمداد شود. از طرف دیگر برخی مطالعات نشان داده است که کاربرد غلظت‌های کم سلینیوم باعث افزایش برخی متابولیت‌های ثانویه مثل آنتوسیانین و فلاونوئیدها شده است بدون اینکه هیچ‌گونه اثر سمیتی در گیاه مشاهده شود.

مالون دی‌آلدئید به عنوان شاخص تنش اکسیداتیو، بیانگر میزان پراکسیداسیون لیپیدها است که در اثر افزایش تنش

گلوکاتیون و آنزیم‌های درگیر در این متابولیسم و اثر آنتی‌اکسیدانتی مستقیم سلنیوم و متابولیت‌های آلی آن.

همچنین Djanaguiraman و همکاران (۲۰۱۰) نیز تاثیر سلنیوم بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و کاهش میزان گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان تحت تیمار را گزارش کردند (۹). Kong و همکاران (۲۱) نیز بهبود عملکرد غشاء در سلول‌های مزوفیل برگ را به واسطه حضور سلنیوم در محیط رشد گیاه گزارش کردند. سلنیوم از طریق افزایش میزان جذب پتاسیم در سلول‌های گیاهی باعث کاهش در میزان نشت یونی و افزایش پایداری غشاء سلولی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانتی عصاره‌های گیاهی می‌گردد. در واقع سلنیوم در غلظت‌های زیاد، با غیر فعال کردن آنزیم‌ها، کلاته کردن مولکول‌های متابولیکی، جانشینی با عناصر ضروری و گسستگی غشا، رشد گیاه را مختل می‌کند (۲۱). همچنین حبیبی (۱۳۹۴) گزارش نمود که کاربرد برگی سلنیوم در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش تنش اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دسموتاز و گلوکاتیون پراکسیداز می‌شود (۱).

مطالعات قبلی نیز نشان داده که سلنیوم بر درصد و ترکیب اسانس تاثیرگذار است. در این خصوص، Lee و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که حضور سلنیوم در محلول غذایی باعث افزایش ۲ تا ۳ برابری درصد اسانس گیاه ریحان نسبت به تیمار شاهد شد (۲۴). در مقابل Mezeyova و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که محلول‌پاشی گیاهان با سلنیوم، افزایش معنی‌داری در میزان اسانس گیاه نسبت به شاهد نشان نداد (۲۷). Misra و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که افزایش درصد اسانس در نتیجه کاربرد سلنیوم می‌تواند باعث تسریع در تولید فراورده‌های ثانویه مخصوصا اسانس در گیاهان شود. همچنین مطالعات نشان دادند که سلنیوم تاثیر معنی‌داری بر احیا و تثبیت دی‌اکسید کربن، میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و در نتیجه تجمع اسانس در شمع‌دانی دارد (۲۸).

همچنین Swamy و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که درصد اجزای اسانس به عوامل متنوعی مثل اقلیم، ویژگی‌های جغرافیایی، تغذیه، تاریخ نمونه برداری و ... بستگی دارد (۴۶). El-Gohary و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که محلول‌پاشی سلنیوم باعث افزایش درصد کارواکرول (carvacrol)، گاما-ترپین (γ -Terpinene) و لیمونن (*Limonene*) در *Plectranthus amboinicus* (Lour) شد (۱۲).

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سلنیوم گرچه برای گیاهان ضروری نمی‌باشد اما می‌تواند در غلظت‌های کم و خصوصا در غلظت ۵ میکرومولار به صورت اضافه کردن به محلول غذایی و ۱۰ میکرومولار به صورت محلول‌پاشی برگ‌ها باعث بهبود شاخص‌های مورفولوژی و فیزیولوژیکی نظیر وزن خشک برگ، سطح برگ و میزان کلروفیل در گیاه به لیمو شود. افزودن سلنیوم چه به فرم محلول‌پاشی برگ‌ها و چه به فرم کاربرد در محلول غذایی، به طور معنی‌داری بر غلظت سلنیوم برگ‌ها اثر گذاشت. همچنین این عنصر باعث افزایش چشمگیری در میزان اسانس برگ‌های به لیمو گردید. تیمار سلنیوم همچنین بر درصد اجزای اسانس برگ‌های به لیمو تاثیر گذاشت. بنابراین، افزودن ۵ میکرومولار سلنیوم به محلول غذایی و ۱۰ میکرومولار سلنیوم به صورت محلول‌پاشی برگ‌ها به عنوان غلظت بهینه پیشنهاد می‌شود. در این غلظت‌ها ترکیب بهینه انباشت سلنیوم و اجزای فعال بیولوژیکی (میزان اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی) در برگ به لیمو مشاهده شد. به طور کلی، نوع کاربرد سلنیوم (محلول غذایی یا محلول‌پاشی برگ‌ها) تاثیر معنی‌داری بر وزن خشک برگ، میزان فلاونوئید برگ، میزان مالون دی‌آلدئید و درصد اسانس گیاه به لیمو نداشت. اما بر سایر پارامترها تاثیر معنی‌دار نشان داد. در واقع نتایج این تحقیق نشان داد که سلنیوم می‌تواند جهت افزایش کمی و کیفی

کمک در انجام آنالیزهای تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می‌شود.

برگ به لیمو استفاده شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان به علت

منابع

- ۱- کرامت، ب.، دریایی، ف.، و آروین، م.ج. ۱۳۹۳. بررسی اثرات متقابل سلنیوم و کادمیوم بر محتوای آلدئیدها، پراکسیدهایروژن و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه گندم رقم کویر. مجله پژوهش-های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۷ (۳): ۴۹۰-۵۰۰.
- ۲- حبیبی، ق. ۱۳۹۴. تأثیر کاربرد برگی سلنیم بر رشد، فعالیت سیستم آنتی‌اکسیداتیو و غلظت سلنیم دانه در دو رقم از گندم بهاره. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۸ (۱): ۹۱-۱۰۲.
- 3- Adams, R.P. 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured Publishing Crop, USA, 456p.
- 4- Aspila, P. 2005. History of selenium supplemented fertilization in Finland. Proceedings, Twenty Years of Selenium Fertilization; 8-9. Helsinki, Finland. 8-13.
- 5- Bachiega, P., Salgado, J.M., de Carvalho, J.E., Ruiz, A.L.T., Schwarz, K., Tezotto, T. and Morzelle, M.C. 2016. Antioxidant and antiproliferative activities in different maturation stages of broccoli (*Brassica oleracea Italica*) biofortified with selenium. Food Chem. 190: 771-776.
- 6- Boominathan, R. and Doran, P.M. 2002. Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertoloni*. New Phytologist. 156: 202-205.
- 7- Chupakhina, G.N., Shansky, M., Parol, A., Feduraev, P.V., Skrypnik, L.N. and Maslennikov, P.V. 2018. Comparative characteristics of antioxidant capacity of some forage plants of the Baltic Sea Region (a case study of the Kaliningrad Region and Estonia). Agron. Res. 16: 1976-1985.
- 8- D'Abrosca, B., Pacifico, S., Cefarelli, G. and Fiorentino, A. 2007. Limoncella apple, an Italian apple cultivar: phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. Food Chem. 104: 1333-1337.
- 9- 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 Physiol. Biochem. 48: 999-1007.
- 10- Dziubinskaa, H., Filekb, M., Krol, E. and Trebacz, K. 2010. Cadmium and selenium modulate slow vacuolar channels in rape (*Brassica napus*) vacuoles. J. Plant Physiol. 167: 1566-1570.
- 11- Ebadi, M. T., Azizi, M., Sefidkon, F. and Ahmadi, N. 2015. Influence of different drying methods on drying period, essential oil content and composition of *Lippia citriodora* Kunth. J Appl Res Med Aroma. 2:182-187.
- 12- El-Goharya, A.E., Amera, H.M., Salemb, S.H. and Husseina, M.S. 2019. Foliar application of selenium and humic acid changes yield, essential oil, and chemical composition of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) plant and its antimicrobial effects. Egypt Pharma J. 18:356-367.
- 13- Feng, R.W. and Wei, C.Y. 2012. Antioxidative mechanisms on selenium accumulation in *Pteris vittata* L., a potential selenium phytoremediation plant. Plant Soil Environ. 58: 105-110.
- 14- Habibi, G. 2013. Effect of drought stress and selenium spraying on photosynthesis and antioxidant activity of spring barley. Acta Agric. Slov. 101: 31-39.
- 15- Han-Wens, S., Jing, H., Shu-Xuan, L. and Wei-Jun, K. 2010. Protective role of selenium on garlic growth under cadmium stress. Commun Soil Sci Plan. 41: 11951204.
- 16- Hernandez-Hernandez, H., Quiterio-Gutiérrez, T., Ortega-Ortiz, H. and Hernández-Fuentes, A.D. 2019. Impact of Selenium and Copper Nanoparticles on Antioxidant System, and Fruit Quality of Tomato Plants. Plants. 8: 355.
- 17- Hawrylak, B., Matraszek, R. and Szynanska, M. 2007. Response of lettuce to selenium in nutrient solution contaminated with nickel. Vegetable Crops Research Bulletin, 67: 63-70.
- 18- Jahid, A.M., Kumar, S., Thakur, P., Sharma, S., Kau Raman Preet, N., Kaur, D.P., Bhandhari,

- K., Kaushal, N., Singh, K., Srivastav, A. and Nayyar, H. 2010. Promotion of growth in mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) by selenium is associated with stimulation of carbohydrate metabolism. *Biol. Trace Elem. Res.* 143: 530-539.
- 19- Khalid, K.H., Amer, H.M., Wahba, H.E., Hendaw, S.F and El-Razik, T.M.A. 2017. Selenium to improve growth characters, photosynthetic and essential oil composition of chives varieties. *Asian. J. Crop. Sci.* 9: 92-99.
- 20- Kieliszek, M. and Blazejak, S. 2013. Selenium: Significance, and outlook for supplementation. *Nutrition*, 29: 713–718.
- 21- Kong, L.G., Wang, M. and Bi, D.L. 2005. Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress. *Plant Growth Regul.* 45: 155–163.
- 22- Kopsell, D.A., Randle, W.M. and Mills, H.A. 2000. Quantitative, chemically specific imaging of selenium nutrient accumulation in leaf tissue of rapid-cycling *Brassica oleracea* responds to increasing sodium selenite concentrations. *J. Plant Nutr.* 23:927-935.
- 23- Kurkova, T., Skrypnik, L. and Zalieckiene, E. 2008. Features of plant material pre-treatment for the selenium determination by atomic absorption and fluorometric methods. *Chemija.* 19: 40–43.
- 24- Lee, M.J., Lee, G.P. and Park, K.W. 2001. Status of selenium contents and effect of selenium treatment on essential oil contents in several Korean herbs. *Hortic. Sci. Technol.* 19: 384–388.
- 25- Liu, D., Li, H., Wang, Y., Ying, Z., Bian, Z., Zhu, W., Liu, W., Yang, L. and Jiang, D. 2017. How Exogenous Selenium Affects Anthocyanin Accumulation and Biosynthesis-Related Gene Expression in Purple Lettuce. *Pol. J. Environ. Stud.* 26: 717–722.
- 26- Mazzafera, p. 1998. Growth and biochemical alternations in coffee due to selenium toxicity. *Plants Soil.* 201: 189-196.
- 27- Mezeyova, I., Hegedusova, A., Andrejiova, A. and Hegedus, O. 2016. Content of essential oils in *Ocimum basilicum* after foliar treatment with selenium. *J. Int. Sci. Publ.* 4: 19–27.
- 28- Misra, A., Srivastava, A.K., Srivastava, N.K. and Khan, A. 2010. Se-acquisition and reactive oxygen species role in growth, photosynthesis, photostnthesis pigments and biochemical changes in essential oil monoterpene of geranium. *Int. J. Applied Bio. Pharmaceut. Technol.* 1: 473-485.
- 29- Mroczek-Zdyrska, M. and Wojcik, M. 2012. The influence of selenium on root growth and oxidative stress induced by lead in *Vicia faba* L. minor plants. Ability against aluminium-induced oxidative stress in ryegrass roots. *Ann. Appl. Biol.* 156: 297-307.
- 30- Nowaka, J., Kaklewskia, K. and Ligocki, M. 2004. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biol. Bio.* 36: 1553–1558.
- 31- Paciolla, C., De Leonardis, S. and Dipierro, S. 2011. Effects of selenite and selenate on the antioxidant systems in *Senecio scandens* L. *Plant Biosyst.* 145: 253-259.
- 32- Pennanen, A., Xue, T. and Hartikainen, H. 2002. Protective role of selenium in plant subjected to severe UV irradiation stress. *J Appl Bot Food Qual.* 76:66-76.
- 33- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected medicinal plants. *Afr. J. Biotechnol.* 5:1142-1145.
- 34- Puccinelli, M., Malorgio, F., Rosellini, I. and Pezzarossa, B. 2017. Uptake and partitioning of selenium in basil (*Ocimum basilicum* L.) plants grown in hydroponics. *Sci. Hortic.* 225: 271–276.
- 35- Rady, M.M., Kuşvuran, A., Alzahrani, Y. and Kuşvuran, S. 2019. Pretreatment with proline or an organic bio-stimulant induces salt tolerance in wheat plants by improving antioxidant redox state and enzymatic activities and reducing the oxidative stress. *J. Plant Growth Regul.* 38: 449–462.
- 36- Rios, J.J., Blasco, B., Cervilla, L.M., Rosales, M.A., Sanchez-Rodriguez, E., Romero, L. and Ruiz J.M. 2009. Production and detoxification of H₂O₂ in lettuce plants exposed to selenium. *Ann. Appl. Biol.* 154: 107–116.
- 37- Rubio, J. S., Garcia-Sanchez, F., Rubio, F. and Martinez, V. 2009. Yield, blossom-end rot incidence, and fruit quality in pepper plants under moderate salinity are affected by K⁺ and Ca²⁺ fertilization, *Int. J. Hortic. Sci.* 119:79-87.
- 38- Safaryazdi, A., Lahoti M. and ganjali, A. 2012. Effect of different concentrations of selenium on plant physiological characteristics of spinach *Spinacia oleracea*. *Int. J. Hortic. Sci.* 26: 292-300.

- 39- Sabatino, L., Ntatsi, G., Iapichino, G., D'Anna, F., De Pasquale, C. E. 2019. Effect of selenium enrichment and type of application on yield, functional quality and mineral composition of curly endive grown in a hydroponic System. *Agronomy*. 9: 207.
- 40- Schiavon, M., Acqua, S.D., Mietto, A., Pilon-Smits, E.A.H., Sambo, P., Masi, A. and Malagoli, M. 2013. Selenium fertilization alters the chemical composition and antioxidant constituents of tomato (*Solanum lycopersicon* L.). *J. Agric. Food Chem.* 61: 10542–10554.
- 41- Schwarz, K., Foltz, C. M. 1957. Selenium as an integral part of Factor 3 against dietary degeneration. *J. Am. Chem. Soc.* 79: 3292–3293.
- 42- Shahhoseini, R., Saeidi, K., Babaahmadi, H. and Ebadi, M. T. 2018. Effect of fertilizers and superabsorbent hydrogel on the yield, essential oil content and composition of Lemon verbena (*Lippia citriodora* Kunth.) cultivated in Iran. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*. 21: 230-236.
- 43- Shekari, L., Kamelmanesh, M.M., Hasanuzzaman, M. and Sadeghi, F. 2017. Role of selenium in mitigation of cadmium toxicity in pepper grown in hydroponic. *J. Plant Nutr.* 40: 761–772.
- 44- Skrypnik, L., Novikova, A. and Tokupova, E. 2019. Improvement of Phenolic Compounds, Essential Oil Content and Antioxidant Properties of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Depending on Type and Concentration of Selenium Application. *Plants*. 8: 458.
- 45- Suhanya, P., Juzaili, B., Azizi, R., Ismail, S., Sasidharan, S. and Mahsufi, M. 2009. Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Aqueous, Methanolic and Alkaloid Extracts from *Mitragyna Speciosa* (Rubiaceae Family) Leaves, *Molecules*. 14: 3964-3974.
- 46- Swamy, M.K. and Sinniah, U.R. 2015. A comprehensive review on the phytochemical constituents and pharmacological activities of *Pogostemon cablin* Benth. An aromatic medicinal plant of industrial importance. *Mol.* 20: 8521–8547.
- 47- Tabart, J., Kevers, C., Defraigne, J.O. and Dommesa, J. 2009. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chem.* 113: 1226 – 33.
- 48- Xu, J., Yang, F., Chen, L., Hu, Y and Hu, Q. 2003. Effect of selenium on increasing the antioxidant activity of tea leaves harvested during the early spring tea producing season. *J Agric Food Chem.* 51:1081–1084.

Effect of concentration and type of selenium application on the quantity and quality of essential oil of Lemon verbena (*Lippia citriodora* L.)

Jalali M.^{1*}, Abdollahi Moghadam H.¹ and Sohrabi F.²

¹ Dept. of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, I.R. of Iran

² Agricultural Biotechnology, Payam-e-Noor University of Karaj, Alborz, I.R. of Iran

Abstract

Selenium is a beneficial element with antioxidant and antiviral properties that promotes plant growth. In order to investigate the effect of selenium on some morphological, physiological and quantitative and quality of lemon essential oil, an experiment was conducted with 5 treatments and 3 replications in hydroponic culture system. Selenium in form of sodium selenate was applied either in nutrient solution or by foliar spraying at levels (0, 2.0, 5.0, 10.0 and 15 μ M). The results showed that selenium treatment significantly increased leaf dry weight, leaf area and total chlorophyll content in both application methods compared to the control. Application of 5 μ M Se in nutrient solution and of 10 μ M Se by foliar spraying successfully enhanced total phenolic compounds and DPPH free radical scavenging in leaves. The lowest amount of malondialdehyde by foliar application (13.4) and addition to nutrient solution (10.7) was observed in 10 and 5 μ M treatments, respectively. Also, this element increased the amount of essential oil in the treatment levels of 5 μ M nutrient solution and 10 μ M foliar application by 94.92 and 100%, respectively, compared to the control treatment. The survey of essential oil components showed that the highest amount of oxygenated monoterpenes, especially citral (48.3%) was measured from foliar samples with a concentration of 10 μ M selenium. In fact, the results of this study showed that the selenium in low concentrations (5-10 μ M) had improving effects on growth, physiological and quantity and quality of essential oils of Lemon verbena.

Key words: Antioxidant activity, Essential oil, Lemon verbena, Phenolic compounds, Selenium