

ISSN: 3041-9638

<https://jrpsm.asnrkh.ac.ir/>

Open Access

Research Article

Effect of Fulvic Acid on the Growth and Biochemical Characteristics of Red Lettuce under Chromium Stress

R. Azarmi¹ , M. Yousefzadeh Isalou¹, Z. Majnoui Heris¹, B. Esmailpour¹ and Sh. Asghari Nasrabadi²

¹ Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

² MSc Graduate, District 2 Education Office, Ardabil, Iran.

Received: 23 May 2026

Accepted: 25 Jul 2026

Published: 11 Oct 2026

Corresponding

Author:

Rasoul Azarmi

Email:

r_azarmi@uma.ac.ir

Keywords:

Humic substances,
Hydroponics,
Chromium, Lettuce

Citation:

Azarmi, R.,
Yousefzadeh Isalou,
M., Majnoui Heris,
Z., Esmailpour, B., &
Asghari Nasrabadi, Sh.
(2026). Effect of
Fulvic Acid on the
Growth and
Biochemical
Characteristics of Red
Lettuce under
Chromium
Stress. *Journal of
Research in Plant
Metabolites*, 4(3), 15-
30.

Doi:10.22034/jrpsm.
2026.593440.1127

Extended Abstract

Background and Objective: Chromium is a heavy metal that has detrimental effects on plant growth and food chain health. Fulvic acid, as an organic compound and growth stimulant, plays a role in enhancing plant tolerance to abiotic stresses. The present study was conducted to investigate the effects of fulvic acid application on inducing tolerance in red lettuce (*Lactuca sativa* cv. *Little Gem*) under chromium stress.

Materials and methods: To investigate the interactive effects of chromium stress and fulvic acid application on morphophysiological and biochemical traits of red lettuce, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design (CRD) with four replications under controlled hydroponic conditions at the research greenhouse of the University of Mohaghegh Ardabili, Iran. The experimental treatments comprised three levels of chromium stress (0, 3, and 15 mg L⁻¹, supplied as K₂Cr₂O₇) and two concentrations of fulvic acid (0 and 0.05 g L⁻¹), which were applied to the nutrient solution throughout the growth period. Plants were cultivated in a modified Hoagland solution with continuous aeration and maintained under a 16/8 h light/dark photoperiod at 25 ± 2 °C. At the end of the vegetative stage (45 days after transplanting), various growth, physiological, and biochemical parameters were assessed. The measured traits included shoot and root dry weight (after oven-drying at 70 °C for 48 h), total chlorophyll content (extracted in 80% acetone and measured spectrophotometrically), leaf macronutrient concentrations (nitrogen, phosphorus, and potassium using standard Kjeldahl, colorimetric, and flame photometric methods, respectively), total soluble sugars (phenol-sulfuric acid method), ascorbate peroxidase (APX) activity (spectrophotometric monitoring of ascorbate oxidation at 290 nm), hydrogen peroxide (H₂O₂) content (titanium sulfate method), chromium accumulation in leaf tissues (after acid digestion using atomic absorption spectrophotometry), electrolyte leakage (as an indicator of membrane integrity), stomatal conductance (using a portable porometer), and anthocyanin content (pH-differential method). All chemical analyses were performed in triplicate to ensure data accuracy and reproducibility.

Results: The obtained results revealed that increasing chromium concentration in the nutrient solution exerted a dose-dependent inhibitory effect on most of the measured growth parameters. Compared to the chromium-free control treatment, application of 15 mg L⁻¹ Cr significantly decreased shoot dry weight by 12.73%, root dry weight by 15%, and leaf nitrogen content by 17.7%, indicating severe impairments in nitrogen assimilation and biomass partitioning. In contrast, the same chromium level induced substantial increases in soluble sugar content (12.5%), peroxidase enzyme activity (129%), and hydrogen peroxide accumulation (29%), reflecting the activation of stress-responsive osmoprotective and antioxidative mechanisms. Notably, supplementation with fulvic acid at 0.05 g L⁻¹ effectively counteracted these adverse effects, leading to marked improvements in growth traits, total chlorophyll content, and leaf nitrogen status, while concurrently reducing chromium accumulation in leaf tissues. A dose-dependent increase in leaf chromium concentration was observed in plants not receiving fulvic acid; however, FA application significantly decreased leaf Cr content, presumably through metal chelation and restricted root-to-shoot translocation. Furthermore, electrolyte leakage—a reliable indicator of oxidative membrane damage—exhibited a 23% reduction in fulvic acid-treated plants under severe chromium stress (15 mg L⁻¹), suggesting enhanced membrane stability and reduced lipid peroxidation. Stomatal conductance and anthocyanin content, both of which declined progressively with increasing Cr levels, were significantly restored upon fulvic acid application, indicating improved gas exchange capacity and secondary metabolite production under stress conditions. Collectively, these findings demonstrate that fulvic acid mitigates chromium phytotoxicity through a multi-mechanistic approach, involving oxidative stress attenuation, membrane integrity preservation, photosynthetic pigment enhancement, and reduced heavy metal mobilization toward above-ground organs.

Conclusion: In summary, the present study provides compelling evidence that chromium stress, particularly at higher concentrations, imposes substantial negative impacts on the morphophysiological, biochemical, and nutritional quality traits of red lettuce in hydroponic cultivation. Nevertheless, exogenous application of fulvic acid at an optimized concentration proved highly effective in alleviating chromium-induced damages by reinforcing the plant's antioxidative defense system, maintaining cellular membrane functionality, and restricting chromium translocation to edible portions. These promising results suggest that fulvic acid can be introduced as a sustainable, low-cost, and environmentally compatible biostimulant for improving the resilience of leafy vegetables against heavy metal contamination in controlled-environment agriculture systems. However, further field-based studies across different soil types, climatic conditions, and crop species are recommended to validate its practical applicability and to establish dose-response relationships for commercial recommendations.





تأثیر اسید فولویک بر رشد و خصوصیات بیوشیمیایی کاهو قرمز تحت تنش کروم

رسول آذرمی^۱ ، مریم یوسف‌زاده عیسی‌لو^۱، زهرا مجنونی هریس^۱، بهروز اسماعیل پور^۱ و شراره اصغری نصرآبادی^۲^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.^۲ دانش آموخته کارشناسی ارشد، آموزش و پرورش ناحیه ۲ اردبیل- ایران.

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۷/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۰۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۰۲

چکیده

نویسنده مسئول:

رسول آذرمی

ایمیل:

r_azarmi@uma.ac.ir

واژه‌های کلیدی: مواد

هیومیک، هیدروپونیک، کروم، کاهو

نحوه استناد:

آذرمی، ر.، یوسف‌زاده عیسی‌لو، م.، مجنونی هریس، ز.، اسماعیل پور، ب. و اصغری نصرآبادی، ش. (۱۴۰۵). تأثیر اسید فولویک بر رشد و خصوصیات بیوشیمیایی کاهو قرمز تحت تنش کروم.

مجله پژوهش در متابولیت‌های گیاهی، دوره ۴، شماره ۳، صفحات: ۱۵-۳۰.

Doi10.22034/jrpsm.2026.593440.1127

سابقه و هدف: کروم یکی از عناصر سنگین است که اثرات زیان‌باری بر رشد گیاه و سلامت زنجیره غذایی دارد. اسید فولویک، به‌عنوان یک ترکیب آلی و محرک رشد، در افزایش تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی نقش دارد. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات کاربرد اسید فولویک در ایجاد تحمل گیاه کاهوی قرمز (*Lactuca sativa cv. Little Gem*) تحت تنش کروم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، به‌منظور بررسی تأثیر اسید فولویک گیاه بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی کاهوی قرمز تحت تنش کروم آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سیستم هیدروپونیک در دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. تیمارها شامل تنش کروم در سه سطح صفر، ۳ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر و دو سطح اسید فولویک (صفر و ۰/۰۵ گرم در لیتر) بودند. پارامترهای اندازه‌گیری‌شده شامل وزن خشک اندام هوایی و ریشه، میزان کلروفیل کل، نیترژن، فسفر و پتاسیم برگ، قندهای محلول، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، پراکسید هیدروژن، محتوای کروم در برگ‌ها، نشت الکترولیت، هدایت روزنه‌ای و محتوای آنتوسیانین مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: افزایش غلظت کروم به‌طور معنی‌داری وزن خشک اندام هوایی (۱۲/۷۳ درصد)، وزن خشک ریشه (۱۵ درصد) و محتوای نیترژن برگ (۱۷/۷ درصد) را نسبت به تیمار شاهد (بدون کروم) کاهش داد. در مقابل، محتوای قندهای محلول، فعالیت پراکسیداز و میزان پراکسید هیدروژن به‌ترتیب ۱۲/۵، ۱۲۹ و ۲۹ درصد افزایش یافت. کاربرد اسید فولویک باعث بهبود صفات رشدی، افزایش کلروفیل کل و نیترژن و کاهش تجمع کروم در برگ‌ها شد. با افزایش غلظت کروم در محلول غذایی، تجمع کروم در برگ‌های کاهوی تیمار نشده با اسید فولویک افزایش یافت، درحالی‌که کاربرد اسید فولویک میزان کروم برگ را کاهش داد. نشت الکترولیت در گیاهان تیمار شده با اسید فولویک تحت تنش شدید کروم، ۲۳ درصد کاهش نشان داد. افزایش غلظت کروم باعث کاهش هدایت روزنه‌ای و محتوای آنتوسیانین برگ گردید؛ با این حال، کاربرد اسید فولویک هدایت روزنه‌ای و محتوای آنتوسیانین برگ را بهبود بخشید. این نتایج نشان می‌دهد که اسید فولویک با کاهش تنش اکسیداتیو، حفظ یکپارچگی غشا، افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاهش انتقال فلز به اندام هوایی، سمیت کروم را تعدیل می‌کند.

نتیجه‌گیری: نتایج کلی حاصل از پژوهش حاضر، حاکی از این است که تنش کروم اثرات منفی قابل‌توجهی بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی کاهوی قرمز داشت. کاربرد اسید فولویک به‌طور معنی‌داری اثرات منفی تنش کروم را کاهش داد و عملکرد گیاه را در سیستم هیدروپونیک بهبود بخشید. این یافته‌ها نشان می‌دهند که استفاده از اسید فولویک می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش تحمل سبزیجات برگی به آلودگی فلزات سنگین مورد استفاده قرار گیرد.

مقدمه

کاهوی برگ قرمز (*Lactuca sativa* cv. Little Gem) از خانواده *Asteraceae*، وارثه‌ای با برگ‌های قرمز یا بنفش تیره است که عمدتاً در سالاد و غذاها استفاده می‌شود. این گیاه غنی از آنتوسیانین بوده و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی و حاوی ویتامین‌های A، C و مواد معدنی از جمله کلسیم و پتاسیم می‌باشد که برای سلامت انسان اهمیت دارد (Franzoni & Ferrante, 2024). آلودگی زمین‌های کشاورزی به فلزات سنگین، یکی از چالش‌های اساسی زیست‌محیطی در سراسر جهان است. این فلزات، از قبیل سرب، کادمیوم و کروم از طریق خاک آلوده، آب‌های زیرزمینی و کودهای شیمیایی توسط گیاه جذب می‌شوند. کروم (Cr) یکی از عناصر فلزی با کاربرد گسترده در صنایع مختلف است که به دلیل خصوصیات شیمیایی و پتانسیل سمیت در سال‌های اخیر به عنوان یک نگرانی زیست‌محیطی و بهداشتی مورد توجه قرار گرفته است. تماس طولانی مدت با کروم، به ویژه کروم شش ظرفیتی، می‌تواند موجب آسیب جدی به اندام‌هایی نظیر کلیه، کبد، دستگاه تنفسی و سیستم خونساز شود. اثرات بیولوژیکی کروم شامل اختلال در عملکرد آنزیم‌ها، تنش اکسیداتیو، آسیب DNA، و در موارد شدیدتر، افزایش ریسک بروز سرطان است (Liang et al., 2021). سمیت کروم برای گیاهان به نوع و ظرفیت یونی آن بستگی دارد. کروم شش ظرفیتی به دلیل خصوصیات شیمیایی آن بسیار سمی است، در حالی که کروم سه ظرفیتی سمیت کمتری دارد. به دلیل عدم وجود سیستم انتقال اختصاصی برای کروم در گیاهان، این فلز از طریق کانال‌های یونی مشابه مثل سولفات یا آهن جذب می‌شود. اثرات سمی کروم شامل اختلال در فرآیندهای جوانه زنی، رشد ریشه، ساقه و برگ است که می‌تواند به تولید ماده خشک و عملکرد گیاه تأثیر منفی بگذارد. همچنین، کروم می‌تواند به فرآیندهای بیولوژیکی مهم گیاه، از جمله دستگاه فتوسنتزی، آسیب برساند (Shanker et al., 2005). طبق تحقیقات، تجمع فلزات سنگین در گیاهان به نوع گونه گیاهی بستگی دارد و این تفاوت‌ها ناشی از تنوع ژنتیکی آن‌هاست. این تنوع می‌تواند باعث خصوصیات مورفولوژیکی و بیولوژیکی متفاوت در میان ژنوتیپ‌های مختلف شود (Ali et al., 2015). همچنین، یافته‌های پژوهشی نشان داد که غلظت‌های بالای کروم تأثیر منفی قابل توجهی بر ریشه‌های گیاهان دارند و می‌توانند موجب پژمردگی و پلاسمولیز در سلول‌های ریشه شوند. تجمع فلزات سنگین در بافت‌های کاهو می‌تواند باعث اختلالات بیولوژیکی، مانند کاهش رشد، تغییر رنگ برگ‌ها و کاهش کیفیت محصول شود (Escudero-Villa et al., 2024). یکی از روش‌های مؤثر برای کاهش اثرات منفی تنش ناشی از فلزات سنگین مانند کروم، استفاده از مواد آلی همچون اسید فولویک است. اسید فولویک با کلاته کردن یون‌های فلزی، در افزایش حلالیت و

کاهش سمیت آن‌ها نقش داشته و دسترسی گیاه به عناصر معدنی ضروری را بهبود می‌بخشد. این ترکیب نه تنها به افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش ناشی از فلزات سنگین کمک می‌کند، بلکه در تنظیم فرآیندهای بیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان نیز نقش مهمی دارد و بر تقسیم سلولی و رشد آن‌ها تأثیر می‌گذارد (Khilji et al., 2022). مطالعه انجام شده نشان داد که اسید فولویک علاوه بر تحریک رشد رویشی و زایشی، به تقویت سیستم دفاعی گیاهان نیز کمک می‌کند. این ترکیب با تنظیم مسیرهای اسمز و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تحمل گیاهان را در برابر تنش‌های غیرزیستی مانند شوری، خشکی و سمیت فلزات سنگین بهبود می‌بخشد (Rahbari et al., 2025). اگرچه مطالعات متعددی به بررسی نقش اسید فولویک در بهبود رشد گیاهان و افزایش تحمل آن‌ها به تنش‌های غیرزیستی پرداخته‌اند، اطلاعات موجود درباره نقش این ترکیب در کاهش سمیت کروم در کاهوی قرمز، به ویژه در شرایط کشت هیدروپونیک، همچنان محدود است. علاوه بر این، تاکنون ارتباط میان اثر اسید فولویک بر رشد گیاه، وضعیت بیولوژیکی، بیوشیمیایی و تجمع کروم در بافت‌های گیاهی به صورت جامع مورد بررسی قرار نگرفته است. از این رو، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثر اسید فولویک بر رشد، ویژگی‌های بیولوژیکی و بیوشیمیایی، و میزان تجمع کروم در کاهوی قرمز تحت تنش کروم در شرایط هیدروپونیک طراحی و اجرا شد. نتایج این پژوهش می‌تواند درک بهتری از نقش اسید فولویک در افزایش تحمل گیاه به تنش فلزات سنگین فراهم کرده و زمینه را برای توسعه راهکارهای مدیریتی مؤثر در تولید محصولات کشاورزی در محیط آلوده به فلزات سنگین فراهم سازد.

مواد و روش‌ها

کشت گیاه و اعمال تیمار: برای ارزیابی تأثیر تنش کروم و اسید فولویک بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی کاهو، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به صورت سیستم هیدروپونیک در گلخانه دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. برای انجام آزمایش حاضر، از بذر کاهوی برگ قرمز (*Lactuca sativa* cv. Little Gem) که نسبت به شرایط تنش متحمل تر از کاهوی سبز معمولی است، استفاده گردید؛ بذرها در سینی کشت کاشته شد و دانه‌ها با ظهور چهارمین برگ حقیقی به گلدان‌های پنج لیتری حاوی کوکوپیت و پرلیت با نسبت مساوی منتقل شدند. تیمار کروم در سه غلظت صفر، ۳ و ۱۵ میلی گرم در لیتر به صورت کرومات پتاسیم شش ظرفیتی (K_2CrO_4) اعمال گردید؛ همچنین اسید فولویک در غلظت صفر و ۰/۰۵ گرم در لیتر همراه با محلول

مدل (Jenway 6705 UV/VIS Spectrophotometer, England) اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

$$\text{Chl.T} = \frac{(20.2 \times D645) + (8.02 \times D663) \times V}{1000 \times W} \quad \text{رابطه ۱:}$$

که در این رابطه D645: کلروفیل *b*، D663: کلروفیل *a*، *V*: حجم عصاره، *W*: وزن نمونه برگ است.

اندازه‌گیری آنتوسیانین: برای اندازه‌گیری آنتوسیانین، مقدار ۰/۲ گرم از برگ قرمز با ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی (ترکیب متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱) به‌طور کامل همگن‌سازی شد. سپس عصاره حاصل با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل SIGMA 12024-H) گردید. محلول رویی پس از عبور از کاغذ صافی، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی نگهداری شد. در نهایت، میزان جذب آنتوسیانین در طول موج ۵۵۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (Wu et al., 2016).

اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول: به منظور انجام این آزمایش، ۰/۱ گرم از بافت تر برگ در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به‌طور کامل همگن‌سازی شد. سپس محلول در بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از جداسازی فاز رویی، رسوب باقی‌مانده دوباره با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط و فرآیند حرارتی تکرار شد. عصاره‌های به‌دست‌آمده پس از جمع‌آوری از طریق کاغذ صافی و اتمن صاف شدند. برای تبخیر الکل موجود در عصاره، نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا حجم محلول به یک‌پنجم مقدار اولیه کاهش یابد. در نهایت، پس از ورتکس، قسمت شفاف فوقانی جدا و میزان جذب آن در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Sharma et al., 2023).

اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت: برای اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت، ۱۲ عدد دیسک هم‌اندازه از برگ‌های توسعه‌یافته تهیه شد. این دیسک‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و در شرایط تاریکی غوطه‌ور شدند. سپس، هدایت الکتریکی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه هدایت سنج اندازه‌گیری گردید. در مرحله بعد، نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از سرد شدن، مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت شد و با رابطه ۲ محاسبه گردید (Lutts et al., 1996).

$$\text{EL} = (\text{EC0}/\text{EC1}) \times 100$$

رابطه ۲:

اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن: به‌منظور اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن، مقدار ۰/۵ گرم از بافت تر گیاه در ۳ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید سرد یک درصد به‌طور کامل همگن‌سازی شد و پس از آن، دو میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک میلی‌مولار و ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) اضافه شد. محلول حاصل به

غذایی به بستر رشد افزوده شد و تیمارها از مرحله استقرار کامل گیاه و در مرحله ۸ برگی اعمال گردید. پس از انتقال گیاهچه‌ها، گیاهان دو بار در روز و در هر نوبت ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول غذایی با ترکیب شیمیایی با واحد mg L^{-1} (N=160; P=50; K= 160; Ca= 150; Mg=) 50; Fe=3; Mn=0.5; Zn= 0.44; Cu= 0.03; B= 0.01 آبیاری شدند. مقدار pH محلول غذایی برابر ۶/۲ و هدایت الکتریکی برابر ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر تنظیم شده بود. میانگین دمای گلخانه در روز 21 ± 19 درجه سلسیوس و در شب 15 ± 2 درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی ۷۰ درصد بود.

اندازه‌گیری وزن خشک برگ و ریشه و تعداد برگ: در پایان آزمایش دو ماه پس از انتقال دانهال به گلدان، کاهوها از گلدان خارج شده و به دو بخش برگ و ریشه تقسیم گردیدند. سپس هر بخش به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در آون خشک شد. در نهایت، وزن خشک هر قسمت (برگ و ریشه) توزین شد و تعداد برگ‌ها در هر بوته نیز شمارش گردید.

تعیین مقدار کروم و نیتروژن، فسفر و پتاسیم در برگ: برای اندازه‌گیری غلظت کروم در برگ‌ها، مقدار ۰/۵ گرم از ماده خشک برگ‌ها پس از خرد شدن با آسیاب، در کوره حرارتی به خاکستر تبدیل شد. سپس با استفاده از اسید کلریدریک ۲ نرمال، عصاره‌گیری انجام گردید. سپس مقدار کروم با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل Varian 240 AAS) تعیین شد. مقدار نیتروژن کل در برگ طی مراحل هضم نمونه، تقطیر و تیتراسیون اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فسفر، به ۲ میلی‌لیتر عصاره حاصل از هضم خشک، ۲ میلی‌لیتر معرف نیترو و انادومولیدات و ۸ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و پس از گذشت یک ساعت و تشکیل کمپلکس زرد رنگ، مقدار جذب محلول‌ها در طول موج ۴۳۰ نانومتر، توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (Jenway 6705 UV/VIS Spectrophotometer, England) قرائت شد. مقدار پتاسیم در نمونه‌های گیاهی توسط دستگاه فلاپم فتومتر (PEP7 and PEP7/C, Jenway, UK) اندازه‌گیری شد (Hejman et al., 2013).

اندازه‌گیری هدایت سنج روزنه‌ای: هدایت روزنه‌ای برگ با استفاده از دستگاه پرومتر (Prometer) برگ‌های بالغ گیاه در شرایط آفتابی و از ساعت ۹ تا ۱۱ صبح اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل کل: اندازه‌گیری محتوای کلروفیل بر اساس روش آرنون (Arnon, 1949) انجام شد. بدین منظور، مقدار ۰/۱ گرم از برگ با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی به‌طور کامل همگن‌سازی شد. سپس محلول حاصل با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و میزان جذب آن در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر، به‌ترتیب برای کلروفیل *a* و *b*، با استفاده از اسپکتروفتومتر

عناصر معدنی از قبیل پتاسیم، فسفر و آهن را محدود می‌کنند (Sarwar et al., 2023). اسید فولویک با افزایش انشعاب ریشه و رشد تارهای کشنده و توسعه بیشتر سطح ریشه جذب آب و مواد معدنی را بهبود بخشید. که این امر مستقیماً رشد اندام‌های هوایی را از طریق افزایش اختصاصی مواد تقویت می‌کند. همچنین اسید فولویک با پیوند عناصری مثل آهن، روی و منگنز از تثبیت آن‌ها در خاک جلوگیری کرده و قابلیت دسترسی این عناصر برای ریشه را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، گیاهان تیمار شده با اسید فولویک غلظت بیشتری از نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در اندام‌های هوایی نشان می‌دهد (Khilji et al., 2022). همچنین نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تعداد برگ کاهو فقط متأثر از تیمار اسید فولویک قرار گرفت و تحت تأثیر غلظت کروم و اثر متقابل کروم و اسید فولویک قرار نگیرد (جدول ۱)، به طوریکه تعداد برگ در گیاهان کاهوی تیمار شده با اسید فولویک در مقایسه با گیاهان فاقد این تیمار به طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۱)، تأثیر سمی کروم بر رشد گیاهان و کاهش وزن خشک کل و عملکرد محصول در مطالعات اخیر تأیید شده است (Zhang et al., 2022). علاوه بر این، غلظت‌های سمی کروم می‌تواند با اختلال در فرآیند فتوسنتزی و همچنین اختلال در جذب مواد معدنی و ایجاد عدم تعادل تغذیه‌ای باعث کاهش ماده خشک گیاه و کاهش رشد ریشه و اندام‌هوایی شود (Kumar et al., 2022). از سوی دیگر، مواد هیومیکی مانند اسید فولویک با بهبود جذب عناصر غذایی، افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با فتوسنتز و تحریک تقسیم سلولی، نقش مؤثری در افزایش وزن خشک گیاه ایفا می‌کنند (Hemati et al., 2022). نتایج پژوهش‌های اخیر نیز نشان می‌دهند که اسید فولویک تأثیر معنی‌داری در کشت گیاهان سبزی مانند گوجه‌فرنگی و کاهو داشته و موجب افزایش قابل توجه وزن تر و خشک بوته می‌شود (Keskin et al., 2025).

هدایت روزنه‌ای برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان می‌دهد که هدایت روزنه‌ای برگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثر ساده و اثر متقابل غلظت‌های مختلف کروم و اسید فولویک قرار گرفت. به‌طوری‌که هدایت روزنه‌ای برگ در گیاهان تغذیه شده با غلظت صفر میلی‌گرم کروم و تیمار شده با اسید فولویک در حدود ۴۲ درصد بیشتر از گیاهان تغذیه شده با غلظت ۱۵ میلی‌گرم در لیتر کروم و بدون کاربرد اسید فولویک بود. اسید فولویک با تعدیل اثرات منفی سمیت کروم، هدایت روزنه‌ای برگ را بهبود بخشید (شکل ۱). یافته‌های اخیر نشان می‌دهند که کروم با اختلال در انتقال آب از ریشه به اندام هوایی، تعادل آبی گیاه را مختل کرده و منجر به پژمردگی می‌شود (Zhang et al., 2023).

مدت یک ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. سپس میزان جذب نمونه در طول موج ۳۹۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و غلظت پراکسید هیدروژن بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر تعیین گردید (Sergiev et al., 1997).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسکورات پراکسیداز: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسکورات پراکسیداز ۹۰۰ میکرولیتر از محلول A (۵۰۰ میکرومولار اسید اسکوریک، ۱۰۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیم (pH=۷) و ۱ میلی‌مولار EDTA بدون سدیم) و ۹۰۰ میکرولیتر از محلول B (۳ میلی‌مولار آب اکسیژنه (H₂O₂) و ۱۰۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیم (pH=۷) مخلوط شده و مخلوط بدست آمده بلانک (Blank) گردید. کووت مربوط به نمونه بلانک شامل کلیه اجزاء واکنشی به غیر از نمونه آنزیمی بود. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به کووت حاوی مخلوط واکنش A و B اضافه شده و جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت گردید پس از یک دقیقه توقف دوباره جذب قرائت شده و اختلاف جذب محاسبه رابطه ۳، و عدد نهایی به صورت $U \text{ min}^{-1} \text{ mg pr}$ گزارش گردید (Nakano & Asada, 1987).

$$\text{رابطه ۳: } U \text{ min}^{-1} \text{ mg Pr} = \frac{Vt \times d1 \times \Delta A}{\sum \times tim \times V1 \times mg Pr}$$

آنالیز آماری: داده‌های حاصل از آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تجزیه داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) انجام و مقایسه میانگین‌ها نیز با بهره‌گیری از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ($P < 0.05$) انجام شد. تمامی تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS20 صورت گرفت.

نتایج و بحث

خصوصیات رشدی و رنگیزه‌های فتوسنتزی

وزن خشک اندام هوایی، ریشه و تعداد برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر ساده تیمار کروم و اسید فولویک بر وزن خشک ریشه و اندام‌هوایی معنی‌دار بود اما تحت تأثیر اثر متقابل این دو فاکتور قرار نگرفت. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱) نشان داد با افزایش غلظت کروم در محلول غذایی از شاهد به ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر، وزن خشک اندام هوایی و ریشه به ترتیب ۱۲/۷۳ و ۱۵ درصد کاهش یافت. گیاهان تغذیه شده با اسید فولویک، نسبت به گیاهان شاهد، وزن خشک اندام هوایی و ریشه بیشتری داشتند. کروم به عنوان یک عنصر سنگین می‌تواند رشد گیاه را بسته به غلظت و گونه گیاه به شدت تحت تأثیر قرار دهد. کروم با آب و غشای سلولی و میتوکندری، رشد طول ریشه را مختل می‌کند. علاوه بر این، عناصر سنگین با کاهش تشکیل تارهای کشنده ریشه، جذب

جدول ۱ - تجزیه واریانس تأثیر کروم و اسید فولویک بر خصوصیات فیزیولوژیک کاهو

Table 1- Analysis of variance (ANOVA) for the effects of chromium (Cr) and fulvic acid (FA) on physiological characteristics of red leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Little Gem).

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares				
		وزن خشک اندام هوایی (Shoot dry weight)	وزن خشک ریشه Root dry weight	تعداد برگ Leaf number	هدایت روزنه‌ای Leaf stomatal conductance	کلروفیل کل Total chlorophyll
کروم Cr	2	1.096**	0.113**	21.167 ^{ns}	75.551**	0.037**
اسیدفولویک FA	1	15.698**	0.288**	104.167**	450.667**	1.105**
کروم×اسیدفولویک FA×Cr	2	0.079 ^{ns}	0.008 ^{ns}	0.667 ^{ns}	10.125**	0.001 ^{ns}
خطا Error	18	0.428	0.004	10.194	1.385	0.026
ضریب تغییرات (%)CV	-	9.56	3.49	10.19	0.18	9.73

^{ns}, ** به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد.

^{ns}, ** and: non-significant, significant at $p \leq 0.01$, respectively

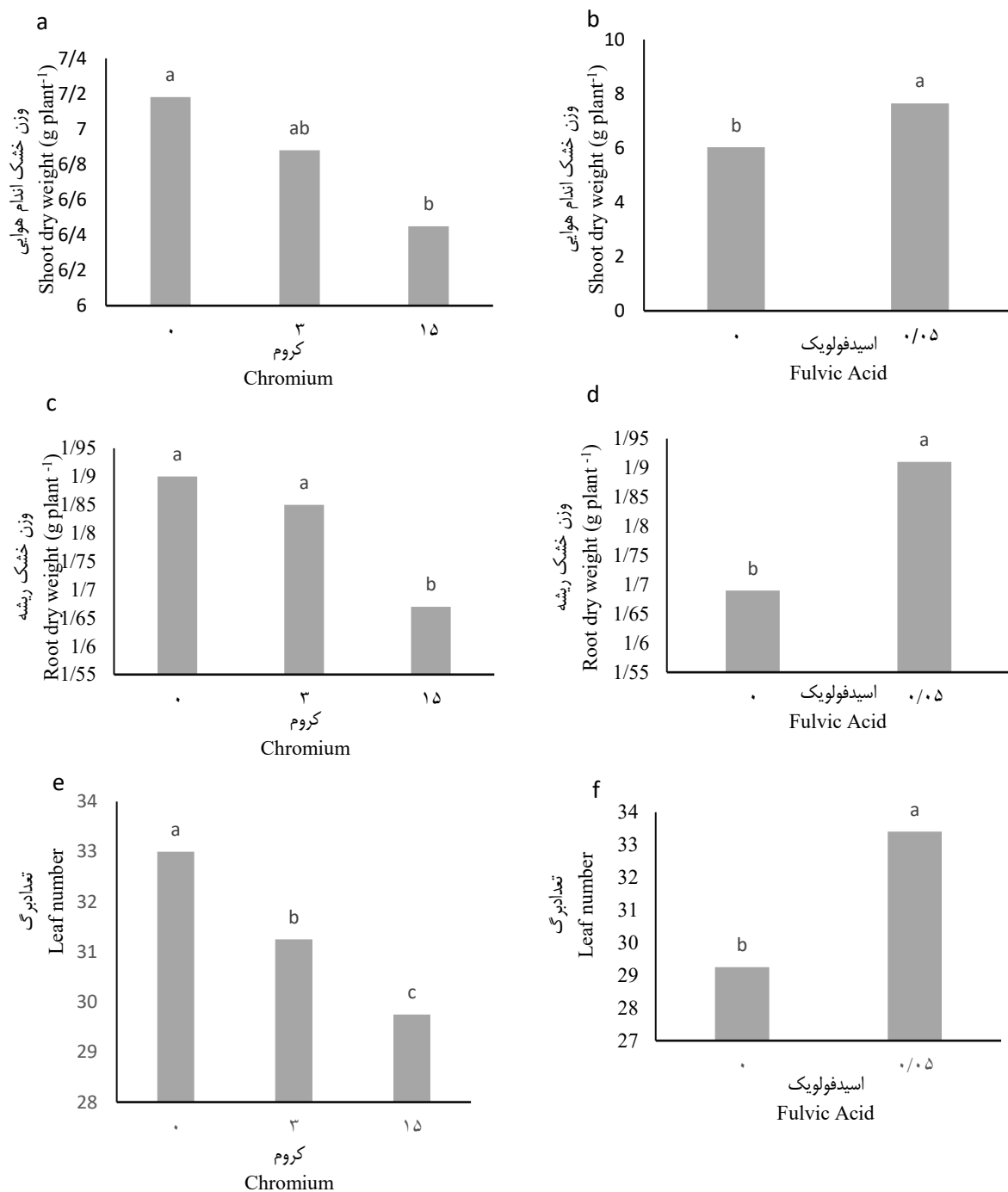
مختلف گیاهی مختل می‌کند. محتوای کلروفیل تحت تنش کروم می‌تواند ناشی از اختلال در مسیر بیوسنتز کلروفیل باشد. که در آن کروم با مهار فعالیت آنزیم δ-آمینولولونیک اسید دهیدراتاز (ALAD)، که در سنتز کلروفیل نقش کلیدی دارد، مانع از استفاده کارآمد از پیش‌سازهای کلروفیل مانند اسید δ-آمینو لولونیک می‌شود (Luo *et al.*, 2023). از سوی دیگر، مواد هیومیکی مانند اسید فولویک با بهبود جذب عناصر غذایی (از جمله نیتروژن و منیزیم) و افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با فتوسنتز، به شکل مستقیم بر افزایش محتوای کلروفیل و بهبود رشد گیاه تأثیر می‌گذارند (Canellas *et al.*, 2020). پژوهشی روی گیاه گوجه‌فرنگی نشان داده است که کاربرد اسید فولویک می‌تواند محتوای کلروفیل برگ را تا ۴۵ درصد افزایش دهد، که این بهبود به دلیل افزایش دسترسی به عناصر کم‌مصرف و کاهش تنش اکسیداتیو است (Redoy *et al.*, 2025).

میزان متابولیت‌های ثانویه و صفات بیوشیمیایی

آنتوسیانین: بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، مقدار آنتوسیانین برگ به طور معناداری تحت تأثیر تیمار کروم و اسید فولویک قرار گرفت. استفاده از اسید فولویک موجب افزایش محتوای رنگدانه آنتوسیانین در برگ کاهو شد (شکل ۵). آنتوسیانین‌ها گروهی از رنگدانه‌های گیاهی هستند که در پاسخ به تنش‌های محیطی، مانند فلزات سنگین، در گیاهان تجمع می‌یابند. قرمز شدن برگ‌ها تحت شرایط تنش می‌تواند به عنوان شاخصی از تجمع آنتوسیانین‌ها در نظر گرفته شود (Sun *et al.*, 2023). در گیاهانی نظیر آرابیدوپسیس تالیانا افزایش غلظت کروم با القای بیان ژن‌های مرتبط با سنتز آنتوسیانین همراه است (Gupta *et al.*, 2020).

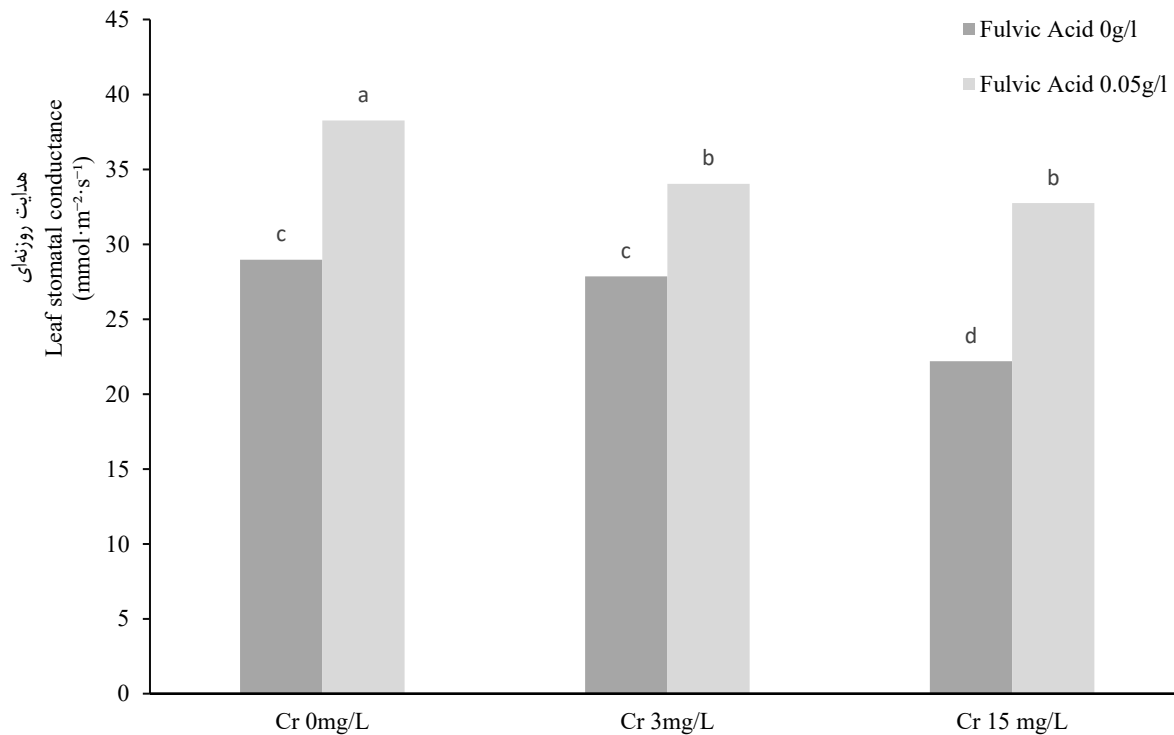
کروم می‌تواند در کانال‌های یونی و مسیر سیگنالینگ سلول‌های محافظ روزنه اختلال ایجاد کند و این امر منجر به رفتار غیر طبیعی روزنه و کاهش کارایی روزنه می‌شود (Rahman *et al.*, 2023). از سوی دیگر، اسید فولویک با کاهش جذب کروم توسط ریشه و تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، از تخریب ساختار روزنه‌ها جلوگیری می‌کند (Luo *et al.*, 2023). این ترکیب هیومیکی با افزایش سنتز پرولین و بهبود پتانسیل آب برگ، تحمل گیاهان را در برابر تنش‌های ناشی از فلزات سنگین افزایش می‌دهد (Chen *et al.*, 2022). در پژوهش‌های انجام‌شده بر روی گیاه تربچه، تیمار همزمان اسید فولویک و غلظت‌های بالا (۲۵ و ۵۰ میلی گرم کروم) منجر به حفظ ۷۰ درصدی هدایت روزنه‌ای و کاهش علائم پژمردگی شد (Shahrajabian & Sun, 2024).

کلروفیل کل: نتایج (جدول ۱) نشان می‌دهد که تأثیر تیمار کروم و اسید فولویک بر محتوای کلروفیل کل، معنی‌دار بود. اما اثر متقابل آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار نشد. براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، سمیت کروم سبب کاهش معنادار رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید. بیشترین میزان کلروفیل کل در گیاهان شاهد کروم (۰/۷۰۴ میلی گرم در گرم وزن تر) مشاهده شد که نسبت به غلظت ۱۵ میلی گرم در لیتر، حدود ۲۴ درصد بیشتر بود (شکل ۳). کاهش محتوای کلروفیل ناشی از کروم ممکن است در ارتباط با تغییر ساختار کلروپلاست و جلوگیری از سنتز رنگیزه فتوسنتزی و تجزیه کلروفیل در اثر افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیل‌از و تولید گونه‌های فعال اکسیژن باشد. ارزیابی محتوای کلروفیل تحت تأثیر تیمار کروم نشان داد که تجمع رنگیزه‌ها در گیاه پروانش به طور چشمگیری کاهش یافته است. افزایش غلظت کروم از طریق آسیب به غشاء تیلاکوئید و تجزیه کلروفیل، سیستم‌های فتوسنتزی را در گونه‌های



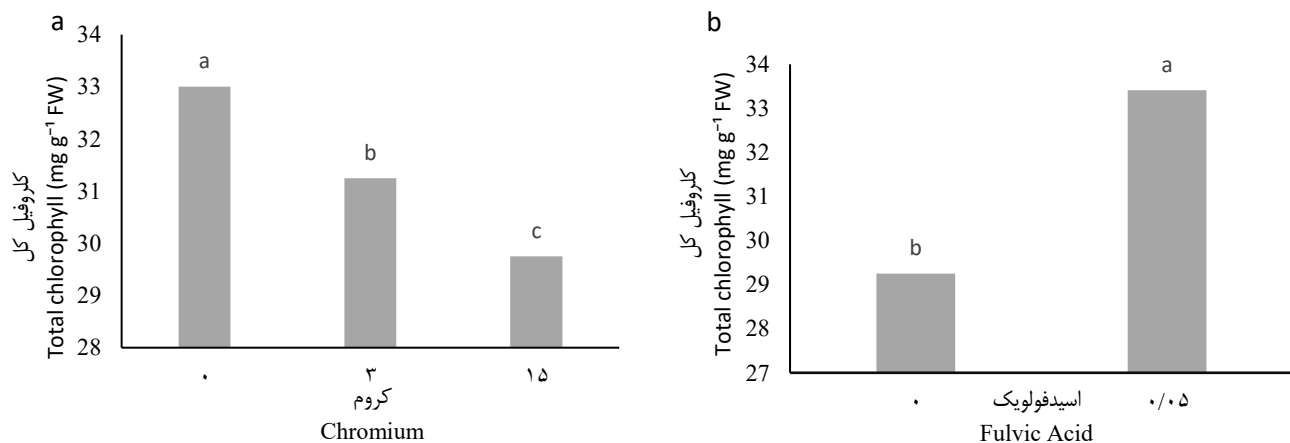
شکل ۱- مقایسه میانگین اثر ساده کروم و اسید فولویک بر (a, b) وزن خشک اندام‌هوایی، (c, d) وزن خشک ریشه، (e, f) تعداد برگ کل گیاه کاهوی قرمز براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($p \leq 0.05$). حروف آماری مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.

Figure 1- Comparison of mean simple effects of chromium and fulvic acid on (a, b) shoot dry weight, (c, d) root dry weight, (e, f) leaf number, content of red lettuce plants based on Duncan's multiple range test ($p \geq 0.05$). Different letters indicate significant differences between treatments, while the same letters within each column indicate no significant difference.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل کروم و اسید فولویک بر میزان هدایت روزنه‌ای گیاه کاهوی قرمز براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($p \leq 0.05$). حروف آماری مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.

Figure 2- Comparison of the mean interactive effects of chromium and fulvic acid on stomatal conductance of red lettuce based on Duncan's multiple range test ($p \geq 0.05$). Similar letters in each column indicate no significant difference between treatments.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر ساده کروم و اسید فولویک بر (a, b) کلروفیل کل گیاه کاهوی قرمز براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($p \leq 0.05$). حروف آماری مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.

Figure 3- Comparison of the mean simple effects of chromium and fulvic acid on (a, b) total chlorophyll of red lettuce plants based on Duncan's multiple range test ($p \geq 0.05$). Similar statistical letters in each column indicate no significant difference between treatments.

جذابیت ظاهری آن‌ها شود (Singh *et al.*, 2022). تحت شرایط تنش کروم، تجمع آنتوسیانین‌ها به‌عنوان یک مکانیزم دفاعی برای

همچنین، مطالعات نشان می‌دهند که تنش فلزات سنگین می‌تواند با تغییر در ترکیبات رنگدانه‌ای موجب کمرنگ شدن گل‌ها و کاهش

آنتوسیانین در برگ گیاهان تحت تنش فلزات سنگین شده است (Moradi-Choghamarani & Ghorbani, 2024). در تحقیق حاضر از کاهوی برگ بنفش استفاده شده بود که این به خاطر وجود آنتوسیانین می‌باشد و تحمل بیشتر این کاهو به خاطر وجود آنتوسیانین بود. اسید فولویک می‌تواند با بهبود جذب عناصر معدنی ضروری مثل فسفر موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین شود.

خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و کاهش آسیب اکسیداتیو افزایش می‌یابد و همچنین با کلات نمودن عناصر سنگین باعث کاهش سمیت آن‌ها و باعث محافظت از ساختار سلول می‌شود (Abbaszadeh-Dahaji *et al.*, 2019). علاوه بر این، این ترکیبات نقش ضدویروسی، ضدباکتریایی و ضدقارچی در گیاهان دارند و مقاومت آن‌ها را در برابر پاتوژن‌ها تقویت می‌کنند (Etesami & Adl, 2020). در پژوهش‌های اخیر، استفاده از اسید فولویک و اسید هیومیک به‌طور متوسط باعث افزایش ۳۵ درصدی محتوای

جدول ۲ - تجزیه واریانس تاثیر کروم و اسید فولویک بر صفات متابولیت‌های ثانویه و بیوشیمیایی کاهو

Table 2- Analysis of variance (ANOVA) for the effects of chromium (Cr) and fulvic acid (FA) on secondary metabolites and biochemical traits of red leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Little Gem).

منابع تغییرات S.O.V	df	آنتوسیانین Anthocyanine	قند محلول Soluble sugars	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	میانگین مربعات Mean Squares					
					کروم Chromium	نیتروژن Nitrogen	فسفر Phosphorus	پتاسیم Potassium	پراکسید هیدروژن H ₂ O ₂	آسکوربات پراکسیداز APX activity
کروم Cr	2	235.624**	0.001 ^{ns}	36.276*	2694.778**	42.41**	3.89**	49.54**	0.002**	0.226**
اسید فولویک FA	1	625.567**	0.007**	65.472**	445.137**	312.4**	1.70**	156.5**	5.104**	0.026**
کروم × اسید فولویک FA × Cr	2	8.444**	7.292 ^{ns}	11.927**	280.932**	14.53 ^{ns}	0.213**	25.84**	1.792 ^{ns}	0.005 ^{ns}
خطا Error	18	18.377	0.001	1.412	9.60	8.36	0.068	7.84	6.069	15.61
ضریب تغییرات (%)CV	-	12.01	0.74	5	0.18	11.6	5.5	6.72	22.85	3.49

^{ns}, ** و * به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.
^{ns}, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

غلظت کروم در محلول غذایی، مقدار قند محلول برگ به طور معنی‌داری افزایش یافت. بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها گیاهان تیمار شده با اسید فولویک نسبت به گیاهان شاهد، در حدود ۲۷٪ محتوای قند محلول کمتری داشتند (شکل ۴). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که اسید فولویک با تنظیم فعالیت آنزیم‌های کلیدی

قند محلول: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تیمار اسید فولویک تأثیر معنی‌داری بر محتوای قند محلول داشت، در حالی که اثر متقابل کروم و اسید فولویک و همچنین اثر ساده کروم معنی‌دار نبود. بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، با افزایش

نشت الکترولیت و بهبود شاخص‌های رشدی شد (Hamad *et al.*, 2023).

محتوای کروم: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده و متقابل تیمار کروم و اسید فولویک، محتوای کروم برگ‌ها را به طور معناداری تحت تأثیر قرار داد. با افزایش غلظت کروم در محلول غذایی، مقدار کروم در برگ کاهو که با اسید فولویک تیمار نشده بودند افزایش یافت. اما گیاهانی که دارای اسید فولویک بودند، جذب کمتری از کروم را نشان دادند (شکل ۵). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که اسید فولویک با تشکیل ساختمان‌های پایدار با فلزات سنگین مثل کروم، از جذب آن توسط ریشه جلوگیری می‌کند (Zhu *et al.*, 2024). این ترکیب هیومیکی با تحریک ترشحات ریشه و تغییر pH ریزوسفر، جذب کروم را کاهش می‌دهد (Kazemi *et al.*, 2024). در پژوهشی بر روی گیاهان خانواده کلم، کاربرد اسید فولویک منجر به کاهش ۴۰ درصدی جذب کروم نسبت به تیمار شاهد شد (Alsudays *et al.*, 2024). این مکانیسم ناشی از رقابت بین گروه‌های عاملی اسید فولویک (مانند کربوکسیل و هیدروکسیل) و دیواره سلولی ریشه برای جذب کروم است. همچنین، اسید فولویک با افزایش فعالیت آنزیم‌های دتوکسیفیکاسیون در ریشه، سمیت کروم را خنثی می‌کند (Nikoogoftar-Sedghi *et al.*, 2024).

محتوای نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ: بر اساس نتایج (جدول ۲)، اثر ساده غلظت کروم و اسید فولویک بر میزان نیتروژن برگ از نظر آماری معنی‌دار بود. در حالی که محتوای فسفر و پتاسیم برگ به طور معنی‌داری متأثر از اثر ساده و متقابل کروم و اسید فولویک قرار گرفت. در (شکل ۴) با افزایش غلظت کروم در محلول غذایی، مقدار نیتروژن در برگ‌ها ۱۹ درصد کاهش یافت. مقدار فسفر کل برگ با افزایش غلظت کروم در محلول غذایی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بیش‌ترین مقدار فسفر برگ (۵/۵۳ میلی گرم بر گرم وزن خشک) در گیاهان تغذیه شده با غلظت صفر میلی گرم در لیتر کروم و اسید فولویک در حدود ۱۸ درصد بیش‌تر از گیاهان تغذیه شده با کروم ۱۵ میلی گرم در لیتر و بدون کاربرد اسید فولویک بود و روند تغییرات مقدار پتاسیم برگ مشابه مقدار فسفر بود (شکل ۵). این کاهش نشان می‌دهد که حضور فلز سنگین کروم، تأثیر منفی بر فرآیندهای جذب و انتقال نیتروژن در گیاهان دارد. مطالعات اخیر نشان دادند که فلزات سنگین، به‌ویژه کروم در حالت شش ظرفیتی، با اختلال در فعالیت آنزیم‌های نیتروژنی، میزان نیتروژن قابل جذب برای گیاهان را کاهش می‌دهند (Elkelish *et al.*, 2024). این اثر احتمالاً ناشی از تداخل کروم در مکانیسم‌های ترشح و فعالیت آنزیم‌های کلیدی متابولیسم نیتروژن، مانند نیترات ردوکتاز است. این تداخل می‌تواند فرآیندهای نیتروژنی را مختل کرده و به کاهش غلظت نیتروژن در بافت‌های گیاهی منجر شود (Dey *et al.*, 2023).

در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، نظیر اینورتاز، بر تجمع قندهای محلول تأثیر می‌گذارد. به طوری که، در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین، افزایش فعالیت آنزیم اینورتاز به دلیل کاربرد اسید فولویک منجر به تجزیه سریع‌تر ساکارز و انباشت گلوکز و فروکتوز می‌شود (AbaszadehFaruji *et al.*, 2023). این فرآیند ممکن است به‌عنوان مکانیسمی برای جبران هزینه‌های انرژی ناشی از تنش کروم عمل کند. از سوی دیگر، افزایش قندهای محلول در گیاهان بدون کاربرد اسید فولویک می‌تواند نشان‌دهنده پاسخ دفاعی گیاه به تنش اکسیداتیو ناشی از اسید فولویک باشد (Ambika *et al.*, 2022). همچنین، مواد هیومیکی مانند اسید فولویک با تعدیل عناصر غذایی و بهبود کارایی فتوسنتز، الگوی متابولیسم گیاهان را تغییر می‌دهند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که اسید فولویک با کاهش جذب کروم توسط ریشه، از تخریب آنزیم‌های مرتبط با چرخه کالوین جلوگیری کرده و در نتیجه، تجمع غیرطبیعی قندهای محلول را کاهش می‌دهند (Luo *et al.*, 2023). باتوجه به این، در گیاهان سویای تیمار شده با اسید فولویک تحت تنش کروم، محتوای قند محلول تا ۲۰ درصد کمتر از گیاهان شاهد گزارش شده است (AbaszadehFaruji *et al.*, 2023).

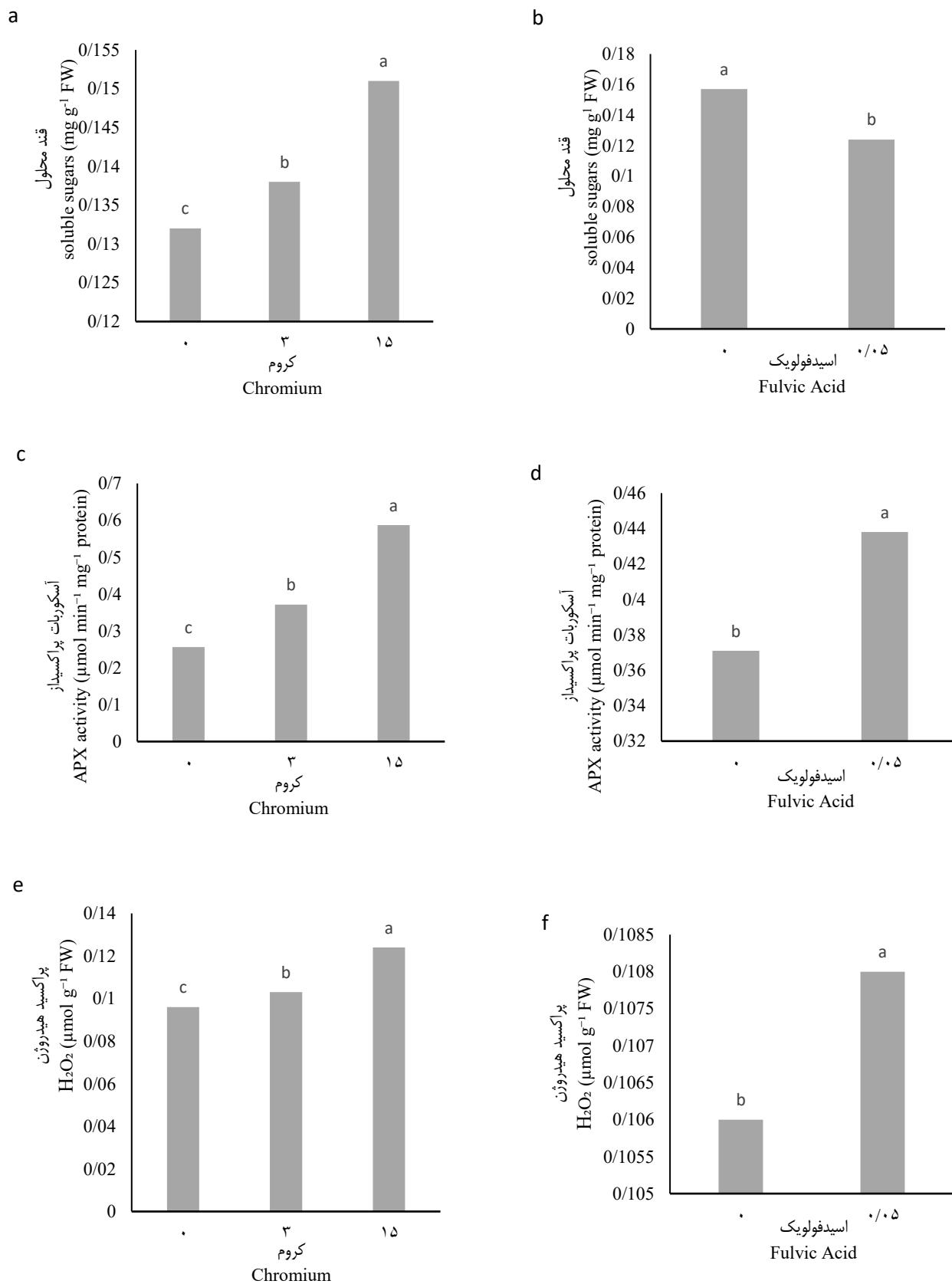
نشت الکترولیت: نتایج (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثر ساده و متقابل تیمار کروم و اسید فولویک درصد نشت الکترولیت برگ را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داده. بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، با تشدید تنش کروم، درصد نشت الکترولیت برگ کاهو افزایش یافت. از سوی دیگر، بررسی اثر ترکیبی تیمار کروم و اسید فولویک نشان داد که این ترکیب هیومیکی توانست درصد نشت الکترولیت را در گیاهان تیمار شده با غلظت بالای کروم و بدون کاربرد اسید فولویک نسبت به گیاهان تغذیه شده با محلول غذایی فاقد اسید فولویک در حدود ۲۳ درصد کاهش دهد (شکل ۵). مطالعات اخیر تأیید کرده‌اند که مواد هیومیکی مانند اسید فولویک با بهبود یکپارچگی غشای سلولی و فعال‌سازی پمپ‌های ATPase، نشت یونی را مهار می‌کنند (Zhang *et al.*, 2024). در گیاهان تحت تنش کروم، کاربرد اسید فولویک منجر به کاهش ۳۰ درصدی نشت الکترولیت و افزایش مقاومت غشای سلولی شد (Hu *et al.*, 2023). کاهش نشت یونی نشان‌دهنده حفظ ساختار غشای سیتوپلاسمی و کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین است. اسید فولویک با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز) و بهبود ذخیره رطوبت در بافت‌های گیاهی، مقاوم سلول‌ها را در شرایط تنش افزایش می‌دهد (Talabany & Albarzinji, 2023). در پژوهش‌های مشابه، کاربرد همزمان اسید فولویک و اسید هیومیک در گیاه شمعدانی باعث کاهش ۲۵ درصدی

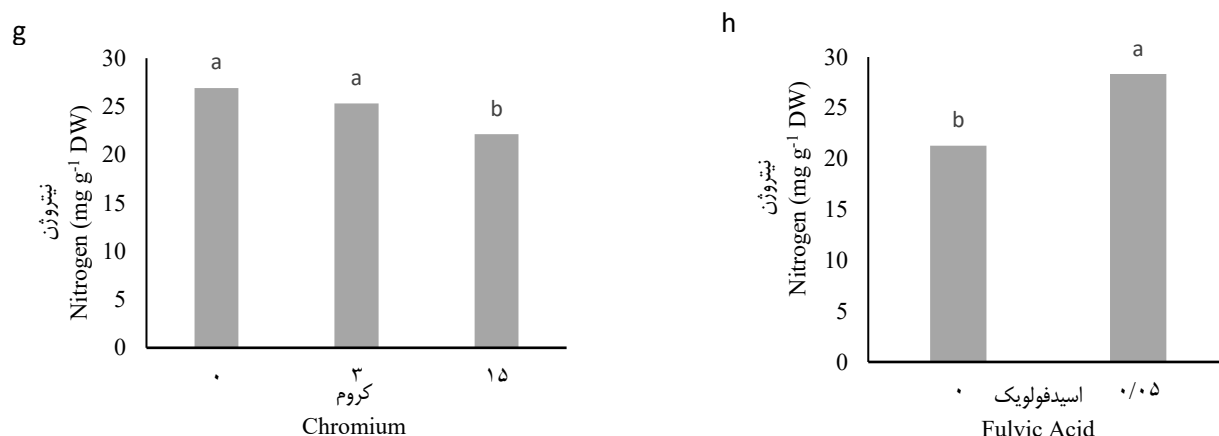
سنگین مانند کروم، تولید پراکسید هیدروژن در بافت‌های گیاهی به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (Vishnupradeep *et al.*, 2022). پراکسید هیدروژن به عنوان یکی از پایدارترین گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در تنظیم فرآیندهای حیاتی از جمله پاسخ به تنش و رشد گیاه نقش دارد. با این حال، در شرایط تنش، عدم تعادل بین تولید و تجزیه ROS منجر به آسیب به ماکرومولکول‌های سلولی می‌شود (Singh *et al.*, 2023). در گیاهان تحت تنش کروم، افزایش پراکسید هیدروژن عمدتاً ناشی از اختلال در زنجیره انتقال الکترون و فعال‌سازی آنزیم‌های اکسیداتیو مانند NADPH اکسیداز است (Iyer *et al.*, 2023). از سوی دیگر، اسید فولیک با تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز و کاهش تجمع ROS، اثرات منفی تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهد. این ترکیب هیومیکی با بهبود جذب عناصر ریزمغذی مانند آهن و منگنز که در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه نقش دارند، مقاومت گیاهان در برابر فلزات سنگین را افزایش می‌دهد (Lv *et al.*, 2024).

آنزیم آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده تیمار کروم و اسید فولیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود، در حالی که اثر متقابل این دو تیمار غیرمعنی‌دار شد. تنش کروم باعث کاهش معنی‌دار فعالیت در گیاه کاهوی قرمز گردید. این یافته بیانگر آن است که هر یک از این عوامل به‌طور مستقل بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه اثر می‌گذارند و احتمالاً مکانیسم‌های جداگانه‌ای در تنظیم فعالیت این آنزیم دخیل هستند. با این حال، تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که تنش کروم در گیاه گندم موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز می‌شود که به دلیل افزایش تولید رادیکال‌های آزاد (ROS) در شرایط تنش است (Ashraf *et al.*, 2022). این افزایش فعالیت آنزیمی به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی برای خنثی‌سازی گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش آسیب اکسیداتیو تفسیر می‌شود. مطالعات دیگر نیز نشان می‌دهند که مواد هیومیکی مانند اسید فولیک با تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با سیستم آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز را افزایش می‌دهند. در بررسی اثر اسید فولیک بر درختان راش، فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر این ترکیب بهبود یافت (Ahmed *et al.*, 2024).

همچنین کاهش جذب نیتروژن می‌تواند سنتز پروتئین‌ها و سایر ترکیبات آلی ضروری را مختل کند و در نتیجه به ساختار و عملکرد گیاه آسیب می‌رساند. اثر متقابل کروم با سایر عوامل محیطی در شرایط کشت، بر ضرورت مدیریت بهینه نیتروژن در سیستم‌های کشاورزی برای کاهش اثرات منفی فلزات سنگین تأکید دارد (Hussain *et al.*, 2019). مقدار فسفر کل برگ با افزایش غلظت کروم در محلول غذایی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بیش‌ترین مقدار فسفر برگ (۵/۵۳ میلی گرم بر گرم وزن خشک) در گیاهان تغذیه شده با غلظت صفر میلی گرم در لیتر کروم و اسید فولیک در حدود ۱۸ درصد بیش‌تر از گیاهان تغذیه شده با کروم ۱۵ میلی گرم در لیتر و بدون کاربرد اسید فولیک بود. روند تغییرات مقدار پتاسیم برگ مشابه مقدار فسفر بود (شکل ۵). مطالعات نشان داده است که کروم به عنوان یک فلز سنگین غیرضروری برای گیاه، با رقابت برای کلنل‌های پروتئینی یون و تشکیل کمپلکس‌های غیرقابل جذب در ریزوسفر مانع جذب فسفر و سایر عناصر مپرمصرف مانند پتاسیم می‌شود دارد (Hussain *et al.*, 2019). اسید فولیک با داشتن گروه‌های عاملی فعال مانند کربوکسیل و هیدروکسیل می‌تواند یون‌های مواد معدنی را کلاته کند و از واکنش آن‌ها با ترکیبات نامحلول جلوگیری کند. این فرآیند باعث می‌شود یون‌های نیتروژن، فسفر و پتاسیم به شکل محلول و قابل جذب برای ریشه باقی بمانند و راحت‌تر وارد گیاه شوند. همچنین اسید فولیک باعث تحریک رشد ریشه‌ها از قبیل افزایش طول ریشه، تعداد ریشه‌های جانبی و سطح فعال ریشه‌ها می‌شود و گیاهی که ریشه توسعه‌یافته‌تری دارد، ظرفیت جذب بیشتری برای نیتروژن، فسفر و پتاسیم خواهد داشت (Zhang *et al.*, 2022).

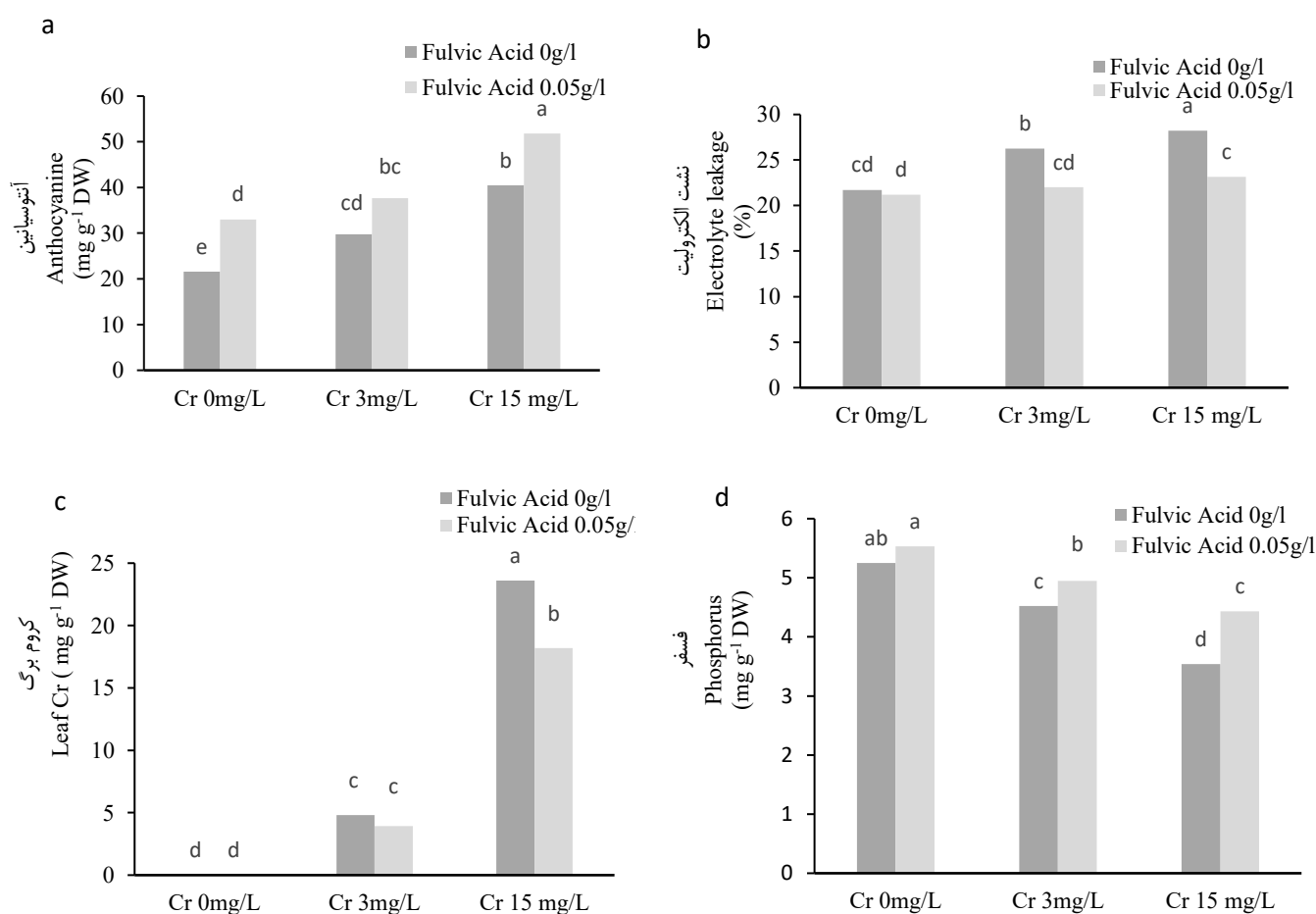
محتوای پراکسید هیدروژن: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده تیمار کروم و اسید فولیک بر تجمع پراکسید هیدروژن معنی‌دار بود، اما اثر متقابل این دو تیمار معنی‌دار نشد. تنش ناشی از کروم، غلظت پراکسید هیدروژن را در برگ‌های گیاهان به طور معنی‌داری افزایش داد (شکل ۴). پراکسید هیدروژن در غلظت‌های پایین به‌عنوان یک مولکول سیگنالی در فرآیندهای حیاتی سلول عمل می‌کند، اما تجمع بیش از حد آن می‌تواند به سمیت سلولی و تشدید تنش اکسیداتیو منجر شود. این ترکیب به‌عنوان یک شاخص کلیدی در ارزیابی شدت تنش در گیاهان شناخته می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تحت تنش فلزات

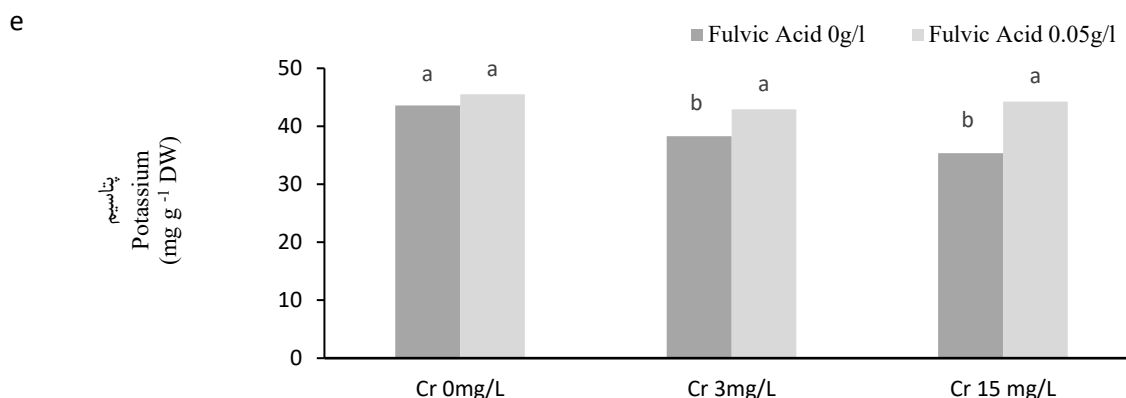




شکل ۴- مقایسه میانگین اثر ساده کروم و اسید فولویک بر (a, b) قند محلول، (c, d) آسکوربات پراکسیداز، (e, f) پراکسید هیدروژن، (g, h) نیتروژن گیاه کاهوی قرمز براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($p \leq 0.05$). حروف آماری مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.

Figure 4- Comparison of mean simple effects of chromium and fulvic acid on (a, b) soluble sugar content, (c, d) ascorbate peroxidase (APX) activity, (e, f) hydrogen peroxide (H₂O₂) content, and (g, h) nitrogen content of red lettuce plants based on Duncan's multiple range test ($p \geq 0.05$). Different letters indicate significant differences between treatments, while the same letters within each column indicate no significant difference.





شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل کروم و اسید فولویک بر (a) آنتوسانین، (b) نشت الکترولیت، (c) کروم برگ، (d) فسفر، (e) پتاسیم گیاه کاهوی قرمز براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($p \leq 0.05$). حروف آماری مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است.

Figure 5- Comparison of the mean interactive effects of chromium and fulvic acid on (a) anthocyanin, (b) electrolyte leakage, (c) leaf chromium, (d) phosphorus, and (e) potassium of red lettuce based on Duncan's multiple range test ($p \geq 0.05$). Similar letters in each column indicate no significant difference between treatments.

هیدروژن و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش نشان داد. کاربرد اسید فولویک باعث بهبود هدایت روزنه‌ای، افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و بهبود رشد کاهو گردید و اثرات سمی ناشی از کروم را کاهش داد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که اسید فولویک می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر و سازگار با محیط‌زیست برای کاهش اثرات تنش فلزات سنگین و بهبود رشد و عملکرد گیاهان در شرایط آلودگی مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت کروم در محلول غذایی، خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی از قبیل وزن خشک اندام هوایی و ریشه، هدایت روزنه‌ای برگ، محتوای کلروفیل کل، نیتروژن، فسفر و پتاسیم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، در حالی که خصوصیات بیوشیمیایی نظیر نشت الکترولیت، پراکسید

منابع

- AbaszadehFaruji, R., Shoor, M., Tehranifar, A., & Abedy, B. (2023). Study of growth traits of *Scindapsus* spp. as influenced by fertigation of humic acid and folvic acid. <https://doi.org/10.22067/jhs.2021.61456.0>
- Abbaszadeh-Dahaji, P., Baniasad-Asgari, A., & Hamidpour, M. (2019). The effect of Cu-resistant plant growth-promoting rhizobacteria and EDTA on phytoremediation efficiency of plants in a Cu-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(31), 31822–31833. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06334-0>
- Ahmed, M., Chen, K.-Y., Tsao, F.-Y., Hsieh, Y.-C., Liu, Y.-T., & Tzou, Y.-M. (2024). Promotion of phosphate release from humic acid-iron hydroxide coprecipitates in the presence of citric acid. *Environmental Research*, 240, 117517. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117517>
- Ali, S., Bharwana, S. A., Rizwan, M., Farid, M., Kanwal, S., Ali, Q., Ibrahim, M., Gill, R. A., & Khan, M. D. (2015). Fulvic acid mediates chromium (Cr) tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) through lowering of Cr uptake and improved antioxidant defense system. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(14), 10601–10609. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4271-7>
- Alsudays, I. M., Alshammary, F. H., Alabdallah, N. M., Alatawi, A., Alotaibi, M. M., Alwutayd, K. M., Alharbi, M. M., Alghanem, S. M., Alzuair, F. M., & Gharib, H. S. (2024). Applications of humic and fulvic acid under saline soil conditions to improve growth and yield in barley. *BMC Plant Biology*, 24(1), 191. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-04863-6>
- Ambika, S., Kumar, M., Pisharody, L., Malhotra, M., Kumar, G., Sreedharan, V., Singh, L., Nidheesh, P., & Bhatnagar, A. (2022). Modified biochar as a green adsorbent for removal of hexavalent chromium from various environmental matrices: mechanisms, methods, and prospects. *Chemical Engineering Journal*, 439, 135716. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135716>
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1), 1. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Ashraf, M. A., Rasheed, R., Hussain, I., Iqbal, M., Farooq, M. U., Saleem, M. H., & Ali, S. (2022). Taurine modulates dynamics of oxidative defense, secondary metabolism, and nutrient relation to mitigate boron and chromium toxicity in *Triticum aestivum* L. plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(30), 45527–45548. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19066-5>
- Canellas, L. P., Canellas, N. O., da S. Irineu, L. E. S., Olivares, F. L., & Piccolo, A. (2020). Plant chemical priming by humic acids. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 7(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s40538-020-00178-4>

- Chen, Q., Qu, Z., Ma, G., Wang, W., Dai, J., Zhang, M., Wei, Z., & Liu, Z. (2022). Humic acid modulates growth, photosynthesis, hormone and osmolytes system of maize under drought conditions. *Agricultural Water Management*, 263, 107447. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107447>
- Dey, S. R., Sharma, M., & Kumar, P. (2023). Effects and responses of chromium on plants. In *Chromium in Plants and Environment* (pp. 385–427). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-031-44029-8_14
- Elkelish, A., Alhudhaibi, A. M., Hossain, A. S., Haouala, F., Alharbi, B. M., El-Banna, M. F., Rizk, A., Badji, A., AlJwaizea, N. I., & Sayed, A. A. (2024). Alleviating chromium-induced oxidative stress in *Vigna radiata* through exogenous trehalose application: insights into growth, photosynthetic efficiency, mineral nutrient uptake, and reactive oxygen species scavenging enzyme activity enhancement. *BMC Plant Biology*, 24(1), 460. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05152-y>
- Escudero-Villa, P., Núñez-Sánchez, J., Núñez-Sánchez, L., Silva-Merchán, D., & Paredes-Fierro, J. (2024). Bioaccumulation of hexavalent chromium in lettuce (*Lactuca sativa* L.) and Swiss chard (*Beta vulgaris* var. cicla). *Urban Agriculture & Regional Food Systems*, 9(1), e20057. <https://doi.org/10.1002/uar2.20057>
- Etesami, H., & Adl, S. M. (2020). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and their action mechanisms in availability of nutrients to plants. *Phyto-Microbiome in stress regulation*, 147–203. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2576-6_9
- Franzoni, G., & Ferrante, A. (2024). Plant extract improves quality traits of green and red lettuce cultivars. *Heliyon*, 10(20). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e39224>
- Gupta, P., Kumar, V., Usmani, Z., Rani, R., Chandra, A., & Gupta, V. K. (2020). Implications of plant growth promoting *Klebsiella* sp. CPSB4 and *Enterobacter* sp. CPSB49 in luxuriant growth of tomato plants under chromium stress. *Chemosphere*, 240, 124944. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124944>
- Hamad, A., Abdulmajeed, A., & Abdulrazzaq, Z. (2023). Effect of organic and mineral fertilization and humic acid application on increasing the flavonoid content in *Moringa oleifera* leaves. *SABRAO J. Breed. Genet.*, 55(4), 1435–1442. <http://doi.org/10.54910/sabao2023.55.4.36>
- Hejman, M., Berková, M., & Kunzová, E. (2013). Effect of long-term fertilizer application on yield and concentrations of elements (N, P, K, Ca, Mg, As, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn) in grain of spring barley. *Plant, Soil and Environment*, 59(7), 329–334. <http://doi.org/10.17221/159/2013-PSE>
- Hemati, A., Alikhani, H. A., Babaei, M., Ajdanian, L., Asgari Lajayer, B., & van Hullebusch, E. D. (2022). Effects of foliar application of humic acid extracts and indole acetic acid on important growth indices of canola (*Brassica napus* L.). *Scientific Reports*, 12(1), 20033. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21997-5>
- Hu, S., Zhang, H., Yang, Y., Wang, W., Zhou, W., Shen, X., & Liu, C. (2023). Reductive sequestration of Cr (VI) and immobilization of C during the microbially mediated transformation of ferrihydrite-Cr (VI)-fulvic acid coprecipitates. *Environmental Science & Technology*, 57(22), 8323–8334. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c09803>
- Hussain, S., Khaliq, A., Noor, M. A., Tanveer, M., Hussain, H. A., Hussain, S., Shah, T., & Mehmood, T. (2019). Metal toxicity and nitrogen metabolism in plants: an overview. *Carbon and nitrogen cycling in soil*, 221–248. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7264-3_7
- Iyer, M., Anand, U., Thiruvengataswamy, S., Babu, H. W. S., Narayanasamy, A., Prajapati, V. K., Tiwari, C. K., Gopalakrishnan, A. V., Bontempi, E., & Sonne, C. (2023). A review of chromium (Cr) epigenetic toxicity and health hazards. *Science of The Total Environment*, 882, 163483. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163483>
- Kazemi, S., Pirmoradi, M. R., Raghani, M., & Malekzadeh, M. R. (2024). Enhancing the absorption of microelements by applying humic acid and zinc sulfate in *Physalis alkekengi*: Improve chlorophyll content and fruit quality. *Greenhouse Plant Production Journal*, 46–82. <https://doi.org/10.61186/gppj.1.3.68>
- Keskin, B., Akhoundnejad, Y., Dasgan, H. Y., & Gruda, N. S. (2025). Fulvic Acid, Amino Acids, and Vermicompost Enhanced Yield and Improved Nutrient Profile of Soilless Iceberg Lettuce. *Plants*, 14(4), 609. <https://doi.org/10.3390/plants14040609>
- Khilji, S. A., Sajid, Z. A., Fayyaz, S., Shah, A. A., Shah, A. N., Rauf, M., Arif, M., Yang, S. H., & Fiaz, S. (2022). Fulvic acid alleviates paper sludge toxicity in canola (*Brassica napus* L.) by reducing Cr, Cd, and Pb uptake. *Frontiers in Plant Science*, 13, 874723. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.874723>
- Kumar, R., Ivy, N., Bhattacharya, S., Dey, A., & Sharma, P. (2022). Coupled effects of microplastics and heavy metals on plants: Uptake, bioaccumulation, and environmental health perspectives. *Science of the Total Environment*, 836, 155619. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155619>
- Liang, J., Huang, X., Yan, J., Li, Y., Zhao, Z., Liu, Y., Ye, J., & Wei, Y. (2021). A review of the formation of Cr (VI) via Cr (III) oxidation in soils and groundwater. *Science of The Total Environment*, 774, 145762. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145762>
- Luo, L., Yang, C., Jiang, X., Guo, W., Ngo, H. H., & Wang, X. C. (2023). Impacts of fulvic acid and Cr (VI) on metabolism and chromium removal pathways of green microalgae. *Journal of Hazardous Materials*, 459, 132171. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132171>
- Lutts, S., Kinet, J., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of botany*, 78(3), 389–398. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134>
- Lv, X., Li, Q., Deng, X., Ding, S., Sun, R., Chen, S., Yun, W., Dai, C., & Luo, B. (2024). Fulvic acid application increases rice seedlings performance under low phosphorus stress. *BMC Plant Biology*, 24(1), 703. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05435-4>
- Moradi-Choghamarani, F., & Ghorbani, F. (2024). Investigating the carcinogenic and non-carcinogenic health hazards of heavy metal ions in *Spinacia oleracea* grown in agricultural soil treated with biochar and humic acid. *Environmental Geochemistry and Health*, 46(9), 325. <https://doi.org/10.1007/s10653-024-02110-3>

- Nakano, Y., & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and cell physiology*, 28(1), 131–140. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077268>
- Nikoogoftar-Sedghi, M., Rabiei, V., Razavi, F., Molaei, S., & Khadivi, A. (2024). Fulvic acid foliar application: a novel approach enhancing antioxidant capacity and nutritional quality of pistachio (*Pistacia vera* L.). *BMC Plant Biology*, 24(1), 241. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-04974-0>
- Rahbari, M., Psutka, J., Black, B., & Hesami, M. (2025). Biochemical insights into fulvic acid-driven drought tolerance in canola. *Plant Stress*, 101210. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2025.101210>
- Rahman, Z., Thomas, L., Chetri, S. P., Bodhankar, S., Kumar, V., & Naidu, R. (2023). A comprehensive review on chromium (Cr) contamination and Cr (VI)-resistant extremophiles in diverse extreme environments. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(21), 59163–59193. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26624-y>
- Redoy, M. H., Al Mamun, M., Cooley, A. L., Darby, E., & Islam, T. (2025). Enhancing nitrogen uptake efficiency and tomato plant growth in soilless substrates using fulvic acids and mycorrhizal biostimulants. *Scientia Horticulturae*, 348, 114212. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.114212>
- Sarwar, M. J., Shabaan, M., Asghar, H. N., Ayyub, M., Ali, Q., Zulfikar, U., Nazim, M., Alarjani, K. M., & Elshikh, M. S. (2023). Interaction of chromium (Cr) resistant plant growth promoting rhizobacteria with compost to phytostabilize Cr in spinach rhizosphere. *Plant Stress*, 10, 100261. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100261>
- Sergiev, I., Alexieva, V., & Karanov, E. (1997). Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Compt Rend Acad Bulg Sci*, 51(3), 121–124. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- Shahrajabian, M. H., & Sun, W. (2024). The importance of salicylic acid, humic acid and fulvic acid on crop production. *Letters in Drug Design & Discovery*, 21(9), 1465–1480. <https://doi.org/10.2174/1570180820666230411102209>
- Shanker, A. K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., & Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment international*, 31(5), 739–753. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.02.003>
- Sharma, R., Bhattu, M., Tripathi, A., Verma, M., Acevedo, R., Kumar, P., Rajput, V. D., & Singh, J. (2023). Potential medicinal plants to combat viral infections: A way forward to environmental biotechnology. *Environmental Research*, 227, 115725. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115725>
- Singh, P., Singh, R. K., Zhou, Y., Wang, J., Jiang, Y., Shen, N., Wang, Y., Yang, L., & Jiang, M. (2022). Unlocking the strength of plant growth promoting *Pseudomonas* in improving crop productivity in normal and challenging environments: a review. *Journal of Plant Interactions*, 17(1), 220–238. <https://doi.org/10.1080/17429145.2022.2029963>
- Singh, V., Abhishek, K., Nand Rai, S., Singh, S. K., Vamanu, E., & Kumar, A. (2023). Source of Cr (VI) in the aquatic ecosystem, its genotoxic effects and microbial removal from contaminated water. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 16(1), 2267079. <https://doi.org/10.1080/17518253.2023.2267079>
- Sun, S., Liu, A., Li, Z., Guo, T., Chen, S., & Ahammed, G. J. (2023). Anthocyanin synthesis is critical for melatonin-induced chromium stress tolerance in tomato. *Journal of Hazardous Materials*, 453, 131456. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131456>
- Talabany, N. K., & Albarzinji, I. M. (2023). Effects of salicylic acid on some growth and physiological characteristics of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under cadmium stress conditions. *Science Journal of University of Zakho*, 11(1), 37–44. <https://doi.org/10.25271/sjuoz.2023.11.1.987>
- Vishnupradeep, R., Bruno, L. B., Taj, Z., Karthik, C., Challabathula, D., Kumar, A., Freitas, H., & Rajkumar, M. (2022). Plant growth promoting bacteria improve growth and phytostabilization potential of *Zea mays* under chromium and drought stress by altering photosynthetic and antioxidant responses. *Environmental Technology & Innovation*, 25, 102154. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102154>
- Wu, S., Zhang, X., Chen, B., Wu, Z., Li, T., Hu, Y., Sun, Y., & Wang, Y. (2016). Chromium immobilization by extraradical mycelium of arbuscular mycorrhiza contributes to plant chromium tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 122, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.08.006>
- Zhang, M., Li, X., Wang, X., Feng, J., & Zhu, S. (2023). Potassium fulvic acid alleviates salt stress of citrus by regulating rhizosphere microbial community, osmotic substances and enzyme activities. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1161469. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1161469>
- Zhang, Y., Wang, C., Gao, Y., Zhao, L., Xi, B., & Tan, W. (2024). Structure and composition of rhizosphere-soil humic acid and fulvic acid as affected by the land-use change from paddy to upland fields. *Sustainable Horizons*, 10, 100097. <https://doi.org/10.1016/j.horiz.2024.100097>
- Zhang, Y., Zhang, X., Wen, J., Wang, Y., Zhang, N., Jia, Y., Su, S., Wu, C., & Zeng, X. (2022). Exogenous fulvic acid enhances stability of mineral-associated soil organic matter better than manure. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(7), 9805–9816. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16382-0>
- Zhu, Y., Zhang, X., Zhou, W., Qi, L., Yang, J., Chen, F., Li, Z., & Guan, C. (2024). Synergistic contributions of plant growth-promoting rhizobacteria and exogenous fulvic acid to enhance phytoremediation efficiency of perfluorooctanoic acid (PFOA)-contaminated soils: Boosting PFOA bioavailability and elevating pak choi tolerance. *Science of The Total Environment*, 955, 176862. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176862>