

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin
e-mail: arkadiusz.telesinski@zut.edu.pl

MICHAŁ STRĘK, ARKADIUSZ TELESIŃSKI, JACEK WRÓBEL

**Oddziaływanie związków fluoru i selenu
na wybrane parametry biochemiczne siewek
dwóch odmian kukurydzy cukrowej
(*Zea mays* var. *saccharata*)**

Effect of fluoride and selenium compounds on selected biochemical parameters
of two cultivars of sweet corn (*Zea mays* var. *saccharata*) seedlings

Streszczenie. Celem badań było określenie wpływu fluoru (F) i selenu (Se) na wybrane parametry biochemiczne siewek dwóch odmian kukurydzy cukrowej: ‘Złota Karłowa’ i ‘Waza’. Doświadczenie wazonowe przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych na piasku gliniastym o zawartości C_{org} 8,7 g·kg⁻¹. Do próbek gleby wprowadzono, zarówno oddzielnie, jak i razem, w różnych kombinacjach fluor (w postaci NaF, tak aby ilość F wynosiła 10 mmol·kg⁻¹) lub/i selen na stopniach utlenienia +IV i +VI (odpowiednio jako H₂SeO₃ i H₂SeO₄, tak aby ilość Se wynosiła 0,05 mmol·kg⁻¹). Do każdej z kombinacji, o masie 1 kg, wysiano po 15 ziarniaków danej odmiany kukurydzy. Próbą odniesienia były rośliny rosnące w glebie bez dodatku F i Se. W siewkach kukurydzy w 14., 21. i 28. dniu oznaczono zawartość barwników asymilacyjnych (chlorofil a, chlorofil b, karotenoidy), polifenoli ogółem oraz proliny. Wprowadzenie do gleby fluoru i selenu, zarówno oddzielnie, jak i łącznie, spowodowało istotne zmiany oznaczanych parametrów biochemicznych. Wiązało się to również z cechami morfologicznymi siewek obu odmian kukurydzy cukrowej. We wszystkich kombinacjach, gdzie był obecny Se(VI), zaobserwowano uschnięcie siewek zaraz po siewie. Trudno jednoznacznie ocenić wpływ Se(IV) i F na oznaczane parametry. Wykazane zmiany zależne były zarówno od terminu pomiaru, jak i odmiany kukurydzy. Można jednak stwierdzić, że obecność w glebie Se(IV) i F w większym stopniu wpłynęła na zawartość barwników asymilacyjnych niż na koncentrację polifenoli ogółem i proliny. Zaznaczyła się ponadto istotna statystycznie dodatnia korelacja pomiędzy zawartością barwników asymilacyjnych a zawartością polifenoli ogółem i proliny.

Słowa kluczowe: fluor, selen, kukurydza, barwniki asymilacyjne, polifenole, prolina

WSTĘP

Fluor jest trzynastym pod względem zawartości pierwiastkiem w skorupie ziemskiej, osiągając średnio $700 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [Luo i in. 2004]. Z zasobów naturalnych fluor jest uwalniany do środowiska głównie w formie fluorków zarówno w wyniku różnorodnej działalności człowieka, jak i erupcji wulkanicznych [Bellomo i in. 2007]. Głównymi antropogenicznymi źródłami fluorków w środowisku naturalnym są huty glinu, stali, elektrownie spalające węgiel, fabryki ceramiki, szkła, cegielnie oraz produkcja i częste stosowanie nawozów fosforowych [Mourad i in. 2009]. Mogą one być przyczyną toksycznego dla roślin zanieczyszczenia gleby fluorem [McLaughlin i in. 2001].

Selen jest pierwiastkiem uznanym za ważny element procesów metabolicznych zwierząt, bakterii, a także roślin. Jego rola dotyczy przede wszystkim reakcji antyoksydacyjnych, gdzie jako składowa grupy prostetycznej enzymów selenozależnych, takich jak peroksydaza glutationowa, zapobiega peroksydacji białkowo-lipidowych błon komórkowych [Wang i in. 2012]. Deficyt tego pierwiastka to globalny problem, ponieważ jest przyczyną zwiększonej podatności na wiele chorób [Lyons i in. 2007]. Obieg selenu w łańcuchu pokarmowym rozpoczyna się w glebach [Borowska i in. 2015]. Jednak kwestia relacji pomiędzy ogólną ilością Se w glebie a jego pobieraniem przez rośliny jest złożona i nie zależy jedynie od jego ogólnej ilości w gruncie, ale także od zasobności gleby w różne frakcje i rodzaje tego pierwiastka [Wang i in. 2012].

Gleby na terenie Pomorza Zachodniego z jednej strony wielokrotnie charakteryzują się niską zawartością selenu, co wiąże się z potencjalną możliwością nawożenia ich tym pierwiastkiem. Z drugiej natomiast strony narażone są na nadmierną emisję związków fluoru wynikającą z obecności w tym rejonie emitora tego pierwiastka. Jak podają Telesiński i in. [2009a], wprowadzenie fluoru i selenu do gleby może mieć zarówno antagonistyczny, jak i synergistyczny wpływ na wybrane procesy metaboliczne w roślinach w niej rosnących. Dlatego też celem podjętych badań była analiza wpływu fluoru i selenu dodanych do gleby osobno i łącznie na zawartość barwników asymilacyjnych, polifenoli ogółem i proliny w częściach zielonych dwóch odmian kukurydzy cukrowej (*Zea mays* var. *saccharata*).

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Doświadczenie przeprowadzono na próbkach gleb pobranych z poziomu ornopróchnicznego (0–0,3 m) gleb rdzawych typowych Rolniczej Stacji Doświadczalnej w Lipniku. Gleba ta cechuje się składem granulometrycznym piasku gliniastego i zawartością $C_{\text{org}} 8,7 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Pobraną z pola glebę przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm i doprowadzono jej wilgotność do 60% maksymalnej pojemności wodnej. Następnie glebę podzielono na jednokilogramowe naważki, którymi, po wcześniejszym dodaniu wodnych roztworów kwasu selenowego (IV) – H_2SeO_3 , kwasu selenowego (VI) – H_2SeO_4 oraz fluorku sodu – NaF, w różnych kombinacjach, napełniono wazony. Dawki związków selenu przeliczono tak, aby ilość Se(IV) i Se(VI) wprowadzona do gleby wynosiła $0,05 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ gleby. Ilość wprowadzonego do gleby fluoru wynosiła natomiast $10 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ gleby. Przy doborze dawek kierowano się średnią zawartością selenu

i fluoru w glebach Polski. Do kolejnych wazonów wysiano po 15 ziarniaków dwóch odmian kukurydzy cukrowej: 'Złota Karłowa' i 'Waza'.

W trakcie doświadczeń rośliny były oświetlane lampą sodową Son-T-Agro-400 W firmy Philips, o natężeniu promieniowania na poziomie podłoża $90 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PAR (radiacja aktywna fotosyntetycznie). Fotoperiodyzm został ustalony na 12 h dnia i 12 h nocy.

W 14., 21. i 28. dniu doświadczenia pobrano zielone części roślin i oznaczono w nich spektrofotometrycznie zawartość chlorofilu a (Chl-a) i b (Chl-b) oraz karotenoidów (Car) metodą Arnona i in. [1956], w modyfikacji Lichtenthalera i Welburna [1983], polifenoli ogółem metodą Yu i in. [2002], a także proliny zgodnie z procedurą opisaną przez Batesa i in. [1973]. Do analiz wykorzystano spektrofotometr UV-1800 firmy Shimadzu.

Doświadczenie przeprowadzono trzykrotnie. W poszczególnych seriach zastosowano trzy powtórzenia. Ponadto w każdym doświadczeniu, a także w każdym powtórzeniu, w określonym terminie pomiaru wykonano trzy razy analizy zawartości wymienionych powyżej związków.

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji i porównano komplementarnie testem *post-hoc* Tukey HSD na poziomie istotności $p < 0,05$. Obliczono również współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy oznaczanymi parametrami biochemicznymi na dwóch poziomach istotności: $p < 0,05$ i $p < 0,01$.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wprowadzenie do gleby fluoru i seleniu, zarówno oddzielnie, jak i łącznie, spowodowało istotne zmiany oznaczanych parametrów biochemicznych. Wiązało to się również z cechami morfologicznymi siewek obu odmian kukurydzy cukrowej. Rośliny testowe najsilniej zareagowały na wprowadzenie do gleby Se(VI). We wszystkich kombinacjach, gdzie był obecny Se(VI), zaobserwowano uschnięcie siewek zaraz po skiełkowaniu i wypuszczeniu pierwszych liści flagowych. Dlatego w tych kombinacjach znikoma ilość uzyskanej zielonej masy uniemożliwiła wykonanie ustalonych analiz. Zmniejszenie zawartości suchej masy oraz zahamowanie wzrostu korzeni po zwiększeniu dawki seleniu zaobserwowała Hawrylak-Nowak [2008]. Jednakże efekt taki odnotowała wspomniana autorka dla Se(IV). Rozbieżność w oddziaływaniu seleniu na różnym stopniu utlenienia wynikać może z silniejszej adsorpcji Se(IV) na cząstkach gleby, przez co ta forma jest mniej dostępna dla roślin. Wang i in. [2012] podają, iż rośliny kukurydzy wskazują większe skłonności do transportowania Se(VI) do części nadziemnych, natomiast związki Se(IV) są wbudowywane w cząsteczki organiczne i magazynowane w korzeniach.

Po wprowadzeniu do gleby fluoru w siewkach pszenicy odmiany 'Złota Karłowa' zaobserwowano w 14. i 28. dniu doświadczenia istotny statystycznie spadek, a w 21. dniu doświadczenia – wzrost zawartości wszystkich oznaczanych barwników, w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Podobną zależność odnotowano w siewkach kukurydzy odmiany 'Waza', jednakże w przypadku chlorofilu b w 14. i 21. dniu doświadczenia zmiany te nie były istotne statystycznie. U odmiany 'Złota Karłowa' do-

datek fluoru najbardziej oddziaływał właśnie na zawartość chlorofilu b w siewkach, w których zanotowano zarówno największe obniżenie (20,6% w 14. dniu doświadczenia), jak i największe podwyższenie (24,3%) zawartości tego barwnika (tab. 1). W przypadku siewek odmiany 'Waza' obecność w glebie fluoru w największym stopniu zmniejszyła zawartość karotenoidów w 14. dniu doświadczenia (26,5%), a zwiększyła zawartość chlorofilu a w 21. dniu doświadczenia (7,6%).

Po aplikacji do gleby Se(IV) stwierdzono w siewkach kukurydzy cukrowej odmiany 'Złota Karłowa' w 14. dniu doświadczenia istotny statystycznie wzrost zawartości chlorofilu a oraz karotenoidów (odpowiednio o 12,81 i 11,89% w stosunku do roślin kontrolnych). W dwóch kolejnych terminach analiz wystąpił natomiast spadek zawartości wszystkich barwników asymilacyjnych, który był największy w przypadku chlorofilu a w 14. dniu doświadczenia (19,00%). Odmienne kształtowały się zmiany zawartości barwników w siewkach odmiany 'Waza', gdzie występowały nieregularne wahania ich zawartości w zależności od terminu pomiaru, nie zawsze istotne statystycznie. Spośród oznaczanych związków obecność w glebie Se(IV) w największym stopniu zwiększyła zawartość chlorofilu b w 21. dniu doświadczenia (13,52%), a zmniejszyła – w 28. dniu (11,40%).

Dodatek do gleby fluoru wraz z selenem (IV) nie wywołał, w porównaniu z kontrolą, istotnych statystycznie zmian zawartości chlorofilu a i chlorofilu b w siewkach odmiany 'Złota Karłowa' w dwóch pierwszych terminach pomiarów, podczas gdy w 28. dniu doświadczenia odnotowano zwiększenie koncentracji tych barwników, które wynosiło odpowiednio 25,05 i 22,60%. Zawartość karotenoidów natomiast, w porównaniu z kontrolą, uległa podwyższeniu w 14. (6,25%) i 21. (9,15%) dniu doświadczenia oraz obniżeniu w 28. dniu doświadczenia (23,88%). W siewkach odmiany 'Waza' w 14. dniu doświadczenia nie zaobserwowano istotnych zmian zawartości oznaczanych barwników asymilacyjnych pod wpływem F+Se(IV). Natomiast w 21. dniu doświadczenia odnotowano istotny statystycznie spadek (który dla chlorofilu a, chlorofilu b i karotenoidów wynosił odpowiednio 36,34; 35,42 i 35,46% w stosunku do kontroli), a w 28. dniu wzrost ich zawartości (odpowiednio o 33,89; 46,56 i 22,73%).

Na podstawie otrzymanych wyników trudno jednoznacznie ocenić wpływ F i Se na zawartość barwników asymilacyjnych. Baunthiyal i Ranghar [2014] podają, że toksyczny wpływ fluoru na rośliny polega głównie na redukcji syntezy chlorofilu, degradacji chloroplastów oraz inhibicji reakcji Hilla. Spadek zawartości barwników asymilacyjnych pod wpływem fluoru został wykazany przez wielu autorów w roślinach różnych gatunków [Kumar i Rao 2008, Reddy i Kaur 2008, Baunthiyal i Ranghar 2014, Ram i in. 2014]. Natomiast dane literaturowe dotyczące oddziaływania selenu na zawartość chlorofilu i karotenoidów są niejednoznaczne i w zależności od rodzaju aplikacji, dawki czy gatunku wskazują zarówno na brak wpływu [Valkama i in. 2003], jak i na działanie stymulujące [Dong i in. 2013, Zhong i Chen 2016, Naim i in. 2017], a także inhibitujące [Haghighi i in. 2016].

Zawartość polifenoli ogółem uległa istotnym statystycznie zmianom jedynie w siewkach odmiany 'Złota Karłowa' w 14. dniu doświadczenia po aplikacji F+Se(IV) (podwyższenie w stosunku do kontroli o 117,24%) oraz w siewkach odmiany 'Waza' w 28. dniu doświadczenia po wprowadzeniu osobno F i Se(IV) (obniżenie w stosunku do kontroli odpowiednio o 60,42 i 58,33%) (tab. 2). Kłódka i in. [2009] wykazali wzrost zawartości polifenoli ogółem w siewkach kukurydzy oraz innych gatunków roślin jedno-

Tabela 1. Zawartość barwników fotosyntetycznych w siewkach kukurydzy cukrowej rosnącej w glebie z dodatkiem fluoru lub/i selenu ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ św.m.)Table 1. Content of photosynthetic pigments in sweet corn seedlings grown in soil treated with fluoride or/and selenium ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ FW)

Odmiana Cultivar	Dodatek Addition	Dzień/Day		
		14	21	28
Chlorofil a/ Chlorophyll a (Chl-a)				
'Żłota Karłowa'	kontrola/ control	4,14 b	3,84 b	5,15 b
	F	3,75 d	4,35 a	4,24 d
	Se(IV)	4,67 a	3,32 e	4,17 e
	Se(VI)	–	–	–
	F+Se(IV)	4,21 b	3,87 b	3,86 g
	F+Se(VI)	–	–	–
'Waza'	kontrola/ control	4,06 bc	3,44 d	4,50 c
	F	3,01 e	3,70 c	3,72 h
	Se(IV)	3,94 c	3,75 c	4,01 f
	Se(VI)	–	–	–
	F+Se(IV)	4,18 b	2,19 f	5,98 a
	F+Se(VI)	–	–	–
Chlorofil b/ Chlorophyll b (Chl-b)				
'Żłota Karłowa'	kontrola/ control	1,36 a	1,11 b	1,46 b
	F	1,08 bcd	1,38 a	1,32 c
	Se(IV)	1,33 ab	0,96 c	1,19 d
	Se(VI)	–	–	–
	F+Se(IV)	1,18 abc	1,11 b	1,13 e
	F+Se(VI)	–	–	–
'Waza'	kontrola/ control	1,06 cd	0,96 c	1,31 c
	F	0,92 d	1,04 bc	1,08 f
	Se(IV)	1,01 cd	1,09 b	1,16 de
	Se(VI)	–	–	–
	F+Se(IV)	1,13 abcd	0,62 d	1,92 a
	F+Se(VI)	–	–	–
Karotenoidy/ Carotenoids (Car)				
'Żłota Karłowa'	kontrola/ control	1,60 c	1,53 c	2,01 b
	F	1,50 e	1,72 a	1,73 d
	Se(IV)	1,79 a	1,34 f	1,64 e
	Se(VI)	F+Se(IV)	1,18 abc	1,11 b
	F+Se(IV)	1,70 b	1,67 b	1,53 f
	F+Se(VI)	–	–	–
'Waza'	kontrola/ control	1,62 c	1,41 e	1,76 c
	F	1,19 f	1,48 d	1,46 g
	Se(IV)	1,54 de	1,47 d	1,62 e
	Se(VI)	–	–	–
	F+Se(IV)	1,59 cd	0,91 g	2,16 a
	F+Se(VI)	–	–	–

Wartości oznaczone tymi samymi literami w obrębie kolumn nie różnią się istotnie, $p < 0,05$; objaśnienia: fluor wprowadzono do gleby w dawce $10 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, selen wprowadzono do gleby w dawce $0,05 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, nie wykonano analiz w kombinacjach, w których obecny był Se(VI) z powodu zamierania roślin
 Values denoted with the same letters in columns, do not differ statistically, $p < 0,05$, fluoride was added to soil at the dose of $10 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, selenium was added to soil at the dose of $0,05 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, there were no analyzes in the combination with Se(VI) due to plant wither

Tabela 2. Zawartość polifenoli ogółem oraz proliny w siewkach kukurydzy cukrowej rosnącej w glebie z dodatkiem fluoru lub/i selenu

Table 2. Content of total polyphenols and proline in sweet corn seedlings grown in soil treated with fluoride or/and selenium

Odmiana Cultivar	Dodatek Addition	Dzień/Day		
		14	21	28
Polifenole ogółem (mg GAE·kg ⁻¹ św.m.)/ Total polyphenols (mg GAE·kg ⁻¹ FW)				
'Żłota Karłowa'	kontrola/ control	0,87 bc	0,48 a	0,43 ab
	F	0,97 bc	0,43 a	0,18 b
	Se(IV)	0,70 bc	0,44 a	0,43 ab
	Se(VI)	–	–	–
	F+Se(IV)	1,89 a	0,49 a	0,41 ab
	F+Se(VI)	–	–	–
'Waza'	kontrola/ control	0,54 bc	0,13 b	0,48 a
	F	0,81 bc	0,31ab	0,19 b
	Se(IV)	0,44 c	0,29 ab	0,20 b
	Se(VI)	–	–	–
	F+Se(IV)	1,20 b	0,20 b	0,29 ab
	F+Se(VI)	–	–	–
Prolina (μmol·kg ⁻¹ św.m.)/ Proline (μmol·kg ⁻¹ FW)				
'Żłota Karłowa'	kontrola/ control	0,31 a	0,19 a	0,14 b
	F	0,29 a	0,21 a	0,14 b
	Se(IV)	0,31 a	0,26 a	0,11 b
	Se(VI)	–	–	–
	F+Se(IV)	0,41 a	0,21 a	0,15 b
	F+Se(VI)	–	–	–
'Waza'	kontrola/ control	0,34 a	0,25 a	0,15 b
	F	0,26 a	0,24 a	0,12 b
	Se(IV)	0,28 a	0,29 a	0,15 b
	Se(VI)	–	–	–
	F+Se(IV)	0,34 a	0,24 a	0,20 a
	F+Se(VI)	–	–	–

Oznaczenia jak w tabeli 1/ Explanations as in Table 1

liściennych pod wpływem Se(IV). Potwierdziły to badania Telesińskiego i in. [2009b] na siewkach roślin dwuliściennych. Natomiast najczęściej obserwowanym oddziaływaniem fluoru na zawartość polifenoli ogółem było obniżenie ich koncentracji [Telesiński i in. 2012, Elloumi i in. 2016].

Zawartość proliny uległa natomiast istotnemu podwyższeniu tylko w siewkach odmiany 'Waza' w 28. dniu doświadczenia po aplikacji F+Se(IV) (o 33,33% w porównaniu z kontrolą). W literaturze niewiele jest doniesień na temat wpływu selenu na zawartość proliny. Natomiast co do fluoru badacze najczęściej stwierdzają, że zwiększał zawartość

proliny, co może świadczyć o występowaniu stresu oksydacyjnego [Yadu i in. 2016, Elloumi i in. 2017].

Na podstawie otrzymanych wyników trudno jednoznacznie określić rodzaj interakcji pomiędzy oddziaływaniem Se(IV) i F na oznaczane parametry. Telesiński i in. [2009a] wykazali, że w roślinach różnych odmian soi występował głównie antagonizm pomiędzy oddziaływaniem selenu i fluoru a aktywnością katalazy. W literaturze występuje szereg doniesień o antagonizmie selenu i fluoru, ale głównie w organizmach kręgowców. Taki charakter interakcji pomiędzy tymi pierwiastkami stwierdzono, badając ich wpływ na aktywność peroksydazy glutationowej w surowicy krwi [Gao i in. 2005] oraz dysmutazy ponadtlenkowej w nerkach szczurów [Yu i in. 2006], a także na aktywność aminotransferazy asparaginowej i dehydrogenazy mleczanowej w hepatocytach [Wang i in. 2004], czy dehydrogenazy bursztynianowej i oksydazy cytochromowej w mitochondriach komórek mięśni szkieletowych u ludzi [Pang i in. 1996].

Obliczone współczynniki korelacji liniowej Pearsona wykazały dodatnią, istotną statystycznie na poziomie $p < 0,01$ zależność pomiędzy zawartością chlorofilu a, chlorofilu b oraz karotenoidów, a także na poziomie $p < 0,05$ pomiędzy zawartością polifenoli ogółem i proliny (tab. 3).

Tabela 3. Współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy zawartością barwników asymilacyjnych, polifenoli ogółem i proliny w siewkach kukurydzy cukrowej rosnącej w glebie z dodatkiem fluoru lub/i selenu

Table 3. Pearson linear correlation coefficients between content of assimilation pigments, total polyphenols and proline in sweet corn seedlings grown in soil treated with fluoride or/and selenium

Parametry Parameters	Chl-a	Chl-b	Car	Phe	Pro
Chl-a		0,944	0,982	0,089	-0,103
Chl-b	**		0,915	0,014	-0,094
Car	**	**		0,095	-0,126
Phe					0,483
Pro				*	

* Istotne na poziomie $p < 0,05$ / Significant at level $p < 0.05$

** Istotne na poziomie $p < 0,01$ / Significant at level $p < 0.01$

WNIOSKI

1. Wprowadzenie do gleby fluoru i selenu, zarówno oddzielnie, jak i łącznie, spowodowało istotne zmiany oznaczanych parametrów biochemicznych siewek obu odmian kukurydzy cukrowej.

2. We wszystkich kombinacjach, gdzie był obecny Se(VI), zaobserwowano uschnięcie siewek zaraz po siewku.

3. Trudno jednoznacznie ocenić wpływ Se(IV) i F na oznaczane parametry – wykazane zmiany zależne były zarówno od dnia doświadczenia, jak i odmiany kukurydzy.

4. Obecność w glebie Se(IV) i F w większym stopniu wpłynęła na zawartość barwników asymilacyjnych niż na koncentrację polifenoli ogółem i proliny.

5. Istniała istotna statystycznie dodatnia korelacja pomiędzy zawartością barwników asymilacyjnych a zawartością polifenoli ogółem i proliny.

LITERATURA

- Arnon D.I., Allen M.B., Whatley F.R., 1956. Photosynthesis by isolated chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta.* 20, 449–461.
- Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39(1), 205–207.
- Baunthiyal M., Ranghar S., 2014. Physiological and biochemical responses of plants under fluoride stress. *Fluoride* 47(4), 287–293.
- Bellomo S., Aiuppa A., D'Alessandro W., Parello F., 2007. Environmental impact of magmatic fluorine emission in the Mt. Etna area. *J. Volcan. Geoth. Res.* 165, 87–101.
- Borowska K., Lemanowicz J., Koper J., Siwik-Ziomek A., Piotrowska-Długosz A., Polkowska M., 2015. Zależność między zawartością fitodostępnych form selenu, siarki i fosforu w glebie oraz ich wpływ na pobieranie selenu przez rośliny pszenicy ozimej w warunkach zróżnicowanego nawożenia. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 580, 3–11.
- Dong J.Z., Wang Y., Wang S.H., Yin L.P., Xu G.J., Zheng C., Lei C., Zhang M.Z., 2013. Selenium increases chlorogenic acid, chlorophyll and carotenoids of *Lycium chinense* leaves. *J. Sci. Food Agric.* 93(2), 310–315.
- Elloumi N., Amor A.B., Zouari M., Belhaj D., Abdallah F.B., Kallel M., 2016. adaptive biochemical responses of *Punica granatum* to atmospheric fluoride pollution. *Fluoride* 49(3 Pt 2), 357–369.
- Elloumi N., Zouari M., Mezghani I., Abdallah F.B., Woodward S., Kallel M., 2017. Adaptive biochemical and physiological responses of *Eriobotrya japonica* to fluoride air pollution. *Ecotoxicology* 26(7), 991–1001.
- Gao Y.-H., Fu S.-B., Xu C.-B., Wan G.-M., Wu Y., Sun D.-J. 2005. Action and antagonistic effects of selenium on fluorosis associated with brick tea. *Chin. J. Endemiol.* 24(1), 11–13.
- Haghighi M., Sheibanirad A., Pessarakli M., 2016. Effects of selenium as a beneficial element on growth and photosynthetic attributes of greenhouse cucumber. *J. Plant Nutr.* 39(10), 1493–1498.
- Hawrylak-Nowak B., 2008. Effect of selenium on selected macronutrients in maize plants. *J. Elem.* 13(4), 513–519.
- Kłódka D., Telesiński A., Mroczek J., Komsta A., 2009. Zmiany zawartości kwasu askorbinowego, glutationu, flawonoidów oraz związków fenolowych w wybranych gatunkach roślin w zależności od stopnia utlenienia selenu dodanego do podłoża. Część I. Rośliny jednoliścienne. *Ochr. Środ. Zas. Natur.* 40, 293–300.
- Kumar K.A., Rao A.V.B., 2008. Physiological responses to fluoride in two cultivars of mulberry. *World J. Agric. Sci.* 4(4), 463–466.
- Lichtenthaler H., Wellburn A., 1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 603, 591–592.
- Luo K., Ren D., Xu L., Dai S., Cao D., Feng F., Tan J., 2004. Fluoride content and distribution pattern in Chinese coals. *Int. J. Coal Geol.* 57, 143–149.
- Lyons M.P., Papazyan T.T., Surai P.F., 2007. Selenium in food chain and animal nutrition: lessons from nature – review. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20(7), 1135–1155.

- McLaughlin M.J., Stevens D.P., Keerthisinghe D.G., Cayley J.W.D., Ridley A.M., 2001. Contamination of soil with fluoride by long-term application of superphosphates to pastures and risk to grazing animals. *Austr. J. Soil Res.* 39, 627–640.
- Mourad N.M., Sharshar T., Elnimr T., Mousa M.A., 2009. Radioactivity and fluoride contamination derived from a phosphate fertilizer plant in Egypt. *Appl. Radiat. Isot.* 67, 1259–1268.
- Naim M.A., Matin M.A., Anee T.I., Hasanuzzaman M., Chowdhury I.F., Razafindrabe B.H.N., Hasanuzzaman M., 2017. Exogenous selenium improves growth, water balance and chlorophyll content in indica and japonica rice exposed to salinity. *Transylv. Rev.* 25(16), 4047–4057.
- Pang Y.X., Guo Y.Q., Zhu P., Fu K.W., Sun Y.F., Tang R.Q. 1996. The effects of fluoride, alone and in combination with selenium, on the morphology and histochemistry of skeletal muscle. *Fluoride* 29(2), 59–62.
- Ram A., Verma P., Gadi B.R., 2014. Effect of fluoride and salicylic acid on seedling growth and biochemical parameters of watermelon (*Citrullus lanatus*). *Fluoride* 47(1), 49–55.
- Reddy M.P., Kaur M., 2008. Sodium fluoride induced growth and metabolic changes in *Salicornia brachiata* Roxb. *Water Air Soil Pollut.* 188, 171–179.
- Telesiński A., Śnioszek M., Musik D., Paszun W., Hury G., 2009a. Określenie rodzaju interakcji pomiędzy oddziaływaniem związków selenu i fluoru na aktywność katalazy w roślinach soi (*Glycine max* L. Merr.). *Ochr. Środ. Zas. Natur.* 41, 227–235.
- Telesiński A., Kłódka D., Komsta A., Mroczek J., 2009b. Zmiany zawartości kwasu askorbinowego, glutationu, flawonoidów oraz związków fenolowych w wybranych gatunkach roślin w zależności od stopnia utlenienia selenu dodanego do podłoża. Część II. Rośliny dwuliścienne. *Ochr. Środ. Zas. Natur.* 40, 372–379.
- Telesiński A., Grzeszczuk M., Jadczyk D., Zakrzewska H., 2012. Fluoride content and biological value of flowers of some chamomile (*Matricaria recutita* L.) cultivars. *J. Elem.* 17(4), 703–712.
- Valkama E., Kivimäenpää M., Hartikainen H., Wulff A., 2003. The combined effects of enhanced UV-B radiation and selenium on growth, chlorophyll fluorescence and ultrastructure in strawberry (*Fragaria × ananassa*) and barley (*Hordeum vulgare*) treated in the field. *Agric. Forest Meteor.* 120, 267–278.
- Wang A., Xia T., Ru R., Yuan J., Chen X., Yang K., 2004. Antagonistic effects of selenium on oxidative stress, DNA damage, and apoptosis induced by fluoride in human hepatocytes. *Fluoride* 37(2), 107–116.
- Wang S., Liang D., Wang D., Wei W., Fu D., Lin Z., 2012. Selenium fractionation and speciation in agriculture soils and accumulation in corn (*Zea mays* L.) under field conditions in Shaanxi Province, China. *Sci. Total Environ.* 15, 159–164.
- Yadu B., Chandrakar V., Keshavkant S., 2016. Responses of plants to fluoride: an overview of oxidative stress and defense mechanisms. *Fluoride* 49(3 Pt 2), 293–302.
- Yu L., Haley S., Perret J., Harris M., Wilson J., Qian M., 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *J. Agric. Food Chem.* 50(6), 1619–1624.
- Yu R.-A., Xia T., Wang A.-G., Chen X.-M. 2006. Effect of selenium and zinc on renal oxidative stress and apoptosis induced by fluoride in rats. *Biomed. Environ. Stud.* 19(6), 439–444.
- Zhong Y., Chen J.J., 2016. Effects of selenium on biological and physiological properties of the duckweed *Landoltia punctata*. *Plant Biol.* 18(5), 797–804.

Summary. The aim of the study was to determine the effect of fluoride (F) and selenium (Se) on selected biochemical parameters of two sweet corn cultivars: ‘Złota Karłowa’ and ‘Waza’. A pot experiment was carried out in laboratory conditions on loamy sand with a C_{org} content of $8.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Soil samples were included in various combinations of fluoride (as NaF so that the amount of F

was 10 mmol·kg⁻¹) or/and selenium in two oxidation states +IV and +VI (as H₂SeO₃ and H₂SeO₄, respectively, so that the amount of Se was 0.05 mmol·kg⁻¹). 15 corn seeds of the same cultivar were seeded for each combination. The plants growing in soil without addition of F and Se were the reference. On days 14, 21 and 28 the contents of assimilation pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids), total polyphenols and proline were measured. The application of fluoride and selenium, both separately and together, caused significant changes in biochemical parameters. It also coincided with the morphological characteristics of the seedlings of both varieties of sweet corn. In all combinations with Se(VI), the seedlings were dried just after germination. It is difficult to unambiguously assess the influence of Se(IV) and F on the measured parameters. The observed changes were dependent on the date of measurement as well as the varieties of corn. However, it can be stated that the presence of Se(IV) and F soil significantly affected the content of assimilation pigments rather than the concentration of total polyphenols and proline. There was also a statistically significant positive correlation between the assimilation pigment content, and also between the total polyphenol content and proline content.

Key words: fluoride, selenium, corn, assimilation pigments, total polyphenols, proline

Orzymano/ Received: 30.08.2017
Zaakceptowano/ Accepted: 28.09.2017