Iranian Journal of Biological Sciences.2022; 17(2):15-24

Original Article

Iranian Journal of Biological Sciences

https://zisti.iauvaramin.ac.ir

Investigating the effect of calcium on growth, oxidative indices, ascorbate, glutathione and antioxidant enzymes activity in triticale (x *Triticosecale* Wittmack) under salt stress

Jahani M[1,2],Hadi M.R[3], Jafarinia M[3], Jahani S[2*]*

1. Department of Biology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran
2. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Associate Professor, Department of Biology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran

Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Article Info

Article History:
received 11.16.2022
revised 12.12.2022
accepted 1.19.2023
online 1.26.2023

KeyWords:
reduced ascorbate,
sodium-calcium interaction
triticale, superoxide dismutase
reduced glutathione
lipoxygenase

***Corresponding author:**
E-mail address

malihe.jahani2009@gmail.com
mohammadreza.hadi1387@gmail.com
mojtaba.jafarinia2000@gmail.com
sedighe.jahani2010@gmail.com

Abstract

Introduction: Salinity is a developing problem in agricultural soils. Calcium plays an important role in the resistance of plants to salt stress.
Aim: In order to investigate the mutual effect of sodium-calcium on growth, oxidative indices and antioxidant defense system in triticale plant, an experiment was conducted as a completely randomized design with 3 replications in greenhouse conditions.
Materials and methods: One week after planting seeds in the soil, seedlings were treated with sodium chloride dosages (0, 50, 100 and 150 mmol L-1) and calcium chloride dosages (0, 6 and 10 mmol L-1). After 5 weeks of stress, some morpho-physiological and biochemical parameters including shoot and root length, chlorophyll-meter number (SPAD), oxidative indices (malondialdehyde, other aldehydes, hydrogen peroxide and lipoxygenase enzyme activity), reduced ascorbate, dehydroascorbate, reduced glutathione and antioxidant enzymes activity (guaiacol peroxidase, catalase, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and polyphenol oxidase) of leaves was measured.
Results: The results showed that salinity stress significantly decreased the length of shoot and root, SPAD, reduced ascorbate and reduced glutathione in leaf but increased the amount of oxidative indices, dehydroascorbate and antioxidant enzymes activity in leaf. While addition of calcium to the saline medium increased the length of shoot and root, SPAD, reduced ascorbate and reduced glutathione in leaf, but decreased the amount of oxidative indices, dehydroascorbate and antioxidant enzymes activity in leaf.
Conclusion: Adding calcium to the saline medium reduced the harmful impacts of salinity stress and the most beneficial impacts of calcium were observed at a concentration of 6 mmol/ L-1.

Cite this article:Jahani M*,Hadi M.R, Jafarinia M, Jahani S*. Investigating the effect of calcium on growth, oxidative indices, ascorbate, glutathione and antioxidant enzymes activity in triticale (× *Triticosecale* Wittmack) under salt stress Iranian Journal of Biologiacal Sciences. 2022; 17(2): 37-35

10.30495/ZISTI.2023.1972916.1143 DOR 20.1001.1.17354226.1401.17.2.3.5
Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch Print ISSN: 1735-4226 Online ISSN: 1727-459X
This is an open access article under the: https://creativecommons.org/license/by-nc/4.0/

مقاله تحقیقی
دانش زیستی ایران
https://zisti.iauvaramin.ac.ir

بررسی اثر کلسیم بر روی رشد، شاخص های اکسیداتیو، آسکوربات، گلوتاتیون و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه تریتیکاله (x *Triticosecale* Wittmack) تحت تنش شوری

ملیحه جهانی[۱،۲*]، محمدرضا هادی[۳]، مجتبی جعفری نیا[۳]، صدیقه جهانی[۳*]

۱.گروه زیست شناسی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران
۲.گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳.دانشیار،گروه زیست شناسی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

محل انجام تحقیق: زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
ارسال ۱۴۰۱/۸/۲۵
بازنگری ۱۴۰۱/۹/۲۱
پذیرش ۱۴۰۱/۱۰/۲۹
نمایه ۱۴۰۱/۱۱/۶

کلمات کلیدی
آسکوربات احیا
برهمکنش سدیم-کلسیم
تریتیکاله
سوپراکسید دیسموتاز
گلوتاتیون احیا
لیپواکسیژناز

*** نویسنده مسؤل**

malihe.jahani2009@gmail.com
mohammadreza.hadi1387@gmail.com
mojtaba.jafarinia2000@gmail.com
sedighe.jahani2010@gmail.com

چکیده

مقدمه: شوری یک مشکل در حال توسعه در خاک های کشاورزی است. کلسیم نقش مهمی در مقاومت گیاهان به تنش شوری دارد.

هدف: به منظور بررسی تأثیر متقابل سدیم-کلسیم بر روی رشد، شاخص‌های اکسیداتیو و سیستم دفاع آنتی کسیدانی در گیاه تریتیکاله، آزمایشی بصورت یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه ی صورت گرفت.

مواد و روش ها: یک هفته بعد از کاشت بذور در خاک، گیاهچه ها با غلظت های کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول بر لیتر) و تیمار شدند. پس از ۵ هفته اعمال تنش، برخی از پارامترهای مورفو- فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل طول بخش هوایی و ریشه، عدد کلروفیل متر (SPAD)، شاخص های اکسیداتیو (مالون دی آلدئید، سایر آلدئیدها، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز)، آسکوربات احیا، دهیدروآسکوربات، گلوتاتیون احیا و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان (گایاکول پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز) برگ مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج: تنش شوری بطور معنی داري باعث کاهش طول بخش هوایی و ریشه، SPAD، آسکوربات احیا و گلوتاتیون احیا در برگ شد ولی باعث افزایش میزان شاخص های اکسیداتیو، دهیدروآسکوربات و فعالیت آنزیم های آنتی-اکسیدان برگ شد. درحالی که افزودن کلسیم به محیط شور باعث افزایش طول بخش هوایی و ریشه، SPAD، آسکوربات احیا و گلوتاتیون احیا در برگ شد ولی باعث کاهش میزان شاخص های اکسیداتیو، دهیدروآسکوربات و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در برگ شد.

نتیجه‌گیری: افزودن کلسیم به محیط شور باعث کاهش اثرات مضر تنش شوری شد و بیشترین اثرات بهبود دهنده کلسیم در غلظت ۶ میلی مول بر لیتر مشاهده شد.

شیوه آدرس‌دهی این مقاله : جهانی م*، هادی م.ر.، جعفری نیا م.، جهانی ص*. بررسی اثر کلسیم بر روی رشد، شاخص های اکسیداتیو، آسکوربات، گلوتاتیون و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه تریتیکاله (x *Triticosecale* Wittmack) تحت تنش شوری. مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۱؛ ۱۷(۲):۳۷-

DOR 20.1001.1.17354226.1401.17.2.3.5
ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا شاپا چاپی: ۱۷۳۵-۴۲۲۶ شاپا الکترونیکی: ۲۷۱۷-۴۵۹X
doi 10.30495/ZISTI.2023.1972916.1143
نویسندگان: © حق مؤلف

مقدمه:

شوري يكي از عوامل مهم كاهش رشد و عملكرد بسياري از گياهان زراعي به خصوص در مناطق خشك و نيمه خشك دنياست. همچنين شوري پس از خشكي از مهمترين و متداول ترين تنشهاي محيطي در سطح جهان است (۲،۱). تنش شوري ميتواند از طريق كاهش پتانسيل اسمزي خاك و القاي تنش كم‌آبي در گياه و يا ايجاد سميت توسط مقادير اضافي يون هاي ايجاد كننده مي تواند رشد و نمو گياهان را محدود كند (۳،۲).

تنش شوری در گیاهان موجب تولید بیش از حد گونه های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) می شود که سمی و بسیار واکنش-پذیر بوده و به لیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می رسانند (٤،۱). گیاهان مکانیسم های دفاعی مختلفی دارند که یا مانع تشکیل ROS شده و یا آن‌ها را جاروب می‌کنند. از انواع ROS می توان رادیکال پروکسیل($ROO^{\bullet}$)، رادیکال سوپراکسید ($O_2^{-\bullet}$) ، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل($OH^{\bullet}$) را نام برد (٤،۲). آنتی‌اکسیدان‌های تولید شده در سلول باعث حفظ فعالیت‌های بیوشیمیایی و ایجاد مقاومت گیاه در برابر شرایط تنش می‌شوند (۲). عملکرد آنتی اکسیدان‌های آنزیمی (گایاکول پراکسیداز (GPOX)، پلی فنل اکسیداز (PPOX)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APOX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و غیره) و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (آسکوربات، گلوتاتیون، ترکیبات فنلی، آلفاتوکوفرول ، کاروتنوئید و غیره) سبب جاروب کردن ROS تحت تنش شوری می‌شوند (٥،٤،۱). یون كلسيم يك كاتيون دو ظرفيتي كه به عنوان يك عنصر ضروري در بسياري از فرآيندهاي گياهي مطرح است و در حفظ ساختمان غشا، پايداري ساختمان ديواره سلولي، تنظيم انتقال يون‌ها و كنترل تبادلات يوني نقش دارد و همچنين بعنوان يك پيامبر ثانويه در مسير انتقال سيگنال در سلول‌ها عمل مي‌كند (٦). همچنين كلسيم يك عنصر غذايي معدني است كه در رفع مسموميت غلظت‌هاي بالاي ساير عناصر در گياهان تحت شوري بسيار مؤثر است. غلظت بهينه كلسيم براي مقاومت بيشتر گياهان در شرايط تنش اهميت دارد. حضور يون كلسيم در محيط داخل و خارج سلولي، مقاومت سلول گياهي را در مقابل ورود يون هاي سديم و كلر اضافي افزايش داده و سلول از شرايط استرس خارج مي‌شود (۹،۸،۷).

گزارش هایی از آثار بهبود دهندگی کلسیم در رشد و نمو و خصوصیات فیزیولوژیک گیاهان تحت تنش شوری موجود است. در پژوهشی که بر روی گیاه سیب زمینی تحت تنش شوری انجام شد، کلسیم از طریق بهبود رشد و زی توده گیاه، افزایش میزان پتاسیم و کلسیم و کاهش میزان سدیم و پرولین باعث کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاه تحت تنش شد (۱۰). در مطالعه ای دیگر که بر روی گیاه زیتون تحت تنش شوری انجام شد، افزودن کلسیم از طریق بهبود رشد و زی‌توده بخش هوایی و ریشه، کاهش نشت یونی، بهبود محتوای نسبی آب، کاهش میزان سدیم و افزایش میزان پتاسیم و کلسیم باعث کاهش اثرات مضر ناشی از تنش شوری شد (۱۱). همچنین در تحقیقی دیگر که به منظور بررسی تاثیر کلسیم بر روی عملکرد و تعادل یونی گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری انجام شد، تنش شوری باعث کاهش شاخص-های رشد شامل ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ، تعداد گل و میوه و کلروفیل برگ شد درحالی‌که کلسیم باعث افزایش این شاخص‌های رشد شد. همچنین کلسیم باعث کاهش میزان سدیم و افزایش میزان پتاسیم و در نتیجه با ایجاد تعدیل در نسبت‌های یونی باعث کاهش اثرات مضر تنش شوری شد (۱۲).

علاوه بر این، در پژوهش های دیگری که بر روی گیاهان جو و سورگوم شیرین تحت تنش شوری انجام شد، کلسیم باعث افزایش وزن خشک بخش هوایی و ریشه در گیاهان تحت تنش شد (۱٤،۱۳). در مطالعه‌ای دیگر که بر روی کلزا تحت تنش شوری انجام شد، کلسیم باعث بهبود وزن خشک گیاه، عملکرد دانه، شاخص برداشت و درصد روغن در گیاه تحت تنش شد (۱۵). همچنین در گزارشی دیگر که بر روی گیاه گوجه‌فرنگی انجام شد، تنش شوری باعث کاهش در پارامترهایی مانند طول و وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه، شاخص پایداری غشای سلول، میزان کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ شد درحالی‌که کلسیم باعث افزایش این پارامترها در گیاه تحت تنش شد (۱٦). علاوه بر این، اثرات بهبود¬دهنده¬ی کلسیم بر روی گیاه زیره سبز تحت تنش شوری از طریق بهبود پارامترهایی مانند وزن خشک

بوته، وزن هـزار دانه، کلروفیل a و b، محتوای نسـبی آب برگ و شـاخص پایداری غشـا گزارش گردید (۱۷). همچنین افزایش پایداری غشـا و کاهش نشـت یونی در گیاه گلرنگ در شرایط تنش شـوری با محلول‌پاشـی کلسـیم گزارش گردید (۱۸).

تریتیکالـه غلـه جدیدي اسـت که به وسـیله انسـان و در نتیجـه تلاقي ژنوم‌هـاي گنـدم جنـس Triticum و چاودار جنـس Secale به وجود آمده اسـت. نـام تریتیکالـه از نام علمي گونه‌هـاي بوجود آورنده‌ی آن گرفته شـده اسـت. در ایـن مورد گنـدم به جـاي گیاه مادر بـه کار گرفته شـده و دانه‌هـاي گرده از چـاودار مي‌باشـد (۱۹).

تریتیکاله گیاهي یکسـاله اسـت که تیپ عمومي آن شـبیه گندم می‌باشـد و ممکن اسـت بهاره یا زمسـتانه باشـد و در مقایسـه با گندم از قابلیت رشـد و مقاومت بیشتري برخوردار بوده و حساسـیت کمتری نسـبت به شرایط آب و هوایي دارد (۲۰،۱۹).

تریتیکالـه جهت تأمین مـواد غذایي مورد اسـتفاده قرار مي‌گـیرد ولي آرد آن با آرد گندم قابل مقایسـه نیسـت و خاصیت نانوایـي کمي دارد، ولی نسـبت بـه آرد چاودار بهتر اسـت. به خاطـر ارزش نانوایـي کـم، تریتیکاله به عنـوان یك غله دامـي مورد توجه قرار گرفته اسـت زیـرا داراي مقادیر زیادي اسـیدهاي آمینـه ماننـد لیزین مي‌باشـد و از نظر کاشـت، داشـت و برداشـت بسیار شـبیه گندم مي‌باشـد و همچنین میـزان پروتئین دانه نسـبتاً بـالا و بـین ۲۰-۱۴ درصد متغیر است (۲۲،۲۱،۱۹).

جهت دسـتیابي بـه روش‌هاي موثـر براي حل مشـکل تنش شـوري در کشـاورزي، درك فیزیولـوژي تحمـل گیاهان به شـوري داراي اهمیت اسـت (۲۳).

با توجـه بـه اهمیـت تریتیکاله بعنـوان یك گیـاه زراعي و علوفـه‌اي و همچنیـن وسـعت رو به افزایـش زمین‌هاي شـور و از طـرف دیگر بـا توجه بـه نقش مهم کلسـیم در کاهـش اثـرات منفي تنش شـوري در گیاهـان، این پژوهش بـه منظـور بـررسي تاثیـر کلسـیم بـر روی رشـد، عدد کلروفیل‌متر، شـاخص‌های اکسـیداتیو (مالون‌دی‌آلدئید، سایر آلدئیدها، پراکسـید هیدروژن و فعالیت آنزیم لیپواکسـیژناز)، آسـکوربات احیا، دهیدروآسکوربات، نسـبت آسکوربات احیا به دهیدروآسـکوربات، گلوتاتیون احیـا، پروتئین‌های محلول کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسـیدان (گایاکول -پراکسـیداز، کاتالاز، سوپراکسـید دیسـموتاز، آسـکوربات پراکسـیداز و پلی‌فنـل اکسـیداز) در گیـاه تریتیکاله تحت تنش شـوری انجام شد.

مواد و روش ها

ایـن تحقیق در قالب یـک طرح کاملاً تصادفی با سـه تکرار در شرایط گلخانـه‌ای (دما C° ۲ ± ۲۵، رطوبت نسـبي ۳۵٪، نور با شـدت ۱۰۰۰۰ لوکس، فتوپریود ۱۶ سـاعت روشـنایی و ۸ سـاعت تاریکی) در آزمایشـگاه تحقیقـات فیزیولوژی گیاهی دانشـگاه آزاد مشـهد انجام شـد. در ایـن پژوهش، غلظت‌هـای کلریـد سـدیم و کلریـد کلسـیم بر اسـاس پژوهش‌های گذشـته‌ی محققـان تعیین شـد (۱۴،۱۳). بذر گیاه تریتیکالـه از مرکز تحقیقات کشـاورزی و منابع طبیعی خراسـان رضوی (مشـهد) تهیه شـد. گلدان‌هاي پلاسـتیکي ۲ کیلویـي (گلدان‌هایـی بـا قطـر ۱۷ سـانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سـانتی‌متر) بـا خاك زراعی مناسـب (مخلوطـی از ٦٤٪ شـن، ۲٦٪ سـیلت و ۱۰٪ رس) پر شـدند. هر تیمار شـامل ۳ گلـدان و هـر گلدان حـاوی ۱۰ عدد بـذر تریتیکاله بود. یک هفتـه بعد از کاشـت بـذور در خـاک، گیاهچه-ها با غلظت‌هـای ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مـول بـر لیـتر کلرید سـدیم و توأم بـا غلظت‌هـای ٦،۰ و ۱۰ میلی‌مـول بر لیتر کلرید کلسـیم بصـورت محلول‌پاشـی خاکی تیمار شـدند. اعـمال محلول‌هـاي تیـماری به مـدت پنج هفتـه صورت گرفـت. پس از اتمـام دوره تیمار و قبل از برداشـت گیاهان، بـه کمـك دسـتگاه SPAD-۵۰۲ (MINOLTACO-LTD JAPAN)، عـدد کلروفیل‌متر برگ گیاهان تعیین شـد. سـپس گیاهان برداشـت شـدند و طـول بخش هوایی و ریشـه با اسـتفاده از خط‌کش میلیمتري اندازه‌گیري شـد و بر اسـاس واحـد سـانتي‌متر گـزارش گردید. سـپس نمونه‌هـا جهت انجام سـنجش‌های بیوشـیمیایی در فریزر بـا دمای C°-۲۰ نگه‌داری شـدند و پارامترهـای فیزیولوژیکی و بیوشـیمیایی

شامل میزان شاخص‌های اکسیداتیو، آسکوربات احیا، دهیدروآسکوربات، گلوتاتیون احیا، پروتئین‌های محلول کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ مورد سنجش قرار گرفت.

سنجش پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

۱- سنجش شاخص‌های اکسیداتیو (مالون‌دی‌آلدئید، سایر آلدئیدها، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز)

برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون‌دی‌آلدئید و سایر آلدئیدهای تولید شده توسط واکنش با تیوباربیتوریک اسید (TBA)[1] که سبب تشکیل کمپلکس قرمز (MDA-TBA) در طول موج ۵۳۲ نانومتر می‌شود به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (شیمادزو مدل UV/۱۱۰۰) اندازه‌گیری شد، سپس جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین شد و از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر گردید. برای محاسبه مقدار مالون‌دی‌آلدئید از ضریب خاموشی $۱۵۵mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد و در نهایت مقدار مالون-دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها که محصول پراکسیداسیون لیپیدها است بر اساس میکرومولار بر گرم وزن تر محاسبه گردید (۲۵،۲۴). مقدار پراکسید هیدروژن به روش Alexieva و همکاران (۲۶) بر اساس واکنش H_2O_2با یدید پتاسیم (KI) توسط اسپکتروفتومتر در ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان H_2O_2با استفاده از ضریب خاموشی $۰/۲۸mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه شد و بر حسب میکرومولار بر گرم وزن تر بیان گردید. سنجش فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز بر اساس روش Doderer و همکاران (۲۷) با استفاده از لینولئیک اسید بعنوان سوبسترا و به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۳۴ نانومتر اندازه-گیری شد. فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین با استفاده از ضریب خاموشی $۲۵۰۰۰mM^{-1}cm^{-1}$ بیان شد.

۲- سنجش میزان آسکوربات احیا، دهیدروآسکوربات و گلوتاتیون احیا

برای سنجش آسکوربات، ۲۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه برگ با ۱۰ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۵٪ مخلوط شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. غلظت آسکوربات احیا و دهیدروآسکوربات به روشDe Pinto و همکاران (۲۸) توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۵ نانومتر تعیین شد. سپس نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات محاسبه شد.

برای سنجش میزان گلوتاتیون احیا، ۰/۵ گرم بافت تازه برگ در ٤ میلي‌لیتر متافسفریك اسید ۱۵٪ ساییده شد و عصاره حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دماي C° ٤ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. به ۲۰۰ میکرولیتر از محلول رویي حاصل از سانتریفوژ، ۲/٦ میلي‌لیتر بافر فسفات سدیم (۷/۷ pH) و ۲۰۰ میکرولیتر محلول DTNB ٦ میلي‌مولار اضافه گردید و پس از ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در ٤۱۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (۲۹).

۳- سنجش میزان پروتئین‌های محلول کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (گایاکول پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز)

برای تهیه عصاره آنزیمی، ۰/۲۵ گرم از بافت تازه برگ در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلي‌مولار (۷/۵ pH) که حاوي پلي‌وینیل‌پیرولیدین (PVP) ۱٪، EDTA ۱ میلي‌مولار و PMSF[2] ۱ میلي‌مولار ساییده شد. تمامی مراحل استخراج آنزیم در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه و در دماي C° ٤ در دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار مدل (۱۵۰۰۰CFNIIVision-VS) سانتریفوژ شدند. از محلول شفاف رویي براي سنجش میزان پروتئین‌های محلول کل و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان استفاده شد (۳۰).

۱ Thiobarbituric acid
۲ Phenylmethylsulfonyl fluoride

سنجش میزان پروتئین‌های محلول کل به روش Bradford (۳۱) با استفاده از رنگ کوماسي برليانت بلو (G-۲۵۰)[1] در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. غلظت پروتئین‌های محلول کل با استفاده از منحني استاندارد آلبومین سرم گاوی (BSA) محاسبه گردید و در نهایت بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPOX) با استفاده از پیش‌ماده گایاکول در طول موج ٤٣٦ نانومتر اندازه‌گیری شد (۳۲). سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) بر اساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲٤۰ نانومتر تعیین گردید (۳۳). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APOX) بر اساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۳٤). فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPOX) با استفاده از پیش‌ماده پیروگالل در طول موج ٤۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۳۵). برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) بر اساس روش Giannopolitis و همکاران (۳٦) اندازه‌گیري شد. بر اساس این روش، ۳ میلي‌لیتر مخلوط واکنش حاوي بافر فسفات پتاسیم ۵۰mM (pH، EDTA ۷/۸ ۰/۱ mM، متیونین ۱۳ mM، نیتروبلوتترازولیوم ((NBT ۷۵ Mμ، ریبوفلاوین ٤ Mμ و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمي بود. واکنش با برداشتن فویل آلومینیومي و قرار دادن نمونه‌ها در مقابل نور (۵۰۰۰ LUX) شروع شد. پس از ۱۵ دقیقه نور قطع شده و بلافاصله جذب نمونه‌ها در ۵٦۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت آنزیمي، مقداري از آنزیم است که در طول موج ۵٦۰ نانومتر موجب ۵۰٪ ممانعت از احیای NBT[2] شد.

آنالیز آماری

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار(SPSS version 22) و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون توکی در سطح خطای ۵ درصد ($P\leq0.05$) و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد .

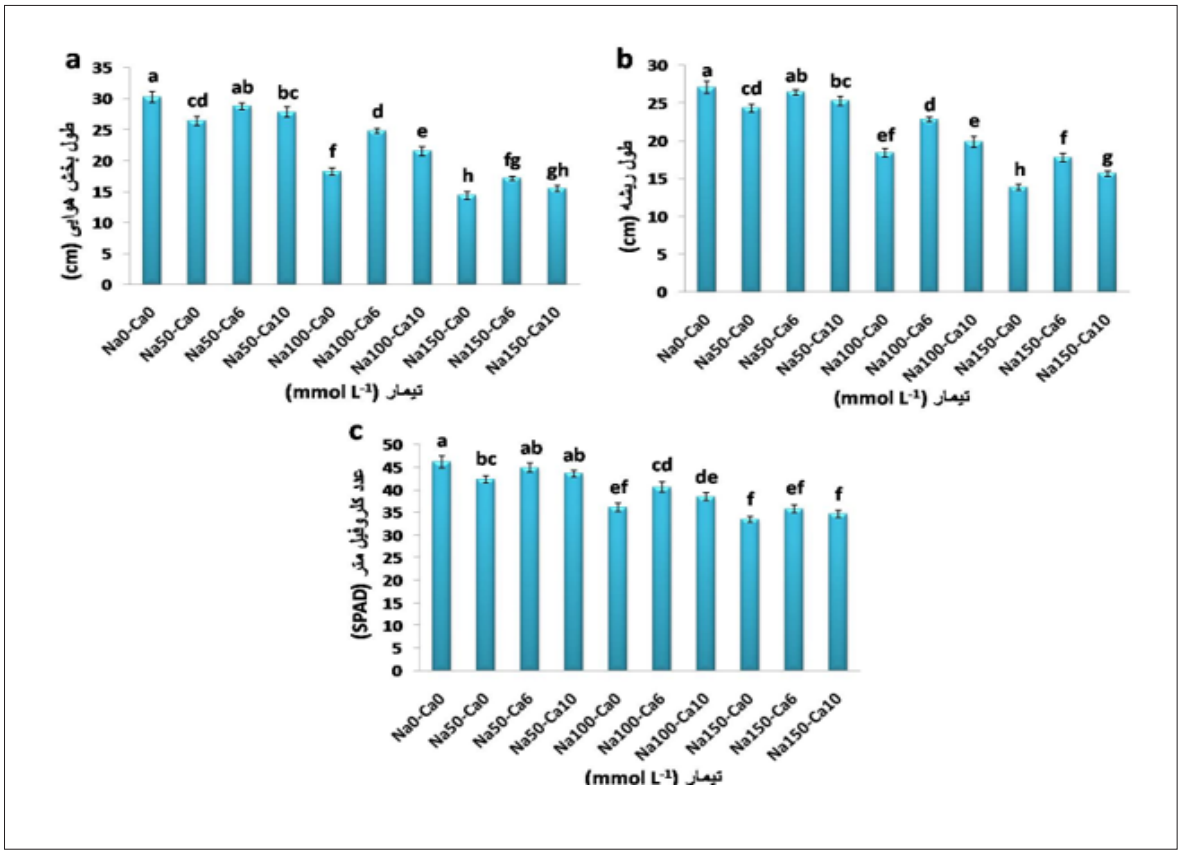
۱ Coomassie brilliant blue
۲ Nitro blue tetrazolium

نتایج

رشد و عدد کلروفیل‌متر (SPAD)

نتایج نشان داد که با افزایش شوري، طول بخش هوایی و ریشه و عدد کلروفیل‌متر به طور معني‌داري کاهش یافت درحالی‌که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معني‌داري باعث افزایش طول بخش هوایی و ریشه و عدد کلروفیل‌متر شد (شکل ۱). بیشترین طول بخش هوایی و ریشه مربوط به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توأم با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم و کمترین طول بخش هوایی و ریشه در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۵۲/٤٦٪ و ٤۸/۹۳٪ کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت (شکلa-b ۱).

بیشترین عدد کلروفیل‌متر مربوط به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توأم با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توأم با ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم بود و کمترین عدد کلروفیل‌متر در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم و گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توأم با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم و همچنین گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توأم با ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۲۷/۵۵٪، ۲۲/۵٦٪ و ۲٤/۹۹٪ کاهش یافت که در هر سه تیمار اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد (شکل c ۱).



شکل ۱-اثر برهمکنش غلظت‌های مختلف سدیم-کلسیم بر طول بخش هوایی (a) و ریشه (b) و عدد کلروفیل‌متر (c) (SPAD) در برگ گیاه تریتیکاله

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده‌ی عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است.

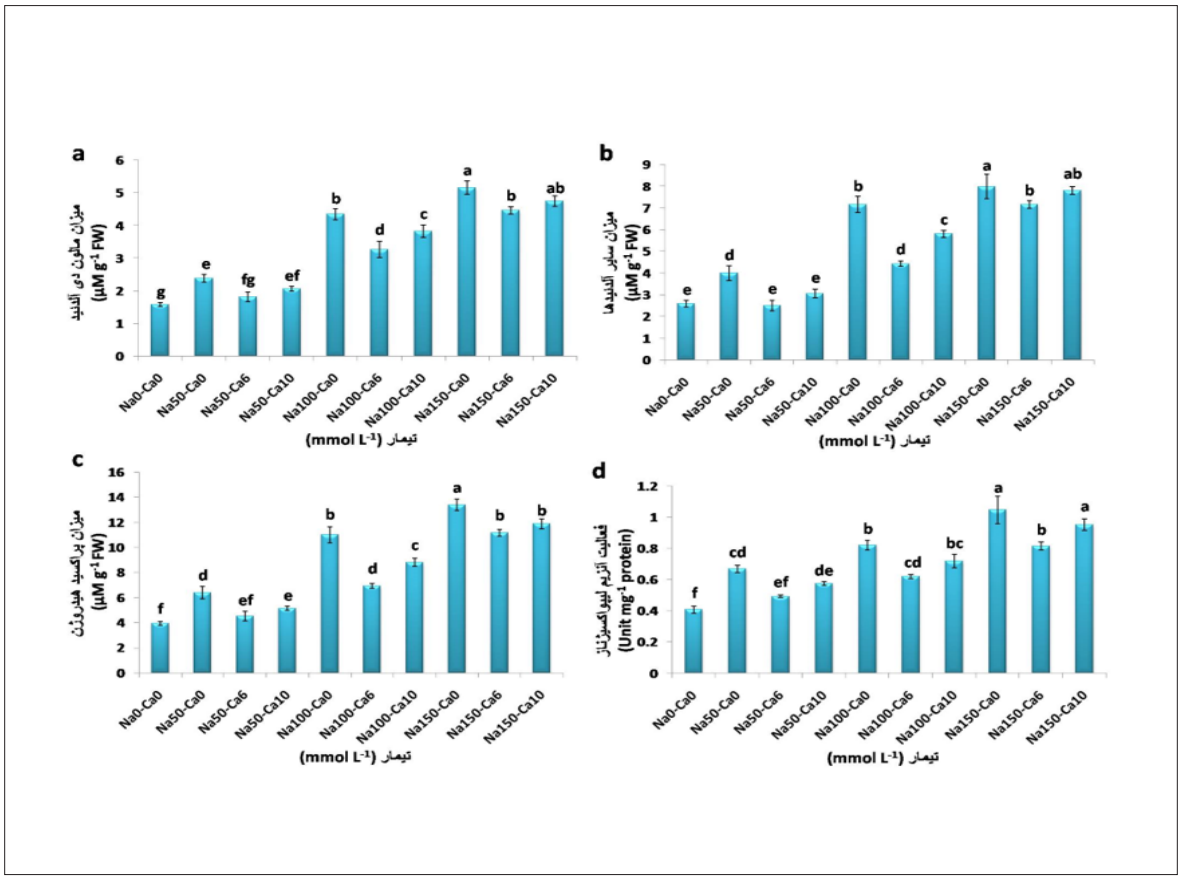
شاخص‌های اکسیداتیو (مالون‌دی‌آلدئید، سایر آلدئیدها، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز)

نتایج داده‌ها نشان داد که با افزایش شوري، میزان مالون‌دی‌آلدئید، سایر آلدئیدها، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز به طور معني‌داري افزایش یافت درحالی‌که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معني‌داري باعث کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید، سایر آلدئیدها، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز شد (شکل ۲). بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم و گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید -کلسیم مشاهده شد و کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید و

فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز مربوط به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم بود (شکل ۲ a,d).

بیشترین میزان سایر آلدئیدها در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم و گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلریدکلسیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۲/۰۸ و ۲/۰۱ برابر افزایش معنی‌داری را نشان داد در¬حالی¬که بیشترین میزان پراکسید هیدروژن در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي¬مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ۲/٤۰ برابر افزایش معنی¬داری یافت (شکل۲ b-c).

کمترین میزان سایر آلدئیدها مربوط به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلریدسدیم توام با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم و همچنین گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلریدسدیم توام با ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم بود درحالی‌که کمترین میزان پراکسید هیدروژن در گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلریدسدیم توام با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم بود (شکل۲ b-c).



شکل ۲-اثر برهمکنش غلظت‌های مختلف سدیم-کلسیم بر میزان مالون‌دی‌آلدئید (a)، سایر آلدئیدها (b)، پراکسید هیدروژن (c) و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز (d) در برگ گیاه تریتیکاله

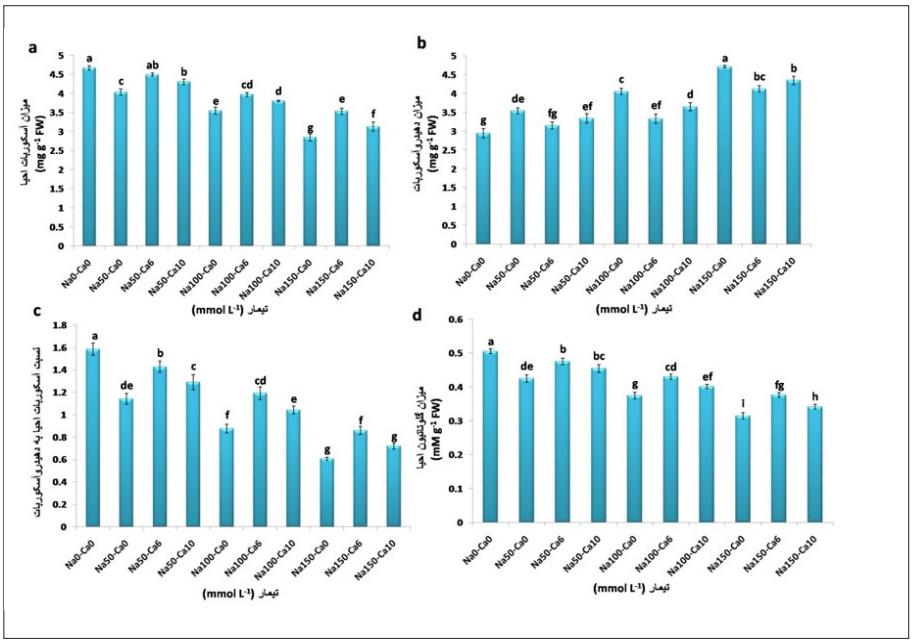
در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده‌ی عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است.

آسکوربات احیا، دهیدروآسکوربات، نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات و گلوتاتیون احیا

نتایج داده‌ها نشان داد که با افزایش شوري، میزان آسکوربات احیا و نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات و گلوتاتیون احیا به طور معني‌داري کاهش یافت درحالی‌که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معني‌داري باعث افزایش میزان آسکوربات احیا و نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات و گلوتاتیون احیا شد (شکل a,c,d ۳). بیشترین میزان آسکوربات احیا در گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم بود درحالی‌که بیشترین نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات در گیاه شاهد مشاهده شد (شکل a,c ۳). کمترین میزان آسکوربات احیا در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم بود که نسبت به گیاه شاهد ۳۸/۹۷٪ کاهش یافت درحالی‌که کمترین نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم و گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ٦۱/۸۵٪ و ۵٤/۵۷٪ کاهش یافت (شکل a,c ۳). بیشترین میزان گلوتاتیون احیا در گیاه شاهد بود و کمترین میزان گلوتاتیون احیا در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ۳۷/۷۸٪ کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت (شکل d ۳). علاوه بر این، نتایج داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش شوري، میزان دهیدروآسکوربات به طور معني‌داري افزایش یافت درحالی‌که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معني‌داري باعث کاهش میزان دهیدروآسکوربات شد(b ۳). بیشترین میزان دهیدروآسکوربات در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ۵۹/۷۹٪ افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت و کمترین میزان دهیدروآسکوربات مربوط به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم بود(b ۳).

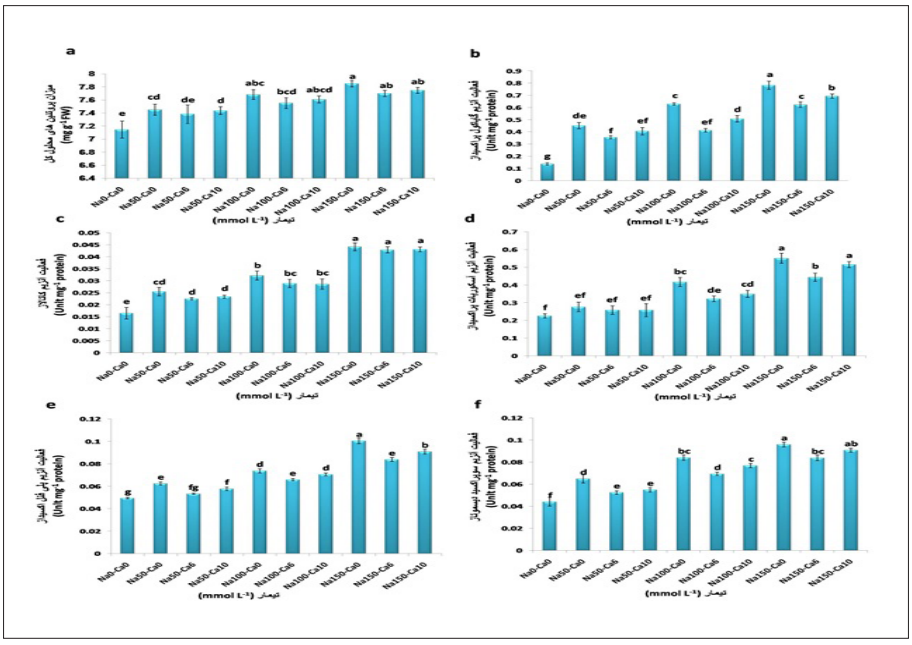
پروتئین‌های محلول کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (گایاکول پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و سوپر-اکسید دیسموتاز)

نتایج داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش شوري، میزان پروتئین‌های محلول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معني‌داري افزایش یافت درحالی‌که افزودن کلسیم به محیط شور تاثیر معني‌داري بر میزان پروتئین‌های محلول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت (شکل a,c ٤). نتایج داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش شوري، میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز به طور معني‌داري افزایش یافت. درحالی‌که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معني‌داري باعث کاهش میزان فعالیت این آنزیم‌ها شد (شکل b,d,e,f ٤). بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ٤/۷۵ برابر افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت و کمترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز مربوط به گیاه شاهد بود (شکل b ٤). بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ۱/۰۳ برابر افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت و کمترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز مربوط به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم بود (شکل e ٤). بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم و گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد که به ترتیب نسبت به گیاه شاهد ۱/٤٤ و ۱/۲۸ برابر افزایش یافت (شکل d ٤). در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات -پراکسیداز، در گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم، تیمارهای ٦ و ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم تاثیر بهبوددهنده معنی‌داری نداشت (شکل d ٤). بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم و گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد که به ترتیب نسبت به گیاه شاهد ۱/۱۷ و ۱/۰۵ برابر افزایش یافت و کمترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مربوط به گیاه شاهد بود (شکل f ٤).



شکل ۳- اثر برهمکنش غلظت‌های مختلف سدیم-کلسیم بر میزان آسکوربات احیا (a)، دهیدروآسکوربات (b)، نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات (c) و گلوتاتیون احیا (d) در برگ گیاه تریتیکاله

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده‌ی عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است.



شکل ٤- اثر برهمکنش غلظت‌های مختلف سدیم-کلسیم بر میزان پروتئین‌های محلول کل (a) و فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز (b)، کاتالاز (c)، آسکوربات پراکسیداز (d)، پلی‌فنل اکسیداز (e) و سوپراکسید دیسموتاز (f) در برگ گیاه تریتیکاله

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده‌ی عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است.

بیشترین میزان گلوتاتیون احیا در گیاه شاهد بود و کمترین میزان گلوتاتیون احیا در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ۳۷/۷۸٪ کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت (شکلd ۳). علاوه بر این، نتایج داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش شوري، میزان دهیدروآسکوربات به طور معني‌داري افزایش یافت درحالی‌که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معني‌داري باعث کاهش میزان دهیدروآسکوربات شد (b ۳) بیشترین میزان دهیدروآسکوربات در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ۵۹/۷۹٪ افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت و کمترین میزان دهیدروآسکوربات مربوط به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم بود (b ۳) .

پروتئین‌های محلول کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (گایاکول پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و سوپر-اکسید دیسموتاز)

نتایج داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش شوري، میزان پروتئین‌های محلول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معني‌داري افزایش یافت درحالی‌که افزودن کلسیم به محیط شور تاثیر معني‌داري بر میزان پروتئین‌های محلول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت (شکلa,c ٤). نتایج داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش شوري، میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز به طور معني‌داري افزایش یافت. درحالی‌که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معني‌داري باعث کاهش میزان فعالیت این آنزیم‌ها شد (شکلb,d,e,f ٤). بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ٤/۷۵ برابر افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت و کمترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز مربوط به گیاه شاهد بود (شکلb ٤). بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ۱/۰۳ برابر افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت و کمترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز مربوط به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ٦ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم بود (شکلe ٤). بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم و گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد که به ترتیب نسبت به گیاه شاهد ۱/٤٤ و ۱/۲۸ برابر افزایش یافت (شکل d ٤). در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات -پراکسیداز، در گیاه تحت تیمار ۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم، تیمارهای ٦ و ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم تاثیر بهبوددهنده معنی‌داری نداشت (شکلd ٤). بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم و گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلي‌مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد که به ترتیب نسبت به گیاه شاهد ۱/۱۷ و ۱/۰۵ برابر افزایش یافت و کمترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مربوط به گیاه شاهد بود (شکل f٤).

بحث:

در مطالعه حاضر، شوري منجر به کاهش عدد کلروفیل‌متر در گیاه تریتیکاله تحت تنش شد درحالی‌که افزودن کلسیم باعث افزایش عدد کلروفیل‌متر شد. بطور مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی که بر روی گیاه برنج انجام شد، تنش شوری باعث کاهش میزان کلروفیل شد درحالی‌که کلسیم باعث افزایش میزان کلروفیل در گیاه تحت تنش شد (٤۰). همچنین در مطالعه‌ای دیگر بر روی گیاه خردل هندی تحت تنش شوری، اثر بهبود-دهندگی کلسیم بر روی میزان کلروفیل گزارش شد (٤۱). در گزارشی دیگر بر روی گیاه زیره سیاه تحت تنش شوری، افزودن کلسیم باعث افزایش میزان کلروفیل و بهبود فتوسنتز بر روی گیاه تحت تنش شد (٤۲).

فتوسنتز یکی از فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی گیاه است که تحت تأثیر انواع تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد (۴۵،۴۴،۴۳،۵). یکی از عوامل کاهش میزان کلروفیل در طی تنش شوری، رقابت و پیشی گرفتن آنزیم گلوتامین کیناز (اولین آنزیم مسیر سنتز پرولین) به هنگام تنش از آنزیم گلوتامات لیگاز (اولین آنزیم مسیر سنتز کلروفیل) می‌باشد که باعث می‌شود تا گلوتامات (پیش‌ماده مشترک سنتز کلروفیل و پرولین) بیشتر به مصرف پرولین برسد و بنابراین سنتز کلروفیل با محدودیت مواجه می‌شود (٤٦).

کاهش میزان کلروفیل می‌تواند به واسطه کاهش سنتز کلروفیل و همچنین ناشی از تخریب آن باشد. همچنین تخریب مولکول کلروفیل به وسیله جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر ROS و یا آنزیم کلروفیلاز صورت می‌گیرد (٤٧،٤٦).

تنش شوری سبب افزایش ROS در کلروپلاست شده و تخریب مولکول کلروفیل و غشای کلروپلاست را در پی دارد که منجر به کاهش فتوسنتز و رشد می‌گردد (٤٧،٥).

کاهش میزان کلروفیل می‌تواند به دلیل فعالیت بیشتر کلروفیلاز در شرایط تنش نیز باشد (٤٦،٥).

در مطالعه حاضر، شوري منجر به افزایش شاخص‌های اکسیداتیو (مالون‌دی‌آلدئید، سایر آلدئیدها، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز) در گیاه تریتیکاله تحت تنش شد درحالی‌که افزودن کلسیم به طور معني-داري باعث کاهش شاخص‌های اکسیداتیو شد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی که بر روی گیاه برنج انجام شد، تنش شوری باعث افزایش میزان پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید و همچنین افزایش فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز شد درحالی‌که کلسیم باعث کاهش میزان پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز در گیاه تحت تنش شد (۳۷).

همچنین در مطالعه‌ای دیگر بر روی گیاه سویا تحت تنش شوری، اثر کلسیم بر روی کاهش میزان پراکسید هیدروژن و مالون-دی‌آلدئید گزارش شد (۳۸).

در گزارشی دیگر بر روی گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری، افزودن کلسیم باعث کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش شوری از جمله کاهش میزان پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید و نشت یونی بر روی گیاه تحت تنش شد (٤٨).

یکی از اثرات تنش شوری، افزایش تولید ROS و القای تنش اکسیداتیو می‌باشد که ROS منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، تغییر در نفوذپذیری غشا (نشت یونی) و خسارت به سلول می‌گردد بنابراین اندازه-گیری مالون‌دی‌آلدئید تولید شده در طی پراکسیداسیون لیپید، شاخص خوبی برای اندازه‌گیری میزان اکسیداتیو وارد شده به غشا می‌باشد (۵،۱).

یکی دیگر از عوامل پراکسیداسیون لیپید، فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز است. این آنزیم، یک آنزیم اکسیداتیو است که واکنش‌های پراکسیداسیون لیپید را کاتالیز می‌کند (۵۱،۵۰،۴۹). حفظ یکپارچگی غشاهای سلولی در شرایط تنش، یکی از اجزای مقاومت در برابر تنش شوری است (۵).

در مطالعه حاضر، شوري منجر به کاهش میزان آسکوربات احیا و نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات و گلوتاتیون احیا در گیاه تریتیکاله تحت تنش شد درحالی‌که افزودن کلسیم باعث افزایش آسکوربات احیا و نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات و گلوتاتیون احیا شد. علاوه بر این در مطالعه حاضر، شوري منجر به افزایش دهیدروآسکوربات در گیاه تریتیکاله تحت تنش شد درحالی‌که افزودن کلسیم باعث کاهش دهیدروآسکوربات شد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی که بر روی گیاه برنج انجام شد، تنش شوری باعث کاهش در میزان آسکوربات احیا، نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات و نسبت گلوتاتیون احیا به گلوتاتیون اکسید و افزایش میزان دهیدروآسکوربات شد درحالی‌که کلسیم باعث افزایش میزان آسکوربات احیا، نسبت آسکوربات احیا به دهیدروآسکوربات و نسبت گلوتاتیون احیا به گلوتاتیون اکسید و کاهش میزان دهیدروآسکوربات در گیاه تحت تنش شد (۳۷). همچنین در گزارشی دیگر بر روی گیاه سویا، تنش شوری باعث کاهش در میزان آسکوربات احیا شد درحالی‌که کلسیم باعث افزایش میزان آسکوربات احیا در گیاه تحت تنش شد (۳۸).

آسکوربات بعنوان یک آنتي‌اکسیدان قوي باعث افزایش تحمل گیاهان به تنش‌هاي محیطي مي‌شود. آنتی-اکسیدان‌هایی مانند آسکوربات و گلوتاتیون که در غلظت‌های بالا در کلروپلاست‌ها و دیگر اجزای سلولی یافت می‌شوند، در مکانیسم‌های دفاعی گیاهان طی تنش‌های اکسیداتیو بسیار مهم می‌باشند (۵۳،۵۲). بنابراین نگهداری نسبت‌های بالای آسکوربات و گلوتاتیون احیا در سلول‌ها برای حذف و جلوگیری از اثرات مضر ROS بسیار ضروری است. این نسبت به وسیله آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز حفظ می‌شود. همچنین آنزیم‌های مونودهیدروآسکوربات ردوکتاز (MDHAR) و دهیدروآسکوربات ردوکتاز (DHAR) از NADPH به عنوان نیروی احیا کننده استفاده می‌کنند (۵۳). به طور کلی می‌توان گفت بین انواع آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در گیاه تعادل وجود دارد (۵۲).

گلوتاتیون یک ترکیب پروتئینی کوچک است که از سه اسید آمینه سیستئین، اسید گلوتامیک و گلایسین ساخته شده است. همچنین گلوتاتیون آنتی‌اکسیدانی قوی است که باعث محافظت اجزای مهم سلولی می‌شود (٥٤).

چرخه آسکوربات-گلوتاتیون در رفع سمیت پراکسید هیدروژن

بسیار موثر است. در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون با فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، آسکوربات به مونودهیدروآسکوربات اکسیده شده که برای ادامه‌ی چرخه و تولید مجدد آسکوربات لازم است. به همین منظور در این چرخه، آنزیم‌های مونودهیدروآسکوربات ردوکتاز و گلوتاتیون ردوکتاز نیز فعالیت دارند که با استفاده از NAD(P)H و گلوتاتیون، آسکوربات را احیا می‌کنند (۵۵،۵۳).

در بافت‌های گیاهی، گلوتاتیون احیا معمولا در همه بخش‌های سلولی از جمله میتوکندری، کلروپلاست، واکوئل، سیتوزول، پراکسیزوم و شبکه آندوپلاسمی یافت می‌شود. برای حفظ وضعیت نرمال سلول، گلوتاتیون احیا نقش مهمی را در سازش با تنش اکسیداتیو بر عهده دارد (۵۳).

گلوتاتیون احیا همانند یک آنتی‌اکسیدان، بعنوان دهنده پروتون به رادیکال‌های آزاد آلی و یا ROS، آن‌ها را از بین برده و دی سولفید احیا و گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) را تشکیل می‌دهد (۵۵،۵۳).

همچنین گزارش شده است که افزایش سطح GSSG و به نوعی کاهش گلوتاتیون احیا در گیاهان تحت انواع تنش‌های محیطی القا می‌شود (۵٤،۵۳).

در مطالعه حاضر، شوري منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه تریتیکاله تحت تنش شد درحالی‌که افزودن کلسیم باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی که بر روی گیاهچه سورگوم انجام شد، تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شد درحالی‌که کلسیم باعث کاهش فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهچه تحت تنش شد (٥٦).

همچنین در مطالعه‌ای دیگر بر روی گیاه جو، تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز شد درحالی‌که کلسیم باعث کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در گیاه تحت تنش شد (۱۳).

گیاهان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را برای دفاع از تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی افزایش می-دهند (۵۹،۵۸،۵۷). در تحقیق حاضر، شوری احتمالا باعث القاء تنش اکسیداتیو می‌شود که نمی‌تواند به طور موثری با سیستم آنتی‌اکسیدانی تضعیف شود. همچنین با توجه به نقش آنزیم‌های CAT، APOX و GPOX در جاروب کردن H_2O_2، در تحقیق حاضر، دلیل احتمالی افزایش فعالیت این آنزیم‌ها هم راستا با افزایش غلظت شوری، افزایش میزان پراکسید هیدروژن است.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، اولین آنزیم دفاعی در مقابل تنش اکسیداتیو است که رادیکال سوپراکسید را به H_2O_2 تبدیل می‌کند. فعالیت SOD شاخص خوبی برای مقاومت به تنش در گیاهان است (۵،۱).

کاتالاز از سری آنزیم‌های احیاکننده است که تبدیل H_2O_2 را به آب و مولکول اکسیژن کاتالیز و از سلول در برابر اثرات سمی H_2O_2 حمایت می‌کند (۵۹،۵).

آسکوربات پراکسیداز (APOX)، آنزیم مهمی است که به کنترل ROS در گیاهان تحت تنش کمک می‌کند. این آنزیم با استفاده از آسکوربات به عنوان عامل احیاکننده، H_2O_2را به H_2Oتبدیل می‌کند (۵۹،۱).

آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPOX) از اکسیداسیون ترکیبات فنلی مثل گایاکول برای سم‌زدایی و تجزیه ۲O۲H استفاده می‌کند (۵۹،۵).

پلی‌فنل اکسیداز (PPOX) بعنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدان است که با اکسیداسیون ترکیبات فنلی منجر به تولید کوئینون‌ها می‌شود که کوئینون‌ها مسئول احیای ROS می‌باشند (۵۷).

افزایش فعالیت آنزیم‌هاي آنتی‌اکسیدان در طی تنش شوري احتمالا به این دلیل است که تنش شوري باعث افزایش تولید ROS می‌شود که بسیار واکنش‌گر و سمی بوده و به بیومولکول‌هاي حیاتی سلول نظیر لیپیدها، DNA و پروتئین‌ها آسیب وارد کرده و در نهایت متابولیسم سلول را مختل می‌نماید که این امر موجب افزایش تنش اکسیداتیو القایی به واسطه سدیم می‌شود و آنزیم‌هاي آنتی‌اکسیدان تولید شده بوسیله سلول‌هاي گیاهی باعث خنثی‌سازي و کاهش ROS، حفاظت سلول و تحمل در برابر شرایط تنش در گیاه می‌شوند (۶۰،۵). افزایش فعالیت آنزیم‌هاي آنتی‌اکسیدان ممکن است راهی براي تحمل گیاه به تنش‌هاي محیطی از جمله تنش شوری باشد (۶۰،۱).

در تحقیق حاضر، کاهش فعالیت آنزیم‌هاي آنتی-اکسیدان در هنگام افزودن تیمار کلسیم به محیط شور، ممکن است بدلیل این باشد که کلسیم با کاهش تجمع سدیم، تنش شوري را در گیاه کاهش داده و در نتیجه نیاز گیاه را به افزایش فعالیت آنزیم‌هاي آنتی‌اکسیدان در طی تنش شوري را کاهش می‌دهد زیرا با کاهش تنش شوري، میزان تولید ROS که بسیار واکنش‌گر و سمی هستند، کاهش می‌یابد (۵٦،۱۳).

نتیجه گیری:

با توجه به اینکه کلسیم بعنوان یک عنصر غذایی معدنی مهم است و در کاهش اثرات زیانبار تنش شوری در گیاهان بسیار مؤثر است و همچنین اهمیت تریتیکاله بعنوان یک گیاه زراعی-علوفه‌ای و از سوی دیگر با توجه به وسعت رو به افزایش زمین‌های شور، تعیین غلظت بهینه کلسیم برای مقاومت گیاهان مختلف در شرایط تنش شوری اهمیت دارد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن کلسیم به محیط شور باعث کاهش اثرات مضر تنش شوری از جمله بهبود رشد و فتوسنتز، افزایش میزان آسکوربات و گلوتاتیون احیا (بعنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی) و کاهش پراکسیداسیون لیپید (بعنوان شاخص اکسیداتیو) شد و بیشترین اثرات بهبوددهنده کلسیم در غلظت ٦ میلی‌مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد. بنابراین افزودن کلسیم به خاک‌های شور می‌تواند بعنوان راهکاری ساده، کاربردی و اقتصادی برای مقابله با تنش شوری و افزایش بهره‌وری خاک و گامی به سوی کشاورزی پایدار را فراهم نماید.

در کاهش اثرات زیانبار تنش شوری در گیاهان بسیار مؤثر است و همچنین اهمیت تریتیکاله بعنوان یک گیاه زراعی-علوفه‌ای و از سوی دیگر با توجه به وسعت رو به افزایش زمین‌های شور، تعیین غلظت بهینه کلسیم برای مقاومت گیاهان مختلف در شرایط تنش شوری اهمیت دارد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن کلسیم به محیط شور باعث کاهش اثرات مضر تنش شوری از جمله بهبود رشد و فتوسنتز، افزایش میزان آسکوربات و گلوتاتیون احیا (بعنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی) و کاهش پراکسیداسیون لیپید (بعنوان شاخص اکسیداتیو) شد و بیشترین اثرات بهبوددهنده کلسیم در غلظت ٦ میلی‌مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد. بنابراین افزودن کلسیم به خاک‌های شور می‌تواند بعنوان راهکاری ساده، کاربردی و اقتصادی برای مقابله با تنش شوری و افزایش بهره‌وری خاک و گامی به سوی کشاورزی پایدار را فراهم نماید.

تشکر و قدردانی:

از گروه زیست شناسی و آزمایشگاه تحقیقات گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تشکر و قدردانی می-گردد.

تعارض منافع:

نویسندگان اعلام می‌کنند که تعارض در منافع وجود ندارد.

References

1. Hao S, Wang Y, Yan Y, Liu Y, Wang J, Chen S. A review on plant responses to salt stress and their mechanisms of salt resistance. Horticulturae. 2021; 7(6): 132. **https://doi.org/10.3390/horticulturae7060132**

2. Zhao S, Zhang Q, Liu M, Zhou H, Ma C, Wang P. Regulation of plant responses to salt stress. International Journal of Molecular Sciences. 2021; 22(9): 4609. **https://doi.org/10.3390/ijms22094609**

3. Ondrasek G, Rathod S, Manohara KK, Gireesh C, Anantha MS, Sakhare AS, et al., Salt stress in plants and mitigation approaches. Plants. 2022; 11(6): 717. **https://doi.org/10.3390/plants11060717**

4. Zhao C, Zhang H, Song C, Zhu J, Shabala S. Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. The Innovation. 2020; 1(1): 100017. https://**doi.org/10.1016/j.xinn.2020.100017**

5. Kibria M, Hoque M. A review on plant responses to soil salinity and amelioration strategies. Open Journal of Soil Science. 2019; 9(11): 219-231. **DOI: 10.4236/ojss.2019.911013**

6. Seifikalhor M, Aliniaeifard S, Shomali A, Azad N, Hassani B, Lastochkina O, Li T. Calcium signaling and salt tolerance are diversely entwined in plants, Plant Signaling & Behavior. 2019; 14(11): 1665455. **DOI: 10.1080/15592324.2019.1665455**

7. Manishankar P, Wang N, Köster P, Alatar AA, Kudla J. Calcium signaling during salt stress and in the regulation of ion homeostasis. Journal of Experimental Botany. 2018; 69(17): 4215-4226. **DOI: 10.1093/jxb/ery201**

8. Hadi MR, Karimi N. The role of calcium in plants salt tolerance. Journal of Plant Nutrition. 2012; 35(13): 2037-2054. **https://doi.org/10.1080/01904167.2012.717158**

9. Jahani M, Hadi MR, Jafarinia M, Jahani S. 2021. Impact of calcium supplementation on photosynthetic pigments, compatible osmolytes contents and membrane stability index in triticale (x Triticosecale Wittmack) exposed to salinity stress. 2021; Journal of Chemical Health Risks. **DOI: 10.22034/jchr.2021.1901194.1141**

10. Amjadi E, Lahouti M, Ganjeali A. Effect of different calcium levels on damages caused by NaCl stress in potato (Solanum tuberosum L.). Plant Production Technology. 2020; 12(1): 169-176. **DOI: 10.22084/ppt.2019.16338.1841**

11. Larbi A, Kchaou H, Gaaliche B, Gargouri K, Boulal H, Morales F. Supplementary potassium and calcium improves salt tolerance in olive plants. Scientia Horticulturae. 2020; 260: 108912. **DOI: 10.1016/j.scienta.2019.108912.**

12. Forghani A, Forghani AH, Altafi M, Hashemi Majd K, Sofalian O. The effects of different sources of potassium and calcium on yield and ionic balance of tomatoes under salinity stress in hydroponic cultivation. Nova Biologica Reperta. 2021; 8(3): 206-219. **http://nbr.khu.ac.ir/article-1-3457-en.html**

13. Jahani S, Lahouti M, Jahani M. Investigation Na+-Ca2+ interaction on biomass and enzymes activity of peroxidase and polyphenol oxidase in leaf of barley (Hordeum vulgare L.). Crop Physiology Journal. 2014; 5(20): 15-24. **http://cpj.ahvaz.iau.ir/article-1-186-en.html**

14. Zhou G, Ma BL. Calcium addition affects germination and early seedling growth of sweet sorghum under saline conditions. Agricultural Science and Technology. 2012; 13(12): 2538-2543. **https://www.proquest.com/docview/1348292781**

15. Sadat Asilan K. The effect of foliar application of calcium silicate on salt stress tolerance of two canola (Brassica napus L.) varieties. Journal of Crops Improvement. 2019; 21(4): 353-366. **https://doi.org/10.22059/jci.2018.271749.2134**

16. Haghighi M, Naghavi B. Effect of Ca and nano-Ca spray on reducing the effects of salinity stress on tomato at vegetative growth stage in hydro culture. Journal of Horticultural Science. 2019; 32(4): 507-518. **DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.40107**

17. Dejam M, Rajaie M, Johari S, Tahmasebi S. The role of nitrogen, calcium and potassium foliar application on reduction of salinity advers effect in cumin (Cuminum cyminum L.) under hydroponic condition. Environmental Stresses in Crop Sciences. 2020. 13(1): 237-250. **DOI: 10.22077/escs.2019.1726.1464**

18. Attarzadeh M, Rahimi A, Torabi B, Dashti H. Effect of Ca(NO3)2, KH2PO4, and MnSO4 foliar application on ion accumulation and physiological traits of safflower under salt stress. Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi). 2015; 28(107): 133-142. **DOI: 10.22092/aj.2015.105714**

19. Abd-Elatty SAA, Nawar AI, Salama HSA, Khattab IM, Shaalan AM. The production of dual-

purpose triticale in arid regions: Application of organic and inorganic treatments under water deficit conditions. Agronomy. 2022; 12: 1251. **DOI: 10.3390/agronomy12061251 20.**

20. Barati V, Bijanzadeh E. Triticale forage crop quality as affected by water stress and nitrogen biofertilizer in an arid climate. Iran Agricultural Research. 2020; 39(2): 57-68. **DOI: 10.22099/IAR.2021.38134.1404**

21. Tamagno S, Pittelkow CM, Fohner G, Nelsen TS, Hegarty JM, Carter CE, Vang T, Lundy ME. Optimizing water and nitrogen productivity of wheat and triticale across diverse production environments to improve the sustainability of baked products. Frontiers in Plant Science. 2022; 13: 952303. **https://doi.org/10.3389/fpls.2022.952303**

22. Ayalew H, Kumssa TT, Butler TJ, Ma X. Triticale improvement for forage and cover crop uses in the southern great plains of the United States. Frontiers in Plant Science. 2018; 9: 1130. **https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01130**

23. Nabati J, Keshmiri E, Kafi M, Mehrjerdi MZ, Khaninejad S, Norooziyan A. Effect of calcium and potassium on improvement of negative effects of salinity on some morphological characteristics in Kochia (Kochia scoparia). Journal of Plant Process and Function. 2014; 3(2): 111-122.

24. Heath RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1968; 125: 189-198. **DOI: 10.1016/0003-9861(68)90654-1**

25. Miers P, Hada S, Aharoni N. Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid peroxidation products detected during parsly by a newly developed method. Journal of the American Society for Horticultural Science. 1992; 117: 128-132. **DOI: https://doi.org/10.21273/JASHS.117.1.128**

26. Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant Cell and Environment. 2001; 24(12): 1337-1344. **https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x**

27. Doderer A, Kokkelink I, Vanderween S, Valk B, Schrom AW, Douma AC, Purification and characterization of two lipoxygenase isoenzymes from germinating barley. Biochimica et Biophysica Acta. 1992; 1120(1): 97-104. **DOI: 10.1016/0167-4838(92)90429-h**

28. De Pinto MC, Francis D, De Gara L. The redox state of the ascorbate-dehydroascorbate pair as a specific sensor of cell division in tobacco BY-2 cells. Protoplasma. 1999; 209(1-2): 90-97. **DOI: 10.1007/BF01415704**

29. Ellman GI. Tissue sulfydryl groups. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1959; 82(1): 70-77. **DOI: 10.1016/0003-9861(59)90090-6**

30. Nasibi F, Yaghoobi MM, Manouchehri Kalantari KH. Effect of exogenous arginine on alleviation of oxidative damage in tomato plant underwater stress. Journal of Plant Interactions. 2011; 6(4): 291-296. **https://doi.org/10.1080/17429145.2010.539708**

31. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 1976; 72: 248-254. **DOI: 10.1006/abio.1976.9999**

32. MacAdam JW, Nelson CJ, Sharp RE. Peroxidase activity in leaf elongation zone of tall feseue. Journal of Plant Physiology. 1992; 99: 872-878. **DOI: 10.1104/pp.99.3.872**

33. Aebi H. Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 1984; 105: 121-126. **DOI: 10.1016/s0076-6879(84)05016-3**

34. Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology. 1981; 22: 867-880. **https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232**

35. Raymond J, Pakariyathan N, Azanza JL. Purification and some properties of polyphenol oxidase from sunflowers seeds. Phytochemistry. 1993; 34: 927-931. **https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90689-7**

36. Giannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology. 1997; 59(2): 309-314. **DOI: 10.1104/pp.59.2.309**

37. Rahman A, Nahar K, Hasanuzzaman M, Fujita M. Calcium supplementation improves Na+/K+ ratio, antioxidant defense and glyoxalase systems in salt-stressed rice seedlings. Frontiers in Plant Science. 2016; 7: 609. **https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00609**

38. Elkelish AA, Alnusaire TS, Soliman MH, Gowayed S, Senousy HH, Fahad S. Calcium availability regulates antioxidant system, physio-biochemical activities and alleviates salinity stress mediated oxidative damage in soybean seedlings. Journal of Applied Botany and Food Quality. 2019; 92: 258-266. **DOI: https://doi.org/10.5073/JABFQ.2019.092.036**

39. Li Y; Liu Y; Jin L; Peng R. Crosstalk between Ca2+ and other regulators assists plants in responding to abiotic stress. Plants. 2022; 11(10): 1351. **https://doi.org/10.3390/plants11101351**

40. Roy PR, Tahjib-Ul-Arif M, Polash MAS, Hossen MZ, Hossain MA. Physiological mechanisms of exogenous calcium on alleviating salinity-induced stress in rice (Oryza sativa L.). Physiology and Molecular Biology of Plants. 2019; 25(3): 611-624. **DOI: 10.1007/s12298-019-00654-8**

41. Yousuf PY, Ahmad A, Ganie AH, Aref IM, Iqbal M. Potassium and calcium application ameliorates growth and oxidative homeostasis in salt-stressed Indian mustard (Brassica juncea) plants. Pakistan Journal of Botany. 2015; 47(5): 1629-1639.

42. Sharifi P, Shirani Bidabadi S. Protection against salinity stress in black cumin involves karrikin and calcium by improving gas exchange attributes, ascorbate–glutathione cycle and fatty acid compositions. SN Applied Sciences. 2020; 2: 2010. **https://doi.org/10.1007/s42452-020-03843-3**

43. Jahani S, Saadatmand S, Mahmoodzadeh H, Khavari-Nejad RA. Effect of foliar application of cerium oxide nanoparticles on growth, photosynthetic pigments, electrolyte leakage, compatible osmolytes and antioxidant enzymes activities of Calendula officinalis L.. Biologia. 2019; 74: 1063-1075. **DOI: 10.2478/s11756-019-00239-6**

44. Jahani M, Khavari-Nejad RA, Mahmoodzadeh H, Saadatmand S. Effects of foliar application of cobalt oxide nanoparticles on growth, photosynthetic pigments, oxidative indicators, non-enzymatic antioxidants and compatible osmolytes in canola (Brassica napus L.). Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica. 2019; 61(1): 29-42. **DOI: 10.24425/abcsb.2019.127736**

45. Jahani M, Khavari-Nejad RA, Mahmoodzadeh H, Saadatmand S. Investigation of structural and ultrastructural changes of canola (Brassica napus L.) leaves under cobalt oxide nanoparticles treatment. Iranian Journal of Biological Sciences. 2021; 16(3): 85-69. DOI: 20.1001.1.17354226.1400.16.3.6.3

46. Mosavi N, Ebadi M, Khorshidi M, Masoudian N, Hokmabadi H. Study of some physiological characteristics of potato tissue under salinity stress. International Journal of Farming and Allied Sciences. 2018; 7(1): 1-5.

47. Turan S, Tripathy BC. Salt-stress induced modulation of chlorophyll biosynthesis during de-etiolation of rice seedlings. Physiologia Plantarum. 2015; 153(3): 477-491. **DOI: 10.1111/ppl.12250**

48. Ahmad P, Abd Allah EF, Alyemeni MN, Wijaya L, Alam P, Bhardwaj R, Siddique KHM. Exogenous application of calcium to 24-epibrassinosteroid pre-treated tomato seedlings mitigates NaCl toxicity by modifying ascorbate–glutathione cycle and secondary metabolites. Scientific Reports. 2018; 8: 13515. **DOI: 10.1038/s41598-018-31917-1**

49. Pokotylo IV, Kolesnikov YS, Derevyanchuk MV, Kharitonenko AI, Kravets VS. Lipoxygenases and plant cell metabolism regulation. Ukrainian Biochemical Journal. 2015; 87(2): 41-55. **https://doi.org/10.15407/ubj87.02.041**

50. Jahani S, Saadatmand S, Mahmoodzadeh H, Khavari-Nejad, RA. Effects of cerium oxide nanoparticles on biochemical and oxidative parameters in marigold leaves. Toxicological & Environmental Chemistry. 2018; 100(8-10): 677-692. **https://doi.org/10.1080/02772248.2019.1587443**

51. Jahani M, Khavari-Nejad RA, Mahmoodzadeh H, Saadatmand S. Investigation of seed germination, early growth and physio-biochemical parameters of canola seedling exposed to Co3O4 engineered nanoparticles. Journal of Chemical Health Risks. 2022; 12(2): 237-246. **DOI: 10.22034/jchr.2020.1891185.1092**

52. Akram NA, Shafiq F, Ashraf M. Ascorbic acid-A potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. Frontiers in Plant Science. 2017; 8: 613. **https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00613**

53. Hasanuzzaman M, Bhuyan MHMB, Anee TI, Parvin K, Nahar K, Mahmud JA, Fujita M. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. Antioxidants (Basel). 2019; 8(9): 384. **DOI: 10.3390/**

antiox8090384

54. Aslam S, Gul N, Mir MA, Asgher M, Al-Sulami N, Abulfaraj AA, Qari S. Role of jasmonates, calcium, and glutathione in plants to combat abiotic stresses through precise signaling cascade. Frontiers in Plant Science. 2021; 12: 668029. **https://doi.org/10.3389/fpls.2021.668029**

55. Punia H, Tokas J, Malik A, Bajguz A, El-Sheikh MA, Ahmad P. Ascorbate-glutathione oxidant scavengers, metabolome analysis and adaptation mechanisms of ion exclusion in sorghum under salt stress. International Journal of Molecular Sciences. 2021; 22: 13249. **DOI: 10.3390/ijms222413249**

56. Chen X, Zhang R, Li B, Cui T, Liu C, Liu C, Chen B, Zhou Y. Alleviation of oxidative damage induced by CaCl2 priming is related to osmotic and ion stress reduction rather than enhanced antioxidant capacity during germination under salt stress in sorghum. Frontiers in Plant Science. 2022; 13: 881039. **https://doi.org/10.3389/fpls.2022.881039**

57. Jahani M, Khavari-Nejad RA, Mahmoodzadeh H, Saadatmand S. Effects of cobalt oxide nanoparticles (Co3O4 NPs) on ion leakage, total phenol, antioxidant enzymes activities and cobalt accumulation in Brassica napus L. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 2020; 48(3): 1260-1275. **DOI: https://doi.org/10.15835/nbha48311766**

58. Jahani S, Saadatmand S, Jahani M, Mahmoodzadeh H, Khavari-Nejad RA, Dose-dependent impacts of nano-sized ceria (CeO2) on seed germination, early growth and physiological parameters of marigold seedling. Journal of Ornamental Plants. 2022; 12(2): 101-114. **https://dorl.net/dor/20.1001.1.22516433.2022.12.2.2.8**

59. Rajput VD, Harish, Singh RK, Verma KK, Sharma L, Quiroz-Figueroa FR, Meena M, Gour VS, Minkina T, Sushkova S, Mandzhieva S. Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. Biology. 2021; 10(4): 267. **https://doi.org/10.3390/biology10040267**

60. Zelm EV, Zhang Y, Testerink C. Salt tolerance mechanisms of plants. Annual Review of Plant Biology. 2020; 71(1): 403-433. **https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005**