

(OPEN ACCESS)

The effect of foliar spraying with selenium on some morphological and physiological indicators of lettuce (*Lactuca sativa*) under cadmium stress in hydroponic culture

Hajar Khanmohammadi¹, Behrooz Esmailpour^{*2}, Rasool Azarmi³, Zahra Aslani⁴, Ali Shahi Qaraler⁵

1. M.Sc. Graduate of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: hajarkhan1375@gmail.com
2. Corresponding Author, Professor, Dept. of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: behзмаiel@yahoo.com
3. Associate Prof., Dept. of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: r_azarmi@uma.ac.ir
4. Ph.D. Graduate of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: zaslani60@yahoo.com
5. Assistant Prof., Dept. of Plant Sciences and Medicinal Plants, Meshgin Shahr Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: a.shahi@uma.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: Cadmium is one of the most important environmental pollutants that causes serious damage to animals and plants. Selenium can play a role in reducing the toxic effects of heavy metals in soil. This study aimed to investigate the effect of selenium foliar application on the growth characteristics of lettuce under cadmium stress in greenhouse conditions.
Article history: Received: 05.07.2024 Revised: 05.29.2024 Accepted: 07.08.2024	
Keywords: Cadmium toxicity, Growth indicators, Hydroponics, Lettuce, Selenium foliar application	Materials and Methods: This research was carried out in the research greenhouse of Mohaghegh Ardabili University, in a factorial experiment based on completely randomized design with two factors and four replications under hydroponic cultivation conditions. The first factor included the application of cadmium metal in food solution at three concentrations (zero, 30 and 60 μM) and the second factor was spraying with selenium at three concentrations (zero, 75 and 150 μM).
	Results: The results showed that parameters such as leaf dry weight, number of leaves, stomatal conductance and chlorophyll decreased with increasing cadmium concentration, while parameters such as electrolyte diffusion, malondialdehyde and soluble sugars increased. So that the highest amount of leaf dry weight (4.1 gr), number of leaves (20.08), stomatal conductance (26.72), total chlorophyll (0.221), electrolyte leakage (76.45), malondialdehyde (0.072), soluble sugar (0.83) were obtained under cadmium-free conditions and at 60 μM cadmium concentration, respectively. Also, the results related to effect of the two mentioned factors showed that the highest relative content of RWC (65.95%), chlorophyll (0.18 mg/g FW) was obtained in the treatment without cadmium stress and the application of foliar spraying of 150 μM selenium, respectively. Also, selenium moderated stress and effects of stress in plants that were under

heavy metal stress, so that the greatest effect of selenium foliar application was in high concentrations of heavy metal stress of cadmium.

Conclusion: In this study, it was tried to investigate the effects of selenium in modulating the toxicity of the heavy metal cadmium in lettuce plants from different aspects, and according to the results of this research, it can be concluded that cadmium toxicity causes disturbances in growth, physiological and biochemical characteristics in the growth of the lettuce plant is improved, and the use of selenium foliar spraying improved the growth characteristics and performance of the lettuce plant, and also reduced and moderated the effects of the heavy metal cadmium in the lettuce plant.

Cite this article: Khanmohammadi, Hajar, Esmailpour, Behrooz, Azarmi, Rasool, Aslani, Zahra, Shahi Qaraler, Ali. 2025. The effect of foliar spraying with selenium on some morphological and physiological indicators of lettuce (*Lactuca sativa*) under cadmium stress in hydroponic culture. *Journal of Plant Production Research*, 32 (1), 161-179.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/jopp.2024.22394.3140

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر محلول پاشی با سلیوم بر برخی شاخص های ریخت شناسی و فیزیولوژی کاهوی قرمز رقم 'Little Gem' (*Lactuca sativa*) تحت شرایط تنش کادمیوم

هاجر خانمحمدی^۱، بهروز اسماعیل پور^{۲*}، رسول آذرمی^۳، زهرا اصلانی^۴، علی شاهی قره لر^۵

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: hajarkhan1375@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: behsmail@yahoo.com
۳. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: r_azarmi@uma.ac.ir
۴. دانش آموخته دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: zaslani60@yahoo.com
۵. استادیار گروه علوم گیاهی و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشکین شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: a.shahi@uma.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: کادمیوم یکی از مهم ترین آلاینده های محیط زیست به شمار می رود که موجب صدمات جدی به جانداران و گیاهان می شود. سلیوم عنصری است که می تواند در کاهش اثرات سمیت فلزات سنگین در خاک نقش داشته باشد. این مطالعه باهدف بررسی تأثیر محلول پاشی سلیوم بر خصوصیات رشدی گیاه کاهو تحت تنش کادمیوم در شرایط گلخانه ای انجام گرفته شده است.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۹	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۸	
واژه های کلیدی: سبزی برگ، سلنات سدیم، شاخص های رشدی، فلزات سنگین	مواد و روش ها: این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل و چهار تکرار در شرایط کشت هیدروپونیک در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. عامل اول شامل کاربرد فلز کادمیوم (کلرید کادمیوم) در محلول غذایی در سه غلظت (صفر، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار) و عامل دوم محلول پاشی با سلیوم (سلنات سدیم) در سه غلظت (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بود.
	یافته ها: نتایج حاصل نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم پارامترهایی مانند وزن خشک برگ، تعداد برگ، هدایت روزنه ای و میزان کلروفیل کاهش اما در مقابل پارامترهایی مانند نشت

الکترولیتی، میزان مالون‌دی‌آلدئید و قندهای محلول افزایش یافتند. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان صفات وزن خشک برگ (۴/۱ گرم)، تعداد برگ (۲۰/۰۸)، هدایت روزنه‌ای (۲۶/۷۲)، کلروفیل کل (۰/۲۲۱) در شرایط بدون کادمیوم، درحالی‌که بیش‌ترین میزان صفات نشت الکترولیتی (۴۵/۷۶)، مالون‌دی‌آلدئید (۰/۰۷۲)، قند محلول (۰/۸۳) در غلظت ۶۰ میکرومولار کادمیم به‌دست آمد. هم‌چنین نتایج مربوط به اثر متقابل دو عامل مذکور نشان داد که بیش‌ترین محتوی نسبی آب برگ (۶۵/۹۵ درصد)، کلروفیل a (۰/۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در تیمار بدون تنش کادمیوم و کاربرد محلول‌پاشی سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار حاصل شد. هم‌چنین سلنیوم موجب تعدیل تنش و اثرات تنش در گیاهانی که تحت تنش فلزات سنگین بودند گردید، به‌طوری‌که بیش‌ترین تأثیر محلول‌پاشی سلنیوم در غلظت‌های بالای تنش فلز سنگین کادمیوم بود.

نتیجه‌گیری: سمیت کادمیوم موجب بروز اختلال در خصوصیات رشدی، فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی در رشد گیاه کاهو می‌شود، هم‌چنین محلول‌پاشی سلنیوم موجب بهبود خصوصیات رشدی و بهبود عملکرد گیاه کاهو شده و هم‌چنین موجب کاهش و تعدیل اثرات فلز سنگین کادمیوم در گیاه کاهو گردید.

استناد: خانمحمدی، هاجر، اسماعیل‌پور، بهروز، آذرمی، رسول، اصلانی، زهرا، شاهی قره‌لر، علی (۱۴۰۴). تأثیر محلول‌پاشی با سلنیوم بر برخی شاخص‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژی کاهوی قرمز رقم Little gem (*Lactuca sativa* 'Little Gem') تحت شرایط تنش کادمیوم. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۳۲ (۱)، ۱۶۱-۱۷۹.

DOI: 10.22069/jopp.2024.22394.3140



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

فلزات سنگین معمولاً به عنوان فلزاتی یا متالوئیدهایی با چگالی بالاتر (۵ گرم در سانتی متر مکعب) توصیف می شوند. برای رشد گیاه، برخی از فلزات سنگین (آهن، منگنز، روی، مس و نیکل) باید در غلظت های ایده آل به عنوان ریزمغذی های حیاتی وجود داشته باشند. درحالی که کادمیوم سرب و جیوه غیرضروری هستند و زمانی که در مقادیری فراتر از حد تحمل گیاهان وجود داشته باشند اثرات مضر دارند (۱). آلودگی فلزات سنگین یکی از عوامل غیرزیستی مؤثر بر بهره وری محصول کشاورزی است و هم چنین سلامت انسان را از طریق مصرف محصولات آلوده به این فلزات به عنوان منبع غذایی تهدید می کند. در سال های اخیر، به دلیل افزایش استفاده از فلزات سنگین برای مقاصد تجاری و اثرات مضر آنها بر گیاهان و سایر اشکال حیات، توجه زیادی را به خود جلب کرده اند (۲). قرار گرفتن گیاهان در معرض فلزات سنگین باعث ایجاد تنش اکسیداتیو به دلیل تشکیل رادیکال های آزاد می شود که سازوکارهای ریخت فیزیولوژیکی و زیست شیمیایی گیاه را در سطوح سلولی و بافتی تغییر می دهد. در نتیجه رشد و نمو متوقف شده و گیاهان پرورش یافته در خاک های آلوده به فلزات سنگین محصولات کمتری تولید می کنند (۳). فلزات سنگین از طریق ریشه از خاک وارد گیاه می شوند و به طور قابل توجهی بر چندین عملکرد ضروری گیاه، از جمله تغذیه معدنی، فتوسنتز، جذب آب و توزیع یون تأثیر منفی می گذارند (۲).

کادمیوم یکی از فلزات سنگین موجود در طبیعت می باشد. به علت وجود سمیت در غلظت های بالا مورد توجه زیادی قرار می گیرد (۴). این فلز سنگین در فرآیند رشد و نمو گیاهان اثر منفی می گذارد و به دلیل جذب بهتر در گیاه آسیب های سلولی و بافتی را

بر جای می گذارد (۵). کادمیوم به طور مستقیم یا غیرمستقیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تنفس، فتوسنتز، حرکت آب و تبادل گاز را مهار می کند و منجر به اختلال در سوخت و ساز گیاه می شود (۶). علاوه بر این، کادمیوم می تواند سوخت و ساز، تولید کلروفیل گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد و با افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) سیستم دفاع آنتی اکسیدانی را مختل کند (۷). جذب و تجمع کادمیوم می تواند بر رشد طبیعی گیاهان تأثیر بگذارد، تنش کادمیوم منجر به کاهش زیست توده و سرعت فتوسنتزی گیاهان می شود، هم چنین باعث آسیب اکسیداتیو و عدم تعادل جذب مواد مغذی می شود (۸ و ۹). تحریک تولید رادیکال های آزاد و پراکسیداسیون چربی ها توسط فلزات سنگین به خصوص کادمیوم گزارش شده است (۱۰). مهدوی و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند سمیت فلز سنگین کادمیوم در گیاه نعنای فلفلی موجب کاهش صفات رشدی مانند وزن تر اندام هوایی، تعداد برگ و ارتفاع بوته گردید (۱۱). در پژوهشی دیگر گزارش شده است که سمیت کادمیوم موجب کاهش خصوصیات ریخت شناسی و زیست شیمیایی گیاه مرزه شده است (۱۲). افزایش محتوی پروتئین و قندهای محلول و کاهش میزان کلروفیل a و b برگ در ارقام مختلف گندم تحت تنش کادمیوم گزارش شده است (۱۳).

سلنیوم یک ریزمغذی مهم است که به دلیل خواص آنتی اکسیدانی خود در گیاهان و حیوانات به طور گسترده ای شناخته شده است. کاربرد بیرونی سلنیوم از جذب و جابجایی فلزات سنگین جلوگیری می کند و سیستم آنتی اکسیدانی را بهبود می بخشد، بنابراین در گیاهان در برابر سمیت فلزات مقاومت ایجاد می کند. علاوه بر این، سلنیوم تولید اسمولیت های مختلف را در سلول ها تنظیم می کند که به توسعه اسمولار پشته سلولی کمک می کند (۱۴). یکی از

راهکارهای کاهش اثرات زیان‌بار کادمیوم استفاده از محلول‌پاشی با سلنیوم می‌باشد. با وجود این که نقش سلنیوم به‌طور کامل شناخته‌نشده است، اما عنصری ضروری برای انسان‌ها و حیوانات می‌باشد. افزودن کودهای سلنیوم‌دار به خاک افزایش رشد و عملکرد گیاهان را در پی دارد (۱۵). سلنیوم نقش به‌سزایی در خنثی کردن تنش‌های غیرزیستی در گیاهان دارا می‌باشد، بر اساس گزارش پژوهش‌گران، سلنیوم با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان موجب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (۶). در پژوهش انجام‌شده توسط مانجلویک و همکاران (۲۰۱۹)، استفاده از سلنات سدیم با غلظت ۲ میکرومولار روی گیاهچه گندم رشدیافته در محیط کشت تحت کلرید کادمیوم با غلظت ۶۰ میکرومولار موجب کاهش اثرات منفی کادمیوم بر رشد ریشه و اندام‌های هوایی گردید که نمایانگر تأثیر مثبت سلنیوم بر کاهش اثرات منفی کادمیوم می‌باشد (۱۶). حسن اوزمان و همکاران (۲۰۱۰)، با بررسی تأثیر سلنیوم بر رشد برنج، دریافتند که سلنیوم به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و نیز بیان داشتند که سلنیوم بر رشد و تحمل تنش و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مؤثر است (۱۷). این مطالعه باهدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی سلنیوم به‌عنوان ماده‌ای که تأثیر قابل‌توجهی در رشد و کاهش اثرات تنش در گیاهان داشته است بر خصوصیات رشدی، فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی گیاه کاهو تحت سمیت فلز سنگین کادمیوم در شرایط کشت گلخانه‌ای و در محیط کشت هیدروپونیک انجام‌گرفته شده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. در این آزمایش عامل

اول تیمار کادمیوم در غلظت‌های صفر، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار و عامل دوم محلول‌پاشی سلنیوم با غلظت‌های صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار بود. در این پژوهش از کاهوی قرمز رقم Little gem استفاده شد، برای کشت ابتدا بذرها در سینی کاشت با بستر کوکوپیت و پرلیت به نسبت ۱:۱ کاشته شدند و روزانه با محلول غذایی هوگلند (جدول ۱) آبیاری شد. نشاء کاهو پس از ۳ هفته به گلدان اصلی با عرض ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر انتقال گردید. اعمال تیمار کادمیوم، بعد از انتقال به گلدان‌های اصلی انجام شد، بدین‌ترتیب ابتدا محلول کلرید کادمیوم در غلظت‌های ۰، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار تهیه شد و با همراه با محلول غذایی انجام شد. مقدار آب مصرفی (محلول غذایی) در هر بار آبیاری ۳۰۰ میلی‌لیتر بود. محلول‌پاشی گیاهان با سلنیوم دو هفته بعد از اعمال تنش کادمیوم روی گیاهان کاهو در ساعت ۸ صبح با غلظت‌های صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار صورت گرفت و گیاهان شاهد با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. ۴ ماه بعد از کاشت، نمونه‌های گیاهی برای اندازه‌گیری پارامترهای رشدی، فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی برداشت شدند.

صفات رویشی: وزن تر اندام هوایی با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. سپس جهت ارزیابی وزن خشک، بوته‌های وزن شده را در پاکت‌های کاغذی قرار داده و به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. سپس وزن خشک با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ توزین گردید.

وزن خشک‌ریشه: ریشه‌ها پس از شستشو به پاکت‌های کاغذی منتقل شدند و برای خشک شدن به آون به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد انتقال گردید سپس وزن خشک توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ ثبت گردید.

صفات فیزیولوژیکی

هدایت روزنه‌ای: هدایت روزنه‌ای برگ، یک ماه بعد از اعمال تیمارها از جوان‌ترین برگ بالغ از ساعت ۱۱ تا ۱۴ ظهر توسط دستگاه پرومتر (SC-۱-England) ساخت کشور انگلیس اندازه‌گیری شد.

کلروفیل a, b و کل: برای اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل a, b و کل، ۰/۱ گرم از ماده‌تر گیاهی را در هاون

چینی قرار داده و با سه میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط گردید و به‌طور کامل هموژن شد. سپس با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. عصاره جداشده از عصاره حاصل برای اندازه‌گیری کلروفیل a در طول موج ۶۶۳ (رابطه ۱) نانومتر و کلروفیل b (رابطه ۲) در طول موج ۶۴۶/۸ نانومتر استفاده شد (۱۸).

$$Chla = (12.25) (A663.2) - (2.798) (A664.8) \times (V / (W \times 1000)) \quad (1)$$

$$Chlb = (21.21) (A646.8) - (5.1) (A663.2) \times (V / (W \times 1000)) \quad (2)$$

$$ChlT = Chla + Chlb \quad (3)$$

که در آن، W وزن نمونه، V حجم نمونه.

نشت الکترولیت: برای اندازه‌گیری شاخص نشت الکترولیت یا نشت مواد محلول، ۱۰ عدد دیسک برگ‌ی تهیه‌شده و در فالكون‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیرشده غوطه‌ور گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریک قرار داده

شدند. سپس هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_1) توسط دستگاه EC متر قرائت شد. در پایان نمونه به محلول برگردانیده و به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو نگهداری شد سپس مجدداً هدایت الکتریکی ثبت گردید. میزان درصد نشت الکترلیت با استفاده رابطه ۴ محاسبه گردید (۱۹).

$$EL (\%) = (EC1 / EC2) \times 100 \quad (4)$$

محتوای نسبی آب: برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ از روش ریتچی و همکاران (۱۹۹۰) استفاده شد. برای این منظور نمونه‌های برگ‌ی از برگ بالغ و توسعه‌یافته از هر بوته چیده شد و از هر برگ ۱۰ عدد دیسک برگ‌ی تهیه گردید، سپس وزن‌تر نمونه‌ها (FW) توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ ثبت گردید. همه نمونه‌های وزن شده در فالكون حاوی ۲۰

میلی‌لیتر آب دو بار تقطیرشده غوطه‌ور گردید و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتی‌گراد) و در تاریکی نگهداری، سپس وزن اشباع (TW) ثبت شد. در پایان نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند (DW). میزان محتوای نسبی آب از رابطه ۵ محاسبه گردید (۲۰).

$$RWC\% = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100 \quad (5)$$

پرولین: استخراج پرولین از برگ‌ها با استفاده از روش باتز و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. در این روش ۰/۱ گرم بافت برگ تازه در ۵ میلی‌لیتر سولفو اسید سالیسیک ۳ درصد سائیده و با سرعت ۱۲۰۰۰rpm در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به یک میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۱ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۱ میلی‌لیتر اسید استیک اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از آن به حمام یخ منتقل یافتند. مخلوط واکنش پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر تولوئن، به شدت ورتکس صورت گرفت و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و دو فاز از هم جدا گشت. سپس فاز بالایی با دقت جدا و مقدار جذب در دستگاه اسپکتروفتومتری با طول‌موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (۲۱).

قند محلول: برای اندازه‌گیری محتوای کربوهیدرات محلول از روش اموکلو و همکاران (۱۹۹۶) استفاده شد (۲۲).

مالون‌دی‌آلدئید (MDA): برای این منظور ۰/۱ گرم بافت‌تر برگ با ۳ میلی‌لیتر تری کربوکسیلیک اسید (TCA) یک درصد در هاون چینی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هموژن گردید و سپس ورتکس انجام گردید. میزان جذب محلول رویی حاصل در دو طول‌موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید (۲۳).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ۱ گرم ماده‌تر گیاهی در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم سرد ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷/۵) حاوی پلی وینیل پیرولیدون ۱ درصد و EDTA در داخل هاون چینی به‌خوبی ساییده شد. محلول به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سرانجام مایع روی را جدا و جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز استفاده گردید.

آسکوربات پراکسیداز: برای سنجش فعالیت این آنزیم ۹۰۰ میکرولیتر از محلول بافر فسفات سدیم (۱۰۰ میلی‌مولار با pH=۷)، ۵۰۰ میکرومولار اسید اسکوربیک، ۱ میلی‌مولار EDTA بدون سدیم و ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی باهم مخلوط شده و جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت شد. بعد از یک دقیقه توقف دوباره جذب قرائت گردید و اختلاف جذب محاسبه و فعالیت آنزیم محاسبه گردید (۲۴).

کاتالاز: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، ابتدا محلول بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار و pH=۷) تهیه شد، سپس ۱/۹۱ میلی‌لیتر بافر، ۱ میلی‌لیتر آب‌اکسیژنه (H_2O_2) ۲ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط شد. سپس ۴ میلی‌لیتر معرف تیتانیوم اضافه گردید بعد از ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. سپس در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر ثبت شد (۲۴).

عنصر کادمیوم: بدین‌منظور، مقدار ۱ گرم از نمونه پودر شده در بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و به آن ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۱:۱ افزوده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از سرد شدن خاکستر حاصل در ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۱:۱ حل شد و دوباره به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. درنهایت پس از سرد شدن عصاره را با کاغذ صافی واتمن صاف نموده و با دستگاه جذب اتمی پرکین المرسنجش گردید (۲۵).

تجزیه آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS ۹/۱ و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید.

جدول ۱- ترکیب محلول غذایی هوگلند برای کشت کاهو.

Table 1. Composition of Hoagland nutrient solution for *Lactuca sativa* cultivation.

غلظت Concentration (g/L)	عناصر Elements	غلظت Concentration (g/L)	عناصر Elements
0.684	نیترات کلسیم $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	2.86	اسید بوریک H_3BO_3
0.479	نیترات پتاسیم KNO_3	0.06	مولیبدات سدیم Na_2MoO_4
0.395	سولفات منیزیم MgSO_4	0.153	سولفات منگنز MnSO_4
0.42	مونو پتاسیم فسفات KH_2PO_4	0.136	سولفات روی ZnSO_4
0.39	سولفات مس CuSO_4	0.083	(Fe-EDDHA)138

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) تأثیر تنش کادمیوم بر صفات ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی بود، هم‌چنین اثر اصلی سلنیوم نیز روی صفات اندازه‌گیری شده صفات به‌جز پرولین معنی‌دار بود، این درحالی است که اثر متقابل سلنیوم و تنش کادمیوم بر صفات وزن خشک برگ، محتوی نسبی آب، کلروفیل a و b، آسکوربات، پرولین، کاتالاز و غلظت کادمیوم بخش هوایی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بوده است و بر وزن خشک برگ، تعداد برگ، هدایت روزنه‌ای، نشت الکترولیت و قند محلول معنی‌دار نبوده است.

پارامترهای رشدی: بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، کاربرد کادمیوم و سلنیوم بر وزن خشک برگ و تعداد برگ تأثیر معنی‌دار داشته است، درحالی‌که اثر متقابل این دو عامل معنی‌دار نبوده است. با افزایش غلظت کادمیوم وزن خشک برگ کاهش یافت، اما محلول پاشی با سلنیوم موجب افزایش وزن خشک برگ گردید. طبق نتایج مقایسات میانگین‌ها بیش‌ترین وزن خشک برگ (۵/۶۵ گرم) و تعداد برگ (۲۷/۷۵) در محلول پاشی ۱۵۰ میکرومولار سلنیوم و در شرایط بدون کادمیوم به‌دست آمد و کم‌ترین وزن خشک برگ (۴/۱ گرم) و تعداد برگ (۱۷/۷۵) در غلظت ۶۰ میکرومولار کادمیوم و بدون محلول پاشی سلنیوم به‌دست آمده است (جدول‌های ۳ و ۴).

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی با سلنیوم بر صفات اندازه‌گیری‌شده گیاه کاهو در شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم.

Table 2. Variance analysis of the effect of foliar spraying with selenium on the measured characteristics of *Lactuca sativa* under the stress of the heavy metal cadmium.

میانگین مربعات Mean Squares								df	منابع تغییرات S.O.V.
محتوای نسبی آب RWC	هدایت روزنه‌ای Stomatat conductance	کلروفیل کل Chlorophyll Total	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	وزن خشک‌ریشه Root dry weight	تعداد برگ Leaf number	وزن خشک برگ Leaf dry weight		
469.14**	332.120**	25.85**	0.52**	0.06**	0.03**	1040.5**	40.54**	2	کادمیوم Cadmium (C)
723.08**	56.045**	615.8**	8.3**	0.0065**	0.51**	128.117**	65.56**	2	سلنیوم Selenium (S)
130.63**	0.00 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.17**	0.0045**	0.01**	2.22 ^{ns}	0.505 ^{ns}	4	C×S
1.55	11.92	0.001	0.01	0.004	0.04	2.28	0.05	27	خطا Error
2.30	11.32	1.29	3.92	2.09	3.72	6.90	5.24		ضریب تغییرات (درصد) CV%

ادامه جدول ۲-

Continue Table 2.

میانگین مربعات Mean Squares							df	منابع تغییرات S.O.V.
کادمیوم برگ Cadmium leaves	کاتالاز Catalase	آسکوربات Ascorbate peroxidase	قند محلول soluble sugars	پروлін Proline	مالون دی آلدئید Malondialdehyde	نشت الکترولیتی Electrolyte leakage		
0.126**	0.288**	0.214**	1.766**	0.4397**	0.209**	3481.31**	2	کادمیوم Cadmium (C)
0.0174**	0.5825**	0.095**	0.3432**	0.0024 ^{ns}	0.013**	117.715**	2	سلنیوم Selenium (S)
0.005**	0.4835**	0.012**	0.0247 ^{ns}	0.0106**	0.01 ^{ns}	0.094 ^{ns}	4	C×S
0.05	0.04	0.15	0.108	0.145	0.03	16.39	27	خطا Error
25.29	10.57	6.49	6.08	11.71	4.14	5.11		ضریب تغییرات (درصد) CV%

** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و غیرمعنی‌دار

** and ^{ns} are significant at 1% probability level and non-significant, respectively

آمده از این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم صفات رویشی روند کاهشی داشتند. سمیت فلزات سنگین موجب تغییراتی در روند رشد و نمو گیاهان می‌شوند که این تأثیر می‌تواند به صورت اثر گذاری بر روند جوانه زنی، رشد ریشه و ساقه و برگ گیاهان باشد و در نهایت بر وزن کل خشک تأثیر بگذارد (۲۷). میزان کادمیومی که در بافت‌های گیاهی تجمع می‌یابد بر اساس گونه و اندام گیاه، سن برگ و رشد ظاهری ارتباط دارد (۲۸). تجمع فلزات سنگین در خاک به شدت بر جذب عناصر معدنی از خاک تأثیر می‌گذارد و در نتیجه رشد کلی و سوخت‌وساز گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با این حال، تیمار بیرونی با سلینیوم باعث افزایش جذب عناصر غذایی می‌شود و در نتیجه وضعیت تغذیه گیاهان را بهبود می‌بخشد (۲۹ و ۳۰).

مطابق با نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثر متقابل محلول پاشی سلینیوم و فلز سنگین کادمیوم بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. به طوری که بیش‌ترین وزن خشک (۱/۷۶ گرم) ریشه در محلول پاشی سلینیوم با غلظت ۱۵۰ میکرومولار در شرایط بدون کادمیوم به دست آمد و کم‌ترین میزان وزن خشک (۱/۶۰ گرم) ریشه در غلظت ۶۰ میکرومولار کادمیوم و بدون محلول پاشی سلینیوم به دست آمد (جدول ۵). غلظت بالای کادمیوم در خاک و جذب آن باعث کاهش فرایند سوخت‌وساز و فتوسنتز در گیاه می‌شود که در مجموع کاهش رشد و عملکرد گیاه را به دنبال دارد (۲۶). بر اساس نتایج به دست آمده، کاربرد فلز کادمیوم موجب کاهش رشدی ریشه گردید، در حالی که محلول پاشی سلینیوم موجب افزایش وزن خشک ریشه شد. نتایج به دست

جدول ۳- تأثیر اصلی فلز سنگین کادمیوم بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گیاه کاهو.

Table 3. The effect of the heavy metal cadmium on the parameters measured in *Lactuca sativa*.

کادمیوم Cadmium (μM)	وزن خشک برگ Leaf dry weight (gr)	تعداد برگ Leaf number	هدایت روزنه‌ای Stomatat conductance	کلروفیل کل Chlorophyll Total ($\text{mg g}^{-1} \text{fw}$)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	مالون دی آلدئید Malondialdehyd ($\text{nmol g}^{-1} \text{fw}$)	قند محلول soluble sugars ($\text{mg g}^{-1} \text{fw}$)
0	4.10 ^a	20.08 ^a	26.72 ^a	0.221 ^a	43.22 ^c	0.054 ^c	0.065 ^c
30	4.02 ^b	19.24 ^b	24.04 ^b	0.198 ^b	44.55 ^b	0.062 ^b	0.074 ^b
60	3.86 ^c	17.75 ^c	23.70 ^c	0.177 ^c	45.76 ^a	0.072 ^a	0.083 ^a

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشد

The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($P < 0.05$)

جدول ۴- تأثیر محلول پاشی سلینیوم بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گیاه کاهو.

Table 4. The effect of selenium foliar application on the parameters measured in *Lactuca sativa*.

سلینیوم Selenium (μM)	وزن خشک برگ Leaf dry weight (gr)	تعداد برگ Leaf number	هدایت روزنه‌ای Stomatat conductance	کلروفیل کل Chlorophyll Total ($\text{mg g}^{-1} \text{fw}$)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	مالون دی آلدئید Malondialdehyd ($\text{nmol g}^{-1} \text{fw}$)	قند محلول soluble sugars ($\text{mg g}^{-1} \text{fw}$)
0	4.22 ^c	20.48 ^c	24.04 ^b	0.201 ^c	38.83 ^c	0.069 ^a	0.680 ^c
75 (μM)	4.72 ^b	22.08 ^b	28.85 ^{ab}	0.341 ^b	37.29 ^b	0.062 ^b	0.887 ^b
150 (μM)	5.65 ^a	27.75 ^a	28.94 ^a	0.584 ^a	34.57 ^a	0.060 ^b	0.928 ^a

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشد

The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($P < 0.05$)

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کادمیوم و محلول‌پاشی سلنیوم نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم از میزان کلروفیل برگ کاهو کاسته شد. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان کلروفیل a (۰/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در تیمار ۶۰ میکرومولار کادمیوم بدون محلول‌پاشی سلنیوم دست آمد و محلول‌پاشی سلنیوم باعث افزایش و بهبود کلروفیل a گردید (جدول ۴). بیش‌ترین میزان کلروفیل a (۰/۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در تیمار بدون تنش کادمیوم و کاربرد سلنیوم با غلظت ۱۵۰ میکرومولار حاصل شد که از لحاظ آماری با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت. همچنین بالاترین مقدار کلروفیل b (۰/۰۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) با محلول‌پاشی سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار و در شرایط بدون کادمیوم به‌دست آمد که نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار بود. کم‌ترین مقدار (۰/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) این شاخص در کاربرد کادمیوم با غلظت ۶۰ میکرومولار بدون کاربرد محلول‌پاشی سلنیوم حاصل شد (جدول ۴). به‌علاوه مقایسه میانگین اثرات ساده تنش کادمیوم و محلول‌پاشی با سلنیوم نشان داد که کم‌ترین (۰/۱۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) و بیش‌ترین (۰/۵۸۴ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) میزان کلروفیل کل به ترتیب در تیمار تنش کادمیوم با غلظت ۶۰ میکرومولار و محلول‌پاشی سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار به دست آمد (جدول‌های ۳ و ۴).

بر اساس مطالعات قبلی انجام‌شده در اثر تیمار با کادمیوم در گیاهانی مانند شاهی (۳۱) و گوجه‌فرنگی (۱) میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش‌یافته است؛ که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد. تحت تنش نانو پلاستیک، تیمارهای سلنیوم افزایش قابل‌توجهی در غلظت رنگدانه‌ها ایجاد کردند که ممکن است نتیجه کاهش فوتواکسیداسیون رنگدانه و تخریب کلروفیل باشد (۳۲). کاربرد سلنیوم با تنظیم سازوکارهای

مختلف مانند متابولیت‌های ثانویه و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، اثرات نامطلوب تنش‌های زیستی و غیرزیستی را کاهش می‌دهد (۳۳). کاربرد سلنیوم فتوسنتز را با فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درگیر در سم‌زدایی ROS تحت تنش کادمیوم در گیاه فلفل (*Capsicum annuum* L.) افزایش داد (۳۴).

محتوای نسبی آب برگ: بر اساس نتایج مقایسات میانگین، محلول‌پاشی سلنیوم و فلز سنگین کادمیوم بیش‌ترین محتوای نسبی آب برگ کاهو (۶۵/۹۵ درصد)، مربوط به غلظت صفر کادمیوم و محلول‌پاشی ۱۵۰ میکرومولار سلنیوم بود و کم‌ترین میزان این صفت (۴۰/۰۷ درصد) مربوط به غلظت ۶۰ میکرومولار کادمیوم و بدون محلول‌پاشی سلنیوم بود (جدول ۵). محتوای نسبی آب برگ به‌عنوان شاخصی از وضعیت آب برگ‌ها می‌باشد که با افزایش شدت تنش از میزان آن کاسته می‌شود (۳۵). در راستای نتایج پژوهش حاضر، عزیزی و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند استفاده از کادمیوم موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ در گیاه مرزه تابستانی (*Satureja hortensis*) گردید و در مقابل محلول‌پاشی با سلنیوم محتوای نسبی آب برگ را بهبود بخشید (۱۲).

نشت الکترولیت: بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده محلول‌پاشی سلنیوم و فلز سنگین کادمیوم بر میزان نشت یونی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). هم‌چنین بیش‌ترین میزان نشت الکترولیت (۴۵/۷۶ درصد) مربوط به تیمار ۶۰ میکرومولار کادمیوم بود و کم‌ترین میزان نشت الکترولیت (۳۴/۵۷ درصد) مربوط به تیمار ۱۵۰ میکرومولار محلول‌پاشی سلنیوم بود (جدول‌های ۲ و ۳). یکی دیگر از آسیب‌هایی که فلزات سنگین به گیاه وارد می‌کند را می‌توان تخریب ساختار غشاء به علت پراکسیداسیون لیپیدی نام برد، غلظت بالای کادمیوم منجر به افزایش نشت یونی می‌شود که به دنبال آن

تخریب غشای سلول گیاهان را به دنبال خواهد داشت (۳۶). شواهدی مبنی بر شکستن آنزیمهای غشا در سمیت کادمیوم وجود دارد (۳۷)؛ که به کار بردن سلنیوم به صورت محلول پاشی در برطرف شدن این مشکل مؤثر است که احتمالاً به خاطر تأثیرات تنش زدایی محلول پاشی با سلنیوم باشد (۱۲). یافته های ما نشان می دهد که محلول پاشی با سلنیوم می تواند نشت الکترولیت برگ گیاه کاهو را کاهش دهد و با حفظ خاصیت اسمزی برگ در مقابل سمیت کادمیوم که موجب افزایش نشت الکترولیت در برگ می شود مقاومت گیاه را افزایش دهد.

هدایت روزنه ای: بر اساس نتایج به دست آمده، اثرات ساده محلول پاشی سلنیوم و فلز کادمیوم بر هدایت روزنه ای در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان هدایت روزنه ای (۲۸/۹۵) مربوط به تیمار محلول پاشی سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار بود و کمترین میزان هدایت روزنه ای (۲۳/۷۰) مربوط به تیمار فلز سنگین کادمیوم ۶۰ میکرومولار بود (جدول های ۳ و ۴). به نظر می رسد ورود فلز سنگین کادمیوم به گیاه، موجب کاهش هدایت روزنه ای ناشی از بسته شدن روزنه ها می شود که این پدیده ممکن است موجب کاهش محتوای نسبی آب در شرایط تحت تنش شود (۳۸).

مالون دی آلدئید: با افزایش غلظت کادمیوم میزان مالون دی آلدئید در برگ های کاهو افزایش یافت. به طوری که بیشترین میزان (۰/۰۷۲) نانو مول بر گرم وزن تر) مالون دی آلدئید در غلظت ۶۰ میکرومولار کادمیوم به دست آمد و کمترین میزان (۰/۰۵۴) نانو مول بر گرم وزن تر) این صفت در تیمار بدون تنش کادمیوم مشاهده شد. هم چنین کاربرد محلول پاشی سلنیوم باعث کاهش مقدار مالون دی آلدئید گردید. بیشترین میزان (۰/۰۶۷) نانو مول بر گرم وزن تر) مالون دی آلدئید در تیمار بدون کاربرد محلول پاشی

سلنیوم مشاهده شد که از لحاظ آماری با سایر تیمارها اختلاف معنی دار داشت؛ و کمترین میزان (۰/۰۶۴) نانو مول بر گرم وزن تر) مالون دی آلدئید در تیمار محلول پاشی سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار به دست آمد که تفاوت معنی داری با محلول پاشی سلنیوم ۷۵ میکرومولار نداشت (جدول های ۴ و ۵). محتوای مالون دی آلدئید که نشانگر پراکسیداسیون لیپیدی در اندامک های سلولی است، معمولاً در پاسخ به محرک های خارجی مختلف تنظیم می شود. در این مطالعه، در اثر کاربرد کادمیوم محتوای مالون دی آلدئید روند صعودی را نشان داد و تفاوت معنی داری بین تیمارها مشاهده شد و محلول پاشی با سلنیوم موجب کاهش میزان مالون دی آلدئید در مقایسه با گیاهان شاهد شد. مطابق با نتایج این پژوهش، کاربرد سلنیوم به صورت محلول پاشی در گندم موجب کاهش میزان مالون دی آلدئید شد (۳۹). برخی از مطالعات اشاره کرده اند که افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی به وسیله محلول پاشی با سلنیوم، پراکسیداسیون غشای لیپیدی را کاهش می دهد و یکپارچگی سیستم غشایی را حفظ می کند (۴۰).

پرولین: بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کادمیوم و محلول پاشی سلنیوم بر میزان پرولین معنی دار بوده و با افزایش میزان غلظت کادمیوم به میزان پرولین افزوده شد. بیشترین میزان (۰/۵۸۸) میکروگرم بر وزن تازه) پرولین در غلظت ۶۰ میکرومولار کادمیوم و محلول پاشی با سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار به دست آمد. کمترین میزان این صفت (۰/۲۵۹) میکروگرم بر وزن تر) در تیمار بدون محلول پاشی سلنیوم و در شرایط بدون تنش کادمیوم به دست آمد (جدول ۵) که از لحاظ آماری با سایر داده ها تفاوت معنی داری داشت. تنش فلزات سنگین بر تعادل آب در گیاهان تأثیر می گذارد و باعث افزایش زیادی در پرولین می شوند که در تنظیم

محتوای قند محلول تحت غلظت‌های مختلف کادمیوم کاهش یافت، این نتیجه ممکن است به دلیل تخریب کلروپلاست‌ها و متعاقب آن کاهش فتوسنتز با تشدید درجه تنش باشد (۴۵).

آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز: بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر متقابل فلز کادمیوم و محلول‌پاشی با سلنیوم بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز معنی‌دار بوده است. به‌طوری‌که در شرایط تنش کادمیوم با افزایش میزان غلظت کادمیوم بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز افزوده شد. همچنین براساس مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کادمیوم و محلول‌پاشی سلنیوم بالاترین میزان آنزیم کاتالاز و آسکوربات (۰/۰۷۶ و ۰/۰۳۶۱) در غلظت ۶۰ میکرومولار کادمیوم و محلول‌پاشی با سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار مشاهده گردید. کم‌ترین میزان این صفات (۰/۰۴۷ و ۰/۰۱۶) در تیمار بدون تنش کادمیوم و شرایط بدون استفاده از سلنیوم مشاهده شد (جدول ۵). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اولیه سوپراکسیداز دیسموتاز، کاتاز و پراکسیداز هستند. هنگامی‌که گیاهان تحت تنش فلزات سنگین قرار می‌گیرند، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌تدریج با افزایش غلظت فلزات سنگین افزایش می‌یابد، اما زمانی‌که غلظت فلزات سنگین خیلی زیاد شود، سیستم آنزیمی محافظ از بین می‌رود و فعالیت آنزیم کاهش می‌یابد (۴۶). مقاومت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برابر تنش فلزات سنگین یک فرآیند فیزیولوژیکی پیچیده است که تحت تأثیر گونه‌های گیاهی و غلظت و خواص فلز سنگین است (۴۷). در پژوهش‌های اوزفیدا و همکاران (۲۰۱۸)، محتوای پراکسیداز در برگ گندم تحت تنش کادمیوم به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت، اما محتوای سوپراکسیداز تغییری نکرد (۴۸). در پژوهش دیگری در گیاه *Sassafras tzumu* تحت غلظت‌های مختلف

اسمزی سلول‌ها نقش دارد (۴۱). به‌علاوه پرولین می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان برای کاهش خطر رادیکال‌های آزاد عمل کند و یکپارچگی غشا را با مهار پراکسیداسیون لیپیدی حفظ کند (۴۲). برخی از مطالعات نشان داده‌اند که انواع تنش‌های غیر زیستی باعث می‌شود گیاهان مقدار زیادی پرولین تولید و در اندام‌های خود انباشته کنند (۴۳). در پژوهشی بیان کردند که محلول‌پاشی سلنیوم موجب افزایش پرولین در گیاه گوجه‌فرنگی شده است که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد (۱).

قند محلول: مطابق با نتایج مقایسه میانگین با افزایش غلظت کادمیوم مقدار قند محلول در برگ‌های کاهو افزایش یافت. بیش‌ترین مقدار (۰/۸۳ میلی‌گرم بر وزن تازه) قند محلول در غلظت ۶۰ میکرومولار کادمیوم مشاهده شد. کم‌ترین میزان (۰/۶۵ میلی‌گرم بر وزن تازه) در تیمار بدون کاربرد کادمیوم حاصل شد. براساس مقایسه میانگین محلول‌پاشی سلنیوم، بیش‌ترین میزان (۰/۸۲۹ میلی‌گرم بر وزن تازه) قند محلول در تیمار محلول‌پاشی سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار مشاهده گردید و کم‌ترین میزان (۰/۶۸۰ میلی‌گرم بر وزن تازه) قند محلول در تیمار شاهد به‌دست آمد (جدول‌های ۴ و ۵). قند محلول نه‌تنها محصول فتوسنتز گیاهی است بلکه در فرآیند فتوسنتز گیاه نیز شرکت می‌کند که می‌تواند انرژی لازم برای رشد و نمو اندام‌های گیاهی را تامین کند و نقش مهمی در گیاهان ایفا کند. قند محلول می‌تواند پتانسیل اسمزی در سلول‌ها را کاهش دهد و پتانسیل آب سلولی و سوخت‌وساز طبیعی را حفظ کند (۴۱ و ۴۴). مطابق با نتایج این پژوهش میزان قند محلول در گیاه مرزنجوش تحت تیمار با کادمیوم افزایش پیدا کرد (۱۲). در مقابل نتایج به‌دست آمده از پژوهش زائو و همکاران (۲۰۲۱) کاهش میزان قند محلول با افزایش غلظت کادمیوم را بیان کردند و بیان نمودند

سelenium بر گیاهان اغلب به عنوان توانایی آن در افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول های آنها توصیف می شود (۴۹)؛ که سازوکار آنتی اکسیدانی سلولی را با افزایش فعالیت آنزیم های CAT، SOD و APX تقویت می کند که از غشای سلولی گیاه در برابر اکسیداسیون محافظت می کند (۵۰).

کادمیوم (۰، ۵، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) میزان فعالیت آنزیم سوپرکسیداز نسبت با شاهد کاهش یافت، فعالیت آنزیم کاتالاز اختلاف معنی داری با شاهد نداشت (۴۵). مالتار و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند فعالیت آنزیم های کاتالاز، آسکوربات، پراکسیداز در بافت برگ و ریشه گیاه *Eichhornia crassipes* تحت تنش سرب افزایش پیدا کرد. تأثیر سودمند

جدول ۵- تأثیر محلول پاشی سelenium و فلز سنگین کادمیوم بر شاخص های اندازه گیری شده در گیاه کاهو.

Table 5. The effect of foliar application of selenium and the heavy metal cadmium on the parameters measured *Lactuca sativa*.

کادمیوم برگ Cadmium leaves (mg/L)	پروline Proline (μmol g ⁻¹ fw)	کاتالاز Catalase (U g ⁻¹ fw)	آسکوربات Ascorbate peroxidase (U g ⁻¹ fw)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg g ⁻¹ fw)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg g ⁻¹ fw)	محتوای نسبی آب RWC (%)	وزن خشک ریشه Root dry weight (gr)	سelenium Selenium (μM)	کادمیوم Cadmium (μM)
0.00 ^f	0.25 ^h	0.047 ^e	0.016 ^e	0.050 ^{cd}	0.14 ^d	60.02 ^b	4.22 ^e	0	
0.00 ^f	0.36 ^{fg}	0.049 ^{de}	0.011 ^f	0.055 ^c	0.16 ^b	60.37 ^{ab}	4.72 ^e	75	0
0.00 ^f	0.36 ^{fg}	0.052 ^{de}	0.020 ^d	0.065 ^a	0.18 ^a	60.45 ^a	5.65 ^a	150	
0.19 ^b	0.36 ^{fg}	0.063 ^{cbd}	0.020 ^d	0.051 ^{cd}	0.12 ^e	49.10 ^d	4.10 ^e	0	
0.16 ^{bc}	0.41 ^{ef}	0.064 ^{cb}	0.025 ^c	0.061 ^b	0.14 ^d	50.23 ^{cd}	4.45 ^d	75	30
0.14 ^c	0.42 ^{ef}	0.067 ^b	0.025 ^c	0.044 ^d	0.15 ^c	53.45 ^c	4.86 ^b	150	
0.28 ^a	0.52 ^{cd}	0.070 ^b	0.023 ^{cd}	0.040 ^c	0.11 ^f	40.07 ^e	3.45 ^f	0	
0.18 ^b	0.56 ^{bc}	0.073 ^{ab}	0.035 ^{ab}	0.045 ^d	0.12 ^e	40.8 ^e	4.12 ^e	75	60
0.18 ^b	0.58 ^a	0.076 ^a	0.036 ^a	0.043 ^d	0.14 ^d	40.02 ^e	4.42 ^d	150	

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می باشد

The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test (P<0.05)

شرایط غلظت ۳۰ میکرومولار تنش کادمیوم به دست آمد (جدول ۵).

نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج به دست آمده، کاربرد فلز کادمیوم از طریق ایجاد تنش و تولید گونه های فعال اکسیژن موجب بروز اختلال در خصوصیات رشدی،

غلظت کادمیوم در بخش هوایی گیاه: مقایسه میانگین مربوط به اثرات متقابل کادمیوم و سelenium نشان داد که بیشترین میزان تجمع کادمیوم در قسمت هوایی (۰/۲۸۳ میلی گرم بر کیلوگرم) در غلظت ۶۰ میکرومولار کادمیوم و بدون کاربرد محلول پاشی سelenium و کمترین میزان تجمع (۰/۱۴۳) در تیمار محلول پاشی سelenium در غلظت ۱۵۰ میکرومولار در

این گیاه شد؛ بنابراین استفاده از سلنیوم به‌عنوان راهکار مناسبی می‌تواند در تولید سبزیجات در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مانند کادمیوم ارائه شود.

فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی گیاه کاهو گردید، هم‌چنین استفاده از محلول‌پاشی سلنیوم (به‌عنوان تعدیل‌کننده اثرات مضر تنش‌های محیطی) موجب بهبود خصوصیات رشدی گیاه کاهو شده و هم‌چنین موجب کاهش و تعدیل اثرات فلز سنگین کادمیوم در

منابع

1. Khan, M. Y., Prakash, V., Yadav, V., Chauhan, D. K., Prasad, S. M., Ramawat, N., & Sharma, S. (2019). Regulation of cadmium toxicity in roots of tomato by indole acetic acid with special emphasis on reactive oxygen species production and their scavenging. *Plant Physiology and Biochemistry*, 142, 193-201.
2. Asgher, M., Ahmed, S., Sehar, Z., Gautam, H., Gandhi, S. G., & Khan, N. A. (2021). Hydrogen peroxide modulates activity and expression of antioxidant enzymes and protects photosynthetic activity from arsenic damage in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Hazardous Materials*, 401, 123365.
3. Noor, I., Sohail, H., Sun, J., Nawaz, M. A., Li, G., Hasanuzzaman, M., & Liu, J. (2022). Heavy metal and metalloid toxicity in horticultural plants: Tolerance mechanism and remediation strategies. *Chemosphere*, 303, 135196.
4. Haider, F. U., Lique, C., Coulter, J. A., Cheema, S. A., Wu, J., Zhang, R., & Farooq, M. (2021). Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111887.
5. Rizwan, M., Ali, S., Rehman, M. Z. U., & Maqbool, A. (2019). A critical review on the effects of zinc at toxic levels of cadmium in plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 6279-6289.
6. Ali, N. M., Altaey, D. K., & Altaey, N. H. (2021). The Impact of Selenium, Nano (SiO₂) and organic fertilization on growth and yield of potato *Solanum tuberosum* L. under salt stress conditions. In IOP conference series: *Earth and environmental science*, (Vol. 735, No. 1, p. 012042). IOP Publishing.
7. Tang, Y., Xie, Y., Sun, G., Tan, H., Lin, L., Li, H., & Tu, L. (2018). Cadmium-accumulator straw application alleviates cadmium stress of lettuce (*Lactuca sativa*) by promoting photosynthetic activity and antioxidative enzyme activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 30671-30679.
8. Jia, L., Liu, Z., Chen, W., Ye, Y., Yu, S., & He, X. (2015). Hormesis effects induced by cadmium on growth and photosynthetic performance in a hyperaccumulator, *Lonicera japonica* Thunb. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34, 13-21.
9. Gallego, S. M., & Benavides, M. P. (2019). Cadmium-induced oxidative and nitrosative stress in plants. Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants. *Elsevier*, pp. 233-274.
10. Aslam, M. M., Okal, E. J., & Waseem, M. (2023). Cadmium toxicity impacts plant growth and plant remediation strategies. *Plant Growth Regulation*, 99 (3), 397-412.
11. Mahdavi, M., Esmailpour, B., & Fatemi, H. (2018). Effect of Silicon nutrition on growth and physiology of spearmint (*Mentha spicata* L.) under Cadmium stress condition. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49 (1), 183-196. [In Farsi]
12. Azizi, I., Esmailpour, B., Gallego, S. M., & Benavides, M. P. (2019). Cadmium-induced oxidative and nitrosative stress in plants. Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants. *Elsevier*, pp. 230-245.

13. Borang, Sh., Jahanbakhsh Gede Kehriz, S., & Ebadi, A. (2019). Comparison of the effect of cadmium chloride application and iron and zinc foliar spraying on the biochemical characteristics of wheat under hydroponic cultivation conditions. *Plant process and function*, 8 (29), 1-13.
14. Asgher, M., Rehman, A., Islam, S. N. U., Arshad, M., & Khan, N. A. (2023). Appraisal of Functions and Role of Selenium in Heavy Metal Stress Adaptation in Plants. *Agriculture*, 13 (5), 1083.
15. Abdolzade, A., & Kiyani, Z. (2012). Silicon role in reducing the deficit and iron toxicity in rice plants in a hydroponic system. *Journal of Science and Technology of greenhouse cultures*, 3, 12. [In Farsi]
16. Manojlović, M. S., Lončarić, Z., Cabilovski, R. R., Popović, B., Karalić, K., Ivezić, V., & Singh, B. R. (2019). Biofortification of wheat cultivars with selenium. *Soil & Plant Science*, 69 (8), 715-724.
17. Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Raza, A., Hawrylak-Nowak, B., Matraszek-Gawron, R., Al Mahmud, J., & Fujita, M. (2020). Selenium in plants: Boon or bane? *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104170.
18. Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121.
19. Lutts, S., Kinet, J. M., & Bouharmont, J. (1995). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Journal of the Annals of Botany*, 78 (3), 389-398.
20. Ritchie, S. W., Nguyen, H. T., & Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop science*, 30 (1), 105-111.
21. Bates, L. S., Waldren, R. A., & Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
22. Omokolo Ndoumou, D., Tsala ndzomo, G., & Djougoue, P. F. (1996) Changes in Carbohydrate, Amino Acid and Phenol contents in Cocoa Pods from three clones after infection with phytophthora megakarya bra. and grif. *Annals of Botany*, 77 (2), 153-158.
23. Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloro-plasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Journal of Biochemistry and Biophysics*, 125, 180-198.
24. Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods of Enzymology*, 11, 764-755.
25. Soon, Y. K., & Abboud, S. (1993). Cadmium, chromium, lead and nickel. *Soil sampling and methods of analysis*, 101-108.
26. Głowacka, K., Żróbek-Sokolnik, A., Okorski, A., & Najdzion, J. (2019). The effect of cadmium on the activity of stress-related enzymes and the ultrastructure of pea roots. *Plants*, 8 (10), 413.
27. Imran, K. H. A. N., Seleiman, M. F., Chattha, M. U., Jalal, R. S., Mahmood, F., Hassan, F. A., & Haaasn, M. U. (2021). Enhancing antioxidant defense system of mung bean with a salicylic acid exogenous application to mitigate cadmium toxicity. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49 (2), 12303-12303.
28. Zhang, J., Zhu, Y., Yu, L., Yang, M., Zou, X., Yin, C., & Lin, Y. (2022). Research advances in cadmium uptake, transport and resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Cells*, 11 (3), 569.
29. Amirabad, A. S., Behtash, F., & Vafee, Y. (2020). Selenium mitigates cadmium toxicity by preventing oxidative stress and enhancing photosynthesis and micronutrient availability on radish (*Raphanus sativus* L.) cv. Cherry Belle. *Plant Physiology and Biochemistry Journal*, 27, 12490-12476.
30. Zhu, Y., Dong, Y., Zhu, N., & Jina, H. (2022). Foliar application of biosynthetic

- nano-selenium alleviates the toxicity of Cd, Pb, and Hg in *Brassica chinensis* by inhibiting heavy metal adsorption and improving antioxidant system in plant. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 240, 113681.
31. Gill, S. S., Khan, N. A., & Tuteja, N. (2012). Cadmium at high dose perturbs growth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium Sativum* L.). *Journal of Plant Sciences*, 182, 112-120.
32. Nahakpam, S. (2017). Nahakpam Chlorophyll stability: a better trait for grain yield in rice under drought. *Indian Journal of Ecology*, 44, 77.
33. Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Raza, A., Hawrylak-Nowak, B., Matraszek-Gawron, R., Mahmud, J. A., Nahar, K., & Fujita, M. (2020). Selenium in plants: Boon or Bane? *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104170.
34. Li, D., Zhou, C., Ma, J., Wu, Y., Kang, L., An, Q., & Pan, C. (2021). Nanoselenium transformation and inhibition of cadmium accumulation by regulating the lignin biosynthetic pathway and plant hormone signal transduction in pepper plants. *Journal of Nanobiotechnology*, 19, 316.
35. Kohler, J., Hernández, J. A., Fuensanta Caravaca, F., & Roldan, A. (2009). Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 65, 245-252.
36. Gjorgieva Ackova, D. (2018). Heavy metals and their general toxicity on plants. *Plant Science Today*, 5 (1), 15-19.
37. Daryaii, F., Karmat, B., & Arvin, M. (2013). The effect of selenium foliar application on some physiological and morphological traits of two wheat cultivars (Kavir-Roshan) under cadmium stress. *Journal of Plant Process and Function*, 3, 101-114.
38. Baladi, A., Kashani, Habibi, D., & Paknejad, F. (2009). Evaluation of the distribution of two heavy metals, lead and copper, and the role of two antioxidant enzymes in alfalfa of the Hamadani variety Nabatat, Islah and Zareat Journal, 4, 73-84.
39. Wu, C., Dun, Y., Zhang, Z., Li, M., & Wu, G. (2020). Foliar application of selenium and zinc to alleviate wheat (*Triticum aestivum* L.) cadmium toxicity and uptake from cadmium-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190, 110091.
40. Yao, X., Chu, J., & Wang, G. (2009). Effects of selenium on wheat seedlings under drought stress. *Biological Trace Element Research*, 130 (3), 283-290.
41. Zhang, X. D., Meng, J. G., Zhao, K. X., Chen, X., & Yang, Z. M. (2018). Annotation and characterization of Cd-responsive metal transporter genes in rapeseed (*Brassica napus*). *Biometals*, 31, 107-121.
42. Mehta, S. K., & Gaur, J. P. (1999). Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in (*Chlorella vulgaris*). *The New Phytologist*, 143 (2), 253-259.
43. Rady, M. M. & Hemida, K. A. (2015). Modulation of cadmium toxicity and enhancing cadmium-tolerance in wheat seedlings by exogenous application of polyamines. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 119, 178-185.
44. Abd-Allah, E. F., Hashem, A., Alqarawi, A. A., Wirth, S., & Egamberdieva, D. (2017). Calcium application enhances growth and alleviates the damaging effects induced by Cd stress in sesame (*Sesamum indicum* L.). *Journal of plant interactions*, 12 (1), 237-243.
45. Zhao, H., Guan, J., Liang, Q., Zhang, X., Hu, H. & Zhang, J. (2021). Effects of cadmium stress on growth and physiological characteristics of sassafras seedlings. *Scientific reports*, 11 (1), 9913.
46. Chaâbene, Z., Hakim, I. R., Rorat, A., Elleuch, A., Mejdoub, H., & Vandenbulcke, F. (2018). Copper

- toxicity and date palm (Phoenix dactylifera) seedling tolerance: monitoring of related biomarkers. *Environmental toxicology and chemistry*, 37 (3), 797-806.
47. Zhu, Z., Huang, Y., Wu, X., Liu, Z., Zou, J., Chen, Y., & Cui, J. (2019) Increased antioxidative capacity and decreased cadmium uptake contribute to hemin-induced alleviation of cadmium toxicity in Chinese cabbage seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 177, 47-57.
48. Ozfidan-Konakci, C., Yildiztugay, E., Bahtiyar, M., & Kucukoduk, M. (2018). The humic acid-induced changes in the water status, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense systems of wheat leaves with cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 155, 66-75.
49. Malar, M., Schiavon, M. S., dall'Acqua, E., & Pilon-Smits, A. (2016). Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. *Frontiers in plant science*, 6, 280-291.
50. Lanza, M. G. D. B., & Reis, A. R. d. (2021). Roles of selenium in mineral plant nutrition: ROS scavenging responses against abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 164, 27-43.

