



Investigating Relative Water Content, Electrolyte Leakage, Phenolic Compounds and Activity of Phenylalanine Ammonia-Lyase and Tyrosine Ammonia-Lyase Enzymes in Triticale Leaves Treated with Sodium Chloride and calcium Chloride

Malihe Jahani^{1,2*}, Mohammad Reza Hadi³, Mojtaba Jafarinia³, Sedighe Jahani^{2*}

1.Department of Biology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran

2.Ph.D. Graduated, 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

Place of research: Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Article Info

Abstract

Article History:

received 03.02.2023
revised 05.29.2023
accepted 07.01.2023
online 07.01.2023

KeyWords:

triticale (x *Triticosecale* Wittmack)
salt stress
antioxidant capacity
glutathione reductase
glutathione S-transferase
mineral elements

*Corresponding author:

E-mail address

*malihe.jahani2009@gmail.com
hadi_mohammadreza@yahoo.com
jaafarinia@yahoo.com
*sedighe.jahani2010@gmail.com

Introduction: Considering the increasing number of saline lands due to water scarcity, it seems necessary to investigate ways to increase tolerance to salinity stress. Also, in order to overcome the negative effect of salinity stress, the use of calcium ion supplement in the growth environment is very useful and practical to improve the stress factor.

Aim: The purpose of this research was to investigate relative water content, electrolyte leakage, amount of mineral elements, antioxidant capacity, phenolic compounds and activity of phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase enzymes in leaves of triticale (x *Triticosecale* Wittmack) treated with sodium chloride and calcium chloride

Materials and methods: This experiment was conducted as a completely randomized design with 3 replications in controlled greenhouse conditions. One-week-old seedlings were exposed with sodium chloride doses (0, 50, 100 and 150 mmol L⁻¹) and calcium chloride doses (0, 6 and 10 mmol L⁻¹) for 5 weeks and then some physio-morphological and biochemical characteristics including leaf number and surface, relative water content, ion leakage, contents of phenolic compounds (anthocyanin, total phenol, total flavonoid, total flavonol), enzymes activity (phenylalanine ammonia-lyase, tyrosine ammonia-lyase, glutathione reductase, glutathione S-transferase), antioxidant capacity and amount of mineral elements (sodium, potassium, calcium) were measured in leaves.

Results: The results showed that salt stress significantly decreased the number and surface of leaves, relative water content, activity of glutathione reductase enzyme, the amount of potassium and calcium in leaves, but increased ion leakage, the contents of phenolic compounds, activity of phenylalanine ammonia-lyase, tyrosine ammonia-lyase and glutathione S-transferase enzymes, antioxidant capacity and sodium content in leaves. While the addition of calcium to saline environment increased the number and surface area of leaves, relative water content, activity of glutathione reductase enzyme, the amount of potassium and calcium in leaves, but decreased ion leakage, the contents of phenolic compounds, activity of phenylalanine ammonia-lyase, tyrosine ammonia-lyase and glutathione S-transferase enzymes, antioxidant capacity and sodium content in leaves.

Conclusion: Calcium reduced the harmful effects of salinity stress in leaves of triticale plant, so adding calcium to salty soils can be a simple, practical and economic solution to deal with salinity stress and increase soil productivity and a step towards to provide sustainable agriculture.

Cite this article: Jahani M.*, Hadi M.R., Jafarinia M., Jahani S.*. Investigating Relative Water Content, Electrolyte Leakage, Phenolic Compounds and Activity of Phenylalanine Ammonia-Lyase and Tyrosine Ammonia-Lyase Enzymes in Triticale Leaves Treated with Sodium Chloride and calcium Chloride. Iranian Journal of Biological Sciences. 2023; 18(1): 1-20

doi 10.30495/ZISTI.2023.1981463.1157

DOR 20.1001.1.17354226.1402.18.1.1.8

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/licenses/by-nc/4.0/>



بررسی محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیا لیا ز و تیروزین آمونیا لیا ز در برگ گیاه تریتیکاله تحت تیمار کلرید سدیم و کلرید کلسیم

ملیحه جهانی^{۱*}، محمدرضا هادی^۲، مجتبی جعفری نیا^۳، صدیقه جهانی^۴

۱. گروه زیست شناسی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

۲. فارغ التحصیل دکتری تخصصی، 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: گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخچه مقاله

ارسال ۱۴۰۱/۱۲/۱۱

بازنگری ۱۴۰۲/۰۳/۰۸

پذیرش ۱۴۰۲/۰۴/۱۰

نمایه ۱۴۰۲/۰۴/۱۰

کلمات کلیدی

تریتیکاله (*x Triticosecale Wittmack*)

تنش شوری

ظرفیت آنتی اکسیدانی

گلوکاتیون ردوکتاز

گلوکاتیون S-ترانسفراز

عناصر معدنی

* نویسنده مسؤل

*malihe.jahani2009@gmail.com
hadi_mohammadreza@yahoo.com
jaafarinia@yahoo.com
*sedighe.jahani2010@gmail.com

مقدمه: با توجه به افزایش روزافزون زمین های شور بواسطه کم آبی به نظر می رسد بررسی راهکارهای افزایش تحمل به تنش شوری ضروری می باشد. هم چنین جهت غلبه بر تأثیر منفی تنش شوری، استفاده از مکمل یون کلسیم در محیط رشد برای بهبود عامل تنش بسیار مفید و کاربردی می باشد.

هدف: هدف از انجام این آزمایش، بررسی محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت، میزان عناصر معدنی، ظرفیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیا لیا ز و تیروزین آمونیا لیا ز در برگ گیاه تریتیکاله (*x Triticosecale Wittmack*) تحت تیمار کلرید سدیم و کلرید کلسیم بود.

مواد و روش ها: این آزمایش بصورت یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط کنترل شده ی گلخانه ای صورت گرفت. گیاهچه های یک هفته ای با غلظت های کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی مول بر لیتر) و توأم با غلظت های کلرید کلسیم (۶۰، ۱۰ میلی مول بر لیتر) برای ۵ هفته تیمار شدند و سپس برخی از خصوصیات فیزیو-مورفولوژیکی و بیوشیمیایی شامل تعداد و سطح برگ، محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت، محتوای ترکیبات فنلی (آنتوسیانین، فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول کل)، فعالیت آنزیم ها (فنیل آلانین آمونیا لیا ز، تیروزین آمونیا لیا ز، گلوکاتیون ردوکتاز، گلوکاتیون S-ترانسفراز)، ظرفیت آنتی اکسیدانی و میزان عناصر معدنی (سدیم، پتاسیم، کلسیم) در برگ مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که تنش شوری بطور معنی داری باعث کاهش تعداد و سطح برگ، محتوای نسبی آب، فعالیت آنزیم گلوکاتیون ردوکتاز، میزان پتاسیم و کلسیم در برگ شد ولی باعث افزایش نشت الکترولیت، محتوای ترکیبات فنلی، فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیا لیا ز، تیروزین آمونیا لیا ز و گلوکاتیون S-ترانسفراز، ظرفیت آنتی اکسیدانی و میزان سدیم در برگ شد. در حالی که افزودن کلسیم به محیط شور باعث افزایش تعداد و سطح برگ، محتوای نسبی آب، فعالیت آنزیم گلوکاتیون ردوکتاز، میزان پتاسیم و کلسیم در برگ شد ولی باعث کاهش نشت الکترولیت، محتوای ترکیبات فنلی، فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیا لیا ز و گلوکاتیون S-ترانسفراز، ظرفیت آنتی اکسیدانی و میزان سدیم در برگ شد.

نتیجه گیری: کلسیم باعث کاهش اثرات زیان آور تنش شوری در برگ گیاه تریتیکاله شد بنابراین افزودن کلسیم به خاک های شور می تواند بعنوان راهکاری ساده، کاربردی و اقتصادی برای مقابله با تنش شوری و افزایش بهره وری خاک و گامی به سوی کشاورزی پایدار را فراهم نماید.

شبهه آدرس دهی این مقاله: جهانی م^{*}، هادی م.، جعفری نیا م.، جهانی ص.^{*} بررسی محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیا لیا ز و تیروزین آمونیا لیا ز در برگ گیاه تریتیکاله تحت تیمار کلرید سدیم و کلرید کلسیم. مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۲؛ ۱۸(۱): ۲۰۰-۱

doi 10.30495/ZISTI.2023.1981463.1157

DOR 20.1001.1.17354226.1402.18.1.1.8

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا **شاپا چاپی:** ۱۷۳۵-۴۲۲۶ **شاپا الکترونیکی:** ۲۷۱۷-۴۵۹۸ **نویسندگان:** © حق مؤلف

مقدمه:

بر هم زدن تعادل کاتیونی گیاه شده که این امر سبب کاهش میزان کلسیم، منیزیم و پتاسیم در گیاه می‌شود (۱۱،۹،۸). در مقادیر بالای شوری، مقدار یون پتاسیم به علت جایگزینی توسط یون سدیم کاهش می‌یابد که این عمل علاوه بر به هم زدن تعادل یونی باعث اختلال در متابولیسم سلولی نیز می‌شود (۸-۹).

تنش‌های مختلف محیطی شامل تنش‌های زنده و غیر زنده سبب تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) می‌شوند (۱۲،۱۱،۹) که از جمله این تنش‌ها می‌توان به تنش شوری اشاره کرد (۱۱). گیاهان برای کاهش اثرات مخرب ROS، مکانیزم‌هایی از جمله سیستم دفاع آنتی-اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی دارند. سیستم غیر آنزیمی شامل آسکوربات، گلوتاتیون، آلفاتوکوفرول، آنتوسیانین، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌باشند و سیستم آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون S-ترانسفراز و کاتالاز می‌باشند که در پاکسازی ROS نقش دارند (۱۴،۱۳،۹).

گزارش‌هایی از آثار مفید کلسیم در پارامترهای مورفو-فیزیولوژیک گیاهان تحت تنش شوری موجود است. بهبود رشد توسط کلسیم در گیاهان سورگوم شیرین (۱۵)، ریحان (۱۶)، کلزا (۱۷) و گندم (۱۸) تحت تنش شوری گزارش شد. علاوه بر این، بهبود میزان رنگبندی فتوسنتزی کلروفیل توسط کلسیم در گیاهان جو (۲۰-۱۹)، توت فرنگی (۲۱)، زیره سبز (۲۲)، یولاف (۲۳) و گوجه فرنگی (۲۴) تحت تنش شوری گزارش شد. در پژوهشی که بر روی گیاه یولاف (*Avena sativa* L.) تحت تنش شوری انجام شد، کلسیم از طریق بهبود در جوانه زنی بذر، رشد گیاه و فتوسنتز و کاهش در میزان سدیم، کلر و نشت یونی باعث کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاه تحت تنش شد (۲۳). در تحقیقی دیگر، اثر بهبوددهندگی کلسیم بر عملکرد دانه، تعداد بذر در غلاف، تعداد غلاف، وزن هزاردانه، وزن خشک، عملکرد روغن، شاخص سبزیبگی (SPAD)، شاخص برداشت در گیاه کلزای تحت تنش شوری گزارش شد (۲۵). در مطالعه ای دیگر که بر روی گیاه فلفل تحت تنش شوری انجام شد، افزودن کلسیم منجر به کاهش میزان سدیم و کلر

تریتیکاله به وسیله انسان و از تلاقی گندم و چاودار بدست آمده و در زمره ی گیاهانی است که با داشتن ظرفیت بالای تولید، می‌تواند نقش مهمی را در تامین بخش عمده ای از نیازهای انسان و دام ایفا کند (۱). هدف از ایجاد این گیاه، ترکیب صفات مطلوب دو گونه ی والدی شامل قابلیت تولید بالا، سازگاری وسیع و صفات مطلوب دانه از گندم و تحمل به تنش‌های غیر زنده از چاودار بوده است (۱-۲).

کلسیم نقش اساسی در تکمیل ساختمان غشا سلولی، پایداری دیواره سلولی، تنظیم انتقال یون و جذب انتخابی غشا دارد (۳). یون کلسیم اثرات قابل توجهی در فرآیندهای فیزیولوژیک گیاهان داشته و فاکتورهای مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان تحت تنش شوری را بهبود می‌بخشد (۴-۶).

تنش شوری پس از خشکی از مهم‌ترین و متداول‌ترین تنش‌های محیطی در سطح جهان و ایران است. بخش قابل توجهی از اکوسیستم‌های طبیعی و زراعی دنیا تحت تنش شوری قرار دارند (۷). محصولات رشد یافته در مناطق خشک و نیمه خشک اغلب در معرض عوامل محیطی نامطلوب نظیر خشکی یا شوری بالای خاک هستند (۷-۸). تنش شوری موجب تغییرات مورفو-فیزیولوژیک و پاسخ‌های بیوشیمیایی در گیاهان می‌شود که میزان این تغییرات بستگی به سطح شوری و مدت زمان اعمال آن دارد (۸). آثار مشترک اغلب خاک‌های شور، مهار رشد است که می‌تواند دلایل بسیاری داشته باشد اما این مهار اغلب در ارتباط با غلظت بالای یون Na^+ ، $-Cl$ و هم‌چنین کمبود یون K^+ است (۹-۱۰).

تأثیر غیرمستقیم شوری روی رشد گیاه، کاهش محتوای آب گیاه است. زمانی که شوری افزایش می‌یابد، پتانسیل آب خاک کاهش می‌یابد. به طور کلی، حضور نمک در محلول خاک، پتانسیل اسمزی خاک را کاهش می‌دهد و تنش آبی ایجاد می‌کند و این امر، جذب آب کافی برای رشد گیاه را با اشکال مواجه کرده، در نتیجه به کاهش سرعت رشد و به همان اندازه تغییر در فرآیندهای متابولیک در گیاهان منجر می‌شود (۱۱،۹). افزایش سدیم باعث کاهش کاتیون‌های دیگر در گیاه و

تحت تنش شوری از طریق بهبود پارامترهایی مانند طول و وزن خشک ساقه و ریشه، تعداد دانه، وزن هزار دانه، محصول دانه، میزان پروتئین دانه، سطح برگ، محتوای نسبی آب برگ، رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها) و هم چنین افزایش میزان پتاسیم و کاهش در نشت یونی و میزان سدیم گزارش گردید (۱۹).. هم-چنین Amuthavalli و همکاران (۳۱) گزارش کردند که تنش شوری باعث افزایش سطح پرولین در پنبه شد، در حالی که افزودن کلسیم به محیط شور باعث کاهش سطح پرولین شد. هم چنین در مطالعه ای دیگر که بر روی گیاه کنجد تحت تنش شوری انجام شد، کلسیم باعث افزایش میزان کلروفیل، کاروتنوئیدها و پروتئین های محلول شد و هم چنین باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید از طریق کاهش مالون دی آلدئید شد در حالی که بر روی سطح و وزن خشک برگ بی تاثیر بود (۳۲).

با توجه به افزایش روزافزون زمین های شور به واسطه ی کم آبی و هم چنین نقش مهم کلسیم به مقاومت در برابر اثرات مخرب تنش شوری در گیاهان، این پژوهش به منظور بررسی محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت، میزان عناصر معدنی، ظرفیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیلایز و تیروزین آمونیلایز در برگ گیاه تربیتکاله تحت تیمار کلرید سدیم و کلرید کلسیم انجام شد.

و افزایش میزان پتاسیم و کلسیم شد (۲۶). هم چنین در پژوهشی دیگر که به منظور بررسی تاثیر کلسیم بر روی گوجه فرنگی تحت تنش شوری انجام شد، تنش شوری باعث کاهش شاخص های رشد و عملکرد شامل ارتفاع بوته، وزن تر و خشک، تعداد میوه ها و محصول کل شد در حالی که کلسیم باعث افزایش این شاخص های رشد شد. هم چنین کلسیم باعث کاهش میزان سدیم شد (۲۷).

علاوه بر این، در تحقیقی دیگر که بر روی برگ درخت زیتون تحت تنش شوری انجام شد، کلسیم باعث افزایش سطح برگ، محتوای کلروفیل کل و بهبود محتوای عناصر معدنی نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، آهن، روی و منگنز در برگ درختان تحت تنش شد (۲۸). در مطالعه ای دیگر که بر روی گیاه کتان تحت تنش شوری انجام شد، کلسیم باعث بهبود ارتفاع گیاه، وزن خشک گیاه، سطح برگ و میزان کلروفیل شد ولی باعث کاهش نشت الکترولیت، پراکسیداسیون لیپید و میزان پراکسید هیدروژن در گیاه تحت تنش شد (۲۹). هم چنین در پژوهشی دیگر که بر روی گیاه گندم انجام شد، تنش شوری باعث کاهش رشد و رنگیزه های فتوسنتزی شد ولی باعث افزایش میزان مالون دی آلدئید شد در حالی که کلسیم باعث افزایش پارامترهای رشد و فتوسنتز و کاهش پراکسیداسیون لیپید در گیاه تحت تنش شد (۳۰). علاوه بر این، اثرات بهبود دهنده ی کلسیم بر روی گیاه جو

مواد و روش ها

کشت گلدانی و اعمال تیمارهای آزمایش

این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل شده ی گلخانه ای (دمای ۲۰ °C ± ۲۵، رطوبت نسبی ۳۵٪، نور با شدت ۱۰۰۰۰ لوکس، فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) در آزمایشگاه تحقیقات فیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد مشهد انجام شد. در این پژوهش، غلظت های کلرید سدیم و کلرید کلسیم بر اساس پژوهش های گذشته ی محققان تعیین شد (۲۰،۱۵). کلیه مواد شیمیایی استفاده شده در این پژوهش از برند مرک آلمان می باشد. بذر گیاه

تربیتکاله از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی (مشهد) تهیه شد. گلدان های پلاستیکی ۲ کیلویی با خاک زراعی مناسب پر شدند. هر تیمار شامل ۳ گلدان و هر گلدان حاوی ۱۰ عدد بذر تربیتکاله بود. یک هفته بعد از کاشت بذور در خاک، گیاهچه ها با غلظت های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم و توام با غلظت های ۰، ۶، ۱۰ میلی مول بر لیتر کلرید کلسیم بصورت محلول پاشی خاکی تیمار شدند. اعمال محلول های تیماری به مدت پنج هفته صورت گرفت. پس از اتمام دوره تیمار و قبل از برداشت گیاهان

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

به منظور سنجش نشت الکترولیت، ابتدا ۰/۱ گرم برگ با آب دیونیزه جهت زدودن آلودگی‌های سطحی به دقت شسته و از آن قطعاتی با قطر یک سانتی متر مربع تهیه شد و در لوله آزمایش درپوش دار حاوی ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه به مدت ۲ ساعت در دمای °C ۳۲ قرار گرفتند. سپس هدایت الکتریکی آن‌ها با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (EC۱). سپس در مرحله بعد، همان قطعات برگ‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای °C ۱۲۰ اتوکلاو شده و پس از سرد شدن لوله‌ها در دمای اتاق، مجدداً EC آن‌ها اندازه‌گیری شد (EC۲). درصد هدایت الکتریکی بیانگر میزان نشت الکترولیت مواد از غشا است که مطابق فرمول زیر محاسبه می‌گردد (۳۵).

$$EC(\%) = (EC1 / EC2) \times 100$$

۲- سنجش محتوای ترکیبات فنلی (آنتوسیانین، فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول کل) و فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیا لیاز و تیروزین آمونیا لیاز برگ میزان آنتوسیانین به روش Wagner (۳۶) بوسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. سپس محاسبه غلظت با استفاده از ضریب خاموشی $33000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ انجام شد و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن خشک برگ محاسبه شد. میزان فنل کل بر اساس روش رنگ سنجی فولین-سیوکالتیو انجام شد. به ۰/۱ میلی لیتر عصاره متانولی، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین-سیوکالتیو (۱۰٪) و ۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵٪ در تاریکی اضافه شد. پس از ۱ ساعت، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر خوانده شد (۳۷). سنجش میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم و بر اساس منحنی استاندارد روتین (Rutin) انجام شد. به ۱ میلی لیتر از عصاره متانولی، ۲۵۰ میکرولیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۱۰٪، ۲۵۰

تعداد و سطح برگ، محتوای نسبی آب و نشت الکترولیت برگ گیاهان تعیین شد. سپس گیاهان برداشت شدند و نمونه‌ها جهت انجام سنجش‌های بیوشیمیایی مرتبط با بافت تر برگ، در فریزر با دمای °C ۲۰- نگه‌داری شدند. هم‌چنین برای انجام سنجش‌های بیوشیمیایی مرتبط با بافت خشک برگ، نمونه‌ها در آون (UFP۸۰۰TS Model, Memmert, Germany) با دمای °C ۷۰ به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و سپس با آسیاب برقی (Universal Model, Germany IKA, M۲۰) پودر شدند.

سنجش پارامترهای فیزیو-مورفولوژیکی و بیوشیمیایی

۱- اندازه‌گیری تعداد و سطح برگ، محتوای نسبی آب و نشت الکترولیت برگ

ابتدا تعداد برگ تعیین شد. سپس برای اندازه‌گیری سطح برگ از روش Singh و Pandey (۳۳) استفاده شد. از هر گیاه چند برگ انتخاب شد. برگ‌های انتخاب شده از گیاه جدا و بر روی کاغذ میلی‌متری قرار داده شد و از آن‌ها کپی کاغذی تهیه گردید. پس از تهیه کپی کاغذی، مربعی که ابعاد آن 1×1 سانتی متر بود جدا و با ترازوی دیجیتال Sartorius مدل TE۲۱۴S با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین گردید و سپس وزن این مربع یادداشت شد. سپس کپی برگ مورد نظر توزین گردید و با رابطه تناسبی، سطح برگ بر اساس وزن آن مشخص گردید و بر اساس سانتی متر مربع گزارش شد. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، از هر گیاه یک برگ انتخاب شده و از هر برگ، ۱۰ دیسک مشابه با قطر ۱ cm تهیه شد و با ترازوی دیجیتال وزن شدند (FW). سپس دیسک‌های برگ‌ها در ظروف پتری دیش حاوی آب مقطر برای مدت ۴ ساعت غوطه‌ور و سپس دیسک‌های برگ‌ها از پتری دیش‌ها خارج و با استفاده از کاغذ صافی خشک شده و دوباره وزن شدند تا وزن تورژسانس (TW) بدست آید. برای محاسبه وزن خشک (DW)، دیسک‌ها درون فویل آلومینیوم قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای °C ۷۰ در آون خشک و سپس وزن شدند. محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد (۳۴).

خاموشی معادل $6/12 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ استفاده شد (۴۱). برای سنجش فعالیت آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز، یک میلی لیتر مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم $0/1$ میلی مولار با $6/5 \text{ pH}$ ، GSH (گلوکاتایون احیا) 1 میلی مولار و CDNB (1 -کلرو، 2 -و 4 -دی نیتروبنزن) 1 میلی مولار بود. واکنش با اضافه کردن 50 میکرولیتر عصاره آنزیمی شروع شد. تغییرات جذب نمونه ها در طول موج 340 نانومتر در مدت 5 دقیقه ثبت گردید و فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی 1-mM $9/16\text{-cm}$ بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد. یک واحد فعالیت آنزیم بر حسب میزان آنزیمی که تشکیل یک میکرومول GSH-CDNB کانتوگه شده در هر دقیقه را در دمای 25°C کاتالیز می کند (۴۲). ظرفیت آنتی اکسیدانی از طریق جاروب کنندگی رادیکال آزاد DPPH $^\circ$ (2) و 2 دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) به روش Blois (۴۳) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 517 نانومتر تعیین گردید.

۴- سنجش میزان عناصر معدنی سدیم، پتاسیم و کلسیم برگ

برای تعیین غلظت عناصر معدنی سدیم، پتاسیم و کلسیم در برگ از روش Rayan و همکاران (۴۴) استفاده شد. ابتدا خاکستر تر گیاهی تهیه شد. بدین منظور مقدار $0/5$ گرم بافت خشک کاملاً ساییده شد، سپس 10 میلی-لیتر اسید نیتریک غلیظ به آن اضافه شده و به مدت 48 ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. سپس به مدت 2 ساعت روی اجاق برقی دارای ترموستات با حرارت ملایم قرار داده شد تا تمام بخارات اسیدی قهوه ای رنگ به آرامی خارج شود. تمام مراحل در زیر هود انجام شد. پس از خارج شدن کامل بخارات اسیدی، محلول بی رنگی بدست آمد که حجم آن را با آب دیونیزه به 100 میلی لیتر رسانده و محلول حاصل که Digest نامیده می شود را چند بار با استفاده از کاغذ صافی، صاف کردیم. اندازه-گیری مقدار Na^+ و K^+ به وسیله دستگاه فلیم فتومتر یا نورسنج شعله ای مدل (JENWAYPEPV) و از طریق منحنی استاندارد انجام شد و سپس مقدار سدیم و پتاسیم بر حسب میلی گرم بر گرم بافت خشک برگ محاسبه شد.

میکرولیتر استات پتاسیم 1 مولار اضافه کرده و پس از 40 دقیقه، جذب نمونه ها در طول موج 415 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (۳۸). سنجش میزان فلاونول کل نیز به روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد. به 1 میلی لیتر از عصاره متانولی، 1 میلی لیتر از محلول کلرید آلومینیوم 2% ، 3 میلی لیتر از محلول استات سدیم 5% اضافه گردید. جذب نمونه ها پس از $2/5$ ساعت در طول موج 440 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (۳۸). برای سنجش فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیاپاز و تیروزین آمونیاپاز، ابتدا عصاره آنزیمی تهیه شد (۳۹). فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاپاز (PAL) با تشکیل سینامیک اسید توسط اسپکتروفتومتر در طول موج 290 نانومتر اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم PAL به عنوان 1 میکرومول سینامیک اسید تولید شده در مدت یک دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین بیان شد (۴۰). فعالیت آنزیم تیروزین آمونیاپاز (TAL) با تشکیل p-کوماریک اسید توسط اسپکتروفتومتر در طول موج 333 نانومتر اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم TAL به عنوان 1 میکرومول p-کوماریک اسید تولید شده در مدت یک دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین بیان شد (۴۰).

۳- سنجش میزان فعالیت آنزیم های گلوکاتایون ردوکتاز و گلوکاتایون S-ترانسفراز و ظرفیت آنتی-اکسیدانی (به روش DPPH) برگ

برای سنجش فعالیت آنزیم های گلوکاتایون ردوکتاز و گلوکاتایون S-ترانسفراز، ابتدا عصاره آنزیمی تهیه شد (۳۹). فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR) بر اساس اکسیداسیون NADPH تعیین گردید. در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات سدیم 100 میلی مولار ($8/8 \text{ pH}$)، گلوکاتایون اکسید (GSSG) $0/5$ میلی-مولار، NADPH $0/1$ میلی مولار و 50 میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با اضافه کردن NADPH شروع شد. جذب نمونه ها به مدت 3 دقیقه در طول موج 340 نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت آنزیمی، مقدار آنزیمی است که برای اکسیداسیون یک میکرومول NADPH در یک دقیقه لازم است. برای محاسبه مقدار NADPH اکسید شده از ضریب

آنالیز آماری

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار (SPSS version ۲۲) و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون توکی در سطح خطای ۵ درصد ($P \leq 0.05$) و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد.

برای اندازه‌گیری کلسیم از روش تیتراسیون ۰/۰۱ نرمال استفاده شد (۴۴). بدین ترتیب که ۱ میلی‌لیتر از محلول Digest برداشته و به آن ۰/۵ میلی‌لیتر سود ۲ مولار و سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه کرده و بعد از آن شناساگر موراکسید به آن اضافه نموده و با EDTA ۰/۰۱ نرمال از تغییر رنگ صورتی به بنفش تیتراژ شد و از فرمول زیر مقدار کلسیم محاسبه شد.

$$Ca = \frac{\text{نرمالیتة EDTA} \times (\text{حجم شاهد} - \text{حجم نمونه})}{\text{حجم عصاره}} \times 1000$$

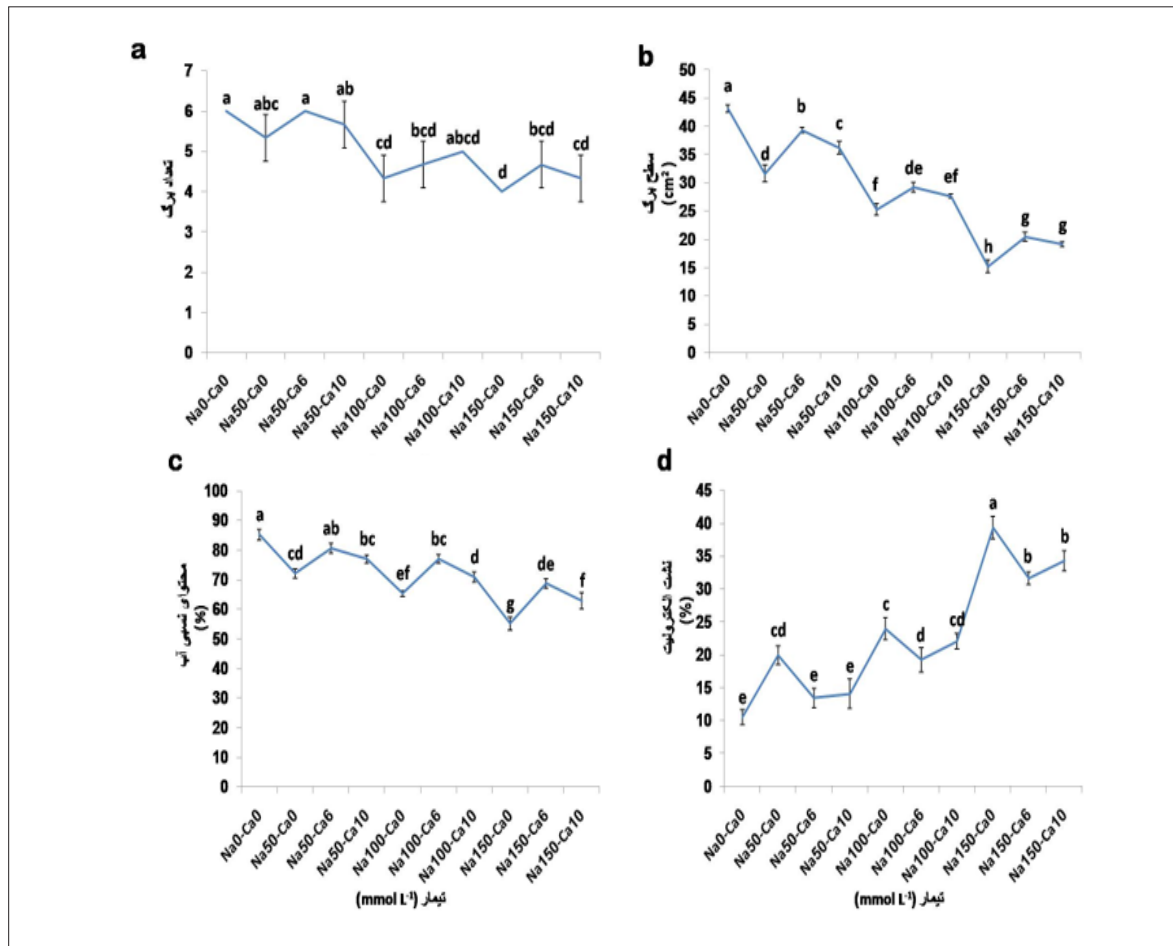
نتایج

و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۶ میلی‌مول بر لیتر کلرید کلسیم و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی‌مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلی‌مول بر لیتر کلرید کلسیم بود (شکل d۱).

محتوای ترکیبات فنلی (آنتوسیانین، فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول کل) و فعالیت آنزیم‌های فنیل-آلانیل آمونیاکاز و تیروزین آمونیاکاز برگ نتایج داده‌ها نشان داد که با افزایش شوری، محتوای ترکیبات فنلی (آنتوسیانین، فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول کل) و فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیاکاز و تیروزین آمونیاکاز برگ به طور معنی‌داری افزایش یافت در حالی که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معنی‌داری باعث کاهش محتوای ترکیبات فنلی (آنتوسیانین، فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول کل) و فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیاکاز و تیروزین آمونیاکاز برگ شد (شکل ۲). بیشترین میزان فنل کل، آنتوسیانین و فعالیت آنزیم تیروزین آمونیاکاز برگ در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۷۳/۰۱ درصد، ۱/۴۴ و ۱/۱۲ برابر افزایش معنی‌داری را نشان داد و کمترین میزان فنل کل، آنتوسیانین و فعالیت آنزیم تیروزین آمونیاکاز برگ مربوط به گیاه شاهد بود (شکل a, b, f, ۲).

تعداد و سطح برگ، محتوای نسبی آب و نشت الکترولیت برگ

نتایج نشان داد که با افزایش شوری، تعداد و سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ به طور معنی‌داری کاهش یافت در حالی که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معنی‌داری باعث کاهش نسبی آب برگ شد (شکل a-c۱). هم‌چنین نتایج نشان داد که با افزایش شوری، میزان نشت الکترولیت برگ به طور معنی‌داری افزایش یافت در حالی که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معنی‌داری باعث کاهش میزان نشت الکترولیت برگ شد (شکل d۱). بیشترین سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ مربوط به گیاه شاهد بود و کمترین سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۶۷/۶۴٪ و ۲۲/۳۵٪ کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت (شکل b-c۱). هم‌چنین پارامتر تعداد برگ روند کاهش معنی‌دار اندکی را نشان داد (شکل a۱). بیشترین میزان نشت الکترولیت برگ مربوط به گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ۷۳/۲ برابر افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد داشت و کمترین میزان نشت الکترولیت برگ مربوط به گیاه شاهد



شکل ۱: اثر برهمکنش غلظت های مختلف کلرید سدیم و کلرید کلسیم بر تعداد برگ (a) و مساحت برگ (b) و محتوای نسبی آب (c) و نسبت الکترولیت (d) در برگ گیاه تریتیکاله (Na بیانگر کلرید سدیم و Ca بیانگر کلرید کلسیم است که Na در غلظت های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول بر لیتر و Ca در غلظت های ۰، ۶، ۱۰ میلی مول بر لیتر می باشد) در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده ی عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

کل، فلاونول کل) و فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیا یاز و تیروزین آمونیا یاز برگ شد (شکل ۲). بیشترین میزان فنل کل، آنتوسیانین و فعالیت آنزیم تیروزین آمونیا یاز برگ در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۷۳/۰۱ درصد، ۱/۴۴ و ۱/۱۲ برابر افزایش معنی داری را نشان داد و کمترین میزان فنل کل، آنتوسیانین و فعالیت آنزیم تیروزین آمونیا یاز برگ مربوط به گیاه شاهد بود (شکل ۲، a, b, f).

محتوای ترکیبات فنلی (آنتوسیانین، فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول کل) و فعالیت آنزیم های فنیل-آلانین آمونیا یاز و تیروزین آمونیا یاز برگ نتایج داده ها نشان داد که با افزایش شوری، محتوای ترکیبات فنلی (آنتوسیانین، فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول کل) و فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیا یاز و تیروزین آمونیا یاز برگ به طور معنی داری افزایش یافت در حالی که افزودن کلسیم به محیط شور به طور معنی-داری باعث کاهش محتوای ترکیبات فنلی (آنتوسیانین، فنل کل، فلاونوئید

افزایش یافت و اختلاف معنی داری نسبت به گیاه شاهد داشت و کمترین فعالیت آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز برگ مربوط به گیاه شاهد بود در حالی که کمترین ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) برگ مربوط به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۶ میلی مول بر لیتر کلرید کلسیم بود (b-c۳).

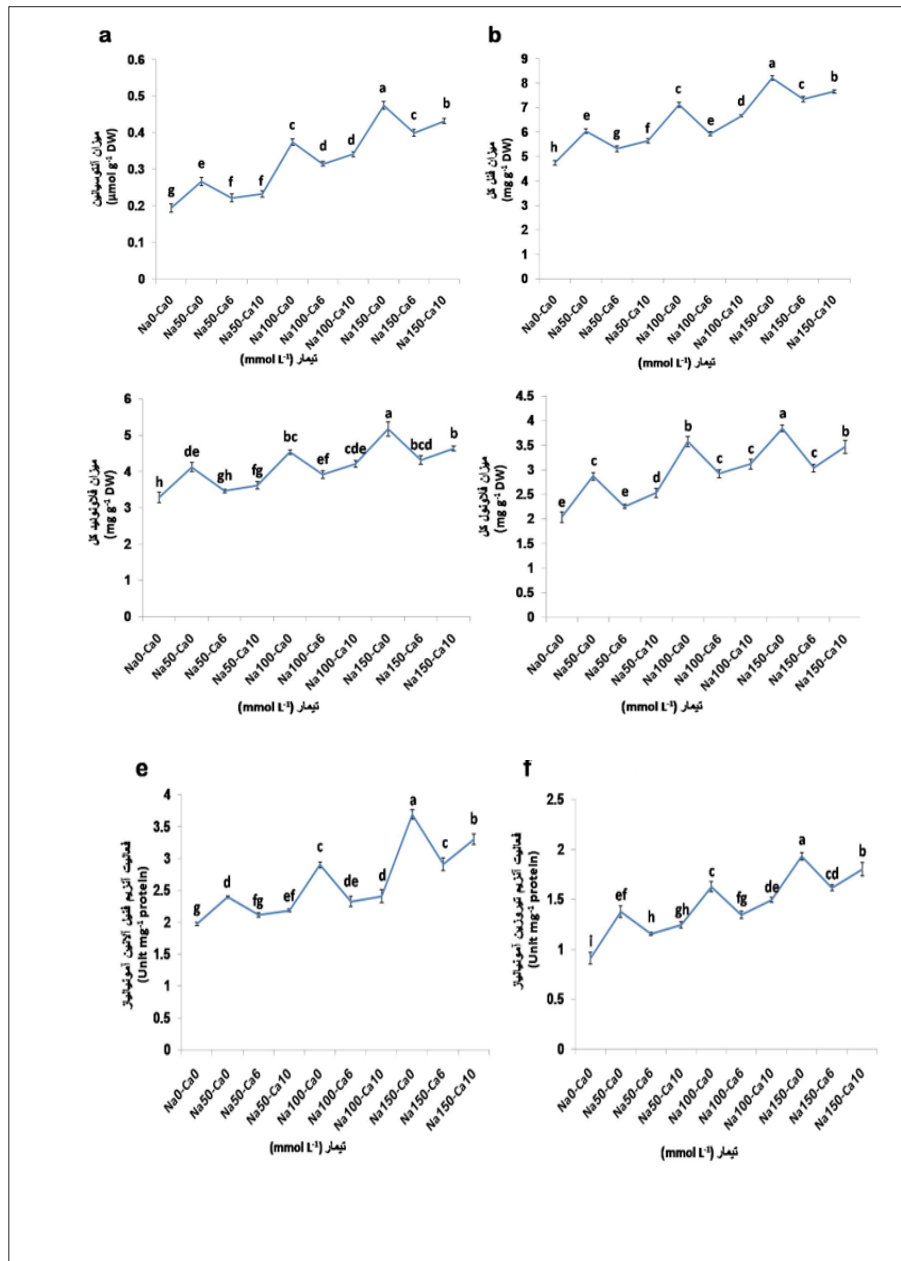
میزان عناصر معدنی سدیم، پتاسیم و کلسیم برگ

نتایج داده ها نشان داد که با افزایش شوری، میزان سدیم برگ به طور معنی داری افزایش یافت در حالی که میزان پتاسیم و کلسیم برگ به طور معنی داری کاهش یافت (شکل ۴). با افزودن کلسیم به محیط شور، میزان سدیم برگ به طور معنی داری کاهش یافت در حالی که میزان پتاسیم و کلسیم برگ به طور معنی داری افزایش یافت (شکل ۴). بیشترین میزان سدیم برگ در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ۴/۳۲ برابر افزایش یافت و اختلاف معنی داری نسبت به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۶ میلی مول بر لیتر کلرید کلسیم بود (شکل ۴a). بیشترین میزان پتاسیم برگ در گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۶ میلی مول بر لیتر کلرید کلسیم و هم چنین در گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلی-مول بر لیتر کلرید کلسیم بود در حالی که بیشترین میزان کلسیم برگ در گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی-مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۶ میلی مول بر لیتر کلرید کلسیم بود (شکل b-c۴). کمترین میزان پتاسیم برگ در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم و گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلی مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۴۵/۵۶٪ و ۴۰/۴۶٪ کاهش یافت در حالی که کمترین میزان کلسیم برگ در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد ۴۸/۹۲٪ کاهش یافت (شکل c۴).

بیشترین میزان فلاونوئید کل، فلاونول کل و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز برگ در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۵۷/۷۶، ۸۸/۶۱ و ۸۶/۵۲ درصد افزایش معنی داری را نشان داد و کمترین میزان فلاونوئید کل، فلاونول کل و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز برگ مربوط به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۶ میلی مول بر لیتر کلرید کلسیم بود (شکل c-e ۲).

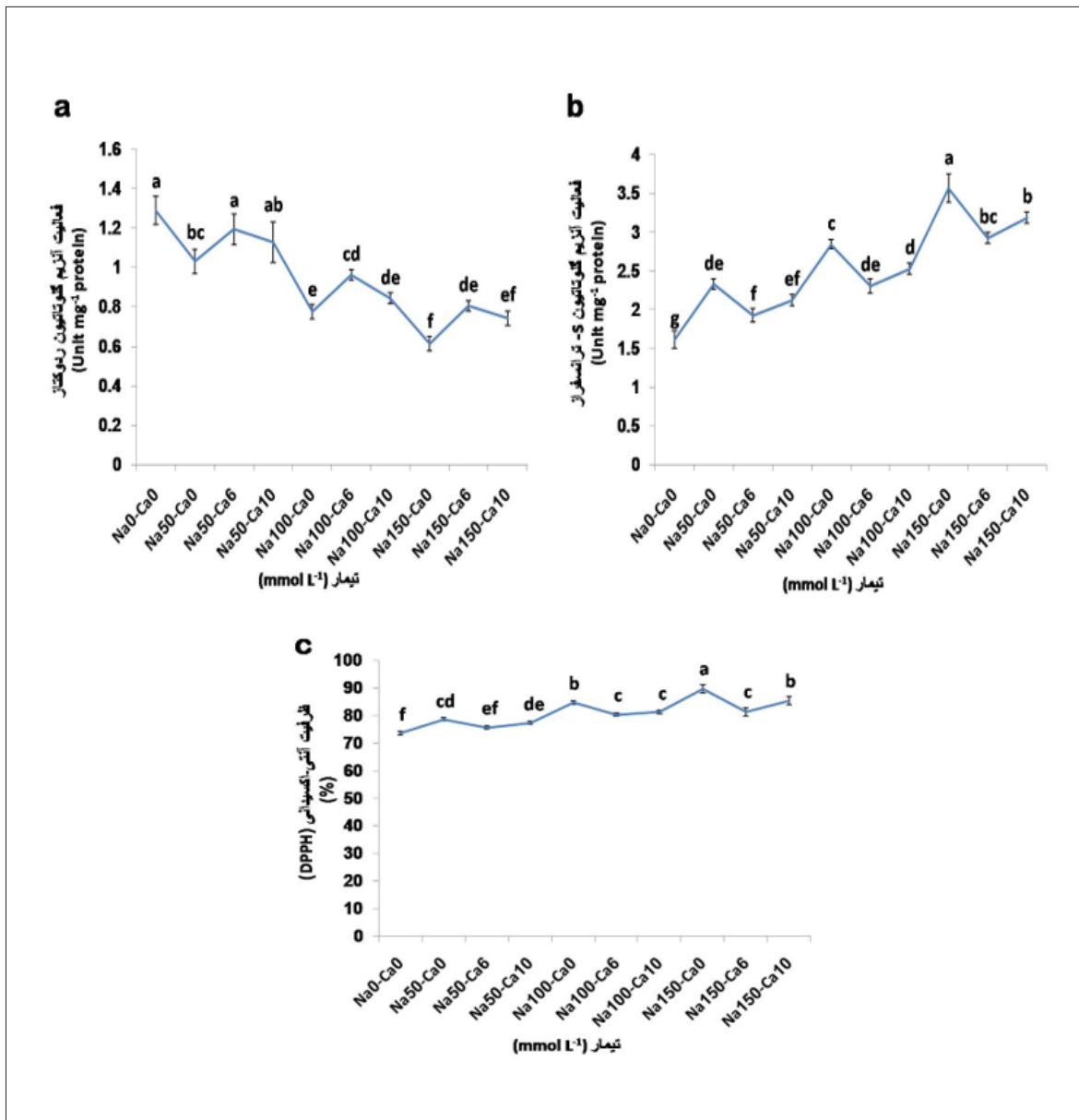
فعالیت آنزیم های گلوکاتایون ردوکتاز، گلوکاتایون S-ترانسفراز و ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) برگ

نتایج داده ها نشان داد که با افزایش شوری، فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز برگ به طور معنی داری کاهش یافت در حالی که فعالیت آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز و ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) برگ به طور معنی داری افزایش یافت (شکل ۳). با افزودن کلسیم به محیط شور، فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز برگ به طور معنی داری افزایش یافت در حالی که فعالیت آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز و ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) برگ به طور معنی داری کاهش یافت (شکل ۳). بیشترین فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز برگ در گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۶ میلی مول بر لیتر کلرید کلسیم و هم چنین در گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلی مول بر لیتر کلرید کلسیم بود. در حالی که کمترین فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز برگ در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی-مول بر لیتر کلرید سدیم و گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی-مول بر لیتر کلرید سدیم توام با ۱۰ میلی مول بر لیتر کلرید کلسیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۵۲/۵۰٪ و ۴۲/۳۳٪ کاهش یافت (شکل a ۳). بیشترین فعالیت آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز و ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) برگ در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی مول بر لیتر کلرید سدیم مشاهده شد که نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۱/۲۰ برابر و ۲۱/۷۱ درصد

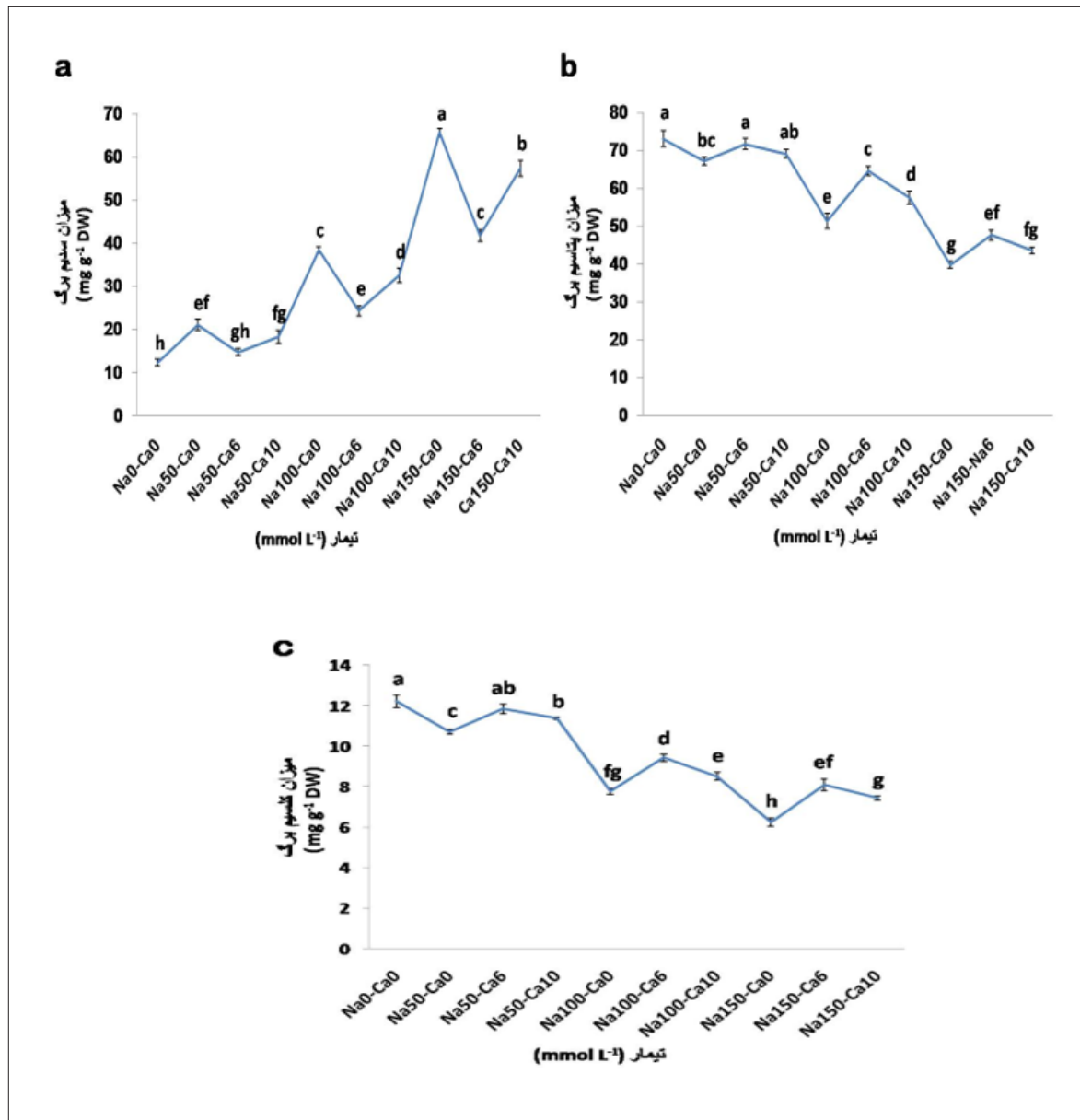


شکل ۲: اثر برهمکنش غلظت های مختلف کلرید سدیم و کلرید کلسیم بر میزان آنتوسیانین (a)، فنل کل (b)، فلاونوئید کل (c)، فلاونول کل (d) و فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیا لایاز (e) و تیروزین آمونیا لایاز (f) در برگ گیاه ترینیکاله (Na بیانگر کلرید سدیم و Ca بیانگر کلرید کلسیم است که Na در غلظت های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول بر لیتر و Ca در غلظت های ۰، ۶ و ۱۰ میلی مول بر لیتر می باشد)

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده ی عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



شکل ۳: اثر برهمکنش غلظت های مختلف کلرید سدیم و کلرید کلسیم بر فعالیت آنزیم های گلوکوتاتیون ردوکتاز (a)، گلوکوتاتیون-S ترانسفراز (b) و ظرفیت آنتی اکسیدانی (c) (DPPH) در برگ گیاه تربیتی کاله (Na) بیانگر کلرید سدیم و Ca بیانگر کلرید کلسیم است که در غلظت های ۱۰۰، ۵۰، ۰، ۱۵۰ میلی مول بر لیتر و Ca در غلظت های ۶، ۰ و ۱۰ میلی مول بر لیتر می باشد. در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده ی عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



شکل ۴: اثر برهمکنش غلظت های مختلف کلرید سدیم و کلرید کلسیم بر میزان سدیم (a)، پتاسیم (b) و کلسیم (c) در برگ گیاه تریتیکاله (Na) بیانگر کلرید سدیم و Ca بیانگر کلرید کلسیم است که Na در غلظت های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول بر لیتر و Ca در غلظت های ۰، ۶۰ و ۱۰ میلی مول بر لیتر می باشد) در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده ی عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

بحث

باعث حفظ ساختار و تمامیت غشای سلول شده و در نتیجه از آسیب های ناشی از تنش شوری جلوگیری می کند .

تنش شوری باعث ایجاد يك تنش اسمزی ثانویه در گیاه می شود که با کاهش سطح برگ و در نهایت کاهش فتوسنتز باعث کاهش رشد و بیومس گیاه می شود (۴۸، ۱۳، ۸). در شرایط تنش شوری، جایگزینی سدیم به جای کلسیم در غشای سلول سبب کاهش خاصیت نیمه تراوایی غشا و در نتیجه کاهش متابولیسم می شود در- حالی که افزودن تیمار کلسیم به محیط شور منجر به حفظ یکپارچگی و تمامیت غشا شده و باعث افزایش رشد و بیومس گیاه می شود (۵، ۳).

Fallah و همکاران (۵۰) گزارش کردند که علت کاهش محتوای نسبی آب، کاهش جذب آب از خاک به علت محدودیت آب ناشی از شوری در خاک است که باعث به هم خوردن تعادل بین دو فرایند جذب آب و تعرق می شود و در نتیجه آب گیاه کاهش می یابد. با کاهش آب در سلول های گباه، عمل تقسیم سلولی متوقف و در پی آن منجر به کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی می گردد. کاهش مقدار آب در سلول های برگ در تنش شوری، سبب کاهش سطح برگ و خسارت به منابع فتوسنتزی رشد گیاه شده و منتج به کاهش میزان فتواسمیلات ها و در نهایت کاهش وزن خشک می گردد. در مطالعه حاضر، شوری منجر به افزایش نشت الکترولیت در برگ گیاه تربیتکاله تحت تنش شد در- حالی که افزودن کلسیم باعث کاهش نشت الکترولیت شد. بطور مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی که بر روی گیاه توت فرنگی انجام شد، تنش شوری باعث افزایش نشت الکترولیت شد در حالی که کلسیم باعث کاهش نشت الکترولیت و پراکسیداسیون لیپید در گیاه تحت تنش شد (۲۱). هم چنین در گزارشی دیگر بر روی گیاه جو تحت تنش شوری، افزودن کلسیم باعث کاهش نشت یونی بر روی گیاه تحت تنش شد (۱۹). علاوه بر این، اثر کلسیم بر کاهش پراکسیداسیون لیپید از طریق کاهش نشت یونی در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش کلریذ سدیم گزارش شد (۲۴). تولید بیش از اندازه ROS موجب پراکسیداسیون لیپید غشا و در نتیجه

در مطالعه حاضر، شوری منجر به کاهش تعداد و سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ در گیاه تربیتکاله تحت تنش شد در حالی که افزودن کلسیم باعث افزایش تعداد و سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ شد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، اثر بهبود دهندگی کلسیم بر تعداد برگ گیاه گوجه فرنگی تحت تنش شوری گزارش شد (۴۵). هم چنین در گزارشی دیگر بر روی گیاه توت فرنگی، تنش شوری باعث کاهش تعداد و سطح برگ شد در حالی که کلسیم باعث افزایش تعداد و سطح برگ در گیاه تحت تنش شد (۲۱). علاوه بر این در پژوهشی دیگر بر روی گیاه سورگوم شیرین، تنش شوری باعث کاهش تعداد و سطح برگ و هم چنین کاهش محتوای نسبی آب برگ شد در حالی که کلسیم باعث افزایش این پارامترها در برگ گیاه تحت تنش شد (۴۶). هم چنین اثر مفید کلسیم بر محتوای نسبی آب برگ در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش کلریذ سدیم گزارش شد (۲۴).

سطح برگ بعنوان یکی از شاخص های رشد گیاه، نشان دهنده سلامت گیاه می باشد که تحت تاثیر انواع تنش های محیطی قرار می گیرد (۴۷-۴۹). یکی از اثرات شوری بر گیاه، کاهش سطح برگ است که عامل اصلی در کاهش فتوسنتز می باشد (۵۰، ۴۸). با افزایش شوری، پتانسیل آب موجود در خاک کاهش می یابد و انسداد روزنه ای، اغلب یک واکنش سریع و اولیه ی گیاه نسبت به تنش شوری است و انسداد سریع روزنه های گیاهی می-تواند ناشی از پتانسیل آب پایین، اثرات مضر $+Na$ بر روی سیگنال های ریشه و یا سلول های محافظ روزنه برگ باشد (۵۰). تنش شوری از طریق برهم زدن تعادل یونی، کاهش پتانسیل آب و سمیت یونی بر رشد گیاهان اثر می گذارد (۴۸، ۱۳). گزارش شده است که افزایش یون کلسیم در محیط رشد گیاه اثرات مخرب تنش شوری را تا حدودی کاهش می دهد (۳). در مطالعه حاضر، کاهش تعداد و سطح برگ در طی تنش شوری احتمالاً به دلیل افزایش نشت الکترولیت ها و پراکسیداسیون لیپید و بیش-تولید ROS، کاهش محتوای نسبی آب، اثرات افزایش یون سمی سدیم و کاهش یون پتاسیم و کلسیم می باشد در حالی که افزودن کلسیم

بیوسنتز فلاونوئیدها در سیتوپلاسم ساخته و به شکل فعال و جداگانه به داخل واکوئل سلول ها با پمپ گلوکوتایون وارد می شوند (۵۳). از نقش های آنتوسیانین می توان به تعدیل کمی و کیفی نور جذب شده، حفاظت از مهار نوری و جاروب کننده رادیکال های فعال اکسیژن تحت شرایط تنش های محیطی اشاره کرد (۵۳، ۵۷).

مهم ترین مرحله در بیوسنتز ترکیبات فنیل پروپانوییدی، دامیناسیون فنیل آلانین و تولید سینامیک اسید است که توسط آنزیم PAL انجام می شود (۵۳). آنزیم TAL نیز در مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی نقش دارد و سبب تبدیل تیروزین به کوماریک اسید می شود (۵۸). در مطالعات مختلف گزارش شده است که فعالیت این آنزیم ها تحت تاثیر تنش های زیستی و غیر زیستی القا می گردد (۵۳، ۵۸). افزایش فعالیت PAL و دیگر آنزیم های مسیر فنیل پروپانوییدی که منجر به افزایش ترکیبات فنلی می شود، از نخستین پاسخ های گیاهان در شرایط تنش است (۵۳).

در مطالعه حاضر، شوری منجر به کاهش فعالیت آنزیم گلوکوتایون ردوکتاز (GR) در برگ گیاه تربتیکاله تحت تنش شد در حالی که افزودن کلسیم باعث افزایش فعالیت این آنزیم شد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعه ای بر روی گیاه سویا تحت تنش شوری، کاهش فعالیت آنزیم GR گزارش شد (۵۹).

افزایش فعالیت GR می تواند کارایی سم زدایی توسط GSH را افزایش دهد. با شکست ۲۰۲H در چرخه آسکوربات-گلوکوتایون، GSH به شکل اکسید شده (GSSG) توسط گلوکوتایون پراکسیداز (GPOX) تبدیل می شود. سپس GSSG توسط GR به GSH کاهش می یابد (۶۱-۶۰). از آنجا که GR مسئول کاهش GSSG به GSH است، در تحقیق حاضر، احتمالاً کاهش فعالیت آنزیم GR در تنش شوری و در نتیجه کاهش بازسازی GSH منجر به پراکسیداسیون لیپیدها، نشت یونی و کاهش دفاع گیاه می شود.

در مطالعه حاضر، شوری منجر به افزایش فعالیت آنزیم گلوکوتایون-S-ترانسفراز (GST) در برگ گیاه تربتیکاله تحت تنش شد در حالی که افزودن کلسیم باعث کاهش فعالیت این آنزیم شد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در

نشت الکترولیت ها می شود (۵۱). گزارش شده است که در تنش های مختلف محیطی، افزایش فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز (LOX) و بیش تولید ROS منجر به تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید شده و در نتیجه از بین رفتن یکپارچگی غشا و نشت یونی رخ می دهد (۵۲).

در مطالعه حاضر، شوری منجر به افزایش محتوای ترکیبات فنلی (آنتوسیانین، فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول کل) و فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیلایز و تیروزین آمونیلایز در برگ گیاه تربتیکاله تحت تنش شد در حالی که افزودن کلسیم باعث کاهش محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیلایز و تیروزین آمونیلایز شد.

مطالعات مختلفی نشان دادند که محتوای ترکیبات فنلی در گیاهان تحت تنش شوری افزایش یافت (۱۶، ۱۸، ۵۴، ۵۴). در پژوهشی که بر روی گیاه گندم انجام شد، تنش شوری باعث افزایش میزان فنل کل و فلاونوئید کل در گیاه تحت تنش شد (۱۸). هم چنین در مطالعه ای دیگر، افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز بر روی گیاه سیر تحت تنش شوری گزارش شد (۵۴). در تحقیقی دیگر، افزایش ترکیبات فنلی بر روی گیاه ریحان تحت تنش شوری گزارش شد (۱۶).

ترکیبات فنلی جزء آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی می باشند که می توانند ROS و یون های فلزی ناقل در کلات را جاروب کرده و پراکسیداسیون لیپید را مهار کنند (۵۶-۵۵). درک پاسخ سیستم های دفاعی غیر آنزیمی در گیاهان بسیار حیاتی است. ترکیبات فنلی مهار کننده ی قوی برای تنش اکسیداتیو می باشند و در همکاری با آنزیم های آنتی اکسیدان (مانند کاتالاز و پراکسیداز) در جمع آوری یا حذف رادیکال های فعال اکسیژن شرکت می کنند (۵۳، ۵۶). هم چنین گیاهان ترکیبات فنلی را در پاسخ به یک سری از ترکیبات پیام رسان آزاد می کنند (۵۳).

فلاونوئیدها و فلاونول ها بخش مهمی از ترکیبات فنلی می باشند که بعنوان آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی عمل کرده و توانایی جذب رادیکال های آزاد را دارند (۵۳، ۵۶، ۵۷). آنتوسیانین ها بعنوان یک گروه از فلاونوئیدهای محلول در آب در یک نقطه پایانی در مسیر

ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) در طی تنش شوری را کاهش می دهد زیرا با کاهش تنش شوری، میزان تولید ROS که بسیار واکنش-گر و سمی هستند، کاهش می یابد.

در مطالعه حاضر، شوری منجر به افزایش میزان سدیم و کاهش میزان پتاسیم و کلسیم در برگ گیاه تربیتیکاله تحت تنش شد در حالی که افزودن کلسیم باعث کاهش میزان سدیم و افزایش میزان پتاسیم و کلسیم شد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی که بر روی گیاه گوجه فرنگی انجام شد، تنش شوری باعث افزایش میزان سدیم و کاهش میزان پتاسیم و کلسیم شد در حالی که کلسیم باعث کاهش میزان سدیم و افزایش میزان پتاسیم و کلسیم در گیاه تحت تنش شد (۴۵،۲۴). هم چنین در تحقیقی دیگر بر روی گیاه جو، کلسیم باعث کاهش میزان سدیم و افزایش میزان پتاسیم در گیاه تحت تنش شد (۱۹). علاوه بر این، افزایش میزان پتاسیم و کلسیم و کاهش میزان سدیم بوسیله ی کلسیم در گیاه زیره سبز تحت تنش شوری گزارش شد (۲۲).

در تحقیق حاضر، افزایش تنش شوری باعث افزایش محتوای سدیم و کاهش جذب و محتوای پتاسیم شد. در واقع، تنش شوری احتمالاً سبب بر هم زدن تعادل کاتیونی گیاه تربیتیکاله و مانع از جذب عناصر شده و امکان جذب بیشتر سدیم و جذب کمتر پتاسیم را توسط گیاه تربیتیکاله فراهم کرده است. علاوه بر این در تحقیق حاضر، کاهش کلسیم تحت شرایط تنش شوری احتمالاً می تواند به دلیل رقابت سدیم با کلسیم باشد. نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر حاکی از آن است که احتمالاً تنش شوری سبب اختلال در جذب مواد غذایی مورد نیاز گیاه شده و گیاه تربیتیکاله در محیط شور، مقدار زیادی یون سدیم را به جای یون های مغذی کلسیم و پتاسیم جذب می کند.

تنش شوری سبب اختلال در جذب مواد غذایی مورد نیاز گیاه می شود. گیاهان در محیط شور، مقدار زیادی یون سدیم را به جای یون های کلسیم، پتاسیم و منیزیم جذب می کنند (۸). به عنوان مثال با افزایش سطوح شوری، تجمع و انتقال کلسیم به دلیل افزایش میزان سدیم کاهش می یابد. در واقع این دو یون در جذب و انتقال با هم رقابت دارند (۲۲،۸). جایگزینی سدیم به جای کلسیم در غشای سلول سبب کاهش خاصیت نیمه-تراوایی غشا و خروج پتاسیم درون سلولی می شود. به همین دلیل در شرایط شور، افزایش کلسیم در اطراف سلول سبب حفظ یکپارچگی و خاصیت نیمه تراوایی غشا می گردد و در نتیجه خروج مواد درون سلول کاهش می-یابد (۲۴،۲۲). کاهش پتاسیم تحت شرایط تنش شوری می تواند به دلیل رقابت سدیم بر سر مکان های اتصال به ناقل ها در غشای پلاسمایی و یا نشت پتاسیم به دلیل عدم ثبات غشا باشد (۲۲،۱۹،۹).

پژوهشی که بر روی گیاه گوجه فرنگی انجام شد، تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم گلوکوتایون S-ترانسفراز شد (۲۴). فعالیت آنزیم گلوکوتایون S-ترانسفراز (GST) شامل الحاق گلوکوتایون (GSH) به مولکول های هدف به منظور سم زدایی ترکیبات سمی و فلزات سنگین است. افزایش فعالیت این آنزیم سبب کاهش آسیب به سلول و بروز تنش اکسیداتیو می شود که در نهایت افزایش تحمل به تنش های محیطی را در پی خواهد داشت (۶۲-۶۱).

در مطالعه حاضر، شوری منجر به افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) در برگ گیاه تربیتیکاله تحت تنش شد در حالی که افزودن کلسیم باعث کاهش DPPH شد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعه ای که بر روی گیاه لوبیا قرمز انجام شد، تنش شوری باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) شد در حالی که کلسیم باعث کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی در گیاه تحت تنش شد (۶۳). هم چنین، آنتی اکسیدانی (DPPH) در گیاه گندم تحت تنش شوری گزارش شد (۱۸). گیاهان از طریق سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در برابر آسیب های ناشی از تنش از خود محافظت می کنند. یکی از روش های سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی در گیاهان، روش سنجش رادیکال DPPH است (۶۳). DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن بوده که با احیا توسط فرآیندهای گرفتگی هیدروژن یا الکترون، رنگ آن از ارغوانی به زرد تبدیل می شود. ترکیب هایی که قابلیت انجام این عمل را دارند به عنوان یک آنتی اکسیدان مطرح می شوند (۶۴). افزایش درصد تخریب رادیکال آزاد همراه با تنش به این معنی است که با افزایش شدت تنش، مقدار آنتی اکسیدان بیشتری تولید شده و رادیکال های DPPH بیشتری را تخریب کرده است. (۶۴-۶۳).

در تحقیق حاضر، کاهش در فعالیت آنزیم آنتی-اکسیدانی GST، ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) در هنگام افزودن تیمار کلسیم به محیط شور، ممکن است بدلیل این باشد که کلسیم با کاهش جذب و تجمع سدیم، تنش شوری را در گیاه کاهش داده و در نتیجه نیاز گیاه را به افزایش آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیرآنزیمی (ترکیبات فنلی) و

مغذی ضروری پتاسیم و کلسیم در گیاه باشد. در هر حال غلظت بالای کلسیم و پتاسیم می تواند قابلیت نفوذپذیری غشا پلاسمایی برای سدیم را کاهش و منجر به افزایش جذب کلسیم و پتاسیم شود (۲۲،۱۳،۸،۷).

افزایش مقدار سدیم یا نسبت سدیم به پتاسیم در محیط ریشه، غلظت پتاسیم در بافت های گیاهی کاهش می یابد (۲۲،۱۳،۹). بنابراین، اثرات سمیت سدیم ممکن است تنها به دلیل اثرات مستقیم یون سدیم نبوده، بلکه به علت کاهش مقدار عناصر

نتیجه گیری:

با توجه به افزایش روزافزون زمین های شور بواسطه کم آبی و آبیاری با آب های شور به نظر می رسد بررسی راهکارهای افزایش تحمل به تنش شوری در گیاهان ضروری می باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن کلسیم به گیاه تربیتکاله تحت تنش شوری باعث کاهش اثرات مضر تنش شوری از جمله بهبود تعداد و سطح برگ، افزایش محتوای نسبی آب برگ، افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (بعنوان یک آنزیم آنتی-اکسیدان) و کاهش نشت الکترولیت غشا شد. در پژوهش حاضر، کلسیم احتمالاً با کاهش بیش تولید ROS و کاهش پراکسیداسیون لیپید منجر به کاهش نشت الکترولیت و افزایش پایداری غشا شده و در نتیجه منجر به افزایش محتوای نسبی آب برگ و هم چنین رشد برگ گیاه تحت تنش می شود. پیشنهاد می شود که در تحقیقات آینده تاثیر کلسیم بر مرحله ی زایشی گیاه تربیتکاله تحت تنش شوری نیز انجام شود.

تقدیر و تشکر:

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

تعارض منافع:

نویسندگان اعلام می کنند که تعارض در منافع وجود ندارد.

References

1. Stefanova-Dobrevna ST. Triticale – past and future. *Agricultural Science and Technology*. 2016; 8(4): 271-275.
DOI: 10.15547/ast.2016.04.051
2. Arseniuk E. Recent developments in triticale breeding research and production-An overview. *Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics*. 2019; 5(2): 68-73. <https://dergipark.org.tr/en/pub/ekinjournal/issue/48293/611463>
3. 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
4. Seifikalhor M, Aliniaiefard 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
5. Thor K. Calcium-nutrient and messengers. Mini review. *Frontiers in Plant Science*. 2019; 10: 440.
https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00440
6. Jahani M, Hadi MR, Jafarinia M, Jahani S. Investigating the effect of calcium on growth, oxidative indices, ascorbate, glutathione and antioxidant enzymes activity in triticale (*x Triticosecale* Wittmack) under salt stress. *Iranian Journal of Biological Sciences*. 2022; 17(2) :37-54
DOI: 10.30495/ZISTI.2023.1972916.1143
7. Truşcă M, Gâdea Ş, Stoian V, Vâtcă A, Vâtcă S. Plants physiology in response to the saline stress interconnected effects. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2022; 50(2): 12677.
DOI: https://doi.org/10.15835/nbha50212677
8. Isayenkov SV, Maathuis FJM. Plant salinity stress: Many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*. 2019; 10: 80.
DOI: 10.3389/fpls.2019.00080
9. Yildiz M, Poyraz İ, Çavdar A, Özgen Y, Beyaz R. Plant Responses to Salt Stress. In: Abdurakhmonov IY. (Ed.). *Plant Breeding*. London: IntechOpen. 2020; <https://www.intechopen.com/chapters/73460>
DOI: 10.5772/intechopen.93920
10. Jahani M, Hadi MR, Jafarinia M, Jahani S. Impact of calcium supplementation on photosynthetic pigments, compatible osmolytes contents and membrane stability index in triticale (*x Triticosecale* Wittmack) exposed to salinity stress. *Journal of Chemical Health Risks*. 2021;
DOI: 10.22034/jchr.2021.1901194.1141
11. Cordea MI, Borsai O. Salt and Water Stress Responses in Plants. In Hasanuzzaman M, Nahar K (Eds.). *Plant Stress Physiology - Perspectives in Agriculture*. IntechOpen. 2021;
https://doi.org/10.5772/intechopen.10107
12. 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.
13. Anwar A, Zhang S, He L, Gao J. Understanding the physiological and molecular mechanism of salinity stress tolerance in plants. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2022; 50(4): 12959.
DOI: https://doi.org/10.15835/nbha50312959
14. Jahani M, Khavari-Nejad RA, Mahmoodzadeh H, Saadatmand S. Investigation of seed germination, early growth and physio-biochemical parameters of canola seedling exposed to Co304 engineered nanoparticles. *Journal of Chemical Health Risks*. 2022; 12(2): 237-246.
15. 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.
http://eprints.icrisat.ac.in/id/eprint/9831
16. Ciriello M, Formisano L, Soteriou GA, Kyrtzias A, De Pascale S, Kyriacou MC, Roupheal Y. Differential response to NaCl osmotic stress in sequentially harvested hydroponic red and green basil and the role of calcium. *Frontiers in Plant Science*. 2022; 13: 799213.
https://doi.org/10.3389/fpls.2022.799213
17. 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.
DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2018.271749.2134
18. Sadak MS, Talaat IM. Attenuation of negative effects of saline stress in wheat plant by chitosan and calcium carbonate. *Bulletin of the National Research Centre*. 2021; 45: 136.
https://doi.org/10.1186/s42269-021-00596-w
19. Elsawy HIA, Alharbi K, Mohamed AMM, Ueda

A, AlKahtani M, AlHusnain L, Attia KA, Abdelaal K, Shahein AMEA. Calcium lignosulfonate can mitigate the impact of salt stress on growth, physiological, and yield characteristics of two barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.). *Agriculture*. 2022; 12: 1459.

<https://doi.org/10.3390/agriculture12091459>

20. 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.

21. Khayyat M, Rajaee S, Sajjadinia A, Eshghi S, Tafazoli E. Calcium effects on changes in chlorophyll contents, dry weight and micronutrients of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) plants under salt-stress conditions. *Fruits*. 2009; 64(1): 53-59.

DOI: 10.1051/fruits/2008050

22. Dejam M, Rajaie M, Johari S, Tahmasebi S. The role of nitrogen, calcium and potassium foliar application on reduction of salinity adverse 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

23. Wang X, Dingxuan Q, Shi M. Calcium amendment for improved germination, plant growth, and leaf photosynthetic electron transport in oat (*Avena sativa*) under NaCl stress. *PLoS ONE*. 2021; 16(8): e0256529.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256529>

24. 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.

<https://doi.org/10.1038/s41598-018-31917-1>

25. Golestani J, Sharghi Y, Zahedi H, Modares Sanavi SAM, Alavi SA. Effect of calcium silicate on salt stress tolerance of four canola varieties. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 2018; 49(1): 179-188.

DOI: 10.22059/ijfcs.2018.212268.654158

26. Yasar F, Uzal O. Effect of calcium applications on ion accumulation in different organs of pepper plant under salt stress. *BIO Web of Conferences*. 2020; 17, 00231.

DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20201700231>

27. Tantawy AS, Salama YAM, Abdel-Mawgoud

AMR, Ghoname AA. Comparison of chelated calcium with nano calcium on alleviation of salinity negative effects on tomato plants. *Middle East Journal of Agriculture Research*. 2014; 3(4): 912-916.

28. Hagagg LF, Merwad MA, Shahin MMF, El-Hady ES. Ameliorative effect of foliar application of calcium on vegetative growth and mineral contents of olive trees Kalmata and Manzanillo cultivars irrigated with saline water. *Bulletin of the National Research Centre*. 2020; 44: 128.

<https://doi.org/10.1186/s42269-020-00374-0>

29. Khan MN, Siddiqui MH, Mohammad F, Naeem M, Khan MM. Calcium chloride and gibberellic acid protect linseed (*Linum usitatissimum* L.) from NaCl stress by inducing antioxidative defence system and osmoprotectant accumulation. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2010; 32(1): 121-132.

DOI: 10.1007/s11738-009-0387-z

30. Al-Wahaibi MH, Siddiqui MH, Basalah MO. Salicylic acid and calcium-induced protection of wheat against salinity. *Protoplasma*. 2012; 249: 769-778.

<https://doi.org/10.1007/s00709-011-0322-1>

31. Amuthavalli P, Anbu D, Sivasankaramoorthy S. Effect of calcium chloride on growth and biochemical constituents of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under salt stress. *International Journal of Research in Botany*. 2012; 2(3): 9-12.

32. Souguir M, Araújo MEM, Chérif H, Tarchoun N. Supplemental calcium nitrate mitigates NaCl-induced biochemical, physiological, and antioxidant changes in sesame. *International Journal of Vegetable Science*. 2019; 25(1): 3-26.

<https://doi.org/10.1080/19315260.2018.1458767>

33. Pandey SK, Singh H. A simple, cost-effective method for leaf area estimation. *Journal of Botany*. 2011; 6 pages.

DOI: 10.1155/2011/658240

34. Wheatherley PE. Studies in the water relations of the cotton plant I. The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytologist*. 1950; 49 (1): 81-97. <http://www.jstor.org/stable/2428690>

35. Dionisio-Sese ML, Tobita S. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*. 1998; 135(1): 1-9.

[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(98\)00025-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(98)00025-9)

36. Wagner GJ. Content and vacuole/extravacuole

distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*. 1979; 64 (1): 88-93.

DOI: 10.1104/pp.64.1.88

37. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1965; 16: 144-158. <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144>

38. Akkol EK, Göger F, Koşar M, Başer KH. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chemistry*. 2008; 108(3): 942-949.

DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.11.071

39. 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>

40. Beaudoin-Eagan LD, Thorpe TA. Tyrosine and phenylalanine ammonia lyase activities during shoot initiation in tobacco callus cultures. *Plant physiology*. 1985; 78(3): 438-441.

DOI: 10.1104/pp.78.3.438

41. Foyer CH, Halliwell B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplast: A proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*. 1976; 133: 21-25.

DOI: 10.1007/BF00386001

42. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of biological chemistry*. 1974; 249(22): 7130-7139.

[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8)

43. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958; 26: 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>

44. Rayan J, Estefan G, Rashid A. Soil and plant analysis laboratory manual. 2001; 2nd edition. Syrian Arab Republic ICARDA, Aleppo.

45. Lolaei A. Effect of calcium chloride on growth and yield of tomato under sodium chloride stress. 2012; *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*. 2012; 2(3): 155-160.

46. Shariat Jafari MH, Kafi M, Astarai A. Interactive effects of NaCl induced salinity, calcium and potassium

on physiomorphological traits of sorghum (*Sorghum Bicolor L.* Pakistan Journal of Botany. 2009; 41(6): 3053-3063.

47. 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.

48. Negrão S, Schmöckel SM, Tester M. Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany*. 2017; 119(1): 1-11. **DOI: 10.1093/aob/mcw191**

49. Jahani S, Jahani M, Saadatmand S, Mahmoodzadeh H, Khavari-Nejad RA. Investigating the impact of cerium oxide (CeO₂) nanoparticles on structural and ultrastructural changes of marigold (*Calendula officinalis L.*) leaves. *Iranian Journal of Biological Sciences*. 2022;17(2):37-54

DOI: 10.30495/ZISTI.2023.1972916.1143

50. Fallah A, Farahmanfar E, Moradi F. Effect of salt stress on some morphophysiological characters of two rice cultivars during different growth stages at greenhouse. *Applied Field Crops Research*. 2015; 28(107): 175-182. **DOI: 10.22092/aj.2015.105720**

51. Hryvusevich PV, Samokhina VV, Demidchik VV. Stress-induced electrolyte leakage from root cells of higher plants: background, mechanism and physiological role. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2022; 2: 4-18. <https://doi.org/10.33581/2957-5060-2022-2-4-18>

52. Aranda-Rivera AK, Cruz-Gregorio A, Arancibia-Hernández YL, Hernández-Cruz EY, Pedraza-Chaverri J. RONS and oxidative stress: An overview of basic concepts. *Oxygen*. 2022; 2(4): 437-478. <https://doi.org/10.3390/oxygen2040030>

53. Waśkiewicz A, Muzolf-Panek M, Goliński P. Phenolic Content Changes in Plants Under Salt Stress. In: Ahmad P, Azooz M, Prasad M. (eds) *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*. Springer. New York. NY. 2013; **DOI: 10.1007/978-1-4614-4747-4_11**

54. Khademi Astaneh R, Bolandnazar S, Zaare Nahandi F, Oustan S. Effect of selenium application on phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, phenol leakage and total phenolic content in garlic (*Allium sativum L.*) under NaCl stress, *Information Processing in Agriculture*. 2018; 5(3): 339-344. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2018.04.004>

55. 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.
56. Dehghanian Z, Habibi K, Dehghanian M, Aliyar S, Asgari Lajayer B, Astatkie T, Minkina T, Keswani C. Reinforcing the bulwark: unravelling the efficient applications of plant phenolics and tannins against environmental stresses. *Heliyon*. 2022; 8(3): e09094. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09094>
57. Kaurinovic B, Vastag D. Flavonoids and Phenolic Acids as Potential Natural Antioxidants. In (Ed.). *Antioxidants*. IntechOpen. 2019; DOI: 10.5772/intechopen.83731
58. 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>
59. Doğan M. Antioxidative and proline potentials as a protective mechanism in soybean plants under salinity stress. *African Journal of Biotechnology*. 2011; 10(32): 5972-5978. DOI: 10.5897/AJB10.2114
60. 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.
61. 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
62. 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.
63. Mahdavian K. Effect of salicylic acid and calcium chloride on lipid peroxidation and scavenging capacity of radical of red bean (*Phaseolus calcaratus* L.) under salt stress. *International Journal of Horticultural Science and Technology*. 2022; 9(1): 55-72. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijhst.2021.312776.407>
64. Seyedalipour B, Hasani A, Ebrahimzadeh MA, Taravati A. Antioxidant activity, total flavonoid and total phenolic contents of extracts taken from aerial parts of *Ballota platyloma* using three different methods: percolation, ultrasonic and polyphenolic fraction. *Journal of Kashan University of Medical Sciences*. *Feyz*. 2016; 20(2): 147-156. URL: <http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-3039-en.html>