بهبود شاخص‌های فتوسنتزی، بیوشیمیایی و تحمل به سرمای کلزا با کاربرد نانوسلنیوم در مرحله روزت

پریسا شیخ‌زاده[1*]، غلام بهزاد[2]، ناصر زارع[3]، میترا رستمی[4]

۱- دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

٤- دانشجوی دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران و مربی دانشگاه جامع علمی-کاربردی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱٤۰۰/۱۲/۱۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱٤۰۱/۷/٤

چکیده

به‌منظور بررسی تاثیر کاربرد نانوسلنیوم در بهبود شاخص‌های فتوسنتزی، صفات بیوشیمیایی و افزایش تحمل به سرمای کلزای پاییزه، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۹۸-۱۳۹۷ انجام گرفت. تیمار آزمایشی شامل محلول‌پاشی غلظت‌های نانوسلنیوم (صفر (شاهد)، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در مرحله ۸-٦ برگی بود. نتایج نشان داد محلول‌پاشی بوته‌های کلزا با غلظت‌های مختلف نانوسلنیوم موجب افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ، رنگیزه‌های فتوسنتری، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بقای زمستانه بوته‌ها و عملکرد دانه‌ی کلزا گردید. بیشترین محتوای نسبی آب برگ، فلورسانس بیشینه (F_m)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m)، فلورسانس متغیر (F_v)، محتوای اسید آمینه پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در بوته‌های محلول‌پاشی شده با ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم به‌دست آمد. نانوسلنیوم از طریق افزایش میزان F_v/F_m، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان اسیدآمینه پرولین، موجب افزایش درصد زنده‌مانی بوته‌های کلزا به میزان ۷/۱۸ تا ۸/۹٤ درصد شد. محلول‌پاشی بوته‌های کلزا با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم سبب افزایش عملکرد دانه به‌ترتیب به میزان ۲۸/۱۰ و ۳٤/۱۹ درصد شد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که کاربرد نانوسلنیوم با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر مثبت و معنی‌داری بر صفات بیوشیمیایی و شاخص‌های فتوسنتزی کلزا داشت که این موضوع سبب شد تا تحمل به سرما در بوته‌های کلزا افزایش یابد.

کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بقای زمستانه، دانه‌های روغنی، فلورسانس کلروفیل، محلول‌پاشی.

Improvement of photosynthetic and biochemical characteristics and cold tolerance in winter oilseed rape (*Brassica napus* L. Var *napus*) via selenium nanoparticles application in the rosette stage

Parisa Sheikhzadeh[1]*,Gholam Behzad[2], Nasser Zare[3], Mitra Rostami[4]

1- Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2- MSc student of plant physiology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran.

3- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

4- Ph.D. Student of Agronomy, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil Iran and, Lecturer at Ardabil University of Applied Sciences, Ardabil, Iran.

Received: March 9, 2022 Accepted: September 26, 2022

* نویسنده مسئول Email: P_sheikhzadeh@uma.ac.ir

Abstract

To investigate the effects of selenium nanoparticles application on photosynthetic and biochemical characteristics and cold tolerance of oilseed rape, an experiment was carried out based on a randomized complete blocks design with three replications in the research farm station of the University of Mohaghegh Ardabili in 2018. The treatments consisted of foliar application of selenium nanoparticles (0 as control, 25, and 50 mg L^{-1}) applied at the 8-6 leaves stage. The results showed that selenium nanoparticles application significantly increased the RWC, photosynthetic pigments, antioxidant enzyme activity, winter survival, and grain yields of oilseed rape plants. The highest RWC, F_m, F_v, and F_v/F_m, proline content, and the activity of catalase and peroxidase enzymes were obtained with foliar application of 50 mg L^{-1} selenium nanoparticles. It seems that selenium nanoparticles application significantly increased the winter survival of oilseed rape plants by about 7.18 to 8.94 percent, by improving the F_v/F_m, the activity of the antioxidant enzymes, and proline content. Foliar application of 25 and 50 mg L^{-1} selenium nanoparticles caused about 28.10 and 34.19 percent increase in grain yield of oilseed rape as compared to control (no spraying) treatment, respectively. In general, the application of 50 mg L^{-1} selenium nanoparticles had positive and significant effects on the photosynthetic and biochemical characteristics, which resulted in increased cold tolerance of the oilseed rape plant.

Keywords: Antioxidant enzymes, chlorophyll fluorescence, foliar application, oilseed crop, winter survival.

مقاله قبل از انتشار

۱. مقدمه

کلزا (*Brassica napus* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات دانه روغنی در سراسر جهان است که ۱۳ درصد از مصرف سرانه جهانی روغن را به خود اختصاص داده است (Chen *et al*., 2020). کلزا به دلیل داشتن صفات و ویژگی‌هایی مانند ترکیب مناسب اسیدهای چرب، توانایی جوانه‌زنی و رشد در دماهای پایین و سازگاری نسبتاً خوب این گیاه با شرایط آب و هوایی مختلف، امکان کشت به‌صورت بهاره و پاییزه را دارد (Bybordi, 2016). تولید و عملکرد کلزای پاییزه معمولا بیشتر از کلزای بهاره است. بالا بودن عملکرد آن به دلیل استقرار مناسب گیاهچه در پاییز، طولانی بودن دوره رشد رویشی و استفاده بهتر از نزولات جوی می‌باشد به همین دلیل کشت کلزا بیشتر به‌صورت پاییزه انجام می‌شود (Pasan Eslam, 2013).

در مناطقی با زمستان‌های سرد و سخت بوته‌های کلزای سبز شده فرصت کافی برای رشد در طی دوره قبل از یخبندان را ندارند و رشد کم بوته‌ها باعث خسارت سرما به گیاهچه‌ها در طی این دوره می‌شود. اولین بخشی که در اثر سرما آسیب می‌بیند غشای پلاسمایی است و حفظ یکپارچگی آن دلیل اصلی ماندگاری گیاه در این شرایط است (Takahashi *et al*., 2013). سرما باعث تغییر در ترکیب لیپیدی غشای سلولی و مقدار و عملکرد آنزیم‌ها، تجمع کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه و پروتئین‌های محلول در سلول می‌شود (Leuendorf *et al*., 2020). کاهش میزان کلروفیل، مسدود شدن انتقال الکترون، کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) از اختلالات اصلی سرما می‌باشد (Jalilian *et al*., 2017).

مقاومت گیاهان به سرما، از عوامل مهمی است که سبب بقای گیاه در زمستان می‌شود. گیاهان متحمل به سرما از طریق افزایش میزان آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و همچنین ترکیبات غیرآنزیمی از جمله کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها از اثرات مخرب تنش اکسیداتیو ناشی از سرما، می‌کاهند (Rezaie *et al*., 2020). بررسی گونه‌های مقاوم و حساس به تنش سرما در کلزا نشان داد که در گونه مقاوم، میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و متابولیت‌هایی مانند پرولین افزایش می‌یابد (Lei *et al*., 2019). فلورسانس کلروفیل یک روش غیرتخریبی برای تخمین جریان الکترون و عملکرد سیستم فتوسنتزی در اثر عوامل نامساعد محیطی مانند سرما است (Zhao *et al*., 2020). یکی دیگر از صفاتی که می‌توان به عنوان معیار تحمل به سرما در مرحله گیاهچه‌ای در نظر گرفت، میزان پرولین و کارایی فتوسیستم II می‌باشد (Jalilian *et al*., 2017). بررسی بقای زمستانی بوته‌ها یکی دیگر از روش ارزیابی گیاهان برای مقاومت به سرما است. این روش در مقایسه با سایر روش‌های آزمایشگاهی ساده و کم خرج است و از قابلیت تکرارپذیری بیشتر و خطای آزمایشی کمتری برخوردار است (Monirifar & Sadegzadeh, 2014). از آنجا که سرما خسارات قابل توجهی را به گیاهچه‌ها در فصل پاییز و زمستان وارد می‌نماید، بنابراین استقرار مطلوب گیاهچه‌ها در مزرعه در پاییز و توانایی زنده‌مانی آن‌ها دو عامل مهم تأثیرگذار گزارش شده است (Ghassemi-Golezani *et al*., 2008). در این راستا روش‌های مقاوم‌سازی به سرما اهمیت به‌سزایی دارد. امروزه استفاده از عناصر غذایی کم‌مصرف (ریزمغذی‌ها) به عنوان یکی از راهکارهای افزایش مقاومت گیاهان زراعی به شرایط نامساعد محیطی و بهبود صفات فیزیولوژیکی و زراعی گیاهان تحت این شرایط به‌شمار می‌آید (Khalili Mahaleh & Roshdi, 2008).

عناصر کم‌مصرف، عناصری هستند که برای رشد طبیعی گیاه به‌مقدار کم مورد نیاز هستند و در بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه دخالت دارند (Aghighi Shahverdi *et al*., 2018). سلنیوم (Se) یکی از مهمترین ریزمغذی‌ها است که نقش مهمی در حفظ سلامتی انسان‌ها دارد، این عنصر در گیاهان به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند (Chauhan *et al*., 2019; Lapaz *et al*., 2019). سلنیوم از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز موجب خنثی شدن رادیکال‌های آزاد می‌شود و با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، تحمل گیاه را نسبت به شرایط نامساعد محیطی افزایش می‌دهد (Lu *et al*., 2020). این عمل به‌نوبه خود موجب افزایش پایداری غشای سلولی، افزایش محتوای نسبی آب برگ و کاهش روند تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردد (Elemike *et al*., 2019). کاربرد سلنیوم موجب افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئید در گوجه فرنگی (Khavarinezhad *et al*., 2010)، افزایش محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سیب‌زمینی (Germ *et al*., 2007) و همچنین افزایش فلورسانس بیشینه در کلم بروکلی (Ghasemi *et al*., 2016) شده است. تحقیقات نشان داد که محلول‌پاشی سلنیوم از طریق

افزایش محتوای کلروفیل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدی غشا باعث افزایش مقاومت گیاهچه‌های گندم در مقابل سرما می‌شود (Chu *et al.*, 2010).

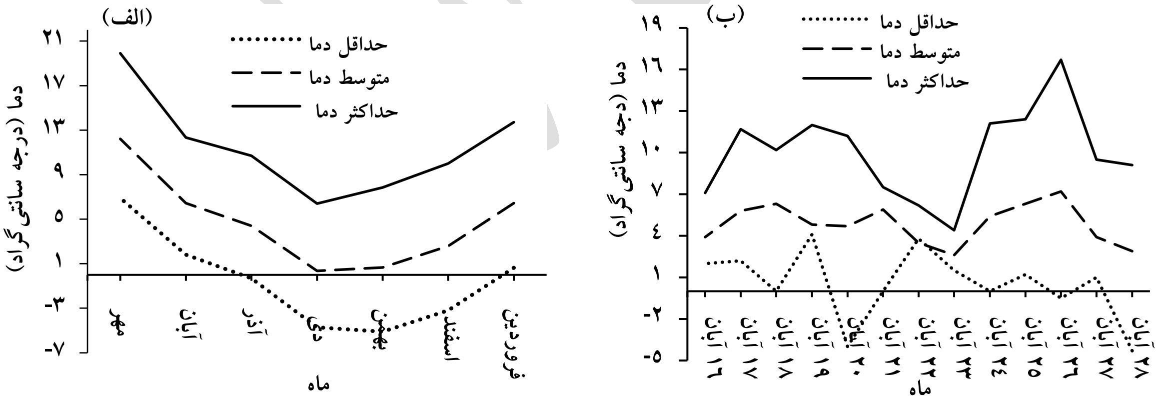
از آنجایی که در مناطق معتدل و سرد امکان بروز صدمات ناشی از سرما و یخبندان وجود دارد، استفاده از راهکارهای افزایش‌دهنده تحمل به سرما برای افزایش بقای زمستانی و استقرار مناسب گیاهچه‌ها می‌تواند از اهمیت به‌سزایی برخوردار باشد. با توجه به نقش مثبت سلنیوم در کاهش اثرات منفی تنش‌های محیطی، پژوهش حاصل به منظور بررسی تاثیر کاربرد نانوسلنیوم در مرحله روزت در شرایط مزرعه، با هدف ارائه راهکاری کاربردی و اقتصادی برای کشاورزان منطقه جهت حفاظت از گیاهچه‌های کلزا در برابر سرمای زمستانه انجام گردید.

۲. مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر به منظور بررسی تاثیر کاربرد نانوسلنیوم بر شاخص‌های فتوسنتزی و صفات بیوشیمیایی کلزای پاییزه در مرحله روزت در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی (با مختصات جغرافیایی ٤٨ درجه و ١٥ دقیقه طول جغرافیایی و ۳۸ درجه و ۲۳ دقیقه عرض جغرافیایی و به ارتفاع ۱۳۲۰ متر از سطح دریا) با شرایط آب و هوایی نیمه خشک سرد اجرا شد. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی در جدول (۱) و دمای منطقه در بازه زمانی محلول‌پاشی تا نمونه‌برداری در شکل (۱) ارائه شده است.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه در عمق ۳۰ سانتی‌متری

مشخصه	بافت خاک	pH	هدایت الکتریکی (ds/m^{-1})	پتاسیم (ppm)	فسفر (ppm)	نیتروژن (ppm)	کربن آلی (٪)	رس (٪)	سیلت (٪)	شن (٪)
مقادیر	لومی رسی	۷/۹	۲/٦٨	۲۰۲/۵	۱۱/۸۳	۰/۰٦	۰/٤٤	۱۵/۵	۵۳/۷۵	۳۰/۸



شکل ۱. دمای منطقه آزمایش در بازه زمانی کاشت تا اندازه‌گیری بقای زمستانه (الف) و محلول‌پاشی نانوسلنیوم تا نمونه‌برداری (ب)

آزمایش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار روی کلزای پاییزه رقم هیبرید گارو انجام گردید. به‌دلیل مرسوم بودن کشت این رقم در منطقه، بذرهای کلزا از مدیریت جهاد کشاورزی شهرستان اردبیل تهیه شد. تیمار مورد مطالعه شامل محلول‌پاشی با نانوسلنیوم در سه سطح (شاهد؛ محلول‌پاشی با آب مقطر، غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. نانوسلنیوم (سایز ذرات: ۱۰-٤۵ نانومتر، خلوص نانوذرات: ۹۹/۹۹ درصد، مساحت سطح ویژه نانو ذرات سلنیوم: ۳۰-۵۰ متر مربع بر گرم) مورد استفاده در این تحقیق از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان تهیه شده بود.

آماده‌سازی زمین با انجام عملیات دیسک، تسطیح و ایجاد جوی و پشته در اواسط شهریور انجام شد. هر کرت شامل شش خط کاشت به طول پنج متر بودند. کاشت بذرها در عمق دو سانتی‌متر از سطح خاک در (۲۰ شهریور ۱۳۹۷) در دو طرف پشته و به‌صورت

دستی انجام گردید. فاصله بین ردیف‌های کاشت ۲۵ سانتی‌متر و فاصله بذور روی ردیف چهار سانتی‌متر با تراکم ۷۰ بوته در مترمربع و میزان بذر مصرفی ۷ کیلوگرم در هکتار درنظر گرفته شد. تراکم مطلوب در بذور هیبرید نسبت به ارقام آزاد گرده افشان (غیرهیبرید) کمتر می‌باشد. در تحقیق حاضر با توجه به وجود سرمای شدید در فصل زمستان در منطقه و احتمال از بین رفتن تعداد زیادی از بوته‌ها در فصل زمستان در بعضی از سال‌ها، تراکم کاشت کمی بیشتر از حد معمول در نظر گرفته شد. آبیاری کرت‌ها بلافاصله بعد از کاشت و به‌صورت نشتی در جوی‌های ایجاد شده بین ردیف‌های کاشت انجام گردید. آبیاری در مراحل بعدی بسته به شرایط آب و هوایی و نیاز گیاه، انجام گرفت. همچنین در طول دوره رشدی وجین علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام شد.

در مرحله شش تا هشت برگی در تاریخ ۱۷ آبان ۱۳۹۷ محلول‌پاشی بوته‌ها با نانوسلنیوم با سمپاش پشتی دستی انجام شد. برای افزایش کارآیی محلول‌پاشی و جلوگیری از جمع شدن محلول در یک نقطه و ایجاد برگ سوختگی، از توبین ۲۰ استفاده گردید. برای افزایش راندمان جذب نانوسلنیوم، محلول‌پاشی هنگام صبح انجام شد تا رطوبت نسبی هوا بالاتر باشد. یک هفته بعد از اعمال تیمار، محلول‌پاشی نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری‌های صفات بیوشیمیایی و همچنین شاخص‌های فتوسنتزی انجام شد. میزان فلورسانس کلروفیل شامل فلورسانس کمینه (F_0)، فلورسانس بیشینه (F_m)، فلورسانس متغیر (F_v) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) با استفاده از دستگاه فلورسانس کلروفیل (مدل OS-30p، OPTI-SCIENCES,USA) اندازه‌گیری شد. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید با استفاده از روش Lichtenthaler (1987) تعیین و محتوای نسبی آب برگ با استفاده از روش Holaday (1992) محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز و پراکسیداز، عصاره آنزیمی از نمونه‌های گیاهی تهیه گردید. برای تهیه عصاره آنزیمی از روش Chang & Koa (1988) استفاده شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز براساس روش ارائه شده توسط Aebi (1984) و فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس روش ارائه شده توسط Chance & Maehly (1955) بر پایه تشکیل تتراگایاکول از گایاکول در حضور پراکسید هیدروژن و آنزیم گایاکول پراکسیداز اندازه‌گیری شد. میزان پراکسید هیدروژن نمونه‌ها براساس منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف پراکسید هیدروژن محاسبه شد (Sagisaka, 1976). اندازه‌گیری میزان پرولین با استفاده از روش Bates *et al.* (1973) صورت گرفت، به این ترتیب که یک گرم بافت برگی در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلک اسید ۳ درصد سائیده و محلول حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس به دو میلی‌لیتر از عصاره حاصل، دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین که ۱/۲۵ گرم پودر اسید نین‌هیدرین را در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال حل نموده و سپس ۲ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٦ مولار با آن اضافه کرده و سپس دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص اضافه گردید. لوله‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار داده شد و سپس ٤ میلی‌لیتر تولوئن به هر یک از لوله‌ها اضافه و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه توسط دستگاه ورتکس خوب به هم زده شد. پس از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز رنگی بالایی با دقت جدا و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل یو وی ۲۱۰۰ ساخت یونیکو آمریکا) با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. غلظت پرولین بر حسب میکروگرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

برای تعیین درصد بقای زمستانه یا درصد زنده‌مانی بوته‌ها، پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها و قبل از بارش برف و وقوع یخبندان و بعد از طی شدن فصل زمستان و یخبندان، تعداد بوته‌های مستقر شده در واحد سطح در هر واحد آزمایشی شمارش شد و با استفاده از رابطه (Assefa *et al.*, 2014) درصد بقای زمستانی محاسبه گردید. به منظور بررسی عملکرد دانه در زمان رسیدگی کامل، در هر واحد آزمایشی ۲ ردیف کناری و ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر ردیف به‌عنوان اثر حاشیه منظور گردید و برداشت از ٤ ردیف وسطی از سطحی معادل یک مترمربع برداشت انجام شد و عملکرد دانه بر حسب کیلوگرم در هکتار محاسبه گردید.

کلیه تجزیه‌های آماری و مقایسه میانگین داده‌های حاصل، پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، با نرم‌افزار SAS (نسخه 9.1) تجزیه گردید. ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات با استفاده از نرم‌افزار SPSS محاسبه گردید. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. رسم شکل و نمودارها با بهره‌گیری از نرم‌افزار Excel انجام پذیرفت.

۳. نتایج و بحث

براساس داده‌های هواشناسی (شکل ۱الف)، میانگین دمای حداقل در ماه‌های دی، بهمن و اسفند زیر صفر می‌باشد. کاهش قابل توجه دما در این ماه‌ها، شرایط مناسبی را برای ارزیابی تحمل به سرما فراهم نمود. همچنین در فاصله زمانی محلول‌پاشی تا نمونه‌برداری، دما در روزهای ۲۰ و ۲٦ آبان زیر صفر بوده است (شکل ۱ب).

۳. ۱. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) میزان کلروفیل‌های a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید به‌طور معنی‌داری تحت‌تاثیر تیمار نانوسلنیوم قرار گرفتند. همانطور که در جدول (۳) مشاهده می‌شود، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل بوته‌های محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف نانوسلنیوم (۲۵ و۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌طور معنی‌داری نسبت به بوته‌های شاهد (عدم کاربرد نانوسلنیوم) بیش‌تر بود. با افزایش غلظت نانوسلنیوم از ۲۵ به ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b و کلروفیل کل افزایش یافت و بیشترین میزان این رنگیزه‌ها در بوته‌های محلول‌پاشی شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم حاصل گردید، اما بین غلظت‌های مختلف نانوسلنیوم از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). کاربرد ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم موجب شد تا میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل به‌ترتیب در حدود ۳۱/۲۸، ٦٤ و ٤۰/۷۸ درصد نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد سلنیوم) افزایش یابد (جدول ۳). کاربرد غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم موجب شد تا میزان کاروتنوئید برگ‌های کلزا نسبت به تیمار شاهد افزایش یابد. در بین غلظت‌های مختلف نانوسلنیوم بیشترین میزان کاروتنوئید مربوط به بوته‌های تیمار شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم بود که به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. اگرچه کاربرد ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم موجب افزایش ۳٤/۹۷ درصدی میزان کاروتنوئیدهای برگ‌های کلزا گردید اما بین تیمار شاهد و غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۲. تجزیه واریانس محتوای کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ‌های کلزای پاییزه تحت‌تاثیر نانوسلنیوم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
بلوک	۲	۰/۰۰۲ ns	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۸ **	۰/۰۰۱ ns
نانوسلنیوم	۲	۰/۲۹۵ **	۰/۱۹۱ **	۰/۹٤۱ **	۱/۰۳۵ *
خطا	٤	۰/۰۱۸	۰/.۰۰۳	۰/۰۱۳	۰/۰۸۸
ضریب تغییرات(٪)		۳/۰۸	٤/۹	۳/٦۲	۱۲/۱۷

***، ** و ns: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و غیر معنی‌دار می‌باشند.**

جدول ۳. مقایسه میانگین کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در برگ‌های کلزای پاییزه تحت تاثیر نانوسلنیوم

تیمارها	کلروفیل a (mg/g Fw)	کلروفیل b (mg/g Fw)	کلروفیل کل (mg/g Fw)	کاروتنوئید (mg/g Fw)
شاهد (صفر)	۱/۷۹ b	۰/۷۵ b	۲/۵۵ b	۱/۸۳ b
۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم	۲/۳۱ a	۱/۱۲ a	۳/٤۳ a	۲/٤۷ ab
۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم	۲/۳۵ a	۱/۲۳ a	۳/۵۹ a	۳/۰۱ a

در هر ستون میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.

کاهش فتوسنتز در اثر سرما ممکن است به تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت داده شود به‌نظر می‌رسد یکی از دلایل افزایش محتوای کلروفیل برگی، تاثیر مثبت سلنیوم بر افزایش جذب منیزیم و آهن باشد که این موضوع موجب افزایش سنتز کلروفیل می‌گردد، علاوه بر این، سلنیوم ممکن است در بازسازی فراساختار کلروپلاست و سازماندهی مجدد تیلاکوئیدها و استروما شرکت کند و منجر به افزایش اندازه کلروپلاست شود (Feng *et al.*, 2013). همچنین سلنیوم با افزایش در محتوای کاروتنوئید می‌تواند سبب افزایش کلروفیل شود، زیرا کاروتنوئیدها، کلروفیل را از تخریب اکسیداسیون نوری حفاظت می‌کنند (Ghasemi *et al.*, 2016; Khademi astaneh *et al.*, 2017). کاربرد سلنیوم با کاهش تنش اکسیداتیو و جلوگیری از تخریب رنگیزه‌ها، سبب افزایش میزان کاروتنوئیدها می‌شود (Hawrylak-Nowak, 2015). میزان کاروتنوئید برگ‌های گوجه‌فرنگی (Abolghasemi & Haghighi, 2018) و گندم (Abedini *et al.*, 2021) با کاربرد سلنیوم افزایش یافت که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. از آنجایی که بین محتوای کلروفیل برگ و تحمل به سرما همبستگی مثبتی وجود دارد، می‌توان از این صفت به عنوان شاخصی برای نشان دادن تحمل به سرما استفاده کرد (Janmohammadi *et al.*, 2010; Bazl *et al.*, 2015)، بنابراین افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی با کاربرد نانوسلنیوم نشاندهنده بهبود تحمل بوته‌های کلزا به سرما است.

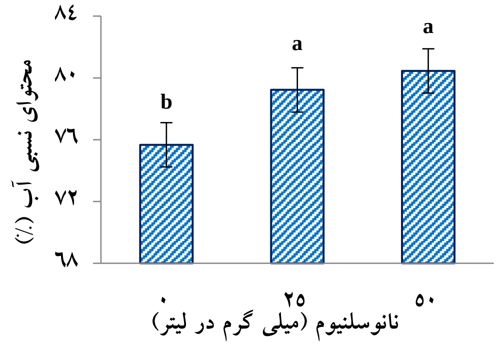
۳. ۲. محتوای نسبی آب برگ

محتوای نسبی آب برگ به‌طور معنی‌داری تحت‌تاثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی با نانوسلنیوم قرار گرفت (جدول ٤). میانگین محتوای نسبی آب برگ بوته‌های شاهد بطور معنی‌داری کمتر از محتوای نسبی آب برگ بوته‌های محلول‌پاشی شده با نانوسلنیوم بود. بیشترین محتوای نسبی آب برگ در بوته‌های محلول‌پاشی شده ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با محتوای نسبی آب برگ بوته‌های محلول‌پاشی شده ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم نداشت. با کاربرد غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم محتوای نسبی آب برگ به ترتیب در حدود ۳/٦٤ و ۵ درصد نسبت به بوته‌های شاهد افزایش یافت (شکل ۲). به‌نظر می‌رسد سلنیوم از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدها (Ajiboso & Adenuga, 2012; Feng *et al.*, 2013) و هم از طریق افزایش جذب آب به‌دلیل توسعه‌ی ریشه‌ها موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ می‌شود (Sun *et al.*, 2010). نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج Sajedi & Madani (2017) در گیاه جو و Dehghani Bidgoli (2019) درگیاه گون پنبه‌ای همخوانی دارد.

جدول ٤. تجزیه واریانس صفات محتوای نسبی آب برگ و فلورسانس کلروفیل برگ‌های کلزای پاییزه تحت‌تاثیر نانوسلنیوم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		محتوای نسبی آب برگ	F_0	F_m	F_v	F_v/F_m
بلوک	۲	۱/۵٤ ns	۸۰/۷۷ ns	۲٤۳٤/۱۱ ns	۳۳۵۹/۳۲ ns	۰/۰۰۱ **
نانوسلنیوم	۲	۱۸/۵۱ **	۲۲۱/٤٤ *	۱٦۵۹۱/٤٤ *	۲۰۵۱۷/٦۲ *	۰/۰۰٤ **
خطا	٤	۰/۸۹	۲۳/۷۷	۲۱۹۰/۷۷	۱۹۳٤/۰۷	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات(٪)		۲/۲۱	۳/۱۹	٦/٤٦	۷/٦۹	۲/٤۷

*، ** و ns: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و غیر معنی‌دار می‌باشند.



شکل ۲. میانگین محتوای نسبی آب برگ کلزای پاییزه تحت تاثیر نانوسلنیوم

۳. ۳. فلورسانس کلروفیل

اثر نانوسلنیوم روی فلورسانس کمینه (F_0)، فلورسانس بیشینه (F_m)، فلورسانس متغیر (F_v) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) معنی‌دار به‌دست آمد (جدول ٤). کاربرد غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم موجب کاهش F_0 در برگ‌های کلزای پاییزه شد. بیشترین میزان فلورسانس کمینه در تیمار عدم محلول‌پاشی (شاهد) حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از میزان فلورسانس کمینه برگ‌های تیمار شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم بود. اگرچه کاربرد غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم سبب کاهش میزان فلورسانس کمینه در حدود ٦/٦ درصد در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی گردید، اما از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و کاربرد ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم وجود نداشت. کمترین میزان فلورسانس کمینه با محلول‌پاشی برگ‌های کلزای پاییزه با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم حاصل شد که میزان این کاهش در حدود ۱۰/۵ درصد در مقایسه با تیمار شاهد بود (جدول ۵). میانگین فلورسانس بیشینه، فلورسانس متغیر و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برگ‌های کلزای محلول‌پاشی شده به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود (جدول ۵). با افزایش غلظت نانوسلنیوم از ۲۵ به ۵۰ میلی‌گرم در لیتر میزان F_m، F_v و F_v/F_m در برگ‌های کلزا افزایش یافت. به‌طوری که بیشترین میزان فلورسانس بیشینه، فلورسانس متغیر و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II در بوته‌های محلول‌پاشی شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم به‌دست آمد، اما تفاوت معنی‌داری با میزان F_m، F_v و F_v/F_m بوته‌های محلول‌پاشی شده با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم نداشت. کاربرد غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم موجب شد تا میزان فلورسانس بیشینه، فلورسانس متغیر و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برگ در گیاه کلزای پاییزه به‌ترتیب در حدود ۱۸/۱۵ و ۲۱/۸٦ درصد، ۲٦/۳۳ و ۳۲/٦٤ درصد و ۸/۱۱ و ۹/٤٦ درصد نسبت به تیمار عدم کاربرد نانوسلنیوم افزایش یابد (جدول ۵).

جدول ۵. مقایسه میانگین میزان فلورسانس کلروفیل برگ‌های کلزای پاییزه تحت تاثیر نانوسلنیوم

تیمارها	فلورسانس کمینه	فلورسانس بیشینه	فلورسانس متغیر	حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II
شاهد (صفر)	۱٦۲ a	٦۳۹ b	٤۷۷/۷ b	۰/۷٤ b
۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم	۱۵۱/۳ ab	۷۵۵ a	٦۰۳/۵ a	۰/۸ a
۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم	۱٤۵ b	۷۷۸/۷ a	٦۳۳/٦ a	۰/۸۱ a

در هر ستون میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ٪۵ می‌باشند.

به بخشی از انرژی نورانی که به‌وسیله رنگیزه‌های فتوسنتزی جذب نشده و در طول موج بلندتری بازتاب می‌شوند فلورسانس کلروفیل گفته می‌شود. میزان فلورسانس کلروفیل می‌تواند نشان‌دهنده توانایی گیاه در تحمل به تنش‌های محیطی، سالم بودن غشای تیلاکوئید و کارایی انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I می‌باشد (Baker, 2008). زمانی که مراکز واکنش فتوسیستم II بسته باشند، فلورسانس افزایش پیدا می‌کند و سرعت واکنش‌های فتوشیمیایی کاهش می‌یابد. هرچه سیستمی، الکترون بیشتری را پذیرش کند، Fm بالاتر و کارایی بیشتری خواهد داشت (Afshar Mohamadian *et al*., 2018). کاهش دما سبب افزایش میزان فلورسانس کمینه و کاهش فلورسانس بیشینه می‌شود (Hasani *et al*., 2014)، اما کاربرد غلظت‌های مختلف سلنیوم می‌تواند تا حدی از تخریب کلروپلاست‌ها جلوگیری کند، میزان فلورسانس کلروفیل را کاهش و محتوای کلروفیل‌ها را افزایش دهد (Filek *et al*., 2010).

فلورسانس متغیر (F_v) نشان‌دهنده وضعیت انتقال الکترون از بخش فتوسیستم به کوئینون A می‌باشد (Xia *et al*., 2004). F_v/F_m نیز نشان دهنده حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل انرژی نورانی به انرژی شیمیایی است و به عنوان شاخص مهمی برای نشان دادن اختلال فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Baker, 2008). با توجه به وجود رابطه مستقیم بین حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و بقای زمستانه می‌توان از این صفت به عنوان یک روش موثر در تعیین میزان خسارت به فرایند فتوسنتزی و به‌خصوص فتوسیستم II استفاده کرد (Nabati *et al*., 2018). Swoczyna *et al*. (2020) نیز گزارش دادند که میزان

بقای زمستانه در گیاهان ارتباط معنی‌داری با عملکرد کوانتومی دارند، تغییرات مربوط به فلورسانس کلروفیل و عملکرد فتوسیستم II، می‌تواند نقش کلیدی در توانایی گیاهان برای زنده ماندن در شرایط زمستانی داشته باشد. کاهش کارایی کمپلکس تجزیه کننده آب در اثر کاهش دما، نقش عمده‌ای در کاهش میزان انتقال الکترون به پذیرنده‌های الکترون فتوسیستم II دارد و منجر به ایجاد اختلال در فعالیت زنجیره انتقال الکترون می‌شود (Paeizi and Shariati, 2012). اختلال در انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I دلیل کاهش نسبت F_v/F_m در شرایط تنش، عنوان شده است (Afshar Mohamadian *et al.*, 2018). بنابراین هر عاملی که بتواند باعث افزایش انتقال الکترون شده و عملکرد فتوسیستم II را افزایش دهد، بر میزان بقای زمستانه موثر خواهد بود. سلنیوم با افزایش تولید کلروفیل و کاروتنوئید (جدول ۳)، کاهش فلورسانس کمینه و افزایش فلورسانس بیشینه باعث افزایش حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II شده است (جدول ۵). همچنین شباهت ساختاری سلنیوم با گوگرد باعث فعال شدن خوشه آهن-گوگرد در کلروپلاست می‌شود و به این ترتیب نقش مهمی در زنجیره انتقال الکترون دارد (Feng *et al.*, 2013). Shalaby *et al.* (2021) در خیار، افزایش F_v/F_m را در اثر کاربرد سلنیوم گزارش کردند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

۳. ٤. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در خنثی‌سازی اثرات تنش اکسیداتیو موثر است و با کاهش خسارت‌های سلولی یا تعدیل آن‌ها، مهمترین عامل تحمل سرما و مقابله با آن در گیاهان محسوب می‌شوند (Kazemi-Shahandashti & Maali-Amiri, 2018). تجزیه واریانس داده‌ها نشان داده که میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر تیمار نانوسلنیوم قرار گرفت (جدول ٦). میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بوته‌های محلول‌پاشی شده با نانوسلنیوم به‌طور معنی‌داری بیشتر از بوته‌های محلول‌پاشی‌نشده (تیمار شاهد) بود. کاربرد هر دو غلظت نانوسلنیوم سبب شد تا میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یابد. به‌طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با کاربرد ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم و آنزیم‌های پراکسیداز در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد، اما اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های به‌کار رفته از نظر آماری مشاهده نشد (جدول ۷). کاربرد غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم سبب شد تا میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در حدود ۸/۲۱ و ۷/٤٦ درصد و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب در حدود ۱۰/۵۸ و ۱۷/۳۱ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یابد (جدول ۷).

جدول ٦. تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی، بقای زمستانه بوته‌ها و عملکرد دانه کلزای پاییزه تحت تاثیر نانوسلنیوم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم پراکسیداز	پراکسید هیدروژن	پرولین	بقای زمستانه	عملکرد دانه
بلوک	۲	۰/۰۰۰۰۲	ns ۰/۰۰۰۰۰۰٦	ns ۰/۰۰۰۰۵	** ۰/۰۰۰۰٦	۰/٤٥۲	ns ۲٤٦۷/۱
نانوسلنیوم	۲	** ۰/۰۰۰۲	** ۰/۰۰۰۱	** ۰/۰۰۱۱	** ۰/۰۲۷	* ٥۱/٦۲۹	** ٦٤٤۱٤۹/۸
خطا	٤	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۰٦	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۹	٥/٦٤٦	۱٤٤۷/٤٤
ضریب تغییرات (٪)		۲/۷۹	۰/٥٦	۳/۷	۰/۳۸	۲/٥۸	۱/۲٤

*، ** و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و غیر معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۷. مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی برگ‌ها و عملکرد دانه در کلزای پاییزه تحت تاثیر نانوسلنیوم

غلظت‌های نانوسلنیوم	فعالیت آنزیم کاتالاز (unit/mg protein)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (unit/mg protein)	پراکسید هیدروژن (µmol/mg Fw)	پرولین (µg/g FW)	عملکرد دانه (kg/ha)
شاهد (صفر)	۰/۱۰۴ b	۰/۱۳۴ b	۰/۱۲۲ a	۰/۷۳۷ c	۲۵۴۰/۶۷ c
۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم	۰/۱۱۵ a	۰/۱۴۵ a	۰/۱۰۳ b	۰/۸۰۸ b	۳۲۵۴/۶۷ b
۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم	۰/۱۲۲ a	۰/۱۴۴ a	۰/۰۸۳ c	۰/۹۲۴ a	۳۴۰۹/۳۳ a

در هر ستون میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

سلنیوم با دارا بودن خصوصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند تنش‌های اکسیداتیو را از طریق بهبود فعالیت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی و نیز کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن فعال کاهش دهد (Broadley *et al*., 2010). همچنین سلنیوم جزء مهم آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز است که در مکانیسم‌های دفاع داخل سلولی علیه تنش اکسیداتیو از طریق جلوگیری از تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن شرکت می‌کند (Beladel *et al*., 2013). یافته‌ها نشان می‌دهد که سلنیوم ممکن است به عنوان یک محرک برای فعال کردن مسیرهای دفاعی عمل کند و به طور مستقیم در خاموش کردن O_2^- و OH^- در سلول گیاهی نقش داشته باشد (Nawaz *et al*., 2016). مصرف سلنیوم، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را در سورگوم (Abbas, 2012) و گندم (Rady *et al*., 2020) به‌طور معنی‌داری افزایش داد. با توجه به تایید افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اثر کاربرد سلنیوم در تحقیقات متعدد، انتظار می‌رود کاربرد سلنیوم با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب افزایش تحمل به سرما گردد. Lei *et al*. (2019) نیز ضمن تایید تاثیر مثبت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز، بر افزایش تحمل به سرما گزارش کردند که میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بوته‌های متحمل به سرما بیشتر از بوته‌های حساس می‌باشد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

۳. ۵. پراکسید هیدروژن

اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی نانوسلنیوم بر محتوای پراکسید هیدروژن معنی‌دار بود (جدول ۶). میزان پراکسید هیدروژن برگ بوته‌های محلول‌پاشی شده با نانوسلنیوم به‌طور معنی‌داری بیشتر از بوته‌های شاهد بود. کمترین محتوای پراکسید هیدروژن در تیمار کاربرد ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار کاربرد ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم و تیمار عدم کاربرد بود (جدول ۷). محلول‌پاشی بوته‌های کلزا با غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم موجب شد تا میزان پراکسید هیدروژن برگ‌های کلزا به ترتیب در حدود ۱۶/۶۶ و ۳۰/۸۳ درصد در مقایسه با تیمار عدم کاربرد نانوسلنیوم کاهش یابد (جدول ۷).

سرما سبب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در گیاهان می‌شود، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان نشان‌دهنده بروز تنش اکسیداتیو به‌عنوان یک تنش ثانویه است و تجمع آن در سطح سلولی زیان‌آور است (Wu *et al*., 2014). تنش اکسیداتیو از طریق پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها سبب خسارت به غشای سلولی و کاهش محتوای کلروفیل برگ (جدول ۳) می‌گردد (Bybordi *et al*., 2016). به‌نظر می‌رسد سلنیوم با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز (جدول ۷)، موجب خنثی شدن رادیکال‌های آزاد از جمله پراکسید هیدروژن می‌شود (Lu *et al*., 2020). افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در پژوهش حاضر، کاهش میزان پراکسید هیدروژن را توجیه می‌کند. کاهش میزان پراکسید هیدروژن در اثر کاربرد سلنیوم در گندم (Labanowska *et al*., 2012) و سورگم (Djanaguiraman *et al*., 2010) نیز مشاهده شده است.

۳. ۶. اسیدآمینه پرولین

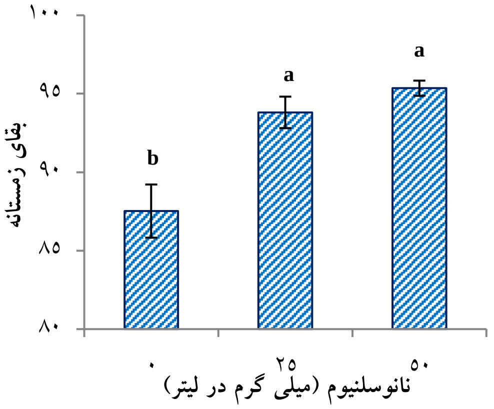
افزایش محتوای اسیدآمینه پرولین یکی از مهمترین مکانیسم‌های تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشد، هر چه میزان پرولین در گیاهان تحت تاثیر تنش‌های محیطی مانند سرما بیشتر باشد، می‌تواند میزان آسیب وارده به گیاه را کاهش داده و تحمل گیاه را در مقابل سرما افزایش دهد (Sasani *et al*., 2013). محتوای اسیدآمینه پرولین به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح نانوسلنیوم قرار

گرفت (جدول ٦). محتوای اسیدآمینه پرولین بوته‌های محلول‌پاشی شده با نانوسلنیوم به‌طور معنی‌داری بیشتر از بوته‌های شاهد بود. با افزایش غلظت نانوسلنیوم محتوای اسیدآمینه پرولین نیز افزایش معنی‌داری یافت. بیشترین محتوای اسیدآمینه پرولین با کاربرد غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از محتوای پرولین بوته‌های محلول‌پاشی شده با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم و بوته‌های محلول‌پاشی‌نشده (شاهد) بود. کاربرد غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم به‌ترتیب باعث افزایش ۹/۵۵ و ۲۵/۳۶ درصدی محتوای اسیدآمینه پرولین نسبت به بوته‌های شاهد شد (جدول ۷).

به‌نظر می‌رسد سلنیوم با افزیش میزان پرولین در القای تحمل به سرما و زنده‌مانی بوته‌های کلزا موثر باشد (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2010). تاثیر سلنیوم بر میزان پرولین می‌تواند به دلیل تأثیر آن بر یکی از آنزیم‌های متابولیسم پرولین به‌نام آنزیم γ-glu amyl kinase (γ-GK) باشد (Abbas, 2012). افزایش میزان پرولین در اثر کاربرد سلنیوم در جو (Akbulut & Cakir, 2010) و نعناع (Nazerieh *et al.*, 2018) مشاهد شده است که مطابق با پژوهش حاضر می‌باشد. پرولین یک اسیدآمینه حیاتی است که به عنوان تنظیم‌کننده اسمزی، تثبیت‌کننده ساختارهای پروتئینی، حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد و بازدارنده پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهان عمل می‌کند (Madebo *et al*., 2021). پرولین با حفظ پتانسیل اسمزی سلول نقش عمده‌ای در مقابله با شرایط نامساعد محیطی مانند سرما دارد (Zhao *et al*., 2020). براساس گزارش Jalilian *et al.* (2017) از میزان پرولین می‌توان به عنوان معیار تحمل به سرما در گیاهان استفاده کرد. نتایج پژوهش Sasani *et al.* (2013) نیز گویای وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین بقای زمستانه و انباشت پرولین در ارقام گندم بود.

۳. ۷. بقای زمستانه

درصد بقای زمستانه به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر تیمار نانوسلنیوم قرار گرفت (جدول ٦). درصد بقای بوته‌های محلول‌پاشی‌شده با نانوسلنیوم به‌طور معنی‌داری بیشتر از بوته‌های محلول‌پاشی‌نشده (تیمار شاهد) بود. کاربرد غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم به‌ترتیب باعث افزایش ۷/۱۹ و ۸/۹۵ درصدی بقای زمستانه بوته‌ها نسبت به بوته‌های شاهد شد (شکل ۳). بیشترین درصد زنده‌مانی در بوته‌های محلول‌پاشی شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیترنانوسلنیوم (۹۵/۳۵ درصد) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نداشت (شکل ۳).



شکل۳. میانگین درصد بقای زمستانه بوته‌های کلزای پاییزه تحت تاثیر نانوسلنیوم

درصد بقای زمستانه بوته‌ها در مزرعه، معیار مناسبی برای ارزیابی تحمل ارقام پاییزه کلزا نسبت به شرایط سرمای زمستان می‌باشد. بقای زمستانه و تحمل به سرما رابطه مستقیمی با فلورسانس کلروفیل (Nabati *et al*., 2018)، میزان انباشت پرولین (Sasani *et al.*, 2013) و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز (Lei *et al* ., 2019) دارد، بنابراین می‌توان از این صفات به عنوان شاخصی برای بررسی میزان تحمل به سرما استفاده کرد. در پژوهش حاضر نیز کاربرد سلنیوم با افزایش حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (جدول ۵)، افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و افزایش محتوای اسید آمینه پرولین (جدول ۷)، موجب افزایش درصد بقای زمستانه بوته‌های کلزا گردید. به نظر می‌رسد سلنیوم با افزایش توان فتوسنتزی گیاه و تولید بوته‌های

قوی‌تر و همچنین مهار گونه‌های فعال اکسیژن بر میزان تحمل بوته‌ها به سرما و در نتیجه بقای زمستانه موثر است. لازم به ذکر است که بخشی از کاهش میزان بقای زمستانه در تیمارهای مورد ارزیابی در تحقیق حاضر ممکن است ناشی از تراکم کاشت زیاد باشد.

۳. ۸. عملکرد دانه

نانوسلنیوم عملکرد دانه را به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر قرار داد (جدول ٦). عملکرد دانه در بوته‌های محلول‌پاشی شده با غلظت‌های مختلف نانوسلنیوم به‌طور معنی‌داری بیشتر از عملکرد دانه در بوته‌های شاهد بود. به‌طوری که محلول‌پاشی بوته‌های کلزا با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم سبب افزایش عملکرد دانه به‌ترتیب به میزان ۲۸/۱۰ و ۳٤/۱۹ درصد شد (جدول۷). با افزایش غلظت نانوسلنیوم، عملکرد دانه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین میزان عملکرد دانه در محلول‌پاشی با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید که به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای شاهد و غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم بود (جدول۷). افزایش عملکرد دانه بیانگر افزایش قدرت تولید در بوته‌های تحت تاثیر نانوسلنیوم می‌باشد. محلول‌پاشی بوته‌ها با نانوسلنیوم سبب می‌شود تا گیاه شرایط رشدی بهتری داشته و سریع‌تر رشد کنند و قبل از شروع سرمای زمستان بوته‌های قوی‌تر و متحمل‌تری تولید کنند (Goharian *et al.*, 2020). به‌نظر می‌رسد نانوسلنیوم با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (جدول۷) و رنگیزه‌های فتوسنتزی (جدول۳) موجب افزایش بقای زمستانه در بوته‌های کلزا (شکل ۳) گردیده که این موضوع در نهایت سبب افزایش عملکرد دانه (جدول ۷) شد. افزایش عملکرد دانه در اثر محلول‌پاشی با نانوسلنیوم در عدس(Thavarajah *et al.*, 2015) و برنج (Luo *et al.*, 2019) گزارش شده است که مطابق با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. لازم به توضیح است که مقادیر کم عملکرد دانه کلزا در تیمارهای مورد ارزیابی در تحقیق حاضر ممکن است ناشی از تراکم کاشت زیاد و خسارت سرمازدگی باشد.

۳. ۹. همبستگی ساده صفات

همبستگی بین صفات اندازه‌گیری‌شده براساس میانگین در جدول شماره ۸ درج شده است. همبستگی کلیه صفات به‌غیر از صفت فلورسانس کمینه با کاروتنوئید معنی‌دار می‌باشد. عملکرد دانه با رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلورسانس بیشینه، فلورسانس متغییر، حداکثر کارایی کوآنتومی فتوسیستم II، محتوای نسبی آب برگ، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بقای زمستانه رابطه مثبت و معنی‌داری و با فلورانس کمینه و میزان پراکسید هیدروژن همبستگی منفی و معنی‌داری دارد. عمکرد دانه بیشترین همبستگی را با رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل داشت (جدول ۸). دلیل همبستگی مثبت و معنی‌دار عملکرد با میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطح احتمال یک درصد اثر مستقیم و مثبت میزان کلروفیل کل بر عملکرد دانه می‌تواند به‌عنوان بهترین معیار جهت بهبود عملکرد دانه مطرح باشد. کلروفیل برگ از مهمترین شاخص‌های نشان‌دهنده فشار محیطی وارد بر گیاه می‌باشد و غلظت آن بیانگر قدرت منبع و یکی از عوامل کلیدی در تعیین سرعت فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌باشد (Shiri & Choukan., 2017). Luo *et al.* (2019) نیز گزارش کردند که افزایش تحمل به سرما را در اثر کاربرد سلنیوم به شدت با بهبود ظرفیت فتوسنتزی مرتبط است که هم راستا با نتایج پژوهش حاضر است.

همبستگی بین بقای زمستانه با صفاتی مانند رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلورسانس بیشینه، فلورسانس متغییر، حداکثر کارایی کوآنتومی فتوسیستم II، محتوای نسبی آب برگ، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای اسیدآمینه پرولین و عملکرد دانه مثبت و معنی‌دار و با صفات با فلورانس کمینه و میزان پراکسید هیدروژن منفی و معنی‌دار بود. بقای زمستانه بیشترین همبستگی را با میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز نشان داد (جدول ۸). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در فرآیند تحمل سرما بسیار حائز اهمیت می‌باشند، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیداتیو یکی از زمینه‌های امیدبخش در تحقیقات مرتبط با سرمازدگی بوده و محققان می‌توانند با تغییر در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سبب افزایش کارایی دفاع آنتی‌اکسیداتیو و در نهایت افزایش تحمل گیاه به یخ‌زدگی شوند (Anjum *et al.*, 2010). Karami *et al.* (2017) گزارش دادند که افزایش معنی‌دار و همزمان الگوی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و

کاتالاز، درجه تحمل ژنتیکی نخود به سرما را افزایش داده و یا اینکه سبب بهبود گیاه پس از اعمال تنش می‌شود که مطابق با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد.

جدول ۸. ضرایب همبستگی صفات اندازه‌گیری شده

صفات	۱	۲	۳	۴	۵	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱٤	۱۵
۱- کلروفیل a	۱														
۲- کلروفیل b	۰/۹۷**	۱													
۳- کلروفیل کل	۰/۹۹**	۰/۹۹**	۱												
٤- کاروتنوئید	۰/۸۲**	۰/۸۵**	۰/۸٤**	۱											
۵- فلورسانس کمینه	-۰/۷۳*	-۰/۷۰*	-۰/۷۲*	-۰/٦۱ ns	۱										
٦- فلورسانس بیشینه	۰/۷۹*	۰/۷۲*	۰/۷٦*	۰/۸٦**	-۰/۷۰**	۱									
۷- فلورسانس متغیر	۰/۸۰**	۰/۷۳*	۰/۷۸*	۰/۸٦**	-۰/۷۵**	۰/۹۹**	۱								
۸- کارایی فتوسیستم II	۰/۸٦**	۰/۷۹*	۰/۸۳**	۰/۸۳**	-۰/۸٤**	۰/۹٦**	۰/۹۸**	۱							
۹- محتوای نسبی آب	۰/۸۸**	۰/۸٤**	۰/۸۷**	۰/۸٤**	-۰/۸۲**	۰/۹۲**	۰/۹۳**	۰/۹۵**	۱						
۱۰- آنزیم کاتالاز	۰/۸٦**	۰/۸۸**	۰/۸۷**	۰/۸٦*	-۰/۷۵*	۰/۸۷**	۰/۸۸**	۰/۹۲**	۰/۹۱**	۱					
۱۱-آنزیم‌پراکسیداز	۰/۹٦**	۰/۹۳**	۰/۹٦**	۰/۷۸*	-۰/۷۱*	۰/۷۸**	۰/۸۰*	۰/۸۳**	۰/۸٤**	۰/۷۷*	۱				
۱۲- پراکسید هیدروژن	-۰/۸٤**	-۰/۸٦**	-۰/۸٦**	-۰/۸۸**	۰/۸۵**	-۰/۸۵**	-۰/۸۸**	-۰/۹۱*	-۰/۹۳**	-۰/۸٦**	-۰/۷۸*	۱			
۱۳- پرولین	۰/۸۲**	۰/۸۸**	۰/۸۵**	۰/۹۱**	-۰/۷۵*	۰/۷٤*	۰/۷٦*	۰/۷۹*	۰/۸۳**	۰/۸۹**	۰/۷٤*	-۰/۹٦**	۱		
۱٤- بقای زمستانه	۰/۸٤**	۰/۸۹**	۰/۸۷**	۰/۷۵*	-۰/۷٤*	۰/٦۸*	۰/۷۰*	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۹٤**	۰/۸٦**	-۰/۸۳**	۰/۸۰*	۱	
۱۵- عملکرد دانه	۰/۹۸**	۰/۹۷**	۰/۹۸**	۰/۸۹**	-۰/۷۷*	۰/۸٦**	۰/۸۷**	۰/۹۱**	۰/۹۱**	۰/۹۵**	۰/۹۵**	-۰/۹۱**	۰/۸۸**	۰/۹۱**	۱

*، ** و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌دار.

٤. نتیجه‌گیری

محلول‌پاشی نانوسلنیوم تأثیر مثبت و معنی‌داری بر کلیه صفات مورد بررسی داشت. بیشترین افزایش در محتوای نسبی آب برگ، فلورسانس بیشینه (F_m)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m)، فلورسانس متغیر (F_v)، محتوای اسید آمینه پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در بوته‌های محلول‌پاشی شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم به‌دست آمد. در شرایط عدم کاربرد نانوسلنیوم میزان آسیب به غشا بالا بود که به صورت افزایش میزان پراکسیدهیدروژن بروز یافت. بالاترین میزان فلورسانس کمینه (F_0) در شرایط شاهد مشاهده گردید. میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ‌های محلول‌پاشی شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم افزایش یافت. همچنین غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسلنیوم منجر به بیشترین محتوای نسبی آب برگ، F_m، F_v/F_m، F_v، محتوای اسید آمینه پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کمترین میزان پراکسید هیدروژن و F_0 گردید. به‌نظر می‌رسد نانوسلنیوم با کنترل آسیب‌های اکسیداتیو و جلوگیری از تخریب کلروفیل و غشاهای سلولی سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، افزایش کارایی کوانتومی فتوسیستم II و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و در نهایت موجب افزایش درصد زنده‌مانی بوته‌های کلزا و افزایش عملکرد محصول گردید. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات خصوصا عملکرد دانه با محتوای کلروفیل برگ و همچنین بقای زمستانه با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز، تاثیر مثبت نانوسلنیوم را در افزایش تحمل بوته‌های کلزا

مقاله قابل انتشار

به سرما تایید می‌کند. به‌طور کلی کاربرد برگی نانوسلنیوم به‌ویژه با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله روزت، شاخص‌های فتوسنتزی را بهبود بخشید و موجب تحریک فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در بوته‌های کلزای پاییزه گردید که این موضوع سبب افزایش تحمل به سرما و تولید عملکرد زیاد در بوته‌های کلزا شد. بنابراین می‌توان محلول‌پاشی نانوسلنیوم با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله ۸-٦ برگی (در فصل پاییز) را به عنوان یک تکنیک مفید برای افزایش تحمل به سرما و حفاظت گیاهچه‌های کلزا از آسیب‌های دمای پایین در مراحل اولیۀ رشد به کشاورزان مناطق سردسیر توصیه کرد.

۵. تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی به‌منظور تامین بخشی از هزینه‌های پژوهش حاضر، تشکر و قدردانی می گردد.

٦. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع

Abbas, S. M. (2012). Effects of low temperature and selenium application on growth and the physiological changes in sorghum seedlings. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, *8*(1), 268-286.

Abedini, M., Garebaghi, M., & Moradkhani, S. (2021). The effect of root and foliar application of selenium on some physiological and biochemical responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Journal of Plant Plant Environmental Physiology*, *16*(62), 95-108. (In Persian)

Abolghasemi, R., & Haghighi, M. (2018). Study of changes in greenhouse tomatoes treated with beneficial elements in the form of metal and nanometals. *Journal of Plant Process and Function*, *6*(19), 153-162. (In Persian)

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, *105*, 121–126. https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3

Afshar Mohamadian, M., Omidipour, M., & Jamal Omidi, F. (2018). Effect of different drought stress levels on chlorophyll fluorescence indices of two bean cultivars. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, *31*(3), 511-525. (In Persian).

Aghighi Shahverdi, M., Omidi, H., &. Tabatabaei, S. J. (2018). Effect of foliar application of selenium, boron and iron on some physiological traits and glycosides of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under salinity stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *33*(6) , 1017-1033. (In Persian).

Ajiboso, S. O. & Adenuga, G. A. (2012). The influence of zinc and selenium on some biochemical responses of *Vigna unguiculata* and *Zea mays* to water deficit condition and rehydration. *An International Journal of the Nigerian Society for Experimental Biology*, *24*(3), 108-115.

Akbulut, M. & Cakir, S. (2010). The effects of Se phytotoxicity on the antioxidant systems of leaf tissues in barley (*Hordeum vulgare* L.) seedling. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(2-3), 160-166. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.11.0011.

Anjum, N. A., Umar, S. & Chan, M.T. (2010). Ascorbate-glutathione pathway and stress tolerance in plants. *Springer Dordrecht Heidelberg*, 265–291. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9404-9

Assefa, Y., Roozeboom, K. & Stamm, M. (2014). Winter canola yield and survival as a function of environment, genetics, and management. *Crop Science*, *54*(5), 2303-2313 https://doi.org/10.2135/CROPSCI2013.10.0678

Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, *59*, 89-113. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759

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

Bazl, S., Karimi, R., Ershadi, A., Shahbodaghlo, A., & Rasouli, M. (2015). Effect of foliar application of methyl jasmonate in cold tolerance improvement of greenhouse-grown cucumber cv. 'Negin' seedlings. *Journal of Crops Improvement (Journal of Agriculture)*, *17*(2), 441-455. (In Persian)

Beladel, B., Nedjimi, B., Mansouri, A., Tahtat, D., Belamri, M., Tchanchane, A., Khelfaoui, F., & Benamar, M.E.A. (2013). Selenium content in wheat and estimation of the Selenium daily intake in different regions of Algeria. *Journal Applied Radiation and Isotopic*, 71(1), 7-10. https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2012.09.009

Broadley, M. R., Alcock, J., Alford, J., Cartwright, P., Foot, I., Fairweather-Tait, S. J., Hart, D. J., Hurst, R., Knott, P., McGrath, S. P., Meacham, M. C., Norman K., Mowat, H., Scott P., Stroud, J. L., Tovey, M., Tucker, M., White, P. J., Young, S. D., & Zhao, F. J. (2010). Selenium biofortification of high yielding winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by liquid or granular Se fertilization. *Plant and Soil*, *332*(1), 5-18. https://doi.org/10.1007/s11104-009-0234-4

Bybordi, A. (2016). Effect of zeolite and solubility of selenium, silicon on yield, yield components and some physiological properties of canola under stress conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *14*(1), 169-170. (In Persian)

Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymology*, *2*, 764-775. http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8

Chang, C. J., & Koa, C. H. (1988). H_2O_2 metabolism during senescence of rice leaves changes in enzyme activities in light and darkness. *Plant Growth Regulation*, *25*, 11-15.

Chauhan, R., Awasthi, S., Srivastava, S., Dwivedi, S., Pilon-Smits, E. A. H., Dhankher, O. P., & Tripathi, R. D. (2019). Understanding selenium metabolism in plants and its role as a beneficial element. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *49*(2), 1937-1958. https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1598240.

Chen, Y., Jia, X., Sun, F., Jiang, S., Liu, H., Liu, Q., & Kong, B. (2020). Using a stable pre-emulsified canola oil system that includes porcine plasma protein hydrolysates and oxidized tannic acid to partially replace pork fat in frankfurters. *Meat Science*, *160*, 107968. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107968

Chu, J., Yao, X., & Zhang, Z. (2010). Responses of wheat seedlings to exogenous selenium supply under cold stress. *Biological trace element research*, *136*, 355-363. https://doi.org/10.1007/s12011-009-8542-3

Dehghani Bidgoli, R. (2019). Effect of selenium nanoparticles (Se NPs), in the germination and some morphophysiological characteristics of (*Astragalus gossypinus Fisher*) in MS culture medium. *Iranian Journal of Rangeland and Desert Research*, *26*(4), 1068-1055. (In Persian)

Djanaguiraman, M., Prasad., P. V. V., & Seppanen, M. (2010). Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 999- 1007. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.09.009

Elemike, E., Euzoh, I. M., Onwudiwe, D. C., & Babalola, O. O. (2019). The role of nanotechnology in the fortification of plant nutrients and improvement of crop production. *Applied Sciences*, *9*(3), 1-32. https://doi.org/10.3390/app9030499

Feng, R., Wei, C., & Tu, M. S. (2013). The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, *87*, 58–68. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.09.002

Filek, M., Gzyl-Malcher, B., Zembala, M., Bednarska, E., Laggner, P., & Kriechbaum, M. (2010). Effect of selenium on characteristics of rape chloroplasts modified by cadmium. *Plant Physiology*, *167*(1), 28-33. https://doi.org/ 10.1016/j.jplph.2009.07.003

Germ, M., Kreft, I., Stibilj, V., & Urbanc-Berčič, O. (2007). Combined effects of selenium and drought on photosynthesis and mitochondrial respiration in potato. *Plant Physiology and Biochemistry*, *45*(2), 162-167. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.01.009

Ghasemi, Y., Ghasemi, K., Pirdashti, H., & Asgharzadeh, R. (2016). Effect of selenium enrichment on the growth, photosynthesis and mineral nutrition of broccoli. *Notulae Scientia Biologicae*, *8*(2), 199-203. https://doi.org/10.15835/nsb.8.2.9804

Ghassemi-Golezani, K., Khomari, S., Valizadeh, M., & Alyari, H. (2008). Effects of seed vigour and the duration of cold acclimation on freezing tolerance of winter oilseed rape. *Seed Science and Technology*, *36*(3), 767-775. https://doi.org/ 10.15258/sst.2008.36.3.26

Goharian, A., Shirani Rad, A., moaveni, P., Mozafari, H., & Sani, B. (2020). Foliar Application of Selenium and Zn to Improve the Yield and Yield Components of Rapeseed Genotypes under Conventional and Delayed Sowing Dates. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30(2), 157-176. (In Persian)

Hasani, Z., Pirdashti, H., Yaghoubian, Y., & Zaman Nouri, M. (2014). Application of chlorophyll fluorescence technique to evaluate the tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to cold temperature and water. *Journal of Cell and Tissue (JCT)*, *5*(2), 195-206. (In Persian)

Hawrylak-Nowak, B. (2015). Selenite is more efficient than selenate in alleviation of salt stress in lettuce plants. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, *57*(2), 49-54. https://doi.org/10.1515/abcsb-2015-0023

Hawrylak-Nowak, B., Matraszek, R., & Szymańska, M. (2010). Selenium modifies the effect of short-term chilling stress on cucumber plants. *Biological trace element research*, *138*(1), 307-315. https://doi.org/10.1007/s12011-010-8613-5

Holaday, A. S., Ritchie, S. W., & Nguyen, H. T. (1992). Effects of water deficit on gas-exchange parameters and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase activation in wheat. *Environmental and experimental botany*, *32*(4), 403-410. https://doi.org/10.1016/0098-8472(92)90053-5

Jalilian, M., Dehdari, M., Amiri Fahliani, R., & Movahedi Dehnovi, M. (2017). Study of cold tolerance of different sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars at seedling growth stage. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *10*(3), 475-490. (In Persian).

Janmohammadi, M., Tavakol Afshari, R., Mahfouzi, S., Alizadeh, H., Kamel, M., & Khiavi. M. (2010). Relationship among phenological development, physiological indices and freezing tolerance in winter wheat and rye under field conditions in moderate and cold regions. *Electronic Journal of Crop Production*, *3*(2), 115-137. (In Persian).

Karami, S., Maali-Amiri, R., Vafaee, H., Naziri, Y. (2017). Evaluation of some defense enzymes activities in chickpea plants under cold stress. *Agricultural Biotechnology Journal*, 8(4), 85-98. (In Persian).

Kazemi-Shahandashti, S. S., & Maali-Amiri, R. (2018). Global insights of protein responses to cold stress in plants: Signaling, defence, and degradation. *Journal of Plant Physiology*, *226*, 123-135. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.03.022

Khademi astaneh, R., Tabatabaie, S. J., & Bolandnazar, S. A. (2017). Effect of Se on yield and vegetative characteristics of brussels sprouts in hydroponics. *Journal of Horticultural Science*, *31*(1), 167-179. (In Persian).

Khalili Mahaleh, J., & Roshdi, M. (2008). Effect of foliar application of micro nutrients on quantitative and qualitative characteristics of 704 silage corn in Khoy. *Seed and Plant*, *24*(2), 281-293. (In Persian).

Khavarinezhad, R. A., Goshehgir, Z., & Saadatmand, S. (2010). The effects of Selenium-Molybdenum interaction on contents of photosynthetic pigments in tomato (*Lycopersicom esculentum* Mill.) *Journal of Plant Environmental Physiology*, *5*(1), 14-23. (In Persian).

Labanowska, M., Filek, M., Kościelniak, J., Kurdziel, M., Kulis, E., & Hartikainen, H. (2012) The effects of short-term selenium stress on Polish and Finnish wheat seedlings-EPR, enzymatic and fluorescence studies. *Journal of Plant Physiology*, *169*(3), 275-284. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.10.012

Lapaz, A. D. M., Santos, L. F. D. M., Yoshida, C. H. P., Heinrichs, R., Campos, M. & Reis, A. R. D. (2019). Physiological and toxic effects of selenium on seed germination of cowpea seedlings. *Bragantia*, *78*(4), 498-508. https://doi.org/10.1590/1678-4499.20190114

Lei, Y. A. N., Shah, T., Cheng, Y., Yan, L. U., Zhang, X. K. & Zou, X. L. (2019). Physiological and molecular responses to cold stress in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, *18*(12), 2742-2752. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62147-1

Luo, H., Du, B., He, L., Zheng, A., Pan, S., & Tang, X. (2019). Foliar application of sodium selenate induces regulation in yield formation, grain quality characters and 2-acetyl-1-pyrroline biosynthesis in fragrant rice. *BMC plant biology*, *19*(1), 1-12. https://doi.org/10.1186/s12870-019-2104-4

Leuendorf, J. E., Frank, M., & Schmülling, T. (2020). Acclimation, priming and memory in the response of *Arabidopsis thaliana* seedlings to cold stress. *Scientific reports*, *10*(1), 1-11. https://doi.org/10.1038/s41598-019-56797-x

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, *148*(11), 350-382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1

Lu, N., Wu, L., & Shi, M. (2020). Selenium enhances the vase life of *Lilium longiflorum* cut flower by regulating postharvest physiological characteristics. *Scientia Horticulturae*, *264*, 1-4. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109172

Madebo, M. P., Luo, S. M., Wang. L., Zheng, Y. H., & Jin, P., (2021). Melatonin treatment induces chilling tolerance by regulating the contents of polyamine, γ-aminobutyric acid, and proline in cucumber fruit. *Journal of Integrative Agriculture*, *20*(11), 3060-3074. https://doi.org/10.1016/s2095-3119(20)63485-2

Monirifar, H., & Sadegzadeh, M. B. (2014). Evaluation of cold tolerance in some alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes under field condition. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *7*(1), 93-103. (In Persian).

Nabati, J., Nezami, A., Hasanfard, A. R., & Haghighat Sheshvan, Zh. (2018). The trend of changes in chlorophyll fluorescence parameters in two *Vicia faba* ecotype during freezing stresses. *Iranian Journal Pulses Research*, *9*(2), 139-150. (In Persian).

Nazerieh, H., Ardebili, Z. O., Iranbakhsh, A. (2018). Potential benefits and toxicity of nanoselenium and nitric oxide in peppermint. *Acta agriculturae Slovenica*, *111*(2), 357-368. https://doi.org/10.14720/aas.2018.111.2.11

Nawaz, F., Naeem, M., Ashraf, M. Y., Tahir, M. N., Zulfiqar, B., Salahuddin, M., Shabbir, R.N. & Aslam, M. (2016). Selenium supplementation affects physiological and biochemical processes to improve fodder yield and quality of maize (Zea mays L.) under water deficit conditions. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1438.

Paeizi, M., & Shariati, M. (2012). Effect of cold stress on PSII efficiency of dunaliella using chlorophyll a fluorescence kinetics. *Journal of Cell and Tissue*, *2*(4), 395-405. (In Persian).

Pasan Eslam, B. (2013). Effects of planting dates on yield and yield components of fall rape oilseed cultivars. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *44*(1), 1-8. (In Persian).

Rady, M., Semida, W. M., El-Mageed, T. A. A., Howladar, S. M., & Shaaban, A. (2020). Foliage applied selenium improves photosynthetic efficiency, antioxidant potential and wheat productivity under drought stress. *Intrenational Journal of Agriculture and Biology*, *24*, 1293-1300. https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1562

Rezaie, R., Mandoulakani, B. A., & Fattahi, M. (2020). Cold stress changes antioxidant defense system, phenylpropanoid contents and expression of genes involved in their biosynthesis in *Ocimum basilicum* L. *Scientific reports*, *10*(1), 1-10. https://doi.org/10.1038/s41598-020-62090-z

Sagisaka, S. (1976). The occurrence of peroxide in a perennial plant Populas gelrica. *Plant Physiology*, 57, 308-309. https://doi.org/10.1104/pp.57.2.308

Sajedi, N., & Madani, H. (2017). Improvement of some physiological traits, yield and yield components of wheat and barley by using sodium selenate and sodium selenite in dry land conditions. *Journal of Crop Ecophysiology*, *41*(1), 17-30. (In Persian).

Sasani, S., Tavakkol Afshari, R., & Mahfoozi, S. (2013). Low-temperature acclimation and the correlation of vernalization requirement with accumulation of some compatible solutes and physiological mechanisms in bread wheat. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *44*(2), 327-345. (In Persian).

Shalaby, T. A., Abd-Alkarim, E., El-Aidy, F., Hamed, E.S., Sharaf-Eldin, M., Taha, N., El-Ramady, H., Bayoumi, Y., & Reis, A. R. (2021). Nano-selenium, silicon and H_2O_2 boost growth and productivity of cucumber under combined salinity and heat stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *212*, 1-9. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111962.

Shiri, M. & Choukan, R. (2017). Evaluation of Maize Hybrids Tolerance to Drought Stress. *Journal of Crop Breeding*, 9(21), 89-99. (In Persian).

Sun, H. W., Ha, J., Liang, J. H. S., & Kang, W. (2010). Protective role of selenium on garlic growth under cadmium stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *41*(10), 1195-1204. https://doi.org/10.1080/00103621003721395

Swoczyna, T., Mojski, J., Baczewska-Dabrowska, A. H., Kalaji, H. M. & Elsheery, N. I. (2020). Can we predict winter survival in plants using chlorophyll a fluorescence? *Photosynthetica*, *58*(2), 433-442. https://doi.org/10.32615/ps.2019.181

Takahashi, D., Kawamura, Y., & Uemura, M. (2013). Changes of detergent-resistant plasma membrane proteins in oat and rye during cold acclimation: association with differential freezing tolerance. *Journal of proteome research*, *12*(11), 4998-5011. https://doi.org/10.1021/pr400750g

Thavarajah, D., Thavarajah, P., Vial, E., Gebhardt, M., Lacher, C., Kumar, S. & Combs. G.F. (2015). Will selenium increase lentil (*Lens culinaris* Medik) yield and seed quality? *Frontiers in Plant Science*, *6*, 356-364. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00356

Wu, Y., Wei, W., Pang, X., Wang, X., Zhang, H., Dong, B., Xing, Y., & Li, X. (2014). Comparative transcriptome profiling of a desert evergreen shrub, *Ammopiptanthus mongolicus*, in response to drought and cold stresses. *BMC genomics*, *15*(1), 1-16. https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-671

Xia, J., Li, Y., & Zou, D. (2004). Effects of salinity stress on PSII in *Ulva lactucaas* probed by chlorophyll fluorescence measurements. *Aquatic Botany*, *80*(2), 129-137. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2004.07.006

Zhao, Y., Han, Q., Ding, C., Huang, Y., Liao, J., Chen, T., Feng, S., Zhou, L., Zhang, Z., Chen, Y., Yuan, S., & Yung, M. (2020). Effect of low temperature on chlorophyll biosynthesis and chloroplast biogenesis of rice seedlings during greening. *International journal of molecular sciences*, *21*(4), 1390-1413. https://doi.org/10.3390/ijms21041390.

مقاله پذیرفته شده قبل از انتشار