

## اثر سلینیوم بر رشد و برخی صفات فیزیولوژیک گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) در شرایط تنش آرسنیک

مهدی رستمی<sup>۱</sup>، حسین عباسپور<sup>۲</sup>، اکبر صفی پور افشار<sup>۳</sup>\* و قدیر طاهری<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> ایران، دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه زیست‌شناسی

<sup>۳</sup> ایران، نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نیشابور، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۷



### چکیده

مطالعات گذشته مشخص کرده است که سلینیوم در کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش‌های غیر زیستی در گیاهان بسیار موثر است. این تحقیق به بررسی اثرات سلینیوم بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی گیاه ریحان در شرایط سمیت آرسنیک پرداخته است. نتایج نشان داد که صفات رشدی شامل طول ریشه و ساقه و وزن ریشه و ساقه در شرایط سمیت آرسنیک بویژه در غلظت بالا به طور معنی داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت. همچنین در سمیت شدید آرسنیک میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان نیتروژن و پروتئین کاهش و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به گیاهان ریحان بدون تنش افزایش یافت. اسپری برگ سلینیوم خصوصاً در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر بر گیاهان چه در شرایط تنش و چه بدون تنش منجر به افزایش صفات رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان نیتروژن و پروتئین شد. بعلاوه کاربرد سلنات سدیم در غلظت کم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را کاهش و در غلظت بالا فعالیت آن‌ها را در شرایط سمیت آرسنیک در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش داد. در مجموع به نظر می‌رسد سلینیوم با تقویت فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود رشد گیاه سبب کاهش اثرات سمی آرسنیک در گیاه ریحان شده است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش غیر زیستی، سلنات سدیم، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلزات سنگین

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۱۴۲۶۱۳۹۰۵، پست الکترونیکی: [asafshar@iau-neyshabur.ac.ir](mailto:asafshar@iau-neyshabur.ac.ir) و [abbaspour75@yahoo.com](mailto:abbaspour75@yahoo.com)

### مقدمه

و جانوران را داشته و به وسیله‌ی زنجیره غذایی و همچنین از طریق فعالیت‌های انسانی در مناطق آلوده و مصرف آب و مواد غذایی آلوده به آرسنیک به انسان منتقل می‌شود. تجمع آرسنیک در انسان سبب اختلال در دستگاه گردش خون، گوارش و سیستم عصبی می‌شود (۱۴).

بنابر استانداردهای جهانی میزان قابل تحمل آرسنیک در خاک و آب به ترتیب ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۱۰ میکروگرم بر لیتر است در حالیکه در مناطقی که به طور طبیعی (ناشی از فعالیت‌های زمین‌شناسی) آلوده به آرسنیک

آرسنیک، عنصری شبه فلز، سمی و غیرضروری برای گیاهان و جانوران (۱۳) با حالات اکسیداسیون متفاوت است که به وسیله‌ی منابع طبیعی: آتشفشان‌ها، معادن آرسنیک و طلا و منابع مصنوعی: حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌ها و سموم، کودها، مواد نگهدارنده چوب، سوختن زغال سنگ، احتراق سوخت‌های فسیلی و فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی در محیط انتشار می‌یابد (۴۲). آرسنیک معدنی باعث تولید گونه فعال اکسیژن در گیاهان می‌شود (۲۰). آرسنیک شبه فلزی است که توانایی تجمع در گیاهان

ممانعت از جذب و انتقال فلزات سنگین باعث عملکرد فوق‌می‌شود (۳۲).

با توجه به اهمیت گیاه ریحان به عنوان سبزی خوراکی و کشت آن در زمین‌های آلوده به آرسنیک بویژه در حاشیه شهرهای بزرگ و نظر به نقش سلنیوم در بهبود تحمل گیاهان به فلزات سنگین، در این پژوهش به بررسی برهم‌کنش متقابل سلنات سدیم و آرسنیک بر صفات رشدی، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، مقدار پروتئین، میزان نیتروژن، پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در گیاه ریحان پرداخته شد.

### مواد و روشها

بذور ریحان از مرکز تحقیقات کشاورزی شهرستان بیرجند تهیه گردید. ابتدا بذرها به وسیله محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ به مدت ۱۰ دقیقه ضد عفونی شدند. سپس شستشوی بذرها با آب مقطر سه بار انجام شد پس از آن بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیسانده شد و در گلدانهای به قطر ۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر که با شن نرم و ضد عفونی شده پر شده بودند، کاشته شد.

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار به شرح زیر اجرا شد. در این آزمایش غلظت سلنیوم در چهار سطح (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) از منبع سلنات ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ )، و آرسنیک در چهار سطح (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میکرو مولار) از منبع ارسنات ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها ۶۷ روز بعد از جوانه زنی به محیطی با دمای حداکثر  $23^\circ\text{C}$  و حداقل  $16^\circ\text{C}$  و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی (با شدت روشنایی ۸۰ میکرومول بر مترمربع برثانیه) و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. پس از مطمئن شدن از جوانه زنی و رشد گیاه، در مرحله چهار برگی تعداد گیاه در هر گلدان به ۱۰ عدد کاهش یافت. آبیاری به میزان نیاز در هر سه روز انجام گرفت و در طی رشد گیاه تا مرحله ۴

هستند غلظت آن در خاک می‌تواند به بیش از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در آب به بیش از ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر برسد (۱۰). آبیاری مزارع کشاورزی با استفاده از آب‌های سطحی و زیرزمینی آلوده به آرسنیک باعث تجمع این عنصر در خاک شده و انتقال آن به اندام‌های مختلف گیاه را افزایش می‌دهد که در نهایت منجر به مختل شدن رشد طبیعی گیاه با علائم سمیتی نظیر مهار جوانه زنی، کاهش رشد، نکروزه شدن جوانه‌های برگی، کاهش سطح فتوسنتز، تخریب غشای کلروپلاستی می‌شود (۱۵). در صورتی که غلظت این عنصر در بخش‌های هوایی گیاه به بیش از ۱۰ میکروگرم در کیلوگرم افزایش یابد، باعث ایجاد سمیت می‌گردد (۴۰). آرسنیک می‌تواند در غلظتهای بالا با گروه‌های تیولی پروتئینها واکنش داده و باعث کاهش فعالیت آنزیم‌ها و القای تنش اکسیداتیو شود (۳۴). گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و در نتیجه تخریب غشاهای سلولی، می‌توانند باعث مرگ سلول‌ها و در نهایت سبب کاهش رشد گیاه شوند (۲۹).

سلنیوم یک عنصر غیر فلزی است که در گروه اکسیژن در جدول تناوبی قرار گرفته و دارای ظرفیت اکسیداسیونی می‌باشد (۱۱). بعلاوه، سلنیوم در بدن جانوران و گیاهان به عنوان بخشی از اسیدهای آمینه و به صورت سلنومتیونین و سلنوسیستئین وجود دارد. کمبود سلنیوم می‌تواند موجب افزایش خطر سرطان، بیماریهای قلبی، آب مروارید و کاهش عملکرد سیستم ایمنی بدن گردد (۷). به نظر می‌رسد سلنیوم به دلیل اثر آنتاگونیستی می‌تواند به بیرون راندن فلزات سنگین مانند سرب، جیوه، آلومینیوم و کادمیوم از بدن موجودات زنده کمک کند (۱۷ و ۲۸). مطالعات متعدد حاکی از تاثیر سلنیوم بر افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیر زیستی همچون تنش فلزات سنگین است (۱۶، ۱۹ و ۲۸). بنابر گزارش‌ها سلنیوم از طریق مکانیسم‌هایی چون تنظیم گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و سیستم آنتی‌اکسیدانی، بهبود سیستم فتوسنتزی و

طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین در محلول محاسبه شد. در نهایت مقدار پرولین بر اساس میکرومول در گرم وزن‌تر نمونه گیاهی محاسبه شد. از محلول غلظت‌های مختلف پرولین جهت رسم منحنی استاندارد استفاده گردید.

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT):** فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش پیرا و همکاران (۳۳) با بررسی مقدار کاهش در میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر سنجیده شد. محلول مورد استفاده شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با PH=7 و پراکسید هیدروژن mM30 بود. سنجش با افزودن مقدار مناسب عصاره آنزیمی (۱۰ میکرو لیتر) در حجم نهایی ۳ میلی لیتر آغاز شد. بلافاصله پس از افزودن عصاره آنزیمی، کاهش جذب در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در ۲۴۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه و هر ۳۰ ثانیه یک بار به وسیله اسپکتروفتومتر ثبت گردید. از محلول فاقد عصاره برای محلول بلانک استفاده گردید و مقدار فعالیت آنزیم در تیمارهای مختلف بر اساس تجزیه یک مول پراکسید هیدروژن در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر بیان گردید.

**سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD):** فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز با استفاده از روش بیچ مپ (۵) سنجیده شد و با استفاده از سنجش مهار احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم کلراید (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام گرفت. اختلاف جذب نمونه‌ها و شاهد روشنایی، احیای نوری NBT در حضور آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز موجود در نمونه را نشان داد. با استفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیمی در مقدار پروتئین کل (میلی گرم) در ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره که به روش نوری محاسبه شد، بیان گردید.

**سنجش پروتئین:** در این سنجش با استفاده از احیاء مس توسط پروتئین‌ها (روش لوری)، غلظت پروتئین مورد

برگی، به منظور تامین نیاز غذایی گیاهان آبیاری با محلول هوگلند یکبار در هفته انجام شد. تیمار آرسنیک در مرحله چهار برگی، همراه با آب آبیاری به فواصل منظم و بطور کلی در ۳ مرحله اعمال شد. غلظت‌های مختلف سلنیوم نیز به صورت محلول پاشی همزمان با تیمار آرسنیک به فواصل منظم و با تکرار سه بار تا مرحله جمع آوری گیاهان به انجام رسید. چهار هفته پس از اعمال تیمارها نمونه‌ها جمع آوری شده و صفات مرفولوژیک مورد سنجش قرار گرفت. نمونه‌ها برای سنجش‌های بیشتر به فریزر ۸۰- درجه منتقل گردید.

**سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی:** مقدار کلروفیل a و b و کاروتنوئید به روش لیچتالر ۱۹۸۷ (۲۴) سنجیده شد. بدین منظور ۰/۱ گرم برگ با ۴ میلی لیتر استون ۸۰٪ در هاون سائیده شد سپس محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتیفریوژ شده، سپس جذب محلول رویی توسط اسپکتروفتومتر جهت تعیین مقدار کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئید در طول موج ۶۴۷، ۶۶۴ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. سپس با استفاده از فرمول‌های مربوطه میزان رنگدانه‌ها بر اساس میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

**سنجش پرولین:** اندازه‌گیری پرولین برگ به روش بیتز و همکاران (۴) انجام شد. برای این منظور ۰/۲ گرم از بافت برگ در ۴ میلی لیتر محلول اسید سولفوسالیسیلیک آبدار (۳٪) ساییده شد و صاف شد. ۲ میلی لیتر از عصاره صاف شده، با ۲ میلی لیتر محلول معرف ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک مخلوط و به مدت یک ساعت در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. نمونه‌ها براساس محتوای پرولین به رنگ زرد تا قرمز تغییر رنگ می‌دهند. سپس بلافاصله نمونه‌ها به ظرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش خاتمه یابد و پس از آن به دمای اتاق منتقل شدند. سپس به محتوای داخل لوله ۴ میلی لیتر تولوئن مواد اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شدند. پس از ۲۰ دقیقه، جذب نوری محلول فوقانی در

نمونه‌ها قرار داده می‌شود و در نهایت درصد نیتروژن بر اساس فرمول مربوطه محاسبه می‌شود.

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** تجزیه و تحلیل آماری داده‌های جمع‌آوری شده در این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۹,۴) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال خطای ۵ درصد و رسم نمودارها و منحنی‌های استاندارد نیز توسط نرم‌افزار Excel (۲۰۰۷) انجام شد.

### نتایج

**صفات رشدی:** با توجه به نتایج حاصل از تحلیل داده‌ها آرسنیک اثر معنی‌داری بر طول ساقه و ریشه گیاه ریحان داشت ( $\alpha \leq 0.01$ ). بررسی اثرات همزمان آرسنیک و سلنات سدیم نشان داد که تیمار با سلنات سدیم (در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر) رشد ساقه را در آرسنیک صفر نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۱a). در حالیکه بیشترین طول ریشه در آرسنیک ۲۰۰ میکرومولار و سلنیوم صفر مشاهده شد (شکل ۱b). طبق نتایج حاصل از داده‌ها تیمار آرسنیک باعث تغییرات معنی‌داری در وزن تر ریشه شد. اما بر وزن تر ساقه معنی‌دار نبود. بررسی در تیمار همزمان آرسنیک و سلنیوم نشان داد که بیشترین مقدار وزن تر گیاه در غلظت ۳۰۰ میکرومولار آرسنیک توام با ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر سلنات سدیم است که نسبت به شاهد ۴۶٪ افزایش داشت. کمترین مقدار این پارامتر در غلظت‌های حداکثر از آرسنیک و سلنات واقع شد. اثر متقابل آرسنیک و سلنیوم بر وزن تر ریشه گیاه ریحان نیز معنی‌دار بود ( $\alpha \leq 0.01$ ). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار این پارامتر مربوط به سلنیوم صفر و غلظت آرسنیک ۲۰۰ میکرومولار است (شکل ۱c).

### صفات فیزیولوژیک

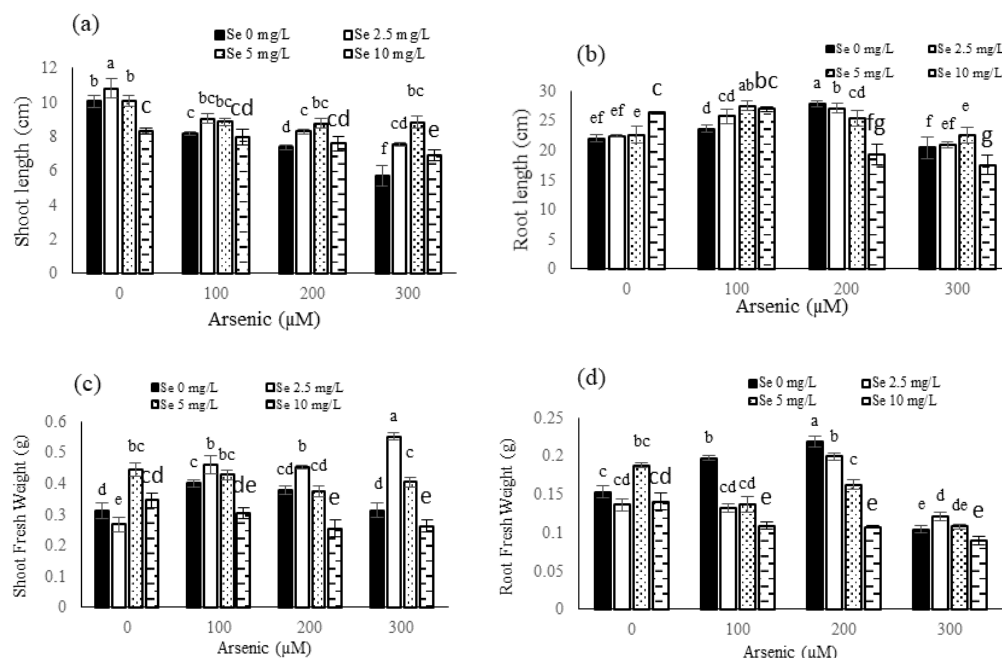
**میزان کلروفیل a, b و کاروتنوئید:** اثرات متقابل آرسنیک و سلنیوم بر میزان کلروفیل a, b و کاروتنوئید معنی‌دار بود

سنجش قرار گرفت (۲۵). به حجم ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره گیاهی و یا استاندارد ۱۰۰ میکرو لیتر هیدروکسید سدیم ۲ نرمال اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری و دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از سرد شدن در دمای اتاق به آن ۱ میلی لیتر کمپلکس اضافه شد. کمپلکس با استفاده از محلول استوک کربنات سدیم ۲ درصد، سولفات مس ۱ درصد و سدیم پتاسیم تارتارات ۲ درصد ساخته می‌شود که نسبت حجمی آن‌ها به ترتیب ۱:۱:۱۰۰ است. سپس به محلول حاصل ۱۰۰ میکرو لیتر فولین خالص اضافه و جذب نوری آن پس از ۳۰ دقیقه ماندن در تاریکی و دمای اتاق در طول موج ۷۵۰ نانومتر قرائت می‌شود. مقدار پروتئین کل بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر محاسبه و گزارش شد.

**سنجش نیتروژن:** برای محاسبه مقدار نیتروژن از مقدار پروتئین خام به روش کج‌لدال (۲۱) استفاده شد. به منظور برآورد درصد ازت، ابتدا نمونه مورد نظر توسط اسید سولفوریک هضم شده و ازت موجود به صورت سولفات آمونیوم تبدیل می‌گردد. سپس ازت موجود در سولفات آمونیوم به صورت آمونیاک آزاد و توسط اسیدبوریک به بورات آمونیوم تبدیل شده و با استفاده از اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تیترو می‌شود و آنگاه با محاسبه اسید مصرفی مقدار ازت بدست می‌آید. بدین منظور، ابتدا به ۰/۳ گرم از نمونه گیاهی خشک شده ۲/۳ میلی لیتر اسید سولفو سالیسیلیک اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد و پس از آن دما به ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد رسانیده شد و در این مرحله تقریباً هر ۵ دقیقه ۲ قطره آب اکسیژنه به نمونه اضافه شد. سپس مقدار ۱۵ سی‌سی اسید بوریک به محلول اضافه و به آن چند قطره معرف بروموکروزال افزوده شد تا محلول از بی‌رنگ به رنگ قرمز آلبالویی تبدیل شود در اینجا محلول به دست آمده در محل خروج گاز آمونیاک متصاعد شده از

۳۰۰ میکرومولار که نسبت به سطح شاهد ۶۸٪ کاهش نشان داد (شکل ۲ا).

( $\alpha \leq 0.01$ ). بیشترین مقدار کلروفیل a در سطح شاهد مشاهده شد و کمترین مقدار در سلنیوم صفر و آرسنیک



شکل ۱- اثر متقابل سلنیوم و آرسنیک بر صفات رشدی گیاه ریحان: a: طول ساقه، b: طول ریشه، c: وزن تر ساقه، d: وزن تر ریشه. میانگین ۶-ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی ۶-دار بر اساس آزمون LSD است. ستونهای دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح پنج درصد ( $p \leq 0.05$ ) تفاوت معنی داری با هم ندارند. میله های روی ستونها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می دهد

است که بیشترین نسبت کلروفیل a/b مربوط به آرسنیک ۲۰۰ میکرومولار و سلنیوم ۱۰ میلی گرم بر لیتر است که منجر به افزایش ۲۵٪ این پارامتر، نسبت به سطح شاهد شده است (شکل ۲د).

میزان نیتروژن: اثر متقابل آرسنیک و سلنیوم بر میزان نیتروژن گیاه ریحان در سطح ۱٪ معنی دار بود. میزان نیتروژن با افزایش آرسنیک کاهش پیدا کرد. در این حالت تیمار با سلنیوم ۵ میلی گرم بر لیتر منجر به افزایش ۱۳٫۵٪ نیتروژن گیاه نسبت به سطح شاهد شد. در آرسنیک ۳۰۰ میکرومولار و سلنیوم صفر کمترین میزان نیتروژن مشاهده شد (شکل ۳ا).

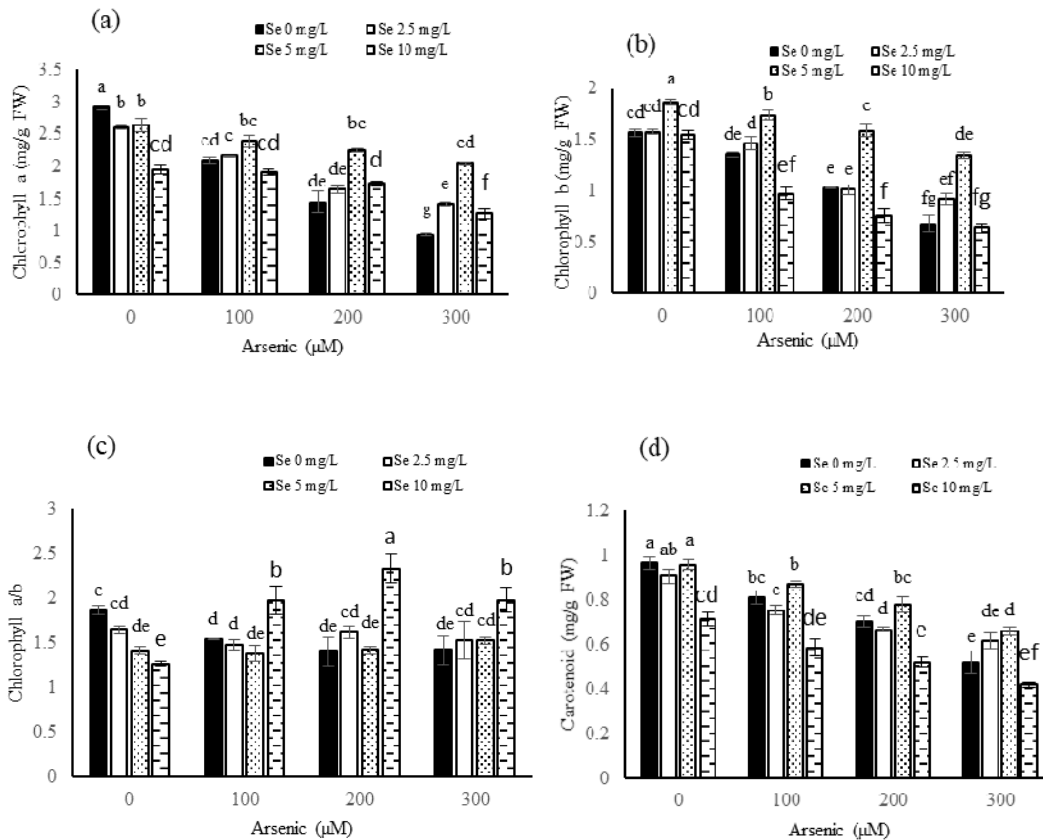
میزان پروتئین: نتایج نشان داد که تیمار آرسنیک به خصوص در غلظت ۳۰۰ میکرومولار، میزان پروتئین گیاه را ۵۲٪ کاهش داده است. بررسی اثرات متقابل آرسنیک و

بررسی اثرات متقابل نشان داد که میزان کلروفیل b در غلظت آرسنیک ۳۰۰ میکرومولار و سلنیوم ۱۰ میلی گرم بر لیتر نسبت به شاهد ۶۰٪ کاهش یافته است در حالیکه سلنیوم ۵ میلی گرم بر لیتر در آرسنیک صفر منجر به افزایش ۱۹٪ کلروفیل b نسبت به سطح شاهد شد (شکل ۲ب). تیمار با آرسنیک از میزان کاروتنوئیدهای گیاه نیز کاست. در مقابل تیمار با سلنیوم ۵ میلی گرم بر لیتر در سطح آرسنیک صفر منجر به افزایش قابل توجه میزان کاروتنوئید گردید و کمترین مقدار مربوط به غلظت‌های حداکثر سلنیوم و آرسنیک می‌باشد که ۵۷٪ کاهش نسبت به سطح شاهد نشان می‌دهد (شکل ۲c).

نسبت کلروفیل a/b: تیمار با آرسنیک (به خصوص در غلظت ۳۰۰ میکرومولار) نسبت کلروفیل a به b را نسبت به شاهد کاهش داد (۴۷٪). مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن

داشته است (شکل ۳b).

سلنات سدیم نشان می‌دهد که سلنیوم ۵ میلی گرم بر لیتر در همه غلظت‌های آرسنیک اثر افزایشی در مقدار پروتئین



شکل ۲- اثر متقابل سلنیوم و آرسنیک بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه ریحان: a: کلروفیل a، b: کلروفیل b، c: نسبت کلروفیل a به b، d: کاروتنوئید. میانگین‌ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح پنج درصد ( $p \leq 0.05$ ) تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. میله‌های روی ستونها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می‌دهد.

شد که نسبت به سطح شاهد بیش از ۴ برابر افزایش داشت. اما کمترین میزان فعالیت این آنزیم در غلظت سلنیوم ۵ میلی گرم بر لیتر و در شرایط فقدان آرسنیک مشاهده شد (شکل ۴b).

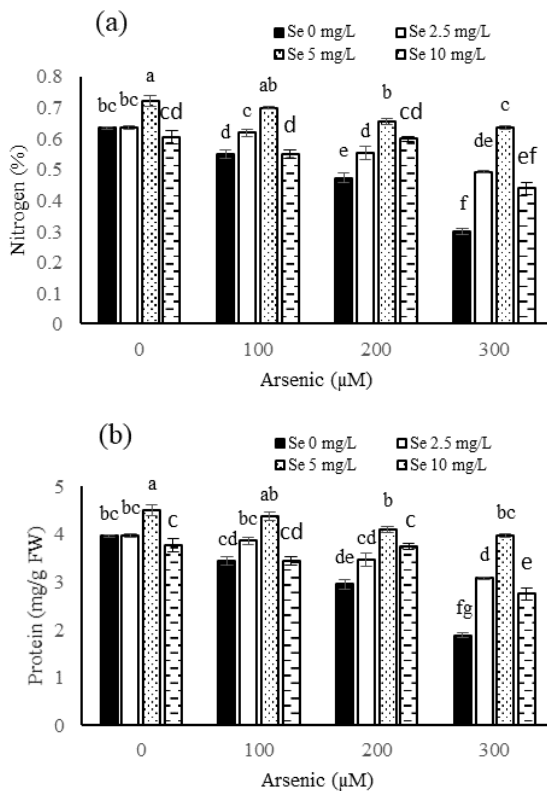
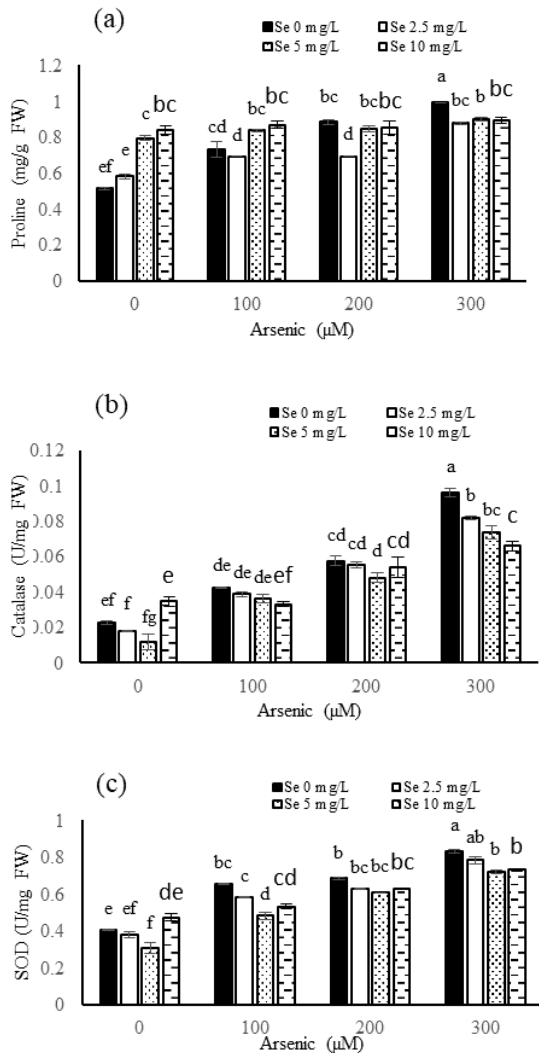
فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز: با افزایش غلظت آرسنیک بر میزان فعالیت این آنزیم افزوده شد. بیشترین میزان فعالیت SOD در سطح آرسنیک ۳۰۰ میکرومولار مشاهده شد که نسبت به سطح شاهد ۲ برابر بود و کمترین مقدار به غلظت آرسنیک صفر و سلنیوم ۵ میلی گرم بر

میزان پرولین: طبق نتایج حاصل از تحلیل داده‌ها، تنش آرسنیک میزان پرولین گیاه را نسبت به سطح شاهد افزایش داده است. در آرسنیک ۳۰۰ میکرومولار میزان پرولین ۹۵ درصد افزایش یافته است. کاربرد سلنات سدیم در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر این پارامتر را افزایش و در غلظت‌های کمتر (صفر و ۲.۵) آنرا کاهش داده است (شکل ۴a).

فعالیت آنزیم کاتالاز: با افزایش غلظت آرسنیک میزان فعالیت کاتالاز افزایش چشمگیری یافت و در سطح آرسنیک ۳۰۰ میکرومولار حداکثر فعالیت کاتالاز مشاهده

بوده است (شکل ۴c).

لیتر مربوط است که با ۵۰٪ کاهش در فعالیت آنزیم همراه



شکل ۳- اثر متقابل سلنیوم و آرسنیک بر (a): درصد نیتروژن و (b): میزان پروتئین گیاه ریحان. میانگین‌ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD است. ستونهای دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح پنج درصد ( $p \leq 0.05$ ) تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. میله‌های روی ستون‌ها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می‌دهد.

شکل ۴- اثر متقابل سلنیوم و آرسنیک بر (a): میزان پرولین، (b): فعالیت کاتالاز، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در گیاه ریحان. میانگین‌ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD است. ستونهای دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح پنج درصد ( $p \leq 0.05$ ) تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. میله‌های روی ستون‌ها خطای استاندارد را در هر گروه نشان می‌دهد.

کاربرد سلنیوم بویژه در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش پارمترهای مذکور در شرایط تنش آرسنیک نسبت به گیاهان شاهد شده است. مطالعات محققین دیگر نیز بیانگر اثر منفی آرسنیک بر رشد گیاهان همچون برنج و گندم بوده است (۳۸). پژوهشگران دلایلی همچون اختلال

## بحث و نتیجه‌گیری

صفات رشدی: طبق نتایج تحقیق حاضر تیمار گیاهان ریحان با آرسنیک سبب کاهش صفات رشدی گیاه شامل طول ساقه و ریشه و وزن تر ریشه و ساقه شده است و

در نهایت تجمع آن در سلول‌های برگ، باعث بروز علائم مورفولوژیک و فیزیولوژیک ناشی از تنش در برگ‌ها می‌شود که از شاخص‌ترین این علائم می‌توان به نکروز و کلروز شدن برگ‌ها اشاره کرد (۳۸). کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید بر اثر تیمار آرسنیک در گیاه سویا (۲)، ذرت (۱۰) و نخود (۱۵) گزارش شده است. چن و همکاران معتقدند که کاهش کلروفیل عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، تخریب پیش ماده‌های سنتز کلروفیل و یا ممانعت از بیوسنتز کلروفیل است. آرسنیک باعث تغییر شکل کلروپلاست، گرد شدن و کوتاه شدن محور طولی سلول، تو رفتگی غشاء و خمیدگی و تخریب غشاء شده که در نتیجه موجب کاهش غلظت کلروفیل برگ می‌گردد (۸). همچنین، تغییر در نفوذپذیری غشای کلروپلاست به علت پراکسیداسیون لیپیدها، در واکنش به سمیت آرسنیک، می‌تواند در کاهش محتوی رنگیزه‌های گیاه دخیل باشد. انواع اکسیژن فعال که به طور مستقیم و یا غیر مستقیم در اثر تنش آرسنیک ایجاد می‌شوند و آسیب جدی به اجزای مختلف سلولی به ویژه غشاهای زیستی از جمله غشاهای تیلاکوئیدی در پروتوپلاست‌ها وارد می‌کنند (۹).

در این تحقیق افزودن سلنات سدیم ۵ میلی گرم بر لیتر در آرسنیک صفر منجر به افزایش کلروفیل و کاروتنوئید گردید. به نظر می‌رسد با افزایش سطوح مناسب سلنیوم در تیمارهای همزمان با آرسنیک محتوی کلروفیل و کاروتنوئید افزایش پیدا کرده است و سلنیوم توانسته است اثرات سمی آرسنیک را تعدیل کند. زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های محیطی و فلزات سنگین قرار می‌گیرند کلروپلاست‌ها تخریب شده و فتوسنتز به سمت گسیختگی هدایت می‌شود در این مواقع با افزودن سطوح مناسبی از موادی مثل سلنیوم میتوان تا حدی از تخریب کلروپلاست-ها جلوگیری کرد و محتوی کلروفیل را افزایش داد (۱۲). استفاده از سلنیوم می‌تواند باعث تنظیم گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن و آنتی اکسیدان‌ها، جلوگیری از جذب و

در جذب فسفر، کاهش دسترسی آب برای ریشه‌ها، برهم زدن توازن عناصر غذایی، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، کاهش فتوسنتز و تنفس از طریق تخریب غشاهای کلروپلاست و میتوکندری، کاهش محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی و به طور کلی القای تنش اکسیداتیو در گیاهان آلوده شده به آرسنیک را علت سمیت آرسنیک و در نتیجه کاهش رشد گیاهان، معرفی می‌کنند (۹، ۱۰، ۱۵ و ۲۰). اثر بهبود دهنده سلنیوم بر رشد گیاهان چه در شرایط تنش و چه در شرایط غیر تنش موضوع پژوهش‌های متعدد بوده است از جمله در تحقیقات پنان و همکاران تیمار با سلنیوم موجب افزایش طول بخش هوایی شد (۳۲). همچنین بررسی‌ها در گندم بهاره تحت تنش خشکی نشان داد سلنیوم مانع کاهش رشد گیاهان در اثر کمبود آب گردید (۲۷). این محققین چنین نتیجه‌گیری کردند که غلظت‌های کم سلنیوم به دلیل افزایش رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، افزایش تثبیت کربن و همچنین سنتز و هیدرولیز نشاسته و ساکارز موجب افزایش رشد گیاه می‌شود اما در سطوح بالاتر با اثر کاهشی بر مقدار رنگ‌دانه‌ها، بر میزان فتوسنتز تاثیر گذاشته و در نتیجه منجر به کاهش رشد و متابولیسم گیاه می‌شوند. سلنیوم در غلظت‌های پایین تقسیم سلولی را در سلول‌های مرستمی نوک ریشه تحریک کرده و متعاقباً رشد ریشه را در گیاه بهبود می‌بخشد اما در سطوح بالا منجر به کاهش تقسیم سلولی در این سلول‌ها می‌شود (۳۵ و ۳۷).

**رنگیزه‌های فتوسنتزی:** کلروفیل از رنگیزه‌های فتوسنتزی است که مقدار آن در گیاه و به ویژه نسبت کلروفیل a/b به عنوان شاخصی از مقدار تحمل گیاه به استرس‌های محیطی ارزیابی شده است. در پژوهش حاضر با افزایش غلظت آرسنیک محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش پیدا کرده است. آرسنیک دارای یک اثر مهاری وابسته به غلظت، بر سنتز کلروفیل می‌باشد. به نظر می‌رسد که سیستم سنتز و تجزیه کلروفیل توسط غلظت‌های بالای آرسنیک تحت تاثیر قرار می‌گیرد. انتقال یون فلزی به اندام‌های هوایی و



(۳۱). در تحقیق حاضر، استفاده از سلنات سدیم (به خصوص در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر) افزایش چشمگیری بر میزان پروتئین و نیتروژن داشته است. سلنات سدیم می‌تواند با آنزیم‌های دارای گروه سولفیدریل در سنتز پروتئین برهم کنش داشته باشد. سطوح مختلف غلظتی این عنصر می‌تواند منجر به تغییر بیان ژن آنزیم نترات ردوکتاز گردد و در فرآیند تولید ترکیبات نیتروژن دار و پروتئین در گیاه نقش داشته باشد (۱۸). بر اساس مطالعات انجام شده سطوح مختلف سلنات سدیم می‌تواند در متابولیسم نیتروژن در گیاه نقش داشته باشد. در واقع سلنیوم با افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم نیتروژن مانند نترات ردوکتاز، منجر به افزایش سنتز پروتئین شده که افزایش بیومس گیاه را به دنبال دارد (۳) و (۴۱).

**میزان پرولین:** در این تحقیق تنش آرسنیک میزان پرولین گیاه ریحان را نسبت به سطح شاهد افزایش داده است. عناصر و فلزات سنگین در گیاه موجب تجمع پرولین می‌شوند که به عنوان یک علامت بیوشیمیایی ایجاد تنش در گیاهان محسوب می‌شود. پرولین محافظت کننده اسمزی است و مقدار آن در هنگام تنش‌ها در گیاه افزایش پیدا می‌کند. پرولین در کنار تنظیم اسمزی وظایف دیگری همچون حفاظت از غشای پلاسمایی، زدودن رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن فعال نیز دارد و می‌تواند منبعی برای کربن و نیتروژن باشد (۳۶). در این تحقیق پاسخ گیاه به استفاده از سلنات سدیم بسته به غلظت اعمال شده و شرایط تنش متفاوت بود. به طوری که در غلظت صفر آرسنیک مقدار پرولین با افزایش غلظت سلنات سدیم افزایش یافت. در تحقیقات قبلی نیز کاربرد سلنات سدیم منجر به افزایش میزان پرولین در گیاه شده است (۱ و ۳۹). اما کاربرد همزمان آرسنیک و سلنات سدیم موجب کاهش نسبی میزان پرولین گردید. به نظر می‌رسد سطح سلنات سدیم ۲/۵ میلی گرم بر لیتر بیشترین اثر را در کاهش میزان پرولین داشته است.

انتقال فلزات سنگین، تغییر در ویژگی‌های فلزات سنگین، بازسازی غشای سلولی، ساختمان کلروپلاست و بهبود سیستم فتوسنتزی شود (۲۳). تحقیقات انجام شده بیانگر آن است که تیمار با غلظت‌های کم سلنیوم با محافظت از آنزیم‌های کلروپلاستی، بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی را افزایش می‌دهد (۳۵)، اما با افزایش غلظت سلنیوم، این عنصر می‌تواند آنزیم‌های بیوسنتز کلروفیل (مانند پورفوبیلینوژن سنتاز) را مهار کرده و با گروه سولفیدریل موجود در آنزیم‌های ۵ آمینولولینیک اسید دهیدراتاز و پورفوبیلینوژن دامیناز برهمکنش کرده و از این طریق بر سنتز کلروفیل اثر گذار باشد (۳۰). به نظر می‌رسد یکی دیگر از دلایل کاهش میزان کلروفیل در سطوح بالاتر سلنیوم، مربوط به کاهش سطح پهنک برگ در شرایط تنش باشد. تحقیقات انجام شده در این زمینه بر مقدار کلروفیل در گیاهانی مانند لوبیا و کاهو و جلبک کلرلا نیز نتایج مشابهی را به دنبال داشت بطوری که با افزایش غلظت تیمار سلنیوم در جلبک کلرلا میزان کلروفیل کاهش پیدا کرد ولی میزان گزانتوفیل و کارتنوئید افزایش یافت (۸).

**میزان پروتئین و نیتروژن:** سنتز پروتئین‌ها در پاسخ به تنش‌های محیطی نظیر شوک گرمایی، تنش سرما، تنش خشکی و شوری تغییر می‌نماید. چنین تنش‌هایی سبب افزایش سنتز برخی از پروتئین‌ها و کاهش سنتز عده‌ای دیگر از آنها می‌شود (۲۶). در شرایط تنش، کاهش پتانسیل آب و پژمردگی، اغلب منجر به کاهش سنتز پروتئین‌ها می‌گردد. در تحقیق حاضر آرسنیک به خصوص در غلظت ۳۰۰ میکرومولار، میزان پروتئین گیاه را ۵۲٪ کاهش داده است. کاهش پروتئین می‌تواند به دلیل کاهش میزان سنتز یا افزایش میزان هیدرولیز آن در شرایط تنش باشد. پروتئین‌ها در اثر هیدرولیز توسط پروتئازها به اسیدهای آمینه تبدیل می‌شوند. اسیدهای آمینه‌ای که به این ترتیب ایجاد می‌شوند، در تنظیم اسیدپتید سلول، ذخیره‌سازی نیتروژن، حفاظت از ماکرومولکول‌های سلولی، تنظیم اسمزی، سمیت زدایی و مهار رادیکال‌های آزاد بکار گرفته می‌شوند

در این تحقیق استفاده از سلنات سدیم در غلظت‌های کم از مقدار این آنزیم‌ها در گیاه کاسته است. تنها در غلظت بالای سلنات (۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) و در شرایط آرسنیک صفر افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز مشاهده شد. به نظر می‌رسد سلنات سدیم در غلظت بالا بصورت عامل تنش عمل کرده و سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی گیاه را فعال کرده است. در حالی‌که در غلظت‌های کم از شدت تنش آرسنیک کاسته و در نتیجه میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش یافته است. نتایج تحقیقات دیگر نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی سلنیوم در برخی گیاهان را تایید کرده است. به طور مثال استفاده از سلنات سدیم در پیاز منجر به افزایش ترکیبات فلاونوئیدی و اسید اسکوربیک گردید (۱۶).

در مجموع با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق آرسنیک اثرات تخریبی در رشد گیاه، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، مقدار پروتئین و نیتروژن گیاه داشته و منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه گشته است. در چنین شرایطی استفاده از سلنات سدیم در غلظت‌های کم اثرات بهبود دهنده قابل توجهی در پارامترهای فوق‌الذکر داشته و از میزان تنش در گیاه ریحان کاسته است. در حالی‌که کاربرد این عنصر در غلظت بالا بر شدت تنش و کاهش پارامترهای رشدی و فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه افزوده است.

### سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور به خاطر در اختیار قرار دادن امکانات آزمایشگاهی قدردانی می‌شود.

**آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان:** علاوه بر تغییرات فیزیولوژیکی که در اثر تنش در گیاه ایجاد می‌شود، صدمات اکسیداتیو نیز از عوامل مهم محدود کننده رشد و تولیدات گیاهی هستند که در اثر عدم وجود شرایط مناسب ایجاد می‌شود. بیشترین صدمه به گیاهان مربوط به آسیب اکسیداتیو در سطح سلول است. گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از آلودگی با فلزات سنگین در محیط داخل و خارج سلولی از مکانیسم‌های دفاعی مختلفی استفاده می‌کنند. مکانیسم‌های دفاعی، اغلب از همکاری آنزیم‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فلاونوئید، کاروتنوئید و غیره تشکیل شده‌اند. ترکیبات آنتی‌اکسیدان در حفظ تعادل سلول‌های گیاهی نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کنند زیرا این متابولیت-ها توانایی واکنش مستقیم با انواع اکسیژن‌های واکنش‌گر و جمع‌آوری آن‌ها را دارند (۲۲).

در تحقیق حاضر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش آرسنیک افزایش یافت. در مطالعات مشابه نیز که گیاهان ذرت و ماش تحت تیمار آرسنات و آرسنیت قرار گرفته بودند، افزایش فعالیت کاتالاز مشاهده شد (۱۰). آرسنیک در غلظت‌های بالا همچون سایر فلزات سنگین می‌تواند با تخریب زنجیره‌های انتقال الکترون میتوکندریایی سبب رها سازی رادیکال‌های آزاد و در نتیجه القای تنش اکسیداتیو شود. آرسنیک با اختلال در متابولیسم فسفر و کاهش فعالیت در برخی آنزیم‌های حیاتی باعث تجمع گونه‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن در گیاه می‌شود (۲۹).

### منابع

۲- اسدی کرم، الف، کرامت، ب. و مظفری، ح. (۱۳۹۶). اثر برهکنش تری اکونتانول و آرسنیک بر رشد و برخی خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه سویا (*Glycine max L.*). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۳۰ (۳): ۴۷۷-۴۸۷.

۱- کرامت، ب.، دریایی، ف.، آروین، م.ج.، ۱۳۹۳. اثر متقابل سلنیوم و کادمیوم بر محتوای آلدئیدها، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه گندم رقم کویر. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۷ (۳): ۴۹۰-۵۰۰.

- 3- Ardebili, Z.O., Ardebili, N.O., Jalili, S. and Safiallah, S., 2015. The modified qualities of basil plants by selenium and/or ascorbic acid. *Turkish Journal of Botany*, 39(3):401-407.
- 4- Bates L, Waldren RP, Teare ID. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- 5- Beauchamp C.O., Fridovich I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44:276-287.
- 6- Bergmann, D. C. 2004. Integrating signals in stomatal development. *Current Opinion in Plant Biology* 7:26-32.
- 7- Burk, R.F, and O.A. Levander. 1983. Selenium In: *Modern Nutrition in Health and disease Ninth Edition*, Edited by M.Shils , J.Olson, M Shike , and A.C.Ross. Baltimore: Williams and Carlson.J.R et al. *Crop sci*,23:882-885.
- 8- Chen T.F., Zheng W.J., Luo Y., Yang F., Bai Y., and Tu F. 2005. Effects of selenium stress on photosynthetic pigment contents and growth of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 31: 369- 373.
- 9- Chun-xi, L., F. Shu-li, S.H. Yan, J. Li-na, L. Xu-yang, and H. Xiao-li. 2007. Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings. *Journal of Environmental Science*, 19: 725-732.
- 10- Duquesnoy, I., G.M. Champeau, G. Evray, G. Ledoigt, and A. Piquet-Pissaloux. 2010. Enzymatic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in *Zea mays* and genotoxic effect of arsenic in root tips of *Vicia faba* and *Zea mays*. *Comptes Rendus Biologies*, 333:814-824.
- 11- Feng, R., Wei, C. and Shuxin, T. 2012. The roles of selenium in protecting plant against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 98: 185-192.
- 12- Filek Maria and Hartikainenc Helina (2008) The protective role of selenium in rape seedling subjected to cadmium stress, *Journal of Plant Physiology*. 165: 833-844.
- 13- Garg, N. and Singla, P., 2011. Arsenic toxicity in crop plants: physiological effects and tolerance mechanisms. *Environment Chemistry Letter* 9: 303-321.
- 14- Gomez-Caminero, A., Howe, P., Hughes, M., Kenyon, E., Lewis, D. R., Moore, M. and Ng, J. (2001) Arsenic and arsenic compounds. *World Health Organization* 44: 591-594.
- 15- Gunes, A., D.J. Pilbeam, and A. Inal. 2009. Effect of arsenic- phosphorus interaction on arsenic-induced oxidative stress in chickpea plants. *Plant and Soil*. 314: 211-220
- 16- Han-Wens S., Jing H., Shu-Xuan L., and Wei-Jun K. 2010. Protective role of selenium on garlic growth under cadmium stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 41: 1195-1204.
- 17- Hasanuzzaman M., Anwar Hossain M., and Masayuki F. 2010. Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. *Journal of Plant Science*, 5: 354-375.
- 18- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.B., Raza, A., Hawrylak-Nowak, B., Matraszek-Gawron, R., Al Mahmud, J., Nahar, K. and Fujita, M., 2020. Selenium in plants: Boon or bane? *Environmental and Experimental Botany*, p.104170.
- 19- Hawrylak B., Matraszek R., and Szynanska M. 2007. Response of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to selenium in nutrient solution contaminated with nickel. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 67: 63-70.
- 20- Karimi, N., Ghaderian, S.M., Marofi, H., and Schat, H. 2010. Analysis of arsenic in soil and vegetation of a contaminated area in Zarshuran, Iran, identifies two angiosperms arsenic hyperaccumulators. *Int. J. hytoremediat.* 12: 159-173.
- 21- Kjeldahl, J. 1883. A New Method for the Determination of Nitrogen in Organic Matter. *Zeitschrift für Analytische Chemie*, 22, 366-382.
- 22- Kranner, I., and L. Colville. 2011. Metals and seeds: Biochemical and molecular implication and their significance for seed germination. *Journal of Experimental Botany*, 72: 93- 105.
- 23- Levitt, J. 1980. Response of plant to environment stresses. Chilling, freezing, and high temperature stress. Academic Press. New York. 1: 1-19.
- 24- Lichenthaler, H. K., 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method Enzymol*, 148: 350-382.
- 25- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193:265-275.
- 26- Lyzenga, W.J. and Stone, S.L. 2012. Abiotic stress tolerance mediated by protein

- ubiquitination. *Journal of experimental botany*, 63(2): 599-616.
- 27- Madaan N., and Mudgal V. 2011. Phytotoxic effect of selenium on the accessions of wheat and safflower. *Res. J. Environ. Sci.*, 5: 82-87
- 28- Malik, J.A., Goel, S., Kaur, N., Sharma, S., Singh, I., Nayyar, H., 2012. Selenium antagonizes the toxic effects of arsenic on mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 77: 242-248.
- 29- Mondal, S., Pramanik, K., Ghosh, S. K., Pal, P., Mondal, T., Soren, T., and Maiti, T. K. 2021. Unraveling the role of plant growth-promoting rhizobacteria in the alleviation of arsenic phytotoxicity: A review. *Microbiol res*, 250, 126809.
- 30- Nowak, J. Kaklewski, K. and Ligocki, M. 2004. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 36: 1553-1558.
- 31- Parida, A. K. Dasa, A. B., Mittrac, B. and Mohanty, P. 2004. Salt-stress Induced Alterations in Protein Profile and Protease Activity in the Mangrove *Bruguiera parviflora*, 408-414.
- 32- Pennanen A., Xue T., Hartikainen H., and Xue T.L. 2002. Protective role of selenium in plant subjected to severe UV irradiation stress. *J. Appl. Bot.*, 76: 66-76.
- 33- Pereira, G. J. G., S. M. G. Molina and P. J. Lea. 2002. Activity of antioxidant enzyme in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. *Plant Soil*, 239: 123-132
- 34- Pigna, M., Cozzolino, V., Violante, A., and Meharg, A. A. 2009. Influence of phosphate on the arsenic uptake by wheat (*Triticum durum* L.) irrigated with arsenic solutions at three different concentrations. *Water, Air and Soil Pollution*, 197, 371-380.
- 35- Rios J.J., Blasco B., Cervilla L.M., Rosales M.A., Sanchez-Rodriguez E., Romero L., and Ruiz J.M. 2008. Production and detoxification of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in lettuce plants exposed to selenium. *Annals of Applied Biology*, 154: 107-116.
- 36- Sakihama, Y., Cohen M. F., Grace, S. C. and Yamasaki, H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals. *Toxicology* 177: 67-80.
- 37- Salwa, M. A. 2012. Effects of low temperature and selenium application on growth and the physiological changes in sorghum seedlings. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8: 268- 286.
- 38- Shaibur, M. R., Kitajima, N., Sugawara, R., Kondo, T., Imamul Huq, S. M., and Kawai, S. 2006. Physiological and mineralogical properties of arsenic-induced chlorosis in rice seedlings grown hydroponically. *Soil Science and Plant Nutrition*, 52, 691-700.
- 39- Singh, H.P., D.R. Batish, R.K. Kohli, and K. Arora. 2007. Arsenic induced root growth inhibition in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb) is due to oxidative stress resulting from enhanced lipid peroxidation. *Plant Growth Regulation*. 5: 65-73.
- 40- Tsuji, J.S., Yost, L.J., Barraj, L.M., Scrafford, C.G., Mink, P.J., 2007. Use of background inorganic arsenic exposures to provide perspective on risk assessment results. *Regulatory Toxicological Pharmacology*, 48: 59e68.
- 41- Turakainen M., Hartikainen H., and Mervi M.S.N. 2004. Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 52: 5378-5382.
- 42- Zhao, F.J., J.F. Ma, A.A. Meharg, and S.P. Mc Grath. 2009. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist*. 181: 777-794.

## Effect of selenium on growth and some physiological traits of basil under arsenic stress conditions

Rostami M.<sup>1</sup>, Abbaspour H.<sup>2\*</sup>, Safipour Afshar A.<sup>3\*</sup> and Taheri Gh.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, I.R. of Iran.

<sup>2</sup> Dept. of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran.

<sup>3</sup> Dept. of Biology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, I.R. of Iran.

### Abstract

Past studies have already determined that selenium is very effective in alleviating oxidative damage caused by various abiotic stresses in plants. This study investigated the effects of selenium on growth and physiological traits of basil under arsenic toxicity. The results showed that growth parameters including root and shoot length and root and shoot weight under arsenic toxicity, especially at high concentrations, were significantly reduced compared to the control plants. Also, in severe arsenic toxicity, the content of photosynthetic pigments, nitrogen and protein concentrations decreased and the activity of catalase and superoxide dismutase enzymes increased compared to the basil plants without stress. Selenium foliar spray, especially at a concentration of 5 mg/l on plants, both under stress and without stress, led to increased growth parameters, photosynthetic pigments, nitrogen and protein content. In addition, the use of sodium selenate at low concentrations reduced the activity of antioxidant enzymes and at high concentrations increased their activity under arsenic toxicity compared to control plants. In general, it seems that selenium has reduced the toxic effects of arsenic in basil by enhancing its antioxidant activity and improving plant growth.

**Key words:** Antioxidant Enzyme, Abiotic stress, Sodium selenate, Photosynthetic pigments, Heavy metals