

The Effect of Foliar Application of Sodium Selenite and Calcium Nitrate on Nitrate Accumulation in Spinach (*Spinacia oleracea* L.) in Shahrekord Region

A. Farahmandi¹, B. Haghighati², B. Madani^{3*}

1- Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Bou Ali Sina, Hamedan, Iran

2- Soil and Water Research Department, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran

3- Horticulture Crops Research Department, Natural Resources Research and Education Center of Chaharmahal and Bakhtiari, AREEO, Shahrekord, Iran

(*- Corresponding author's Email: babakmadani2010@gmail.com)

Received: 02 December 2024

Revised: 12 April 2025

Accepted: 01 June 2025

Available Online: 01 June 2025

How to cite this article:

Farahmandi, A., Haghighati, B., & Madani, B. (2026). The effect of foliar application of sodium selenite and calcium nitrate on nitrate accumulation in spinach (*Spinacia oleracea* L.) in Shahrekord region. *Journal of Horticultural Science*, 39(3), 647-662. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jhs.2025.91050.1397>

Introduction

High nitrate concentration in vegetables is a major threat to human health. Selenium is an essential element for human health due to its effect on plant growth and development and its presence in antioxidant systems. The consumption of vegetables has been emphasized by nutritionists and is increasing due to their high nutritional value, as well as the provision of fiber and antioxidant compounds. For this reason, many vegetables, especially fresh vegetables, are considered to be essential as daily food for human. To solve the problem of nitrate accumulation in crops, it is recommended to provide solutions such as: selenium element feeding or using ammonia-based fertilizers. Selenium is essential as a cofactor for the formation of essential enzymes glutathione peroxidases, which are present in all living tissues. This enzyme reduces cellular peroxides and prevents harmful oxidation in the cell. Reactive oxygen species such as hydroperoxides and hydrogen peroxide are also deactivated by these enzymes. On the other hand, calcium nitrate is one of the important fertilizers in agriculture, which helps to improve the growth and quality of products, especially vegetables, due to its nitrogen and calcium content. The use of calcium nitrate can help reduce problems such as fruit rot and increase plant resistance to diseases and various types of stresses.

Materials and Methods

This research was conducted at the Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research Center, Shahrekord, in 2022–2023. The experiment was conducted in a completely randomized block design with 7 treatments in three replications. The treatments included sodium selenite at three levels (5.0, 1.0, and 1.5 mM) and calcium nitrate at three levels (5, 10, and 20 mM) and the control treatment. Each experimental unit contained 3 plants. After foliar spraying and applying treatments with sodium selenite and calcium nitrate, plant samples were collected and transferred to the laboratory. After two months of spinach growth (early July), various plant growth parameters were evaluated, including fresh and dry weight of roots and shoots, leaf area, plant height, and number of leaves. Several biochemical traits were also measured, such as chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, antioxidant capacity, total phenolic content, total flavonoid content, nitrate content, nitrate reductase activity, and selenium concentration in the leaves. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) in the Statistical Analysis System (SAS) version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Mean comparisons were performed using Duncan's multiple range test at a significance level of $p \leq 0.05$.



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.91050.1397>

Results and Discussion

Based on the results, foliar application of sodium selenite and calcium nitrate had a significant effect on the amount of chlorophylls a, b, total and carotenoids. The results showed an increase in the amount of chlorophyll a, b and total and total carotenoid with increasing the amount of calcium nitrate. Also, the highest levels of chlorophylls a, b and total and total carotenoids were obtained for the treatments of sodium selenium 1 and 1.5 mM. Moreover, the lowest amount of chlorophylls a, b and total and total carotenoids were obtained for the control and 0.5 mM. The highest amount of total phenols, antioxidant activities were observed in the treatment of 20 mM calcium nitrate and 1.5 mM sodium selenite. Also, the highest content of nitrate reductase enzyme activity was obtained in the treatment of 20 mM calcium nitrate and 1.5 mM sodium selenite. The highest amount of nitrate was obtained in the control treatment and the highest amount of selenium was obtained for the treatment of 1.5 mM sodium selenite.

Conclusion

In this study, the effect of foliar application of sodium selenium and calcium nitrate on nitrate accumulation in spinach was investigated. In general, the results of this research showed that although selenium is not an essential element for plants, it can be used in different concentrations, especially in a concentration of 1.5 mM with the concentration of calcium nitrate by 20 mM to increase chlorophyll pigments in leaves. According to the results, foliar application of sodium selenite had a reducing effect on nitrate accumulation and an increasing effect on nitrate reductase enzyme activity and selenium accumulation inside the spinach plant. Therefore, foliar application of 1.5 mM sodium selenite is recommended for the production of spinach with the maximum amount of antioxidant compounds, selenium and the minimum amount of nitrate accumulation which can be effective in increasing the growth of the plant, and as a result, increasing amount of photosynthesis and carbon fixation, which ultimately leads to increasing the growth rate of spinach.

Keywords: Antioxidant activity, Biochemical, Carotenoid, Nitrate reductase enzyme, Treatment

تأثیر محلول پاشی سدیم سلیت و کلسیم نیترات بر تجمع نیترات اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) در منطقه شهر کرد

افسانه فرحمندی^۱ - بیژن حقیقی^۲ - بابک مدنی^{۳*}

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۱

چکیده

غلظت زیاد نیترات در سبزیجات، تهدید بزرگی برای سلامت انسان می‌باشد. سلیتوم با تأثیر بر رشد و نمو گیاهان و به‌خاطر حضور در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، یک عنصر اساسی برای سلامتی انسان است. در این پژوهش تأثیر محلول پاشی سدیم سلیت و نیترات کلسیم روی برخی خصوصیات رشد و بیوشیمیایی، ذخیره نیترات و سلیتوم و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برگ گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها شامل محلول پاشی کلسیم نیترات در سه سطح (۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار)، محلول پاشی سدیم سلیت در سه سطح شامل (۱/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) و شاهد (آب مقطر) می‌باشد. پس از گذشت مرحله‌ی رشدی گیاه (مرحله‌ی ۸ تا ۱۰ برگی)، شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی، میزان نیترات و سلیتوم و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز اندازه‌گیری شد. براساس نتایج به‌دست آمده، محلول پاشی سدیم و کلسیم نیترات بر میزان کلروفیل‌های a، b، کل و کاروتنوئید معنی‌دار بود. بیشترین میزان فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در تیمار ۲۰ میلی‌مولار کلسیم نیترات و ۱/۵ میلی‌مولار سدیم سلیت مشاهده شد. بالاترین میزان نیترات در تیمار شاهد و بیشترین میزان سلیتوم نیز در تیمار ۱/۵ میلی‌مولار سدیم سلیت بود. براساس نتایج به دست آمده، کاربرد سلیت سدیم باعث کاهش تجمع نیترات و فعالیت بهتر آنزیم نیترات ردوکتاز و غلظت سلیتوم در گیاه اسفناج شد. بنابراین محلول پاشی ۱/۵ میلی‌مولار سدیم سلیت در اسفناج برای نیل به حداکثر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، سلیتوم و حداقل میزان انباشت نیترات توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم نیترات ردوکتاز، بیوشیمیایی، تیمار، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کاروتنوئید

مقدمه

سبزی‌ها مهم‌ترین محصولات کشاورزی هستند که از نظر تولید و مصرف در ایران از اهمیت بسیار بالایی برخوردار هستند. مصرف سبزی‌ها به دلیل ارزش غذایی بسیار بالای آن‌ها و همچنین تأمین مواد فیبری و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همواره توسط متخصصان امور تغذیه مورد تأکید بوده و رو به افزایش است. به همین دلیل، بسیاری از سبزی‌ها به‌ویژه سبزی‌های تازه، جزو غذاهای اصلی روزانه و

ضروری انسان به شمار می‌آیند (Song et al., 2024). سبزی‌ها دارای فیبر، مواد معدنی، رنگدانه‌های مهم نظیر آنتوسیانین و کاروتنوئید، ویتامین‌هایی نظیر A و C و همچنین مقادیر زیادی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. رنگیزه‌های موجود در سبزی‌ها سبب ایجاد تنوع رنگ و ظاهر جذاب می‌شود (Dinnella et al., 2016). سبزی‌ها به‌عنوان یک منبع خوب مواد معدنی و فیبر در رژیم غذایی انسان اهمیت دارند، مصرف سبزی‌ها باعث سلامتی می‌شود، و از طرفی دارای میزان چربی کمی هستند و همچنین دارای میزان آب زیاد می‌باشند که این ویژگی‌ها باعث شده سبزی‌ها دارای حجم زیاد و کالری کمی باشند. به‌علاوه سبزی‌ها دارای میزان فسفر، پتاسیم و منیزیم بالایی هستند و سدیم کم از دیگر ویژگی‌های خوب سبزیجات است (Bian et al., 2020). اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) که جزء سبزیجات برگ‌ی دسته‌بندی شده است به‌لحاظ تازه‌خوری و حتی فرآوری‌شده بسیار ارزشمند است و مصرف سالانه آن در دنیا

۱- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران
۲- بخش آب و خاک، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران
۳- بخش زراعی-باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران
(*) نویسنده مسئول: Email: babakmadani2010@gmail.com
<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.91050.1397>

روبه افزایش است. معرفی ارقام امیدبخش و با کیفیت باعث شده تا امروزه، این سبزی مفید، در سبد غذایی انسان‌ها جای خود را باز کند و علاقه زیادی را به خود جلب نماید. این سبزی از نظر سطح زیرکشت در بین سایر سبزی‌ها در رتبه بیستم قرار دارد. درحالی‌که از نظر مواد معدنی و ارزش غذایی پس از کلم بروکلی (*Brassica oleracea* var. *Italica*) در جایگاه دوم می‌باشد (Brkic et al., 2017). در برگ گیاه اسفناج نه تنها احتمال تجمع نیترات زیاد است، بلکه ممکن است حاوی اگزالات نیز باشد که میزان تجمع آن‌ها در اندام‌های هوایی از شاخص‌های تعیین‌کننده کیفیت اسفناج می‌باشد (Zhu et al., 2018). اسفناج نیز همچون سایر سبزیجات برگی، به مقادیر زیادی از نیتروژن برای رشد مطلوب نیازمند است. تغذیه نیتروژنی نه تنها عملکرد را تحت تأثیر قرار می‌دهد، بلکه ظاهر برگ، بزرگ شدن انبساط (بزرگ و پیر شدن) و در نتیجه کیفیت محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش کاربرد نیتروژن یا مصرف زیاد کودهای شیمیایی برای تولید اسفناج موجب افزایش تجمع نیترات در بخش‌های هوایی این گیاه می‌شود (Zhang et al., 2021). نیتروژن عنصر فراوان در گیاه است و نقش مهمی در ساختمان پروتئین، کلروفیل، اسید نوکلئیک و هورمون‌های رشد گیاه دارد. گیاهان نیتروژن مورد نیاز خود را به صورت NH_4 و NO_3 جذب می‌کنند، که این افزایش جذب باعث افزایش ترکیبات نیتروژنی در گیاه شده و به دنبال آن سلامتی انسان با مصرف این گیاهان به خطر می‌افتد (Uddin et al., 2021). موقعی که میزان جذب نیترات از میزان مصرف آن بالاتر رود، نیترات در گیاه به‌خصوص در مریستم رشد جمع می‌گردد، به‌طوری‌که تجمع بیش از حد نیترات به‌عنوان یک مشکل در اکثر محصولات زراعی به‌خصوص سبزیجات برگی شناخته شده است (Keller et al., 2020). برای حل مشکل تجمع نیترات در محصولات زراعی، ارائه راه‌حلی از جمله مصرف کودهای پتاسیمی به‌خصوص سولفات پتاسیم و کودهای ریزمغذی مانند سولفات روی و تغذیه عنصر سلنیوم یا استفاده از کودها با پایه آمونیاکی توصیه می‌شود. سازمان بهداشت جهانی نیاز روزانه یک فرد بالغ به مصرف سلنیوم را حدود ۵۰ میکروگرم اعلام کرده است. سلنیوم به‌عنوان کوفاکتوری برای ایجاد آنزیم‌های ضروری گلووتاتیون پراکسیدازها که در تمامی بافت‌ها زنده وجود دارد، ضروری می‌باشد. این آنزیم، پراکسیدهای سلولی را کاهش می‌دهد و از اکسایش زیان‌آور در سلول جلوگیری می‌کند. گونه‌های واکشگر اکسیژن مانند هیدرو پراکسیدها و پراکسید هیدروژن نیز توسط همین آنزیم‌ها غیرفعال می‌شوند. از طرفی، تیوردوکسین ردوکتاز، آنزیم دیگری است که نقش منحصربه‌فرد سلنیوم را در فیزیولوژی انسان مشخص می‌کند. این آنزیم باعث جلوگیری از سرطان‌های خاص، کاهش بیماری‌ها و

افزایش ایمنی بدن می‌شود (Bian et al., 2020). از طرفی، کلسیم نیترات یکی از کودهای مهم در کشاورزی است که به دلیل داشتن نیتروژن و کلسیم به بهبود رشد و کیفیت محصولات به‌ویژه سبزیجات کمک می‌کند. نیتروژن یک عنصر ضروری برای رشد گیاهان است و کلسیم نیز به تقویت دیواره سلولی گیاهان و بهبود ساختار خاک کمک می‌کند. استفاده از کلسیم نیترات می‌تواند به کاهش مشکلاتی مانند پوسیدگی میوه‌ها و افزایش مقاومت گیاهان در برابر بیماری‌ها و انواع تنش‌ها کمک نماید (Nasrollahzadeh et al., 2017). طبق گزارش‌های اخیر، مصرف سلنیوم نه تنها باعث افزایش ظرفیت فتوسنتز و وزن تر و خشک در گیاه می‌شود، بلکه روی کاهش انباشت نیترات و افزایش کیفیت و عملکرد گیاه مؤثر می‌باشد (Lei et al., 2018). افزایش سلنیوم روی کلم بروکلی باعث افزایش ارتفاع گیاه گردید (Takeda et al., 2016). تیمار کلسیم نیترات باعث کاهش تجمع نیترات در گیاه سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) شد (Ebrahimi et al., 2020). باتوجه به اهمیت تجمع نیترات در سبزیجات و به خطر افتادن جامع بشری، این پژوهش بر آن شد تا با محلول‌پاشی سدیم سلنیت و کلسیم نیترات، تأثیر این عناصر روی میزان انباشت نیترات و برخی ویژگی‌های غذایی در گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) را مورد مطالعه قرار دهد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش

این تحقیق در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری شهرستان شهرکرد در سال ۱۴۰۲-۱۴۰۱ انجام گرفت. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هفت تیمار در سه تکرار اجرا گردید. تیمارها بصورت سدیم سلنیت در سه سطح (۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار) و شاهد (آب مقطر) منظور گردید. کشت به‌صورت مستقیم (۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار) و شاهد (آب مقطر) منظور گردید. کشت به‌صورت مستقیم بذر در زمین اصلی در تاریخ ۱۵ اردیبهشت انجام شد. بذرهای اسفناج با تراکم کشت ۳۱ بوته (به‌خاطر تعادل بین رشد مطلوب برگ‌ها و جلوگیری از رقابت بیش از حد) در مترمربع و فاصله ردیف‌ها پنج تا هشت سانتی‌متر در نظر گرفته شد. خاک منطقه از نوع لومی رسی با pH ۴/۷ و EC ۳/۵ (dS.m^{-1}) بود. آبیاری به‌صورت نشتی با فواصل هر سه روز یک‌بار انجام گردید. زمان کاشت بذر در اواسط اردیبهشت (با توجه به کاهش خطر سرمازدگی بهاره و رسیدن به دمای بهینه جوانه‌زنی اسفناج (۱۰ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد) انجام شد. محلول‌پاشی گیاهان در سه مرحله اعمال شد: ۱- مرحله چهار تا شش برگی (۲۰ روز پس از کاشت) در تاریخ ۵ خرداد، ۲- مرحله رشد سریع

برگ، ارتفاع گیاه، تعداد برگ و برخی صفات بیوشیمیایی مانند میزان کلروفیل‌ها a، b و کل و کاروتنوئیدها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، میزان فنل کل، فلاونوئید کل، میزان نیترات، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و میزان عنصر سلنیوم در برگ بود.

برخی ویژگی‌های شیمیایی آب آبیاری و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه که طبق روش‌های مرسوم در مؤسسه تحقیقات آب و خاک اندازه‌گیری گردید در **جدول‌های ۱ و ۲** ارائه شده است.

رویشی (۳۵ روز پس از کاشت) در تاریخ ۲۰ خرداد و ۳- مرحله پیش از برداشت (۵۰ روز پس از کاشت) در تاریخ ۵ تیر. محلول پاشی در ساعات اولیه صبح جهت جذب بهینه انجام شد، بعد از محلول پاشی و اعمال تیمارها با سدیم سولنیت و کلسیم نیترات و پس از گذشت دوره رشد گیاهان، نمونه‌های گیاهی در مرحله بلوغ فیزیولوژیک (۸ تا ۱۰ برگی در تاریخ ۱۰ تیر) برداشت گردید و به آزمایشگاه انتقال داده شد (۵۵ تا ۶۰ روز پس از کاشت). شاخص‌های رشدی گیاه مورد ارزیابی قرار گرفتند که شامل وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی، سطح

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش

Table 1- Physical and chemical properties of the soil at the experimental site

عمق Depth (cm)	اسیدیته Acidity (soil reaction)	قابلیت هدایت الکتریکی Electrical conductivity (dS.m ⁻¹)	کل مواد خنثی شونده Total neutralizable (%substances)	کربن آلی Organic carbon (%)	فسفر P	پتاسیم K	کلسیم Ca	منیزیم Mg	نیترات Nitrate	سلنیوم Selenium	بافت Texture
(mg.kg ⁻¹ soil)											
0-30	7.7	1.71	47	0.40	14	322	553	239	30	0.5	رسی - لومی Clay-loam

جدول ۲- مشخصات فیزیکی و شیمیایی آب محل انجام آزمایش

Table 2- Physical and chemical properties of the water at the experimental site

خصوصیات Characteristics	قابلیت هدایت الکتریکی Electrical conductivity (dS.m ⁻¹)	اسیدیته Acidity (soil reaction)	کلر Cl	کلسیم + منیزیم Ca+Mg	بی‌کربنات HCO	سدیم Na	سدیم قابل تبادل SAR
(meq.L ⁻¹)							
آب آبیاری Irrigation water	3.5	7.4	7.5	36	4.5	12	2.78

لیتر با استفاده از روش جکسون و همکاران (Jackson et al., 2019) طبق معادله ۱ محاسبه گردید.

$$\text{Chla (mg.l}^{-1}\text{)} = (12.7 \times \text{A663}) - (2.69 \times \text{A645}) \quad (۱)$$

$$\text{Chlb (mg.l}^{-1}\text{)} = (25.8 \times \text{A645}) - (4.68 \times \text{A663})$$

$$\text{Chltotal (mg.l}^{-1}\text{)} = (20.21 \times \text{A645}) + (8.02 \times \text{A663})$$

$$\text{Carotenoids (mg.l}^{-1}\text{)} = (1000 \text{ A470} - 2.27 \text{ Chla} - 81.4 \text{ Chlb})/227$$

که در آن‌ها، A663، A645 و A470 به ترتیب میزان قرائت شده جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر می‌باشند. در نهایت غلظت رنگیزه‌ها در نمونه‌های برگ به کمک معادله ۲ و بر حسب میلی گرم در گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

$$\text{رنگیزه برگ (میلی گرم در گرم وزن تر)} = \frac{Cx \times V \times D}{Ws \times 1000} \quad (۲)$$

که در آن، Cx: بیانگر غلظت محاسبه شده هر رنگیزه در عصاره (میلی گرم در لیتر)، Ve: حجم کل عصاره (میلی لیتر)، D: فاکتور رقت، و Ws: وزن تر نمونه برگ (گرم) است.

تعیین غلظت کلروفیل

برای اندازه‌گیری غلظت کلروفیل‌ها a، b و کل و کاروتنوئید کل، ۰/۱۲۵ گرم بافت برگ تازه با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد و ۰/۱ گرم کلسیم کربنات برای خنثی نمودن حالت اسیدی مایع درون سلولی و ممانعت از تخریب کلروفیل در یک هاون چینی ساییده شد تا به صورت توده یکنواختی درآمد. پس از سانتریفیوژ کردن عصاره حاصل (۱۰ هزار دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه)، محلول رویی برداشته شد و جذب نور توسط آن در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (مقدار جذب نور کلروفیل a در بیشترین طول موج)، ۶۴۵ نانومتر (بالاترین مقدار جذب نور کلروفیل b) و ۴۷۰ نانومتر (بالاترین مقدار جذب نور کاروتنوئیدها) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Varian، مدل CARY۱۰۰ و با استفاده از استون ۸۰ درصد به عنوان blank قرائت گردید. غلظت هر یک از رنگیزه‌ها در عصاره بر حسب میلی گرم در

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به‌منظور سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ اسفناج

به‌منظور سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از روش جزویاک و همکاران (Jóźwiak et al., 2016) استفاده گردید. ماده اصلی در سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی DPPH بود. برای تهیه محلول ۶۰ میکرومولار DPPH، ۰/۰۲۴ گرم از این ماده را با متانول ۸۵ درصد به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده، سپس ۰/۰۷۵ میلی‌لیتر از قسمت رویی عصاره برگ با استفاده از سمپلر برداشته و داخل لوله آزمایش ریخته شد. به هرکدام از نمونه‌های موجود در لوله آزمایش ۲/۹۲۵ میلی‌لیتر DPPH افزوده شده و از متانول ۸۵ درصد به‌عنوان بلانک استفاده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل کر ۱۰۰ واریان آمریکا) تعیین گردید. درصد بازدارندگی نمونه‌ها با استفاده از معادله ۳ محاسبه گردید.

$$AA(\%) = (1 - \left(\frac{AO}{AI}\right)) \times 100 \quad (3)$$

که در آن، AO: جذب نمونه، AI: جذب DPPH و AA: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) است.

اندازه‌گیری فنل کل

اندازه‌گیری غلظت فنل کل با استفاده از روش فولین-سیکالتو (Lopes et al., 2017) انجام شد. مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره میوه و برگ در تاریکی توسط سمپلر جدا کرده و درون لوله‌آزمایش ریخته شد و سپس ۱/۵ میلی‌لیتر فولین ۱۰ درصد به آن اضافه گردید و بعد از گذشت پنج دقیقه، ۱/۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات هفت درصد به آن اضافه شد و به‌مدت ۹۰ دقیقه روی شیکر با ۱۱۰ دور در دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفت و در انتها به آن شش میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد تا حجم نهایی به نه میلی‌لیتر رسید. در نهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (شیمادزو، ژاپن) میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید با استفاده از اسیدگالیک به‌عنوان منحنی استاندارد محتویات فنلی کل در بافت میوه و برگ به‌وسیله واکنش فولین سیکالتو تعیین گردید با استفاده از منحنی استاندارد اسیدگالیک، مجموع فنل به‌صورت میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم وزن تازه بیان شد (معادله ۴).

$$= \frac{\text{غلظت در فرمول منحنی استاندارد}}{1000} \times \frac{\text{حجم نمونه (۳ میلی لیتر)}}{\text{وزن تر نمونه (۰/۳ گرم)}} \times 100 \quad (4)$$

محتوای فنل کل میوه و برگ (میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم وزن‌تر)

اندازه‌گیری فلاونوئید کل

برای اندازه‌گیری غلظت فلاونوئید کل از روش لو پز و همکاران (Lopes et al., 2017) استفاده شد. بدین ترتیب، جهت اندازه‌گیری فلاونوئید کل ۰/۲۷۵ میلی‌لیتر از عصاره میوه و برگ با ۸۲۵

میکرولیتر آب مقطر به حجم ۱/۱ میلی‌لیتر رسانده شد، سپس ۰/۳ میلی‌لیتر سدیم نیتريت پنج درصد به محلول اضافه گردید، پس از سپری شدن مدت زمان پنج دقیقه ۰/۶ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد به محلول اضافه شد. بعد از شش دقیقه، دو میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید (سود) یک مولار به همراه یک میلی‌لیتر آب مقطر به محلول اضافه گردید و شدت جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک آب مقطر قرائت شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئید کل، منحنی استاندارد رسم گردید و غلظت فلاونوئید کل در میوه و برگ برحسب میکروگرم روتین (کوئرستین ۳-روتینوزید) در ۱۰۰ گرم وزن‌تر بیان شد (معادله ۵). برای تهیه استاندارد، ابتدا مقدار یک میلی‌گرم کوئرستین در مقداری سود ۰/۱ نرمال حل شد و حجم نهایی محلول به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

$$\text{حجم نمونه (۳ میلی لیتر)} \times \frac{\text{غلظت در فرمول منحنی استاندارد}}{1000} \times 100 \quad (5)$$

= محتوای فلاونوئید کل میوه و برگ (میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن‌تر)

اندازه‌گیری نیترات

برای اندازه‌گیری نیترات از روش اسید سولفو سالیسیلیک-سود (روش کاتالدو) استفاده شد. عصاره‌گیری نیترات در آب داغ و در محلول دو درصد اسیداستیک صورت گرفت. ابتدا ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی توزین و در هاون چینی به همراه ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر کوبیده و در در لوله آزمایش ریخته شد، سپس به مدت ۴۰ دقیقه در بن‌ماری ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از سانتریفیوژ، ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره رویی را برداشته و ۰/۸ میلی‌لیتر معرف سولفو سالیسیلیک پنج درصد (W/V) که از حل شدن پنج گرم اسیدسالیسیلیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ (۹۶ درصد) تهیه شده بود، اضافه گردید و خوب به هم زده شد. بعد از خنک شدن نمونه‌ها (۲۰ دقیقه) به آن‌ها ۱۹ میلی‌لیتر سود (NaOH) دو نرمال اضافه گردید. پس از آنکه نمونه‌ها کاملاً سرد شدند، مقدار جذب آن‌ها در طول موج ۴۱۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید و با رسم منحنی واسنجی برای محلول‌های استاندارد، غلظت نیترات در عصاره تعیین شد و در نهایت با جای‌گذاری در نرم‌افزار Excel غلظت نیترات بر حسب میلی‌گرم در وزن تر در گیاه محاسبه شد (Jalali & Salehi Chegini, 2020).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

سنجش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز به‌روش کوپيجانو و همکاران (Quijano et al., 2017) صورت گرفت. بدین منظور ۰/۵ گرم ماده تر اندام هوایی وزن و با پنج میلی‌لیتر محلولی که غلظت

مطابق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر محلول پاشی تیمار سدیم سولنیت و کلسیم نیترات بر کلروفیل‌های a، b و کل و کاروتنوئید کل در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین‌ها اثر محلول پاشی کلسیم نیترات نشان داد که با افزایش میزان نیترات، افزایش مقدار کلروفیل‌های a، b و کل و کاروتنوئید کل مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان کلروفیل‌های a، b و کل و کاروتنوئید کل، در تیمارها سدیم سولنیم ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار و کمترین میزان در شاهد و ۰/۵ میلی‌مولار به دست آمد. محلول پاشی سولنیم به خوبی توانست میزان رنگی‌های فتوسنتز برگ‌های گیاه اسفناج را افزایش دهد. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین میزان کلروفیل‌های a، b و کل و کاروتنوئید کل به ترتیب با میانگین‌های ۱/۳۸، ۰/۵۷۷، ۱/۹۶، ۰/۴۸ میلی‌گرم در گرم وزن تراز تیمار ۱/۵ میلی‌مولار سدیم سولنیت و ۲۰ میلی‌مولار کلسیم نیترات به دست آمد و کمترین میزان آن‌ها در شاهد مشاهده شد (شکل ۱ و ۲ و ۳ و ۴).

با افزایش غلظت سولنیم و نیترات میزان کلروفیل‌های a، b و کل و کاروتنوئید کل گیاه اسفناج افزایش یافت، اما این افزایش در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار سدیم سولنیم و ۲۰ میلی‌مولار کلسیم نیترات قابل توجه بود و با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد. این نتایج در تطابق با نتایج مظفریان و همکاران (Mozafariyan et al., 2017) می‌باشد که گزارش کردند، محتوای کلروفیل برگ‌ها گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) کشت‌شده و با محلول ۷ و ۱۰ میکرومولار سدیم سولنیت تغذیه شدند، افزایش یافت. افزودن سولنیم تحت شرایط شوری به خاک باعث افزایش شاخص‌های کلروفیل و کاروتنوئید شد (Astaneh et al., 2018). در واقع یکی از مهم‌ترین عامل مؤثر بر میزان تجمع نیترات در گیاهان میزان فتوسنتز است. به‌طور کلی در مطالعه حاضر، محلول پاشی غلظت‌های بالای سدیم سولنیت و کلسیم نیترات اثر افزایشی روی میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ‌های اسفناج نشان دادند.

تأثیر تیمار سدیم سولنیت و کلسیم نیترات بر محتوای فنل

کل، فلاونوئید کل و میزان فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر محلول پاشی تیمار سدیم سولنیت و کلسیم نیترات بر میزان فنل کل گیاه اسفناج در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها اثر افزایشی در محتوای فنل کل گیاه در تیمار ۱/۵ میلی‌مولار سدیم سولنیت و ۲۰ میلی‌مولار کلسیم نیترات در شکل ۴ قابل مشاهده می‌باشد.

پتاسیم نیترات در آن ۱۵۰ میلی‌مولار، پروپانول ۰/۳ درصد و بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار بود ساییده گردید و در لوله آزمایش قرار داده شد. لوله‌ها در آون ۳۰ درجه به مدت یک ساعت قرار گرفتند. سپس محلول صاف گردید. یک میلی‌لیتر از محلول مذکور برداشته شد و ۰/۵ میلی‌لیتر سولفانیل آمید (۰/۵ گرم سولفانیل آمید در ۵۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک سه مولار) به آن اضافه گردید و بلافاصله بعد از تکان دادن، ۰/۵ میلی‌لیتر نفتیل اتیلن دی‌آمین (۰/۲ گرم نفتیل اتیلن دی‌آمین در ۵۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک سه مولار) برای تولید رنگ صورتی به نمونه‌ها اضافه شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه محلول رنگی با پنج میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شد و به مدت سه دقیقه با دور ۲۰۵۰ سانتریفیوژ گردید تا مایع شفاف به دست آمد. سپس جذب در ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. بلانک شامل یک میلی‌لیتر عصاره گیاهی، ۰/۵ میلی‌لیتر نفتیل اتیلن دی‌آمین و ۵/۵ میلی‌لیتر آب مقطر بود. برای یافتن غلظت نیتريت حاصل از احیای نیترات تحت آنزیم نیترات ردوکتاز از غلظت‌های متفاوت سدیم نیتريت برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز برحسب میکرومول نیتريت در میلی‌گرم وزن تر در دقیقه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری سولنیم

سنجش میزان سولنیم نمونه‌ها توسط دستگاه ICP-OES (مدل ۷۳۰۰ ساخت کمپانی پرکین المر آمریکا) انجام گرفت. برای اندازه‌گیری سولنیم ابتدا نمونه‌های گیاهی هضم گردید، به این صورت که مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از پودر گیاهی داخل لوله‌های آزمایش ریخته شد و دو سی سی اسید نیتريك غلیظ ۶۵ درصد و دو سی سی پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد به آن‌ها اضافه گردید. پس از پوشاندن سر لوله‌ها با فویل، نمونه‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس به آون با دمای ۱۱۰ درجه منتقل و به مدت ۲۰ دقیقه نگه داشته شدند. پس از سرد شدن، نمونه‌ها توسط کاغذ صافی صاف شده و با آب دیونیزه به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شدند (Jalali & Salehi, 2020).

آنالیز داده‌ها و تجزیه آماری

پس از اطمینان از نرمال‌سازی داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار آمار (SAS) نسخه (۹/۴) و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال یک درصد و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

تأثیر تیمار کلسیم نیترات و سدیم سولنیت بر محتوای کلروفیل‌های a، b و کل و کاروتنوئید کل در اسفناج

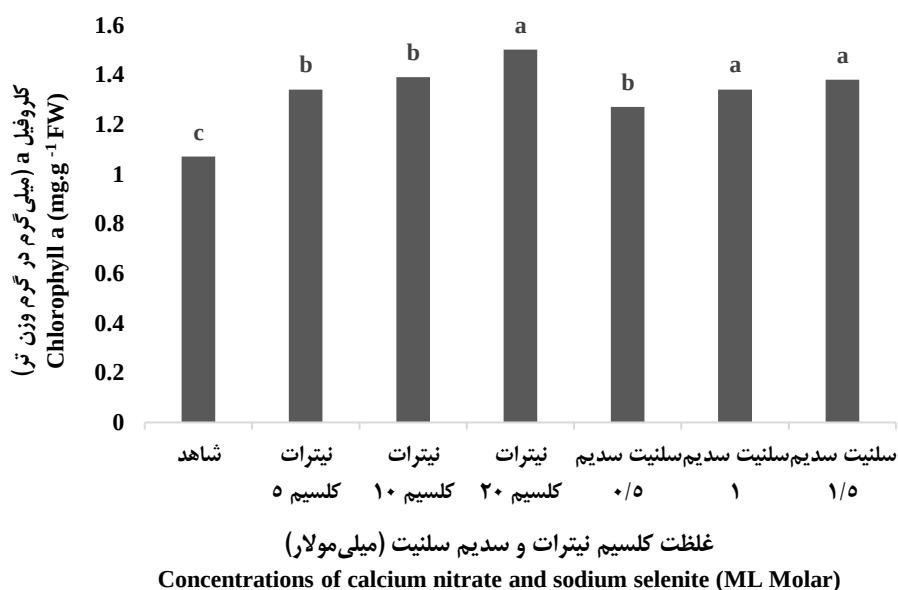
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر محلول پاشی سدیم سلنیت و کلسیم نیترات بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید کل گیاه اسفناج

Table 3- ANOVA for the effect of foliar application of sodium selenite and calcium nitrate on the content of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, and total carotenoids of spinach plants

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares			
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید کل Total carotenoids
بلوک Blocks	3	0.010	0.012	0.009	0.022
کلسیم نیترات Calcium nitrat	2	0.79**	0.69**	1.87**	0.68**
سدیم سلنیت Sodium selenite	6	0.93**	0.109**	0.213**	0.014**
خطای آزمایشی Experimental error	12	0.004	0.005	0.003	0.028
ضریب تغییرات CV (%)	-	4.56	4.43	3.43	8.73

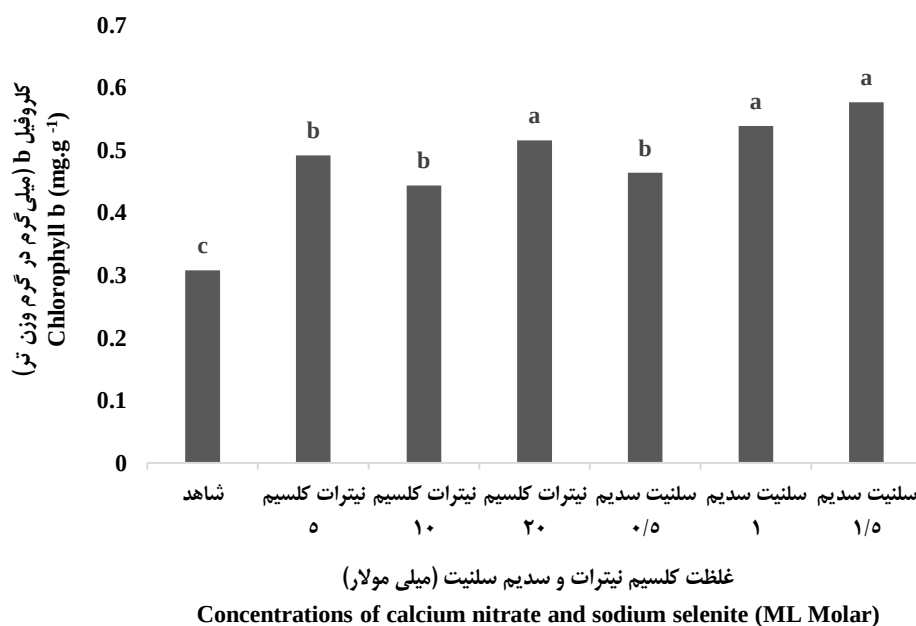
** معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at the 1% of probability level



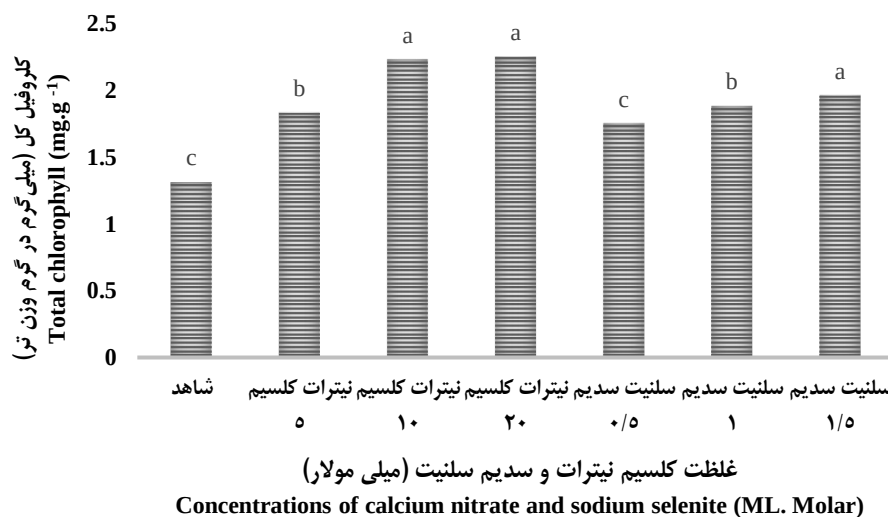
شکل ۱- اثر محلول پاشی سدیم سلنیت (SC) و کلسیم نیترات (NC) بر محتوای کلروفیل a گیاه اسفناج

Figure 1- Effect of foliar application of sodium selenite (SC) and calcium nitrate (NC) on the chlorophyll a content of spinach plants (DMRT, $p \leq 0.01$)



شکل ۲- اثر محلول پاشی سدیم سلنیت (SC) و کلسیم نیترات (NC) بر محتوای کلروفیل b گیاه اسفناج

Figure 2- Effect of foliar application of sodium selenite (SC) and calcium nitrate (NC) on the chlorophyll b content of spinach plants (DMRT, $p \leq 0.01$)

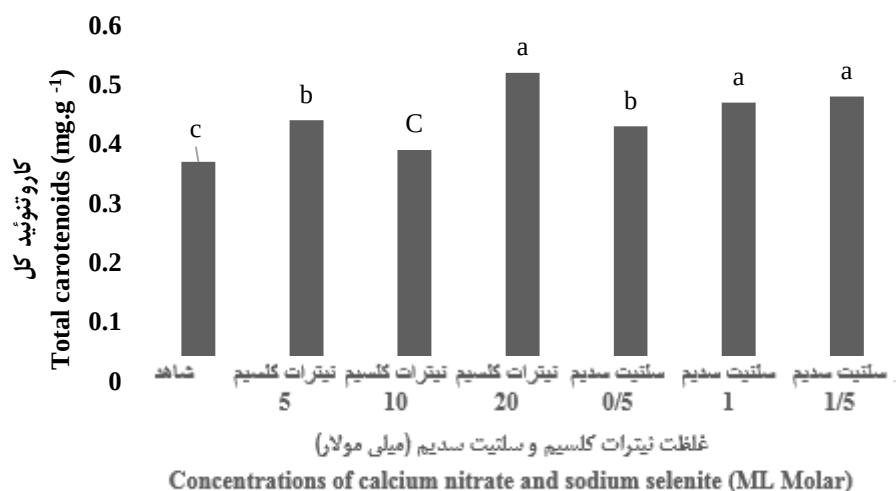


شکل ۳- اثر محلول پاشی سدیم سلنیت (SC) و کلسیم نیترات (NC) بر محتوای کلروفیل کل گیاه اسفناج

Figure 3- Effect of foliar application of sodium selenite (SC) and calcium nitrate (NC) on the chlorophyll b and total chlorophyll contents of spinach plants (DMRT, $p \leq 0.01$)

وزن تر) مشاهده شد (شکل ۵). محلول پاشی کلسیم نیترات اثر منفی بر محتوای فلاونوئید کل نشان داد، در صورتی که با افزایش محلول پاشی سلنیم، افزایش میزان فلاونوئید کل مشاهده شد (شکل ۶).

بیشترین میزان فنل کل مربوط به تیمار ۱/۵ میلی مولار سدیم سلنیت و ۲۰ میلی مولار کلسیم نیترات (۴/۷۷، ۴/۵۳) میلی گرم در گرم وزن تر (در تیمار یک میکرومولار سدیم سلنیت و پنج میلی مولار کلسیم نیترات به ترتیب (۴/۴۱، ۴/۴۵) میلی گرم در گرم وزن تر) به دست آمد، و کمترین میزان فنل کل در شاهد (چهار میلی گرم در گرم



شکل ۴- اثر محلول پاشی سدیم سلنیت (SC) و کلسیم نیترات (NC) بر محتوای کارتنوئید گیاه اسفناج
Figure 4-Effect of foliar application of sodium selenite (SC) and calcium nitrate (NC) on the total carotenoids content of spinach plants (DMRT, $p \leq 0.01$)

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر محلول پاشی سدیم سلنیت و کلسیم نیترات بر محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه اسفناج

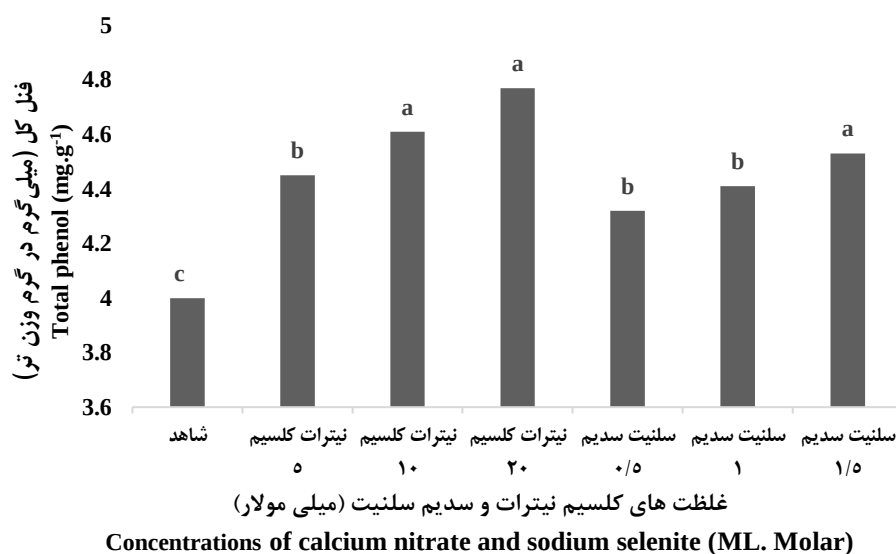
Table 4- ANOVA for the effect of foliar application of sodium selenite and calcium nitrate on the content of total phenols, total flavonoids, and antioxidant activity of spinach plant

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares		
		فنل کل Total phenols	فلاونوئید کل Total flavonoids	فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity
بلوک Blocks	3	0.008	0.002	0.050
کلسیم نیترات Calcium nitrate	2	1.179**	0.022**	1918.7**
سدیم سلنیت Sodium selenite	6	0.293**	0.002**	112.83**
خطای آزمایشی Experimental error	12	0.014	0.0004	3.38
ضریب تغییرات CV (%)	-	3.56	3.18	3.13

**معنی دار در سطح احتمال یک درصد
**Significant at the 1% of probability level

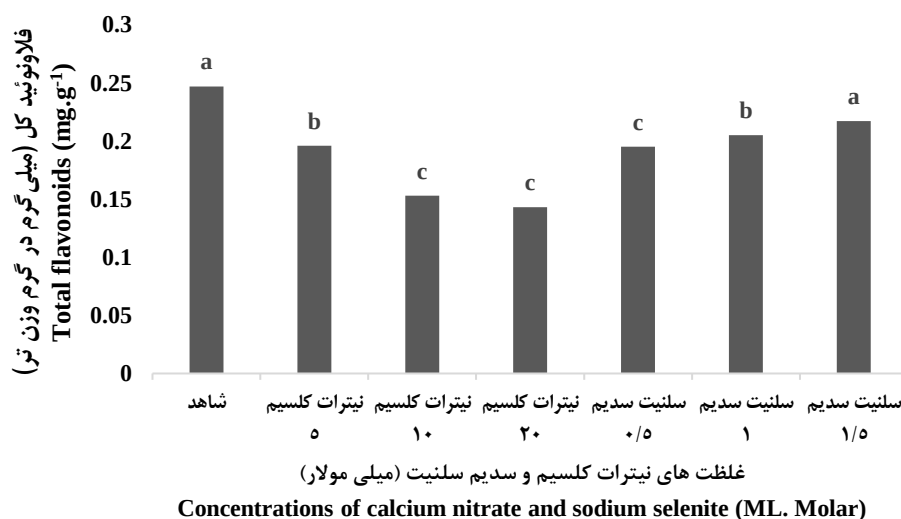
درصد) حاصل شد (شکل ۶). افزایش غلظت سلنیم در گیاهچه پیاز سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی می شود. با افزایش میزان سلنیم در اندام های گیاه اسفناج، مقدار ترکیبات فنلی در این گیاه نیز افزایش یافت. در این پژوهش با افزایش غلظت نیترات، میزان فنل کل برگ گیاه اسفناج افزایش یافت. اثرات مثبت کاربرد محلول پاشی نیترات بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه اسفناج در پژوهش حاضر نشان داده شد.

براساس نتایج مقایسه میانگین داده ها، اثر محلول پاشی تیمار سدیم سلنیت و کلسیم نیترات بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه اسفناج در سطح یک درصد معنی دار بود (شکل ۶). با مقایسه میانگین اثر محلول پاشی تیمارها، تیمار سدیم سلنیت ۱/۵ میلی مولار دارای بالاترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (۶۲/۹۱ درصد) در مقایسه با سایر تیمارها بود (شکل ۶). و غلظت ۲۰ میلی مولار کلسیم نیترات ۷۵/۳۱ درصد و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی از شاهد (۴۴/۸۷)



شکل ۵- اثر محلول پاشی سدیم سلنیت (SC) و کلسیم نیترات (NC) بر محتوای فنل کل گیاه اسفناج

Figure 5- Effect of foliar application of sodium selenite (SC) and calcium nitrate (NC) on the total phenol content of spinach plants (DMRT, $p \leq 0.01$)



شکل ۶- اثر محلول پاشی سدیم سلنیت (SC) و کلسیم نیترات (NC) بر فلاونوئید کل گیاه اسفناج

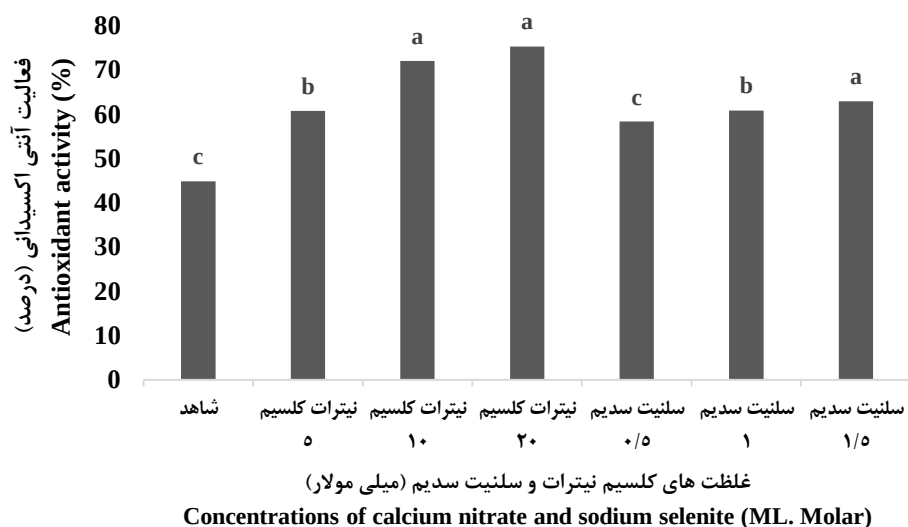
Figure 6- Effect of foliar application of sodium selenite (SC) and calcium nitrate (NC) on the total flavonoid content of spinach plants (DMRT, $p \leq 0.01$)

فعالیت آنتی اکسیدانی را از طریق افزایش ترکیباتی مانند توکو فرولها و ترکیبات فنلی افزایش می دهد (Antonenko et al., 2018).

تأثیر محلول پاشی سدیم سلنیت و کلسیم نیترات بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه اسفناج

بر اساس نتایج تجزیه واریاس داده ها، اثر محلول پاشی تیمار سدیم سلنیت و کلسیم نیترات بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز گیاه اسفناج در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۵).

افزایش غلظت کلسیم نیترات با افزایش میزان فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه اسفناج همراه بود که نشان دهنده نقش عنصر نیتروژن در افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی است که مطابق نتایج به دست آمده توسط شاهید و همکاران (Shahid et al., 2019) در گیاه سیب زمینی (*Solanum Tuberosum*) مشاهده شد. در پژوهش حاضر با بالا بردن مقدار سدیم سلنیت و کلسیم نیترات، میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی به طور معنی داری افزایش یافت. سلنیم



شکل ۷- اثر محلول پاشی سدیم سلنیت (SC) و کلسیم نیترات (NC) بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه اسفناج
Figure 7- Effect of foliar application of sodium selenite(SC) and calcium nitrate (NC) on the antioxidant activity of spinach (DMRT, $p \leq 0.01$)

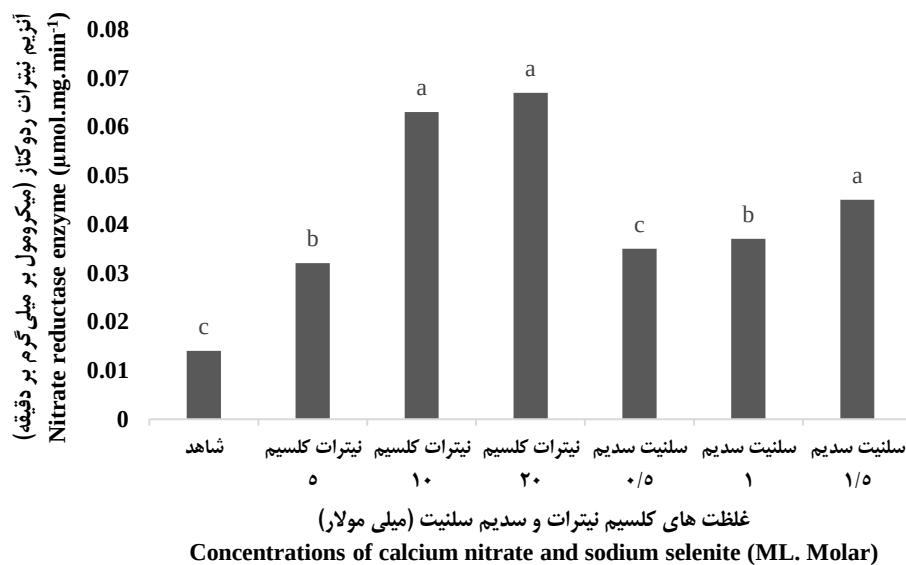
جدول ۵- تجزیه واریانس اثر محلول پاشی سدیم سلنیت و کلسیم نیترات بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز گیاه اسفناج
Table 5- ANOVA for the effect of foliar application of sodium selenite and calcium nitrate on the activity of nitrate reductase enzyme in spinach plant

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares
		آنزیم نیترات ردوکتاز Nitrate reductase enzyme
بلوک Blocks	3	0.00040
کلسیم نیترات Calcium nitrate	2	0.008**
سدیم سلنیت Sodium selenite	6	0.00055**
خطای آزمایشی Experimental error	12	0.0000094
ضریب تغییرات CV (%)	-	7.99

** معنی دار در سطح احتمال یک درصد
** Significant at the 1% of probability level

کلسیم نیترات با میانگین 0.045 میکرومولار نیتريت در میلی گرم وزن تر در دقیقه و پس از آن تیمار 0.067 میکرومولار کلسیم نیترات به دست آمد و کمترین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز از شاهد با میانگین 0.014 میکرومول نیتريت در میلی گرم وزن تر در دقیقه حاصل شد (شکل ۸).

با توجه به نتایج شکل ۸، با افزایش محلول پاشی غلظت سدیم سلنیت، میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز افزایش یافت. محلول پاشی کلسیم نیترات نیز باعث افزایش فعالیت این آنزیم شد. نتایج مقایسه میانگین داده ها نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در تیمار $1/5$ میلی مولار سدیم سلنیت و 20 میلی مولار



شکل ۸- اثر محلول پاشی سدیم سولنیت (SC) و کلسیم نیترات (NC) بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز گیاه اسفناج
Figure 8- Effect of foliar application of sodium selenite (SC) and calcium nitrate (NC) on the nitrate reductase activity in spinach (DMRT, $p \leq 0.01$)

تأثیر محلول پاشی سدیم سولنیت و کلسیم نیترات بر میزان نیترات و سلنیوم در گیاه اسفناج

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر محلول پاشی سدیم سولنیت و کلسیم نیترات بر میزان نیترات و سلنیوم گیاه اسفناج در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۶) با کاربرد محلول پاشی کلسیم نیترات و سدیم سولنیت، میزان نیترات برگ‌ها گیاه کاهش، اما غلظت سلنیوم برگ افزایش یافت (جدول ۶).

در فرآیند انباشتگی نیترات، بررسی فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز به‌عنوان یک عامل ژنتیکی و اولین آنزیم مؤثر در احیاء و متابولیسم نیترات دارای اهمیت بسیار است، بدین‌گونه که نیترات در حضور این آنزیم به آمونیوم تبدیل می‌شود و مانع انباشتگی نیترات در بافت‌های گیاهی می‌گردد (Zhang et al., 2021). نتایج مطالعات اودین و همکاران (Uddin et al., 2021) نشان داد که با افزایش غلظت نیترات عرضه‌شده به خاک، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در کلم، اسفناج و شلغم به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد افزایش یافت.

جدول ۶- نتایج واریانس اثر محلول پاشی سدیم سولنیت و کلسیم نیترات بر مقدار نیترات و سلنیوم گیاه اسفناج
Table 6- Results of variance of the effect of foliar application of sodium selenite and calcium nitrate on the nitrate and selenium content of spinach plants

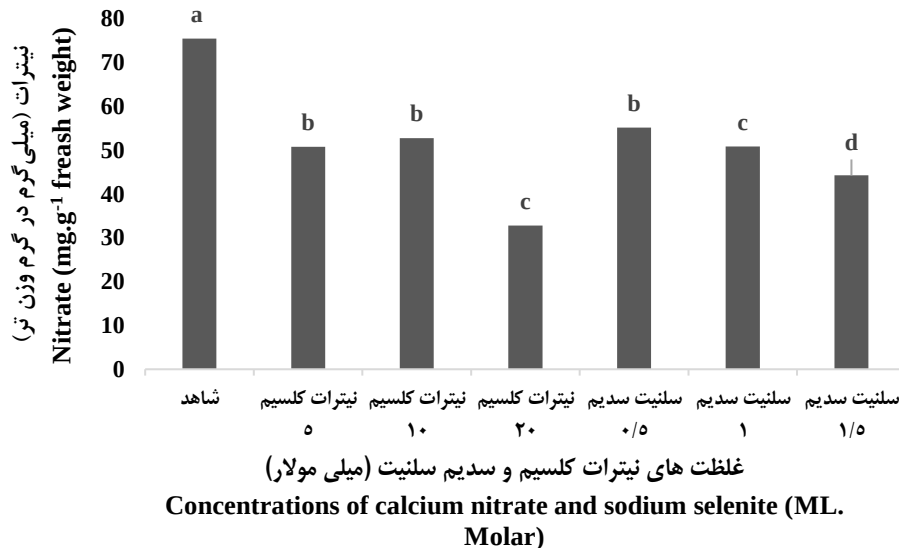
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares	
		نیترات Nitrate	سلنیوم Selenium
بلوک Blocks	3	15	0.015
کلسیم نیترات Calcium nitrate	2	5151.79**	0.24**
سدیم سولنیت Sodium selenite	6	451.73**	0.0049**
خطای آزمایشی Experimental error	12	4.64	0.002
ضریب تغییرات CV (%)	-	4.56	7.87

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at the 1% of probability level

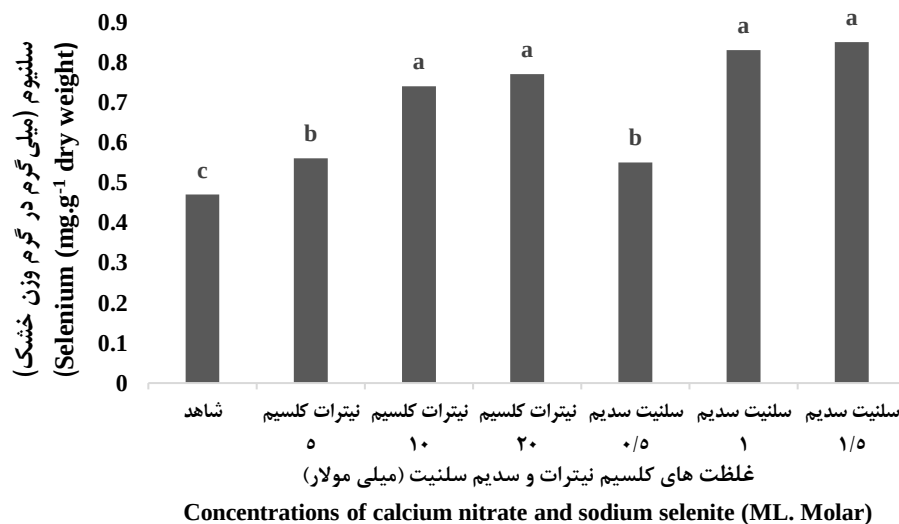
داده‌ها، بیشترین میزان سلنیم مربوط به محلول‌پاشی تیمار ۱.۵ میلی‌مولار سدیم سلنیت و ۲۰ میلی‌مولار کلسیم نیترات (با میانگین ۰/۸۵، ۰/۷۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) بود و کمترین میزان سلنیم از شاهد با میانگین ۰/۴۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک به دست آمد (شکل ۱۰).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان نیترات در شاهد با میانگین ۷۵/۴۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر حاصل شد و کمترین میزان نیترات در تیمار ۱/۵ میلی‌مولار سدیم سلنیت و ۲۰ میلی‌مولار کلسیم نیترات (با میانگین ۴۴/۲۷ و ۳۲/۷۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۹). مطابق نتایج مقایسه میانگین



شکل ۹- اثر محلول‌پاشی سدیم سلنیت (SC) و کلسیم نیترات (NC) بر مقدار نیترات گیاه اسفناج

Figure 9- Effect of foliar application of sodium selenite (SC) and calcium nitrate (NC) on the nitrate concentration of spinach (DMRT, $p \leq 0.01$)



شکل ۱۰- اثر محلول‌پاشی سدیم سلنیت (SC) و کلسیم نیترات (NC) بر غلظت سدیم گیاه اسفناج

Figure 10- Effect of foliar application of sodium selenite (SC) and calcium nitrate (NC) on the selenium concentration of spinach (DMRT, $p \leq 0.01$)

عنوان شده است. ریشه‌های گیاهان، نیترات را از محیط خارجی گرفته و قسمت عمده آن را از ریشه به شاخه‌ها منتقل می‌کنند که می‌توان گفت غلظت کاهش‌یافته نیترات احتمالاً ناشی از اثر منفی سلنیم بر

گزارش‌های متعدد وجود دارد که یا یک همبستگی معکوس بین میزان سلنیم و تجمع نیترات در گیاهان می‌باشد و دلیل کاهش تجمع نیترات در اثر کاربرد سلنیم، و افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

چشمگیر در رنگیزه‌های کلروفیلی موجود در برگ گیاهان شود و از طرفی، روی رشد و عملکرد گیاه تأثیرگذار باشد. تأثیر مثبت سلنیوم را می‌توان در افزایش میزان سنتز کلروفیل، فتوسنتز و تثبیت کربن دید که در نهایت باعث افزایش میزان رشد اسفناج خواهد شد. فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی برگ‌های اسفناج در تیمارهای بالای غلظت سلنیم و نیترات افزایش یافت. در همین تیمارها نیز بیشترین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، کمترین تجمع نیترات و تجمع بالای سلنیم مشاهده گردید. در مجموع، کاربرد محلول پاشی سدیم سولنیت و کلسیم نیترات، به‌ویژه سدیم سولنیت در غلظت ۱/۵ میلی مولار یکی از راه‌های غنی‌سازی و تقویت سلنیم در گیاه اسفناج می‌شود و از طرفی، ارزش غذایی آن در گیاه اسفناج حفظ و تجمع نیترات در گیاه کاهش می‌یابد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از سازمان مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری شهرستان شهرکرد به‌خاطر همکاری در این پروژه سپاسگزاری می‌گردد.

ناقلین غشاء یا مهار انتقال نیترات در ریشه می‌باشد (Sabolová & Kourimská., 2020). منبع اصلی ذخیره نیتروژن برای گیاهان عالی، نیترات می‌باشد. تجمع نیترات در برخی از سبزیجات برگی بسیار قابل ملاحظه است (Ranasinghe & Marapana, 2018). نیترات جذب‌شده به‌وسیله گیاه، در واکوئل ذخیره شده یا در آوند چوبی انتقال می‌یابد که عموماً مقدار زیاد آن در واکوئل مانده و برای استفاده وارد سیتوزول می‌شود. لی و همکاران (Lei et al., 2018) گزارش کردند که سلنیم باعث کاهش انتقال نیترات از ریشه‌ها به برگ‌ها شده و در نتیجه، استفاده از سلنیم به‌شکل سدیم سولنیت به‌طور معنی‌دار کاهش میزان انباشت نیترات و افزایش کیفیت و عملکرد کاه را به همراه خواهد داشت.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، تأثیر محلول پاشی سدیم سولنیم و کلسیم نیترات بر تجمع نیترات در اسفناج بررسی شد. به‌طور کلی، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سلنیم اگرچه برای گیاهان عنصر ضروری نمی‌باشد، اما می‌تواند در غلظت‌های متفاوت استفاده شود به‌خصوص در غلظت ۱/۵ میلی مولار که باعث افزایش

References

1. Antonenko, K., Briede, L., Kreicbergs, V., Vīksna, A., & Bavrins, K. (2018). Assimilation of selenium, copper, and zinc in rye malt. In Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences. March 2018. 72(2), 65-70. <https://doi.org/10.2478/prolas-2018-0010>
2. Astaneh, R.K., Bolandnazar, S., Nahandi, F.Z., & Oustan, S. (2018). The effects of selenium on some physiological traits and K, Na concentration of garlic (*Allium sativum* L.) under NaCl stress. *Information Processing in Agriculture*, 5(1), 156-161. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.09.003>
3. Bian, Z.H., Bo, L.E.I., Cheng, R.F., Yu, W.A.N.G., Tao, L.I., & Yang, Q.C. (2020). Selenium distribution and nitrate metabolism in hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.): Effects of selenium forms and light spectra. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(1), 133-144. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62775-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62775-9)
4. Brkic, D., Bošnjir, J., Bevardi, M., Bošković, A.G., Miloš, S., Lasić, D., & Trstenjak, N.U. (2017). Nitrate in leafy green vegetables and estimated intake. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(3), 31-41. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i3.4>
5. Dinnella, C., Morizet, D., Masi, C., Clicerici, D., Depezay, L., Appleton, K.M., & Monteleone, E. (2016). Sensory determinants of stated liking for vegetable names and actual liking for canned vegetables: A cross-country study among European adolescents. *Appetite*, 107, 339-347. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2016.08.110>
6. Ebrahimi, R., Ahmadian, A., Ferdousi, A., Zandi, S., Shahmoradi, B., Ghanbari, R., & Yetilmezsoy, K. (2020). Effect of washing and cooking on nitrate content of potatoes (cv. Diamant) and implications for mitigating human health risk in Iran. *Potato Research*, 63, 449-462. <https://doi.org/10.1007/s11540-020-09450-4>
7. Jackson, J. K., Patterson, A. J., MacDonald-Wicks, L. K., Forder, P. M., Blekkenhorst, L. C., Bondonno, C. P., & McEvoy, M. A. (2019). Vegetable nitrate intakes are associated with reduced self-reported cardiovascular-related complications within a representative sample of middle-aged Australian women, prospectively followed up for 15 years. *Nutrients*, 11(2), 437-449. <https://doi.org/10.3390/nu11020240>
8. Jalali, M., & Salehi Chegeni, N. (2020). The positive effect of selenium on nitrate accumulation in spinach (*Spinacia oleracea* L.) and lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Horticultural Science*, 34(2), 321-334. <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v34i2.85540>
9. Jóźwiak, W., Mleczek, M., & Politycka, B. (2016). The effect of exogenous selenium on the growth and photosynthetic pigments content of cucumber seedlings. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25, 142-152.

10. Keller, R.M., Beaver, L., Prater, M.C., & Hord, N.G. (2020). Dietary nitrate and nitrite concentrations in food patterns and dietary supplements. *Nutrition Today*, 55(5), 218-226. <https://doi.org/10.1097/NT.0000000000000253>
11. Lei, B., Bian, Z.H., Yang, Q.C., Wang, J., Cheng, R.F., Li, K., & Tong, Y.X. (2018). The positive function of selenium supplementation on reducing nitrate accumulation in hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 17, 837-846. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61759-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61759-3)
12. Lopes, G., Ávila, F.W., & Guilherme, L.R.G. (2017). Selenium behavior in the soil environment and its implication for human health. *Ciência e Agrotecnologia*, 41(6), 605-615. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017416000517>
13. Mozafariyan, M., Pessarakli, M., & Saghafi, K. (2017). Effects of selenium on some morphological and physiological traits of tomato plants grown under hydroponic condition. *Journal of Plant Nutrition*, 40(2), 139-144. <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1201500>
14. Nasrollahzadeh, N., Delshad, M., & Kashi, A.K. (2017). The effect of foliar spraying of urea, calcium nitrate and boric acid on the growth and yield of greenhouse cucumber cultivar Khasib. *Journal of Horticultural Science*, 31(1), 1-13. <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.22914>
15. Quijano, L., Yusà, V., Font, G., McAllister, C., Torres, C., & Pardo, O. (2017). Risk assessment and monitoring programme of nitrates through vegetables in the region of Valencia (Spain). *Food and Chemical Toxicology*, 100, 42-49. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.12.010>
16. Ranasinghe, R.A.S.N., & Marapana, R.A.U.J. (2018). Nitrate and nitrite content of vegetables: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(4), 322-328.
17. Sabolová, M., & Kouřimská, L. (2017). Vitamin C and nitrates contents in fruit and vegetables from farmers' markets and supermarkets. *Slovak Journal of Food Sciences*, 14(1), 213-221. <https://doi.org/10.5219/1347>
18. Shahid, M.A., Balal, R.M., Khan, N., Zotarelli, L., Liu, G.D., Sarkhosh, A., & Garcia-Sanchez, F. (2019). Selenium impedes cadmium and arsenic toxicity in potato by modulating carbohydrate and nitrogen metabolism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 180, 588-599. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.037>
19. Song, J., Xin, L., Gao, F., Liu, H., & Wang, X. (2024). Effects of foliar selenium application on oxidative damage and photosynthetic properties of greenhouse tomato under drought stress. *Plants*, 13(2), 302. <https://doi.org/10.3390/plants13020302>
20. Takeda, T., Kondo, K., Ueda, K., & Iida, A. (2016). Antioxidant responses of selenium-enriched broccoli sprout (*Brassica oleracea*) to paraquat exposure. *Biomedical Research on Trace Elements*, 27(1), 8-14. <https://doi.org/10.11299/brte.27.8>
21. Uddin, R., Thakur, M.U., Uddin, M.Z., & Islam, G.R. (2021). Study of nitrate levels in fruits and vegetables to assess the potential health risks in Bangladesh. *Scientific Reports*, 11(1), 4704. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84032-z>
22. Zhang, J., He, P., Ding, W., Ullah, S., Abbas, T., Li, M., & Zhou, W. (2021). Identifying the critical nitrogen fertilizer rate for optimum yield and minimum nitrate leaching in a typical field radish cropping system in China. *Environmental Pollution*, 268, 115004. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115004>
23. Zhu, Z., Zhang, Y., Liu, J., Chen, Y., & Zhang, X. (2018). Exploring the effects of selenium treatment on the nutritional quality of tomato fruit. *Food Chemistry*, 252, 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.064>