



## Effect of biological stimuli on some biochemical characteristics of fennel plant under cadmium stress

Seyedeh Yalda Raeisi Sadati<sup>1\*</sup> , Fereshteh Raeisi Sadati<sup>2</sup> , Mir Reza Raeisi Sadati<sup>3</sup>

1. Ph.D. Plant Breeding (Molecular Genetic), Department of Plant Genetics and Production Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2. Ph.D. Student Breeding and Biotechnology, Department of Horticultural Sciences, Faculty Agriculture & Natural Resources University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3. Bachelor of Landscape Engineering, Department of Horticultural Sciences, Faculty Agriculture & Natural Resources University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

**Citation:** 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.

### Abstract

#### Introduction:

With the industrialization of societies in recent days, many toxic compounds have been released into the environment. Environmental pollution caused by heavy metals is one of the most important global factors of soil pollution that threatens food security. Medicinal plants are important economic plants and their products are widely consumed in the world and Iran. Since cadmium is known as the main element in causing various cancers, especially digestive cancer, it is necessary and important to investigate the effects of this toxic metal on the quantitative and qualitative properties of fennel. Using nano fertilizers in soil and nutrients can be a suitable solution to reduce the adverse effects of this heavy metal.

#### Materials and Methods:

This experiment was conducted in order to evaluate some biochemical characteristics of fennel plant and the possibility of mitigating the effects of cadmium heavy metal stress by foliar spraying of selenium nanoparticles, algae extract and their interaction in greenhouse conditions in a factorial manner based on a randomized complete block experimental design with three replications in 2023-2024 was implemented. The first factor included the heavy metal cadmium chloride at two levels (control and 20 mg/kg of soil) and the second factor is foliar application at three levels (control, algal extract, and selenium nanoparticle with concentrations of 2 mg/L and 20 mg/L).

#### Results:

The findings showed that under cadmium stress, the amount of malondialdehyde, catalase and

---

\* **Corresponding Author:** Seyedeh Yalda Raeisi Sadati  
**E-mail:** y.raeisi@uma.ac.ir



superoxide dismutase enzymes, proline content and ion leakage percentage increased significantly, while the content of photosynthetic pigments decreased compared to the control. Also, the highest level of malondialdehyde concentration and activity of catalase and superoxide dismutase enzymes were observed in foliar spraying with algal extract under cadmium stress compared to the control. The synergistic effect of selenium nanoparticle and algal extract decreased ion leakage by 3.91% and increased proline and photosynthetic pigments by 16.73%, especially chlorophyll b by 33.11%. In other words, the adverse effects of cadmium stress have been reduced by strengthening the antioxidant and photosynthetic system of fennel plant by selenium nanoparticles and algae extract.

**Conclusions:**

In general, foliar application of algal extract (concentration of 2 mg/L) due to the high content of macro and micro elements and antioxidant properties compared to selenium nanoparticles, has been able to inhibit free radicals by increasing the activity of antioxidant enzymes and by reducing the electrolyte leakage, maintain the integrity of the membrane in the condition of cadmium stress.

**Keywords:** Antioxidant enzyme, Algae extract, Cadmium, Malondialdehyde

## تأثیر محرک‌های زیستی بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه رازیانه تحت تنش کادمیوم

سیده یلدا رئیسی ساداتی<sup>۱\*</sup>، فرشته رئیسی ساداتی<sup>۲</sup>، میر رضا رئیسی ساداتی<sup>۳</sup>

- ۱- دکترای اصلاح نباتات (ژنتیک مولکولی)، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۲- دانشجوی دکتری اصلاح و بیوتکنولوژی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۲- کارشناسی مهندسی فضای سبز، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

### چکیده

امروزه با صنعتی شدن جوامع، ترکیبات سمی زیادی در محیط آزاد شده است. آلودگی محیطی ناشی از فلزات سنگین یکی از مهمترین عوامل جهانی آلودگی خاک است که امنیت غذایی را تهدید می‌کند. گیاهان دارویی جزء گیاهان مهم اقتصادی بوده و فرآورده‌های آن‌ها در سطح وسیع و بالایی در جهان و ایران مصرف می‌شوند. از آنجایی که کادمیم به عنوان عنصر اصلی در ایجاد انواع سرطان‌ها به‌ویژه سرطان گوارش شناخته شده است، بررسی اثرات این فلز سمی بر خواص کمی و کیفی رازیانه ضروری و مهم است. استفاده از نانو کودها در خاک و عناصر تغذیه‌ای می‌تواند راهکاری مناسب برای کاهش اثرات نامطلوب این فلز سنگین باشد. این آزمایش به منظور ارزیابی برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه رازیانه و امکان تخفیف اثرات تنش فلز سنگین کادمیم با محلول پاشی نانوذره سلنیوم، عصاره جلبکی و برهم کنش آن‌ها در شرایط گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی طی آزمایشی با سه تکرار در سال ۱۴۰۲-۱۴۰۳ اجرا گردید. فاکتور اول شامل فلز سنگین کلرید کادمیم در دو سطح (شاهد و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و فاکتور دوم تغذیه برگ‌گی در سه سطح (شاهد، عصاره جلبکی و نانوذره سلنیوم به ترتیب با غلظت‌های ۲ میلی‌گرم در لیتر و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در نظر گرفته شد. یافته‌ها نشان دادند که در شرایط تنش کادمیم میزان مالون دی‌آلدهید، آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، محتوای پرولین و درصد نشت یونی افزایش معنی‌داری یافت، در حالی که محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد کاهش نشان داد. همچنین بیشترین سطح غلظت مالون دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در محلول پاشی با عصاره جلبکی تحت تنش کادمیم نسبت به شاهد ملاحظه شد. اثر هم‌افزایی نانوذره سلنیوم و عصاره جلبکی موجب کاهش ۳/۹۱ درصدی نشت یونی و افزایش ۱۶/۷۳ درصدی پرولین و رنگیزه‌های فتوسنتزی به‌ویژه افزایش ۳۳/۱۱ درصدی کلروفیل b شد. به عبارتی اثرات نامطلوب تنش کادمیم با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و فتوسنتزی گیاه رازیانه توسط نانوذره سلنیوم و عصاره جلبکی کاهش

\* نویسنده مسئول: سیده یلدا رئیسی ساداتی

یافته است. به‌طور کلی تغذیه برگی با عصاره جلبکی (غلظت دو میلی‌گرم بر لیتر) به‌دلیل محتوای بالای عناصر ماکرو و میکرو و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با نانوذره سلنیوم، توانسته با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی رادیکال‌های آزاد را مهار و با کاهش نشت الکتروولت، یکپارچگی غشاء را در شرایط تنش کادمیوم حفظ کند.

### کلیدواژه‌ها: آنزیم آنتی‌اکسیدانی، عصاره جلبکی، کادمیوم، مالون دی‌آلدهید

#### مقدمه

تأمین امنیت غذایی جمعیت در حال رشد، با توجه به منابع طبیعی محدود یکی از مباحث مهم در جهان به‌شمار می‌رود. عناصر سنگین از مهمترین آلوده‌کننده‌های منابع طبیعی و کشاورزی می‌باشند (Rai *et al.*, 2019). با صنعتی شدن جوامع، سالانه هزاران تن از این عناصر وارد خاک و آب می‌شوند. از آنجایی که آلوده شدن محصولات کشاورزی با فلزات سنگین از یک طرف منجر به کاهش کیفیت محصولات کشاورزی و از طرفی تهدیدی جدی برای سلامت انسان است، لذا از جنبه‌های محیط زیستی بسیار حائز اهمیت هستند (Zhang *et al.*, 2020). هنگامی که عناصر کمیاب سمی در گیاهان انباشته می‌شوند، می‌توانند رشد و فتوسنتز گیاه را کاهش دهند و بر رشد گیاه تأثیر منفی بگذارند (Seneviratne *et al.*, 2019). کادمیوم (Cd) به‌عنوان عنصر کمیاب سمی برای گیاهان و انسان در نظر گرفته شده و یک فلز سنگین خطرناک است. با این وجود، سمیت آن بسته به ارگانسیم متفاوت است (Nayana *et al.*, 2020). به-دلیل شهرنشینی و صنعتی شدن قابل توجه، آلودگی فزاینده‌ای به کادمیوم در کشورهای در حال توسعه وجود دارد. کادمیوم می‌تواند از طریق اقدامات انسانی مختلف مانند زباله‌های معدنی، پساب فاضلاب، کودهای سنتزی و زباله‌های صنعتی در محیط خاک آزاد شود (Hussain *et al.*, 2020). تجمع کادمیوم در گیاهان می‌تواند رشد را با تأثیر بر فتوسنتز و متوقف کردن فرآیندهای شیمیایی طبیعی در گیاهان به‌طور متعدد مهار کند (Rizwan *et al.*, 2017). کادمیوم با تحریک تولید گونه‌های اکسیژن

فعال (ROS)<sup>1</sup>، یعنی تولید پراکسید هیدروژن و افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) آسیب‌های اکسیداتیو در گیاهان را افزایش می‌دهد، تا جایی که تولید بیش از حد ROS منجر به آسیب فتوسنتز و کاهش رشد از طریق اختلال در سیستم دفاعی گیاه می‌شود (Bakhtiari *et al.*, 2023).

گیاه رازیانه با نام علمی *Foeniculum Vulgare* گیاهی دارویی و معطر از خانواده چتریان است که به‌طور معمول در آسیا، منطقه مدیترانه و بسیاری از مناطق اروپا رشد می‌کند (Mutlu-Ingok *et al.*, 2021). این گیاه مقاوم و چند ساله دارای ساقه‌های شیاردار، برگ‌های متناوب و گل‌های دو جنسی می‌باشد. بذرها کوچک رازیانه دارای رایحه معطر و طعم مطبوع هستند (Riska, 2020). بذرها به‌عنوان طعم‌دهنده در صنایع غذایی مانند شیرینی، نان، ترشیجات، پنیر و همچنین در محصولات آرایشی و بهداشتی و دارویی استفاده می‌شود. بذور بالغ رازیانه حاوی ۲ تا ۶ درصد اسانس است که دارای فعالیت‌های ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و محافظ کبد است. از تمامی اجزای رازیانه، به‌ویژه دانه‌ها، ریشه‌ها، برگ‌ها و میوه‌ها استفاده می‌شود (Miguel *et al.*, 2010; Mutlu-Ingok *et al.*, 2021).

استفاده از نانوکودهای مقرون به صرفه و ایمن از نظر زیست محیطی برای اصلاح خاک‌های آلوده به فلز در گذشته و اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Rehman *et al.*, 2017). نانوذرات (NPs)، به‌عنوان بخش اصلی فناوری نانو، توجه فزاینده‌ای به کاهش میزان

<sup>1</sup> Reactive Oxygen Species

بخش‌های کشاورزی و دارویی دارند ( Akbar and Khairunnisa, 2024; Choulot et al., 2023). جلبک دریایی علاوه بر کاربرد اولیه آن در تصفیه پساب، فلزات سنگین سمی را کاهش داده یا از بین می‌برد (Akbar and Khairunnisa, 2024). جذب زیستی یک فرآیند حذف عناصر بالقوه سمی است که در آن جذب، کلاته شدن و تبادل یونی ممکن است رخ دهد. از طریق ریزجلبک‌ها، فلزات سنگین را می‌توان از فاضلاب شهری و صنعتی حذف کرد ( Bilal et al., 2018)، بنابراین استفاده از عصاره جلبک به‌عنوان محلول‌پاشی روی گیاهان توصیه می‌شود.

اثر تسکین دهنده سلنیوم بر تجمع کادمیوم و خواص مورفوفیزیولوژیکی گشنیز و مریم گلی توسط باباش‌پور اصل و همکاران ( Babashpour-Asl et al., 2022) و نیز بختیاری و همکاران ( Bakhtiari et al., 2023) مورد مطالعه قرار گرفته است. تنش کادمیوم جذب مواد مغذی را کاهش داده و کاربرد یک میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیت سدیم ( $Se_2O_3$ ) باعث کاهش محتوای کادمیوم و افزایش محتوای کلروفیل و فعالیت فتوسنتزی می‌شود (Khan et al., 2023). در مطالعه دیگری، محلول‌پاشی سلنیوم منجر به کاهش تجمع سرب و کادمیوم در ریشه و اتمام هوایی مریم گلی شد. همچنین محتوای نسبی آب (۱۸ درصد)، کلروفیل کل (۳۷ درصد)، اسانس (۳۱ درصد) و عملکرد اسانس (۳۷ درصد) را تحت تنش کادمیوم افزایش داد و محتوای مالون دی‌آلدهید (۱۷ درصد) و نشت الکترولیت (۲۲ درصد) را در مریم گلی کاهش داد ( Bakhtiari et al., 2023).

مطالعات مختلف گزارش کردند که عصاره جلبک می‌تواند رشد گیاه را تحریک کند، فعالیت فتوسنتزی را افزایش دهد و تحمل به شرایط نامطلوب محیطی را افزایش دهد و در نتیجه عملکرد و بهره‌وری محصولات را بهبود بخشد ( Michalek et al., 2018; Kocira et al., 2019). امروزه محققین به دنبال راهکاری هستند که

آلودگی محیط زیست (El-Saadony et al., 2021) و در نتیجه بهبود زندگی انسان‌ها داشته است ( Fatemi et al., 2021). نانوذرات می‌توانند ROS تولید شده در شرایط غیرعادی مانند فلزات سنگین را از بین ببرند (Rubio et al., 2019). اثربخشی نانوذرات در کاهش سمیت کادمیوم و سرب با نوع و دز نانوذرات اعمال شده متفاوت است (Bakhtiari et al., 2023). نانوذرات سلنیوم (Se NP) به‌عنوان یک نانو فرم پایدار از سلنیوم برای کاربرد به‌عنوان تعدیل‌کننده تنش و کود در محصولات کشاورزی معرفی شده است و می‌تواند محتوای آب را افزایش داده و در نتیجه فرآیند بیوشیمیایی سلول‌های گیاهی و در نهایت رشد و عملکرد گیاه را بهبود بخشد ( Djanaguiraman et al., 2018; Merwad et al., 2018). اخیراً محلول‌پاشی سلنیوم به‌طور گسترده در بیشتر گیاهان از جمله مریم گلی، گشنیز، کلزا و گندم برای جلوگیری یا کاهش اثرات نامطلوب فلزات سنگین استفاده شده است ( Qi et al., 2021; Babashpour-Asl et al., 2022; Nasirzadeh et al., 2022; Bakhtiari et al., 2023). گزارش شده است که سلنیوم نقش مهمی در پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاهان دارد. به‌عنوان بخشی از این نقش، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی فعال می‌شوند، سطح کلروفیل افزایش می‌یابد، مواد معدنی متعادل می‌شوند و گیاه در برابر تنش‌های مختلف مقاوم‌تر است (Khan et al., 2023). محرک‌های زیستی به‌عنوان مواد آلی یا میکروارگانسیم‌هایی تعریف می‌شوند که جذب مواد مغذی و رشد و تحمل گیاه را به تنش‌های زیستی و غیرزیستی افزایش می‌دهند. آن‌ها مستقیماً بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیک گیاه تأثیر می‌گذارند ( El-Serafy, 2019; Caradonia et al., 2019). جلبک‌های دریایی را می‌توان بر اساس نوع رنگدانه به سه دسته تقسیم کرد: قرمز (*Rhodophyta*)، قهوه‌ای (*Ochrophyta*) و سبز (*Chlorophyta*). این جلبک‌های دریایی شامل انواع ترکیبات فعال زیستی هستند که کاربردهای متعددی در

ذره سلنیوم با شماره CAS 7446-08-4 از شرکت نیکزما فریند پارسیان تهران خریداری شد، که دارای اندازه متوسط ذرات ۱۵-۴۰، سطح ویژه ۳۰-۵۰ متر مربع بر گرم، چگالی ظاهری ۳/۸۹ گرم بر سانتی-مترمکعب و با خلوص ۹۹/۹ درصد بود. بعد از استریل خاک مورد استفاده با آون ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، کلرید کادمیم (۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) با خاک معمولی مخلوط شد. درون گلدان‌های پلاستیکی سه لیتری از خاک یکدست پر شدند، سپس بذور رازیانه (تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان) ضد عفونی شده با تراکم ۷ بوته در هر گلدان و در عمق ۲ سانتی‌متری در گلدان‌های پلاستیکی در ۱۵ اسفند ماه سال ۱۴۰۲ کشت شدند. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد روز و ۱۷ درجه سانتی‌گراد شب، طول دوره روشنایی ۱۵-۱۶ ساعت (با استفاده از ترکیبی از لامپ‌های معمولی و مهتابی) و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد نگهداری شدند (Khosropour et al., 2022). ۳۰ روز بعد از کشت اولین مرحله محلول-پاشی (چهار برگگی) در سه سطح صفر، عصاره جلبکی (*Ascophyllum nodosum*) و نانوذره سلنیوم (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) و ۱۵ روز بعد محلول‌پاشی دوم (۴۵ روز بعد از کشت) و ۱۵ روز بعد محلول‌پاشی سوم (۶۰ روز بعد از کشت) انجام شد. چند تصویر از گیاهان در مراحل مختلف پژوهش ارائه شده است (شکل ۱). ده روز بعد از قرار گرفتن گیاه در تنش مورد نظر، نمونه-برداری از نمونه‌های شاهد و تیماری به‌منظور بررسی برخی شاخص بیوشیمیایی در پایان مرحله فیزیولوژیکی گیاه انجام گرفت. پس از ۸۰ روز کشت بذر، گیاهان کاملاً رشد کرده برداشت شدند.

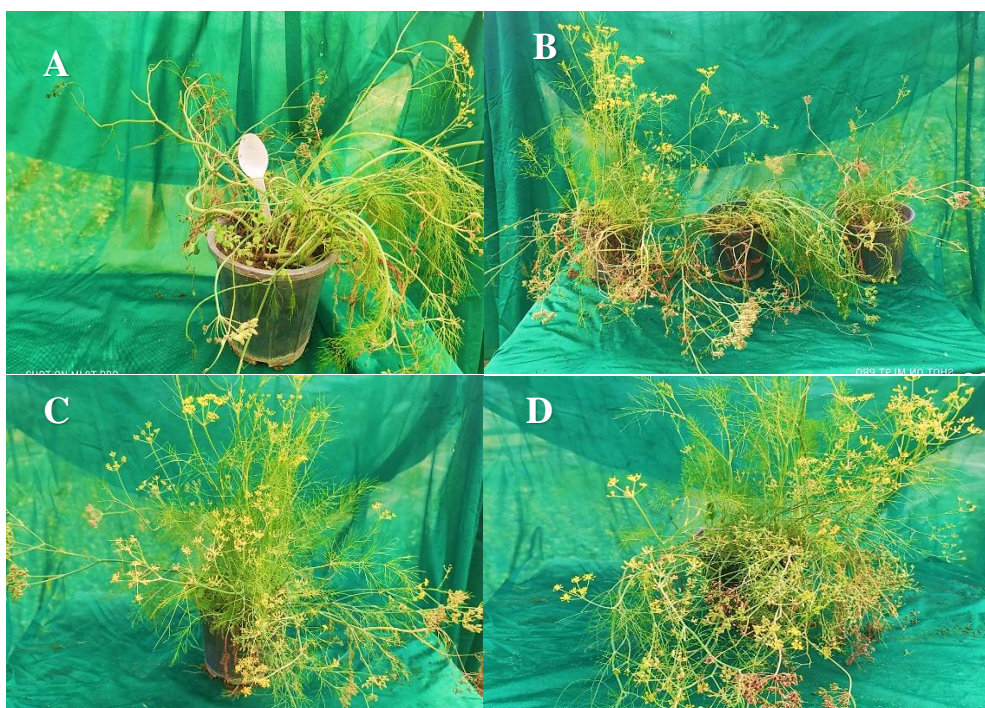
اثرات سمی فلزات سنگین خاک را کاهش داده و بتوانند کیفیت محصولات کشت شده در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین را بهبود بخشند. علی‌رغم گزارش‌های اثرات مطلوب نانوذرات و عصاره‌های جلبکی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی محصولات کشاورزی، اثرات نانوذره سلنیوم و عصاره جلبکی و مقایسه این ترکیبات در خاک‌های آهنی آلوده به کادمیم در گیاه رازیانه مورد بررسی قرار نگرفته است، لذا این پژوهش با هدف اولیه بررسی برخی شاخص بیوشیمیایی گیاه رازیانه در شرایط نرمال و تنش فلز سنگین کادمیم طی محلول‌پاشی عصاره جلبکی و نانوذره سلنیوم و هدف نهایی از این پژوهش بررسی تأثیر تغذیه برگی نانوذره سلنیوم (Se NPs) و عصاره جلبکی بر کاهش جذب کادمیم در رازیانه و کاهش تنش اکسیداتیو در شرایط تنش فلز سنگین و اینکه چگونه نانوذره سلنیوم (Se NPs) و عصاره جلبکی با هم کار می‌کنند تا سمیت Cd را در گیاه رازیانه محدود کنند.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در ۱۵ اسفند ماه سال ۱۴۰۳-۱۴۰۲ به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار تحت شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل فاکتور اول کلرید کادمیم در دو سطح (شاهد و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و فاکتور دوم شامل محلول‌پاشی در سه سطح صفر (شاهد)، عصاره جلبکی و نانوذره سلنیوم به ترتیب با غلظت‌های ۲ میلی‌گرم در لیتر و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در نظر گرفته شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه و عصاره جلبکی (SWE) که از شرکت آرمادین، تهران، ایران خریداری شده بود، در جدول ۱ ارائه شده است. همچنین نانو

**Table 1. Chemical and physical characteristics of soils seaweed extract properties used in the study**

Soil texture	N (%)	Phosphorus (mg kg <sup>-1</sup> )	Potassium (mg kg <sup>-1</sup> )
Sandy-loam	0.19	11.9	245
	EC (ds m <sup>-1</sup> )	pH	Cd (mg kg <sup>-1</sup> )
	1.18	7.13	0.08
Parameter	Concentration	Parameter	Concentration
N	0.1%	Carbohydrate	1.87%
P	0.1%	Organic acids	0.71%
K	1.5%	Organic carbon	52 g L <sup>-1</sup>
Cu	11 mg L <sup>-1</sup>	Amino acids	107 g L <sup>-1</sup>
Fe	150 mg L <sup>-1</sup>	Auxin	15 g L <sup>-1</sup>
Mn	80 mg L <sup>-1</sup>	Cytokinin	11 g L <sup>-1</sup>
Zn	50 mg L <sup>-1</sup>	Gibberellin	24 g L <sup>-1</sup>
Organic matter	4.95%	Seaweed extract	26%

**Figure 1. Control (A), cadmium stress treatment (B), selenium nanoparticle (C) and algal extract (D) in fennel plant respectively.**

Winlab Data ) با استفاده از EC متر مدل ( EC1) در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شده و بعد از خنک شدن محتوی لوله‌ها تا دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها مجدداً اندازه‌گیری شد و با فرمول زیر درصد نشت یونی محاسبه گردید ( Ben Hamed *et al.*, 2007).

### صفات مورد اندازه‌گیری فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

سنجش نشت الکترولیت: برای سنجش میزان آسیب به غشاء (نشت الکترولیت)، ۰/۲ گرم از بافت سالم و تازه اندام هوایی گیاه را بعد از شستشو با آب مقطر جهت شستشوی یون‌های احتمالی از سطح گیاه، درون لوله آزمایش درب‌دار قرار داده و ۱۰ میلی‌لیتر آب یون‌گیری شده به آن اضافه گردید. سپس لوله‌های آزمایش را به-

مدت ۲ ساعت درون حمام EC1 گرم با دمای ۳۲ درجه سانتی گراد قرار داده و میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها

$$\text{درصد نشت یونی} = \frac{\text{EC}_2}{\text{EC}_1} \times 100$$



غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) با استفاده از روش Heath و Packer (1968) انجام شد. برای این منظور، ابتدا ۰/۵ گرم بافت برگ تازه آسیاب شد و به آن ۴ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید (TCA) اضافه شد. عصاره حاصل، به مدت ۳۰ دقیقه، با ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شد. پس از آن به ۱۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی، TCA ۲۰ درصد حاوی TBA افزوده شد. سپس نمونه‌ها ۲۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند و بعد از سرد شدن به مدت ده دقیقه با ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شدند و پس از آن در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند. غلظت MDA بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

استخراج پرولین از برگ‌ها با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام گرفت. بدین منظور نمونه‌های بافت برگ با سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ استخراج گردید. سپس در لوله آزمایشی جداگانه دیگری، به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص اضافه شد. در ادامه لوله‌های آزمایشی به مدت یک ساعت در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از خارج شدن از آب جوش، ۲ میلی‌لیتر تولوئن 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.

### وزن تر و وزن خشک اندام هوایی و ریشه

وزن تر اندام‌هوایی و ریشه گیاه پس از برداشت با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد. برای اندازه‌گیری اندام‌هوایی، گیاه کشت‌شده از یقه توسط قیچی قطع شد و تمام قسمت‌های هوایی گیاه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری ریشه، ریشه‌ها به آرامی جدا شده و با ترازوی دیجیتال وزن شدند. پس از خشک کردن

محتوای کلروفیل برگ طبق روش Arnon (1949) اندازه‌گیری شد، به طوری که ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر با استون ۸۰ درصد صفر شده و سپس میزان جذب عصاره استخراج شده در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۸۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. سپس با استفاده از رابطه‌های زیر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم برگ تر محاسبه شد.

$$a \text{ کلروفیل} = [(12.7 \times A663) - (2.69 \times A645)] \times V / 1000 \times W$$

$$b \text{ کلروفیل} = [(22.9 \times A645) - (4.69 \times A663)] \times V / 1000 \times W$$

$$\text{کلروفیل کل} = [(20.2 \times A645) + (8.02 \times A663)] \times V / 1000 \times W$$

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با استفاده از روش Eising و Gerhard (1987) اندازه‌گیری شد. برای این منظور از ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳ درصد برای تهیه بافر نهایی کار استفاده گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر بافر نهایی در کبوت ریخته شده و به آن ۱۰ میکرولیتر عصاره اضافه شد. پس از گذشت یک دقیقه از تجمع هر نمونه، قرائت در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت.

اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) طبق روش Dhindsa و همکاران (1981) انجام شد. فعالیت این آنزیم به صورت فوتومتریک بررسی شد. بافر اصلی واکنش شامل بافر فسفات (pH=۷/۸) ۱۰۰ میلی‌مولار، متیونین ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبلو تترازولیوم ۷۵ میکرومولار، EDTA ۱۰۰ میکرومولار و تریتون ایکس-۱۰۰، ۲۵ درصد بود. از بافر اصلی به هر چاهک ۲۹۰ میکرولیتر اضافه شد. سپس از بافر ریپرفلاوین ۲ میکرومولار، به مخلوط واکنش اضافه و دستگاه در طول موج ۵۶۰ نانومتر کالیبره شد. برای سنجش هر نمونه، ۱۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی استفاده شد. این واکنش

بر اساس میزان احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم و توانایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ممانعت از این واکنش بررسی شد.



### محتوای مالون دی آلدئید، آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، تحت تنش کادمیوم محتوای مالون دی آلدئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسیداز دیسموتاز برگ افزایش معنی‌داری نسبت به شرایط کنترل نشان دادند. محلول‌پاشی نانوذره سلنیوم، عصاره جلبکی و برهم‌کنش آن‌ها موجب افزایش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد مطالعه گیاه رازیانه شد، در حالی که برای محتوای مالون دی آلدئید این نتیجه بر عکس بود. در گیاه رازیانه برهم‌کنش کادمیوم با محلول‌پاشی نانوذره سلنیوم، محلول‌پاشی عصاره جلبکی ۲ میلی‌گرم در لیتر و برهم‌کنش آن‌ها میزان مالون دی آلدئید را به ترتیب ۱۷/۱۲ درصد، ۳۳/۵۶ درصد و ۱۱/۸۸ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. بیشترین میزان مالون دی آلدئید تحت تنش کادمیوم (۱۱۴/۷۶۶ میکرو مول بر گرم وزن تر برگ) و کمترین مقدار (۸/۶۶۶ میکرو مول بر گرم وزن تر برگ) مربوط به برهم‌کنش نانوذره روی با عصاره جلبکی بود. همچنین بیشترین میزان آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز مربوط به تنش کادمیوم و کمترین غلظت این آنزیم‌ها مربوط به شاهد بود (جدول ۳).

اندام‌های مختلف گیاه در دستگاه آون در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، وزن خشک آن‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم به دست آمد (Inbar *et al.*, 1994).

### تجزیه آماری داده‌ها

کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌های حاصل از این آزمایش، با کمک نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثر متقابل دوجانبه محلول‌پاشی × تنش فلز سنگین کادمیوم در رابطه با صفات مالون دی آلدئید، آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین برای همه صفات اندازه‌گیری تحت تنش فلز سنگین کادمیوم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ملاحظه شد. محلول‌پاشی نانوذره سلنیوم و عصاره جلبک سبز برای صفات نشت الکترولیت، میزان اسید آمینه پرولین، مالون دی آلدئید و رنگی‌های کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل اختلاف معنی‌دار وجود داشت، اما برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

**Table 2. Analysis of variance for physiological and biochemical characteristics of fennel plant under cadmium stress and foliar application of selenium nanoparticles and algae extract**

SOV	df	Means of square (MS)							
		EL	Proline	MDA	Catalase enzyme	SOD	Chl a	Chl b	Total chl
Block	2	11.375	492.12*	0.053	0.008	1.16	0.004	0.003**	0.015
Cadmium stress	1	560.666**	9322.04**	69.020**	0.322**	22.42**	0.464**	0.170**	1.201**
Spraying	3	31.166*	840.81**	7.243**	0.005	0.48	0.028*	0.011**	0.072**
Interaction	3	6.777	46.26	3.465**	0.018**	1.78*	0.001	0.001	0.003
Error	14	8.37	80.79	0.55	0.002	0.36	0.005	0.0005	0.007
(%) CV	-	7.7	5.1	7.0	13.0	12.3	6.7	6.1	5.3

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

گشنیز تحت تنش کادمیوم افزایش می‌یابد، در حالی که نانوذره سیلیکون جذب کادمیوم را کاهش می‌دهد (Babashpour-Asl *et al.*, 2022)، که هم راستا با یافته تحقیق حاضر در رابطه با افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید تحت تنش کادمیوم و کاهش آن با کاربرد نانوذره سلنیوم می‌باشد. عصاره جلبک سبز می‌تواند مسیرهای متابولیکی خاصی را فعال کند که رشد، عملکرد، کیفیت پس از برداشت و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی را تقویت کند و در کاهش تنش‌های غیرزیستی از جمله کلاته کردن کادمیوم نقش دارد (Bhunia *et al.*, 2018; Dell'Aversana *et al.*, 2021). اثر محلول‌پاشی عصاره جلبکی بر روی اجزای بیوشیمیایی رازیانه می‌تواند به دلیل محتوای بالای عناصر کم و پر مصرف و همچنین محتوای بالای اسیدهای آمینه آزاد باشد، که می‌تواند متابولیسم گیاه را تحریک کرده و در نتیجه ستر پروتئین‌ها و برخی از هورمون‌های مسئول رشد گیاه را افزایش دهد (Mógor *et al.*, 2018; Shawky *et al.*, 2023). محققان نشان دادند محرک‌های زیستی از جمله عصاره‌های جلبکی موجب افزایش فلاونوئیدها، اسید آمینه آزاد، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، کربوهیدرات کل و تجمع رنگدانه کل در مرزنجوش و نیز افزایش محتوای پرولین، فعالیت‌های آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و کاهش پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید تحت تنش سرب و کادمیوم در گیاه گوجه‌فرنگی می‌شود (Fal *et al.*, 2023; Abd-El Hameed *et al.*, 2023)، که پاسخ مثبت در افزایش محتوای اسیدهای آمینه و آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان ممکن است به این دلیل باشد که عصاره جلبک دریایی حاوی عناصر ماکرو و ریز مغذی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، ایتدول استیک اسید، جیرلین‌ها، سیتوکینین‌ها و اسید آسبزیک به‌عنوان محرک‌های رشد گیاه است (Abou El Magd, 2019). مطالعات اخیر نشان داده است که نانوذرات سلنیوم همراه با پلی‌ساکاریدهای جلبکی و محلول‌پاشی با سیلیکون و عصاره جلبک دریایی توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را بهبود می‌بخشد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری را نشان می‌دهد (Cao *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2021).

گیاهان در معرض تنش کادمیوم تغییرات شدیدی را در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهند (Gupta *et al.*, 2019)، از جمله فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز (POD) (El Rasafi *et al.*, 2022). افزایش MDA و نشت الکترولیت در تنش ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم در گیاه مریم‌گلی گزارش شده است (Bakhtiari *et al.*, 2023). تحقیق حاضر نشان داد که تنش کادمیوم در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک موجب افزایش معنی‌دار محتوای مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد شد، که هم‌راستا با نتایج دیگر محققان در رابطه با افزایش فعالیت کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی‌آلدئید تحت تیمار کادمیوم بود (Behnam *et al.*, 2019; Ran *et al.*, 2024). احتمالاً کادمیوم با افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) آسیب‌های اکسیداتیو در گیاه را افزایش می‌دهد و منجر به کاهش فتوسنتز و کاهش رشد از طریق اختلال در سیستم دفاعی گیاه می‌گردد (Rizwan *et al.*, 2019). محلول‌پاشی نانوذره سلنیوم تحت تنش کادمیوم باعث کاهش مالون دی‌آلدئید و آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شرایط تنش شد. برخی از مطالعات تأثیر نانوذره سلنیوم را بر فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو ارزیابی کردند (Neysanian *et al.*, 2020; De Brito *et al.*, 2021). در گیاهان تحت اثر متقابل کاربرد کادمیوم و سلنیوم، سلنیوم معمولاً سمیت کادمیوم را از طریق کاهش تنش اکسیداتیو کاهش می‌دهد، جذب کادمیوم را کاهش می‌دهد و سلول‌های آسیب‌دیده را بازسازی می‌کند (Hussain *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020). گزارش‌های متعددی نشان دادند که نانوذرات سلنیوم محتوای مالون دی‌آلدئید را کاهش داده و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسوربات پراکسیداز را در گیاهان گشنیز و کلم‌برگ چینی بهبود بخشیدند (Sardar *et al.*, 2022; Tu *et al.*, 2024)، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. محققان دریافتند که غلظت مالون دی‌آلدئید

و سرب باعث افزایش مالون دی آلدئید و نشت الکترولیت در گیاه مریم گلی شد، در حالی که نانوذرات سلنیوم، سیلیکون و روی غلظت این متغیرها را در برگ‌های مریم گلی کاهش دادند (Bakhtiari *et al.*, 2023). همچنین پژوهشگران گزارش کردند کاربرد عصاره جلبک دریایی می‌تواند کاهش نشت الکترولیت را با یکپارچگی غشاء به دنبال داشته باشد (Ahmed *et al.*, 2024)، که یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج فوق مطابقت دارد.

(*al.*, 2022)، که یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج فوق مطابقت دارد.

### نشت الکترولیت

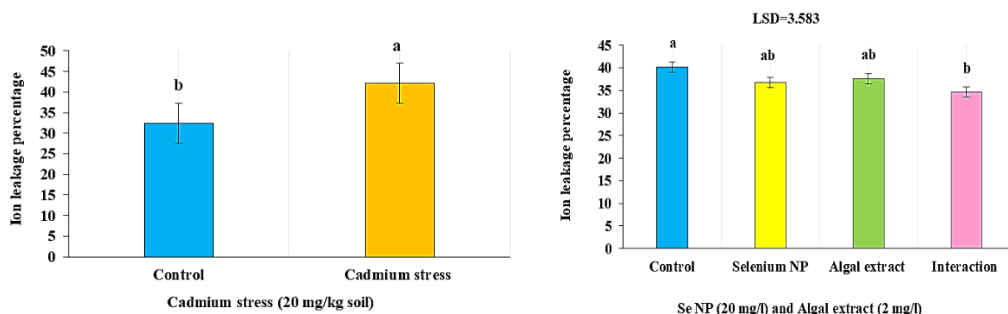
نتایج مقایسه میانگین نشان داد تحت تنش کادمیوم درصد نشت یونی نسبت به شاهد افزایش یافت، در حالی که با محلول پاشی نانوذره سلنیوم، عصاره جلبکی و برهم کنش آن-ها درصد نشت یونی گیاه رازیانه نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۲). نشت الکترولیت شاخص ضروری یکپارچگی غشا است که منعکس کننده جذب کربن فتوسنتزی در گیاهان تحت تنش اکسیداتیو هستند (Kumari *et al.*, 2017). محققان گزارش کردند که تنش اکسیداتیو ناشی از کادمیوم

**Table 3. Comparisons of mean interaction effects of heavy metal stress × foliar spraying on the amount of malondialdehyde, catalase and superoxidase dismutase antioxidant enzymes of fennel plant.**

Variable	Means		
	MDA ( $\mu\text{mol.g FW}^{-1}$ )	CAT ( $\text{mg.g FW}^{-1}$ )	SOD ( $\text{mg.g FW}^{-1}$ )
Control	9.533 <sup>de</sup>	0.220 <sup>c</sup>	3.566 <sup>c</sup>
Cd	14.766 <sup>a</sup>	0.613 <sup>a</sup>	7.100 <sup>a</sup>
Se	8.866 <sup>e</sup>	0.266 <sup>c</sup>	4.133 <sup>c</sup>
AE	8.700 <sup>e</sup>	0.296 <sup>c</sup>	4.033 <sup>c</sup>
mix	8.666 <sup>e</sup>	0.273 <sup>c</sup>	4.100 <sup>c</sup>
AE × Cd	12.733 <sup>b</sup>	0.483 <sup>b</sup>	5.733 <sup>b</sup>
Se × Cd	11.166 <sup>c</sup>	0.470 <sup>b</sup>	5.466 <sup>b</sup>
mix × Cd	10.666 <sup>cd</sup>	0.416 <sup>b</sup>	5.266 <sup>b</sup>
LSD	1.305	0.086	1.062

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ( $P < 0.05$ ).

Cd: cadmium stress, Se: foliar application of selenium nanoparticles, AE: Algae Extract, mix: foliar application of selenium nanoparticles and algae extract.



**Figure 2. Comparison of the mean foliar application and heavy metal stress on the ion leakage percentage of fennel plant**

### محتوای پرولین

نتایج مقایسه میانگین نشان داد، با محلول‌پاشی نانوذره سلنیوم، عصاره جلبکی ۲ میلی‌گرم بر لیتر و برهم‌کنش آن‌ها محتوای پرولین به ترتیب ۱۰/۸۷ درصد، ۱۴/۵۳ درصد و ۱۶/۷۳ درصد نسبت به شاهد افزایش یافتند (شکل ۳). گیاهان غلظت پرولین را برای تنظیم نفوذ سلولی و محافظت از گیاهان در برابر انواع مختلف تنش تغییر می‌دهند (Bhagyawant *et al.*, 2019). کاربرد نانوذره سلنیوم تجمع پرولین را تنظیم می‌کند و رویسکو همراه با حفظ پرولین برای پاکسازی گونه‌های اکسیژن فعال کمک می‌کند (Ahanger *et al.*, 2017). محققین گزارش کردند که نانوذرات سلنیوم بر تنظیم‌کننده اسمزی (پرولین آزاد و قندهای محلول)، مواد مغذی و محتوای سلنیوم، یکپارچگی سلولی (محتوای آب و پایداری غشاها) موثر بوده و موجب افزایش قابل توجه شاخص‌های مربوط به رشد گیاه گشنیز می‌شود (Sardar *et al.*, 2022)، که یافته‌های فوق هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر در رابطه با افزایش میزان پرولین با محلول‌پاشی نانوذره سلنیوم می‌باشد. محتوای پرولین تحت تنش کادمیوم (۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) نسبت به شرایط کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (شکل ۳)، که همسو با نتایج دیگر گزارشات محققان مبنی بر افزایش میزان پرولین تحت تنش کادمیوم در گیاهان مرزه تابستانه و گشنیز است (Azizi *et al.*, 2020; Babashpour-Asl *et al.*, 2022). محققان نشان دادند که عصاره‌های آبی جلبک‌های دریایی *C. ericoides* و *F. Spiralis* موجب افزایش میزان پرولین شده و پاسخ گیاه به تنش فلزات سنگین را

بهبود می‌بخشند و کاربرد بالقوه این جلبک‌های دریایی در فرآیندهای گیاه پالایی 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 (El-Sharkawy *et al.*, 2017)، که با نتایج تحقیق حاضر در رابطه با افزایش محتوای پرولین تحت تیمار عصاره جلبکی مطابقت دارد.

### رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل)

همانطور که در شکل ۴ ملاحظه می‌شود تنش کادمیوم به ترتیب موجب کاهش ۲۹/۸۰ درصد کلروفیل *a*، ۵۹/۳۶ درصد کلروفیل *b* و ۳۳/۶۳ درصد کلروفیل کل شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با محلول‌پاشی نانوذره سلنیوم، عصاره جلبکی و برهم‌کنش آن‌ها کلروفیل *a* و کلروفیل کل نسبت به شاهد افزایش یافتند. بیشترین میزان کلروفیل *b* (۰/۴۱۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در برهم‌کنش نانوذره سلنیوم و عصاره جلبکی نسبت به شاهد (۰/۳۰۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) ملاحظه شد (شکل ۴). کلروفیل *a* و *b*، رنگدانه‌های مهمی برای واکنش فتوسنتزی در گیاهان هستند زیرا نور خورشید را در طول موج‌های مختلف جذب می‌کنند (Li *et al.*, 2018)، بنابراین تعدیل در محتوای کلروفیل کل (Chla + Chl-b) می‌تواند به طور مستقیم بر ظرفیت فتوسنتزی گیاهان تحت تنش تأثیر بگذارد.

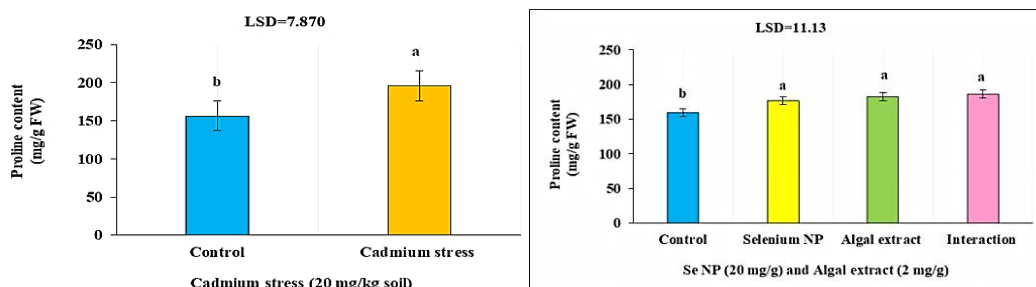
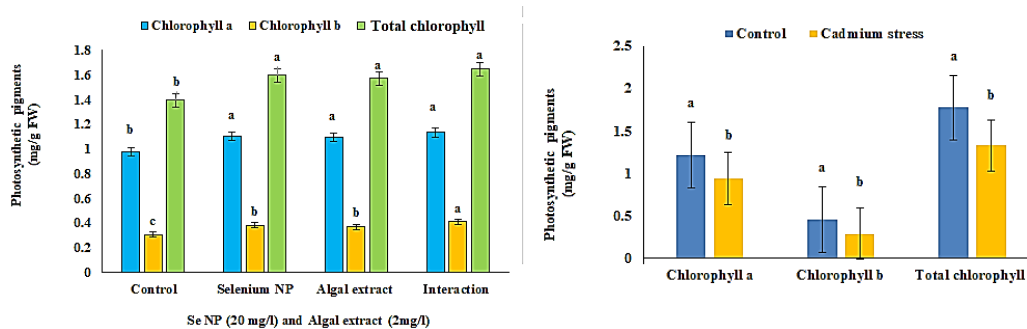


Figure 3. Comparison of average foliar application and heavy metal stress for changes in proline content in fennel plant

دریافتند که کاربرد نانوذره سلنیوم در گیاهان مرزه تابستانه باعث کاهش اثرات سمی کادمیم با افزایش کلروفیل و کاهش جذب آن در اندام هوایی گیاه می-شود (Azizi *et al.*, 2020). در تحقیقی دیگر گزارش کردند محتوای کلروفیل (Chl) و محتوای نسبی آب (RWC) با محلول پاشی نانوذره سلنیوم تحت تنش کادمیم در گیاه مریم گلی بهبود یافتند (Alawamleh *et al.*, 2023). همچنین چندین محقق اظهار داشتند که تیمار جلبک دریایی در گشیش و گوجه فرنگی باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و نیز محلول پاشی برگی سیر با ۲۵ درصد عصاره جلبک *Spirulina platensis* باعث افزایش غلظت کلروفیل می‌گردد (Fal *et al.*, 2022; Babashpour-Asl *et al.*, 2023; Aboelgalagel and Abdel Rahman, 2023)، که با نتایج تحقیق حاضر هم‌سو است. افزایش مشاهده شده در محتوای کلروفیل در گیاهان تیمار شده با عصاره جلبک دریایی را می‌توان به بیوژنر سریع کلروپلاست‌ها ناشی از بتائین نسبت داد (Pal *et al.*, 2024).

در شرایط تنش، محتوای رنگدانه‌های اصلی فتوسنتزی گیاه (کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها) معمولاً به-عنوان معیاری غیرمستقیم برای جذب، تبدیل و انتقال انرژی نور استفاده می‌گردد که در نهایت در تغییرات فرآیند فتوسنتزی در گیاهان منعکس می‌شود (Ramírez-Olvera *et al.*, 2021). کادمیم (Cd) یکی از فلزات سنگین بسیار سمی و غیر ضروری است که با تحریک از دست دادن کلروفیل و تأثیر بر فعالیت-های فتوسنتزی، رشد و نمو گیاهان را مهار می‌کند (Shaari *et al.*, 2023). در تحقیق حاضر کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تنش کادمیم، هم‌سو با نتایج دیگر پژوهشگران مبنی بر کاهش محتوای کلروفیل (Chl) تحت سمیت کادمیم در گیاه گشیش و رنگدانه-های فتوسنتزی گیاه گوجه فرنگی تحت تنش سرب و کادمیم است (Fal *et al.*, 2022; Babashpour-Asl *et al.*, 2023). کادمیم احتمالاً با مهار جذب منیزیم، آهن، پتاسیم و فسفر از خاک و در نتیجه اختلال در ایجاد حلقه‌های پورفیرین برگ، منجر به کاهش شدید سنتز کلروفیل و تغییرات در ساختار کلروپلاست می‌شود (Bahmani Jafarlou *et al.*, 2023). پژوهشگران



**Figure 4. The effects of cadmium stress and foliar application of selenium nanoparticles and algal extract on photosynthetic pigments**

### نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که با تنش کادمیوم میزان پرولین، درصد نشت یونی، میزان مالون دی‌آلدئید و آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد افزایش یافتند، در حالی که برای رنگیزه‌های فتوسنتزی این نتیجه برعکس بود. محلول‌پاشی نانو ذره سلنیوم و عصاره جلبکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و پرولین را نسبت به شاهد افزایش دادند، اما درصد نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید نسبت به شرایط کنترل (شاهد) کاهش یافتند. تحت تنش کادمیوم، کاربرد نانو ذره سلنیوم با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و عصاره جلبکی ۲ میلی‌گرم در لیتر به دلیل تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و محتوای بالای عناصر ماکرو و میکرو در گیاه رازیانه نقش مؤثری در از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید داشته و موجب تخفیف اثرات سمی کادمیوم خاکی و تحمل گیاه رازیانه به تنش

کادمیوم می‌گردد. همچنین در بین ترکیبات تیماری مورد بررسی تغذیه برگی با عصاره جلبکی (غلظت دو میلی‌گرم در لیتر) در مقایسه با نانوذره سلنیوم اثر قابل توجهی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و فتوسنتزی گیاه رازیانه تحت تنش فلز سنگین کادمیوم داشت. به طور کلی بر اساس نتایج به دست آمده از این پژوهش، می‌توان گیاه دارویی رازیانه را در مناطقی که آلوده به کادمیوم (۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) با محلول-پاشی برگی تعدیل‌کننده‌های تنش از جمله نانوذره سلنیوم و عصاره جلبکی نسبت به کادمیوم مقاوم نمود یا به عبارتی در مناطقی که آلوده به کادمیوم می‌باشد، می‌توان این گیاه را کشت کرد تا گیاه از لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی کمترین آسیب را ببیند.

### سپاس‌گزاری

از همکاری و مساعدت اشخاص حقیقی و حقوقی در انجام پژوهش سپاسگزاری می‌نمایم.

### References

- Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1), 1-15.
- Azizi, I., Esmailpour, B., & Fatemi, H. (2020). Effect of foliar application of selenium on morphological and physiological indices of savory (*Satureja hortensis*) under cadmium stress. *Food Science and Nutrition*, 8(12), 6539-6549.
- 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.
- Aboelgalagel, E.M., & Abdel Rahman, S.M. (2023). The potential using of three algal extracts as bio-stimulants to promote the growth and improvement of phytochemicals of *Allium sativum* L. *Egyptian Journal of Phycology*, 24(1), 100-127.
- Akbar, S.A., & Khairunnisa, K. (2024). Seaweed-based biosorbent for the removal of organic and inorganic contaminants from water: a systematic review. *InBIO Web of Conferences*, 87, p. 02011. EDP Sciences. [In Persian]
- Alawamleh, H.S.K., Jabbari, H., Moradkhani, S., & Babashpour-Asl, M. (2023). Cold plasma and foliar-applied selenium nanoparticles modulated cadmium toxicity through changes in physio-biochemical properties and essential oil profile of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23(2), 1981-1995.
- Abou El Magd, M. M. (2019). Foliar application of amino acids and seaweed extract on the growth and yield of some cruciferous crops. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 8(3), 782-787.
- Ahmed, M., Ullah, H., Himanshu, S.K., García-Caparrós, P., Tisarum, R., Cha-um, S., & Datta, A. (2024). *Ascophyllum nodosum* seaweed extract and potassium alleviate drought damage in tomato by

- improving plant water relations, photosynthetic performance, and stomatal function. *Journal of Applied Phycology*, 1-14.
- Abd-El Hameed, S.M., Elsayed, Y.A., & Shoeip, A.M. (2023). Influence of Organic-Biofertilizers and Foliar Spray with Different Biostimulants on Increasing Yield and Essential Oil of sweet marjoram (*Marjorana hortensis* L.) Plant. *Horticulture Research Journal*, 1(4), 60-76.
- Bahmani Jafarlou, M., Pilehvar, B., Modaresi, M., & Mohammadi, M. (2023). Seaweed liquid extract as an alternative biostimulant for the amelioration of salt-stress effects in *Calotropis procera* (Aiton) WT. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(1), 449-64.
- 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.A., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
- Bakhtiari, M., Raeisi Sadati, F., & Raeisi Sadati, S. Y. (2023). Foliar application of silicon, selenium, and zinc nanoparticles can modulate lead and cadmium toxicity in sage (*Salvia officinalis* L.) plants by optimizing growth and biochemical status. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(18), 54223-54233.
- Behnam, A., Abbaspour, H., & Saeid Nematpour, F. (2019). Effects of salicylic acid on growth improvement and changes of biochemical parameters of wheat seedlings in cadmium stress. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 32(2), 315-326. [In Persian]
- 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.
- Bhagyawant, S.S., Narvekar, D.T., Gupta, N., Bhadkaria, A., Koul, K.K., & Srivastava, N. (2019). Variations in the antioxidant and free radical scavenging under induced heavy metal stress expressed as proline content in chickpea. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25, 683-696.
- 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.
- Bhunia, B., Uday, U.S., 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.
- 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.
- Caradonia, F., Battaglia, V., Righi, L., Pascali, G., & La Torre, A. (2019). Plant biostimulant regulatory framework: prospects in Europe and current situation at international level. *Journal of Plant Growth Regulation*. 38, 438-448.
- Choulot, M., Michalak, I., Jing, L., Szymczycha-Madeja, A., Werna, M., Bourgougnon, N., & Le Guillard, C. (2023). The Enzyme-Assisted Extraction of compounds of interest in agriculture: Case study of the red seaweed *Solieria chordalis* (C. Agardh). *Journal of Agardh Algal Research*, 75, 103239.
- Dell'Aversana, E., Cirillo, V., Van Oosten, M.J., Di Stasio, E., Saiano, K., Woodrow, P., Ciarmiello, L.F., Maggio, A., & Carillo, P. (2021). Ascophyllum nodosum based extracts counteract salinity stress in tomato by remodeling leaf nitrogen metabolism. *Plants*, 10(6), 1044.
- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P.A., & Thorpe, T.A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental botany*, 32(1), 93-101.
- 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.



- De Brito Mateus, M.P., Tavanti, R.F., Tavanti, T.R., Santos, E.F., Jalal, A., & Dos Reis, A.R. (2021). Selenium biofortification enhances ROS scavenge system increasing yield of coffee plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 209, 111772.
- El-Serafy, R.S. (2019). Silica nanoparticles enhances physio-biochemical characters and postharvest quality of *Rosa hybrida* L. cut flowers. *Journal of Horticultural Research*, 27(1), 47-54.
- El Khattabi, O., El Hasnaoui, S., Toura, M., Henkrar, F., Collin, B., Levard, C., Colin, F., Merghoub, N., Smouni, A., & 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.
- El Rasafi, T., Oukarroum, A., Haddioui, A., Song, H., Kwon, E.E., Bolan, N., Tack, F.M., Sebastian, A., Prasad, M.N., & Rinklebe, J. (2022). Cadmium stress in plants: A critical review of the effects, mechanisms, and tolerance strategies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(5), 675-726.
- El-Saadony, M.T., Saad, A.M., Najjar, A.A., Alzahrani, S.O., Alkhatib, F.M., Shafi, M.E., Selem, E., Desoky, E.S., Fouda, S.E., El-Tahan, A.M., & Hassan, M.A. (2021). The use of biological selenium nanoparticles to suppress *Triticum aestivum* L. crown and root rot diseases induced by *Fusarium* species and improve yield under drought and heat stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(8), 4461-4471.
- Eising, R., & Gerhardt, B. (1987). Catalase degradation in sunflower cotyledons during peroxisome transition from glyoxysomal to leaf peroxisomal function. *Plant physiology*, (2), 225-232.
- Fal, S., Aasfar, A., Ouhssain, A., Choukri, H., Smouni, A., & El Arroussi, H. (2023). Aphanothece sp. as promising biostimulant to alleviate heavy metals stress in *Solanum lycopersicum* L. by enhancing physiological, biochemical, and metabolic responses. *Scientific Reports*, 13(1), 6875.
- Fatemi, H., Esmail Pour, B., & Rizwan, M. (2021). Foliar application of silicon nanoparticles affected the growth, vitamin C, flavonoid, and antioxidant enzyme activities of coriander (*Coriandrum sativum* L.) plants grown in lead (Pb)-spiked soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 1417-1425. [In Farsi]
- Gupta, N., Yadav, K.K., Kumar, V., Kumar, S., Chadd, R.P., & Kumar, A. (2019). Trace elements in soil-vegetables interface: translocation, bioaccumulation, toxicity and amelioration-a review. *Science of the Total Environment*, 651, 2927-2942.
- Hussain, B., Lin, Q., Hamid, Y., Sanullah, M., Di, L., Khan, M.B., He, Z., & Yang, X. (2020). Foliage application of selenium and silicon nanoparticles alleviates Cd and Pb toxicity in rice (*Oryza sativa* L.). *Science of the Total Environment*, 712, 136497.
- 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.
- Inbar, J., Abramsky, M., Cohen, D., & Chet, I. (1994). Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. *European journal of plant pathology*, 100, 337-346.
- Khan, Z., Thounaojam, T.C., Chowdhury, D., & Upadhyaya, H. (2023). The role of selenium and nano selenium on physiological responses in plant: a review. *Plant Growth Regulation*, 100(2), 409-433.
- Kocira, S., Szparaga, A., Kuboń, M., Czerwińska, E., & Piskier, T. (2019). Morphological and biochemical responses of *Glycine max* (L.) Merr to the use of seaweed extract. *Agronomy*, 9(2), 93.
- 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., Wang, Q., Zhang, X., & Wu, X. (2018). Factors influencing leaf chlorophyll content in natural forests at the biome scale. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 64.
- Merwad, A.R., Desoky, E.S., & Rady, M.M. (2018). Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. *Scientia Horticulturae*, 228, 132-144.
- Mutlu-Ingok, A., Catalkaya, G., Capanoglu, E., & Karbancioglu-Guler, F. (2021). Antioxidant and antimicrobial activities of fennel, ginger, oregano and thyme essential oils. *Food Frontiers*, 2(4), 508-518.
- Miguel, M.G., Cruz, C., Faleiro, L., Simões, M.T., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., & Pedro, L.G. (2010). *Foeniculum vulgare* essential oils: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Natural product communications*, 5(2), 319-328.
- Mógor, Á.F., Ördög, V., Lima, G.P., Molnár, Z., & Mógor, G. (2018). Biostimulant properties of cyanobacterial hydrolysate related to polyamines. *Journal of Applied Phycology*, 30, 453-460.
- Michalek, W., Kocira, A., Findura, P., Szparaga, A., & Kocira, S. (2018). The influence of biostimulant Asahi SL on the photosynthetic activity of selected cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. *Rocznik Ochrona Srodowiska*, 20, 1286-1301.
- Nayana, A.R., Joseph, B.J, Jose, A., & Radhakrishnan, E.K., (2020). Nanotechnological advances with PGPR applications. *Sustainable Agriculture Reviews 41: Nanotechnology for Plant Growth and Development*, 163-180.
- Nasirzadeh, L., Kvarnheden, A., Sorkhilaleloo, B., Hervan, E. M., & Fatehi, F. (2022). Foliar-applied selenium nanoparticles can alleviate soil-cadmium stress through physio-chemical and stomatal changes to optimize yield, antioxidant capacity, and fatty acid profile of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22(2), 2469-2480.
- Neysanian, M., Iranbakhsh, A., Ahmadvand, R., Oraghi Ardebili, Z., & Ebadi, M. (2020). Comparative efficacy of selenate and selenium nanoparticles for improving growth, productivity, fruit quality, and postharvest longevity through modifying nutrition, metabolism, and gene expression in tomato; potential benefits and risk assessment. *PloS one*, 15(12), e0244207.
- 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 annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 325, 112597.
- Qi, W. Y., Li, Q., Chen, H., Liu, J., Xing, S. F., Xu, M., & Wang, S. G. (2021). Selenium nanoparticles ameliorate *Brassica napus* L. cadmium toxicity by inhibiting the respiratory burst and scavenging reactive oxygen species. *Journal of Hazardous Materials*, 417, 125900.
- Ramírez-Olvera, S.M., Trejo-Téllez, L.I., Gómez-Merino, F.C., Ruíz-Posadas, L.D., Alcántar-González, E.G., & Saucedo-Veloz, C. (2021). Silicon stimulates plant growth and metabolism in rice plants under conventional and osmotic stress conditions. *Plants*, 10(4), 777.
- Rady, M.M., Desoky, E.S., Ahmed, S.M., Majrashi, A., Ali, E.F., Arnaout, S.M., & Selem E. (2021). Foliar nourishment with nano-selenium dioxide promotes physiology, biochemistry, antioxidant defenses, and salt tolerance in *phaseolus vulgaris*. *Plants*, 10(6), 1189.
- Rai, P.K., Lee, S.S., Zhang, M., Tsang, Y.F., & Kim, K.H. (2019). Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. *Environment international*, 125, 365-385.
- Ran, T., Cao, G., Xiao, L., Li, Y., Zhao, X., Qin, Y., Wu, P., & Tian, S. (2024). Effects of Cadmium Stress on the Growth and Physiological Characteristics of Sweet Potato in the Whole Growth Period. *BMC Plant Biology*, pp, 1-23.
- Rehman, M.Z., Khalid, H., Akmal, F., Ali, S., Rizwan, M., Qayyum, M.F., Iqbal, M., Khalid, M.U., & Azhar M. (2017). Effect of limestone, lignite and biochar applied alone and combined on cadmium uptake in wheat and rice under rotation in an effluent irrigated field. *Environmental Pollution*, 227, 560-568.
- Riska, S.R. (2020). Overview of traditional use, phytochemical & pharmacological activities of fennel (*Foeniculum vulgare*). *International Journal of Modern Pharmaceutical Research*, 5(1), 1-9.

- Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Ibrahim, M., Tsang, D.C., Zia-ur-Rehman, M., Zahir, Z.A., Rinklebe, J., Tack, F.M., & Ok, Y.S. (2017). A critical review on effects, tolerance mechanisms and management of cadmium in vegetables. *Chemosphere*, 182, 90-105.
- Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hussain, A., Rehman, M.Z., & Waris, A.A. (2019). Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat. *Chemosphere*, 1(214), 269-277.
- Rubio, L., Pyrgiotakis, G., Beltran-Huarac, J., Zhang, Y., Gaurav, J., Deloid, G., Spyrogianni, A., Sarosiek, K.A., Bello, D., & Demokritou, P. (2019). Safer-by-design flame-sprayed silicon dioxide nanoparticles: the role of silanol content on ROS generation, surface activity and cytotoxicity. *Particle and fibre toxicology*, 16, 1-15.
- Sardar, R., Ahmed, S., Shah, A.A., & Yasin, N.A. (2022). Selenium nanoparticles reduced cadmium uptake, regulated nutritional homeostasis and antioxidative system in *Coriandrum sativum* grown in cadmium toxic conditions. *Chemosphere*, 287, 132332.
- Seneviratne, M., Rajakaruna, N., Rizwan, M., Madawala, H.M., Ok, Y.S., & Vithanage, M. (2019). Heavy metal-induced oxidative stress on seed germination and seedling development: a critical review. *Environmental geochemistry and health*, 41, 1813-1831.
- Shawky, A.A., Khalifa, G.S., Hegazi, A., & ElSherif, M. (2023). Growth, Productivity, and Essential Oil Content of Fennel Plants Treated with *Spirulina Platensis* Extract and Compost Tea Under Low Nitrogen Doses. *Gesunde Pflanzen*, 11, 1-0.
- Shaari, N.E., Khandaker, M.M., Tajudin, M.T., Majrashi, A., Alenazi, M.M., Badaluddin, N.A., Adnan, A.F., Osman, N., & Mohd, K.S. (2023). Enhancing the Growth Performance, Cellular Structure, and Rubisco Gene Expression of Cadmium Treated *Brassica chinensis* Using *Sargassum polycystum* and *Spirulina platensis* extracts. *Horticulturae*, 9(7), 738.
- Tu, J., Wu, J., Huang, X., & Zhou, C. (2024). Foliar Spraying Biosynthetic Nanoselenium Alleviates Cd Stress through Changes in Growth, Cd Uptake and Nutritional Quality of pak choi (*Brassica chinensis* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-13.
- 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.
- Zhang, H., Xu, Z., Guo, K., Huo, Y., He, G., Sun, H., Guan, Y., Xu, N., Yang, W., & 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.
- 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.