

Research Paper

The Effect of Foliar Application of Selenium Nanoparticles and Algal Extract (*Ascophyllum nodosum*) on Fennel Plants under Chromium Stress

Seyedeh Yalda Raeisi Sadati¹, Sodabeh Jahanbakhsh-Godekahriz² , Ahmad Tobeh³, and Salim Farzaneh⁴

1- Post-Doctoral Plant Breeding, Department of Plant Genetics and Production Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2- Professor, Department of Plant Genetics and Production Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, (Corresponding author: jahanbakhsh@uma.ac.ir)

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

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

Received: 18 May, 2025

Revised: 22 August, 2025

Accepted: 02 October, 2025

Extended Abstract

Background: Given the contamination of medicinal plants with heavy metals, these plants have high potential in absorbing and transferring them to usable parts. Due to the side effects related to the presence of heavy metals in herbal medicines used in Iran, researchers are today looking for a solution that can reduce the toxic effects of heavy metals in the soil and improve the quality of crops grown in soils contaminated with heavy metals. The use of cost-effective and environmentally safe nanoparticles for the remediation of metal-contaminated soils and biosorption of trace and potentially toxic elements via microalgae or algal extract has received much attention in the past and recently. Therefore, this experiment was conducted to feed fennel with biostimulants, investigate some physiological parameters, reduce the absorption of the heavy metal chromium, and ultimately maintain the quantity and quality of fennel (*Foeniculum vulgare*).

Methods: This study was conducted as a factorial experiment in a randomized complete block design with three replications under greenhouse conditions in 2023-2024. Treatments included chromium stress at two levels (0 (control) and 100 mg/kg soil) and foliar spray at three levels (control, algal extract at a concentration of 1 mg/L, and selenium nanoparticles at a concentration of 20 mg/L). At the four-leaf stage, foliar spraying was performed at three levels of zero, algal extract (1 mg/L), and selenium nanoparticles (20 mg/L) three times with an interval of 15 days. Ten days after the plant was exposed to the desired stress, the control and treatment plants were sampled to examine the physiological parameters of the plant.

Results: The results of the analysis of variance of the mutual effect of foliar spraying × heavy metal stress were significant regarding the antioxidant enzymes catalase and superoxide dismutase. The results of the mutual effect of selenium nanoparticles × green algae extract were significant for the traits of proline amino acid content and chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll, but there was no significant effect for antioxidant enzymes catalase and superoxide dismutase, electrolyte leakage, and malondialdehyde. The concentrations of malondialdehyde, antioxidant enzymes catalase and superoxide dismutase, proline content, and ion leakage percentage increased significantly under chromium stress, while the content of photosynthetic pigments decreased compared to the control. The application of biostimulants increased the activity of antioxidant enzymes catalase and superoxide dismutase, proline content, and photosynthetic pigment concentrations compared to the control, but the malondialdehyde content decreased compared to the control. In fennel, the activity of catalase and superoxide dismutase enzymes increased in the interaction of chromium with 1 mg/L of the algal extract, 20 mg/L of selenium nanoparticles, and their interaction, respectively, compared to the control. The highest percentage of catalase and superoxide dismutase activity belonged to chromium stress, and the lowest concentration of these enzymes was recorded in the control. The highest activity of antioxidant enzymes under chromium stress after the control was assigned to foliar spraying with algal extract. The interaction effect of selenium nanoparticles and algal extract decreased the content of malondialdehyde and increased photosynthetic pigments. The proline content increased by spraying 20 mg/L of selenium nanoparticles, 1 mg/L of the algal extract, and their



interaction compared to the control. As a result, the damage caused by chromium toxic metal stress was moderated by strengthening the antioxidant and photosynthetic system of fennel plants with selenium nanoparticles and algal extract.

Conclusion: In general, among the studied biological stimuli under chromium stress, foliar spraying with algal extract compared to selenium nanoparticles could strengthen the antioxidant system of fennel plants. In this way, it could inhibit the accumulation of free radicals and maintain the integrity of the membrane under chromium stress by reducing the malondialdehyde content.

Keywords: Biostimulant, Fennel, Photosynthetic pigments, Superoxide dismutase, Toxic metal

How to Cite This Article: Raeisi Sadati, S.Y., Jahanbakhsh-Godekahriz, S., Tobeh, A., & Farzaneh, S. (2026). The Effect of Foliar Application of Selenium Nanoparticles and Algal Extract (*Ascophyllum nodosum*) on Fennel Plants under Chromium Stress. *J Crop Breed*, 18(1), 16-28. DOI: 10.61882/jcb.2026.1585



مقاله پژوهشی

بررسی اثر محلول‌پاشی نانوذره سلنیوم و عصاره جلبکی (*Ascophyllum nodosum*) در گیاه رازیانه تحت تنش کرومسیده یلدا رئیسی ساداتی^۱، سدابه جهانبخش گده کهرزی^۲، احمد توبه^۳ و سلیم فرزانه^۴

۱- پسادکترا اصلاح نباتات، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، (نویسنده مسوول: jahanbakhsh@uma.ac.ir)

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

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

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۰

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۱
صفحه: ۱۶ تا ۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۸

چکیده مسوط

مقدمه و هدف: با توجه به آلودگی گیاهان دارویی به فلزات سنگین و پتانسیل بالای این گیاهان در جذب و انتقال آن‌ها به بخش‌های قابل استفاده و به‌دنبال آن عوارض جانبی مربوط به حضور فلزات سنگین در داروهای گیاهی استفاده شده در کشور ایران، امروزه محققین به‌دنبال راهکاری هستند که اثرات سمی ناشی از فلزات سنگین خاک را کاهش دهد و بتواند کیفیت محصولات کشت شده در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین را بهبود بخشد. کاربرد نانوذرات مقرون به صرفه و ایمن از نظر زیست‌محیطی برای اصلاح خاک‌های آلوده به فلز و جذب زیستی عناصر کمیاب و بالقوه سمی از طریق ریزجلبک‌ها یا عصاره جلبکی در گذشته و اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته است. لذا، این آزمایش به‌منظور تغذیه رازیانه با محرک‌های زیستی و بررسی برخی پارامترهای فیزیولوژیک و تیز کاهش جذب فلز سنگین کروم و در نهایت حفظ کمیت و کیفیت رازیانه (*Foeniculum vulgare*) انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار تحت شرایط گلخانه‌ای در سال ۱۴۰۲-۱۴۰۳ اجرا شد. تیمارها شامل تنش کروم در دو سطح (صفر (شاهد) و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و محلول‌پاشی در سه سطح (شاهد، عصاره جلبکی با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر و نانوذره سلنیوم با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند. در مرحله چهاربرگی، محلول‌پاشی برگ‌ی در سه سطح صفر، عصاره جلبکی (یک میلی‌گرم در لیتر) و نانوذره سلنیوم (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) سه بار با فاصله زمانی ۱۵ روز انجام شد و ده روز بعد از قرارگرفتن گیاه در تنش مورد نظر، نمونه‌برداری از نمونه‌های شاهد و تیماری به‌منظور بررسی پارامترهای فیزیولوژیک گیاه انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر متقابل دوجانبه محلول‌پاشی × تنش فلز سنگین در رابطه با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار بودند. نتایج بررسی اثر متقابل نانوذره سلنیوم × عصاره جلبک سبز برای صفات میزان اسید آمینه پرولین و رنگیزه‌های کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل معنی‌دار بودند، اما برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و نشأت الکترولیت و مالون‌دی‌آلدهید اثر معنی‌داری نداشت. غلظت مالون‌دی‌آلدهید، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، محتوای پرولین و درصد نشأت یونی تحت تنش کروم افزایش معنی‌داری یافتند، درحالی‌که محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد کاهش نشان دادند. کاربرد محرک‌های زیستی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، میزان پرولین و غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی را نسبت به شاهد افزایش داد، اما محتوای مالون‌دی‌آلدهید نسبت به شرایط کنترل کاهش یافت. در گیاه رازیانه فعالیت‌های آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به‌ترتیب در برهم‌کنش کروم با محلول‌پاشی عصاره جلبکی یک میلی‌گرم در لیتر، محلول‌پاشی نانوذره سلنیوم ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و برهم‌کنش آنها نسبت به شاهد افزایش نشان دادند. بیشترین درصد فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز مربوط به تنش کروم و کمترین غلظت این آنزیم‌ها مربوط به شاهد بود. بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش کروم بعد از شاهد به محلول‌پاشی با عصاره جلبکی اختصاص داشت. اثر متقابل نانوذره سلنیوم و عصاره جلبکی موجب کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید و افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. همچنین، با محلول‌پاشی نانوذره سلنیوم ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، عصاره جلبکی یک میلی‌گرم بر لیتر و برهم‌کنش آن‌ها محتوای پرولین نسبت به شاهد افزایش یافت. در نتیجه، خسارت ناشی از تنش فلز سمی کروم با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و فتوسنتزی گیاه رازیانه توسط نانوذره سلنیوم و عصاره جلبکی تعدیل یافت.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی در بین محرک‌های زیستی مورد بررسی تحت تنش کروم، محلول‌پاشی با عصاره جلبکی نسبت به نانوذره سلنیوم، موجب تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه رازیانه شد و از این طریق توانست تجمع رادیکال‌های آزاد را مهار کند و نیز با کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید یکپارچگی غشا را در شرایط تنش کروم حفظ نماید.

واژه‌های کلیدی: رازیانه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، سوپراکسید دیسموتاز، فلز سمی، محرک زیستی

مقدمه

(Ahmad et al., 2018)، اما در گیاهان دارویی نیز به‌دلیل حضور فلزات سنگین عوارض جانبی جدی گزارش شده است (Annan et al., 2013). موارد گوناگونی از آلودگی به فلزات سنگین در گیاهان دارویی و پتانسیل بالای این گیاهان در جذب و انتقال فلزات سنگین به بخش‌های قابل استفاده به‌وسیله محققان گزارش شده‌اند (Maleki et al., 2017; Lajayer et al., 2017).

آلودگی محیطی ناشی از فلزات سنگین به‌دلیل تجزیه‌ناپذیری یک نگرانی اصلی در خاک‌های کشاورزی است که امنیت غذایی را تهدید می‌کند (Jahanbakhsh

امروزه گیاهان دارویی از جمله گیاهان مهم اقتصادی هستند و فرآورده‌های آن‌ها، به‌طور گسترده در جهان و ایران مصرف می‌شوند؛ ایران یکی از مناطق مستعد تولید گیاهان دارویی است (Vosoughi et al., 2018). گیاه رازیانه به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانی، ضد دیابت و ضد میکروب، برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود (Mokhtari & Ghoreishi, 2019; Kammath et al., 2021).

علت توجه ویژه به استفاده از گیاهان دارویی به‌دلیل عوارض کمتر آن‌ها نسبت به داروهای شیمیایی است

جذب زیستی یک فرآیند حذف عناصر بالقوه سمی است که در آن جذب، کلاته شدن و تبادل یونی ممکن است رخ دهند. از طریق ریزجلبک‌ها، فلزات سنگین را می‌توان از فاضلاب‌های شهری و صنعتی حذف کرد (Bilal et al., 2018)؛ بنابر این، استفاده از عصاره جلبک به‌عنوان محلول پاشی روی گیاهان توصیه می‌شود. جلبک دریایی علاوه بر کاربرد اولیه آن در تصفیه پساب، فلزات سنگین سمی را کاهش می‌دهد یا از بین می‌برد (Akbar & Khairunnisa, 2024). اخیراً، بسیاری از جلبک‌ها به‌دلیل تأثیرشان بر کشت، خاک و محیط زیست مورد بررسی قرار گرفته‌اند و فرآیندهای صنعتی جدیدی برای کشت و تولید کودهای زیستی جلبکی در مقیاس وسیع توسعه یافته‌اند (Hassan et al., 2022). ریزجلبک‌ها کاربردهای مختلف در کشاورزی دارند از جمله محصولات حفاظتی گیاهی، محلول پاشی به‌عنوان محرک‌های زیستی گیاهی و تنظیم کننده‌های رشد گیاه، افزایش عملکرد و کیفیت بالاتر محصول علاوه بر افزایش تحمل گیاه به تنش، مقبولیت بسیار بیشتری به‌دست آورده‌اند (El-Sayed et al., 2018). آمر و همکاران (Amer et al., 2019) گزارش کردند که گیاهان تیمار شده با عصاره جلبک مقادیر بیشتری از ویژگی‌های مورفولوژیک و ترکیبات شیمیایی را نسبت به گیاهان تیمار نشده (شاهد) بهبود دادند. اخیراً نشان داده شده است که جلبک‌ها در کلاته کردن روی، مس، کادمیوم، سرب، آرسنیک، کروم و جیوه برای کاربردهای بالقوه برای حذف فلزات سنگین و در حال حاضر به‌عنوان جذب زیستی شناخته می‌شوند (Bhunia et al., 2018).

با توجه به این که بیشتر مطالعات بر روی تأثیر نانوذرات بر روی جوانه‌زنی و رشد بذر گیاهان متمرکز شده‌اند، مطالعات کمی تأثیر آن‌ها را در کل فرآیند رشد گیاه مورد بررسی قرار داده‌اند (Zhang et al., 2019). بنابر این، تحقیقات بیشتر در مورد اثر نانوذرات بر رفتار زیست‌محیطی آلاینده‌های همزیست در سیستم خاک (Servin & White, 2016) و مطالعات بیشتر در سطح بیوشیمیایی و مورفولوژیک-فیزیولوژیک برای کشف مکانیسم‌های نهفته در افزایش تحمل فلزات سنگین با واسطه نانوذرات و عصاره جلبکی در گیاهان مورد نیاز هستند. شواهدی که نشان دهد نانوذرات و عصاره جلبکی سمیت فلز سنگین کروم را در گیاهان بهبود می‌بخشند ممکن است بینش جدیدی ارائه دهد که می‌تواند به حل مشکل عناصر کمیاب سمی اضافی در گیاهان دارویی کمک کند و خطرات امنیت غذایی را کاهش دهد (Khosropour et al., 2022). امروزه، محققین به‌دنبال راهکاری هستند که اثرات سمی فلزات سنگین خاک را کاهش دهد و بتوانند کیفیت محصولات کشت شده در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین را بهبود بخشند. علی‌رغم گزارش‌های اثرات مطلوب نانوذرات و عصاره‌های جلبکی بر خصوصیات فیزیولوژیک-بیوشیمیایی محصولات کشاورزی، اثرات نانوذره سلیوم و عصاره جلبکی و مقایسه این ترکیبات در خاک‌های آهکی آلوده به کروم در گیاه رازیانه مورد بررسی قرار نگرفته‌اند.

کروم در بیشتر شرایط تحرک کمتری دارد، به‌راحتی توسط بسترها جذب می‌شود و مقدار کرومی که گیاهان می‌توانند جذب کنند محدود است (Fang et al., 2022). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان یک شاخص زیستی مهم جهت بررسی میزان تنش‌های وارد به ساختار گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرند و در پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند (Balakhnina & Nadezhkina, 2017; Moharramnejad et al., 2019). فلزات سمی به‌طور قابل توجهی بر محتوای کلروفیل در برگ تأثیر می‌گذارند. بنابر این، تغییر در محتوای کلروفیل می‌تواند به‌طور مستقیم سلامت گیاهان و همچنین واکنش گیاه را به تغییر محیط نشان دهد (Rizwan et al., 2016). تنش اکسیداتیو بر فرآیند متابولیک تأثیر منفی می‌گذارد، که می‌تواند به ساختار غشای در گیاهان آسیب برساند (Wu et al., 2019). در شرایط تنش، گیاهان سرعت فتوسنتز را کاهش می‌دهند تا بقای خود را حفظ کنند. کاهش غلظت کلروفیل تحت فلزات سنگین در گیاهان مختلف گزارش شده است (Zhang et al., 2020).

امروزه نانوتکنولوژی به‌طور گسترده در صنایع کشاورزی استفاده می‌شود. در سطح گیاه، نانوذرات با ایجاد تغییرات ساختاری و بهبود سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی، انتقال عناصر کمیاب را از ریشه به شاخه‌ها کاهش می‌دهند. با این حال، پتانسیل نانوذرات در خاک‌های آلوده به فلز تازه در حال تحقق است و مطالعات بیشتری برای کشف مکانیسم‌های تثبیت عناصر کمیاب با واسطه نانوذرات در خاک و جذب توسط گیاهان مورد نیاز هستند (Rizwan et al., 2021). نانوذرات می‌توانند سیستم‌های دفاعی گیاه را هنگامی که در غلظت‌های کمتر استفاده شوند، بهبود بخشند. در مقابل، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده در سطوح نانوذرات بالاتر نشان می‌دهد که نانوذرات ممکن است تنش اکسیداتیو را در گیاهان تحت تنش فلزی تشدید کنند (Rizwan et al., 2021). در مقایسه با سلنات‌ها یا سلنیت‌ها، نانوذرات سلیوم سمیت کمتر و زیست‌فعالیتی بالاتری دارند (Djanaguiraman et al., 2018). علاوه بر این، اخیراً اثرات مثبت سلیوم بر برخی گیاهان در شرایط تنش فلزات سنگین گزارش شده‌اند (Zahedi et al., 2021). سلیوم می‌تواند جذب کروم و سمیت گیاهی آن را کاهش دهد، اما مکانیسم‌های مرتبط در سطوح درون سلولی به‌طور عمیق مورد توجه قرار نگرفته است (Ahmad et al., 2018). کاربرد نانوذره سلیوم تجمع پرولین را تنظیم می‌کند، فعالیت آنزیمی را افزایش می‌دهد و از فتوسنتز محافظت می‌کند؛ با بهبود حفاظت محتوای نسبی آب و روبیسکو همراه با حفظ پرولین برای پاکسازی گونه‌های اکسیژن فعال کمک می‌کند (Ahanger et al., 2017). محققین گزارش کرده‌اند که کاربرد نانوذرات سلیوم بر افزایش محتوای پرولین موثر است (Raeisi Sadati et al., 2024). همچنین، نانوذرات ممکن است رشد و نمو گیاه را تحت تنش فلزات کمیاب سمی افزایش دهند (Zhou et al., 2021).

محتوای کلروفیل برگ طبق روش آرنون (Arnon, 1949) اندازه‌گیری شد، و برای سنجش غلظت کلروفیل 0.2 گرم نمونه برگی در استون 80 درصد عصاره‌گیری شد. سپس عصاره حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و تا رسیدن به حجم 25 میلی‌لیتر و استخراج کامل کلروفیل به آن استون اضافه گردید. محلول حاصل به مدت 10 دقیقه در 4000 دور در دقیقه سانتریفوژ و میزان جذب عصاره استخراج شده در طول موج‌های 645 ، 663 و 480 نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. سپس، کلروفیل a ، کلروفیل b ، کلروفیل کل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم برگ تر با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شدند.

رابطه (۱)

$$Chl a = [(12.7 \times A663) - (2.69 \times A645)] \times V / 1000 \times W$$

رابطه (۲)

$$Chl b = [(22.9 \times A645) - (4.69 \times A663)] \times V / 1000 \times W$$

رابطه (۳)

$$Total Chl = [(20.2 \times A645) + (8.02 \times A663)] \times V / 1000 \times W$$

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با استفاده از روش زی و زیویر (Xia & Zweier, 1997) اندازه‌گیری شد. برای استخراج آنزیم‌ها، نمونه‌های گیاهی در هاون چینی با ازت مایع خرد شدند و به صورت پودر درآمدند. سپس 0.5 میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم با pH معادل 6 به آن‌ها اضافه و با دور 13000 سانتریفوژ گردید. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های نمونه‌ها، از محلول رویی برداشت شد. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 240 نانومتر در مدت 30 ثانیه استفاده شد. بافر فسفات سدیم 20 میلی‌مولار با pH معادل 7 و 20 میکرولیتر هیدروژن پراکسید (H_2O_2) 30 درصد به‌عنوان پذیرنده الکترون مورد استفاده قرار گرفت. میزان فعالیت کاتالاز بر حسب واحد آنزیمی در میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD): فعالیت این آنزیم بر اساس روش جیانوپولیتس و رایس (Giannopolitis & Ries, 1977) اندازه‌گیری شد. فعالیت این آنزیم با قابلیت آن در بازدارندگی واکنش احیایی فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیموم (NBT) تعیین شد. مخلوط واکنش محتوی بافر فسفات پتاسیم 50 میلی‌مولار با $(PH=7)$ ، متیونین 13 میلی‌مولار، Na-EDTA 0.1 میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیموم (NBT) 75 میکرومول، ریوفلاوین 75 میکرومول و مقدار 100 میکرولیتر از عصاره بود. در دو لوله آزمایش، 3 میلی‌لیتر از محلول فوق بدون عصاره آنزیمی اضافه شد، یکی در دستگاه دور از نور و دیگری در حضور نور فلوتورسنت به‌عنوان شاهد قرار داده شدند. هر 2 دقیقه یک بار جذب محلول در مد Photometric و طول موج 560 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. این روش بر اساس تبدیل NBT به فورمازان در حضور نور و تشکیل رنگ است. در صورتی‌که آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در محیط وجود داشت، از انجام واکنش مذکور ممانعت کرد و

لذا این پژوهش با هدف بررسی برخی شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه رازیانه در شرایط نرمال و تنش فلز سنگین کروم طی محلول‌پاشی عصاره جلبکی و نانوذره سلنیوم و تأثیر محلول‌پاشی برگ سلنیوم و عصاره جلبکی بر کاهش جذب کروم در گیاه رازیانه و کاهش تنش اکسیداتیو در شرایط تنش فلزات سنگین انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار تحت شرایط گلخانه‌ای در سال زراعی $1402-1403$ اجرا شد. فاکتور اول فلز سنگین کروم در دو سطح (شاهد و 100 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و فاکتور دوم شامل محلول‌پاشی در سه سطح (صفر (شاهد)، عصاره جلبکی و نانوذره سلنیوم به‌ترتیب با غلظت‌های یک و 20 میلی‌گرم در لیتر) در نظر گرفته شدند. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول شماره 3 ذکر شده‌اند. بعد از استریل خاک مورد استفاده با آن 120 درجه سانتی‌گراد، کروم 100 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) با خاک معمولی مخلوط شد. گلدان‌های پلاستیکی 3 لیتری از خاک یکدست پر شدند، سپس بذور رازیانه (رقم Florence تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان) ضد عفونی شده با تراکم هشت بوته در هر گلدان و در عمق 2 سانتی‌متری کشت شدند. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای در دمای 20 تا 30 درجه سانتی‌گراد با طول دوره روشنایی $15-16$ ساعت (با استفاده از ترکیبی از لامپ‌های معمولی و مهتابی با شدت نور 60000 لوکس) نگهداری شدند. در مرحله چهاربرگی، محلول‌پاشی برگ در سه سطح صفر، عصاره جلبکی (یک میلی‌گرم در لیتر) و نانوذره سلنیوم (20 میلی‌گرم در لیتر) سه بار با فاصله زمانی 15 روز انجام شد و ده روز بعد از قرارگرفتن گیاه در تنش مورد نظر، نمونه‌برداری از نمونه‌های شاهد و تیماری به‌منظور بررسی پارامترهای بیوشیمیایی در پایان مرحله فیزیولوژیکی گیاه انجام گرفت.

صفاات مورد اندازه‌گیری فیزیولوژیک و بیوشیمیایی

سنجش نشن الکترولیت: برای سنجش میزان آسیب به غشای (نشن الکترولیت)، 0.2 گرم از بافت سالم و تازه اندام هوایی گیاه بعد از شستشو با آب مقطر جهت شستشوی یون‌های احتمالی از سطح گیاه، درون لوله آزمایش درب‌دار قرار گرفت و 10 میلی‌لیتر آب یون‌گیری شده به آن اضافه گردید. سپس لوله‌های آزمایش به‌مدت 2 ساعت درون حمام آب گرم با دمای 32 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها ($EC1$) با استفاده از EC متر مدل (Winlab Data Windaus) اندازه‌گیری شد. سپس، لوله‌های آزمایش در دمای 121 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 20 دقیقه اتوکلاو شدند. بعد از خنک شدن محتوی لوله‌ها تا دمای 25 درجه سانتی‌گراد، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها ($EC2$) مجدداً اندازه‌گیری شد و با فرمول زیر درصد نشن یونی محاسبه گردید (Ben Hamed et al., 2007).

$$\text{درصد نشن یونی} = EC1/EC2 \times 100$$

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان دادند که صفات پرولین، مالون دی آلدئید و رنگیزه های فتوسنتزی کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل برای اثرات اصلی تنش کروم و محلول پاشی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بودند. در حالی که برای صفت نشت الکترولیت فقط اثر اصلی تنش کروم در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). همچنین، اثر متقابل دوجانبه محلول پاشی × تنش فلز سنگین در رابطه با آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱).

فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز: همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود، تحت تنش کروم آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز و سوپراکسیداز دیسموتاز برگ افزایش معنی داری را نسبت به شرایط کنترل نشان دادند. محلول پاشی نانوذره سلنیوم، عصاره جلبیکی و برهم کنش آنها موجب افزایش معنی دار آنزیم های آنتی اکسیدان مورد مطالعه در گیاه رازیانه شد. همچنین، فعالیت های آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب در برهم کنش کروم با محلول پاشی عصاره جلبیکی یک میلی گرم در لیتر، محلول پاشی نانوذره سلنیوم ۲۰ میلی گرم در لیتر و برهم کنش آنها نسبت به شاهد افزایش نشان دادند. بیشترین درصد فعالیت آنزیم های کاتالاز (۱۴۲/۲۷ درصد) و سوپراکسید دیسموتاز (۷۸/۵۱ درصد) مربوط به تنش کروم و کمترین غلظت این آنزیم ها مربوط به شاهد بود (جدول ۲).

تحقیق حاضر نشان داد که تنش کروم در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد شد، که با نتایج دیگر محققان در رابطه با افزایش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت تیمار آرسنیک در گیاه ریحان و افزایش میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش کروم در کلزا هم راستا است (Ulhasan *et al.*, 2019; Abdollahi *et al.*, 2023).

محلول پاشی نانوذره سلنیوم تحت تنش کروم باعث کاهش ۲۶ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز و ۳۱/۷۱ درصدی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شرایط تنش کروم شد. تیمار سلنیوم موجب تعدیل اثر بازدارندگی عنصر کروم می گردد (Ulhasan *et al.*, 2019).

تشکیل و ظهور رنگ را کاهش داد. پس از ۱۸ دقیقه جذب آنها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. تفاوت بین جذب هر عصاره پس از ۱۸ دقیقه و جذب مخلوط بدون آنزیم نشان دهنده بازداشت واکنش خود به خودی تشکیل فورمازان توسط سوپراکسید دیسموتاز بود (Haghpahanah *et al.*, 2024).

غلظت مالون دی آلدئید (MDA) با استفاده از روش هس و پاکر (Heath & Packer, 1968) انجام شد. برای این منظور، ابتدا ۰/۵ گرم بافت برگ تازه آسیاب شد و به آن محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) اضافه گردید. عصاره حاصل، به مدت ۱۵ دقیقه، با ۱۴۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شد. پس از آن به ۱۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی، TCA ۲۰ درصد حاوی TBA افزوده شد. سپس در حمام آب جوش قرار گرفت. نمونه ها پس از سرد کردن، سانتریفیوژ گردیدند و پس از آن در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند. غلظت مالون دی آلدئید بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

استخراج پرولین از برگ ها با استفاده از روش بتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) انجام گرفت. به این منظور، نمونه های بافت برگی با سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ استخراج گردیدند. سپس در لوله آزمایش جداگانه دیگری، به ۲ میلی لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال خالص اضافه شد. در ادامه، لوله های آزمایش به مدت ۱ ساعت در بن ماری یا دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از خارج شدن از آب جوش، ۲ میلی لیتر تولون به محلول اضافه و در یخ قرار گرفت. بعد از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز بالایی رنگی، با دقت جدا و در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV_160A_SHIMADZO ساخت کشور ژاپن با سل کوارتزی) با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد.

تجزیه آماری داده ها: کلیه تجزیه و تحلیل های آماری داده های حاصل از این آزمایش با کمک نرم افزار SAS 9.1 انجام شدند. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

جدول ۱- تجزیه واریانس برای ویژگی های فیزیولوژیک گیاه رازیانه تحت تنش کروم با محلول پاشی نانوذره سلنیوم و عصاره جلبیکی
Table 1. The analysis of variance for physiological and biochemical characteristics of fennel plants under chromium stress with the foliar application of selenium nanoparticles and algal extract

| میانگین مربعات Means of square (MS) | | | | | | | | درجه آزادی Df | منابع تغییر SOV |
|--|------------------|------------------|------------------------------|----------------|---------------------------|-------------------|------------------------|---------------------|------------------------|
| کلروفیل کل Total chl | کلروفیل Chl b | کلروفیل Chl a | سوپراکسید دیسموتاز SOD | کاتالاز CAT | مالون دی آلدئید MDA | پرولین Proline | نشت الکترولیت EL | | |
| 0.005 | 0.001 | 0.001 | 2.006* | 0.005 | 0.430 | 467.16** | 0.291 | 2 | بلوک |
| 0.924** | 0.130** | 0.315** | 9.626** | 0.216** | 32.666** | 10209.37** | 337.500** | 1 | تنش کروم |
| 0.074** | 0.011** | 0.029** | 0.522 | 0.004 | 5.078** | 548.26** | 20.888 | 3 | محلول پاشی |
| 0.001 | 0.001 | 0.0002 | 1.772* | 0.011** | 1.812 | 55.59 | 2.833 | 3 | Cr × S |
| 0.004 | 0.0006 | 0.002 | 0.362 | 0.001 | 0.641 | 48.83 | 10.86 | 14 | خطا |
| 4.0 | 6.7 | 4.4 | 13.1 | 11.5 | 7.9 | 3.9 | 9.1 | - | ضریب تغییرات CV (%) |

ns, * and ** are non-significant and significant, respectively, at the five percent and one percent probability levels.

ns, * and ** are non-significant and significant, respectively, at the five percent and one percent probability levels.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش فلزات سنگین × محلول پاشی بر میزان آنزیم های کاتالاز و سوپراکسیداز دیسموتاز گیاه رازیانه
Table 2. Comparisons of mean interaction effects of heavy metal stress × foliar spraying on the amounts of catalase and superoxidase dismutase enzymes of fennel plants

| میانگین Means | | تیمارها Treats |
|---|---|----------------|
| سوپراکسیددیسموتاز (میلی گرم پروتئین بر دقیقه) SOD (mg protein/ minute) | کاتالاز (میلی گرم پروتئین بر دقیقه) CAT (mg protein/ minute) | |
| 3.566 ^d | 0.220 ^e | شاهد Control |
| 6.366 ^a | 0.533 ^a | کروم Cr |
| 4.133 ^{cd} | 0.266 ^{de} | سلنیوم Se |
| 4.033 ^{cd} | 0.296 ^d | عصاره جلبکی SW |
| 4.100 ^{cd} | 0.273 ^{de} | مخلوط Mix |
| 5.266 ^b | 0.473 ^{ab} | SW × Cr |
| 4.833 ^{bc} | 0.423 ^{bc} | Se × Cr |
| 4.433 ^{bcd} | 0.386 ^c | Mix × Cr |
| 1.062 | 0.086 | LSD |

اعداد با حروف مشترک تفاوت معنی داری ندارند (P>0.05).

Cr: تنش کروم، Se: محلول پاشی نانوذرات سلنیوم، AE: عصاره جلبکی، مخلوط: محلول پاشی نانو ذرات سلنیوم و عصاره جلبکی.
Numbers followed by the same letters are not significantly different (P>0.05).

Cr: croum stress, Se: foliar application of selenium nanoparticles, AE: Algae Extract, mix: foliar application of selenium nanoparticles and algal extract.

جدول ۳- ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک و نانوذره مورد استفاده در مطالعه حاضر
Table 3. Physical and chemical characteristics of the soil and nanoparticles used in this study

| بافت خاک Soil texture | پتاسیم (میلی گرم بر کیلوگرم) Potassium (mg kg ⁻¹) | فسفر (میلی گرم بر کیلوگرم) Phosphorus (mg kg ⁻¹) | نیتروژن (درصد) N (%) | هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) EC (ds m ⁻¹) | اسیدیته خاک Soil acidity | |
|----------------------------------|---|---|------------------------------|--|--|-----------------------------------|
| لومی - شنی Loamy-sandy | 252 | 12.8 | 1.68 | 2.4 | 6.48 | |
| نوع نانوذره Nanoparticle type | اندازه نانوذره (نانومتر) Nanoparticle size (nm) | سطح ویژه (متر مربع بر گرم) Specific surface (m ² /g) | خلوص (درصد) Purity (%) | وزن (گرم) Weight (g) | چگالی ظاهری (گرم بر سانتی مترمکعب) Bulk density (g/cm ³) | رنگ نانوذره Nanoparticle paint |
| سلنیوم Selenium | 10-40 nm | 30-50 | 99.9 | 100 | 3.89 | قرمز پودری Powder red |

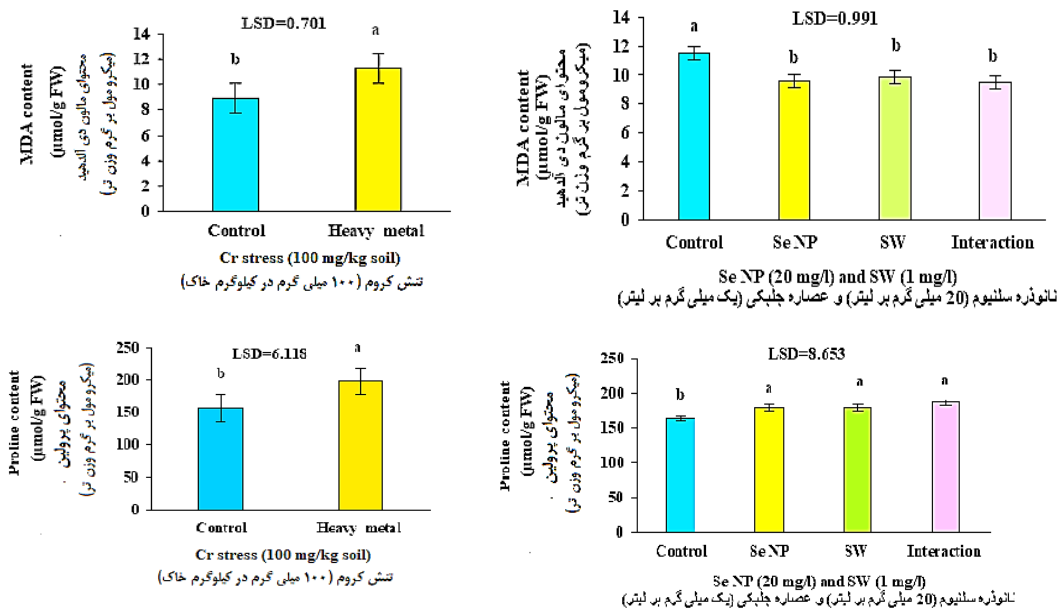
محتوای مالون دی آلدئید: براساس نتایج مقایسه میانگین، تنش فلز سنگین کروم باعث افزایش ۲۶/۰۹ درصدی محتوای مالون دی آلدئید نسبت به شرایط کنترل شد، در حالی که کاربرد محرک های زیستی موجب کاهش میزان این صفت نسبت به شاهد شد. همچنین، بیشترین و کمترین مقادیر مالون دی آلدئید به ترتیب از محلول پاشی عصاره جلبکی (۹/۸۸۳ میکرومول بر گرم وزن تر) و برهم کنش عصاره جلبکی با نانوذره سلنیوم (۹/۵۱۶ میکرومول بر گرم وزن تر) به دست آمدند (شکل ۱). حضور عناصر سنگین موجب افزایش میزان شاخص مالون دی آلدئید می گردد (Shekari et al., 2018). در تطابق با نتایج این پژوهش، محققان گزارش کردند که تنش سرب در گیاه گشنیز، فلز سنگین کروم در کلم چینی و تنش آرسنیک در گیاه ریحان موجب افزایش میزان مالون دی آلدئید شد، اما محلول پاشی نانوذرات سیلیسیم و سلنیوم موجب کاهش تجمع گردید (Fatemi et al., 2020; Nie et al., 2021; Abdollahi et al., 2023).

محتوای پرولین: نتایج مقایسه میانگین نشان دادند که با محلول پاشی نانوذره سلنیوم ۲۰ میلی گرم در لیتر، عصاره جلبکی یک میلی گرم بر لیتر و برهم کنش آنها محتوای پرولین به ترتیب ۹/۶۸ درصد، ۹/۶۸ درصد و ۱۳/۷۶ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۱). محققان دریافتند که محلول پاشی سلنیوم باعث افزایش میزان پرولین در زمازی شد (Shamsai et al., 2021). محتوای پرولین تحت تنش کروم (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) نسبت به شرایط کنترل افزایش ۲۶/۳۷ درصدی نشان داد (شکل ۱).

در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، محققان بیان نمودند که تیمار با سلنیوم در شرایط سمیت فلزات سنگین (کادمیوم، نیکل و سرب) موجب افزایش فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در خیار شد (Aroiee et al., 2019). سلنیوم دارای اثر بازدارندگی بر تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط فلزات سنگین است و موجب تحریک فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز می شود (Rahman et al., 2019). اثرات مثبت سلنیوم در افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی ممکن است در نتیجه افزایش بیان ژن های درگیر در سیستم دفاعی گیاهان باشد. همچنین، سلنیوم موجب افزایش انتقال آهن، منگنز و روی به عنوان بخش های مهم آنزیم های آنتی اکسیدانی شده، در نتیجه موجب بالا رفتن فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز می شود (Wang et al., 2021). مطالعات اخیر نشان داده اند که نانوذرات سلنیوم همراه با پلی ساکاریدهای جلبکی توانایی مهار رادیکال های آزاد را بهبود می بخشد و فعالیت آنتی اکسیدانی قوی تری را نشان می دهند (Cao et al., 2021; Zhao et al., 2022). همچنین محققان گزارش کردند که استفاده از عصاره جلبک دریایی و نانوذرات اکسید روی در شرایط تنش خشکی، با افزایش فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز موجب کاهش تجمع پراکسید هیدروژن در گیاهچه های گوجه فرنگی شد (Sohrabi et al., 2022; Haghpanah et al., 2024) و یافته های تحقیق حاضر با نتایج فوق مطابقت دارند.

افزایش میزان پرولین با محلول پاشی نانوذره سلنیوم و تحت تنش کروم هستند. محققان نشان دادند که عصاره‌های آبی جلبک‌های دریایی *F. spiralis* و *C. ericoides* موجب افزایش میزان پرولین شدند و پاسخ گیاه به تنش فلزات سنگین را بهبود بخشیدند که کاربرد بالقوه این جلبک‌های دریایی در فرایندهای گیاه‌پالایی را برجسته می‌کند (El Khattabi et al., 2023). در مطالعه دیگر، گزارش کردند که استفاده از عصاره جلبک باعث افزایش ۲۴ درصدی محتوای پرولین یونجه کشت شده در مقایسه با شاهد شد، که با نتایج تحقیق حاضر در رابطه با افزایش محتوای پرولین تحت تیمار عصاره جلبیکی مطابقت دارد (El-Sharkawy et al., 2017).

پرولین یکی از مهمترین واکنش‌های تطبیقی گیاهان متداول به تنش‌های فلزات سنگین است (Tian et al., 2016). محققین گزارش کرده‌اند که افزایش میزان پرولین تحت شرایط تنش آرسنیک و محلول پاشی سلنیوم ممکن است به دلیل تخریب پروتئین سنتتاز و کاهش تبدیل پرولین به پروتئین (در پروتئین‌های حاوی پرولین) باشد، زیرا در شرایط تنش برخی از پروتئین‌های گیاه صرف تولید پرولین می‌شوند (Abdollahi et al., 2023). احتمالاً در شرایط تنش، افزایش محتوای پرولین می‌تواند به دفع سمیت توسط کلاته شدن فلز در سیتوپلاسم، کاهش جذب فلز، کاهش آسیب به غشای و حفاظت از آنزیم‌ها در مقابل واسرشته شدن و تثبیت سنتز پروتئین کمک کند (Siriporndulsil et al., 2002). یافته‌های فوق هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر در رابطه با



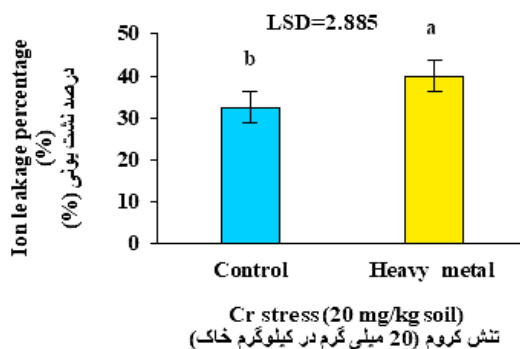
شکل ۱- مقایسه میانگین محلول پاشی و تنش کروم برای تغییرات در محتوای پرولین و مالون‌دی‌آلدهید در رازیانه.

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 1. Comparisons of average foliar application and Cr stress for changes in proline and MDA content in fennel. Means with similar letters in each column do not have statistically significant differences based on the LSD test.

سرانجام، این امر نشر الکترولیت‌ها و انتشار یون‌ها به خارج از سلول را با خود به همراه دارد (Fatemi et al., 2020). حضور عناصر سنگین باعث کاهش معنی‌دار پایداری غشای سلولی می‌گردد (Shekari et al., 2018). پژوهش‌گران گزارش کردند که تنش آرسنیک موجب افزایش میزان نش‌ یونی در گیاه ریحان شد و تنش سرب بر شاخص نش‌ یونی غشای در گیاه گشنیز اثر افزایشی داشت (Fatemi et al., 2020; Abdollahi et al., 2023). و یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج فوق مطابقت دارند.

نش‌ الکترولیت: بر اساس نتایج به‌دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، محرک‌های زیستی تأثیری بر روی درصد نش‌ الکترولیت نداشتند. نتایج مقایسه میانگین نشان دادند که تحت تنش فلز سنگین ۲۳/۱۳ درصد نش‌ یونی نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۲). نش‌ الکترولیت شاخص ضروری یکپارچگی غشا است که جذب کربن فتوسنتزی در گیاهان تحت تنش اکسیداتیو را منعکس می‌کند (Kumari et al., 2017). تنش فلزات سنگین موجب افزایش تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن، آسیب به ساختار غشای، ناپایدار شدن آن و اختلال در عملکرد غشا می‌شود و



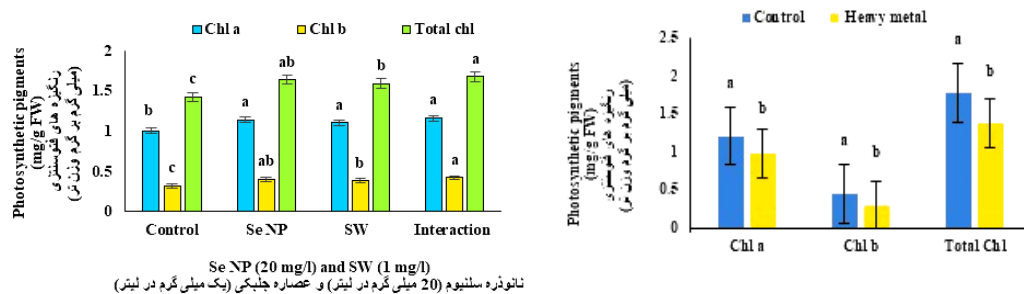
شکل ۲- مقایسه میانگین تنش کروم بر درصد نشت یونی رازیانه.

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 2. Comparisons of the mean Cr stress on the ion leakage percentage of fennel Means with similar letters in each column do not have statistically significant differences based on the LSD test

سمیت فلز سنگین است (Rostami *et al.*, 2022;) (Abdollahi *et al.*, 2023). فلزات سنگین به‌وسیله مهار آنزیم‌های گاما-آمینو لوولیتیک اسید و پروتوکلروفیلد ردوکتاز سبب مهار بیوستتز کلروفیل می‌شوند. این فلزات ستنز گاما آمینو لوولیتیک اسید و تشکیل کمپلکس آنزیم پروتوکلروفیلد ردوکتاز با سوسیترا را مهار می‌کنند. برهم‌کنش متقابل فلز سنگین با گروه سولفیدریل آنزیم‌ها مهمترین مکانسیم این مهارها عنوان شده است (Duan *et al.*, 2018). سلیوم می‌تواند از طریق تحریک انتقال الکترون در زنجیره انتقال تنفسی موجب تسریع بیوستتز کلروفیل گردد (Sheikhalipour *et al.*, 2021). همچنین، سلیوم موجب تقویت آنزیم‌های ریبولوز ۱ و ۵ بی‌فسفات کربوکسیلاز و کلروفیلاز و برخی ژن‌های کلیدی و پروتئین‌های درگیر در سیستم فتوسنتزی می‌گردد (Wang *et al.*, 2021). برخی از محققان اظهار داشتند که محلول‌پاشی سلیوم موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل در گیاهان بادرنجویه، ریحان و رزماری شد (Habibi *et al.*, 2016; Shamsai *et al.*, 2021; Abdollahi *et al.*, 2023). چندین محقق گزارش کردند که محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی در گشنیز و ریحان باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل گردید (Esmailpour *et al.*, 2020; Babashpour-Asl *et al.*, 2022). که با نتایج تحقیق حاضر هم‌سو است. افزایش مشاهده شده در محتوای کلروفیل در گیاهان تیمار شده با عصاره جلبک دریایی را می‌توان به بیوژنز سریع کلروپلاست‌ها ناشی از بتائین نسبت داد (Pal *et al.*, 2024).

رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل): همان‌طور که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود، تنش کروم به‌ترتیب موجب کاهش ۲۳/۲۴ درصد کلروفیل *a*، ۴۸/۴۹ درصد کلروفیل *b* و ۲۸/۳۵ درصد کلروفیل کل شد. همچنین، نتایج مقایسه میانگین نشان دادند که با محلول‌پاشی نانوذره سلیوم، عصاره جلبکی و برهم‌کنش آنها، کلروفیل *a* و کلروفیل کل نسبت به شاهد افزایش یافتند. بیشترین و کمترین غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی مربوط به کلروفیل کل (۱/۶۷۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در برهم‌کنش نانوذره سلیوم و عصاره جلبکی و کلروفیل *b* تحت شرایط کنترل (۰/۳۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) ملاحظه شدند (شکل ۳). کلروفیل *a* و کلروفیل *b* رنگدانه‌های مهمی برای واکنش فتوسنتزی در گیاهان هستند، زیرا نور خورشید را در طول موج‌های مختلف جذب می‌کنند (Li *et al.*, 2018). بنا بر این، تعدیل در محتوای کلروفیل کل می‌تواند به‌طور مستقیم بر ظرفیت فتوسنتزی گیاهان تحت تنش تأثیر بگذارد. طی برخی مطالعات نیز مشخص شده است که عناصر سنگین اثر بازدارنده بر جریان الکترون فتوسنتزی داشته، موجب تخریب رنگدانه‌های گیرنده نور می‌شوند و میزان پروتئین‌های فتوسنتزی II را کاهش می‌دهند (Piršelová *et al.*, 2016). کلروفیل از رنگیزه‌های فتوسنتزی است که مقدار آن در گیاه و به‌ویژه نسبت کلروفیل *a/b* به‌عنوان شاخصی از مقدار تحمل گیاه به استرس‌های محیطی ارزیابی شده است (Rostami *et al.*, 2022). در تحقیق حاضر، کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تنش کروم، هم‌سو با نتایج دیگر پژوهش‌گران مبنی بر کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تنش آرسنیک در گیاه ریحان و کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی زعفران تحت



Se NP (20 mg/l) and SW (1 mg/l)
نانوذره سلنیوم (20 میلی گرم در لیتر) و عصاره جلبیکی (یک میلی گرم در لیتر)

شکل ۳- اثر کاربرد کروم و محلول پاشی نانوذرات سلنیوم و عصاره جلبیکی بر رنگدانه‌های فتوسنتزی.

میانگین‌هایی با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 3. Effects of Cr and foliar application of selenium nanoparticles and algal extract on photosynthetic pigments. Means with similar letters in each column do not have statistically significant differences based on the LSD test.

اکسیدانی داشت و نیز محتوای بالای عناصر ماکرو و میکرو در گیاه رازیانه نقش مؤثری در از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدید دارد و موجب تخفیف اثرات سمی کروم خاکی و تحمل گیاه رازیانه به تنش فلز سنگین کروم می‌گردد. همچنین تحت تنش کروم، با کاربرد نانو ذره سلنیوم با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و عصاره جلبیکی یک میلی‌گرم در لیتر غلظت‌های رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه افزایش یافتند و رشد رازیانه را تحت تنش بهبود بخشید.

تشکر و قدردانی

از تمامی اشخاص حقیقی و حقوقی که امکانات لازم را برای انجام این تحقیق فراهم نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، بر اساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، تحت تنش فلز سمی کروم مقادیر پرولین، درصد نشت یونی، مالون‌دی‌آلدید و آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد افزایش یافتند، در حالی که برای رنگیزه‌های فتوسنتزی این نتیجه برعکس بود. کاربرد محرک‌های زیستی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، میزان پرولین و غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی را نسبت به شاهد افزایش داد، اما محتوای مالون‌دی‌آلدید نسبت به شرایط کنترل کاهش یافت. به‌طور کلی، در بین محرک‌های زیستی مورد بررسی تحت تنش کروم، تغذیه برگی با عصاره جلبیکی (غلظت دو میلی‌گرم بر لیتر) در مقایسه با نانوذره سلنیوم اثر قابل توجهی بر تقویت سیستم آنتی-

References

- Ahmad, B., Shabbir, A., Jaleel, H., Khan, M.M.A., & Sadiq, Y. (2018). Efficacy of titanium dioxide nanoparticles in modulating photosynthesis, peltate glandular trichomes and essential oil production and quality in *Mentha piperita* L. *Current Plant Biology*, 13, 6-15.
- Aroiee, H., Shekari, L., & Mirshekari, A. (2019). Effects of selenium on damage of heavy metals in germination, growth and antioxidant activities of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedling. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 6(2), 269-286.
- Amer, H.M., Marrez, D.A., Salama, A.B., Wahba, H.E., & Khalid, K.A. (2019). Growth and chemical constituents of cardoon plant in response to foliar application of various algal extracts. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101336.
- Ahanger, M.A., Tomar, N.S., Tittal, M., Argal, S., & Agarwal, R. (2017). Plant growth under water/salt stress: ROS production; antioxidants and significance of added potassium under such conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23, 731-744.
- Akbar, S.A., & Khairunnisa, K. (2024). Seaweed-based biosorbent for the removal of organic and inorganic contaminants from water: a systematic review. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 87, p. 2011). *EDP Sciences*. [In Persian]
- Abdollahi, A., Barin, M., Soltani, A.A., Torabi Giglou, M., Behrouz Ismailpour, B., & Tahami, S.K. (2023). Evaluation of influence of selenium foliar application on growth and physiological characteristics of basil (*Ocimum basilicum* L.) in arsenic-contaminated soil. *Journal of Vegetables Sciences*, 7(2), 59-76. [In Persian]
- Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1-15.
- Annan, K., Dickson, R.A., Amponsah, I.K., & Nooni, I.K. (2013). The heavy metal contents of some selected medicinal plants sampled from different geographical locations. *Pharmacognosy Research*, 5(2), 103.
- Balakhnina, T.I., & Nadezhkina, E.S. (2017). Effect of selenium on growth and antioxidant capacity of *Triticum aestivum* L. during development of lead-induced oxidative stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 64, 215-223.

- Babashpour-Asl, M., Farajzadeh-Memari-Tabrizi, E., & Yousefpour-Dokhanieh, A. (2022). Foliar-applied selenium nanoparticles alleviate cadmium stress through changes in physio-biochemical status and essential oil profile of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(53), 80021-80031.
- Bates, L.S., Waldren, R.P.A., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A., & Abdelly, C. (2007). Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant Growth Regulation*, 53, 185-194.
- Bhunia, B., Uday, U. S.P., Oinam, G., Mondal, A., Bandyopadhyay, T.K., & Tiwari, O.N. (2018). Characterization, genetic regulation and production of cyanobacterial exopolysaccharides and its applicability for heavy metal removal. *Carbohydrate Polymers*, 179, 228-243.
- Bilal, M., Rasheed, T., Sosa-Hernández, J.E., Raza, A., Nabeel, F., & Iqbal, H.M. (2018). Biosorption: an interplay between marine algae and potentially toxic elements a review. *Marine Drugs*, 16(2), 65.
- Cao, B., Zhang, Q., Guo, J., Guo, R., Fan, X., & Bi, Y. (2021). Synthesis and evaluation of *Grateloupia livida* polysaccharides-functionalized selenium nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 191, 832-839.
- Djanaguiraman, M., Belliraj, N., Bossmann, S.H., & Prasad, P.V. (2018). High-temperature stress alleviation by selenium nanoparticle treatment in grain sorghum. *ACS Omega*, 3(3), 2479-2491.
- Duan, C., Fang, L., Yang, C., Chen, W., Cui, Y., & Li, S. (2018). Reveal the response of enzyme activities to heavy metals through in situ zymography. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 106-115.
- El-Sayed, A.E.K.B., Aboulthana, W.M., El-Feky, A.M., Ibrahim, N.E., & Seif, M.M. (2018). Bio and phyto-chemical effect of *Amphora coffeaeformis* extract against hepatic injury induced by paracetamol in rats. *Molecular Biology Reports*, 45, 2007-2023.
- El Khattabi, O., El Hasnaoui, S., Toura, M., Henkrar, F., Collin, B., Levard, C., & Fahr, M. (2023). Seaweed extracts as promising biostimulants for enhancing lead tolerance and accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of Applied Phycology*, 35(1), 459-469.
- El-Sharkawy, M., El-Beshbeshy, T., Al-Shal, R., & Missaoui, A. (2017). Effect of plant growth stimulants on alfalfa response to salt stress. *Agricultural Sciences*, 8(4), 267-291.
- Esmailpour, B., & Fatemi, H. (2020). Effects of seaweed extract on physiological and biochemical characteristics of basil (*Ocimum basilicum* L.) under water-deficit stress conditions. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 11(9), 59-69. [In Persian]
- Fang, Z., Wang, Q., Zhang, C., Li, S., Li, S., Wang, X., & Li, Z. (2022). Effects of Cr⁶⁺ stress on chromium chemical speciation distribution and bacterial community structure in the *Coix lacrymajobi* L. constructed wetlands. *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 34(1), 433-445.
- Fatemi, H., Esmailpour, B., Sefidkon, F., Soltani, A.A., & Nematollahzadeh, A. (2020). How mycorrhiza symbiosis help coriander (*Coriandrum sativum* L.) plants grow better under contaminated soil? *Journal of Plant Nutrition*, 43(13), 2040-2053.
- Giannopolitis, C.N., & Ries, S.K. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59(2), 309-314.
- Hassan, R.H., El-Said, N.A., & El-Sayed, A.B. (2022). Effect of algae extracts on growth, yield, and essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) plant. *Scientific Journal of Flowers and Ornamental Plants*, 9(4), 363-372.
- Habibi, G., Ghorbanzade, P., & Abedini, M. (2016). Effects of selenium application on physiological parameters of *Melissa officinalis* L. plants. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 32(4), 698-715.
- Heath, R.L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189-198.
- Haghpanah, M., Jelodar, N.B., Zarrini, H.N., Pakdin-Parizi, A., & Dehestani, A. (2024). New insights into azelaic acid-induced resistance against *Alternaria Solani* in tomato plants. *BMC Plant Biology*, 24(1), 687.
- Haghpanah, M., Hashemipetroudi, S., Arzani, A., & Araniti, F. (2024). Drought tolerance in plants: physiological and molecular responses. *Plants*, 13(21), 2962.
- Jahanbakhsh Godehkahriz, S., & Raeisi Sadati, S.Y. (2023). Evaluation of important physiological traits of Morvared and Falat bread wheat cultivars under heavy metals cadmium and mercury. *Journal of Plant Process and Function*, 12(57), 19-36. [In Persian]
- Kammath, A.J., Nair, B., P.S., & Nath, L.R. (2021). Curry versus cancer: Potential of some selected culinary spices against cancer with in vitro, in vivo, and human trials evidences. *Journal of Food Biochemistry*, 45(3), e13285.
- Kumari, J., Udawat, P., Dubey, A.K., Haque, M.I., Rathore, M.S., & Jha, B. (2017). Overexpression of SbSI-1, a nuclear protein from *Salicornia brachiata* confers drought and salt stress tolerance and maintains photosynthetic efficiency in transgenic tobacco. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1215.

- Khosropour, E., Weisany, W., Tahir, N.A.R., & Hakimi, L. (2022). Vermicompost and biochar can alleviate cadmium stress through minimizing its uptake and optimizing biochemical properties in *Berberis integerrima* bunge. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(12), 17476-17486.
- Li, Y., He, N., Hou, J., Xu, L., Liu, C., Zhang, J., & Wu, X. (2018). Factors influencing leaf chlorophyll content in natural forests at the biome scale. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 64.
- Lajayer, B.A., Ghorbanpour, M., & Nikabadi, S. (2017). Heavy metals in contaminated environment: destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145, 377-390.
- Maleki, M., Ghorbanpour, M., & Kariman, K. (2017). Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. *Plant Gene*, 11, 247-254.
- Mokhtari, L., & Ghoreishi, S.M. (2019). Supercritical carbon dioxide extraction of trans-anethole from *Foeniculum vulgare* (fennel) seeds: Optimization of operating conditions through response surface methodology and genetic algorithm. *Journal of CO2 Utilization*, 30, 1-10.
- Moharramnejad, S., Sofalian, O., Valizadeh, M., Asghari, A., Shiri, M., & Ashraf, M. (2019). Response of maize to field drought stress: oxidative defense system, osmolytes' accumulation and photosynthetic pigments. *Pakistan Journal of Botany*, 51(3), 799-807.
- Nie, M., Hu, C., Shi, G., Cai, M., Wang, X., & Zhao, X. (2021). Selenium restores mitochondrial dysfunction to reduce Cr-induced cell apoptosis in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *Pekinensis*) root tips. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223, 112564.
- Pal, S. C., Hossain, M.B., Mallick, D., Bushra, F., Abdullah, S.R., Dash, P.K., & Das, D. (2024). Combined use of seaweed extract and arbuscular mycorrhizal fungi for alleviating salt stress in bell pepper (*Capsicum annum* L.). *Scientia Horticulturae*, 325, 112597.
- Piršelová, B., Boleček, P., & Gálusová, T. (2016). Effect of cadmium and arsenic on chlorophyll fluorescence of selected soybean cultivars. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63, 469-473.
- Rizwan, M., Ali, S., Abbas, T., Zia-ur-Rehman, M., Hannan, F., Keller, C., & Ok, Y.S. (2016). Cadmium minimization in wheat: a critical review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 130, 43-53.
- Rostami, M., Abbaspour, H., Safipour, A., & Taheri, G. (2022). Effect of selenium on growth and some physiological traits of basil under arsenic stress conditions. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 35(4), 823-835. [In Persian]
- Raeisi Sadati, S.Y., Raeisi Sadati, F., & Raeisi Sadati, M.R. (2024). Effect of biological stimuli on some biochemical characteristics of fennel plant under cadmium stress. *Plant Productions*, 47(3), 355-372. [In Persian]
- Rahman, M.M., Hossain, K.F.B., Banik, S., Sikder, M.T., Akter, M., Bondad, S.E.C., & Kurasaki, M. (2019). Selenium and zinc protections against metal-(loids)-induced toxicity and disease manifestations: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 168, 146-163.
- Rizwan, M., Ali, S., ur Rehman, M.Z., Riaz, M., Adrees, M., Hussain, A., & Rinklebe, J. (2021). Effects of nanoparticles on trace element uptake and toxicity in plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 221, 112437.
- Sheikhalipour, M., Esmailpour, B., Behnamian, M., Gohari, G., Giglou, M.T., Vachova, P., & Skalicky, M. (2021). Chitosan-selenium nanoparticle (Cs-Se NP) foliar spray alleviates salt stress in bitter melon. *Nanomaterials*, 11(3), 684.
- Siripornadulsil, S., Traina, S., Verma, D.P.S., & Sayre, R.T. (2002). Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. *The Plant Cell*, 14(11), 2837-2847.
- Sohrabi, P., Rostami, M., & Javadi, A. (2022). Effects of seaweed extract and nano-zinc oxide on seed germination characteristics and growth of tomato seedling under drought stress conditions. *Journal of Plant Process and Function*, 11(51), 193-207. [In Persian]
- Shekari, L., Aroiee, H., Mirshekari, A., & Nemati, H. (2018). Application of selenium in lowering damage of cadmium, nickel and lead stresses on germination and antioxidant activity of cucumber seedlings (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Seed Research*, 8(2), 55-72. [In Persian]
- Servin, A.D., & White, J.C. (2016). Nanotechnology in agriculture: next steps for understanding engineered nanoparticle exposure and risk. *NanoImpact*, 1, 9-12.
- Shamsai, A.A., Aran, M., & Fakheri, B.A. (2021). The effect of foliar application of selenium on physiological and biochemical characteristics of rosemary under drought stress. *Crop Science Research in Arid Regions*, 2(2), 127-140. [In Persian]
- Tian, B., Qiao, Z., Zhang, L., Li, H., & Pei, Y. (2016). Hydrogen sulfide and proline cooperate to alleviate cadmium stress in foxtail millet seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109, 293-299.
- Ulhassan, Z., Gill, R.A., Huang, H., Ali, S., Mwamba, T.M., Ali, B., & Zhou, W. (2019). Selenium mitigates the chromium toxicity in *Brassica napus* L. by ameliorating nutrients uptake, amino acids metabolism and antioxidant defense system. *Plant Physiology and Biochemistry*, 145, 142-152.
- Vosoughi, N., Gomarian, M., Pirbalouti, A.G., Khaghani, S., & Malekpoor, F. (2018). Essential oil composition and total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) extract under chitosan application and irrigation frequencies. *Industrial Crops and Products*, 117, 366-374.

- Wu, J.T., Hsieh, M.T., & Kow, L.C. (1998). Role of proline accumulation in response to toxic copper in *Chlorella* sp. (Chlorophyceae) cells. *Journal of Phycology*, 34(1), 113-117.
- Wang, L., Gao, Y., Wang, X., Qin, Z., Liu, B., Zhang, X., & Wang, G. (2021). Warming enhances the cadmium toxicity on macrophyte *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verd. seedlings. *Environmental Pollution*, 268, 115912.
- Xu, C., Qiao, L., Ma, L., Yan, S., Guo, Y., Dou, X., & Roman, A. (2019). Biosynthesis of polysaccharides-capped selenium nanoparticles using *Lactococcus lactis* NZ9000 and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1632.
- Xia, Y., & Zweier, J.L. (1997). Measurement of myeloperoxidase in leukocyte-containing tissues. *Analytical Biochemistry*, 245(1), 93-96.
- Zahedi, S. M., Hosseini, M.S., Daneshvar Hakimi Meybodi, N., & Peijnenburg, W. (2021). Mitigation of the effect of drought on growth and yield of pomegranates by foliar spraying of different sizes of selenium nanoparticles. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(12), 5202-5213.
- Zhang, W., Long, J., Li, J., Zhang, M., Xiao, G., Ye, X., & Zeng, H. (2019). Impact of ZnO nanoparticles on Cd toxicity and bioaccumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 23119-23128.
- Zhang, H., Xu, Z., Guo, K., Huo, Y., He, G., Sun, H., & Sun, G. (2020). Toxic effects of heavy metal Cd and Zn on chlorophyll, carotenoid metabolism and photosynthetic function in tobacco leaves revealed by physiological and proteomics analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 202, 110856.
- Zhou, J., Zhang, C., Du, B., Cui, H., Fan, X., Zhou, D., & Zhou, J. (2021). Soil and foliar applications of silicon and selenium effects on cadmium accumulation and plant growth by modulation of antioxidant system and Cd translocation: Comparison of soft vs. durum wheat varieties. *Journal of Hazardous Materials*, 402, 123546.
- Zhao, H., Liu, C., Song, J., & Fan, X. (2022). Pilot study of toxicological safety evaluation in acute and 28-day studies of selenium nanoparticles decorated by polysaccharides from *Sargassum fusiforme* in Kunming mice. *Journal of Food Science*, 87(9), 4264-4279.