Journal of Vegetables Sciences, Spring & summer 2025, Vol 9, No 17(1), Pages 101-124

doi: 10.22034/iuvs.2023.2009342.1309 Article Type: Research Online ISSN: 2676-4822

The effect of *Serendipitia indica* fungus and foliar application of selenate on physiological and morphological traits of lettuce under the stress of the heavy metal cadmium in hydroponic culture

Hajar Khanmohammadi[1], Behrooz Esmaeilpour[*2], Rasoul Azarmi[3], Seyed karim tahami[4,5], Ali Shahi Gharalar[6] and Zahra aslani[7], Nastaran maham[4]

1- MSc. Student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

2, 3, 6- Professor, Associate Professor, and Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

4- PhD. Student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

5- Faculty of Iranian Academic Center for Education, Culture & Research (ACECR), Ardabil. Iran.

7-PhD Graduate, Visiting Researcher, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Corresponding author: behsmaiel@yahoo.com

(**Received:** 15 August 2023 **Revised:** 21 November 2023 **Accepted:** 25 November 2023)

Extended Abstract

1. **Introduction:** Persistent pollutants that cause biological effects in the food chain are called heavy metals. Heavy metals are more persistent than organic pollutants. This has become one of the most dangerous groups of environmental pollutants. Cadmium has attracted much attention due to its toxicity at high concentrations, and the effect of cadmium varies depending on the type of plant. Cadmium harms the growth and development of plants. Also, the most obvious destructive effects of heavy metals on plants are the reduction in the ability to absorb nutrients required for normal plant growth and development. When the concentration of this element in soil is 8 mg/kg, it is considered toxic to plants. Selenium is one of the main elements found in lettuce, which has particular importance in the nutritional status of lettuce. In the hydroponic system, symbiotic fungi can improve plant growth. This study aimed to investigate the effect of Serendipitia indica and selenium foliar application on the growth and biochemical and physiological properties of lettuce under the conditions of heavy element cadmium contamination in hydroponic culture.
2. **Materials and Methods:** To evaluate the effect of Serendipitia indica fungs and selenium foliar application on the physiological characteristics, growth, and performance of red Little Gem lettuce under the conditions of contamination with the heavy element cadmium, a factorial experiment was carried out in the form of a completely randomized design with four replications under hydroponic cultivation conditions. The first factor of cadmium toxicity in food solution (control, 11.85 and 18.7 mg/liter) and the second factor of Serendipitia indica fungi (inoculation and non-inoculation) and selenium foliar spraying in three concentrations (control, 75 and 150 µM) and the combined treatments of these two It was an invoice. In this research, the wet and dry weight of leaf and root shoot, leaf number, chlorophyll fluorescence, stomatal conductance, electrolyte leakage, symbiosis percentage, chlorophyll a, b, total, malondialdehyde, hydrogen peroxide, soluble sugar, proline, catalase, ascorbate peroxidase, was measured.
3. **Results and Discussion:** Selenium foliar application and inoculation with Serendipitia indica improved growth indices and biochemical traits in lettuce plants under cadmium stress conditions. The application of mushroom and selenium has a significant effect on leaf weight and dry weight, root weight and dry weight, leaf number, chlorophyll fluorescence, relative water content, stomatal conductance, chlorophyll a, b and total chlorophyll, carotenoid, ascorbate peroxidase, anthocyanin, proline, the percentage of coexistence, electrolyte leakage, malondialdehyde, hydrogen peroxide and catalase.The application of the treatment combination (0 µM cadmium + 150 µM selenium + inoculation of Serendipitya indica fungus caused a significant effect on leaf fresh weight (95.90 g) and dry weight (4.92 g), root fresh weight (34.99 g) and dry weight (1.92), leaf number (20.48), chlorophyll fluorescence (0.897 ms), relative water content (69.27%), stomatal conductance (31.97 mmol/m2/s), chlorophyll a, b (0.19 mg/g wet weight; 0.078 mg/g wet weight) and total chlorophyll (0.626 mg/g wet weight), carotenoids (0.71 mg/g wet weight), ascorbate peroxidase (0.067), proline (0.664 µg/fresh weight), percentage Symbiosis (89.75%), electrolyte leakage (38.88%), malondialdehyde (0.067), soluble sugar (0.829 mg/fresh weight), hydrogen peroxide (0.090),

and catalase (0.076). The fungus *Serendipitya indica* increases the amount of auxin and cytokinin in the plant, and since auxin and cytokinin increase the production of adventitious roots, it is effective in increasing the fresh and dry weight of the aerial parts. In the present study, selenium foliar spraying improved the levels of chlorophyll a, b, total chlorophyll, and carotenoids in lettuce plants. In another similar finding, selenium foliar spraying increased chlorophyll a, b, and carotenoids in lettuce leaves. By improving the absorption of elements, the *Serendipitia indica* fungus increases the plant's resistance to these conditions and enhances its growth and development in metal-contaminated soils. Selenium foliar spraying showed that the use of elicitors increased the amount of proline, and with the intensification of cadmium stress, the amount of proline increased.

4. **Conclusion:** From this research, it can be concluded that the use of symbiotic fungus (*Serendipitia indica*) in foliar spraying of lettuce and selenium in a hydroponic system can improve the growth and absorption of elements, and also the combined use of these two factors has a positive effect in comparison using these two factors separately. More about the growth and physiological characteristics of lettuce.

***Keywords*:** Catalase, Electrolyte leakage, Proline, Stomatal conductance.

Citation: Khanmohammadi, H., Esmaeilpour, B., Azarmi, R., Tahami, S.K., Shahi Gharalar, A., Aslani, Z., & Maham, N. (2025). The effect of Se*rendipitia indica* fungus and foliar application of selenate on the physiological and morphological traits of lettuce under cadmium heavy metal stress in hydroponic culture17(1), 101-124. doi:10.22034/iuvs.2023.2009342.1309

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).

دوفصلنامه علمی علوم سبزی‌ها، سال۹ ، دوره ۱۷، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۴، صفحات (۱۲۴-۱۰۱)

شاپا الکترونیکی: ۴۸۲۲-۲۶۷۶ نوع مقاله: پژوهشی

doi:110.22034/iuvs.2023.2009342.1309

تأثیر قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنات سدیم بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی کاهو تحت شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم در کشت هیدروپونیک

هاجر خانمحمدی[۱]، بهروز اسماعیل‌پور[۲*]، رسول آزرمی[۳]، سید کریم تهامی[۴،۵]، علی شاهی قره لر[۶] ، زهرا اصلانی[۷]، نسترن مهام[۴]

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲، ۳ و ۶- استاد، دانشیار و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۴- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی و اصلاح گیاهان باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

۵- عضو هیات علمی جهاد دانشگاهی واحد استان اردبیل، اردبیل، ایران

۷- پژوهشگر مدعو علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

[*]نویسنده مسئول: behsmaiel@yahoo.com

(**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۲/۰۵/۲۴ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۲/۰۸/۳۰ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۹/۰۴)

چکیده

فلزات سنگین از جهت ماندگاری بالا و عدم تجزیه‌پذیری توسط میکروارگانیسم‌های خاک و دارای پتانسیل بالای جذب توسط گیاهان و ورود به زنجیره غذایی می‌باشد. به‌منظور ارزیابی تأثیر قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم بر خصوصیات فیزیولوژیکی، رشد و عملکرد کاهو رقم لیتل جم قرمز (*Lactuca sativa* L) در شرایط آلودگی با عنصر سنگین کادمیوم، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در شرایط کشت هیدروپونیک اجرا شد. فاکتور اول سمّیت کادمیوم در محلول غذایی (صفر، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار) و فاکتور دوم قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* (تلقیح و عدم تلقیح) و محلول‌پاشی سلنیوم در سه غلظت (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) و تیمارهای ترکیبی این دو فاکتور (سطوح سمیت کادمیوم ۰، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار+ سطوح غلظت سلیوم ۰، ۷۵، ۱۵۰ میکرومولار+ دو سطح تلقیح و عدم تلقیح قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا*) بود. نتایج حاصل نشان داد محلول‌پاشی سلنیوم و تلقیح با قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* باعث بهبود شاخص‌های رشدی و صفات بیوشیمیایی در گیاهان کاهو در شرایط تنش کادمیوم شد. کاربرد ترکیب تیماری (کادمیوم ۰ میکرومولار + سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار + تلقیح قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* باعث تأثیر معنی‌داری بر وزن‌تر (۹۵/۹۰ گرم) و خشک برگ (۴/۹۲ گرم)، تعداد برگ (۲۰/۴۸)، کلروفیل فلورسانس (۰/۸۹ میلی‌ثانیه)، محتوای نسبی آب (۶۹/۲۷ درصد)، کلروفیل b،a (۰/۱۹ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر؛ ۰/۰۷ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر) و کلروفیل کل (۰/۶۲ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر)، کاروتنوئید (۰/۷۱ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر)، آسکوربات پراکسیداز (۰/۰۶)، پرولین (۰/۶۶ میکروگرم بر وزن تر)، درصد همزیستی (۸۹/۷۵ درصد)، نشت الکترولیت (۳۸/۸۸ درصد)، مالون‌دی‌آلدئید (۰/۰۶)، قند محلول (۰/۸۲ میلی‌گرم بر وزن تر)، پراکسید هیدروژن (۰/۰۹) و کاتالاز (۰/۰۷) شد. بر اساس نتایج بدست آمده از این آزمایش مشخص گردید که استفاده از الیسیتورهای زیستی و شیمیایی می‌تواند از راهکارهای اساسی جهت کاهش اثرات مخرب و منفی کادمیوم باشد.

واژه‌های کلیدی: **پرولین، کاتالاز ، نشت الکترولیت، هدایت روزنه‌ای.**

استناد: خانمحمدی، ه.، اسماعیل‌پور، ب.، آزرمی، ر.، تهامی، س. ک.، شاهی قره لر، ع.، اصلانی، ز.، و مهام، ن. (۱۴۰۴). تأثیر قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنات سدیم بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی کاهو تحت شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم در کشت هیدروپونیک. *علوم سبزی‌ها*، ۱۷(۱)، ۱۲۴-۱۰۱.

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 به‌صورت آزاد در وب سایت مجله برای عموم بدون پرداخت هزینه قابل‌دسترس است.

مقدمه

کاهو با نام علمی *Lactuca sativa* L. جزء راسته Magnoliophyta، رده Magnolipsida، راسته Asterales، تیره Asteracea یا Compositeae زیر تیره زبانه گلی‌ها می‌باشد. گیاهی یک‌ساله از خانواده مرکبیان روز بلند که در تابستان به گل می‌نشیند (Darqui *et al.,* 2018). برگ‌های این گیاه حاوی مقدار کمی کالری، مواد مغذی و منبع مهمی از ویتامین‌های A، E، K و C می‌باشد، به‌علاوه کاهو دارای پتاسیم و غنی از مانیتول، لاکتوسین و لاکتوپیسرین است (Mohebodini *et al.,* 2011).

آلاینده‌های پایداری که باعث تأثیرگذاری زیستی در زنجیره غذایی هستند فلزات سنگین نامیده می‌شوند که در حقیقت این فرآیند، مقدار آن‌ها در زنجیره غذایی تا چندین برابر در آب یا هوا افزایش پیدا می‌کند (Darqui *et al.,* 2018). آلودگی خاک به‌واسطه فلزهای سنگین با آلودگی آب یا هوا متفاوت می‌باشد، زیرا فلزهای سنگین درون خاک به مدت طولانی‌تری نسبت به دیگر بخش‌های بیوسفر پایدار می‌مانند و دوام آن‌ها در خاک نسبت به سایر عناصر بیشتر هستند، فلزهای سنگین نسبت به آلاینده‌های آلی پایدارتر هستند. در حقیقت، این بحث به یکی از خطرناک‌ترین گروه آلاینده‌های زیست محیطی تبدیل شده است (Kabata-Pendias, 2021). از جمله فلزهای سنگین شامل نیکل (Ni)، سرب (Pb)، جیوه (Hg)، مس (Cu)، کروم (Cr) و کادمیوم (Cd) می‌باشند (Kafi *et al.,* 2018). کادمیوم به علت وجود سمّیت غلظت‌های بالا مورد توجه زیادی قرار می‌گیرد (Baltruschat *et al.,* 2019) و تأثیرکادمیوم برحسب نوع گیاه متغیر می‌باشد (Das *et al.,* 2020). کادمیوم در فرآیند رشد و نموی گیاهان اثر منفی نشان می‌دهد (Benavides, 2019). کادمیوم به دلیل جذب بهتر در گیاه آسیب‌های سلولی و بافتی را بر جای می‌گذارد (Prasad, 2013). همچنین بارزترین اثرات تخریب کننده فلزات سنگین در گیاه کاهش قابلیت جذب عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد و نمو طبیعی گیاهان می‌باشد. زمانیکه مقدار غلظت این عنصر در خاک ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم باشد، برای گیاهان سمی به حساب می‌آید.

قارچ *Serendipitia indica* از قارچ‌های مهم اندوفیت است که توسط Varma و همکاران (Varma *et al.,* 2001) از ریشه دو گیاه خشکی دوست گز (*Prosopis juliflora*) و کنار (*Zizyphus numularia*) کشف شد. این قارچ که بر خلاف قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AM) همزیست اختیاری است و بر روی محیط‌های کشت مصنوعی قادر به رشد است، متعلق به رده بازیدیومیست‌ها و راسته هایمنومیست (Hymenomycete) است. قارچ *Serendipitia indica* نیز مانند قارچ‌های AM از دامنه میزبانی وسیعی برخوردار است و نقش مؤثری در افزایش تحمل گیاهان میزبان مختلف به تنش‌های محیطی مختلف ازجمله تنش فلزات سنگین و شوری دارد. Sepehri و همکاران (۲۰۰۹) افزایش مقاومت سیستماتیک گیاه جو تلقیح شده با قارچ *S.indica* به تنش فلزات سنگین را نسبت به گیاه شاهد فاقد آلودگی قارچی را گزارش کردند. Zarea و همکاران (۲۰۱۳) با مطالعه‌ای در گیاه گندم تلقیح یافته با قارچ *S.indica* در شرایط تنش شوری به این نتیجه دست یافتند که قارچ مذکور با افزایش محتوای آب نسبی برگ‌ها در اثر تجمع ترکیبات اسمزی سازگار آلی و افزایش محتوای کلروفیل برگ، موجب افزایش وزن گندم در چنین شرایطی شد. کاهش خسارت زیان‌بار عناصر سنگین از قبیل کادمیوم توسط کاربرد ریز موجوداتی مانند قارچ‌ها و یا باکتری‌های همزیست موجود در خاک و یا عناصر مفید می‌تواند بسیار سودمند محسوب شود. با استفاده از مواد طبیعی و ارگانیک علاوه بر تأثیر آن‌ها بر کاهش اثرات این آلودگی‌ها از اثرات مفید و سودمند آن‌ها بر رشد گیاهان مورد نظر قرار گیرد. قارچ *Serendipitia indica* با بهبود عملکرد جذب عناصر باعث مقاومت گیاه به این شرایط و افزایش فرآیند رشدی و نموی آن در خاک‌های آلوده به فلز می‌شود.

عناصر غذایی مختلفی جهت رشد و نمو گیاهان شناخته شده‌اند که در فرآیندهای متابولیک و فیزیولوژیک گیاه نقش‌های مختلفی دارند. از بین عناصر موجود، سلنیوم به‌عنوان یک عنصر غیر ضروری برای گیاهان اما ضروری برای جانوران و انسان شناخته شده است اگرچه نقش آن در گیاهان هنوز به درستی شناخته نشده است اما نتایج تحقیقات نشان داده است که این عنصر در فیزیولوژی و متابولیسم گیاهان نقش دارد (Tapiero *et al.*, 2003). در بیشتر گیاهان زراعی از جمله غلات و گیاهان علوفه‌ای قدرت جذب سلنیوم حتی در خاک‌های غنی از سلنیوم ضعیف می‌باشد (Nowak *et al.*, 2014). سلنیوم از نظر خواص شیمیایی مشابه گوگرد می‌باشد این تشابه ممکن است در فرآیندهای جایگزینی سلول تأثیر بگذارد و سلنیوم جایگزین گوگرد در پروتیئن‌ها و دیگر ترکیبات گوگردی شود (Nowak *et al.*, 2014). همچنین مدارکی دال بر اثرات مثبت سلنیوم در گیاهان مشاهده شده است (Germ *et al.*, 2005). سلنیوم باعث افزایش مقاومت گیاهان به تشعشع پرتو فرابنفش، کاهش تنش‌های اکسیداتیو و به تأخیر انداختن پیری می‌شود. سلنیوم باعث جلوگیری از تخریب کلروفیل در شرایط تنش‌های محیطی (Seppanen, 2013) و سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان تنش دیده می‌شود (Djanaguiraman, 2015). از دیگر اثرهای سودمند سلنیوم می‌توان به افزایش رشد، متابولیسم کربوهیدراتها اشاره کرد (Xue, 2001). یکی از راهکارهای کاهش اثرات زیان‌بارکادمیوم استفاده از محلول‌پاشی سلنیوم می‌باشد. با وجود اینکه نقش سلنیوم به‌طور کامل شناخته نشده است، اما عنصری ضروری برای انسان‌ها و حیوانات می‌باشد. افزودن کودهای سلنیوم‌دار به خاک افزایش رشد و عملکرد گیاهان را در پی دارد (Hawkesford & Zhao, 2021)؛ که سلنیوم نقش بسزایی در خنثی کردن تنش‌های غیر زیستی در گیاهان دارا می‌باشد (Clemens, 2018). در سال‌های گذشته نشان داده شده است که سلنیوم باعث افزایش ظرفیت ضد اکسایش در برخی گیاهان شده است (Lyons *et al.*, 2019). با توجه به مطالب مطرح شده هدف از این تحقیق بررسی تأثیر قارچ *Serendipitia indica* و محلول‌پاشی سلنیوم بر روی کاهش اثرات عنصر سنگین کادمیوم بر رشد و خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی سبزی پرمصرف کاهو در شرایط کشت هیدروپونیک است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنات سدیم بر رشد فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی کاهو تحت شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم در کشت هیدروپونیک آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۴ تکرار گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا گردید. مراحل آزمایشگاهی در آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت دانشکده علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی انجام گرفت. این تحقیق در دو مرحله شامل مراحل گلخانه‌ای (آماده‌سازی بستر کشت و کشت و پرورش گیاه کاهو) و آزمایشگاهی انجام گرفت. در این آزمایش فاکتور اول تیمار کادمیوم (تهیه شده از شرکت مرک) در غلظت‌های صفر ، ۱۱/۸۵ و ۱۸/۷ میلی‌گرم در لیتر و فاکتور دوم شامل تلقیح با الیسیتورهای زیستی قارچ *S.indica* در دو سطح بدون تلقیح و تلقیح با قارچ *S.indica* همراه با سلنیوم (تهیه شده از شرکت مرک) با غلظت‌های صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار بود. تهیه قارچ از آزمایشگاه بیولوژی دانشگاه تبریز صورت گرفت، گونه *S.indica* .T را در محیط PDA در زیر هود کشت شد قارچ‌ها برای رشد و اسپور سازی به مدت دو هفته در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای جداسازی اسپورها و ساخت مایه مایه زنی، به اندازه ۱۰ میلی لیتر محلول آب- توئین۵/. درصد به هر پتری دیش افزوده و پس از گردآوری اسپورهای قارچی هر پتری‌دیش، فراوانی آن به کمک

لام نئوبار شمارش شده و سوسپانسیونی به غلظت^{7}۱۰×۱ اسپور در میلی لیتر به عنوان مایه‌زنی آماده گردید و تیمار سوسپانسیون قارچ چند روز پس از انتقال نشا به پای بوته تزریق شد. در این پژوهش از کاهوی قرمز رقم *Little gem* استفاده شد، برای کشت ابتدا بذرها در سینی کاشت با بستر کوکوپیت و پرلیت به نسبت ۱:۱ کاشته شدند و روزانه با محلول غذایی فرمولاسیون هوگلند حاوی نیترات کلسیم و اسید بوریک به ترتیب با غلظت ۱۳۶/۸ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. نشاء کاهو پس از ۳ هفته با گلدان اصلی با عرض ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر انجام پذیرفت. به منظور بررسی تأثیر قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا و محلول‌پاشی سلنات سدیم بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی کاهو تحت شرایط تنش فلز سنگین کادمیوم، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. شاخص کلروفیل‌فلورسانس گیاه کاهو با استفاده از دستگاه فلورومتر، مدل Sciences-Opti ساخت کشور ایالات متحده، اندازه‌گیری گردید و هدایت روزنه‌ای برگ، یک ماه بعد از اعمال تیمارها از جوان‌ترین برگ بالغ از ساعت ۱۱تا ۱۴ ظهر توسط دستگاه پرومتر (England -۱- SC) ساخت کشور انگلیس اندازه‌گیری شد. برای اندازه گیری کلروفیل a,b، کل وکارتنوئید ۰/۱گرم از ماده‌تر گیاهی را در هاون چینی قرار داده و با سه میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط گردید و بطورکامل هموژن شد. سپس با سرعت۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. عصاره جدا شده از عصاره حاصل برای اندازه‌گیری کلروفیل a درطول موج ۶۶۳ نانومتر، کلروفیل b در طول موج ۶۴۶/۸ نانومتر و کارتنوئید در طول موج ۴۷۰ نانومتر استفاده شد.

رابطه (۱، ۲، ۳)

$$Chla = (12.25)(A663.2) - (2.798)(A664.8) \times (V/(W\times1000))$$

$$Chlb = (21.21)(A646.8) - (5.1)(A663.2) \times (V/(W\times1000))$$

$$ChlT = CHla + CHlb$$

W: وزن نمونه

V : حجم نمونه

برای اندازه‌گیری شاخص نشت الکترولیت یا نشت مواد محلول،۱۰ عدد دیسک برگی تهیه شده و در فالکون‌های حاوی۲۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده غوطه‌ور گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریک قرارداده شدند. سپس هدایت الکتریکی نمونه‌ها توسط دستگاه EC متر قرائت شد. میزان درصد نشت الکترلیت با این رابطه محاسب گردید (Errsus & Barrett, 2010).

رابطه (۴)

$$EL\ (\%) = (ECO/EC1+EC1) \times 100$$

CMS:نشت الکترولیت‌ها از سلول

ESO:هدایت الکتریکی قبل از اتوکلاو

ECI:هدایت الکتریکی بعد از اتوکلاو

برای اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ از هر واحد آزمایشی چند برگ کاملاً توسعه یافته را برداشت کرده و دیسک‌هایی به قطر هشت میلی‌متر از قسمت میانی پهنک آن‌ها تهیه شد (از هر واحد آزمایشی ۱۰ دیسک برگی). پس از توزین دیسک‌ها به کمک ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) به پتری‌دیش‌های درب‌دار حاوی آب مقطر منتقل گردیده و به مدت ۴ ساعت در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) و در تاریکی قرار داده شدند. پس از خارج کردن نمونه‌ها از آب مقطر، رطوبت اضافی سطح دیسک‌ها به‌وسیله کاغذ صافی حذف شده و سپس وزن آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از تعیین وزن آماس، دیسک‌های برگی را به آون (۷۰ درجه سانتی‌گراد) منتقل کرده و پس از گذشت ۲۴ ساعت وزن خشک آن‌ها تعیین گردید و در نهایت RWC با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Turner, 1981):

رابطه (۵)

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

برای اندازه‌گیری درصد همزیستی ریشه، رنگ‌آمیزی و بررسی کلنیزاسیون ریشه از روش(Hayma, 1999 philips) استفاده شد. برای اندازه‌گیری مقادیر پرولین و قندهای محلول، ابتدا ۰/۵ گرم از برگ‌های سالم و

کاملاً توسعه یافته از قسمت‌های فوقانی گیاه توزین و با ۵ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۹۵ درصد در داخل هاون چینی سائیده شد. سپس محلول رویی را برداشته و تفاله باقی مانده مجدداً با ۵ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۷۰ درصد شستشو گردید و عصاره بدست‌آمده روی قبلی ریخته شد. بعد از سانتریفیوژ (به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۳۵۰۰) فاز رویی را برداشته و عصاره الکلی بدست‌آمده برای اندازه‌گیری پرولین و قندهای محلول مورد استفاده قرار گرفت (Irigoyen *et al.*, 1992). برای تعیین غلظت پرولین، یک میلی‌لیتر از عصارهٔ الکلی تهیه شده به ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، پنج میلی‌لیتر معرف نین هیدرین (روش تهیهٔ نین هیدرین به ازاء هر نمونه: ۰/۱۲۵ گرم نین هیدرین + ۲ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار + ۳ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال) و پنج میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال افزوده شده و مخلوط بدست آمده پس از به هم زدن به مدت ۴۵ دقیقه در دمای جوش (۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد) قرار داده شد. پس از خنک شدن نمونه ها، ۱۰ میلی‌لیتر بنزن به هر کدام از آن‌ها افزوده شده و ورتکس شدند تا پرولین وارد فاز بنزن گردد. نهایتاً پس از ۳۰ دقیقه حالت سکون، میزان جذب نمونه‌ها و استانداردهای پرولین (تهیه شده در غلظت‌های صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی‌لیتر) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت گردید (Paquin and Lechasseur, 1979). برای اندازه‌گیری میزان قندهای محلول از روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. به‌طور خلاصه، ۰/۱ میلی‌لیتر از عصارهٔ الکلی با سه میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده داخل لولهٔ آزمایش مخلوط شدند (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲٪ W/W). سپس محلول حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای جوش قرار داده شد تا مادهٔ رنگی تشکیل گردد. پس از خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب آن‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

برای تهیهٔ استاندارد قند، از گلوکز محلول‌هایی با غلظت‌های صفر تا ppm ۱۲۰ تهیه و میزان جذب آن‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید.

برای اندازه گیری میزان MDA تولید شده از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) استفاده شد. بدین منظور ۰/۲ گرم بافت تازه گیاهی توسط ۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید (TCA)، ۱ درصد خوب سائیده شد. سپس عصاره بدست آمده به مدت۱۰ دقیقه در ۸۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد به ۱ میلی‌لیتر از محلول سانتریفوژ شده، ۴ میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد TCA حاوی ۰/۵ درصد تیو باربیتوریک افزوده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای جوش قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به‌سرعت با آب یخ سرد شدند. بعد از این مراحل، نمونه‌ها مجدداً سانتریفوژ شده و در نهایت جذب محلول رویی در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. مقدار مالون دی‌آلدهید (با ضریب خاموشی $155mM^{-1}$ cm^{-1}) که محصول پراکسیداسیون لیپیدهاست، با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

رابطه (۶)

$$MDA\ (nanomol/g\ FW) = 5 * \{(A532 - A600/155) \times 1000\}/0.2$$

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین ۰/۲ گرم از نمونه گیاهی با ۳ میلی‌لیتر(متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱) ترکیب و به‌طور کامل هموژن گردید. عصاره حاصل در میکروتیوب ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ صورت گرفت. سپس محلول رویی از کاغذ صافی عبور داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد و در تاریکی نگهداری شد. میزان جذب رنگ آنتوسیانین در طول موج ۵۵۰ نانومتر سنجش گردید. غلظت آنتوسیانین با استفاده از فرمول ضریب خاموشی محاسبه شد. برای اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن اندازه‌گیری محتوای پراکسید هیدروژناز واکنش پراکسیدهیدروژن با یدید پتاسیم انجام شد. سرانجام جذب نمونه در طول

موج ۳۹۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. غلظت پراکسید هیدروژن برحسب میکرومول نشان داده شد (Sergiev *et al.*, 1997).

جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی، ۲۰۰ میلی‌گرم بافت تازه (تر) برگ با استفاده از ازت مایع بر روی یخ خرد شده و در ۲ میلی لیتر بافر استخراج (Tris-HCL ۰/۵ درصد و پلی وینیل پیرولیدون (PVP1) ۰/۰۵ درصد و pH=۸) به صورت کامل هموژن گردید. سپس در میکروتیوب‌های ۲ میلی-لیتری ریخته و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۳۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید در ادامه فاز رویی آن جهت برای ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز جدا گردید (Sudhakar *et al.*, 2001). برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۹۸۴) با اندکی تغییر استفاده گردید. ابتدا بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷ تهیه شد. سپس به میزان ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر تهیه شده و ۲۰ میکرولیتر آب اکسیژنه (H_2O_2) ۳ درصد برای هر نمونه برداشته شد. این مواد را با هم مخلوط کرده و سپس ۵۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی به آن افزوده و تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت ۱ دقیقه بررسی شد. یک واحد فعالیت آنزیم به عنوان مقدار آنزیمی تعریف می‌شود که اکسیداسیون ۱ میکرومولار H_2O_2 را در دقیقه کاتالیز می‌کند و فعالیت CAT به عنوان واحد آنزیمی در هر گرم وزن تازه (Ug-1 FW) بیان می شود. برای سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از ضریب خاموشی (mM^{-1} cm^{-1} ۲/۵۳۲) و فرمول زیر استفاده گردید:

رابطه (۷)

$$CAT(U/gFW)=\frac{\text{حجم محلول داخل سل} \times \text{اختلاف بین قرائت در یک دقیقه}}{\text{خاموشی ضریب} \times \text{حجم عصاره برداشتی}}$$

میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) با اندکی تغییرات سنجیده شد. محیط واکنش حاوی ۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار با pH=۷)، ۲۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳ درصد، ۱۰ میکرولیتر اسید اسکوربیک ۵۰ میکرومولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. ترکیبات ذکر شده روی یخ با یکدیگر مخلوط شده و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد آنزیمی آسکوربات پراکسیداز، مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مولار آسکوربیک اسید را در یک دقیقه اکسید می‌کند. جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از ضریب خاموشی (mM^{-1} cm^{-1} ۲/۰۵) و فرمول زیر استفاده شد.

رابطه (۸)

$$APX(U/gFW)=\frac{\text{حجم محلول داخل سل} \times \text{اختلاف بین قرائت در یک دقیقه}}{\text{خاموشی ضریب} \times \text{حجم عصاره برداشتی}}$$

برای اندازه‌گیری عنصر کادمیوم بخش هوایی گیاهان بعد از انتقال به آزمایشگاه با آب مقطرشسته شدند وسپس نمونه‌ها را در آون گذاشته، و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. بعد از خشک شدن نمونه‌ها توسط آسیاب برقی پودر شدند و سپس بعد از طی یک فرآیند عصاره تهیه و در نهایت پس از سرد شدن عصاره را با کاغذ صافی واتمن صاف نموده و با دستگاه جذب اتمی پرکین المر سنجش گردید (Soon and Abboud, 1993).

برای تجزیه داده‌ها از نرم‌افزار SAS ۹/۱ و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید.

نتایج و بحث

درصد همزیستی و صفات مورفولوژیک

درصد همزیستی

نتایج جدول مقایسه میانگین داده در جدول ۱ نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در بستر کشت، درصد همزیستی *سرندیپیتیا ایندیکا* کاهش یافت و بیشترین (۸۹/۷۵ درصد) همزیستی در تیمار بدون تنش کادمیوم در شرایط محلول‌پاشی سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار، همچنین تلقیح با قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* بدست آمد. در غلظت ۳۰ میکرومولار تنش کادمیوم نیز بیشترین (۷۷/۵۰ درصد) همزیستی در شرایط تلقیح با

قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و بدون محلول‌پاشی سلنیوم به دست آمد. در شرایط تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار نیز درصد همزیستی در غلظت‌های متفاوت سلنیوم و نیز کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا*، تفاوت چندانی از نظر آماری با یکدیگر نداشتند.

وزن‌تر برگ

مطابق با نتایج مقایسه میانگین بدست آمده جدول ۱ چنین نتیجه‌گیری شد که افزایش تنش کادمیوم سبب کاهش وزن‌تر گیاه کاهو گردید اما زمانی که این تنش با محلول‌پاشی سلنیوم و کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* بصورت تلقیحی ترکیب شد موجب افزایش وزن‌تر تا یک حد مشخصی گردید. در شرایط بدون تنش، بکار بردن سلنیوم و قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* به‌صورت ترکیب با یکدیگر موجب افزایش وزن‌تر برگ گردید. طبق نتایج اثرات متقابل الیسیتورهای زیستی و شیمیایی بیشترین (۹۵/۹۰ گرم) وزن‌تر در کاربرد تلقیح قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* با غلظت ۱۵۰ میکرو مولار سلنیوم در شرایط بدون تنش کادمیوم بدست آمد. کمترین میزان (۷۴/۴۳ گرم) وزن‌تر در شرایط تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرو مولار و بدون تیمار ترکیبی مشاهده گردید که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها حاصل نگردید.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کادمیوم، الیسیتورهای قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم بر شاخص‌های مورفولوژیک و درصد همزیستی گیاه کاهو

Table 1- Comparison of the average mutual effects of cadmium stress and elicitors of *Serendipitia indica* and selenium foliar application on the morphological indicators and fungus *Piriformospora indica* of lettuce plants

تیمار Treatment	ترکیب تیماری Treatment combination	درصد همزیستی Coexistence percentage	وزن خشک ریشه root dry weight (g)	وزن‌تر ریشه root fresh weight (g)	وزن‌تر برگ leaf fresh weight (g)
بدون کادمیوم No cadmium	0	0.00 f	1.69 def	25.14 defg	86.98 ef
	سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	0.00 f	1.74 bcde	27.39 cde	88.98 e
	سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار (Se 150 µM)	0.00 f	1.76 bcde	29.59 c	91.75 cd
	S.indica	86.00 a	1.81 abc	31.96 c	92.75 c
	Se 75 µM+*S.indica*	88.50a	1.85 ab	33.18 ab	94.84 ab
	Se 150 µM+*S.indica*	89.75a	1.92 a	34.99 a	95.90 a
۳۰ میکرومولار 30 µM	0	0.00f	1.67 def	21.78 ih	80.00 i
	سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	0.00 f	1.69 def	33.74 fgh	81.40 ghi
	سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار (Se 150 µM)	0.00 f	1.71 cdef	25.13 efgd	82.68 ghih
	S.indica	77.50b	1.73 cde	24.80 efg	83.36 gh
	Se 75 µM+*S.indica*	74.25cb	1.76 bcde	26.14 Efd	85.04 fg
	Se 150 µM+*S.indica*	74.25cb	1.79 bcd	27.66 cd	87.09 ef
۶۰ میکرومولار 60 µM	0	0.00 f	1.60 f	20.59 i	74.43 m
	سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	0.00 f	1.66 ef	21.23 ih	76.89 mi
	سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار (Se 150 µM)	0.00f	1.68 def	22.81 igh	77.21 ikm
	S.indica	63.75ed	1.72 cde	22.95 igh	79.67 kji
	Se 75 µM+*S.indica*	65.50ed	1.77 bcde	23.72 fgh	80.67 hji
	Se 150 µM+*S.indica*	69.75cd	1.82 abc	24.65 fg	83.69 ghi

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Common letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level of the DUNKAN test

وزن خشک برگ

بر اساس نتایج حاصل مقایسه میانگین جدول ۲ کادمیوم باعث کاهش وزن خشک برگ شد و بیشترین مقدار وزن خشک برگ (۴/۱۰ گرم)، در تیمار بدون تنش کادمیوم بدست آمد. با افزایش غلظت کادمیوم (۳۰ و ۶۰ میکرومولار)، از وزن خشک برگ کاسته شد و کمترین مقدار (۳/۸۶ گرم) در کاربرد تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار بدست آمد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارها جدول ۳، تیمار سلنیوم موجب افزوده شدن وزن خشک برگ گردید. بیشترین میزان (۵/۶۵ گرم) وزن خشک برگ مربوط به تیمار سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار (محلول‌پاشی سلنیوم بصورت خالص) بدست آمد. در کاربرد ترکیبی قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم نیز بیشترین میزان (۴/۹۲ گرم) مربوط به سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار بود چنین نتیجه‌گیری شد که با افزایش غلظت الیسیتورهای زیستی و شیمیایی بر میزان وزن خشک نیز افزوده شد وزن بدست آمده در غلظت ۱۵۰ میکرومولار سلنیوم به همراه قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات تنش کادمیوم بر شاخص‌های مورفولوژیک گیاه کاهو

Table 2- Comparison of the average effects of cadmium stress on the morphological indices of lettuce plants

تنش کادمیوم Cadmium stress	تعداد برگ Number of leaf	وزن خشک اندام هوایی Dry weight of aerial parts (g)
0	20.08 [a]	4.10[a]
میکرومولار ۳۰ 30 µM	19.24[b]	4.02 [b]
میکرومولار ۶۰ 60 µM	17.75[c]	3.86[c]

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Common letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level of the DUNKAN test.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات الیسیتورهای قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم بر شاخص‌های مورفولوژیک گیاه کاهو

Table 3- Comparison of the average effects of *Serendipitia indica* mushroom elicitors and selenium foliar application on the morphological indicators of lettuce plants

تیمار Treatment	تعداد برگ Number of leaf	وزن خشک برگ (گرم) Leaf dry weight (g)
0	20.48 [e]	4.22 [e]
سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	22.08 [d]	4.72 [c]
سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار (Se 150 µM)	27.75 [a]	5.65[a]
S.indica	23.50 [c]	4.50 [d]
(Se 75 µM)+*S.indica*	25.00 [cb]	4.53 [cd]
Se 150 µM+*S.indica*	25.91[b]	4.92 [b]

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Common letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level of the DUNCAN test.

تعداد برگ

مطابق با نتایج مقایسه میانگین جدول ۲، با افزایش غلظت کادمیوم تعداد برگ در هر بوته کاهو کاسته شد. به‌طوری که بیشترین تعداد برگ (۲۰/۰۸) در غلظت صفر کادمیوم بدست آمد. در تیمار تنش کادمیوم در غلظت ۳۰ میکرومولار تعداد (۱۹/۲۴) برگ و در غلظت ۶۰ میکرومولار تعداد (۱۷/۷۵) برگ بدست آمد. مطابق با نتایج جدول ۳، افزایش در غلظت سلنیوم سبب افزوده شدن تعداد برگ‌ها گردید. بدین صورت که بیشترین (۲۷/۷۵) تعداد برگ در محلول‌پاشی سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار بصورت خالص بود. کاربرد قارچ به تنهایی سبب کاهش در تعداد برگ گردید اما در ترکیب قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم، با افزایش غلظت بر تعداد برگ نیز افزوده شد. کمترین تعداد (۲۰/۴۸) برگ در کاربرد بدون قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم بدست آمد.

وزن‌تر و خشک ریشه

طبق نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل الیسیتورهای زیستی و شیمیایی در شرایط تنش کادمیم بیشترین (۳۴/۹۹ گرم) وزن‌تر ریشه در کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار در شرایط بدون کادمیوم بدست آمد و کمترین میزان (۲۰/۵۹ گرم) وزن‌تر ریشه در تأثیر متقابل کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار و بدون محلول‌پاشی و تلقیح با قارچ بدست آمد (جدول ۱). در بررسی کاربرد اثرات متقابل الیستورهای زیستی و شیمیایی در شرایط تنش کادمیم بیشترین مقدار (۱/۹۲) وزن خشک ریشه در کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار در سطح صفر کادمیم بدست آمد. (جدول ۱).

نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که با افزایش میزان تنش فلز سنگین کادمیوم اکثر صفات رویشی روند کاهشی داشتند و سمّیت فلزات سنگین موجب تغیراتی در روند رشد و نمو گیاهان می‌شوند که این تأثیر می‌تواند بصورت اثر گذاری بر روند جوانه‌زنی، رشد ریشه و ساقه و برگ گیاهان باشد و در نهایت بر وزن کل خشک تأثیر بگذارد (Shanker *et al.*, 2021). سمیت کادمیوم موجب کاهش خصوصیات رشدی گیاه شده است (Zare *et al.*, 2016). نتایج مشابهی در پژوهش‌های دیگر نیز گزارش شده است افزایش تنش کادمیوم منجر به کاهش صفات رویشی مانند ارتفاع ساقه، وزن تر و خشک ریشه، وزن خشک گیاه و تعداد برگ و شاخه جانبی شد (Azizi *et al.*, 2020). نتایج این آزمایش با یافته‌های سایر محققین به شرح زیر سازگار می‌باشد. مطالعات انجام شده بر روی کلم بر و نخود، حاکی از تأثیرکادمیوم در تغییر میزان بیوماس است (Rainbow, 2022).

استفاده از قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* موجب افزایش در میزان وزن‌تر و خشک اندام‌های هوایی و نیز تعداد برگ در شرایط بدون تنش کادمیوم شد. این نتایج با مطالعات انجام شده زیر مطابقت دارد. مطالعه بر روی یونجه نشان داد با افزودن قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* سبب افزایش وزن‌تر و خشک اندام‌های هوایی شد (Karami & Zarea, 2019). کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* بر روی ذرت موجب افزوده شدن وزن‌تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه شد (Zhu *et al.*, 2021). محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان تیمار شده با قارچ کمتر از گیاهان بدون تیمار با قارچ بود که احتمال می‌رود که قارچ *S.indica* نقش تعدیل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را داشته و شرایط را برای گیاه بهبود می‌بخشد. همچنین در برگ‌های گیاه گندم تیمار شده با این قارچ اندوفیت، کاهش در میزان مالون‌دی‌آلدئید مشاهده گردید (Abadi *et al.*, 2021). در این مطالعه تأثیر متقابل کاربرد قارچ و محلول‌پاشی سلنیوم موجب افزایش وزن‌تر و خشک ریشه و برگ‌ها شد؛ و اثرات سمی فلز سنگین کادمیوم را تا حدی کاهش داد. در تحقیقی صورت گرفته بر روی گیاهک گندم رشد یافته در محیط کشت و تحت تیمارهای سلنات سدیم و کلریدکادمیوم، کاهش اثرات منفی کادمیوم بر رشد ریشه و اندام‌های هوایی و

همچنین ممانعت از کاهش بیوماس مشاهده شد که نمایانگر تأثیر سلنیوم بر کاهش اثرات منفی کادمیوم در این آزمایش بود (Wu *et al.*, 2020). نتایج مشابهی توسط Gorbani و همکاران در سال ۱۳۹۵ مبنی بر بهبود خصوصیات مورفولوژیکی گزارش شد که با یافته‌های ما مطابقت دارد. در پژوهشی دیگر محلول‌پاشی سلنیوم به‌طور معنی‌داری شاخص‌های رشدی گیاه را بهبود بخشید (Azizi *et al.*, 2020). دریکی دیگر از مطالعات صورت گرفته سمیت کادمیوم موجب کاهش صفات مورفولوژیک از جمله ارتفاع وزن‌تر و خشک اندام هوایی گردید و محلول‌پاشی سلنیوم موجب کاهش تأثیر سمیت کادمیوم در گیاه مذکور شد (Daryayi *et al.*, 1393).

صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

نتایج مقایسه میانگین جدول ۴ نشان داد که با افزایش تنش کادمیوم شاخص هدایت روزنه‌ای برگ کاهش پیدا کرد و بیشترین مقدار برای این صفت (۲۶/۷۲ میلی مول بر مترمربع در ثانیه) در شرایط بدون تنش کادمیوم حاصل شد و کم‌ترین مقدار برای این صفت (۲۳/۷۰ میلی‌مول بر متر مربع در ثانیه) در شرایط آلودگی کادمیوم با غلظت ۶۰ میکرومولار حاصل شد. استفاده از الیسیتورهای زیستی و شیمیایی باعث افزایش شاخص هدایت روزنه‌ای کاهو شد. به‌طوری‌که بیشترین میزان (۳۱/۹۷ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه) در شرایط کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* با سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار و کمترین (۲۴/۰۴) میزان هدایت روزنه‌ای در شاهد بدست آمد.

کلروفیل فلورسانس

با توجه به نتایج بدست آمده جدول ۶ با افزایش غلظت کادمیوم از میزان کلروفیل فلورسانس کاسته شد اما بکار بردن الیسیتورهای زیستی و شیمیایی موجب بهبود کلروفیل فلورسانس گردید. براساس جدول ۶ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کادمیوم و الیستورهای قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم بیشترین میزان (۰/۹۳۷ میلی‌ثانیه) فلورسانس کلروفیل مربوط به شرایط بدون تنش کادمیوم و کاربرد محلول‌پاشی سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار و اثر قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* بود که تفاوت محسوسی با کاربرد قارچ و سلنیوم در غلظت ۷۵ میکرومولار نداشت. در شرایط تنش کادمیوم در غلظت ۳۰ میکرومولار، کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم سبب افزایش میزان فلورسانس شده کمترین مقدار (۰/۷۰۵ میلی‌ثانیه) در شاهد و بیشترین (۰/۸۹۷ میلی‌ثانیه) کلروفیل فلورسانس در سلنیوم با غلظت ۷۵ میکرومولار و قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا مشاهده شد.

نشت الکترولیت

نتایج مقایسه میانگین جدول ۴ اثر تنش کادمیم نشان داد که بکارگیری کادمیم باعث تشدید نشت الکترولیت برگ می‌شود که کمترین مقدار (۴۳/۲۲ درصد) در سطح صفر (شاهد) کادمیوم و بیشترین مقدار (۴۵/۷۶ درصد) در سطح ۶۰ میکرومولار کادمیم مشاهده شد. در بررسی اثر کاربرد الیسیتورها بیشترین مقدار (۳۸/۸۸ درصد) این شاخص در شرایط بدون محلول‌پاشی سلنیوم و تلقیح با قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا*، کمترین مقدار (۲۹/۸۹ درصد) نشت الکترولیت در شرایط ترکیبی قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و غلظت ۱۵۰ میکرومولار سلنیوم بدست آمد (جدول ۵).

محتوای نسبی آب

با توجه به نتایج بدست آمده جدول ۶، افزایش میزان کادمیوم باعث کاهش میزان محتوای نسبی آب گردید بطوریکه به کاربردن الیسیتورهای زیستی و شیمیایی موجب بهبود محتوای نسبی‌آب شد. براساس مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کادمیوم و الیستورهای قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم بیشترین میزان (۶۹/۲۷ درصد) محتوای نسبی آب مربوط به شرایط بدون تنش کادمیوم و محلول‌پاشی سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار با اثر قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* بود بطوریکه کمترین میزان (۴۰/۰۷ درصد) در تیمار تنش کادمیم ۶۰ میکرومولار بدون کاربرد الیسیتورها مشاهده گردید که از لحاظ آماری با تیمار تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار با محلول‌پاشی غلظت ۷۵ میکرومولار سلنیوم نداشت (جدول ۶).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات تنش کادمیوم بر شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه کاهو

Table 4- Comparison of the average effects of cadmium stress on the physiological indices of lettuce plants

تنش کادمیوم	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg gFW-1)	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance(mmol m^{-2} s^{-1})
0	43.22^{c}	0.221^{a}	26.72^{a}
۳۰ میکرومولار 30 µM	44.55^{b}	0.198^{b}	24.04^{b}
۶۰ میکرومولار 60 µM	45.76^{a}	0.177^{c}	23.70^{c}

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Common letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level of the DUNCAN test

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات الیسیتورهای قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم بر شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه کاهو

Table 5- Comparison of the average effects of *Serendipitia indica* mushroom elicitors and selenium foliar spraying on the physiological indices of lettuce plants

تیمار Treatment	هدایت روزنه Stomatal conductance(mmol m^{-2} s^{-1})	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg gFW-1)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)
0	24. 04^{e}	0.201^{f}	38. 83^{a}
سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	28. 85^{d}	0.341^{d}	37. 29^{b}
سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار (Se 150 µM)	28. 94^{d}	0.584^{b}	34. 57^{c}
S.indica	30. 00^{c}	0.300^{e}	34. 82^{c}
Se 75)+*S.indica* (µM	30. 39^{ab}	0. 352^{c}	32. 69 ^{d}
Se 150 +*S.indica* µM	31. 97^{a}	0.626^{a}	29. 89 ^{e}

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Common letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level of the DUNCAN test.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کادمیوم، الیسیتورهای قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم بر شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه کاهو

Table 6- Comparison of the average mutual effects of cadmium stress and elicitors of *Serendipitia indica* and selenium foliar application on the physiological indices of lettuce plants

تیمار Treatment	ترکیب تیماری Treatment combination	کاروتنویید Carotenoid (mg g-1 FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg g-1 FW)	کلروفیل a Chlorophylla (mg g-1 FW)	محتوای نسبی آب Relative water content (%)	کلروفیل فلورسانس Chlorophyll fluorescence
بدون کادمیوم No cadmium	0	0.44 f	0.050 g	0.14 g	60.02 d	0.807 de
	سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	0.46 e	0.055 f	0.16 c	60.37 e	0.887 abc
	سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار(Se 150 µM)	0.53 cb	0.065 c	0.18 b	60.45 e	0.897 ab
	S.indica	0.57 b	0.070 bc	0.16 d	65.95 c	0.870 abcd
	Se 75 µM+*S.indica*	0.58 b	0.074 b	0.18 b	67.82 b	0.917 a
	Se 150 +*S.indica* µM	0.71 a	0.078 a	0.19 a	69.27 a	0.937 a
۳۰ میکرومولار 30 µM	0	0.39 i	0.051 fg	0.12 J	49.10 j	0.705 i
	سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	0.52 cb	0.066 bc	0.14 e	50.23 i	0.727 ghi
	سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار (Se 150 µM)	0.41 h	0.044 i	0.15 e	53.45 h	0.870 abcd
	S.indica	0.48 d	0.054 dfg	0.13 h	57.70 g	0.887 abc
	Se 75 µM+*S.indica*	0.63 b	0.073 b	0.15 e	59.00 f	0.897 ab
	Se 150 +*S.indica* µM	0.51 c	0.070 bc	0.16 c	60.25 e	0.807 de
۶۰ میکرومولار 60 µM	0	0.33 ij	0.40 ij	0.11 i	40.7 n	0.710 hi
	سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	0.43 g	0.065 c	0.12 jk	40.8 n	0.782 efg
	سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار (Se 150 µM)	0.44 f	0.043 i	0.14 g	60.02 d	0.795 efg
	S.indica	0.58 b	0.047 h	0.16 c	60.37 e	0.797 efg
	Se 75 µM+*S.indica*	0.46 h	0.058 d	0.18 b	60.45 e	0.802 def
	Se 150 +*S.indica* µM	0.53 d	0.061 c	0.16 d	65.95 c	0.827 f

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Common letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level of the DUNCAN test.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کادمیم و الیسیتورهای زیستی و شیمیایی نشان داد که با افزایش تنش کادمیوم از کلروفیل برگ کاهو کاسته شد و بکاربردن ترکیبی قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول پاشی سلنیوم باعث افزایش و بهبود کلروفیل a گردید. بیشترین میزان (۰/۱۹ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر) کلروفیل a درتیمار بدون تنش کادمیوم وکاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار حاصل شد که از لحاظ آماری با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت.

کمترین میزان (۰/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) کلروفیل a درتیمار تنش کادمیوم ۶۰ میکرومولار شاهد بدون بکارگیری ترکیب قارچ و محلول‌پاشی سلنیوم حاصل شد که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۶). بر اساس نتایج مقایسه میانگین جدول ۷، شاخص کلروفیل b بالاترین مقدار (۰/۰۷۸ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر) برای کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار بود که نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار بود. کمترین مقدار (۰/۰۴ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر) این شاخص در کاربرد تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار بدون کاربرد الیسیتورهای زیستی و شیمیایی حاصل شد که از لحاظ آماری تفاوتی با کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار در سطح تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار و ۳۰ میکرومولار شاهد نداشت. مقایسه میانگین اثرات متقابل کادمیم و الیسیتورها نشان داد که بیشترین میزان کارتنوئید (۰/۷۱ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر) در تیمار ترکیبی قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار در شرایط بدون تنش کادمیوم بدست آمد که از لحاظ آماری با سایر داده‌ها تفاوت داشت. کمترین میزان کارتنوئید (۰/۳۳ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر) در تیمار تنش کادمیوم با غلظت ۶۰ میکرومولار بدون ترکیب الیستورها مشاهده شد به‌طوری‌که با تیمار بدون ترکیبی الیسیتورها در شرایط تنش کادمیوم ۳۰ میکرومولار تفاوتی دیده نشد (جدول ۶). مقایسه میانگین جدول ۵ اثر تنش کادمیوم نشان داد که کمترین (۰/۱۷۷ میلی-گرم برگرم وزن‌تر) و بیشترین (۰/۲۲۱ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر) میزان کلروفیل کل به ترتیب در تیمار تنش کادمیوم با غلظت ۶۰ میکرومولارو شاهد بدست آمد. همپنین اثرات متقابل قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول پاشی سلنیوم بیشترین (۰/۶۲۶ میلی‌گرم برگرم وزن‌تر) میزان کلروفیل کل در تیمار ترکیبی قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و غلظت ۱۵۰ میکرومولار سلنیوم نشان داد. مشابه با نتایج این تحقیق محلول پاشی با سلنیوم میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی را در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) در شرایط تنش آرسنیک افزایش داد (Abdollahi et al., 2023).

در این مطالعه کاربرد کادمیوم موجب افزایش نشت الکترولیت گردید و از میزان هدایت روزنه‌ای کاسته شد. تنش‌های محیطی از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن در داخل سلول، سبب کاهش پایداری غشا می‌شوند و در نتیجه کاهش پایداری، نشت مواد سیتوپلاسمی از گیاه بیشتر شده و در پی آن نشت الکترولیت بیشتر می‌شود (Azari *et al.*, 2012). افزوده شدن نشت الکترولیتی مواد از غشا نشانه‌ای از آسیب به غشاها و همچنین کاهش پایداری غشاها است که می‌تواند از نتایج تنش اکسیداتیو باشد (Oraei *et al.*, 2010). در مطالعه حاضر، محلول پاشی سلنیوم باعث بهبود در میزان کلروفیل a، b کلروفیل کل و کاروتنویید در گیاه کاهو گردید که در یافته‌ای مشابه دیگر نیز محلول‌پاشی سلنیوم موجب افزایش کلروفیل a، b و همچنین کاروتنویید در برگ گیاه کاهو گردیده بود (Azizi *et al.*, 2020).

Pirdashti و همکاران (۱۳۹۶) با مطالعه بر روی نعناع فلفلی نشان دادند که کاربرد قارچ و همزیستی آن با گیاه سبب پایداری غشا گردید. نشت یونی در گیاهانی که در معرض تنش هستند و همراه با قارچ‌های همزیست می‌باشند در مقایسه با گیاهانی که فاقد قارچ های همزیست هستند از میزان نشت یونی در آن‌ها کاسته می‌شود (Valentovic *et al.*, 2016). بر اساس مطالعات انجام شده در گیاهانی از جمله شاهی (Gill *et al.*, 2012)، گوجه فرنگی (Khan *et al.*, 2019)، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در زمان تیمار با کادمیوم کاهش یافت. که با یافته‌های ما نیز با این گزارش تطابق دارد. کبریال و همکاران گزارش کردند که تنش کادمیوم موجب کاهش تکثیر کلروپلاست و نیز تعداد روزنه در سطح برگ شد (Baryla *et al.*, 2021). در مطالعات زیادی نشان دادند که غلظت بالای کادمیوم بر روی فعالیت رنگیزه‌های فتوسنتزی به‌ویژه ساخت کلروفیل و کاروتنوئید شده و به غشا آسیب وارد می‌کند

(Ekmekci *et al.*, 2021). که با یافته‌های ما در تطابق است. Seraj و همکاران (۲۰۱۸) با انجام آزمایشی بر روی گیاه گندم مشخص کردند که قارچ‌های *پیریفورموسپورا ایندیکا* و تریکودرما سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ می‌شوند. چنین به نظر می‌رسد که گیاهان تلقیح شده با قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* با تغییر در مورفولوژی ریشه و همچنین طویل کردن سیستم ریشه گیاه میزبان و نیز افزایش سطح جذب به‌وسیله ریسه‌های قارچ، جذب آب را افزایش داده و روابط آبی گیاه را بهبود می‌بخشد (Auge, 2021). وجود کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و اسیدآسکوربیک با جاروی کردن رادیکال‌های آزاد سبب حفاظت گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شود (Chaudhury & Panda, 2014). تلقیح با قارچ اندوفیت فعالیت‌های فتوسنتزی و نیز تنظیم میزان فیتوهورمون‌ها شد و به عنوان روشی موثر جهت کاهش تنش کادمیوم در گیاهان پیشنهاد گردید (He *et al.*, 2017). قارچ سرندیپیتیا و تریکودرما با ماش سبز تلقیح داده شد و موجب افزایش کلروفیل a،b و کل نسبت به گیاهان تلقیح نشده گردید (Salimi Tamalla *et al.*, 2014). طبق نتایج ما نیز قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* موجب افزایش بیوماس گیاه کاهو گردید همچنین میزان کلروفیل a، b و کاروتنویید به نسبت گیاهان تلقیح نشده افزایش قابل توجهی را نشان دادند. طبق نتایج بدست آمده میزان هدایت روزنه‌ای کاهش یافت. این کاهش باعث تنظیم کارایی مصرف آب شد و اثرات تنش کادمیوم را تعدیل نمود. با کاهش هدایت روزنه‌ای، میزان دسترسی سلول‌های فتوسنتز کننده را به CO_2 به‌عنوان فاکتورهای اصلی فتوسنتز کاهش می‌دهد و نتیجه این کاهش، عدم تأمین متابولیت‌های مورد نیاز جهت رشد و نمو سلول‌های گیاهی است (Saremi Rad *et al.*, 2021).

صفات بیوشیمیایی

مالون‌دی‌آلدئید

با توجه به جدول مقایسه میانگین جدول ۷، تشدید تنش کادمیوم باعث افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید شد. به‌طوری‌که بیشترین میزان (۰/۰۷۲) مالون دی آلدئید در تیمار تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار بدست آمد و کمترین میزان (۰/۰۵۴) این شاخص در تیمار بدون تنش کادمیوم مشاهده شد. همچنین کاربرد الیسیتورهای زیستی و شیمیایی باعث کاهش مقدار مالون‌دی‌آلدئید گردید. بیشترین میزان (۰/۰۶۷) مالون‌دی‌آلدئید در تیمار بدون کابرد ترکیبی قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول پاشی سلنیوم دیده شد که از لحاظ آماری با سایر تیمارها متفاوت بود و کمترین میزان (۰/۰۵۷) مالون دی آلدئید در تیمار ترکیبی قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار بدست آمد (جدول ۸).

قند محلول

مطابق با نتایج مقایسه میانگین جدول ۷ با افزایش تنش کادمیوم مقدار قند محلول افزایش داشت. بیشترین مقدار (۰/۸۳ میلی‌گرم بر وزن تازه) قند محلول در تیمار تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار مشاهده شد. کمترین میزان (۰/۶۵ میلی‌گرم بر وزن تازه) در سطح صفر تنش کادمیوم حاصل شد که تأثیر تنش کادمیوم بر این شاخص معنی‌دار نشان داد. براساس مقایسه میانگین الیسیتورها بیشترین میزان (۰/۸۲۹ میلی‌گرم بروزن تازه) قند محلول در تیمار محلول پاشی سلنیوم (بصورت خالص) در غلظت ۱۵۰ میکرومولار مشاهده گشت و کمترین میزان (۰/۶۸۰ میلی گرم بر وزن تازه) قند محلول در تیمار بدون بکارگیری ترکیب قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* در شرایط بدون محلول پاشی سلنیوم بدست آمد که از لحاظ آماری با غلظت ۷۵ میکرومولار سلنیوم و کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* بصورت خالص دیده نشد جدول (۸). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، تنش کادمیوم موجب افزایش تجمع قندهای محلول در برگ‌های اسفناج شد (Maghsoudi *et al.*, 2021).

پراکسید هیدروژن

مطابق با مقایسه میانگین جدول ۷ تأثیر تنش کادمیوم بر رشد کاهو، تشدید غلظت تنش کادمیوم باعث افزایش پراکسید هیدروژن گردید. بالاترین میزان (۰/۰۹۵) در

تیمار تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار دیده شد و کمترین میزان (۰/۰۷۲) در سطح صفر (شاهد) مشاهده گردید. مقایسه میانگین تأثیر الیسیتورهای قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم بالاترین مقدار (۰/۰۹۰) در کاربرد تیمار محلول‌پاشی سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار بصورت خالص نشان داد که تفاوت معنی‌داری با تیمار سلنیوم در غلظت ۷۵ میکرومولار بصورت خالص نداشت. کم‌ترین میزان (۰/۰۷۹) در کاربرد بدون قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم دیده شد که تفاوت معنی‌داری با سایر داده‌ها داشت جدول (۸).

پرولین

براساس مقایسه میانگین جدول ۹ تأثیر متقابل تنش کادمیوم و الیسیتورهای قارچ سرندیپیتیا *ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم نشان داد که کاربرد الیسیتورها باعث افزایش میزان پرولین گردید و با تشدید میزان تنش کادمیم به میزان شاخص پرولین افزوده گشت. بیشترین میزان (۰/۶۶۴ میکروگرم بر وزن تازه) پرولین در تیمار تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار و کاربرد ترکیبی قارچ سرندیپیتیا *ایندیکا* و سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار نشان داد که تفاوت معنی‌داری بدست آمد. کمترین میزان (۰/۲۵۲ میکروگرم بر وزن تر) درتیمار بدون ترکیبی قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم در شرایط بدون تنش کادمیوم بدست آمد.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرات تنش کادمیوم بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه کاهو

Table 7- Comparison of the average effects of cadmium stress on the biochemical indicators of lettuce plants

تنش کادمیوم Cadmium stress	پراکسید هیدروژن Hydrogen peroxide(µm)	قند محلول Sugar(mg g-1 fw)	مالون دی آلدهید M.D.A(nmol g-1 fw)
0	0.072^{c}	0.65^{c}	0.054^{c}
۳۰ میکرومولار 30 µM	0.085^{b}	0.74^{b}	0.062^{b}
۶۰ میکرومولار 60 µM	0.095^{a}	0.83^{a}	0.072^{a}

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Common letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level of the DUNCAN test.

۸- مقایسه میانگین اثرات الیسیتورهای قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول پاشی سلنیوم بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه کاهو

Table 8- Comparison of the average effects of *Serendipitia indica* mushroom elicitors and selenium foliar spraying on the biochemical indicators of lettuce plants

تیمار Treatment	پراکسید هیدروژن Hydrogen peroxide (µm)	قند محلول sugar(mg g-1 fw)	مالون دی آلدئید M.D.A(nmol g-1 fw)
0	0.079^{d}	0. 680^{d}	0.067^{a}
سلنیووم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	0.088^{a}	0. 788^{b}	0.064^{b}
سلنیووم ۱۵۰ میکرومولار (Se 150 µM)	0.09^{a}	0. 829^{a}	0.064^{b}
S.indica	0.083^{c}	0.701^{cd}	0.062^{c}
Se 75 µM + *S.indica*	0.085^{b}	0.72^{cd}	0.061^{c}
Se 150 µM + *S.indica*	0.085^{b}	0.736^{c}	0.057^{d}

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Common letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level of the DUNCAN test.

جدول ۹- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کادمیوم، الیسیتورهای قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم بر شاخص‌های بیوشیمیایی و غلظت کادمیوم گیاه کاهو

Table 9- Comparison of the average mutual effects of cadmium stress and *Serendipitia indica* mushroom elicitors and selenium foliar application on the biochemical indices and cadmium concentration of lettuce plants

تیمار Treatment	ترکیب تیماری Treatment combination	پرولین Proline (µmol g-1 fw)	کاتالاز Catalase (U g-1 fw)	آسکوربات Ascorbate (U g-1 fw)	غلظت کادمیوم در بخش هوایی Cadmium in the aerial parts(mg/L)
بدون کادمیوم No cadmium	0	0.259^{h}	0.0470^{e}	0.016^{h}	0.00^{f}
	سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	0.365^{fg}	0.0491de	0.0117^{i}	0.00^{f}
	سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار(Se 150 µM)	0.366 ^{fg}	0.0520d^{e}	0.0201 ^{g}	0.00^{f}
	S.indica	0.292^{gh}	0.0472^{e}	0.0153^{h}	0.00^{f}
	Se 75 µM+*S.indica*	0.315^{gh}	0.0506^{cde}	0.0182^{g}	0.00^{f}
	Se 150 µM+*S.indica*	0.342 ^{fg}	0.0531^{d}	0.0217^{g}	0.00^{f}
۳۰ میکرومولار 30 µM	0	0.368^{gf}	0.0631^{cbd}	0.0208^{f}	0.193^{b}
	سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	0.414^{ef}	0.0646^{cb}	0.0251^{f}	0.161^{bc}
	سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار(Se 150 µM)	0.423^{ef}	0.0678^{b}	0.0258^{g}	0.143^{c}
	S.indica	0.421^{ef}	0.0643^{cb}	0.0266^{ef}	0.123^{cd}
	Se 75 µM+*S.indica*	0.421^{ef}	0.0653^{cb}	0.0275^{ef}	0.090^{ed}
	Se 150 µM+*S.indica*	0.489^{ed}	0.0686^{b}	0.0292^{e}	0.020^{f}
۶۰ میکرومولار 60 µM	0	0.523^{cd}	0.0706^{b}	0.0326^{e}	0.283^{a}
	سلنیوم ۷۵ میکرومولار (Se 75 µM)	0.568^{cb}	0.0731^{b}	0.0352^{cb}	0.187^{b}
	سلنیوم ۱۵۰ میکرومولار(Se 150 µM)	0.588^{cab}	0.0754^{b}	0.0361^{c}	0.188^{b}
	S.indica	0.602^{cab}	0.0716^{b}	0.0350^{bc}	0.135^{c}
	Se 75 µM+*S.indica*	0.629^{ab}	0.0748^{b}	0.0387^{b}	0.079^{e}
	Se 150 µM+*S.indica*	0.664^{a}	0.0769^{a}	0.0425^{a}	0.090^{ed}

حروف مشابه در هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Common letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level of the DUNCAN test.

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز

بر اساس نتایج مقایسه میانگین جدول ۹ اثرات تنش کادمیوم و الیسیتورها با افزایش میزان تنش کادمیوم بر غلظت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز افزوده گشت. به‌طوری‌که بیشترین میزان (۰/۰۴۲) درتیمار تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار مربوط به کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و غلظت ۱۵۰ میکرومولار سلنیوم در این شاخص می‌باشد. کمترین (۰/۰۱۶) آن در شرایط بدون تنش کادمیوم و الیسیتورها حاصل شدکه تفاوت معنی‌داری با تیمار قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* بصورت خالص در سطح صفر کادمیوم دیده نشد. همچنین براساس مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کادمیوم و الیسیتورهای قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم بالاترین میزان (۰/۰۷۶) آنزیم‌کاتالاز در تیمار تنش کادمیوم ۶۰ میکرومولار و کاربرد قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری حاصل شد (جدول ۹).

در یک یافته دیگر مشخص شد که با افزایش غلظت کادمیوم علاوه بر افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسید هیدروژن به‌طور کلی افزایش یافت هم‌چنین در یافته‌ای دیگر کاربرد سلنیوم به‌صورت محلول‌پاشی موجب کاهش جذب کادمیوم و همچنین کاهش میزان مالون دی‌آلدئید شد (Wu *et al.*, 2020). محلول‌پاشی سلنیوم همچنین تأثیر افزاینده‌ای در غلظت آنزیم‌های بیوشیمیایی داشت و میزان کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را در گیاه کاهو افزایش داد که نتایج مشابهی توسط Hawrylak-Nowak و همکاران (۲۰۱۸) مبنی بر افزایش غلظت در کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز گزارش شد. نتایج ما نشان داد که سمیت کادمیوم تأثیر افزاینده‌ای در غلظت پراکسید هیدروژن دارد که نشان می‌دهد سمیت کادمیوم موجب افزایش غلظت پراکسید هیدروژن در گیاه شده است (Zhang *et al.*, 2019)، همچنین Spanany و Fallah (۲۰۱۶) نیز همین نتایج را با اعمال تنش کادمیوم بر روی گیاه شنبلیله به‌دست آوردند که این آنزیم در محلول‌پاشی با سلنیوم افزایش داشته است و این نتایج با یافته‌های ما در یک راستاست. بر اساس تحقیقات انجام شده در مورد چگونگی اثر قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* در انواع گیاهان مشخص گردیده است که این قارچ در شرایط مختلف با استفاده از مکانیسم‌های مختلف می‌توانند بر آنتی اکسیدان‌های آزاد تأثیر بگذارند؛ مثلاً تحت شرایط تنش خشکی در برگ گیاه کلم چینی، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز برای افزایش گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد کنند (Sun *et al.*, 2015).

نتایج این تحقیق با مطالعات برخی از محققین مطابقت دارد. Malar و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات، پراکسیداز دربافت برگ و ریشه گیاه *Eichhornia crassipes* تحت تنش سرب افزایش پیدا کرد؛ که نتایج مشابهی از پژوهش ما نیز گزارش شد و با افزایش سمیت کادمیوم غلظت این عناصر در گیاه کاهو افزایش پیدا کرد. تجمع برخی از متابولیت‌ها ازجمله پرولین و قندهای محلول در شرایط تنش باعث حفظ و نگهداری مولکول‌های زیستی و همچنین غشاها می‌شوند (Nanda & Agrawal, 2018). افزایش پرولین نوعی مکانیسم دفاعی گیاهان در برابر شرایط نامساعد می‌باشد که باعث سازش بیشتر سلول با شرایط تنش و حفاظت از آنزیم‌های سیتوزول و ساختارهای سلولی می‌شود (Wang *et al.*, 2018).Azizi و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که محلول‌پاشی با سلنیوم می‌تواند همانند تنش سمیت کادمیوم میزان پرولین برگ را در گیاه مرزه افزایش دهد. نتایج ما نشان می‌دهد که تلقیح با قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* می‌تواند میزان کربوهیدرات‌های محلول و پرولین را در برگ گیاه کاهو افزایش دهد، تلقیح با قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* میزان کربوهیدرات‌های محلول و پرولین را افزایش داد (Baltrashat *et al.*, 2018). این نتایج با نتایج بدست آمده از آزمایشات Gaboli و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. همچنین در پژوهشی مشابه میزان قند در محلول‌پاشی سلنیوم و هم در سمیت کادمیوم در گیاه افزایش پیدا کرد (Azizi *et al.*, 2020). در یکی دیگر از پژوهش‌ها میزان پرولین در اثر سمیت کادمیوم افزایش پیدا کرده است (Sharmila *et al.*, 2017). همچنین شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد محلول‌پاشی سلنیوم موجب افزایش پرولین در گیاه شده است که با یافته‌های ما مطابقت دارد (Khan *et al.*, 2015). به نظر می‌رسد پرولین با تنظیم غشا گیاه در ایجاد مقاومت در گیاه نسبت به حالت تنش نقش بسزایی دارد.

غلظت کادمیوم در بخش هوایی

مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین میزان تجمع کادمیوم در بخش هوایی (۰/۲۸۳ میلی‌گرم برکیلوگرم) در تیمار تنش کادمیوم در غلظت ۶۰ میکرومولار بدون کاربرد ترکیبی الیسیتورها و کمترین میزان تجمع (۰/۰۲) در بکاربرد ترکیبی قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و سلنیوم در غلظت ۱۵۰ میکرومولار

در شرایط غلظت ۳۰ میکرومولار تنش کادمیم بدست آمد (جدول ۹).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج بدست آمده از این آزمایش مشخص گردید که سمیت فلز سنگین کادمیوم موجب کاهش در صفات فیزیولوژیکی، افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن فعال (ROS)، کاهش در میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی (a،b ، کل و کاروتنوئید) گردید. مطابق با نتایج الیسیتورهای زیستی و شیمیایی (ترکیب قارچ *سرندیپیتیا ایندیکا* و محلول‌پاشی سلنیوم) نتایج مثبت و مفید در کاهو تحت شرایط تنش کادمیوم می‌باشد. الیسیتورهای زیستی و شیمیایی تحت تنش کادمیوم موجب افزایش در میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات، کاتالاز، پراکسید هیدروژن، پرولین و قند و کاهش نشت یونی گردید. کاربرد قارچ همزیست در گیاه کاهو سبب انتقال عناصر غذایی از ریشه به شاخه شده و باعث کاهش علائم مخرب تنش کادمیوم گردید. با وجود این نتایج می‌توان چنین بیان کرد که استفاده از الیسیتورهای زیستی و شیمیایی می‌تواند از راهکارهای اساسی جهت کاهش اثرات مخرب و منفی کادمیوم باشد.

References

Abadi, V. A., Sepehri, H. A. Rahmani, H. K., Dolatabad, M., Shamshiripour, M. & Khatabi, B. (2021). Diversity and abundance of culturable nitrogen-fixing bacteria in the phyllosphere of maize. *Journal of Applied Microbiology*, 131(2), 898-912. https://doi.org/10.1111/jam.14975

Abdollahi, A., Barin, M., Soltani, A. A., Torabi Giglou, M., Behrouz Ismailpour, B., & Tahami, S. K. (2023). Evaluation of Influence of Selenium Foliar Application on Growth and Physiological Characteristics of Basil (*Ocimum basilicum* L.) in Arsenic-Contaminated Soil. *Journal of Vegetables Sciences*, *7*(14), 59-76. https://doi.org/10.22034/iuvs.2019400.134

Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. *In Methods in Enzymology*. Academic Press. 105, 121-126. http://dx.doi.org/10.1016/S00766879(84)05016-3

Auge, R. M. (2021). Water relations, drought, and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11, 3–42. http://doi.org/10.ohld.ag.utk.edu/auge

Azari, A., Modares Sanavi, S. A. M. Askari, H. Ghanati, F. Naji, A. M., & Alizade, B. (2012). Effect of salinity stress on the morphological and physiological of canola and turnip (*Brassica napus* and *B. rapa*). *Iran. J. Crop Sci.*, 14: 2. 121-135. (in Persian).

Azizi, I., Esmaielpour, B. & Fatemi, H. (2020). Effect of foliar application of selenium on morphological and physiological indices of savory (Satureja hortensis) under cadmium stress. *Food Science & Nutrition*, 8(12), 6539-6549. http://doi.org/10.1002/fsn3.1943

Baltruschat, H., Fodor, J. B. D., Harrach, E., Niemczyk, B., Barna, G. & Skoczowski, A. (2019). Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica is* associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*, 180, 501-510. http://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02583.x

Baryla, A., Carrier, P., Franck, F., Coulomb, C., Sahut, C. & Havaux, M. (2021). Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta*, 212, 696–709. http://doi.org/10. 1007/s004250000439

Benavides, M. P., Gallego, S. M. & Tomaro, M. L. (2019). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian journal of plant physiology*, 17, 21-34. http://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100003

Chaudhury, S. & Panda, S. K. (2014). Toxic effects, oxidative stress, and ultrastructural changes in moss Taxithelium nepalense (Schwaegr.) broth. Under chromium and lead phytotoxicity. *Water Air Soil Pollut*, 167, 73-90. http://doi.org/10.1007/s11270-005-8682-9

Clemens, S., Palmgren, M. G. & Krämer, U. (2018). A long way ahead: understanding

and engineering plant metal accumulation. *Trends in plant science*, 7(7), 309-315. http://doi.org/10.2225/vol6-issue3-fulltext-6

Darqui, F.S., Radonic, L. M., Trotz, P. M., López, N., Rovere, C. V., Hopp, H. E. & Bilbao, M.L. (2018). Potato snakin-1 gene enhances tolerance to Rhizoctonia solani and Sclerotinia sclerotiorum in transgenic lettuce plants. *Journal of biotechnology*, 283, 62-69. http://doi.org/10.16/j.jbiotec.2018.07.017

Das, P., Samantaray, S. & Rout, G. R. (2020). Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental pollution*, 98(1), 29-36. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.773815

Daryaii, F., Karmat, B., & Arvin, M. (2013). The effect of selenium foliar application on some physiological and morphological traits of two wheat cultivars (Kavir-Roshan) under cadmium stress. *Journal of Plant Process and Function*, 3, 101-114. https://doi.org/10.22034/csrar.2021.257878.1069

Djanaguiraman, M., Shanker, A. K., Sheeba, J. A., Devi, D. D. & Bangarusamy, U. (2005). Selenium – an antioxidative protectant in soybean during senescence. *Plant and Soil*, 272, 77-86. https://doi.org/10.1007/s11104-004-4039-1

Ekmekçi, Y., Tanyolac, D. & Ayhan, B. (2008). Effects of cadmium on antioxidant enzymes and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. *J. Plant Physiol.,* 165(6): 600-611. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.01.017

Errsus, S., & Barrett, D. (2010). Determination of membrane integrity in onion tissues treated by pulsed electric fields: Use of microscopic images and ion leakage measurements. Innov. Food Sci. Emer. Technol. 11 (14), 598-603. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.08.001

Germ, M., Kreft, I., & Osvald, J. (2005). Influence of UV-B exclusion and selenium treatment on photochemical efficiency of photosystem II, yield, and respiratory potential in pumpkins (*Cucurbita pepo* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 43, 445-448. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2005.03.004

Gill, S. S., Khan, N. A., & Tuteja, N. (2012). Cadmium at high dose perturbs growth, photosynthesis, and nitrogen metabolism, while at low dose it upregulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium Sativum* L.). *Journal of Plant Sciences*, 182, 112-120. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.04.018

Ghabooli, M. (2014). Effect of *Piriformospora indica* inoculation on some physiological traits of barley(Hordeum vulgare) under salt stress. *Chemistry of Natural Compounds*, 50(6),1082-1087. http://dx.doi.org/10.1007/s10600-014-1164-9

Ghorbani, A., Razavi, S. M., Omran, V. O. G., & Pirdashti, H. (2018). *Piriformospora indica* alleviates salinity by boosting the redox poise and antioxidative potential of tomato. *Russian Journal of Plant Physiology*, 65(6), 898-907. https://doi.org/10.1134/S1021443718060079

Hawrylak-Nowak, B., Dresler, S., Rubinowska, K., Matraszek-Gawron, R., Woch, W. & Hasanuzzaman, M. (2018). Selenium biofortification enhances the growth and alters the physiological response of lamb's lettuce grown under high temperature stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127,446-456. http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.018

He, Y., Yang, Z., Li, M., Jiang, M., Zhan, F., Zu, Y., Li, T. & Zaho, Z. (2017). Effects of a dark septate endophyte (DSE) on growth, cadmium content, and physiology in maize under cadmium stress. *Environ Sci. Pollut. Res*., 24(2), 119-128. http://dx.doi.org/10.10.1016/j.plaphy.2018.04.018

Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Journal of Biochemistry and Biophysics*, 125, 180-198.

http://dx.doi.org/10.1016/00039861(68)90654-1

Irigoyen, J. J., Emerich, D.W., & Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84, 55-60. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x

Kabata-Pendias, A. (2021). Trace metals in soils: current issue in Poland. *Acta Universitatis Wratislaviensis. Prace Botaniczne*, 79,13-20. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-32714-1

Kafi, M., Kamili, A. N., Husaini, A. M., Ozturk, M., & Altay, V. (2018). An expensive spice saffron (*Crocus sativus* L.): a case study from Kashmir, Iran, and Turkey. In *Global perspectives on underutilized crops* (pp. 109-149). Springer, Cham. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-77776-4_4

Karami, A., & Zarea, M. J. (2019). Physiological and nutritional responses of inoculated Alfalfa (*Medicago sativa, cv hamedani*) with the fungus *Piriformospora indica and* bacterium *Azospirillum Spp* under salt stress. *Journal of Crop Production,* 7 (1), 109-129. (In Persian). http://dx.doi.org/10.1001.1.2008739.1393.7.1.7.0

Khan, M. I. R., Nazir, F., Asgher, M., Per, T. S. & Khan, N. A. (2015). Selenium and sulfur influence ethylene formation and alleviate cadmium-induced oxidative stress by improving proline and glutathione production in wheat. *Journal of plant physiology*, *173*, 9-18. http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2014.09.011. Epub 2014 Oct 7

Khan, M. Y., Prakash, V. Yadav, V. Chauhan, D. K., Prasad, S. M., Ramawat, N. & Sharma, S. (2019). Regulation of cadmium toxicity in roots of tomato by indole acetic acid with special emphasis on reactive oxygen species production and their scavenging. *Plant Physiology and Biochemistry*, 142, 193-201.http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.05.006.

Lyons, I. M., & Beilock, S. L. (2019). Numerical ordering ability mediates the relation between number-sense and arithmetic competence. *Cognition*, 121(2), 256-261. http://dx.doi.org/10.1016/j.cognition.2011.07.009

Malar, M., Schiavon, M. S., dall'Acqua, E., & Pilon-Smits, A. (2016). Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. *Frontiers in plant science*, 6, 280-291. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00280

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. http://dx.doi.org/10.22034/iuvs.2021.139084.1125

Nanda, R., & Agrawal, V. (2018). *Piriformospora indica*, an excellent system for heavy metal sequestration and amelioration of oxidative stress and DNA damage in Cassia angustifolia Vahl under copper stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 409-419. http://dx.doi.org/10.10.1016/j.ecoenv.2018.03.016

Mohebodini, M., Mokhtar, J. J., Mahboudi, F., & Alizadeh, H. (2011). Effects of genotype, explant age, and growth regulators on callus induction and direct shoot regeneration of Lettuce (Lactuca sativa L.). *Australian Journal of Crop Science*, *5*(1), 92-95.

Nowak, J., Kaklewski, K., & Ligocki, M. (2004). Influence of selenium on the oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 15531558. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.07.002

Oraei, M., Tabatabaei, S. J., Imani, A. & Fallahi, E. (2010). Interactive effect of boron toxicity and rootstock on the growth, photosynthetic rate, and nutrient concentrations of almond tree. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 20(2), 49-63.

http://dx.doi.org/10.1001.1.24764310.1389.20.2.5.8

Paquin, R., & Lechasseur, P. 1979. Observations sur une methode de dosage de la proline libre dans les extraits de plants. *Canadian Journal of Botany*, 57: 1851-1854. https:// dx.doi.org/10.1139/b79-233

Philips, J., & Hayman, D. (1999). Improved Procedures for Cleaning Roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55, 158-161. http://dx.doi.org/10.1016/S00071536(70)80110-3

Pirdashti, H., Yaghoubian, Y., Mohammadi Goltapeh, E., & Hosseini, S. J. (2012). Effect of mycorrhiza-like endophyte (*Sebacina vermifera*) on growth, yield, and nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. *Journal of Agricultural Technology*, 5, 1651-1661.

Prasad, R., Kamal, S., Sharma, P. K., Oelmüller, R., & Varma, A. (2013). Root endophyte Piriformospora indica DSM 11827 alters plant morphology, enhances biomass, and antioxidant activity of medicinal plant Bacopa monniera. *The Journal of Basic Microbiology*, 53, 1016–1024. http://dx.doi.org/10.1002/jobm.201200367

Rainbow, P. S. (2022). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what?. *Environmental pollution*, 120(3), 497-507. http://dx.doi.org/10.10.1016/S0269-7491(02)00238-5

Salimi Tamalla, N., Seraj, F., Pirdashti, H., & Yaghoubian, Y. (2014). The effect of seed biopriming by *Piriformospora indica and Trichoderma virens* on the growth, morphological, and physiological parameters of mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings. *Iran. J. Seed Sci. Res*., 1(2), 67-78. (In Persian). http://dx.doi.org/10.1001.1.24763780.1393.1.2.6.8

Saremi Rad, B., Esfandiari, E. A., Shokrpour, M., Sofalian, O., Avanes, A., & Mousavi, S. B. (2021). Cadmium effects on some morphological and physiological parameters in wheat at the seedling stage. *Journal of Plant Research*, 27(1), 1-11.

Sepehri, N., Saleh Rastin, N., Hossieni Salkedeh, G., & Khayam Nekouie, M. (2009). Effect of endophytic fungus, Piriformospora indica, on growth and resistance of Hordeum vulgare L. to salinity stress. *Rangeland*, 3 (3), 508-518. [In Persian with English Summary].

Seppanen, M., Turakainen, M., & Hartikainen, H. (2003). Selenium effects on oxidative stress in potato. *Plant Science,* 165, 311-319. http://dx.doi.org/10.1016/S01689452(03)00085-2

Seraj, F., Salimi Tamali, N., Pirdashti, H., & Yaghoubian, Y. (2018). The response of wheat (*Triticum aestivum* L.) vegetative and physiological attributes to salt stress and the effect of seed biopriming by *Piriformospora indica and Trichoderma virens* in improving salinity compatibility. *Iran. Seed* Science and *Technology,* 6(2), 77-90. (In Persian). https://doi.org/10.22034/ijsst.2018.116529

Sergiev, I., Alexieva, V., & Karanov, E. (1997). Effect of spermine, atrazine, and their combination between on some endogenous protective systems and stress markers in plants. Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences, 51, 121-12. https://doi.org/10.1046/j.13653040.2001.00778.x

Shanker, A. K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., & Avudainayagam, S. (2021). Chromium toxicity in plants. *Environment international*, 31(5), 739-753. https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.02.003

Spanany, A., & Fallah, S. (2016). The effect of cadmium stress on seeds germination characteristics of some medicinal plants under in vitro conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3,528-542. http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2016.106833

Soon, Y. K., & Abboud, S. (1993). Cadmium, chromium, lead, and nickel. *Soil sampling and methods of analysis*, 101-108.

Sharmila, P., Kumari, P. K., & Singh, K. (2017). Cadmium toxicity-induced proline accumulation is coupled to iron depletion. *Protoplasma* 254, 763–770. http://dx.doi.org/10.10.1007/s00709-016-0988-5

Sun, C., Johnson, J. M., Cai, D., Sherameti, I., Oelmüller, R., & Lou, B. (2015). *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes, and the plastid-localized CAS protein. *Journal* of *Plant Physiology,* 167, 1009-1017. http://dx.doi.org/10.10.1016/j.jplph.2010.02.013

Sudhakar, C., Lakshmi, A., & Giridarakumar, S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high-yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, 161(3), 613-619. http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00450-2

Tapiero, H., Townsend, D. M., & Tew, K. D. (2003). Dossier: Oxidative stress pathologies and antioxidants: The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 57, 134-144. http://dx.doi.org/10.1016/s0753-3322(03)00035-0

Turner, N. C. (1981). Techniques and experimental approaches for measurement of plant water status. *International Journal of Plant-Soil Relationships*, 58: 339-366. http://dx.doi.org/10.1007/BF02180062

Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L., & Gasparikova, O. (2016). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability, and water relations in two maize cultivars. *Plant Soil and Environment*, 52(1), 186-191. http://dx.doi.org/10. 17221/3364-PSE

Varma, A., Singh, A., Sahay, N.S., Sharma. J., Kumari, M., Rana. D., Takeran, S., Deka, D. & Baharti K. (2001). Piriformospora indica: An axenically cultivable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. Mycota IX. *Spiringer Series*, pp. 123-150.

Wang, L., Zhou, Q., Ding, L., & Sun, Y. (2018). Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolism in leaves of *Solanum nigrum* L. *Journal of Hazardous Materials*, 154(1-3): 818-825.http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.10.097

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. http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110091

Xue, T. L., Hartikainen, H., & Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effects of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*, 237, 55-61. http://dx.doi.org/10.1023/A:1013369804867

Zarea, M. J., Chordia, P., & Varma, A. (2013). Piriformospora indica Versus Salt Stress. *Soil Biology*, 33, 263-281.

Zarea, M. J., Hajinia, S., Karimi, N., Goltapeh, E. M., Rejali, F. & Varma, A. (2016). Effect of Piriformospora indica and Azospirillum strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biology and Biochemistry*, 45, 139-146. http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.11.006

Zhang, X. D., Meng, J. G., Zhao, K. X., Chen, X., & Yang, Z. M. (2018). Annotation and characterization of Cd-responsive metal transporter genes in rapeseed (*Brassica napus*). *Biometals*, 31,107-121.http://dx.doi.org/10.1007/s10534-017-0072-4

Zhu, X. C., Song, F. B., & Liu, S. Q. (2021). Arbuscular mycorrhiza impacts on drought stress of maize plants by lipid peroxidation, proline content, and activity of antioxidant system. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9, 583-587. http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.11.006