

## Evaluation of Influence of Selenium Foliar Application on Growth and Physiological Characteristics of Basil (*Ocimum basilicum* L.) in Arsenic-Contaminated Soil

Ali Abdollahi<sup>1</sup>, Mohsen Barin<sup>2</sup>, Ali Ashraf Soltani<sup>3</sup>, Mousa Torabi-Giglou<sup>4</sup>, Behrooz Esmailpour<sup>5\*</sup> and Seyed Karim Tahami<sup>1</sup>

1- Ph.D. Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran

2- Associate Professor, Department of Soil Sciences & Engineering, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

3- Associate Professor, Department of Soil Sciences & Engineering, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran

4- Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran

5- Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran

\*Corresponding author: esmailpour@uma.ac.ir

(Received: 20 November 2022

Revise: 14 December 2022

Accepted: 29 December 2022)

### Extended Abstract

- 1. Introduction:** Basil (*Ocimum basilicum* L.), as an annual plant, belongs to the family Lamiaceae, native to Asia (Iran, India, Pakistan, Thailand, etc.) and grows in warm and semi-warm regions. Arsenic (As) is a highly dangerous heavy metal for plants and human. This quasi-metal is widely distributed in the earth's crust, and also is the twentieth most abundant element in the earth's crust. Selenium (Se) is a non-metallic chemical element and also has similarities to arsenic. Global interest in the biological effects of selenium on the environment and the food chain is growing because selenium is essential as a micronutrient for many organisms, including humans and other animals (although it is toxic in high concentrations). Given that arsenic is one of the most important factors limiting crop production in the agricultural sector, it seems necessary to conduct researches in this field to eliminate or reduce the toxic effects of these element on agricultural plants.
- 2. Materials and Methods:** In this study, the effect of selenium on increasing the tolerance rate of basil plant against arsenic heavy metal stress was investigated as a factorial experiment based on completely randomized design under greenhouse condition. The first factor included arsenic-contaminated soil (4576 mg kg<sup>-1</sup>) and non-contaminated soil, and the second factor included different concentrations of selenium treatment (0, 5 and 10 mg L<sup>-1</sup> selenium sodium). Foliar application of selenium was conducted at two stages. The first stage of foliar application was carried out at 4-leaf stage and the second stage of foliar application was done two weeks after the first stage. Leaf number, leaf area, stem height, fresh and dry weight of leaf and stem, chlorophyll and carotenoid content, free proline content, phenol, flavonoid and anthocyanin content, electrolyte leakage and antioxidant enzymes activity were evaluated at the end of the experiment.
- 3. Results and Discussion:** The results showed that arsenic stress negatively affected the morphological traits such as leaf number and area, fresh and dry weight of leaf, fresh and dry weight of stem and plant height, but selenium treatment alleviated the toxicity of arsenic and increased the values of these traits, so that treated plants had higher values of morphological characteristics comparing to control plants under arsenic heavy metal stress. The highest values of morphological traits were observed in plants treated with the highest concentration of selenium (10 mg L<sup>-1</sup>). In terms of physiological traits, arsenic heavy metal stress reduced the values of some of these traits, so that the lowest amounts of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll, anthocyanin, phenol, and flavonoids were recorded in plants grown in arsenic-contaminated soil without foliar application of selenium. On the other hand, the lowest activity rates of guaiacol peroxidase, catalase and ascorbate peroxidase were observed in plants grown in non-contaminated soil and without selenium foliar application. Also, the both arsenic stress and selenium treatment increased proline accumulation and soluble sugars content of treated plants comparing to control plants. Heavy metal stress increases the production and accumulation of reactive oxygen species (ROS) and damages the membrane structure resulting in more electrolyte leakage. Selenium application

led to increasing plant resistance rate against arsenic stress, mainly by enhancing cells antioxidant capacity and osmotic potential.

- 4. Conclusion:** Considering basil is one of the most important aromatic vegetables which has fresh consumption, crispness and wateriness of its leaves and young shoots is one of the most important commercially traits which directly affect crop marketability. Considering arsenic stress has a negative effect on leaf morphological traits (number, area, fresh weight and dry weight) and stem characteristics (fresh weight, dry weight and height), it is recommended to use selenium foliar application as an efficient technique to overcome adverse effects of arsenic stress on basil production in regions with contaminated soils.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Biochemical compounds, Heavy metal stress, Leafy vegetable, Medicinal plant

**Citation:** Abdollahi, A., Barin, M., Soltani, A. A., Torabi-Giglou, M., Esmailpour, B. & Tahami, S. K. (2024). 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*, 14(2), 59-76. doi: 10.22034/IUVS.2022.1973789.1250

**Copyrights:**

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted to Journal of Vegetables Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).





## بررسی تأثیر محلول پاشی سلنیوم بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در خاک آلوده به آرسنیک

علی عبداللهی<sup>۱</sup>، محسن برین<sup>۲</sup>، علی اشرف سلطانی<sup>۳</sup>، موسی ترابی گیگلو<sup>۴</sup>، بهروز اسماعیل پور<sup>۵\*</sup> و سید کریم تهامی<sup>۱</sup>

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
- ۳- دانشیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۴- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۵- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

\*نویسنده مسئول: esmailpour@uma.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۹/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۲۹

### چکیده

سمیت فلزات سنگین تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و فراساختاری متنوعی را در گیاهان ایجاد می‌نماید. به‌منظور ارزیابی تأثیر محلول پاشی سلنیوم بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در خاک آلوده به آرسنیک، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تیمارها شامل دو نوع خاک آلوده و غیرآلوده به فلز سنگین آرسنیک (صفر و ۴۵۷۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) و سه سطح محلول پاشی سلنیوم (سلنات سدیم) (صفر (شاهد)، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. نتایج نشان داد که غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر سلنات سدیم دارای بیشترین اثر مثبت بر شاخص‌های ریخت‌شناسی و رشد رویشی گیاه بود. کمترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل (به ترتیب ۲/۱۱، ۰/۳ و ۲/۷۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و آنتوسیانین، فنول و فلاونوئید (به ترتیب ۱/۰۳، ۱/۶ و ۷/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در گیاهان رشد یافته در خاک آلوده به آرسنیک و بدون محلول پاشی سلنیوم مشاهده شد. بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل (به ترتیب ۵/۷، ۰/۹ و ۶/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و آنتوسیانین، فنول و فلاونوئید (به ترتیب ۲/۷۴، ۷/۶۹ و ۷/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در گیاهان پرورش یافته در خاک غیرآلوده به آرسنیک و محلول-پاشی شده با بالاترین غلظت سلنیوم (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) به ثبت رسید. همچنین تیمار گیاه ریحان با سلنیوم در خاک آلوده به آرسنیک موجب افزایش محتوای کاروتنوئید، پرولین و قندهای محلول در گیاهان ریحان شد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، تیمار سلنیوم موجب تعدیل اثرات مخرب تنش آرسنیک و افزایش تحمل گیاه ریحان به شرایط تنش گردید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات بیوشیمیایی، تنش فلز سنگین، سبزی برگی، گیاه دارویی

استناد: عبداللهی، ع.، برین، م.، سلطانی، ع. ا.، ترابی گیگلو، م.، اسماعیل پور، ب. و تهامی، س. ک. (۱۴۰۲). بررسی تأثیر محلول پاشی سلنیوم بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در خاک آلوده به آرسنیک. *علوم سبزی‌ها*، ۱۴(۲)، ۷۶-۵۹.

### حق چاپ:



حق چاپ برای نویسنده (گان) این مقاله محفوظ است. بر اساس قوانین انتشارات با دسترسی آزاد، تمام مطالعات چاپ شده در این مجله به صورت آزاد در وب سایت مجله برای عموم بدون پرداخت هزینه قابل دسترس است.

## مقدمه

گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) به عنوان یک سبزی و گیاه دارویی یک ساله، متعلق به خانواده Lamiaceae و بومی آسیا (ایران، هند، پاکستان، تایلند و ...) بوده که در مناطق گرم و نیمه گرم رشد می کند. اسانس ریحان در صنایع آرایشی، دارویی، غذایی و تولید ترکیبات معطر استفاده می شود. اسانس این گیاه حاوی ترکیبات مونوترپنی، سسکوئی ترپنی و فنیل پروپانوئیدی است. متیل کاپیکول و لینالول ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس ریحان هستند (Prasad et al., 2011).

فلزات سنگین شامل عناصری با عدد اتمی کمتر از ۲۰ بوده و چگالی آنها بیشتر از ۵-۴ گرم در سانتی متر مکعب است. آلودگی فلزات سنگین به عنوان یک عامل تنش زای مهم، عامل کاهش رشد گیاه و بهره‌وری کشاورزی در سراسر جهان می باشد. رشد سریع جمعیت جهان، صنعتی شدن و گسترش کشاورزی دلایل اصلی مشکل آلودگی به فلزات سنگین هستند. فعالیت‌های انسانی و پیشرفت صنعتی موجب آزاد شدن مواد سمی به خاک، آب و هوا می شود (Abdelatey et al., 2011; Ali et al., 2013; Gill et al., 2015). فلزات سنگین به طور مستقیم (از طریق واکنش هابر ویس) و غیرمستقیم موجب تحریک تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و در نتیجه ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می شوند (Mithofer et al., 2014). این آلاینده‌ها برای محیط زیست و موجودات زنده مانند گیاهان، حیوانات و ریزجانداران مضر هستند. آرسنیک (As) به عنوان یک شبه فلز سنگین، به طور گسترده‌ای در پوسته زمین توزیع شده است و بیستمین عنصر فراوان موجود در پوسته زمین می باشد. آرسنیک برای گیاهان یک عنصر غیر ضروری و سمی است. فعالیت‌های انسانی مانند استخراج معادن، استفاده از آفت کش‌ها و علف کش‌ها در چمن زارها و زمین‌های کشاورزی و همچنین آبیاری با آب آلوده به آرسنیک موجب افزایش آلودگی آرسنیک در زمین‌های کشاورزی می شود (Gupta et al., 2011; Wankhede et al., 2013; )

(Islam et al., 2015). معدنکاری و فرآوری طلا سبب فرسایش خاک و از بین رفتن لایه سطحی و خاک حاصلخیز و آلودگی خاک به آرسنیک می شود (Abbasi et al., 2017). آرسنات به عنوان ترکیب مشابه با فسفر از طریق ناقلین فسفات وارد گیاه می شود و در نتیجه موجب کاهش جذب فسفر و کاهش رشد گیاه می شود (Mawia et al., 2021). قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش فلز سنگین آرسنیک موجب بروز اثرات بازدارنده بر رشد، اختلال در فرایندهای فیزیولوژیکی و نهایتاً مرگ گیاه می گردد (Alam et al., 2020). برای حفاظت محیط زیست از اثرات سمی فلزات سنگین و حفظ و نگهداری محیط زیست برای آیندگان، اصلاح آلودگی فلزات سنگین ضروری می باشد (Ullah et al., 2015).

در بین روش‌های مختلف، روش‌های زراعی به ویژه محلول پاشی برگی، به عنوان یک راه حل سریع و کارا برای تعدیل تغذیه نامناسب قابل توصیه هستند. چراکه کاربرد خاکی برخی عناصر ممکن است موجب از دسترس خارج شدن آنها در اثر فرایند تثبیت در خاک گردد (Tang et al., 2020). سلنیوم (Se) یک غیر فلز است و به دلیل اینکه یک ریزمغذی مفید برای رشد و نمو بسیاری از موجودات زنده مانند انسان، گیاهان و حیوانات است، در سراسر جهان علاقه به تحقیق در مورد اثرات بیولوژیکی سلنیوم بر محیط و زنجیره غذایی در حال افزایش است (Broadley et al., 2012). سلنیوم پتانسیل بالایی در تعدیل اثرات تنش‌های زنده و غیر زنده در گیاهان دارد. این عنصر از طریق زنجیره غذایی وارد بدن موجودات زنده شده و نقش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مهمی را در این موجودات ایفا می کند (Retondario et al., 2018). سلنیوم با افزایش مقاومت اکسیداسیونی، خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد و همچنین افزایش تحمل، مقاومت و تقابل در مقابل سمیت فلزات سنگین، موجب بهبود سطح ایمنی بدن موجودات زنده می شود (Conte et al., 2015; Copat et al., 2018; Fakhria et al., 2018).

نور نسبی ۵۰ درصد نگهداری شدند. پس از سبز شدن بذرها، تنک کردن گیاهچه‌ها در چند مرحله صورت گرفت و در نهایت در داخل هر گلدان ۱۰ بوته (با فاصله تقریبی ۲ الی ۳ سانتی‌متر) نگهداری شد. محلول پاشی بوته‌ها با سلنات سدیم (۱۸۸/۹۴ گرم بر مول، شرکت مرک، آلمان)، در سه غلظت صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، در مرحله ۴-۶ برگگی صورت پذیرفت، به‌طوری‌که برگ‌ها کاملاً خیس شدند. به‌منظور بهبود جذب برگگی سلنات سدیم از توین ۲۰ (۱۲۲۸ گرم بر مول، مرک، آلمان) با غلظت ۰/۰۱ درصد استفاده شد. به‌منظور بررسی اثرات تنش آرسنیک و محلول پاشی سلنیوم و برهمکنش آن‌ها بر خصوصیات گیاه ریحان، در مرحله گلدهی کامل (حدود ۸۰ روز پس از کاشت)، از هر واحد آزمایشی و به‌طور تصادفی سه بوته انتخاب شده و صفات مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

#### صفات مورد ارزیابی

تعداد برگ، ارتفاع بوته (توسط خط‌کش)، وزن تر و خشک برگ و ساقه (به‌وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم) و سطح برگ (توسط دستگاه سطح برگ سنج مدل AM 200) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید، میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (کلروفیل a)، ۶۴۵ نانومتر (کلروفیل b) و ۴۷۰ نانومتر (کارتنوئید) توسط اسپکتروفتومتر قرائت گردید. در نهایت با استفاده از روابط (۱) تا (۴) میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه محاسبه گردید (Paquin & Lechasseur, 1979).

$$\text{Chlorophyll a} = ((19.3 \times A_{663}) - (0.86 \times A_{645})) \times V / 100W \quad \text{رابطه ۱:}$$

$$\text{Chlorophyll b} = ((19.3 \times A_{645}) - (3.6 \times A_{663})) \times V / 100W \quad \text{رابطه ۲:}$$

$$\text{Chlorophyll total} = a + b \quad \text{رابطه ۳:}$$

$$\text{Carotenoid} = (1000 \times A_{470} - 1.8 \text{ Chla} - 85.02 \text{ Chlb}) / 198 \quad \text{رابطه ۴:}$$

V: حجم محلول صاف‌شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A: جذب نمونه در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

W: وزن تر نمونه برگگی

با توجه به اینکه در برخی از مناطق کشورمان آلودگی خاک و آب توسط فلزات سنگینی همچون آرسنیک یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید در بخش کشاورزی است (Abbasi et al., 2017)، لذا هدف از انجام این پژوهش تأثیر محلول پاشی سلنیوم بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی ریحان در خاک آلوده به آرسنیک بود.

#### مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی بررسی تأثیر محلول پاشی سلنیوم بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه ریحان در خاک آلوده به آرسنیک آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در طی سال ۱۳۹۶ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. تیمارها شامل دو نوع خاک آلوده و غیرآلوده به فلز سنگین آرسنیک (صفر (شاهد) و ۴۵۷۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) و سه سطح محلول پاشی سلنیوم (سلنات سدیم) (صفر (شاهد)، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. هر واحد آزمایشی متشکل از چهار گلدان بود، بنابراین در هر بلوک ۳۶ گلدان و در مجموع ۷۲ گلدان مورد استفاده قرار گرفت.

خاک آلوده به آرسنیک از کانسار زرشوران واقع در ۶ کیلومتری شمال شرقی روستای زرشوران از توابع شهرستان تکاب در استان آذربایجان غربی (با مختصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۳ دقیقه و ۱۳ ثانیه عرض شمالی و متوسط ارتفاع ۲۴۵۰ متر از سطح دریا) تهیه شد (از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری). نمونه خاک زمین‌های مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه نیز به‌عنوان خاک شاهد مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمایش، بذر گیاه ریحان از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذرها پس از ضدعفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد (به مدت ۱۰ دقیقه) در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر کشت شدند (۳۰ عدد بذر در هر گلدان). گلدان‌ها در گلخانه‌ای با دمای روزانه ۲۵ تا ۳۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰ تا ۶۰ درصد و شدت

رابطه ۶: 
$$\text{CAT (U g}^{-1}\text{ FW)} = \frac{\text{حجم محلول داخل سل X اختلاف بین قرائت در یک دقیقه}}{\text{خاموشی ضرب X حجم عصاره برداشتی}}$$

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از روش پیشنهادی Fridovich و Beauchamp (۱۹۷۱) با اندکی تغییر استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) با اندکی تغییرات سنجیده شد. جهت تعیین میزان فعالیت این آنزیم از ضریب خاموشی  $\text{mm}^{-1}\text{ cm}^{-1}$  ۲/۰۵ و رابطه (۷) استفاده شد:

رابطه ۷: 
$$\text{APX (U g}^{-1}\text{ FW)} = \frac{\text{حجم محلول داخل سل X اختلاف بین قرائت در یک دقیقه}}{\text{خاموشی ضرب X حجم عصاره برداشتی}}$$

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 صورت پذیرفت. مقایسه میانگین ترکیبات تیماری توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

### صفات مورفولوژیکی

بررسی نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کشت گیاه ریحان تحت شرایط تنش آرسنیک موجب کاهش تعداد و سطح برگ گردید و کمترین تعداد (۱۲ عدد) و سطح برگ ( $۱۰۳۴۲/۳$  سانتی متر مربع) در تیمار آرسنیک و بدون محلول پاشی سلنیوم بود. تیمار سلنیوم موجب تعدیل اثر کاهندگی تنش آرسنیک بر تعداد برگ شد و تعداد برگ در هر دو دسته از گیاهان کشت شده در خاک آلوده و غیرآلوده به آرسنیک افزایش یافت، به طوری که بیشترین تعداد ( $۳۵/۳۳$  عدد) و سطح برگ ( $۱۷۰۲۱$  سانتی متر مربع) در خاک بدون آرسنیک و بالاترین غلظت تیمار سلنیوم به ثبت رسید (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر آرسنیک بر وزن تر و خشک برگ نشان داد که تنش آرسنیک در خاک می تواند موجب کاهش وزن تر و خشک برگ های ریحان نسبت به شاهد گردد. اما مشخص شد که محلول پاشی سلنیوم موجب کاهش اثرات سمیت آرسنیک بر ریحان می گردد (جدول ۱). نتایج این تحقیق با یافته های Hekmati و همکاران (۲۰۲۱) در رابطه با اثر منفی

برای اندازه گیری نشت یونی (EL)، یک گرم از بافت سالم و تازه برگ گیاه را بعد از شستشو با آب مقطر برای شستشوی یون های احتمالی از سطح گیاه درون لوله ی آزمایش در پیچ دار قرار داده و ۱۰ میلی لیتر آب یون گیری شده به آن اضافه گردید. سپس لوله های آزمایش را به مدت دو ساعت درون حمام آب گرم با دمای ۳۲ درجه سانتی گراد قرار داده و میزان هدایت الکتریکی نمونه ها ( $\text{EC}_1$ ) با استفاده از EC متر مدل Metrhom (ساخت کشور سوئیس) اندازه گیری شد. سپس لوله های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و بعد از خنک شدن لوله ها تا ۲۵ درجه سانتی گراد، میزان هدایت الکتریکی نمونه ها ( $\text{EC}_2$ ) مجدداً اندازه گیری گردید (Paquin & Lechasseur, 1979). از رابطه (۵) برای محاسبه درصد نشت یونی استفاده شد:

رابطه ۵: 
$$\text{EL (\%)} = (\text{EC}_1/\text{EC}_2) \times 100$$

برای اندازه گیری مقادیر پرولین و قندهای محلول، نرخ جذب نمونه ها در طول موج ۵۱۵ و ۶۲۵ نانومتر قرائت و ثبت گردید (Paquin & Lechasseur, 1979). به منظور سنجش میزان مالون دی آلدئید، نرخ جذب نمونه ها در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید. از روش Aebi (۱۹۸۴) برای اندازه گیری این صفت استفاده شد. برای سنجش میزان فنول کل از معرف فولین سیوکالتیو و عصاره متانولی استفاده شد و میزان جذب نمونه ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت گردید (Paquin & Lechasseur, 1979). همچنین، از روش کلرید آلومینیوم به منظور سنجش و ارزیابی میزان فلاونوئید کل نمونه ها استفاده شد (Nakano & Asda, 1981). به منظور اندازه گیری میزان آنتوسیانین، ۰/۱ گرم از بافت تازه گیاه با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی ساییده شد و میزان جذب عصاره بعد از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت گردید (Nakano & Asda, 1981). برای سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از ضریب خاموشی  $\text{mm}^{-1}\text{ cm}^{-1}$  ۲/۵۳۲ و رابطه (۶) استفاده گردید (Aebi, 1984):

آرسنیک بر تعداد برگ گیاه نعنا سبز مطابقت داشت. کاهش تعداد و سطح برگ گیاه ریحان نسبت به گیاهان شاهد در آلودگی با سایر عناصر سنگین کادمیوم نیز گزارش شده است. (Aghaei *et al.*, 2019; Asghari *et al.*, 2020) و سرب (Fattahi *et al.*, 2020; Feizi *et al.*, 2021)

### جدول ۱- تأثیر محلول پاشی سلنیوم بر خصوصیات مورفولوژیکی برگ گیاه ریحان تحت تنش آرسنیک

**Table 1 - The influence of selenium foliar application on leaf morphological characteristics of sweet basil under arsenic stress**

تیمار آلودگی به آرسنیک Arsenic contamination treatment	تیمار سلنیوم (میلی گرم در لیتر) Selenium treatment (mg L <sup>-1</sup> )	تعداد برگ Leaf number	سطح برگ (سانتی متر مربع) Leaf area (cm <sup>2</sup> )	وزن تر برگ (گرم در بوته) Leaf fresh weight (g plant <sup>-1</sup> )	وزن خشک برگ (گرم در بوته) Leaf dry weight (g plant <sup>-1</sup> )
خاک آلوده به آرسنیک Arsenic contaminated soil	0	12 <sup>e</sup>	10342.3 <sup>f</sup>	2.06 <sup>c</sup>	1.06 <sup>c</sup>
	5	16.66 <sup>d</sup>	11581.7 <sup>e</sup>	3.34 <sup>b</sup>	1.33 <sup>cd</sup>
	10	23 <sup>d</sup>	12497.7 <sup>d</sup>	3.65 <sup>4b</sup>	1.5 <sup>b</sup>
خاک فاقد آرسنیک Soil without arsenic	0	19 <sup>d</sup>	13534.3 <sup>c</sup>	3.31 <sup>b</sup>	1.03 <sup>c</sup>
	5	27.66 <sup>b</sup>	16118.3 <sup>b</sup>	3.71 <sup>a</sup>	1.55 <sup>b</sup>
	10	35.33 <sup>a</sup>	17021 <sup>d</sup>	4.35 <sup>a</sup>	2.02 <sup>a</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

In each column, means followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at 5 % probability level

این پژوهش با دستاوردهای Hekmati و همکاران (۲۰۲۱) در یک راستا بود که بیان نمودند تنش آرسنیک موجب کاهش ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک شاخساره نعنا سبز گردید. همچنین مشخص شد که تنش فلزات سنگین کادمیوم، سرب و نیکل به تنهایی یا در ترکیب با هم موجب کاهش طول ساقه‌چه، وزن تر و وزن خشک گیاهچه‌های خیار می‌گردد، اما تیمار سلنیوم موجب تعدیل اثر سمیت این فلزات سنگین شد (Shekari *et al.*, 2018). در مطابقت با نتایج این تحقیق گزارش شده است که تنش کادمیوم موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی ریحان تا ۷۶/۸ درصد نسبت به شاهد می‌گردد (Aghaei *et al.*, 2019). مشخص شده است که سلنیوم قادر به بهبود و تقویت سیستم ریشه‌ای گیاهان در شرایط تنش فلزات سنگین است. گزارش شده است که احتمالاً سلنیوم در غلظت‌های پایین از طریق تحریک بیوسنتز اکسین در ریشه موجب طولیل شدن آن می‌گردد (Jia *et al.*, 2018). Ulhassan و همکاران (۲۰۱۹) بیان نمودند که تیمار سلنیوم موجب تعدیل اثر بازدارندگی عنصر کروم و تحریک رشد ریشه کلزا شد.

همچنین نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که آلودگی خاک به آرسنیک موجب کاهش وزن تر و خشک ساقه ریحان شد. محلول پاشی سلنیوم باعث تعدیل اثرات منفی آرسنیک بر وزن تر و خشک ساقه گیاه ریحان شد و بیشترین مقادیر برای این صفات (به ترتیب ۳/۱۳ و ۱/۹ گرم در گیاه) در گیاهان تیمار شده با غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر سلنیوم به ثبت رسید. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تیمار آرسنیک موجب کاهش ارتفاع ساقه ریحان گردید. همچنین مشخص شد که محلول پاشی سلنیوم قادر به افزایش ارتفاع ساقه ریحان است (جدول ۲). هم‌راستا با نتایج این پژوهش، Shekari و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که وجود عناصر سنگین در محیط کشت باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک گیاهچه‌های خیار گردید، اما با افزودن سطوح بهینه سلنیوم به محیط کشت این صفات افزایش چشمگیری داشتند. وزن تر و خشک اندام‌های هوایی ریحان تحت تأثیر تنش سرب و کادمیوم کاهش یافت که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (Fattahi *et al.*, 2020). همچنین نتایج حاصل از

تأثیر مثبت سلنیوم بر رشد کلزا در شرایط تنش کروم می‌تواند مربوط به تأثیر مثبت آن بر جذب مواد غذایی و متابولیسم کربوهیدرات‌ها باشد که موجب تحریک رشد گیاه می‌گردد (Karimi *et al.*, 2010).

جدول ۲- تأثیر محلول پاشی سلنیوم بر خصوصیات مورفولوژیکی ساقه گیاه ریحان تحت تنش آرسنیک  
Table 2 - The influence of selenium foliar application on stem morphological characteristics of sweet basil under arsenic stress

تیمار آلودگی به آرسنیک Arsenic contamination treatment	وزن تر ساقه (گرم در بوته) Stem fresh weight (g plant <sup>-1</sup> )	وزن خشک ساقه (گرم در بوته) Stem dry weight (g plant <sup>-1</sup> )	ارتفاع ساقه (سانتی‌متر) Plant height (cm)
خاک آلوده به آرسنیک Arsenic contaminated soil	2.22 <sup>b</sup>	1.06 <sup>b</sup>	22.3 <sup>b</sup>
خاک فاقد آرسنیک Soil without arsenic	2.98 <sup>a</sup>	1.56 <sup>a</sup>	50.0 <sup>a</sup>

تیمار سلنیوم (میلی‌گرم در لیتر) Selenium treatment (mg L <sup>-1</sup> )	وزن تر ساقه (گرم در بوته) Stem fresh weight (g plant <sup>-1</sup> )	وزن خشک ساقه (گرم در بوته) Stem dry weight (g plant <sup>-1</sup> )	ارتفاع ساقه (سانتی‌متر) Plant height (cm)
0	2.06 <sup>c</sup>	1.04 <sup>c</sup>	18.6 <sup>c</sup>
5	2.59 <sup>b</sup>	1.29 <sup>b</sup>	21.6 <sup>b</sup>
10	3.13 <sup>a</sup>	1.9 <sup>a</sup>	24.7 <sup>a</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

In each column, means followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at 5 % probability level

محتوای کارتنوئید گیاهان گردید (شکل ۱ الف). میزان کارتنوئید در گیاهان پرورش یافته در خاک آلوده به آرسنیک، ۱۴/۷۱ درصد کمتر از میزان این صفت در گیاهان شاهد بود (شکل ۱ ب). نتایج این تحقیق با نتایج Chauhan و همکاران (۲۰۱۷) همسو بود که بیان نمودند سمیت آرسنیک موجب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید، اما در شرایط تنش آرسنیک تیمار سلنیوم موجب افزایش قابل توجه مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی کارتنوئید، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در برنج شد. همچنین، Azizi و همکاران (۲۰۲۰) اعلام نمودند که تنش کادمیوم موجب کاهش میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در مرزه گردید، اما محلول پاشی سلنیوم موجب تعدیل اثر کاهنده تنش فلز سنگین بر صفات مذکور شد. طی برخی مطالعات نیز مشخص شده است که کادمیوم و آرسنیک اثر بازدارنده بر جریان الکترون فتوسنتزی داشته، موجب تخریب رنگدانه‌های گیرنده نور شده و میزان پروتئین‌های

## صفات فیزیولوژیکی

### رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش فلز سنگین آرسنیک سبب کاهش مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در گیاهان ریحان گردید. استفاده از تیمار محلول پاشی سلنیوم در خاک آلوده به آرسنیک و فاقد آلودگی موجب افزایش کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل می‌گردد. به‌طوریکه کمترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل (به ترتیب ۲/۱۱، ۰/۳ و ۲/۷۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان پرورش یافته در خاک آلوده به آرسنیک و بدون محلول پاشی سلنیوم و بیشترین میزان از این صفات (به ترتیب ۵/۷، ۰/۹ و ۶/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان پرورش یافته در خاک غیر آلوده به آرسنیک و محلول پاشی شده با بالاترین غلظت سلنیوم (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده گردید (جدول ۳). همچنین، نتایج نشان داد که تیمار محلول پاشی سلنیوم موجب افزایش

Piršellová *et al.*, 2016). ارزیابی شاخص‌های فتوسنتزی نشان داد که در چنین شرایطی سلیوم موجب تحریک جریان انرژی در فتوسیستم II می‌شود. سلیوم به‌ویژه از طریق حذف رادیکال‌های آزاد موجب تعدیل تنش اکسیداتیو ایجادشده توسط فلز سنگین کادمیوم در کلروپلاست می‌شود. همچنین ممکن است که سلیوم از طریق تحریک انتقال الکترون در زنجیره انتقال تنفسی موجب تسریع بیوسنتز کلروفیل گردد (Shekhalipour *et al.*, 2021).

Sun *et al.*, 2021) و همکاران (۲۰۱۶) بیان نمودند که تیمار سلیوم در شرایط تنش کادمیوم موجب بازداری از آسیب و اختلال این تنش به سیستم فتوسنتزی و تحریک و تقویت فتوسنتز می‌شود. همچنین سلیوم موجب تقویت آنزیم‌های ریبولوز ۱ و ۵ بی‌فسفات کربوکسیلاز (RUBPCAR) و کلروفیلاز و برخی ژن‌های کلیدی و پروتئین‌های درگیر در سیستم فتوسنتزی شده و بنابراین موجب تقویت فتوسنتز در شرایط تنش می‌گردد (Wang *et al.*, 2021).

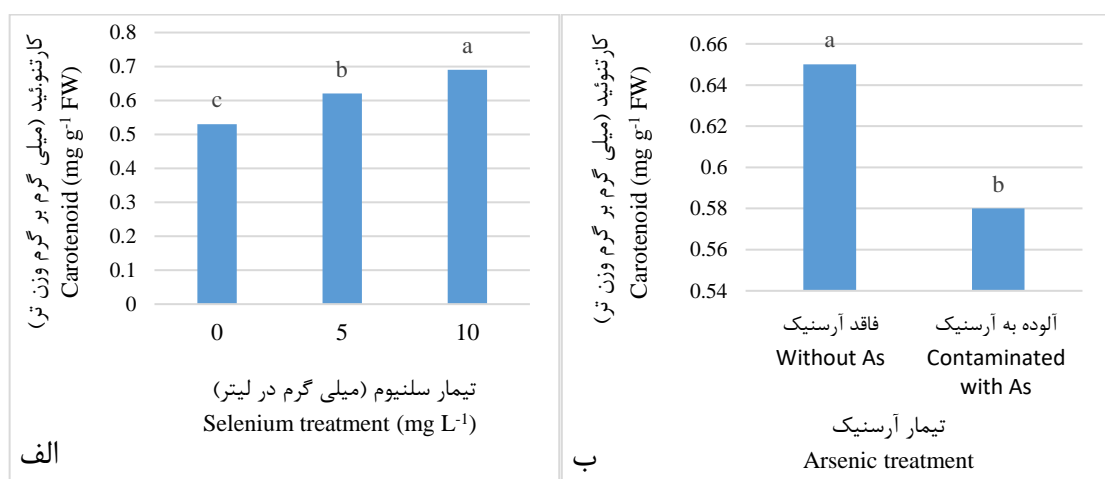
### جدول ۳- تأثیر محلول پاشی سلیوم بر محتوای کلروفیل گیاه ریحان تحت تنش آرسنیک

Table 3 - The influence of selenium foliar application on chlorophyll content of sweet basil under arsenic stress

تیمار آلودگی به آرسنیک Arsenic contamination treatment	تیمار سلیوم (میلی‌گرم در لیتر) Selenium treatment (mg L <sup>-1</sup> )	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Chlorophyll a (mg g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Chlorophyll b (mg g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Total chlorophyll (mg g <sup>-1</sup> FW)
خاک آلوده به آرسنیک Arsenic contaminated soil	0	2.11 <sup>e</sup>	0.3 <sup>d</sup>	2.76 <sup>e</sup>
	5	2.98 <sup>d</sup>	0.45 <sup>cd</sup>	3.63 <sup>d</sup>
	10	3.98 <sup>c</sup>	0.59 <sup>cb</sup>	4.63 <sup>c</sup>
خاک فاقد آرسنیک Soil without arsenic	0	3.11 <sup>d</sup>	0.35 <sup>d</sup>	3.73 <sup>d</sup>
	5	4.36 <sup>b</sup>	0.72 <sup>b</sup>	5.6 <sup>b</sup>
	10	5.7 <sup>a</sup>	0.9 <sup>a</sup>	6.83 <sup>a</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

In each column, means followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at 5 % probability level



شکل ۱- تأثیر محلول پاشی سلیوم (الف) و تیمار آرسنیک (ب) بر محتوای کارتنوئید گیاه ریحان. میانگین‌های دارای حروف مشترک، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Figure 1- Effect of selenium foliar application (a) and arsenic treatment (b) on carotenoid content of sweet basil. Means followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at 5 % probability level

### آنتی اکسیدان های آنزیمی

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در خاک آلوده به آرسنیک بیشتر از خاک فاقد آرسنیک بود و از طرف دیگر در هر دو خاک، تیمار سلنیوم موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی در ریحان گردید، به طوری که کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز (به ترتیب ۰/۰۷، ۱/۱۴ و ۲/۶ واحد بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) در گیاهان پرورش یافته در خاک غیر آلوده به آرسنیک و بدون محلول پاشی سلنیوم مشاهده گردید و بیشترین میزان این صفات (به ترتیب ۰/۵۳، ۳/۷۶ و ۷/۳۹ واحد بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) در گیاهان پرورش یافته در خاک آلوده به آرسنیک و محلول پاشی شده با بالاترین غلظت سلنیوم (۱۰ میلی گرم در لیتر) به ثبت رسید (جدول ۴). در شرایط تنش‌های محیطی، گیاهان از آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی مانند آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز برای حذف ROS و حفاظت سلول‌ها در برابر تنش اکسیداتیو استفاده می‌نمایند. همچنان که در این پژوهش مشاهده شد تنش آرسنیک موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز گردید. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها ممکن است به واسطه تقویت چرخه گلوکوتایون-آسکوربات اتفاق افتاده باشد (Wu et al., 2017). در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، Pereira و همکاران (۲۰۱۸) بیان نمودند که تیمار سلنیوم موجب

افزایش فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز در گیاه *Pfaffia glomerata* در شرایط تنش کادمیوم گردید. همچنین Ulhassan و همکاران (۲۰۱۹) بیان نمودند که در شرایط تنش کروم میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز افزایش یافته که موجب تقویت فعالیت آنتی اکسیدانی در برابر فعالیت ROS در کلزا گردید. همچنین، تیمار سلنیوم فعالیت سیستم آنتی-اکسیدانی را افزایش داد. سلنیوم دارای اثر بازدارندگی بر تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط فلزات سنگین بوده و موجب تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، متالوتیونین و گلوکوتایون می‌شود (Jamwal et al., 2016; Rahman et al., 2019; Luo et al., 2019). در عین حال، تنش فلزات سنگین موجب کاهش میزان فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و در نتیجه، تجمع رادیکال‌های آزاد لیپیدی، پراکسیدها و تخریب سلول‌ها در شرایط عدم وجود سلنیوم می‌گردد (Jamwal et al., 2016). نانو ذرات سلنیوم موجب تعدیل تولید ROS و افزایش بیوسنتز و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و ایزوزیم‌ها در شرایط تنش کادمیوم می‌گردد (Wang et al., 2021). اثرات مثبت سلنیوم در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ممکن است در نتیجه افزایش بیان ژن‌های درگیر در سیستم دفاعی گیاهان باشد. همچنین سلنیوم موجب افزایش انتقال آهن، منگنز و روی، به عنوان بخش‌های مهم آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شده و در نتیجه موجب بالا رفتن فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، پلی فنول اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز می‌شود (Wang et al., 2021).

## جدول ۴- تأثیر محلول پاشی سلنیوم بر آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی گیاه ریحان تحت تنش آرسنیک

Table 4 - The influence of selenium foliar application on enzymatic antioxidants of sweet basil under arsenic stress

تیمار آلودگی به آرسنیک Arsenic contamination treatment	تیمار سلنیوم (میلی‌گرم در لیتر) Selenium treatment (mg L <sup>-1</sup> )	گایاکول پراکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) Guaiacol peroxidase (U mg <sup>-1</sup> protein min <sup>-1</sup> )	کاتالاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) Catalase (U mg <sup>-1</sup> protein min <sup>-1</sup> )	آسکوربات پراکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) Ascorbate peroxidase (U mg <sup>-1</sup> protein min <sup>-1</sup> )
خاک آلوده به آرسنیک Arsenic contaminated soil	0	0.14 <sup>dc</sup>	1.42 <sup>c</sup>	3.28 <sup>dc</sup>
	5	0.32 <sup>bc</sup>	2.41 <sup>b</sup>	4.94 <sup>b</sup>
	10	0.53 <sup>a</sup>	3.76 <sup>a</sup>	7.39 <sup>a</sup>
خاک فاقد آرسنیک Soil without arsenic	0	0.07 <sup>d</sup>	1.14 <sup>c</sup>	2.60 <sup>d</sup>
	5	0.19 <sup>c</sup>	1.49 <sup>c</sup>	3.64 <sup>c</sup>
	10	0.29 <sup>b</sup>	2.11 <sup>b</sup>	4.77 <sup>b</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

In each column, means followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at 5 % probability level

## آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که به‌طور کلی تنش آرسنیک موجب کاهش آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی شد، اما اعمال تیمار سلنیوم از میزان اثرات منفی این تنش کاست. تحت تیمار شاهد (صفر میلی‌گرم در لیتر)، میزان فنول و فلاونوئید در شرایط تنش آرسنیک کمتر از شرایط عدم وجود آرسنیک و میزان آنتوسیانین در گیاهان کشت‌شده تحت شرایط تنش کمی بیشتر از ریحان‌های کشت‌شده در خاک غیرآلوده بود. نکته قابل‌توجه اینکه تیمار سلنیوم در هر دو نوع خاک غیرآلوده و آلوده به آرسنیک موجب افزایش مقدار آنتوسیانین، فنول و فلاونوئید گردید و با افزایش غلظت سلنیوم اثر افزایش‌دهنده آن نیز بیشتر شد. کمترین میزان آنتوسیانین (۱/۰۳ میکرومول بر گرم وزن خشک)، فنول (۱/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و فلاونوئید (۷/۴۱)

میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در سطح صفر میلی‌گرم در لیتر تیمار سلنیوم مشاهده شد. بیشترین میزان آنتوسیانین (۲/۷۴ میکرومول بر گرم وزن خشک) و فنول (۷/۶۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در خاک فاقد آرسنیک و محلول‌پاشی با بالاترین غلظت سلنیوم (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد، اما بالاترین مقدار فلاونوئید (۱۰/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در گیاهان پرورش‌یافته در خاک آلوده به آرسنیک و محلول‌پاشی‌شده با بالاترین غلظت سلنیوم (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌ثبت رسید (جدول ۵). هم‌راستا با نتایج این پژوهش Karimi و Souri (۲۰۱۶) گزارش نمودند که تنش آرسنیک بر میزان آنتوسیانین، فنول، فلاونوئید و کارتنوئید گیاه ایساتیس (*Isatis cappadocica*) تأثیرگذار است. تیمار سلنیوم موجب افزایش میزان فنولی در برنج تحت شرایط تنش آرسنیک گردید (Chauhan et al., 2017).

## جدول ۵- تأثیر محلول پاشی سلنیوم بر آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی گیاه ریحان تحت تنش آرسنیک

Table 5 - The influence of selenium foliar application on non-enzymatic antioxidants of sweet basil under arsenic stress

تیمار آلودگی به آرسنیک	تیمار سلنیوم (میلی‌گرم در لیتر)	آنتوسیانین (میکرومول بر گرم وزن خشک) (Anthocyanin $\mu\text{mol g}^{-1}$ DW)	فنول (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) (Phenol $\text{mg g}^{-1}$ DW)	فلاونوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) (Flavonoid $\text{mg g}^{-1}$ DW)
خاک آلوده به آرسنیک	0	1.21 <sup>de</sup>	1.6 <sup>d</sup>	7.41 <sup>d</sup>
Arsenic contaminated soil	5	1.43 <sup>d</sup>	3.22 <sup>c</sup>	9.32 <sup>b</sup>
	10	2.31 <sup>b</sup>	5.35 <sup>b</sup>	10.82 <sup>a</sup>
خاک فاقد آرسنیک	0	1.03 <sup>e</sup>	2.08 <sup>d</sup>	8.1 <sup>cd</sup>
Soil without arsenic	5	1.74 <sup>c</sup>	4.73 <sup>b</sup>	8.64 <sup>cb</sup>
	10	2.74 <sup>a</sup>	7.69 <sup>a</sup>	9.13 <sup>b</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

In each column, means followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at 5 % probability level

آمینواسیدهای گیاه به‌ویژه پرولین تغییر می‌کند (Zhang *et al.*, 2010). افزایش میزان پرولین تحت شرایط تنش آرسنیک و محلول پاشی سلنیوم در پژوهش حاضر 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. احتمالاً در شرایط تنش آرسنیک افزایش محتوای پرولین می‌تواند به دفع سمیت توسط کلاته شدن فلز در سیتوپلاسم، کاهش جذب فلز (Wu *et al.*, 2020)، کاهش آسیب به غشاء و حفاظت از آنزیم‌ها در مقابل واسرشته شدن و تثبیت سنتز پروتئین کمک کند (Siriporndulsil *et al.*, 2022).

### قندهای محلول

تنش آرسنیک موجب افزایش قابل توجه میزان قندهای محلول در مقایسه با شرایط عدم تنش آرسنیک شد. به‌طوریکه بیشترین میزان قندهای محلول (۹۳/۷۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در ریحان‌های رشد یافته در شرایط تنش آرسنیک که توسط بالاترین غلظت سلنیوم تیمار شده بودند مشاهده شد و کمترین مقدار قندهای محلول (۴۱/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نیز در گیاهان رشد یافته در خاک غیر آلوده و عدم تیمار سلنیوم

### صفات بیوشیمیایی

#### پرولین

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش آرسنیک و همچنین تیمار محلول پاشی سلنیوم موجب تجمع پرولین در گیاه ریحان گردید، به طوری که بیشترین میزان پرولین (۳/۲۱ میکرومول بر گرم وزن خشک) در گیاهان کشت شده در خاک آلوده به آرسنیک و تیمار شده با بالاترین غلظت سلنیوم (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد (جدول ۶). Maghsoudi و همکاران (۲۰۲۱) گزارش نمودند که تنش فلز سنگین کادمیوم محتوای پرولین در برگ اسفناج را افزایش می‌دهد. همچنین Alves و همکاران (۲۰۲۰) بیان نمودند که تنش کادمیوم و تیمار سلنیوم موجب افزایش تجمع پرولین در گوجه‌فرنگی شد. گیاهان برای مقابله با شرایط نامساعد محیطی، سنتز برخی از متابولیت‌های محافظ آسمزی مانند پرولین را افزایش می‌دهند. در بسیاری از گونه‌های گیاهی مقدار افزایش پرولین در شرایط تنش با میزان مقاومت آن‌ها همبستگی دارد و غلظت پرولین در گیاهان مقاوم به‌طور قابل توجهی بیشتر از گیاهان حساس است (Ashraf & Foolad, 2007). تجمع پرولین در سلول‌های گیاه پاسخی در برابر القا تنش می‌باشد. در شرایط تنش فلزات سنگین مقدار

سلولی، ثبات غشاء سلولی و یکپارچگی سلول موجب تعدیل تأثیر تنش در اثرگذاری بر تجمع مالون دی-آلدهید گردید که نشان‌دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در اثر تیمار سلیوم است. این یافته‌ها مؤید این نکته است که تیمار سلیوم قادر به کاهش آسیب اکسیداتیو ایجادشده توسط فلزات سنگین بوده و موجب حفظ یکپارچگی غشاء می‌شود (Zhao *et al.*, 2019). مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص اندازه‌گیری پراکسیداسیون غشاء و محصول پراکسیداسیون غشاء در شرایط تنش می‌باشد (Huang *et al.*, 2021).

### نشت یونی

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش آرسنیک موجب افزایش میزان نشت یونی در گیاه ریحان خواهد شد. از طرف دیگر، تیمار سلیوم موجب کاهش میزان نشت یونی در گیاهان کشت‌شده تحت هر دو حالت تنش و عدم تنش گردید (جدول ۶). با بررسی اثر تنش سرب بر شاخص نشت یونی غشاء در گیاه گشنیز، نتایج مشابه با نتایج پژوهش حاضر گزارش گردید (Fatemi *et al.*, 2020). تنش فلزات سنگین موجب افزایش تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن، آسیب به ساختار غشاء، ناپایدار شدن آن و اختلال در عملکرد غشاء شده و سرانجام، این امر نشر الکترولیت‌ها و انتشار یون‌ها به خارج از سلول را با خود به‌همراه دارد (Fatemi *et al.*, 2020). همچنین گزارش شده است که سلیوم موجب بهبود و تقویت غشاء سلولی و در نتیجه کاهش میزان نشت یونی از غشاء در اثر تنش‌های محیطی مانند تنش آرسنیک (Malik *et al.*, 2012) و کادمیوم (Zembala *et al.*, 2010) می‌شود.

مشاهده شد (جدول ۶). مشابه با نتایج پژوهش حاضر، افزایش محتوای قندهای محلول در شرایط تنش فلز سنگین سرب در گیاه گشنیز نیز مشاهده شد (Fatemi *et al.*, 2020). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، تنش کادمیوم موجب افزایش تجمع قندهای محلول در برگ‌های اسفناج شد (Maghsoudi *et al.*, 2021). فلزات سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزنه‌های برگ، جریان آب در گیاه را متوقف ساخته و با کاهش انتقال آب موجب افزایش تجمع قندهای محلول در سلول‌ها می‌شوند (Kohli *et al.*, 2019).

### مالون دی‌آلدهید

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و سلیوم بر گیاه ریحان نشان داد که میزان مالون دی‌آلدهید در خاک‌آلوده به آرسنیک بیشتر از خاک فاقد آرسنیک بوده و با افزایش غلظت تیمار سلیوم مقدار مالون دی‌آلدهید در هر دو نوع خاک کاهش یافت (جدول ۶). در تطابق با نتایج این پژوهش گزارش شده است که تنش سرب موجب افزایش میزان مالون دی‌آلدهید در گیاه گشنیز شد، اما محلول پاشی نانو ذرات سیلیسیم موجب کاهش تجمع گردید (Fatemi *et al.*, 2020). همچنین، در کلزا و کلم چینی نیز تنش فلز سنگین کروم موجب افزایش مقدار مالون دی‌آلدهید در گیاهان تحت تنش گردید، اما تیمار سلیوم موجب کاهش تجمع مالون دی‌آلدهید در بافت‌های این محصولات گردید (Ulhassan *et al.*, 2019; Nie *et al.*, 2021). تقابل بین فلز سنگین و ناقل‌های زنجیره انتقال الکترون احتمالاً موجب تجمع ROS شده که رابطه مستقیمی با پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء داشته و موجب اختلال در ثبات غشاء می‌گردد. سلیوم از طریق حفظ ساختار

جدول ۶- تأثیر محلول پاشی سلنیوم بر صفات بیوشیمیایی گیاه ریحان تحت تنش آرسنیک  
 Table 6 - The influence of selenium foliar application on biochemical traits of sweet basil under arsenic stress

تیمار آلودگی به آرسنیک	تیمار سلنیوم (میلی گرم در لیتر)	پرولین (میکرومول بر گرم وزن خشک)	قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر)	مالون دی آلدئید (نانومول بر گرم وزن تر)	نشت یونی (%)
Arsenic contamination treatment	Selenium treatment (mg L <sup>-1</sup> )	Proline (μmol g <sup>-1</sup> DW)	Soluble sugars (mg g <sup>-1</sup> FW)	Malondialdehyde (nmol g <sup>-1</sup> FW)	Electrolyte leakage (%)
خاک آلوده به آرسنیک	0	1.37 <sup>c</sup>	47.25 <sup>d</sup>	2.03 <sup>a</sup>	41.51 <sup>a</sup>
Arsenic contaminated soil	5	2.25 <sup>b</sup>	72.3 <sup>b</sup>	1.81 <sup>b</sup>	30.17 <sup>b</sup>
	10	3.21 <sup>a</sup>	93.74 <sup>a</sup>	1.28 <sup>c</sup>	15.81 <sup>dc</sup>
خاک فاقد آرسنیک	0	1.34 <sup>c</sup>	41.54 <sup>d</sup>	1 <sup>d</sup>	17.19 <sup>c</sup>
Soil without arsenic	5	1.12 <sup>c</sup>	51.39 <sup>dc</sup>	0.83 <sup>e</sup>	10.43 <sup>de</sup>
	10	0.85 <sup>c</sup>	59.54 <sup>c</sup>	0.63 <sup>f</sup>	5.39 <sup>e</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

In each column, means followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at 5 % probability level

### نتیجه‌گیری کلی

استفاده از سلنیوم (به‌عنوان یک تعدیل‌کننده اثرات تنش‌های محیطی) می‌تواند به‌عنوان راهکاری برای کاهش اثرات مخرب تنش آرسنیک بر ریحان و در نتیجه افزایش کشت و کار آن در خاک‌های آلوده به آرسنیک در جهت استفاده بهتر از زمین‌های زراعی مورد توجه قرار گیرد.

با توجه به اینکه ریحان یکی از مهم‌ترین سبزیجات معطر بوده که دارای مصرف تازه‌خوری می‌باشد، تردی و آبکی بودن گیاه از مهم‌ترین صفات مدنظر مصرف‌کنندگان است. براساس نتایج، تنش آرسنیک دارای تأثیرات منفی قابل توجهی بر صفات مورفولوژیکی برگ (تعداد، سطح، وزن تر و وزن خشک) و ساقه‌ای (وزن تر، وزن خشک و ارتفاع) بوده که موجب کاهش کیفیت تازه‌خوری گیاه ریحان می‌گردد. لذا،

### References

- Abbasi, B., Maleki, R. & Pirkharrati, H. (2017). Study effects of mining and gold extraction on amount of water contamination to As and Hg in Zarshouran area of Takab. *Journal of Environmental Geology*, 11 (40), 39-48.
- Abdelatey, L. M., Khalil, W. K., Ali, T. H. & Mahrous, K. F. (2011). Heavy metal resistance and gene expression analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria present in Egyptian soils. *Journal of Applied Science in Eenvironmental Sanitation*, 6, 201-211.
- Aebi, H. (1984). Catalase activity. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Aghaei, K., Rakhosravani, B., Moghanlou, L. & Ghotbi Ravandi, A. A. (2019). Study of the effect of cadmium accumulation on some physiological and biochemical characteristics of basil plants (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Plant Process and Function*, 8(33), 107-122.
- Alam, M. Z., Hoque, M. D. A., Jalal Ahammed, G. & Carpenter-Boggs,

- L. (2020). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, biochar, selenium, silica gel, and sulfur on arsenic uptake and biomass growth in *Pisum sativum* L. *Emerging Contaminants*, 6, 312-322.
- Ali, B., Tao, Q., Zhou, Y., Gill, R. A., Ali, S., Rafiq, M. T., Xu, L. & Zhou, W. (2013). 5-Aminolevulinic acid mitigates the cadmium-induced changes in *Brassica napus* as revealed by the biochemical and ultra-structural evaluation of roots. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 92, 271-280.
  - Alves, L. R., Rossatto, D. R. & Gratao, P. L. (2020). Selenium improves photosynthesis and induces ultrastructural changes but does not alleviate cadmium-stress damage in tomato plants. *Protoplasma*, 257, 597-605.
  - Asghari, M., Masoumi Zavariyan, A. & Yousefi Rad, M. (2020). Investigating the effect of sodium nitroprusside in reducing cadmium toxicity in basil (*Ocimum basilicum* L.) *Plant. Environmental Stresses In Crop Science*, 13(3), 1009-1018.
  - Ashraf, M. & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
  - Azizi, I., Esmaeilpour, 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.
  - Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assay and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1), 276-287.
  - Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Ma, J. F., Rengel, Z. & Zhao, F. (2012). Beneficial elements. In: P. Marschner (Ed.) *Marschner's mineral nutrition of higher plants*, 3rd Edition. Academic Press Inc. San Diego, 672 p.
  - Chauhan, R., Awasthi, S., Tripathi, P., Mishra, S., Dwivedi, S., Niranjana, A., Mallick, S., Tripathi, P., Pande, V. & Tripathi, R. D. (2017). Selenite modulates the level of phenolics and nutrient element to alleviate the toxicity of arsenite in rice (*Oryza sativa* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 138, 47-55.
  - Conte, F., Copat, C., Longo, S., Conti, G. O., Grasso, A., Arena, G., Brundo, M. V. & Ferrante, M. (2015). First data on trace elements in *Heliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758) from southern Italy: safety issues. *Food and Chemical Toxicology*, 81, 143-150.
  - Copat, C., Grasso, A., Fiore, M., Cristaldi, A., Zuccarello, P., Signorelli, S. S., Conti, G. O. & Ferrante, M. (2018). Trace elements in seafood from the Mediterranean Sea: an exposure risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 115, 13-19.
  - Fakhria, Y., Mohseni-Bandpei, A., Conti, G. O., Ferrante, M., Cristaldi, A., Jaihooni, A. K., Dehkordi, K. K., Alinejad, A., Rasoulzadeh, H., Mohseni, S. M., Sarkhosh, M., Keramati, H., Moradii, B., Amanidaz, N. & Baninameh, Z. (2018). Systematic review and health risk assessment of arsenic and lead in the fished shrimps from the Persian Gulf. *Food and Chemical Toxicology*, 113, 278-286.
  - Fatemi, H., Esmaeilpour, 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.
  - Fattahi, B., Arzani, K., Souri, M. K.

- & Barzegar, M. (2020). Effect of cadmium and lead on morpho-physiological traits and photosynthesis of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 50(4), 839-849. (In Farsi)
- Feizi, Kh., Amirinejad, A. & Ghobadi, M. (2021). The effects of biochar and salicylic acid on reducing Pb-induced stress in basil crop (*Ocimum basilicum* L.). *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 52 (2), 539-547. (In Farsi)
  - Gill, R. A., Zang, L., Ali, B., Farooq, M. A., Cui, P., Yang, S., Ali, S. & Zhou, W. (2015). Chromium-induced physio-chemical and ultrastructural changes in four cultivars of *Brassica napus* L. *Chemosphere*, 120, 154-164.
  - Gupta, D. K., Srivastava, S., Huang, H. G., Romero-Puertas, M. C. & Sandalio, L. M. 2011. Arsenic tolerance and detoxification mechanisms in plants. In: I. Sherameti and A. Varma (eds.), *Detoxification of Heavy Metals*, *Soil Biology*, 30, 169-179.
  - Hekmati, J., Hamidoghli, Y., Esmailpour, B. & Ghasemnezhad, M. (2021). Effect of arsenic and phosphate biofertilizer on physiological and biochemical properties of green mint (*Mentha spicata* L.). *Journal of Plant Production Research*, 28(1), 127-139. (In Farsi)
  - Huang, L. M., Rizwan M., Dai, Z., Yuan, Y., Hossain, M. M., Cao, M., Xiong, M. & Tu, S. (2021). Synergistic effect of silicon and selenium on the alleviation of cadmium toxicity in rice plants. *Journal of Hazardous Materials*, 401, 123393.
  - Islam, E., Tahir Khan, M. & Irem, S. (2015). Biochemical mechanisms of signaling: perspectives in plants under arsenic stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 114, 126-133.
  - Jamwal, A., Naderia, M. & Niyogiab, S. (2016). An in vitro examination of selenium cadmium antagonism using primary cultures of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Metall*, 8, 218-227.
  - Jia, H., Song, Z., Wu, F., Ma, M., Li, Y., Han, D., Yang, Y., Zhang, S. & Cui, H. (2018). Low selenium increases the auxin concentration and enhances tolerance to low phosphorous stress in tobacco. *Environmental and Experimental Botany*, 153, 127-134.
  - Karimi, N. & Souiri, Z. (2016). Antioxidant enzymes and compounds complement each other during arsenic detoxification in shoots of *Isatis cappadocica* Desv. *Chemistry and Ecology*, 32(10), 937-951.
  - Karimi, N., Ghaderian, S. M., Marofi, H. & Schat, H. (2010). Analysis of arsenic in soil and vegetation of a contaminated area in Zarshuran, Iran, identify two angiosperm arsenic hyperaccumulators. *International Journal of Phytoremediation*, 12, 159-173.
  - Kohli, S. K., Bali, S., Tejpal, R., Bhalla, V., Verma, V., Bhardwaj, R., Alqarawi, A. A., Abd-Allah, E. F. & Ahmad, P. (2019). In-situ localization and biochemical analysis of bio-molecules reveals Pb-stress amelioration in *Brassica juncea* L. by co-application of 24-Epibrassinolide and salicylic acid. *Scientific reports*, 9(1), 1-15.
  - Luo, H. T., Wang, Q., He, Z. L., Wu, Y. H., Long, A. M. & Yang, Y. F. (2019). Protection of dietary selenium-enriched seaweed *Gracilaria lemaneiformis* against cadmium toxicity to abalone *Haliotis discus hannai*. *Ecotoxicology and*

- Environmental Safety, 171, 398-405.
- Maghsoudi, K., Ashrafi Dehkordi, E. & Mazloumi, S. M. (2021). The role of brassinosteroids and salicylic acid on spinach growth and cadmium accumulation under cadmium stress. *Journal of Vegetable Sciences*, 4(2), 15-33. (In Farsi)
  - Malik, J. A., Goel, S., Kaur, N., Sharma, S., Singh, I. & Nayyar, H. (2012). Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 77, 242-248.
  - Mawia, A. M., Hui, S., Zhou, L., Li, H., Tabassum, J., Lai, C., Wang, J., Shao, G., Wei, X., Tang, S., Luo, J., Hu, H. & Hu, P. (2021). Inorganic arsenic toxicity and alleviation strategies in rice. *Journal of Hazardous Materials*, 408, 124751.
  - Mithofer, A., Schulze, B. & Boland, W. (2014). Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. *FEBS Letters*, 566, 1-5.
  - Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in Spanish chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
  - Nie, M., Hu, C., Shi, G., Cai, M., Wang, X. & Zhao, X. (2021). Selenium restores mitochondrial dysfunction to reduce Cr-induced cellapoptosis in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *Pekinensis*) root tips. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223, 112564.
  - Paquin, R. & Lechasseur, P. (1979). Observations sur une methode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*, 57, 1851-1854.
  - Pereira, A. S., Dorneles, A. O. S., Bernardy, K., Sasso, V. M., Bernardy, D., Possebom, G., Rossato, L. V., Dressler, V. L. & Tabaldi, L. A. (2018). Selenium and silicon reduce cadmium uptake and mitigate cadmium toxicity in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen plants by activation antioxidant enzyme system. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(19), 18548-18558.
  - Piršlová, B., Boleček, P. & Gálusová, T. (2016). Effect of cadmium and arsenic on chlorophyll fluorescence of selected soybean cultivars. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(4), 469-473.
  - Prasad, A., Kumar, S., Khaliq, A. & Pandey, A. (2011). Heavy metals and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can alter the yield and chemical composition of volatile oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Biology and Fertility of Soils*, 47, 853-861.
  - Rahman, M. M., Hossain, K. F. B., Banik, S., Sikder, M. T., Akter, M., Bondad, S. E. C., Rahaman, M. S., Hosokawa, T., Saito, T. & Kurasaki, M. (2019). Selenium and zinc protections against metal-(oids)-induced toxicity and disease manifestations: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 168, 146-163.
  - Retondario, A., Fernandes, R., Rockenbach, G., Ives, M. A., Bricarello, L. P., Trindade, E. B. S. M. & de Vasconcelos, F. A. G. (2018). Selenium intake and metabolic syndrome: a systematic review. *Clinical Nutrition*, 38(2), 603-614.
  - 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.
  - 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 Farsi)
- Siriporndulsil, S., Traina, S., Verma, D. P. & Sayre, R. T. (2002). Molecular mechanism of proline mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. *Plant Cell*, 14, 2837-47.
  - Sun, H., Dai, H., Wang, X. & Wang, G. (2016). Physiological and proteomic analysis of selenium-mediated tolerance to Cd stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133, 114-126.
  - Tang, L., Hamid, Y., Liu, D., Jahidul Islam Shohag, M. D., Zehra, A., He, Z., Feng, Y. & Yang, X. (2020). Foliar application of zinc and selenium alleviates cadmium and lead toxicity of water spinach–Bioavailability/cytotoxicity study with human cell lines. *Environment International*, 145, 106-122.
  - Ulhassan, Z., Gill, R. A., Huang, H., Ali, S., Mwamba, T. M., Ali, B., Huang, Q., Hamid, Y., Khan, A. R., Wang, J. & 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.
  - Ullah, A., Heng, S., Munis, M.F.H., Fahad, S. & Yang, X. (2015). Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 117, 28-40.
  - 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.
  - Wankhede, D. P., Gupta, M., Singh, A. K. (2013). Arsenic toxicity in crop plants: approaches for stress resistance. In: N. Tuteja, S.S. Gill (Eds.), *Crop Improvement under Adverse Conditions*, Springer Science+Business Media New York. 347-360.
  - Wu, J. T., Hsieh, M. T. & Kow, L. C. (2020). Role of proline in response to toxic copper in *Chlorella* sp. (Chlorophyceae) cells. *Journal of Phycology*, 31, 113-7.
  - Wu, Z., Liu, S., Zhao, J., Wang, F., Du, Y., Zou, S., Li, H., Wen, D. & Huang, Y. (2017). Comparative responses to silicon and selenium in relation to antioxidant enzyme system and the glutathione-ascorbate cycle in flowering Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis* var. *utilis*) under cadmium stress. *Environmental and Experimental Botany*, 133, 1-11.
  - Zembala, M., Filek, M., Walas, S., Mrowiec, H., Kornas, A., Miszalski, Z. & Hartikainen, H. (2010). Effect of selenium on macro- and microelement distribution and physiological parameters of rape and wheat seedlings exposed to cadmium stress. *Plant Soil*, 329, 457-468.
  - Zhao, Y., Hu, C., Wang, X., Qing, X., Wang, P., Zhang, Y., Zhang, X. & Zhao, X., (2019). Selenium alleviated chromium stress in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *Pekinensis*) by regulating root morphology and metal element uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 173, 314-321.