Crop Biotechnology Open Access

Summer (2025) 14 (4): 57-68
DOI: 10.30473/cb.2025.74198.2006

ORIGINAL ARTICLE

The effect of 24-epibrassinolide on chlorophyll parameters, physiological and biochemical traits of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under salt stress

Seyed Hassan Mousavi[1], Zeinab Chaghakaboodi[2], Mohammadreza Imani[2], Faranak Ranjbar[3]

1. Assistant Professor , Greenhouse and Controlled Environments Research Institute, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Plant Production Engineering and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran.

Correspondence:
Zeinab Chaghakaboodi
Email: z.chaghakaboodi@razi.ac.ir

Received: 1, Apr. 2025
Accepted: 9, Jun. 2025

How to cite:
Chaghakaboodi, Z., Mousavi, S. H., Imani, M., & Ranjbar, F. (2025). The effect of 24-epibrassinolide on chlorophyll parameters, physiological and biochemical traits of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under salt stress. *Crop Biotechnology*, 14 (4), 57 -68.
(DOI: 10.30473/cb.2025.74198.2006)

ABSTRACT

Salinity stress negatively affects plant growth and productivity by causing ion toxicity, osmotic stress, and hormonal imbalances. With the expansion of greenhouse-based vegetable production, identifying genotypes tolerant to abiotic stresses such as salinity is essential for sustainable agriculture. This study assessed the salinity tolerance of three promising lettuce lines (20, 7, and 4), the local cultivar ‘Setareh, ’ and two foreign cultivars, ‘Lolarosa’ and ‘Mignonette, ’ under controlled greenhouse conditions. A factorial experiment was conducted in a completely randomized design with four replications at Razi University, Kermanshah, during the 2023–2024 growing season. Plants were exposed to increasing salinity levels (0, 10/5, 20/10, and 30/15 mM NaCl/CaCl$_2$) at the 3–4 leaf stage. Physiological and biochemical traits evaluated included chlorophyll fluorescence (Fv/Fm, Y(PSII)), leaf greenness, total soluble sugars, phenols, and flavonoids. Results showed a significant reduction in photosynthetic efficiency (Fv/Fm and Y(PSII)) with increasing salinity, reflecting a decline in growth. However, salinity stress also triggered a notable increase in osmoprotectants (soluble sugars) and secondary metabolites (phenols and flavonoids), indicating an antioxidant defense response. These findings reveal genotype-specific differences in salinity tolerance and offer useful insights for selecting lettuce cultivars better suited to saline environments.

KEYWORDS

SPAD, Total soluble sugar content, Flavonoid content, (*Lacttuca sativa* L.).

© 2025, by the author(s). Published by Payame Noor University, Tehran, Iran.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).
https://cropbiotech.journals.pnu.ac.ir/

زیست‌فناوری گیاهان زراعی

سال چهاردهم، شماره چهارم، پیاپی ۵۰، تابستان ۱۴۰۴ (۶۸-۵۷)

DOI: 10.30473/cb.2025.74198.2006

«مقاله پژوهشی»

اثر ۲۴-اپی براسینولید بر پارامترهای کلروفیل سبزینه، صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) تحت تنش شوری

سیدحسن موسوی[۱]، زینب چقاکبودی[۲]، محمدرضا ایمانی[۲]، فرانک رنجبر[۳]

۱. استادیار، پژوهشکده گلخانه و محیطهای کنترل‌شده، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۲. استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع‌طبیعی، دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۳. استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع‌طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران .

نویسنده مسئول:
زینب چقاکبودی
رایانامه: z.chaghakaboodi@razi.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۹

استناد به این مقاله:
موسوی، سید حسن؛ چقاکبودی، زینب؛ ایمانی، محمدرضا و رنجبر، فرانک (۱۴۰۴). اثر ۲۴-اپی براسینولید بر پارامترهای کلروفیل سبزینه، صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) تحت تنش شوری، *فصلنامه علمی زیست‌فناوری گیاهان زراعی*، ۱۴ (۴)، ۶۸ -۵۷.
(DOI: 10.30473/cb.2025.74198.2006)

چکیده

تنش شوری بر رشد و بهره‌وری گیاهان تأثیر می‌گذارد و باعث سمیت یونی، اختلال در جذب آب و تغییرات در تعادل هورمونی می‌شود. با توجه به انتقال تولید سبزیجات و میوه‌ها به گلخانه‌ها، انتخاب و ارزیابی ژنوتیپ‌های کاهو با صفاتی مانند تحمل به گرما، شوری و خشکی برای دستیابی به اهداف تولید ضروری است. لذا در این پروژه جهت شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به شوری ازژنوتیپ‌های شماره ۲۰ و ۷ و ۴، همراه با رقم داخلی ستاره و ارقام خارجی لولاروزا و میگنونت آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه پردیس کشاورزی و منابع‌طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه در سال زراعی ۱۴۰۳-۱۴۰۲ انجام شد. در این بررسی، گلدان‌ها با سطوح شوری مورد نظر (شاهد (آب شیر)، غلظت (۱۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم به ۵ میلی مولار کلرید کلسیم، ۲۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم به ۱۰ میلی مولار کلرید کلسیم و ۳۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم به ۱۵ میلی مولار نمک کلرید کلسیم) آبیاری شدند. اعمال تیمارهای شوری، بعد از مرحله سه تا چهار برگی به‌طور همزمان انجام شد. صفات مختلف شامل کلروفیل فلوروسانس، محتوای سبزینگی برگ، محتوای قند محلول کل، محتوای فنل کل و محتوای فلاونوئید کل اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح شوری پارامترهای فلوروسانس کلروفیل مانند Fv/Fm (حداکثر کارایی فتوسیستم دو) وPI (شاخص فتوسنتزی) کاهش یافت که نشان‌دهنده کاهش کارایی فتوسنتزی ژنوتیپ‌های گیاه کاهو است. که این امر می‌تواند منجر به کاهش رشد و عملکرد گیاه شود. همچنین، افزایش سطوح تنش شوری باعث افزایش سطوح ترکیبات فیتوشیمیایی مانند محتوای قند محلول کل، فنل کل و محتوای فلاونوئید شد.

واژه‌های کلیدی

محتوای سبزینگی برگ، محتوای قند کل، محتوای فلاونوئید کل، کاهو.

حق انتشار این مستند، متعلق به نویسندگان آن است. ۱۴۰۴ ©. ناشر این مقاله، دانشگاه پیام نور است.

این مقاله تحت مجوز Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) منتشر شده و استفاده از آن با ارجاع صحیح مجاز است.

(http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)
https://cropbiotech.journals.pnu.ac.ir/

مقدمه

کاهو با نام علمی *Lactuca sativa* L.، یک گیاه برگی یک‌ساله، خود گشن، دیپلوئید (2n=2x=18)، محصول فصل خنک، از تیره کلاپرک‌ها یا Asteraceae، از زیر تیره شیکوریده Chicorideae و از دولپه‌ای‌ها بوده که عمدتاً در مناطق معتدله به‌خاطر برگهای خوراکی مورد کشت و کار قرار می‌گیرد (Funk et al., 2005; Lebeda et al., 2007). این گیاه با داشتن حدود ۱/۳ میلیون هکتار سطح زیر کشت در جهان یکی از سبزی‌های مهم به‌شمار می‌رود (FAO, 2024). مرکز اصلی و مبدأ اولیه کاهو در نواحی مدیترانه و جنوب غرب آسیا است (Lindquist, 1960 , DeVeris, 1997). منشأ آن از کاهوی وحشی L. serriola است (DeVries, 1997؛ Lebeda, 2004). این جنس دارای بیش از ۱۰۰ گونه و از نظر مورفولوژی دارای شش تیپ است. تیپ‌های مختلف کاهو(Romaine، Iceberg, Crisphead، Butterhead، Asparagus, Stem، Leaf cutting و Oilseed) می‌باشند (Boukema et al., ۲۰۰۷) مطابق آمارهای منتشره از سوی FAO در سال ۲۰۲۴ سطح زیر کشت کاهو بالغ بر یک میلیون و دویست‌هزار هکتار و حجم تولید این محصول بیش از ۲۸ میلیون تن اعلام شده‌است. تولید تیپ‌های مختلف کاهو طی دو دهه اخیر در دنیا از رشد ۱۱۸ درصدی برخوردار بوده است. به‌نحوی که این محصول از نظر افزایش سطح زیر کشت پس از ذرت، برنج، سیب زمینی و گوجه فرنگی در رتبه پنجم جهانی قرار گرفته است. در کشور ما نیز بر اساس آمار منتشره از سوی وزارت جهاد کشاورزی روند افزایش سطح زیر کشت این محصول طی سه سال اخیر بسیار چشمگیر بوده است، به‌گونه‌ای که سطح زیر کشت شش هزار هکتاری سال ۱۳۸۸ به ۱۵ هزار هکتار در سال ۱۴۰۱ افزایش یافته‌است (جدول ۱ و ۲).

از نظر دامنه تحمل به شوری این گیاه جزءگیاهان حساس و نیمه حساس به شوری گزارش شده است، و آب با هدایت الکتریکی دو دسی زیمنس بر متر را تحمل می‌کند. اگر چه گونه وحشی آن هدایت الکتریکی تا هشت دسی زیمنس بر متر را تحمل می‌کند.

گیاهان در طول رشد با تنش‌های زیستی و غیر زیستی متعددی مواجه می‌شوند که تنش شوری یکی از مهم‌ترین آن‌هاست (Kumar and Saddhe, 2018) و موجب کاهش عملکرد، اختلال در جذب آب، ایجاد سمیت یونی، بر هم زدن تعادل هورمونی و القای تنش اکسیداتیو می شود (Ahanger *et al*., 2013; Ashraf and Foolad, 2017). با افزایش اراضی شور و نیاز فزاینده به تولید غذا، توسعه گیاهان متحمل به شوری ضروری است .اگرچه استفاده از بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات رویکرد مؤثری است، اما پرهزینه و زمان‌بر بوده و برای همه گیاهان قابل اجرا نیست (Kataria and Verma, 2018). یکی از استراتژی‌های مقرون‌به‌صرفه، استفاده از تیمارهای پیش از کشت (شیمیایی، بیولوژیکی یا فیزیکی) است که می‌توانند پاسخ گیاه را به تنش‌های غیر زیستی بهبود بخشند .از جمله این تیمارها، استفاده از براسینواستروئیدها است که با تنظیم رشد، تقسیم سلولی و تعامل با هورمون‌های دیگر، نقش مهمی در افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری دارند (Hassanuzzaman *et al*., 2013).

جدول ۱. سطح کاشت و تولید کاهو در ایران (فائو، ۲۰۲۴)

سال	۱۳۹۶	۱۳۹۷	۱۳۹۸	۱۳۹۹	۱۴۰۰	۱۴۰۱
سطح (هزار هکتار)	14961	14877	14142	14663	14569	14457
تولید (هزار تن)	445	446	424	438	436	433
عملکرد (کیلوگرم در هکتار)	29741	29935	29993	29888	29940	29950

جدول ۲. سطح کاشت و تولید کاهو در جهان (فائو، ۲۰۲۴)

سال	2018	2019	2020	2021	2022	2023
سطح (میلیون هکتار)	1.23	1.24	1.23	1.26	1.27	1.26
تولید (میلیون تن)	27.3	27.2	27.2	28.4	28.2	28.1
عملکرد (کیلوگرم در هکتار)	21927	22064	22342	22414	22204	22265

براسینواستروئیدها تنها گروه شناخته‌شده از هورمون های استروئیدی در گیاهان هستند که در غلظت‌های بسیار پایین نیز فعال‌اند (Krishna, 2003; Kagal *et al*., 2007; Jager *et al*., 2008) و به‌طور گسترده در گونه‌های گیاهی حضور دارند .این هورمون‌ها با افزایش تحمل به تنش‌های غیر زیستی و بهبود رشد گیاه، نقش کلیدی در مسیرهای پیام‌رسانی هورمونی ایفا می‌کنند .آن ها با هورمون‌هایی نظیر آبسیزیک اسید، اکسین، سیتوکینین، اتیلن، جیبرلین، جاسمونیک اسید و سالیسیلیک اسید تعامل دارند .به‌ویژه، براسینواستروئیدها و آبسیزیک اسید از طریق نیتریک اکسید به بسته شدن روزنه‌ها و افزایش مقاومت به خشکی کمک می‌کنند .در حالی‌که براسینواستروئیدها موجب تحریک بیوسنتز آبسیزیک اسید می‌شوند، این دو هورمون در تنظیم برخی ژن‌ها هم‌افزایی دارند و در عین حال، آبسیزیک اسید می تواند به‌صورت منفی مسیر پیام‌رسانی براسینواستروئید را تعدیل کند (Planas *et al*., 2019).

در آزمایشی که به‌منظور بررسی اثر تنش شوری در گیاه کاهو انجام شد، از سطوح مختلف نمک کلرید سدیم (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی مول در لیتر) استفاده شد. نتایج آزمایش نشان داد که تنش شوری باعث کاهش عملکرد و کاهش محتوای آب نسبی برگ شد. شوری باعث تغییرات کلروفیل فلوروسنت در فتوسیستم دو شد (برس و همکاران، ۲۰۲۲). همچنین در مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی اثر براسینواستروئید در کاهش تنش شوری در کاهو انجام شد، از سطوح مختلف هورمون براسینواستروئید (صفر، ۱، ۲ و ۳ میکرومولار) و سطوح مختلف شوری (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم) استفاده شد. نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش محتوای مواد معدنی کاهو شد. استفاده از هورمون باعث افزایش وزن تازه ساقه، وزن خشک ساقه، وزن تازه ریشه و وزن خشک ریشه و همچنین قطر ساقه شد. تنش شوری باعث افزایش نشت الکترولیت برگ‌ها بود درحالی‌که استفاده از هورمون باعث کاهش نشت الکترولیت در برگ‌ها شد. بهترین نتیجه در سطح هورمونی سه میکرومولار به‌دست آمد (اکینچی و همکاران ، ۲۰۱۲). در تحقیقی که توسط سردار و همکاران (۲۰۲۳) به‌منظور کاهش اثرات تنش شوری در کاهو با استفاده از اکسید نیتریت انجام شد نتایج نشان داد که استفاده از اسپری پاشی این ماده بر روی کاهو باعث افزایش اسید اسکوربیک، محتوای فنل و آنزیم های آنتی اکسیدانتی شده‌است. نتایج نشان‌می‌دهد که کاربرد اکسید نیتریت روی کاهو به کاهش اثرات تنش نمک کمک می‌کند. در پژوهشی که توسط احمد و همکاران (۲۰۱۹) به‌منظور بررسی اثر تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی کاهو در بنگلادش انجام شد نتایج نشان داد که صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی با افزایش سطح تنش شوری کاهش یافتند. صفات بیوشیمیایی مانند پرولین و پروتئین افزایش و محتوای فنول کل کاهش یافتند. در تحقیقی که توسط باباوسمیل و همکاران، ۲۰۲۲ برای کاهش اثرات تنش شوری در گیاه کاهو با استفاده از اسید سالیسیلیک، عصاره مخمر و زئولیت انجام شد نتایج نشان داد که تنش شوری رشد و کلروفیل کل گیاهان کاهو را به‌طور قابل توجهی کاهش داد و محتوای پرولین و قند آنها را افزایش داد. کاربرد زئولیت باعث بهبود رشد کاهو در غلظت‌های صفر و ۵۰ میلی‌مولار نمک شد، اما در بالاترین سطح شوری تنها تعداد برگ‌ها ۱۵ درصد بهبود یافت. در تنش شوری ملایم، استفاده از اسید سالیسیلیک به‌طور قابل توجهی طول ریشه، ارتفاع گیاه، محتوای کلروفیل و پرولین را افزایش داده است. در مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی تحمل به شوری ده ژنوتیپ کاهو انجام شد از نمک کلرید سدیم و نمک کلرید کلسیم برای ایجاد تنش شوری استفاده شد. برای تیمار شاهد غلظت صفر از هر دو نمک در نظر گرفته شد و در طول آزمایش به‌تدریج غلظت نمک‌ها افزایش یافت. تیمارهای مورد استفاده شامل غلظت ده میلی مولار نمک کلرید سدیم و پنج میلی مولار نمک کلرید کلسیم بود. بعد از انتقال نشاء به گلدان‌ها، در هفته دوم غلظت ۲۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم و ۱۰ میلی مولار نمک کلرید کلسیم و در آغاز هفته سوم و چهارم غلظت ۳۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم و ۱۵ میلی مولار نمک کلریدکلسیم بود. در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه سطح برگ و وزن‌تر نسبت به شاهد کاهش

یافت. تنش شوری شاخص کلروفیل را در بین ژنوتیپ‌ها افزایش داد (Adhikari *et al*., 2019). در آزمایشی به منظور بررسی تحمل به شوری شش رقم انتخابی کاهو پس از انتقال نشاء به گلدان‌ها در مرحله پنج تا هشت برگی، به فاصله هر سه روز یکبار به‌مدت شش هفته تیمارهای شوری شامل آبیاری با غلظت‌های مختلف محلول کلرید سدیم (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار) انجام شد. نتایج نشان داد با افزایش سطح تنش ارتفاع بوته کاهش یافت. وزن‌تر نیز کاهش یافت. اما محتوای کلروفیل افزایش یافت (Pavli *et al*., 2021).

Fv/Fm به‌عنوان یک شاخص کلیدی برای ارزیابی سلامت فتوسیستم II و توانایی فتوسنتزی گیاه در شرایط مختلف استفاده می‌شود. این نسبت نشان‌دهنده حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II در شرایط تاریکی است و در گیاهان سالم معمولاً حدود ۰/۸۳ است. وقتی گیاه تحت تنش‌های محیطی مانند شوری، خشکی، دمای بالا یا کمبود مواد مغذی قرار می‌گیرد، Fv/Fm کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده آسیب فتوسیستم II و کاهش کارایی فتوسنتزی است. این کاهش معمولاً به‌دلیل افزایش استرس اکسیداتیو، اختلال در زنجیره انتقال الکترون و کاهش ظرفیت ترمیم پروتئین D1 در مرکز واکنش PSII اتفاق می‌افتد (Krause and Weis, 1991). مطالعات همچنین نشان دهنده پتانسیل استفاده از اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل به‌عنوان یک ابزار غیر مخرب برای غربالگری و توسعه ارقام با تحمل بیشتر به شوری و عملکرد فتوسنتزی بهبود یافته تأکید دارد (Tsai *et al*., 2019). با توجه به اهمیت اقتصادی کاهو و افزایش توجه جوامع به تغذیه سالم، تولید ارقام متنوع این گیاه در سال‌های اخیر رشد چشم‌گیری داشته است .کاهو به‌دلیل دارا بودن تیپ‌های مختلف گیاه‌شناسی، با استقبال گسترده‌ای مواجه شده‌است. شناسایی ژنوتیپ‌های مناسب و سازگار با انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی، از اولویت‌های مهم در برنامه‌های به نژادی این محصول محسوب‌می‌شود .تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق تحت شرایط تنش شوری انجام نشده است .بنابراین، این پژوهش به‌عنوان اولین مطالعه مقدماتی در زمینه واکنش ژنوتیپ‌های منتخب کاهو به تنش شوری انجام شده و می‌تواند مبنایی برای تحقیقات آینده باشد. در این پژوهش، به‌منظور القای تنش شوری، از محلول‌های شور استفاده شد و آزمایش به‌صورت گلدانی در شرایط کنترل‌شده گلخانه‌ای اجرا گردید تا تأثیر مستقیم تنش شوری بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه به‌دقت ارزیابی شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

مواد گیاهی این تحقیق از پژوهشکده گلخانه و محیط‌های کنترل‌شده، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج تهیه شد که شامل، ژنوتیپ‌های شماره ۲۰ و ۷ و ۴، همراه با رقم داخلی ستاره و ارقام خارجی لولاروزا و میگونونت که در بررسی‌های قبلی برای کشت در گلخانه مناسب تشخیص داده شدند، برای ارزیابی تحمل به شوری مورد ارزیابی قرار گرفتند. در جدول شماره سه نام و تیپ ژنوتیپ‌های مورد بررسی آورده شده‌است.

جدول ۳. نام، تیپ و منشأ ژنوتیپ‌های مورد بررسی

نام	داخلی / خارجی	تیپ	منشأ
رقم ستاره	داخلی	رومن	ایران
لاین امید بخش شماره هفت	داخلی	رومن	ایران
رقم میگونونت	خارجی	آیسبرگ	فرانسه
لاین امید بخش شماره بیست	داخلی	رومن	ایران
لاین امید بخش شماره چهار	داخلی	رومن	ایران
رقم لولاروزا	خارجی	برگی	ایتالیا

نمک

نمک‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل نمک کلرید سدیم (NaCL) از شرکت مرک آلمان با وزن مولکولی ۵۸/۴۴ g/mol و نمک کلرید کلسیم ($CaCl_2$) از شرکت مرک آلمان با وزن مولکولی ۱۱۰/۹۹ g/mol بودند.

هورمون

هورمون مورد استفاده ۲۴- اپی براسینولید با وزن مولکولی ۴۸۰ /۶۸ g/mol تهیه شده از شرکت سیگما آمریکا بود.

روش انجام آزمایش

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه پردیس کشاورزی و منابع‌طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه در سال زراعی ۱۴۰۳-۱۴۰۲ انجام شد. فاکتور اول شامل ژنوتیپ‌های انتخاب شده کاهو، فاکتور دوم شامل سطوح مختلف هورمون ۲۴-اپی براسینولید (صفر، ۴ و ۸ میکرومولار) و فاکتور سوم شامل سطوح مختلف شوری (شاهد، غلظت (10 mM NaCl/5 mM CaCl2)، غلظت (20mM NaCl/10mM CaCl2) و غلظت ((30 mM NaCl/15 mM CaCl2)) بود. ابتدا نشاهای ژنوتیپ‌های مورد بررسی تحت شرایط گلخانه‌ای تهیه و سپس برای کشت به گلدان در گلخانه منتقل شدند. بستر کشت گلدانی از خاک سبک پرلیت، کوکو پیت و پیت ماس به نسبت مساوی بود. از گلدان های با قطر ۲۰ و طول ۲۵ سانتی‌متر استفاده شد. نحوه‌ی اعمال تیمار هورمونی ۲۴- اپی براسینولید بدین صورت بود که هورمون در سطوح مورد نظر (صفر، ۴ و ۸ میکرومولار) آماده گردید و زمانی که گیاهچه‌های کاهو در مرحله ۳ تا ۴ برگی بودند به‌صورت اسپری در صبح و عصر روی برگ‌ها اسپری گردید (دو نوبت در روز یعنی صبح و عصر) به‌مدت دو روز تیمار هورمونی اعمال گردید. برابر بررسی‌ها، کاهو گیاهی حساس تا نیمه حساس به شوری بوده و آستانه تحمل به شوری آن ۹/. دسی زیمنس بر متر می‌باشد. البته حساسیت به شوری این گیاه در ارقام مختلف متفاوت است، لذا در این بررسی، گلدان‌ها با سطوح شوری مورد نظر برای تیمار شاهد غلظت صفر از هر دو نمک در نظر گرفته شد و در طول آزمایش به‌تدریج غلظت نمک‌ها افزایش یافت. تیمارهای مورد استفاده شامل غلظت ۱۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم و ۵ میلی مولار نمک کلرید کلسیم بود. بعد از انتقال نشاء به گلدان ها، در هفته دوم غلظت ۲۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم و ۱۰ میلی مولار نمک کلرید کلسیم و در آغاز هفته سوم و چهارم غلظت ۳۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم و ۱۵ میلی مولار نمک کلرید کلسیم بود، آبیاری شدند (مطابق روش Adhikari *et al*., 2019). اعمال تیمارهای شوری، بعد از مرحله ۳ تا ۴ برگی به‌طور همزمان انجام گردید. در طول این مدت ارزیابی‌های لازم شامل اندازه گیری صفات فیزیولوژیک شامل محتوای سبزینگی برگ (SPAD: Minolta)، محتوای کلروفیل فلوروسنت توسط دستگاه PEA Plus: Hansatech انجام شد. در پایان آزمایش اندازه گیری صفات بیوشیمیایی (محتوای قند محلول کل (طبق روش Shlegl, 1986)، محتوای فنول کل (طبق روش Pandjaitan *et al*., 2005) و محتوای فلاونوئیدکل (طبق روش Chang *et al*., 2002) انجام گرفت. جهت تغذیه از محلول غذایی استاندارد حاوی نسبت معینی از عناصر ماکرو و میکرو استفاده گردید. جهت مدیریت بهتر تنش از گلدان‌های یکسان استفاده گردید. برای تعیین زمان آبیاری از روش وزنی استفاده شد به این صورت که با وزن کردن روزانه گلدان‌های شاهد (بدون تنش) مقدار رطوبت خاک گلدان به‌دست آمد، هنگامی که رطوبت حجمی خاک به‌حد تخلیه مجاز رسید اقدام به آبیاری بعدی گردید و رطوبت گلدان دوباره به‌حد ظرفیت زراعی ارتقا داده شد (مطابق روش ذرتی پور و همکاران، ۱۳۹۸).

آنالیز آماری

تجزیه واریانس صفات با استفاده از روش آماری DOI و نرم‌افزار R و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از اکسل و تجزیه و تحلیل خوشه سلسله مراتبی همراه با تجسم نقشه حرارتی با استفاده از ابزار وب ClustVis استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج آنالیز واریانس صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های کاهو (جدول ۴) نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها، سطوح مختلف هورمون ۲۴- اپی براسینولید، سطوح مختلف شوری، اثر متقابل دوگانه ژنوتیپ و سطوح مختلف هورمون، ژنوتیپ و سطوح مختلف شوری و سطوح مختلف هورمون و سطوح مختلف شوری و همچنین اثر متقابل سه گانه ژنوتیپ و هورمون و شوری برای همه صفات به غیر از شاخص فتوسنتز در سطح احتمال یک درصد بسیار

معنی‌دار شدند. اثر متقابل سه گانه برای شاخص فتوسنتز در سطح احتمال پنج درصد معنادار شد. تنش شوری تأثیرات قابل‌توجهی بر پارامترهای فلوروسانس کلروفیل، صفات فیتوشیمیایی و فیزیولوژیک ژنوتیپ‌های کاهو داشت. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح شوری پارامترهای فلوروسانس کلروفیل مانند Fv/Fm (حداکثر کارایی فتوسیستم دو) و PI (شاخص فتوسنتز) کاهش یافت که نشان‌دهنده کاهش کارایی فتوسنتزی ژنوتیپ های گیاه کاهو است. که این امر می‌تواند منجر به کاهش رشد و عملکرد گیاه شود (Kalaji *et al*., 2011; Ghassemi-Golezani *et al*., 2020). همچنین، افزایش سطوح تنش شوری باعث افزایش سطوح ترکیبات فیتوشیمیایی مانند محتوای قند محلول کل، فنل کل و محتوای فلاونوئید شد. این افزایش در ترکیبات فیتوشیمیایی نشان دهنده واکنش دفاعی گیاه به تنش شوری است. این ترکیبات نقش‌های مهمی در مکانیزم های سازگاری گیاه دارند. قندهای محلول ممکن است به عنوان اسمولیت‌های سازگار عمل کنند و به حفظ تعادل آبی گیاه کمک کنند. ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از شوری نقش دارند (Boughalleb *et al*., 2020). این تغییرات نشان‌دهنده تأثیر منفی شوری بر کارایی فتوسنتزی و کیفیت فیتوشیمیایی کاهو است. بنابراین، استفاده از ارقام متحمل به شوری می‌تواند به بهبود عملکرد و کیفیت کاهو در شرایط شور کمک کند.

نتایج ضرایب همبستگی صفات مورد مطالعه در بین ژنوتیپ‌های پیشرفته کاهو (شکل ۱) نشان داد که بین صفات حداکثر کارایی عملکرد کوانتومی فتوسیستم II و شاخص فتوسنتز، همبستگی مثبت و بسیار معناداری مشاهده گردید. این نتیجه می‌تواند نشان‌دهنده تأثیر مستقیم و مثبت عملکرد فتوسیستم II بر شاخص فتوسنتز باشد، به‌طوری‌که افزایش کارایی فتوسیستم II باعث بهبود عملکرد فتوسنتز در ژنوتیپ‌های مختلف کاهو می‌شود. این امر به‌ویژه در فرآیندهای تولید انرژی فتوسنتزی و رشد گیاه اهمیت دارد. علاوه بر این، بین صفت محتوای سبزینگی برگ و شاخص فتوسنتز نیز همبستگی مثبت و بسیار معناداری مشاهده گردید. این یافته به این معنی است که ژنوتیپ‌هایی که دارای محتوای سبزینگی بالاتر هستند، معمولاً عملکرد فتوسنتز بهتری نیز دارند (Takai *et al*., 2010; Uddling *et al*., 2007; Sim *et al*., 2015).

جدول ۴. آنالیز واریانس صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های کاهو تحت تنش شوری

Table 4. Analysis of variance for the traits studied in lettuce genotypes under salt stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of Square					
		محتوای سبزینگی برگ SPAD	حداکثر کارایی عملکرد کوانتومی فتوسیستم II FV/FM	شاخص فتوسنتز PI	محتوای قند کل Total Soluble Sugar	فنل کل Total Phenol	فلاونوئید کل Total Flavonoid
ژنوتیپ Genotype	5	816.999**	0.16**	90.171**	4386.540**	0.381**	38.446**
هورمون Hormone	3	951.315**	0.733**	889.964**	3501.677**	0.057**	0.927**
سطوح مختلف شوری Salt stress	3	1503.115**	0.863**	3178.569**	450.865**	0.007**	0.207**
ژنوتیپ × هورمون Genotype× Hormone	10	33.708**	0.006**	22.054**	552.800**	0.018**	0.187**
ژنوتیپ × سطوح شوری Genotype × Salt	15	36.378**	0.006**	49.394**	226.509**	0.005**	0.064**
هورمون × سطوح شوری Hormone × Salt	6	92.110**	0.153**	515.760**	558.907**	0.012**	0.187**
ژنوتیپ × هورمون × شوری Genotype × Hormone × Salt	30	14.956**	0.004**	14.973*	71.481**	0.002**	0.043**
اشتباه Error	216	5.168	0.001	9.453	4.974	0.001	0.009
کل Total	288						

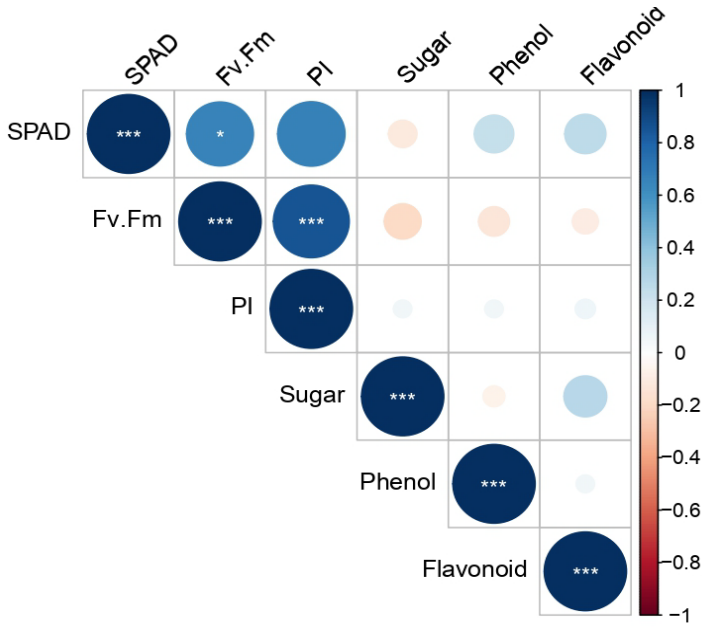
*، ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد.

*, ** Significant at the 5% and 1% levels, respectively.

به‌عبارت دیگر، برگ‌هایی با مقدار بالاتر از کلروفیل قادر به جذب بیشتر نور و تولید انرژی فتوسنتزی هستند که می‌تواند در فرآیندهای رشد و تولید محصول گیاه مؤثر باشد. نتایج ضرایب همبستگی همچنین نشان‌دهنده همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری بین صفت محتوای سبزینگی برگ و صفات محتوای فنل کل و فلاونوئید کل بود. این همبستگی مثبت می‌تواند نشان‌دهنده ارتباط بین فرآیندهای فتوسنتزی و ترکیبات فنولیک گیاه باشد. ترکیبات فنولیک مانند فلاونوئیدها نقش‌های مهمی در حفاظت گیاه از استرس های زیستی و غیر زیستی مانند شوری ایفا می‌کنند و ممکن است با افزایش سبزینگی برگ به‌ویژه در شرایط استرس‌زای شوری مرتبط باشند (Marhaenanto *et al.*, 2025; Netto *et al.*, 2005). در نهایت، بین صفات محتوای قند محلول کل و محتوای کل فلاونوئید نیز همبستگی منفی و بسیار معناداری مشاهده گردید. این همبستگی منفی ممکن است نشان‌دهنده این باشد که افزایش محتوای قند محلول در گیاه ممکن است با کاهش مقدار فلاونوئیدها مرتبط باشد (Guo *et al.*, 2020). این موضوع می‌تواند به‌ویژه در شرایطی که گیاه با محدودیت منابع غذایی روبه‌رو است، به‌عنوان یک مکانیسم سازگاری گیاه برای استفاده بهینه از منابع داخلی، مورد بررسی قرار گیرد. در مجموع این نتایج می‌توانند به ما کمک کنند تا درک بهتری از روابط پیچیده بین صفات فتوسنتزی، محتوای ترکیبات فنولیک و سایر ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاهان کاهو پیدا کنیم. همچنین، این همبستگی‌ها می‌توانند در برنامه‌های اصلاح نباتات و بهبود ژنوتیپ‌های کاهو برای بهینه‌سازی عملکرد فتوسنتزی و کیفیت محصول مفید واقع شوند.

نتایج آنالیز خوشه‌ای همراه با نقشه حرارتی ژنوتیپ های کاهو بر اساس صفات اندازه‌گیری‌شده (شکل ۲) انجام شد. نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات اندازه‌گیری شده در دو گروه قرار گرفتند. گروه اول شامل صفات محتوای سبزینگی برگ، شاخص فتوسنتز و حداکثر کارایی عملکرد کوانتومی فتوسیستم II بودند و گروه دوم نیز شامل صفات محتوای قند محلول کل، محتوای فنل کل و محتوای فلاونوئید کل بودند.

در مطالعات مربوط به ژنوتیپ‌های کاهو، چنین تحلیل هایی با موفقیت ژنوتیپ‌ها را بر اساس صفاتی مانند محتوای سبزینگی برگ، شاخص فتوسنتز، حداکثر کارایی عملکرد کوانتومی فتوسیستم II، محتوای قند محلول کل، محتوای فنل کل و محتوای فلاونوئید کل دسته‌بندی کرده‌اند.

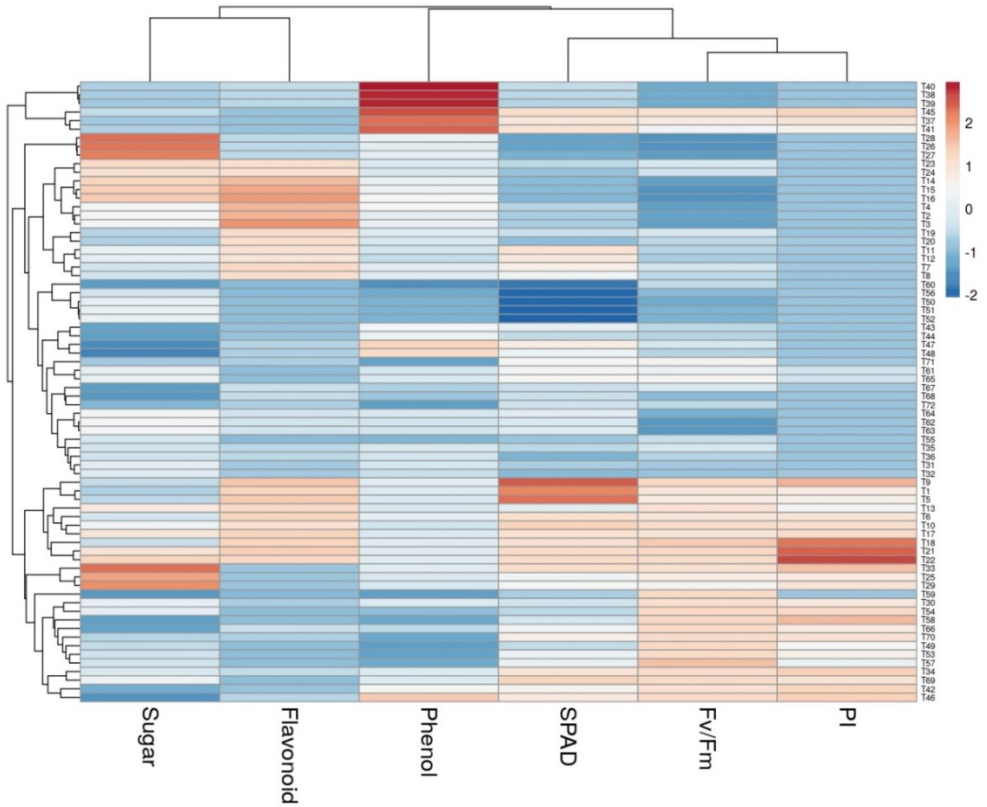


شکل ۱. همبستگی صفات فلوروسانس کلروفیل، بیوشیمیایی و فیزیولوژی در ژنوتیپ‌های کاهو تحت تنش شوری

Figure 1. Correlation of chlorophyll fluorescence, biochemical, and physiological traits in lettuce genotypes under salt stress

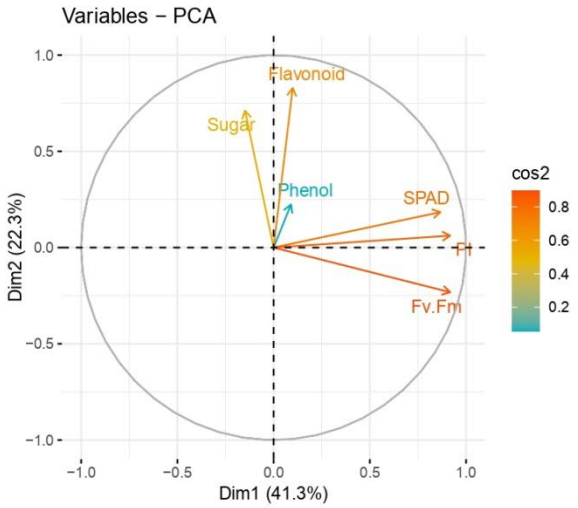
برای مثال، تحقیقات نشان داده‌اند که ژنوتیپ‌های کاهو می‌توانند در گروه‌هایی با پروفایل‌های مشخص از این صفات طبقه‌بندی شوند. یک گروه دارای مقادیر مثبت و بالا برای محتوای سبزینگی برگ، شاخص فتوسنتز و حداکثر کارایی عملکرد کوانتومی فتوسیستم II است که نشان‌دهنده فعالیت فتوسنتزی قوی و سلامت گیاه می‌باشد (Dai *et al.*, 2024). در مقابل، گروه دیگر مقادیر پایین و منفی برای محتوای قند محلول کل، محتوای فنل کل و محتوای فلاونوئید کل دارد که نشان‌دهنده مسیرهای متابولیک متفاوت یا پاسخ‌های استرسی متفاوت می‌باشد. این رویکرد به شناسایی پروفایل‌های ژنوتیپی که تحت شرایط محیطی خاص (تنش شوری) مقاوم‌تر یا کارآمدتر باشند، کمک می‌کند و بینش‌های ارزشمندی برای استراتژی‌های پرورش و کشت فراهم می‌آورد.

نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی که در شکل ۳ ارائه شده، نشان‌می‌دهد که مؤلفه اول ۴۱/۳۰ درصد و مؤلفه دوم ۲۲/۳ درصد از تغییرات صفات مورد بررسی را تبیین می‌کنند؛ به‌طوری‌که مجموع این دو مؤلفه، ۶۳/۶ درصد از کل تنوع موجود را پوشش می‌دهد .در میان صفات بررسی‌شده، محتوای سبزینگی برگ، شاخص فتوسنتز و حداکثر کارایی عملکرد کوانتومی فتوسیستم II، بیشترین سهم را در تبیین این تنوع داشته‌اند (Mihaljević et al., 2020). این صفات به‌طور مستقیم با کارایی فتوسنتزی و پاسخ گیاه به شرایط تنش شوری در ارتباط‌اند. در مرتبه بعد، صفات بیوشیمیایی شامل محتوای فلاونوئید کل، قند محلول کل و فنل کل قرار گرفتند که نقش مهمی در سازوکارهای دفاعی گیاه در مواجهه با تنش شوری ایفا می‌کنند. به‌طور کلی، این نتایج نشان‌می‌دهد که ترکیبی از صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های مؤثر برای شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به شوری در کاهو مورد استفاده قرار گیرد و اطلاعات ارزشمندی برای برنامه‌های اصلاحی فراهم سازند.



شکل ۲. آنالیز خوشه‌ای همراه با نقشه حرارتی ژنوتیپ‌های کاهو بر اساس صفات اندازه گیری شده تحت تنش شوری

Figure 2. Cluster analysis with a heat map of lettuce genotypes based on the measured traits under salt stress



شکل ۳. تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های پیشرفته کاهو

Figure 3. Principal Component Analysis based on the studied traits in advanced lettuce genotypes

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های کاهو نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها و صفات اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری وجود دارد .با افزایش سطوح شوری، پارامترهای فلورسانس کلروفیل نظیر Fv/Fm (حداکثر کارایی فتوسیستم II) و PI (شاخص فتوسنتز) کاهش یافتند که این کاهش بیانگر افت کارایی فتوسنتزی ژنوتیپ های کاهو در شرایط تنش شوری است. همچنین، با افزایش شدت تنش شوری، میزان ترکیبات فیتوشیمیایی از جمله قند محلول کل، فنل کل و فلاونوئید کل افزایش یافت که نشان‌دهنده واکنش دفاعی گیاه در برابر شرایط تنش‌زا است. بررسی ضرایب همبستگی میان صفات در ژنوتیپ‌های پیشرفته کاهو حاکی از آن است که بین حداکثر کارایی عملکرد کوانتومی فتوسیستمII و شاخص فتوسنتز، همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری وجود دارد. این یافته نشان‌می‌دهد که عملکرد مؤثر فتوسیستم II می تواند نقش مستقیم و مثبتی در بهبود شاخص فتوسنتز ایفا کند، به‌طوری‌که با افزایش کارایی این فتوسیستم، عملکرد فتوسنتزی ژنوتیپ‌ها نیز بهبود می‌یابد؛ موضوعی که در فرآیند تولید انرژی و رشد گیاه اهمیت ویژه‌ای دارد. علاوه بر این، بین محتوای سبزینگی برگ و شاخص فتوسنتز نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد که نشان می‌دهد ژنوتیپ‌هایی با سبزینگی بیشتر، معمولاً از عملکرد فتوسنتزی بهتری برخوردارند. نتایج تحلیل خوشه‌ای همراه با نقشه حرارتی صفات اندازه‌گیری‌شده در ژنوتیپ های کاهو، این ژنوتیپ‌ها را به دو گروه متمایز تقسیم کرد. گروه اول شامل صفات مرتبط با محتوای سبزینگی برگ، شاخص فتوسنتز و حداکثر کارایی فتوسیستم II بود و گروه دوم صفات قند محلول کل، فنل کل و فلاونوئید کل را در بر می‌گرفت. چنین تحلیل‌هایی نشان دادند که می‌توان ژنوتیپ‌ها را با دقت خوبی بر اساس این صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی طبقه‌بندی کرد. علاوه بر این، نتایج تجزیه به مؤلفه های اصلی نشان داد که دو مؤلفه اول در مجموع ۶۳/۶ درصد از تغییرات و تنوع موجود را تبیین می‌کنند .در این میان، محتوای سبزینگی برگ، شاخص فتوسنتز و حداکثر کارایی فتوسیستم II بیشترین سهم را در تبیین این تنوع داشتند. در مجموع، این یافته‌ها می‌توانند به شناسایی عوامل کلیدی مؤثر بر کارایی فتوسنتزی و پاسخ گیاه کاهو به تنش شوری کمک کنند و راهنمای مناسبی برای انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم‌تر فراهم آورد. همچنین به کاربردن هورمون ۲۴- اپی براسینولید در کاهش اثرات تنش شوری مؤثر واقع گردید. به این منظور پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی از غلظت های بالاتر نمک برای القای تنش شوری استفاده گردد.

References

Adhikari, N. D., Simko, I., & Mou, B. (2019). Phenomic and physiological analysis of salinity effects on lettuce. *Sensors*, 19(21), 4814.

Ahmed, S., Ahmed, S., Roy, S. K., Woo, S. H., Sonawane, K. D., & Shohael, A. M. (2019). Effect of salinity on the morphological, physiological and biochemical properties of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in Bangladesh. *Open Agriculture*, 4(1), 361-373.

Babaousmail, M., Nili, M. S., Brik, R., Saadouni, M., Yousif, S. K., Omer, R. M., & El-Taher, A. M. (2022). Improving the tolerance to salinity stress in lettuce plants (*Lactuca sativa* L.) using exogenous application of salicylic acid, yeast, and zeolite. *Life*, 12(10), 1538.

Boughalleb, F., Abdellaoui, R., Mahmoudi, M., & Bakhshandeh, E. (2020). Changes in phenolic profile, soluble sugar, proline, and antioxidant enzyme activities of Polygonum equisetiforme in response to salinity. *Turkish Journal of Botany*, *44*(1), 25-35.

Boukema, I. W., Hazekamp, T.H., & Hintum, T.H.J.L. (2007). *The CGN Collection Reviews: The CGN Lettuce Collection*. Wageningen, Centre for Genetic Resource. 2-5.

Breś, W., Kleiber, T., Markiewicz, B., Mieloszyk, E., & Mieloch, M. (2022). The effect of NaCl stress on the response of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Agronomy*, 12(2), 244.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Food Drug Anal*., 10, 178-82.

Costa, S. F., Martins, D., Agacka-Mołdoch, M., Czubacka, A., & de Sousa Araújo, S. (2018). Strategies to alleviate salinity stress in plants. *Salinity Responses and Tolerance in Plants, Volume 1: Targeting Sensory, Transport and Signaling Mechanisms*, 307-337.

Dai, M., Tan, X., Ye, Z., Chen, X., Zhang, Y., Ruan, Y., & Kong, D. (2024). Analysis of lettuce transcriptome reveals the mechanism of different light/dark cycle in promoting the growth and quality. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1394434.

DeVries, I. M. (1997). Origin and domestication of (*Lactuca sativa* L). *Genet Resource and Crop Evolution*, 44, 165-174.

Ekinci, M., Yildirim, E., Dursun, A., & Turan, M. (2012). Mitigation of salt stress in lettuce (*Lactuca sativa* L. var. Crispa) by seed and foliar 24-epibrassinolide treatments. *HortScience*, 47(5), 631-636.

Food and Agriculture Organization of the United State, 2014.

Ghassemi-Golezani, K., Hosseinzadeh-Mahootchi, A., & Farhangi-Abriz, S. (2020). Chlorophyll a fluorescence of safflower affected by salt stress and hormonal treatments. *SN Applied Sciences*, *2*, 1-9.

Guo, J., Zhou, X., Wang, T., Wang, G., & Cao, F. (2020). Regulation of flavonoid metabolism in ginkgo leaves in response to different day-night temperature combinations. *Plant Physiology and Biochemistry*, 147, 133-140.

Kalaji, H. M., Bosa, K., Kościelniak, J., & Żuk-Gołaszewska, K. (2011). Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO2 assimilation of two Syrian barley landraces. *Environmental and Experimental Botany*, *73*, 64-72.

Kataria, S., & Verma, S. K. (2018). Salinity Stress Responses and Adaptive Mechanisms in Major Glycophytic Crops: The Story So Far. in Salinity Responses and Tolerance in Plants, vol. 1, pp. 1–39.

Krause, A.G., & Weis, E. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual review of plant biology*, 42(1), 313-349.

Kumar, K., & Saddhe, A.A. (2018). Targeting aquaporins for conferring salinity tolerance in crops. *Salinity Responses and Tolerance in Plants, Volume 1: Targeting Sensory, Transport and Signaling Mechanisms*,65-84.

Lebeda, A. Ryder, E. J. Grube, R. Dolezalova, I., & Kristkova, E. (2007). Lettuce (*Asteraceae*; *Lactuca* spp). In: SINGH R.J. (ed.), *Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement*, Vol. 3, 377-472.

Marhaenanto, B., Aningtyas, P. W., Putraa, B. T. W., Soedibyo, D. W., & Syahputra, W. N. H. (2025). Estimating Flavonoid and Nitrogen Status of Guava Leaves Using E-Nose and SPAD Meter. *Agricultural Research*, 1-14.

Mihaljević, I., Lepeduš, H., Šimić, D., Vuletić, M. V., Tomaš, V., Vuković, D., & Zdunić, Z. (2020). Photochemical efficiency of photosystem II in two apple cultivars affected by elevated temperature and excess light in vivo. *South African journal of botany*, 130, 316-326.

Netto, A. T., Campostrini, E., de Oliveira, J. G., & Bressan-Smith, R. E. (2005). Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia horticulturae*, 104(2), 199-209.

Pandjaitan, N., Howard, L. R., Morelock, T., & Gil, M. I. (2005). Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and maturation. Journal Agric. *Food Chem*, 53, 8618 - 23.

Pavli, O.I., Kempapidis, K., Maggioros, L., Foti, C., Panagiotaki, E., & Khah E.M. (2021). Response of Lettuce Germplasm to Salt Stress at Different Developmental Stages. *Annals of Agricultural & Crop Sciences*, 6(5).

Sardar, H., Khalid, Z., Ahsan, M., Naz, S., Nawaz, A., Ahmad, R., & Abou Fayssal, S. 2023. Enhancement of salinity stress tolerance in lettuce (*Lactuca sativa* L.) via foliar application of nitric oxide. *Plants*, 12(5), 1115.

Shlegl, H. G., 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. *Plant Sciences*, 41, 47-51.

Sim, C. C., Zaharah, A. R., Tan, M. S., & Goh, K. J. (2015). Rapid determination of leaf chlorophyll concentration, photosynthetic activity and NK concentration of Elaies guineensis via correlated SPAD-502 chlorophyll index.

Takai, T., Kondo, M., Yano, M., & Yamamoto, T. (2010). A quantitative trait locus for chlorophyll content and its association with leaf photosynthesis in rice. *Rice*, *3*, 172-180.

Tsai, Y. C., Chen, K. C., Cheng, T. S., Lee, C., Lin, S. H., & Tung, C. W. (2019). Chlorophyll fluorescence analysis in diverse rice varieties reveals the positive correlation between the seedlings salt tolerance and photosynthetic efficiency. *BMC plant biology*, *19*, 1-17.

Uddling, J., Gelang-Alfredsson, J., Piikki, K., & Pleijel, H. (2007). Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis research*, 91.

Zorati Pour, E., Soltani Mohammadi, A., & Alamzadeh Ansari, N. (2019). Evaluation of yield and water productivity of lettuce under drought and salinity stress in greenhouse conditions. *Iranian Journal of Irrigation & Drainage*, *13*(2), 450-461. (in Persian)