

مقاله پژوهشی

پاسخ آنتی اکسیدانی و بیوشیمایی کلزا به تنظیم کننده رشد آلی و کلسیم در شرایط تنش رطوبتی

مهدی معتکفی، احمد قنبری، محسن موسوی نیک و علیرضا سیروس مهر*

گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۵/۲۵)

چکیده

خشکی از عوامل مهم محیطی کاهنده عملکرد کلزا به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک مانند ایران است. به منظور بررسی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و برخی صفات بیوشیمایی کلزا رقم دلگان در شرایط تنش خشکی با محلول پاشی تنظیم کننده رشد آلی و کلسیم، آزمایشی به صورت کرت های خرد شده بر پایه طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل (چاه نیمه) انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سطوح قطع آبیاری بر اساس مراحل فنولوژیک رشد گیاه، در سه سطح I_1 = شاهد (آبیاری کامل)، I_2 = آبیاری تا مرحله تکمیل ساقه دهی و I_3 = آبیاری تا مرحله خورجین دهی به عنوان عامل اصلی و عامل فرعی شامل محلول پاشی: F_1 = شاهد (محلول پاشی آب خالص) و محلول پاشی تنظیم کننده رشد آلی و کلسیم با غلظت های F_2 = ۰/۱، F_3 = ۰/۰۵ و F_4 = ۰/۰۳ بود. افزایش سطوح تنش خشکی از تیمار آبیاری کامل نسبت به تیمار آبیاری تا مرحله خورجین دهی و پس از آن آبیاری تا مرحله تکمیل ساقه دهی سبب افزایش فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، فنل، فلاونوئید، کربوهیدرات و پروتئین شد و بیشترین مقدار این صفات از تیمار آبیاری تا مرحله تکمیل ساقه دهی و محلول پاشی در غلظت ۰/۱ حاصل شد. مقدار افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز به میزان (۸۲)، پراکسیداز (۹۰)، پلی فنل اکسیداز (۷۲)، آسکوربات پراکسیداز (۷۶)، کربوهیدرات محلول (۷۵) و پروتئین (۲۸)، فنل (۷۳) و فلاونوئید (۵۳) درصد در شرایط آبیاری تا مرحله تکمیل ساقه دهی و محلول پاشی در غلظت ۰/۱ نسبت به تیمار آبیاری کامل و عدم محلول پاشی بود. در مجموع به نظر می رسد از بین تیمارهای آزمایش، با محلول پاشی تنظیم کننده رشد آلی و کلسیم با غلظت ۰/۱ می توان اثرات منفی ناشی از تنش را با فعال کردن سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی تعدیل کرد.

کلمات کلیدی: پروتئین، سلنیوم، قطع آبیاری، کربوهیدرات، فنل

مقدمه

(2020). مقاومت به خشکی در گیاه یک صفت پیچیده است که به عنوان برهم کنش عوامل مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی در طول تنش تعریف می شود (Zamani et al., 2020). در هنگام تنش خشکی گیاه جهت حفظ رطوبت موجود، روزنه های خود را بسته نگه می دارد این موضوع علاوه بر کاهش نرخ تبادل گازی در برگ، باعث ایجاد پراکسید

تنش خشکی، یکی از عوامل بسیار مهم محیطی در کاهش عملکرد کلزا به ویژه در شرایط اقلیمی خشک و نیمه خشک مانند ایران است (Chavoushi et al., 2019; Moradi Aghdam et al., 2019). از این رو شناخت مراحل حساس نمو نسبت به تنش خشکی در گیاه ضروری می باشد (Mohtashami et al.,

* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: asirousmehr@uoz.ac.ir

مشخص شده است. این مواد به عنوان پیام رسان های شیمیایی جهت تعدیل فرآیندهای مختلف یا ژن های دخیل در رشد و نمو عمل کرده و باعث سازگاری گیاهان با شرایط تنش زا مانند تنش خشکی می شوند (Ashraf et al., 2011). عملکرد محصولات کشاورزی می تواند به وسیله ارزیابی و تعدیل اثرات خشکی بر گیاهان به حداکثر برسد (Madadgar et al., 2017). راهکارها و تکنیک های مختلفی برای محافظت سلول ها در برابر حملات اکسیداتیو و تنظیم فعالیت آنزیمی گیاهان در شرایط تنش خشکی وجود دارد (Filgueiras et al., 2020). کاربرد سلنیوم به صورت پایه و یا محلول پاشی یکی از راهکارهای رایج محافظت گیاهان در برابر شرایط تنش زا از جمله تنش خشکی می باشد (Mohtashami et al., 2020). سلنیوم به دلیل تقویت و افزایش متابولیسم آنتی اکسیدانی، فتوسنتز گیاه، متابولیت های ثانویه و کربوهیدرات در برگ های گیاه به عنوان یک عنصر مفید برای گیاهان شناخته شده است (Andrade et al., 2018). محققان بیان کردند محلول پاشی سلنیوم به همراه پیش تیمار بذری در دو گیاه کلزا و کتان کش اجرا عملکرد گیاه (تعداد شاخه در گیاه، وزن دانه، وزن هزار دانه، عملکرد بیولوژیکی)، پرولین، محتوای قندهای محلول، محتوای پروتئین محلول، آنتوسیانین، فلاونوئیدها، محتوای کلروفیل کل و آنزیم های آنتی اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز) را به طور معنی داری افزایش داد و باعث بهبود رشد گیاه در شرایط تنش خشکی شد (Ahmad et al., 2021). هم چنین بهبود عملکرد و اجزای عملکرد گیاه کلزا (معتکفی و همکاران، ۱۳۹۸) و گلرنگ (معتکفی و همکاران، ۱۴۰۰) با کاربرد محرک رشد آلی و کلسیم در شرایط تنش خشکی گزارش شده است. کلسیم نقش مهمی در تولید مثل گیاه، رشد، نمو، ریتم های شبانه روزی، ایمنی، وضعیت ردوکس، فرایندهای پیام رسانی و پاسخ به تنش ها دارد (Hong-Bo et al., 2008). نقش حیاتی کلسیم در بسیاری از مکانیسم های دفاعی در شرایط خشکی و پیام رسانی آن برای تحمل یا مقاومت به خشکی به وضوح مشخص شده است (Cousson, 2009).

هیدروژن (H_2O_2) و سایر گونه های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) در بافت ها می شود (نواب پور و همکاران، ۱۳۹۴). از این رو عملکرد زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی به شدت کاهش می یابد. گونه های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن، رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل علاوه بر تخریب رنگیزه های فتوسنتزی و کاهش فتوسنتز، باعث اکسید شدن لیپیدها و پروتئین ها می شوند (Kavas et al., 2013). گیاهان برای خنثی نمودن اثرات مضر حملات اکسیداتیو به سلول ها از دو سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده کرده و باعث کاهش رادیکال های آزاد اکسیژن می شوند. سیستم دفاع غیر آنزیمی شامل بتاکاروتن، آلفاتوکوفرول، گزانتوفیل، گلوتاتیون، آسکوربات، فنل، فلاونوئیدها و غیره است. سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی شامل آنزیم های کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پلی فنل اکسیداز (PPO) و آسکوربات پراکسیداز (APX) می شود که قادر به کاهش فعالیت، خنثی سازی و مهار رادیکال های آزاد اکسیژن هستند (Kwak et al., 2006; Gapper and Dolan, 2006).

گیاهان خانواده شب بو (Brassicaceae) حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند آسکوربیک اسید، توکوفرول ها، فنل ها و کاروتنوئیدها است (Piekarska et al., 2014). کلزا (*Brassica napus* L.) از گیاهان خانواده شب بو می باشد، که به دلیل دارا بودن اسیدهای چرب مناسب و روغن بالای دانه به عنوان یکی از مهم ترین محصولات روغنی شناخته می شود. دانه کلزا حاوی بیش از ۴۰ درصد روغن و کنجاله آن سرشار از پروتئین است (Jian et al., 2019). کلزا با تولید ۷۶/۲ میلیون تن روغن پس از نخل روغنی و سویا در جایگاه سوم جهانی قرار دارد که در سال ۲۰۱۹ به سطح زیر کشت ۳۴/۷ میلیون هکتار رسیده است (FAO, 2019). تولید کلزا در کشور به میزان ۲۹۵ هزار تن با سطح زیر کشت ۱۸۳ هزار هکتار در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ می باشد (Ministry of Agriculture-jihad).

نقش تنظیم کننده ها و محرک های رشد آلی در بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاهان در شرایط تنش و عدم تنش

شناسایی و مشخص کردن مراحل حساس گیاه نسبت به تنش خشکی از اهمیت بالایی برخوردار است، همچنین استفاده از راهکارهایی که اثرات منفی تنش کم آبی را در گیاه به حداقل برساند ضروری است. از اینرو پژوهش حاضر به منظور ارزیابی تأثیر تنظیم کننده رشد آلی و کلسیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و برخی صفات بیوشیمیایی کلزا در شرایط تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در مزرعه تحقیقاتی چاه نیمه واقع در شهرستان زهک استان سیستان و بلوچستان با مختصات جغرافیایی ۶۱ درجه و ۷۰ دقیقه طول شرقی و ۳۰ درجه و ۷۹ دقیقه عرض شمالی در سال زراعی ۱۳۹۶-۹۷، به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. این منطقه بر اساس طبقه‌بندی کوپن در اقلیم خشک بسیار گرم، با تابستان‌های گرم و خشک و براساس طبقه‌بندی آمبرژه نیز جزء مناطق گرم و خشک قرار می‌گیرد. میانگین دراز مدت (۳۰ ساله) بارندگی در منطقه ۶۳ میلی‌متر، میزان تبخیر سالیانه به طور متوسط ۴۵۰۰-۵۰۰۰ میلی‌متر، میانگین دراز مدت دمای منطقه ۲۳ درجه سانتی‌گراد و حداقل حرارت مطلق ۷- درجه می‌باشد. قبل از کاشت نمونه‌های خاک مزرعه برای انجام آزمایش تجزیه خاک به آزمایشگاه منتقل شد و نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است.

تیمارهای آزمایش شامل سطوح قطع آبیاری بر اساس مراحل فنولوژیک رشد گیاه، سیستم کدبندی سیلستر-برادلی (Sylvester-Bradley, 1951) در سه سطح I_1 = شاهد (آبیاری کامل)، I_2 = آبیاری تا مرحله رشدی کد ۲/۲۰ (تکمیل ساقه‌دهی: ۲۰ میانگره مشخص می‌شود) و I_3 = آبیاری تا مرحله رشدی کد ۵/۹ (خارجین‌دهی: کلیه خورجین‌ها بیشتر از ۲ سانتی‌متر طول دارند) و عامل فرعی محلول‌پاشی شامل F_1 = شاهد (محلول‌پاشی آب خالص)، F_2 = محلول‌پاشی تنظیم کننده رشد آلی و کلسیم به مقدار ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب (غلظت ۰/۱، F_3 = محلول‌پاشی تنظیم کننده رشد آلی و کلسیم به مقدار

۱ لیتر در ۲۰ لیتر آب (غلظت ۰/۰۵) و F_4 = محلول‌پاشی تنظیم کننده رشد آلی و کلسیم به مقدار ۱ لیتر در ۳۰ لیتر آب (غلظت ۰/۰۳) بود. بذر مورد استفاده رقم دلگان (آزاد گرده افشان، بهاره، مناسب برای مناطق گرم و خشک کشور، زودرس، متحمل به ورس، نسبتاً متحمل در برابر بیماری اسکروتینیایی ساقه و کیفیت خوب روغن) از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی سیستان تهیه شد. تنظیم کننده رشد آلی (هامون گرین®) شامل ترکیبات نانوسلنیوم، آنتوسیانین، الکل استیک و کلسیم آلی می‌باشد، که به صورت محلول‌پاشی در دو مرحله رشد رویشی و رشد زایشی کاربرد دارد. این محلول نیاز تغذیه‌ای گیاهان زراعی را در رشد و توسعه فراهم می‌کند. در حقیقت با استفاده از آن، عناصر ماکرو و میکرو مورد نیاز گیاه تأمین می‌گردد، از آنجایی که عنصر اصلی این محلول سلنیوم است دارای اثر محافظتی در برابر تنش خشکی می‌باشد. کلسیم استفاده شده در این آزمایش از کلسیم موجود در پودر پوسته تخم مرغ که در اسید سولفوریک ۹۶٪ هضم شده و سپس به وسیله آب مقطر به اسیدیته خنثی رسانیده شد، به دست آمده است. قبل از محلول‌پاشی ابتدا محلول به دست آمده به نسبت برابر با هر سه سطح محلول کودی مخلوط و سپس محلول‌پاشی انجام شد. محلول‌پاشی تنظیم کننده رشد آلی بر اساس مراحل فنولوژیک رشد در سه مرحله شامل: ۱- مرحله رشدی کد ۱/۲۰ (ظهور بیستمین برگ حقیقی)، ۲- مرحله رشدی کد ۴/۱ (اولین گل‌ها باز می‌شوند)، ۳- مرحله رشدی کد ۵/۹ (کلیه خورجین‌ها بیشتر از ۲ سانتی‌متر طول دارند) اعمال شدند. به منظور جلوگیری از هدر رفت و عدم سرایت محلول مورد نظر به کرت‌های مجاور، محلول‌پاشی در غروب و در هوای کاملاً صاف و بدون وزش باد انجام گرفت. مویان استفاده شده برای محلول‌پاشی با نام تجاری هیدروسیل (Hydrosil) بوده که ترکیبات آن شامل حلال (۱۵٪)، (Trisiloxan-85%) و مقدار مصرف آن ۰/۳ تا ۰/۵ میلی‌لیتر در لیتر می‌باشد.

آماده‌سازی زمین شامل شخم و دیسک و تسطیح بود. با توجه به نتایج تجزیه خاک و توصیه کودی، کودهای شیمیایی

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر

بافت خاک	هدایت الکتریکی (ds.m^{-1})	اسیدیته (pH)	سلنیوم	سدیم	پتاسیم	کلسیم	منیزیم	نیتروژن (%)
لوم-رسی	۳/۳۶	۸/۴۳	<۰/۰۱۸	۶۸/۱	۲۲/۸	۱۰۲/۷۲	۵۱/۵۱	۰/۰۵۷

مورد نیاز به خاک اضافه شد. کاشت در آذرماه ۱۳۹۶ به صورت دستی انجام شد و اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت صورت پذیرفت. وجین علف‌های هرز به روش دستی انجام شد و همچنین آفت مهمی در طول دوره آزمایش مشاهده نشد. طول و عرض هر کرت ۲ متر، فواصل بین ردیف ۴۰ و فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر، فاصله بین کرت‌های اصلی ۱/۵ متر و کرت‌های فرعی ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. نمونه برداری از برگ گیاهان پس از گلدهی و در هنگام خورجین‌دهی از برگ‌های توسعه‌یافته انجام شد، تعداد شش بوته از هر کرت به‌طور تصادفی انتخاب و آزمایش بر روی آنها انجام شد.

جهت عصاره‌گیری نمونه‌ها برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پروتئین، ابتدا ۰/۱ گرم نمونه برگ در ازت مایع کاملاً ساییده شد. سپس دو میلی‌لیتر بافر استخراج (حاوی ۰/۶۰۷ گرم تریس با اسیدیته ۷، ۰/۰۵ گرم پلی‌وینیل پیرولیدین و ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۶ نرمال در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به آن اضافه شد و در داخل هاون چینی کاملاً هموژنیزه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ قرار گرفت و پس از آن فاز بالایی جهت قرائت صفات مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین از روش برادفورد (Bradford, 1976)، کربوهیدرات از روش (Sheligl, 1986)، تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از روش (Beers and Sizer, 1952)، آنزیم پراکسیداز از روش (Moaveni and Kheiri, 2011)، آنزیم پلی‌فنل اکسیداز از روش (Janovitz-Klapp et al., 1990)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش (Yoshimura et al., 2000)، محتوای فنل از روش (Slinkard and Singleton, 1977) و فلاونوئید از روش (Chang et al., 2002)، استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS نسخه (۹/۱)

و برای انجام مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

کربوهیدرات‌های محلول کل: براساس جدول ۲، کربوهیدرات محلول کل تحت تأثیر تنش خشکی، محلول‌پاشی و اثر متقابل آنها معنی‌دار بود. بیشترین محتوای کربوهیدرات از تیمار قطع آبیاری از مرحله رشدی کد ۲/۲۰ همزمان با محلول‌پاشی ۱ لیتر در ۱۰ لیتر (۲۵/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین محتوای کربوهیدرات از تیمار آبیاری کامل همزمان با محلول‌پاشی آب خالص (۶/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به دست آمد. نتایج نشانگر افزایش ۷۵ درصد محتوای کربوهیدرات در طول تنش خشکی و محلول‌پاشی است (جدول ۳). گیاهان یک مکانیسم مهم (تنظیم اسمزی) را در شرایط مختلف تنش از طریق افزایش تجمع مواد محافظت کننده اسمزی (پرولین، قندهای محلول، پروتئین محلول و گلیسین بتائین)، به‌منظور تنظیم فشار آماس و محتوای آب سلول برای تحمل تنش خشکی به‌کار می‌برند (Farhangi-Abriz and Torabian, 2017). متابولیسم کربوهیدرات‌ها و انتقال آن‌ها از منبع به مخزن به‌منظور افزایش تولید اهمیت زیادی دارد. کاهش در دسترس بودن آب باعث ایجاد انواع تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیسمی در متابولیسم کربن می‌شود (Reddy et al., 2004). قندهای محلول، به‌ویژه ساکارز، شکل اصلی قندهایی هستند که در فواصل طولانی منتقل می‌شوند، علاوه بر این، افزایش محتوای قندهای محلول نشان‌دهنده بهبود پتانسیل اسمزی در برگ‌ها است (Taiz and Zeiger, 2002). در مطالعه حاضر محتوای کربوهیدرات برگ در پاسخ به تنش خشکی افزایش یافت. افزایش محتوای کربوهیدرات

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات تنش خشکی و محلول پاشی بر صفات کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز، فنل، فلاونوئید، کربوهیدرات و پروتئین

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	پراکسیداز
تکرار	۲	۰/۱۴۱	۸/۴۷	۰/۰۵۱	۰/۰۰۴
آبیاری	۲	۱۱۰/۶۳**	۶۸۳/۹۹**	۶/۲۹**	۵/۱۵**
خطای الف	۴	۰/۲۲۸	۳/۲۴	۰/۰۱۳	۰/۰۰۵
محلول پاشی	۳	۱۲/۱۰**	۹۶/۳۰**	۰/۴۶۵**	۰/۴۳۷**
اثر متقابل	۶	۰/۳۴۳*	۹/۲۰*	۰/۰۳۲*	۰/۰۴۷**
خطای ب	۱۸	۰/۱۲۸	۲/۶۶	۰/۰۱۱	۰/۰۰۴
ضریب تغییرات (%)	-	۶/۱۹	۶/۹۷	۵/۷۰	۶/۰۳

**, * و ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیر معنی دار

ادامه جدول ۲-

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		فنل	فلاونوئید	کربوهیدرات	پروتئین
تکرار	۲	۶/۸۳	۰/۰۰۲	۰/۸۱	۰/۰۰۱۵۷
آبیاری	۲	۶۰۴/۵۰**	۱۲/۹۹**	۴۷۷/۱۴**	۰/۰۴۰۱**
خطای الف	۴	۵/۳۷	۰/۱۰۴	۲/۲۴	۰/۰۰۱۵۵
محلول پاشی	۳	۷۰/۱۶**	۱/۳۱**	۵۲/۲۷**	۰/۰۰۹۰۲**
اثر متقابل	۶	۳/۳۲*	۰/۳۷۷**	۱۰/۱۱**	۰/۰۰۱۴۹*
خطای ب	۱۸	۱/۱۸	۰/۰۵۱	۲/۱۵	۰/۰۰۰۵۵
ضریب تغییرات (%)	-	۵/۶۳	۶/۱۱	۱۰/۸۶	۳/۲۴

**, * و ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیر معنی دار

محلول و پرولین در چندین گونه گیاهی در شرایط تنش خشکی با کاهش سرعت سنتز پروتئین و افزایش فعالیت پروتئولیتیک مرتبط است که هر دو باعث افزایش نیتروژن کل محلول می شوند (Serraj and Sinclair, 2002). نتایج محققان که افزایش کربوهیدرات را به عنوان یکی از راهکارهای تحمل گیاه به شرایط تنش خشکی (Khan et al., 2021; Zhu et al., 2018) نشان دادند، هم راستا با یافته های حاصل از پژوهش حاضر می باشد. در پژوهش حاضر محلول پاشی در هر سطح تیمار تنش و آبیاری، باعث افزایش تجمع کربوهیدرات در گیاه شد. سلنیوم یک عنصر

مفید برای گیاهان عالی محسوب می شود که متابولیسم آنتی اکسیدانی، فتوسنتز، متابولیت های ثانویه و کربوهیدرات ها را در برگ گیاهان افزایش می دهد (Andrade et al., 2018). قندها به عنوان نشانگرهای زیستی ROSها استفاده می شوند و در مقادیر زیاد می توانند بر افزایش H_2O_2 سیتوزولی تأثیر بگذارند، اما در دوزهای ایده آل، برای مبارزه با تنش اکسیداتیو، به طور عمده از طریق مسیر پنتوز فسفات (PPP) عمل می کنند (Gouveia et al., 2020). در سلول های گیاهی، کلسیم به عنوان پیام رسان ثانویه عمل می کند که طیف وسیعی از محرک های خارج سلولی تا پاسخ های بین

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و محلول پاشی بر صفات کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز، فنل، فلاونوئید، کربوهیدرات و پروتئین

تیمارهای آزمایشی		کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	پراکسیداز
آبیاری	محلول پاشی	(واحد میلی گرم پروتئین در دقیقه)			
آبیاری کامل	آب خالص	۱/۹۳ ^h	۸/۲۰ ⁱ	۰/۸۶ ⁱ	۰/۲۰ ⁱ
	۱ لیتر در ۱۰ لیتر + کلسیم	۴/۰۹ ^f	۱۹/۳۵ ^{gh}	۱/۴۱ ^{gh}	۰/۷۷ ^g
	۱ لیتر در ۲۰ لیتر + کلسیم	۲/۹۸ ^g	۱۷/۸۶ ^h	۱/۳۲ ^{gh}	۰/۷۴ ^g
	۱ لیتر در ۳۰ لیتر + کلسیم	۲/۴۱ ^{gh}	۱۶/۴۵ ^h	۱/۲۸ ^h	۰/۵۹ ^h
آبیاری تا مرحله رشدی کد ۵/۹ (خورجین دهی)	آب خالص	۴/۱۹ ^f	۲۱/۰۸ ^{fg}	۱/۴۸ ^{fg}	۰/۸۵ ^{fg}
	۱ لیتر در ۱۰ لیتر + کلسیم	۶/۷۶ ^c	۲۶/۶۷ ^{cde}	۱/۹۶ ^d	۱/۰۸ ^d
	۱ لیتر در ۲۰ لیتر + کلسیم	۶/۰۴ ^d	۲۵/۲۸ ^{de}	۱/۸۰ ^{de}	۰/۹۸ ^{de}
	۱ لیتر در ۳۰ لیتر + کلسیم	۵/۲۴ ^e	۲۳/۸۰ ^{ef}	۱/۶۳ ^{ef}	۰/۹۵ ^{fe}
آبیاری تا مرحله رشدی کد ۲/۲۰ (تکمیل ساقه دهی)	آب خالص	۷/۲۲ ^c	۲۷/۷۶ ^{cd}	۲/۳۸ ^c	۱/۴۳ ^c
	۱ لیتر در ۱۰ لیتر + کلسیم	۱۰/۸۰ ^a	۳۴/۰۵ ^a	۳/۰۱ ^a	۲/۱۹ ^a
	۱ لیتر در ۲۰ لیتر + کلسیم	۹/۰۵ ^b	۳۱/۲۳ ^b	۲/۵۳ ^{bc}	۱/۹۱ ^b
	۱ لیتر در ۳۰ لیتر + کلسیم	۸/۵۸ ^b	۲۸/۹۵ ^{bc}	۲/۶۷ ^b	۱/۹۰ ^b

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

ادامه جدول ۳-

تیمارهای آزمایشی		فنل	فلاونوئید	کربوهیدرات محلول کل	پروتئین
آبیاری	محلول پاشی	(میلی گرم بر گرم وزن تر)			
آبیاری کامل	آب خالص	۱/۹۳ ^h	۸/۲۰ ⁱ	۰/۸۶ ⁱ	۰/۲۰ ⁱ
	۱ لیتر در ۱۰ لیتر + کلسیم	۴/۰۹ ^f	۱۹/۳۵ ^{gh}	۱/۴۱ ^{gh}	۰/۷۷ ^g
	۱ لیتر در ۲۰ لیتر + کلسیم	۲/۹۸ ^g	۱۷/۸۶ ^h	۱/۳۲ ^{gh}	۰/۷۴ ^g
	۱ لیتر در ۳۰ لیتر + کلسیم	۲/۴۱ ^{gh}	۱۶/۴۵ ^h	۱/۲۸ ^h	۰/۵۹ ^h
آبیاری تا مرحله رشدی کد ۵/۹ (خورجین دهی)	آب خالص	۴/۱۹ ^f	۲۱/۰۸ ^{fg}	۱/۴۸ ^{fg}	۰/۸۵ ^{fg}
	۱ لیتر در ۱۰ لیتر + کلسیم	۶/۷۶ ^c	۲۶/۶۷ ^{cde}	۱/۹۶ ^d	۱/۰۸ ^d
	۱ لیتر در ۲۰ لیتر + کلسیم	۶/۰۴ ^d	۲۵/۲۸ ^{de}	۱/۸۰ ^{de}	۰/۹۸ ^{de}
	۱ لیتر در ۳۰ لیتر + کلسیم	۵/۲۴ ^e	۲۳/۸۰ ^{ef}	۱/۶۳ ^{ef}	۰/۹۵ ^{fe}
آبیاری تا مرحله رشدی کد ۲/۲۰ (تکمیل ساقه دهی)	آب خالص	۷/۲۲ ^c	۲۷/۷۶ ^{cd}	۲/۳۸ ^c	۱/۴۳ ^c
	۱ لیتر در ۱۰ لیتر + کلسیم	۱۰/۸۰ ^a	۳۴/۰۵ ^a	۳/۰۱ ^a	۲/۱۹ ^a
	۱ لیتر در ۲۰ لیتر + کلسیم	۹/۰۵ ^b	۳۱/۲۳ ^b	۲/۵۳ ^{bc}	۱/۹۱ ^b
	۱ لیتر در ۳۰ لیتر + کلسیم	۸/۵۸ ^b	۲۸/۹۵ ^{bc}	۲/۶۷ ^b	۱/۹۰ ^b

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

سلولی را تنظیم می کند (Bartels and Sunkar, 2005). محققان افزایش قندهای محلول گیاه کلزا تیمار شده با کلسیم کلرید در شرایط تنش خشکی را گزارش کردند که نتایج آن هم سو با یافته های این پژوهش است (Xiang et al., 2008).

پروتئین محلول برگ: تنش خشکی، محلول پاشی و اثر متقابل آن ها بر محتوای پروتئین برگ معنی دار شد (جدول ۲). بیشترین مقدار پروتئین برگ (0.857 میلی گرم بر گرم وزن تر) از تیمار قطع آبیاری از مرحله رشدی کد $2/20$ همزمان با محلول پاشی 1 لیتر در 10 لیتر و کمترین مقدار (0.619 میلی گرم بر گرم وزن تر) آن از تیمار آبیاری کامل همزمان با محلول پاشی آب خالص به دست آمد، که به مقدار 28 درصد در طی تنش خشکی و محلول پاشی افزایش داشته است (جدول ۳). با حذف آب از سلول، پتانسیل اسمزی به دلیل اثر ساده غلظت املاح کاهش می یابد. اگر در طول دوره از دست دادن آب سلولی، املاح به طور فعال انباشته شوند، پتانسیل اسمزی کاهش می یابد. چنین تجمعی از املاح در طول دوره کمبود آب تنظیم اسمزی نامیده می شود. گیاهان انواع مختلفی از املاح آلی و معدنی را در سیتوزول انباشته می کنند تا پتانسیل اسمزی را کاهش داده و فشار آماس سلولی را حفظ کنند (Rhodes and Samaras, 2020). تجمع پروتئین یکی از راه های تنظیم اسمزی است که باعث افزایش تحمل گیاه در برابر اثرات نامطلوب تنش های غیرزیستی می شود (Ma and Turner, 2006).

محققان در آزمایشی بر دو رقم کلزا در شرایط تنش خشکی گزارش کردند، محتوای پروتئین محلول هر دو رقم تحت تنش خشکی افزایش یافت، که افزایش رقم P287 به مراتب بیشتر از رقم T88 بود (Zhu et al., 2021). مشارکت یون های سلنیوم در تنظیم و حفظ وضعیت بهینه آب در سلول ها، به عنوان مکانیسم اصلی مرتبط با عملکرد محافظتی در شرایط خشکی در نظر گرفته شده است (Proietti et al., 2013). سلنیوم باعث افزایش غلظت اسمولیت های آلی (کربوهیدرات کل و پروتئین) و غیر آلی (یون های کلسیم و فسفر) می شود که با محافظت اسمزی ممکن است باعث

افزایش حفظ آب در بافت گیاه شود (Emam et al., 2014). این ممکن است یک راهکار محافظت کننده اسمزی برای کاهش اثرات مضر تنش های زیستی مانند خشکی (Rady et al., 2020)، شوری (Habibi, 2017) و فلزات سنگین (Shekari et al., 2019) باشد. کاربرد سلنیوم در پژوهش های مختلفی سبب افزایش محتوای پروتئین محلول کلزا (حاجی بلند و همکاران، ۱۳۹۳)، گلرنگ (خادمی و همکاران، ۱۳۹۴) و نخود (ساجدی و همکاران، ۱۳۹۳) در شرایط تنش خشکی شد. کلسیم نقش اساسی در تنظیم جابه جایی یون، فعالیت آنزیم های دیواره سلولی، یکپارچگی غشای سلولی، تثبیت ساختار دیواره سلولی، تنظیم متابولیسم سلولی، هدایت و انتقال پیام ها و تعدیل عملکرد سلولی با اتصال پروتئین ها، مانند کالمدولین که فعالیت پروتئین های هدف را تنظیم می کند، ایفا می نماید (Rentel and Knight, 2004; Hu et al., 2007).

فعالیت آنزیم کاتالاز: این آنزیم تحت تأثیر تنش خشکی، محلول پاشی و اثر متقابل آن ها معنی دار شد (جدول ۲). نتایج نشان داد بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز ($10/8$ واحد میلی گرم پروتئین در دقیقه) از تیمار قطع آبیاری از مرحله رشدی کد $2/20$ همزمان با محلول پاشی 1 لیتر در 10 لیتر و کمترین مقدار ($1/93$ واحد میلی گرم پروتئین در دقیقه) آن از تیمار آبیاری کامل همزمان با محلول پاشی آب خالص به دست آمد. فعالیت آنزیم مذکور 82 درصد در طول تنش خشکی و محلول پاشی افزایش یافت (جدول ۳). در هنگام وقوع تنش خشکی، که مقدار جذب و ترکیب دی اکسید کربن به عنوان منبع باز شدن روزنه ها کاهش می یابد انرژی داخلی افزایش یافته، به دنبال آن الکترون های زنجیره انتقال الکترون حاصل از فتوسنتز افزایش یافته و سبب افزایش رادیکال های آزاد اکسیژن می شود. این رادیکال های آزاد اکسیژن سبب پراکسیداسیون لیپیدها و دنا توره شدن پروتئین ها می شود. در این شرایط آنزیم هایی مانند کاتالاز فعال تر می شوند (سیروس مهر و همکاران، ۱۳۹۳). کاتالاز (یک آنزیم تترامری حاوی هم) با تبدیل پراکسید هیدروژن به آب، صدمات ناشی از گونه های فعال اکسیژن ایجاد شده را کاهش می دهد (Mehla et al.,

2017). در آزمایش Bukhari و همکاران (۲۰۲۱) اعمال تنش خشکی در گیاه کلزا باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) نسبت به تیمار آبیاری کامل شد. از سوی دیگر آن‌ها گزارش کردند بهترین عملکرد هر یک از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) در آن دسته از گیاهانی مشاهده شد که تیمار سیلیکون در آن‌ها اعمال شد. Akram و همکاران (۲۰۱۸) تأیید کردند که دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز دو رقم کلزا در شرایط تنش خشکی فعال شدند. نتایج آن‌ها هم‌سو با پژوهش حاضر می‌باشد. فعال شدن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی در تیمار سلنیوم اغلب به‌عنوان یک مکانیسم اصلی برای بهبود اثر آن در شرایط تنش ذکر شده است (Feng et al., 2013). در آزمایشی به‌منظور محلول‌پاشی سلنیوم بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رزماری در شرایط تنش خشکی، محققان گزارش کردند در شرایط تنش و محلول‌پاشی سلنیوم میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر به حداکثر رسید (شمسایی و همکاران، ۱۳۹۹). کلسیم با محافظت از غشاها در برابر پراکسیداسیون لیپیدی و تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی، پایداری غشاها را حفظ می‌کند (Allen and Pilbeam, 2007). بر طبق گفته محققان مقاومت گیاهان در برابر تنش غیرزیستی توسط تریازول‌ها با افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و سپس کاهش آسیب رادیکال‌های آزاد همراه است (Leul and Zhou, 1999). یونیکونازول باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در گیاه کلزا شد و تحمل به تنش دما را بهبود بخشید (Zhou and Leul, 1998).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر معنی‌دار بودن تنش خشکی، محلول‌پاشی و اثر متقابل آن بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بود (جدول ۲). بهترین عملکرد فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار قطع آبیاری از مرحله رشدی کد ۲/۲۰ همزمان با محلول-

پاشی ۱ لیتر در ۱۰ لیتر (۳۴/۰۵) واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و کمترین فعالیت این آنزیم از تیمار آبیاری کامل و محلول‌پاشی آب خالص (۸/۲) واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) حاصل شد. فعالیت این آنزیم در شرایط تنش و محلول-پاشی به میزان ۷۶ درصد افزایش یافت (جدول ۳). در شرایط تنش، تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث از بین بردن تعادل و آسیب سلولی می‌شود که ادامه این روند منجر به مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (PCD) و همچنین کاهش بهره‌وری گیاه می‌شود (Raja et al., 2017). در جایی که آنزیم کاتالاز وجود ندارد، آسکوربات پراکسیداز (وابسته به آسکوربیک اسید) تنها آنزیمی است که قادر به حذف H_2O_2 در کلروپلاست است (Kohli et al., 2019) و از آسکوربات به عنوان دهنده الکترون برای کاهش پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن استفاده می‌کند (Silva et al., 2018). ایزوآنزیم‌های مختلف آسکوربات پراکسیداز یا در استروما (sAPX) قرار دارند و یا به غشای تیلاکوئید (tAPX) متصل می‌شوند (Shigeoka et al., 2002). در آزمایش حاضر سطوح مختلف تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد، در همین راستا آزمایشی که بر پنج رقم کلزا در شرایط تنش خشکی انجام شد، محققان گزارش کردند، اعمال تنش خشکی در این ارقام باعث افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و متعاقب آن با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز، گلوکاتایون ردوکتاز و مونودهدرو آسکوربات ردوکتاز) همراه بود که این نتایج هم‌راستا با پژوهش حاضر است (Ayyaz et al., 2021). در آزمایشی که در دو رقم خردل چینی به‌منظور تأثیر تنش خشکی و کاربرد پتاسیم انجام شد، گزارش کردند فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمارهای تحت تنش به بیشترین میزان آن رسید (Rani et al., 2021). Rady و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با سلنیوم (۴۰ میکرومولار) تحمل به تنش خشکی را با افزایش فعالیت چندین آنزیم آنتی‌اکسیدانی مانند آسکوربات پراکسیداز (۴۴ درصد)، کاتالاز (۲۷ درصد) و سوپراکسید

دیسموتاز (۵۶ درصد) نشان دادند. این تحمل همچنین با افزایش محتوای آنتی اکسیدانهای غیر آنزیمی مرتبط بود. کاربرد سلنیوم در غلظت‌های پایین (۱ و ۵ میکرومولار) ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه را از طریق اثر آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش می‌دهد، اما در غلظت‌های بالا (۱۰ میکرومولار) پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش می‌دهد (Jóźwiak and Politycka, 2019). بهبود رشد رقم RGS003 کلزا در پلی اتیلن گلیکول ۵٪ توسط کلسیم با القای فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نشان داده شد. علاوه بر این، اثرات بهبودبخش پنکونازول و کلسیم در بازیابی رشد رقم ساریگل در ۵ و ۱۵ درصد پلی اتیلن گلیکول مشاهده شد و کاربرد پنکونازول و کلسیم باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد (Rezayian et al., 2020). این نتایج تأیید کننده پژوهش حاضر است.

فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت این آنزیم در شرایط تنش خشکی، محلول پاشی و اثر متقابل این تیمارها معنی دار بود (جدول ۲). بهترین عملکرد این آنزیم در شرایط قطع آبیاری از مرحله رشدی کد ۲/۲۰ همزمان با محلول پاشی ۱ لیتر در ۱۰ لیتر (۲/۱۹) واحد میلی گرم پروتئین در دقیقه) و کمترین مقدار فعالیت این آنزیم در تیمار آبیاری کامل و محلول پاشی آب خالص (۰/۲) واحد میلی گرم پروتئین در دقیقه) مشاهده شد که میزان افزایش فعالیت آن در شرایط تنش و محلول پاشی ۹۰ درصد بود (جدول ۳). تجزیه پراکسید هیدروژن با فعالیت ترکیبی آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز انجام می‌شود. هر دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز از مهمترین آنتی اکسیدان‌ها هستند که با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز همکاری کرده و در مجموع برای حذف پراکسید هیدروژن عمل می‌کنند (Ullah et al., 2017). آنزیم پراکسیداز به طور عمده رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل (OH) را به آب اکسید می‌کند (Jovanovic et al., 2018). فعالیت آنزیم پراکسیداز در پژوهش حاضر در اثر اعمال تنش افزایش یافته، مشابه این نتیجه، پژوهش Akram و همکاران (۲۰۱۸) که عملکرد دو رقم کلزا (Dunkeld و

Cyclone) را در شرایط تنش خشکی مقایسه کردند و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز را گزارش دادند، است. جباری و همکاران (۱۳۹۳) گزارش کردند قطع آبیاری در مراحل مختلف نمو ارقام کلزا مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز را تحت تأثیر قرار داد. در شرایط شاهد و قطع آبیاری از ساقه‌دهی به ترتیب کمترین و بیشترین مقدار فعالیت این آنزیم مشاهده شد. در آزمایش دیگری محققان افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان (پراکسیداز، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) را در شرایط تنش خشکی گزارش کردند. همچنین آنها بیان داشتند کاربرد تیمارهای کودی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور شد که تأیید کننده نتایج حاضر می‌باشد (Mamnabi et al., 2020). سلنیوم با پروتئین‌ها ترکیب شده و تولید موادی با عنوان سلنوپروتئین می‌کند (Xue et al., 2001). در گیاهان، سلنوپروتئین‌ها در انتقال سلنیوم و تنظیم تعادل ردوکس سلولی عمل می‌کنند (Malik et al., 2011). مطالعات قبلی در سه رقم کلزا نشان داد که محلول پاشی سلنیوم به طور قابل توجهی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان را افزایش داد و از این طریق سبب کاهش اثرات مضر تنش خشکی شد، که از نتیجه‌گیری حاضر حمایت می‌کند (Zhang et al., 2012). کاربرد پنکونازول و کلسیم باعث افزایش فعالیت مهار کنندگی رادیکال DPPH و پراکسید هیدروژن شد که نقش محافظتی پنکونازول و کلسیم را در کاهش تنش اکسیداتیو در کلزا نشان داد. تریازول‌ها ظرفیت آنتی اکسیدانی را در گیاهان تحت تنش اکسیداتیو نسبت به شاهد افزایش دادند (Sankar et al., 2007).

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز: تنش خشکی، محلول پاشی و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز معنی دار بود (جدول ۲). میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین مقدار عملکرد آنزیم پلی فنل اکسیداز (۳/۰۱) واحد میلی گرم پروتئین در دقیقه) و کمترین مقدار آن (۰/۸۶) واحد میلی گرم پروتئین در دقیقه) به ترتیب از تیمار قطع آبیاری از مرحله رشدی کد ۲/۲۰ همزمان با محلول پاشی ۱ لیتر در ۱۰ لیتر و آبیاری کامل و محلول پاشی آب خالص حاصل شد که بیانگر افزایش ۷۲ درصد فعالیت این

آنزیم در شرایط تنش خشکی و محلول‌پاشی بوده است (جدول ۳). گیاهان کلزا با افزایش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز از خود در برابر آسیب‌های فیزیولوژیکی ناشی از تنش آبی محافظت می‌کنند (Mamnabi et al., 2020). آنزیم پلی‌فنل اکسیداز که بیشتر در غشای تیلاکوئید کلروپلاست یافت می‌شود می‌تواند به‌طور مستقیم بر فتوسنتز تأثیر بگذارد. این آنزیم همچنین می‌تواند با پراکسیداز یا چرخه آب-آب برای تسهیل حذف گونه‌های فعال اکسیژن تعامل داشته باشد (Boeckx et al., 2015). Aslam و همکاران (۲۰۲۱)، در بررسی تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه کلزا به کاربرد کودهای شیمیایی و تنظیم‌کننده‌های رشد آلی در شرایط تنش خشکی افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را در اثر اعمال تنش خشکی گزارش کردند. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز از تیمار تنش شدید (۱۵۰ میلی‌متر تبخیر) و کاربرد تلفیقی کودهای شیمیایی و آلی حاصل شد. در همین راستا Mohammadi و همکاران (۲۰۱۹)، نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (پلی‌فنل اکسیداز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) را در شرایط تنش خشکی گزارش کردند که تأیید‌کننده نتایج حاضر است. پژوهشگران نشان دادند که غنی‌سازی سبزیجات توسط سلنیوم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را افزایش می‌دهد. آنها بیان کردند ترکیبات زیست فعال مانند پلی‌فنل‌ها، اسید آسکوربیک، کاروتنوئیدها، توکوفرول و گلوتاتیون ممکن است به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل گیاه شاهی کمک کند و غنی‌سازی این گیاه با سلنیوم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن را بهبود بخشد (Frias et al., 2010). محلول‌پاشی سلنیوم در غلظت‌های کم می‌تواند برای بهبود متابولیسم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز) و غیرآنزیمی (آسکوربات، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، توکوفرول) گیاهان برای القای تحمل به تنش‌های غیرزنده استفاده شود (Lanza and Dos Reis, 2021). شمسایی و همکاران (۱۳۹۹)، افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز را در شرایط تنش

خشکی گزارش کردند. آنها بیان داشتند بیشترین مقدار فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز از تیمار محلول‌پاشی ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم در شرایط تنش به‌دست آمد. محققان اثر بهبود دهندگی کلسیم و پنکونازول را در ارقام کلزا گزارش کردند. آنها بیان کردند بیشترین مقدار عملکرد آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در رقم RGS003 و پلی‌اتیلن گلیکول ۱۵ درصد و کاربرد کلسیم و پنکونازول به‌دست آمد که نشان دهنده نقش مفید عنصر کلسیم در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ارقام کلزا بود (Rezayian et al., 2020).

محتوای فنل و فلاونوئید: طبق جدول ۲، محتوای فنل و فلاونوئید تحت تأثیر تنش خشکی، محلول‌پاشی و اثر متقابل آنها معنی‌دار بود. بیشترین مقدار فنل (۳۰/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و فلاونوئید (۵/۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار قطع آبیاری از مرحله رشدی کد ۲/۲۰ همزمان با محلول‌پاشی ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کلسیم و کمترین مقدار فنل (۸/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و فلاونوئید (۲/۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار آبیاری کامل و محلول‌پاشی آب خالص حاصل شد. در هر سطح تنش و با محلول‌پاشی کودی مقدار فنل و فلاونوئید افزایش یافت که محتوای فنل ۷۳ درصد و فلاونوئید ۵۳ درصد بود (جدول ۳). گیاهان در درجه اول با تنش اکسیداتیو از طریق یک مکانیزم دفاعی آنزیمی (کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و...) و غیر آنزیمی (اسیدهای فنولیک، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و...) مقابله می‌کنند (Kaur et al., 2019). درون سلول‌های گیاهی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و کنترل تعادل گونه‌های فعال اکسیژن حالت پایدار را حفظ می‌کند (Hasanuzzaman et al., 2012). حفظ سطح بهینه گونه‌های فعال اکسیژن در سلول، واکنش‌های بیولوژیکی ردوکس مناسب و تنظیم فرآیندهای متعدد ضروری برای گیاهان مانند رشد و نمو را ممکن می‌سازد (Hasanuzzaman et al., 2020). اسیدهای فنولیک آنتی‌اکسیدانی به‌طور عمده از اسیدهای هیدروکسی بنزوئیک (hydroxybenzoic) و هیدروکسی سینامیک (hydroxycinnamic) تشکیل شده‌اند که فعالیت

آنتی اکسیدانی را به عنوان کلات کننده (chelators) و پاک کننده رادیکال های آزاد، به ویژه آنیون سوپراکسید (O_2^-) هیدروکسیل (OH)، پروکسیل (ROO)، پروکسی نیتريت (ONOO) نشان می دهند (Carocho et al., 2013). فلاونوئیدها ترکیباتی با وزن مولکولی کم و دارای پتانسیل بالایی برای از بین بردن رادیکال های آزاد و کاهش آسیب سلولی ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی هستند (Mehla et al., 2017). که تنش های غیرزیستی بیان ژن های مرتبط با بیوستز این ترکیبات را افزایش داده و مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی را فعال می کنند (Agati et al., 2012). افزایش محتوای فنل کل و فلاونوئید ارقام کلزا در شرایط تنش خشکی گزارش شد. بیشترین مقدار فنل کل در شرایط پلی اتیلن گلیکول ۱۵ درصد و محتوای فلاونوئید در سطح پائین تر (پلی اتیلن گلیکول ۵ درصد) حاصل شد (Rezayian et al., 2018). افزایش محتوای فنل کل و فلاونوئید با افزایش سطوح تنش خشکی در گیاه گلرنگ (Farooq et al., 2020)، کتان کش (Borzoo et al., 2021) و کلم چینی (Shawon et al., 2020) گزارش شده است که نتایج آن ها هم سو با نتایج حاضر از این آزمایش است. کاربرد سلنیوم بر متابولیسم بیوستز نیتروژن، پروتئین ها و اسیدهای آمینه و به ویژه اسید آمینه فنیل آلانین که پیش ساز ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها است، تأثیر می گذارد (Golubkina et al., 2018). کاربرد سلنیوم در گیاه کلزا و کتان کش باعث افزایش محتوای فلاونوئید این گیاهان در شرایط تنش خشکی شد و از این طریق اثرات نامطلوب تنش در گیاهان را کاهش داد (Ahmad et al., 2021). افزایش محتوای ترکیبات فنلی در نتیجه غنی سازی زیستی سلنیوم در کلم بروکلی گزارش شده است (Bachiega et al., 2016). در دانهال ها، جوانه ها و گل آذین کلم بروکلی غنی شده با سلنات، دانهال ها بالاترین سطوح فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی را

منابع

- جباری، ح.، اکبری، ع.، خوش خلق سیم، ن. ا.، اله دادی، ا.، شیرانی راد، ا. ح.، طباطبایی، س. ع. و حامد، ع. (۱۳۹۳) مقایسه نقش آنزیم های آنتی اکسیدان و پرولین در تحمل به تنش خشکی در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.). مجله تولید گیاهان روغنی ۱: ۳۱-۱۵.

نشان دادند (Bachiega et al., 2016). سبزیجات غنی شده با سلنیوم حاوی مواد فیتوشیمیایی هستند که از آسیب های اکسیداتیو پروتئین ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک محافظت می کنند. غنی سازی زیستی سلنیت در جوانه کلم بروکلی باعث افزایش محتوای فلاونوئید و آنتوسیانین شد (Tian et al., 2016). کلسیم نیز با تأثیر بر آنزیم های مؤثر در سنتز و اکسیداسیون فنل ها مانند فنیل آلانین آمونیا لایز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز در چرخه متابولیسم اسیدهای فنولیک نقش مؤثری دارد (Teixeira et al., 2006).

نتیجه گیری

افزایش سطوح تنش خشکی در آزمایش حاضر باعث فعال شدن سیستم آنتی اکسیدان گیاه و افزایش میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان شد. کربوهیدرات و پروتئین برگ در پاسخ به تنش افزایش یافت که نشان دهنده سازوکار تنظیم اسمزی در گیاه بود. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، کربوهیدرات، پروتئین، فنل و فلاونوئید در بین تیمارهای تنش، از تیمار قطع آبیاری از مرحله رشدی کد ۲/۲۰ حاصل شد که نشان دهنده حساسیت گیاه به این مقدار از تنش خشکی است. در بین تیمارهای محلول پاشی کاربرد ۱ لیتر تنظیم کننده رشد آلی در ۱۰ لیتر آب و کلسیم باعث بهترین عملکرد فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و تجمع پروتئین و کربوهیدرات شد که نشان دهنده سطح بهینه کاربرد این محلول در شرایط تنش خشکی بود. در مجموع با کاربرد سلنیوم و کلسیم موجود در این آزمایش به وسیله فعال کردن سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی تا حدودی اثرات مضر تنش خشکی در گیاه تعدیل یافت.

حاجی بلند، ر.، کیوان فر، ن.، جودمند، ا.، رضایی، ح. و یوسف نژاد، م. (۱۳۹۳) تأثیر تیمار سلنیم روی تحمل تنش خشکی در گیاه کلزا. پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۷: ۵۵۷-۵۶۸.

خادمی، ب.، شیبانی، ح. و برزو، آ. (۱۳۹۴) بررسی اثر محلول‌پاشی سلنیم بر صفات کیفی و فعالیت‌های آنزیمی گلرنگ تحت رژیم‌های مختلف رطوبتی خاک در منطقه ورامین. پژوهش‌های زراعی در حاشیه کویر ۱۲: ۱۹۶-۱۸۳.

ساجدی، ن. ع.، چراغی، ع. م. و گماریان، م. (۱۳۹۳) واکنش خصوصیات زراعی، فیزیولوژیکی و کیفی نخود در شرایط دیم به اسید سالیسیلیک و سلنیم. پژوهش‌های حبوبات ایران ۵: ۴۲-۳۱.

سیروس مهر، ع. ر.، باردل، ج. و محمدی، س. (۱۳۹۳) تغییرات خصوصیات جوانه‌زنی، رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلرنگ تحت تأثیر تنش‌های خشکی و شوری. اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی ۳۲: ۵۳۴-۵۱۷.

شمسایی، ا. ا.، آران، م. و فاخری، ب. (۱۳۹۹) تأثیر محلول‌پاشی سلنیم بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رزماری تحت تنش خشکی. تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک ۲: ۱۴۰-۱۲۷.

معتکفی، م.، سیروس مهر، ع. ر. و موسوی‌نیک، م. (۱۴۰۰) تأثیر محلول‌پاشی محرک رشد آلی بر عملکرد، اجزای عملکرد، درصد روغن و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گلرنگ در شرایط تنش خشکی. به زراعی کشاورزی ۲۳: ۵۴۸-۵۳۵.

معتکفی، م.، قنبری، ا.، موسوی‌نیک، س. م. و سیروس مهر، ع. ر. (۱۳۹۸) تأثیر محرک رشد آلی بر عملکرد، اجزای عملکرد، درصد روغن و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی کلزا تحت شرایط تنش خشکی. به زراعی کشاورزی ۲۱: ۳۷۷-۳۶۷.

نواب‌پور، س.، رمضانپور، س. و مازندرانی، ا. (۱۳۹۴) ارزیابی تغییرات سیستم دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی ارقام سویا در واکنش به تنش خشکی طی مراحل رشد زایشی. دوفصلنامه فناوری تولیدات گیاهی ۷: ۵۴-۳۹.

- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. and Tattini, M. (2012) Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science* 196: 67-76.
- Ahmad, Z., Anjum, S., Skalicky, M., Waraich, E. A., Muhammad Sabir Tariq, R., Ayub, M. A. and El Sabagh, A. (2021) Selenium alleviates the adverse effect of drought in oilseed crops camelina (*Camelina sativa* L.) and canola (*Brassica napus* L.). *Molecules* 26: 1699.
- Akram, N. A., Iqbal, M., Muhammad, A., Ashraf, M., Al-Qurainy, F. and Shafiq, S. (2018) Aminolevulinic acid and nitric oxide regulate oxidative defense and secondary metabolisms in canola (*Brassica napus* L.) under drought stress. *Protoplasma* 255: 163-174.
- Allen, V. B. and Pilbeam, D. J. (2007) *Handbook of Plant Nutrition*, Taylor and Francis Group.
- Andrade, F. R., da Silva, G. N., Guimaraes, K. C., Barreto, H. B. F., de Souza, K. R. D., Guilherme, L. R. G. and Dos Reis, A. R. (2018) Selenium protects rice plants from water deficit stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 164: 562-570.
- Ashraf, M., Akram, N. A., Al-Qurainy, F. and Foolad, M. R. (2011) Drought tolerance: Roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. *Advances in Agronomy* 111: 249-296.
- Aslam, M. M., Farhat, F., Siddiqui, M. A., Yasmeen, S., Khan, M. T., Sial, M. A. and Khan, I. A. (2021) Exploration of physiological and biochemical processes of canola with exogenously applied fertilizers and plant growth regulators under drought stress. *PloS One* 16: e0260960.
- Ayyaz, A., Miao, Y., Hannan, F., Islam, F., Zhang, K., Xu, J., Farooq, M. A. and Zhou, W. (2021) Drought tolerance in *Brassica napus* is accompanied with enhanced antioxidative protection, photosynthetic and hormonal regulation at seedling stage. *Physiologia Plantarum* 172: 1133-1148.
- Bachiega, P., Salgado, J. M., de Carvalho, J. E., Ruiz, A. L. T., Schwarz, K., Tezotto, T. and Morzelle, M. C. (2016) Antioxidant and antiproliferative activities in different maturation stages of broccoli (*Brassica oleracea* Italica) biofortified with selenium. *Food Chemistry* 190: 771-776.
- Bartels, D. and Sunkar, R. (2005) Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 24: 23-58.
- Beers, G. R. and sizer, I. W. (1952) A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Biology Chemistry* 195: 133-140.
- Boeckx, T., Winters, A. L., Webb, K. J. and Kingston-Smith, A. H. (2015) Polyphenol oxidase in leaves: Is there any significance to the chloroplastic localization?. *Journal of Experimental Botany* 66: 3571-3579.
- Borzoo, S., Mohsenzadeh, S. and Kahrizi, D. (2021) Water-deficit stress and genotype variation induced alteration in seed characteristics of *Camelina sativa*. *Rhizosphere* 20: 100427.

- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Bukhari, M. A., Sharif, M. S., Ahmad, Z., Barutçular, C., Afzal, M., Hossain, A. and Sabagh, A. E. (2021) Silicon mitigates the adverse effect of drought in canola (*Brassica napus* L.) through promoting the physiological and antioxidants activity. *Silicon* 13: 3817-3826.
- Carocho, M. and Ferreira, I. C. (2013) A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology* 51: 15-25.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Food and Drug Analysis* 10: 178-182.
- Chavoushi, M., Najafi, F., Salimi, A. and Angaji, S. A. (2019) Improvement in drought stress tolerance of safflower during vegetative growth by exogenous application of salicylic acid and sodium nitroprusside. *Industrial Crops and Products* 134: 168-176.
- Cousson, A. (2009) Involvement of phospholipase C-independent calcium-mediated abscisic acid signaling during Arabidopsis response to drought. *Biologia Plantarum* 53: 53-62.
- Emam, M. M., Khattab, H. E., Helal, N. M. and Deraz, A. E. (2014) Effect of selenium and silicon on yield quality of rice plant grown under drought stress. *Australian Journal of Crop Science* 8: 596-605.
- FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Database). (2019) FAOSTAT production statistics of crops. Available online at: <http://www.fao.org/faostat/>.
- Farhangi-Abriz, S. and Torabian, S. (2017) Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 137: 64-70.
- Farooq, A., Bukhari, S. A., Akram, N. A., Ashraf, M., Wijaya, L., Alyemeni, M. N. and Ahmad, P. (2020) Exogenously applied ascorbic acid-mediated changes in osmoprotection and oxidative defense system enhanced water stress tolerance in different cultivars of safflower (*Carthamus tinctorious* L.). *Plants* 9: 104.
- Feng, R., Wei, C. and Tu, S. (2013) The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany* 87: 58-68.
- Filgueiras, L., Silva, R., Almeida, I., Vidal, M., Baldani, J. I. and Meneses, C. H. S. G. (2020) Gluconacetobacter diazotrophicus mitigates drought stress in *Oryza sativa*. *Plant and Soil* 451: 57-73.
- Frias, J., Gulewicz, P., Martinez-Villaluenga, C., Penas, E., Piskula, M. K., Kozłowska, H., Ciska, E., Gulewicz, K. and Vidal-Valverde, C. (2010) Changes in nutritional value and cytotoxicity of garden cress germinated with different selenium solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 2331-2336.
- Gapper, C. and Dolan, L. (2006) Control of plant development by reactive oxygen species. *Plant Physiology* 141: 341-345.
- Golubkina, N., Kekina, H. and Caruso, G. (2018) Yield, quality and antioxidant properties of Indian mustard (*Brassica juncea* L.) in response to foliar biofortification with selenium and iodine. *Plants* 7: 80.
- Gouveia, G. C. C., Galindo, F. S., Lanza, M. G. D. B., da Rocha Silva, A. C., de Brito Mateus, M. P., da Silva, M. S. and Dos Reis, A. R. (2020) Selenium toxicity stress-induced phenotypical, biochemical and physiological responses in rice plants: Characterization of symptoms and plant metabolic adjustment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 202: 110916.
- Habibi, G. (2017) Physiological, photochemical and ionic responses of sunflower seedlings to exogenous selenium supply under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 39: 1-9.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M. and Fotopoulos, V. (2020) Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants* 9: 681.
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., da Silva, J. A. T. and Fujita, M. (2012) Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defense is a key factor. *Crop stress and its management: perspectives and strategies*. Springer, Dordrecht.
- Hong-Bo, S., Li-Ye, C. and Ming-An, S. (2008) Calcium as a versatile plant signal transducer under soil water stress. *Bio Essays* 30: 634-641.
- Hu, X., Jiang, M., Zhang, J., Zhang, A., Lin, F. and Tan, M. (2007) Calcium-calmodulin is required for abscisic acid-induced antioxidant defense and functions both upstream and downstream of H₂O₂ production in leaves of maize (*Zea mays*) plants. *New Phytologist* 173: 27-38.
- Janovitz-Klapp, A. H., Richard, F. C., Goupy, P. M. and Nicolas, J. J. (1990) Inhibition studies on apple polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38: 926-931.
- Jian, H., Zhang, A., Ma, J., Wang, T., Yang, B., Shuang, L. S., Liu, M., Li, J., Xu, X., Paterson, A. H. and Liu, L. (2019) Joint QTL mapping and transcriptome sequencing analysis reveal candidate flowering time genes in *Brassica napus* L. *BMC Genomics* 20: 1-14.

- Jovanovic, S. V., Kukavica, B., Vidovic, M., Morina, F. and Menckhoff, L. (2018) Class III peroxidases: Functions, localization and redox regulation of isoenzymes. *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*, Springer, Cham 269-300.
- Jozwiak, W. and Politycka, B. (2019) Effect of selenium on alleviating oxidative stress caused by a water deficit in cucumber roots. *Plants* 8: 217.
- Kaur, N., Kaur, J., Grewal, S. K. and Singh, I. (2019) Effect of heat stress on antioxidative defense system and its amelioration by heat acclimation and salicylic acid pre-treatments in three pigeonpea genotypes. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry* 32: 106-110.
- Kavas, M., Baloglu, M. C., Akca, O., Kose, F. S. and Gokçay, D. (2013) Effect of drought stress on oxidative damage and antioxidant enzyme activity in melon seedlings. *Turkish Journal of Biology* 37: 491-498.
- Khan, Z., Khan, M. N., Zhang, K., Luo, T., Zhu, K. and Hu, L. (2021) The application of biochar alleviated the adverse effects of drought on the growth, physiology, yield and quality of rapeseed through regulation of soil status and nutrients availability. *Industrial Crops and Products* 171: 113878.
- Kohli, S. K., Khanna, K., Bhardwaj, R., Abdallah, E. F., Ahmad, P. and Corpas, F. J. (2019) Assessment of subcellular ROS and NO metabolism in higher plants: Multifunctional signaling molecules. *Antioxidants* 8: 641.
- Kwak, J. M., Nguyen, V. and Schroeder, J. I. (2006) The role of reactive oxygen species in hormonal responses. *Plant Physiology* 141: 323-329.
- Lanza, M. G. D. B. and Dos Reis, A. R. (2021) Roles of selenium in mineral plant nutrition: ROS scavenging responses against abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 164: 27-43.
- Leul, M. and Zhou, W. J. (1999) Alleviation of waterlogging damage in winter rape by uniconazole application: Effects on enzyme activity, lipid peroxidation, and membrane integrity. *Journal of Plant Growth Regulation* 18: 9-14.
- Ma, Q. and Turner, D. W. (2006) Osmotic adjustment segregates with and is positively related to seed yield in F3 lines of crosses between *Brassica napus* and *Brassica juncea* subjected to water deficit. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 46: 1621-1627.
- Madadgar, S., AghaKouchak, A., Farahmand, A. and Davis, S. J. (2017) Probabilistic estimates of drought impacts on agricultural production. *Geophysical Research Letters* 44: 7799-7807.
- Malik, J. A., Kumar, S., Thakur, P., Sharma, S., Kaur, N., Kaur, R., Pathania, D., Bhandhari, K., Kaushal, N., Singh, K. and Srivastava, A. (2011) Promotion of growth in mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) by selenium is associated with stimulation of carbohydrate metabolism. *Biological Trace Element Research* 143: 530-539.
- Mamnabi, S., Nasrollahzadeh, S., Ghassemi-Golezani, K. and Raei, Y. (2020) Improving yield-related physiological characteristics of spring rapeseed by integrated fertilizer management under water deficit conditions. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27: 797-804.
- Mehla, N., Sindhi, V., Josula, D., Bisht, P. and Wani, S. H. (2017) An introduction to antioxidants and their roles in plant stress tolerance. *Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: Role and regulation under abiotic stress*. Springer 1-23.
- Ministry of Agriculture-jihad. <https://zeraat.maj.ir/Dorsapax/userfiles/Sub65/Amarnamehj1-98-99-sh>.
- Moaveni, P. and Kheiri, T. (2011) TiO₂ nano particles affected on maize (*Zea mays* L.). 2nd International Conference on Agricultural and Animal Science in Singapore by International Proceeding of Chemical, Biological and Environmental Engineering. International Association of Computer Science and Information Technology Press
- Mohammadi, M., Modarres-Sanavy, S. A. M., Pirdashti, H., Zand, B. and Tahmasebi-Sarvestani, Z. (2019) Arbuscular mycorrhizae alleviate water deficit stress and improve antioxidant response, more than nitrogen fixing bacteria or chemical fertilizer in the evening primrose. *Rhizosphere* 9: 76-89.
- Mohtashami, R., Movahhedi Dehnavi, M., Balouchi, H. and Faraji, H. (2020) Improving yield, oil content and water productivity of dryland canola by supplementary irrigation and selenium spraying. *Agriculture Water Management* 232: 106046.
- Moradi Aghdam, A., Sayfzadeh, S., Shirani Rad, A. H., Valadabadi, S. A. and Zakerin, H. R. (2019) The assessment of water stress and delay cropping on quantitative and qualitative traits of rapeseed genotypes. *Industrial Crops and Products* 131: 160-165.
- Piekarska, A., Kołodziejwski, D., Pilipczuk, T., Bodnar, M., Konieczka, P., Kusznierevich, B., Hanschen, F. S., Schreiner, M., Cyprys, J., Groszewska, M. and Namiesnik, J. (2014) The influence of selenium addition during germination of Brassica seeds on health-promoting potential of sprouts. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 65: 692-702.
- Proietti, P., Nasini, L., Del Buono, D., D'Amato, R., Tedeschini, E. and Businelli, D. (2013) Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress. *Scientia Horticulturae* 164: 165-171.
- Rady, M. M., Belal, H. E., Gadallah, F. M. and Semida, W. M. (2020) Selenium application in two methods promotes drought tolerance in *Solanum lycopersicum* plant by inducing the antioxidant defense system. *Scientia Horticulturae* 266: 109290.

- Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I. and John, R. (2017) Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environmental and Experimental Botany* 137: 142-157.
- Rani, P., Saini, I., Singh, N., Kaushik, P., Wijaya, L., Al-Barty, A., Darwish, H. and Noureldeen, A. (2021) Effect of potassium fertilizer on the growth, physiological parameters, and water status of *Brassica juncea* cultivars under different irrigation regimes. *Plos One* 16: e0257023.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M. (2004) Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161: 1189-1202.
- Rentel, M. C. and Knight, M. R. (2004) Oxidative stress-induced calcium signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 135: 1471-1479.
- Rezayian, M., Niknam, V. and Ebrahimzadeh, H. (2018) Differential responses of phenolic compounds of *Brassica napus* under drought stress. *Iranian Journal of Plant Physiology* 8: 2417-2425.
- Rezayian, M., Niknam, V. and Ebrahimzadeh, H. (2020) Penconazole and calcium ameliorate drought stress in canola by upregulating the antioxidative enzymes. *Functional Plant Biology* 47: 825-839.
- Rhodes, D. and Samaras, Y. (2020) Genetic control of osmoregulation in plants. *Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation* 347-361.
- Sankar, B., Jaleel, C. A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2007) Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. *Colloids and Surfaces B: Bio Interfaces* 60: 229-235.
- Serraj, R. A. C. H. I. D. and Sinclair, T. R. (2002) Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions?. *Plant, Cell and Environment* 25: 333-341.
- Shawon, R. A., Kang, B. S., Lee, S. G., Kim, S. K., Lee, H. J., Katrich, E., Gorinstein, S. and Ku, Y. G. (2020) Influence of drought stress on bioactive compounds, antioxidant enzymes and glucosinolate contents of Chinese cabbage (*Brassica rapa*). *Food Chemistry* 308: 125657.
- Shekari, L., Aroiee, H., Mirshekari, A. and Nemati, H. (2019) Protective role of selenium on cucumber (*Cucumis sativus* L.) exposed to cadmium and lead stress during reproductive stage role of selenium on heavy metals stress. *Journal of Plant Nutrition* 42: 529-542.
- Sheligl, H. Q. (1986) Die verwertung orgnischer souren durch chlorella lincht. *Planta Journal* 47: 51.
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. and Yoshimura, K. (2002) Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany* 53: 1305-1319.
- Silva, V. M., Boleta, E. H. M., Lanza, M. G. D. B., Lavres, J., Martins, J. T., Santos, E. F., dos Santos, F. L. M., Putti, F. F., Junior, E. F., White, P. J. and Broadley, M. R. (2018) Physiological, biochemical, and ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants. *Environmental and Experimental Botany* 150: 172-182.
- Slinkard, K. and Singleton, V. L. (1977) Total phenol analysis automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28: 49-55.
- Sylvester-Bradley, P. C. (1951) The subspecies in palaeontology. *Geological Magazine* 88: 88-102.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (2002) *Plant Physiology*. Publisher Sinauer Associates is an imprint of Oxford Universit.
- Teixeira, A. F., de Bastos Andrade, A., Ferrarese-Filho, O. and de Lourdes Lucio Ferrarese, M. (2006) Role of calcium on phenolic compounds and enzymes related to lignification in soybean (*Glycine max* L.) root growth. *Plant Growth Regulation* 49: 69-76.
- Tian, M., Xu, X., Liu, Y., Xie, L. and Pan, S. (2016) Effect of Se treatment on glucosinolate metabolism and health-promoting compounds in the broccoli sprouts of three cultivars. *Food Chemistry* 190: 374-380.
- Ullah, A., Sun, H., Yang, X. and Zhang, X. (2017) Drought coping strategies in cotton: Increased crop per drop. *Plant Biotechnology Journal* 15: 271-284.
- Xiang, J., Chen, Z., Wang, P., Yu, L. and Li, M. (2008) Effect of CaCl₂ treatment on the changing of drought related physiological and biochemical indexes of *Brassica napus*. *Frontiers of Agriculture in China* 2: 423-427.
- Xue, T. L., Hartikainen, H. and Piironen, V. (2001) Antioxidative and growth-promoting effects of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil* 273: 55-61.
- Yoshimura, K., Yabute, Y., Ishikawa, T. and Shigeoka, S. (2000) Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiology* 123: 223-233.
- Zamani, S., Naderi, M. R., Soleymani, A. and Nasiri, B. M. (2020) Sunflower (*Helianthus annuus* L.) biochemical properties and seed components affected by potassium fertilization under drought conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 190: 110017.
- Zhang, L., Li, Q., Yang, X. and Xia, Z. (2012) Effects of sodium selenite and germination on the sprouting of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and its content of selenium, formononetin and biochanin A in the sprouts. *Biological Trace Element Research* 146: 376-380.
- Zhou, W. and Leul, M. (1998) Uniconazole-induced alleviation of freezing injury in relation to changes in hormonal balance, enzyme activities and lipid peroxidation in winter rape. *Plant Growth Regulation* 26: 41-47.

- Zhu, J., Cai, D., Wang, J., Cao, J., Wen, Y., He, J., Zhao, L., Wang, D. and Zhang, S. (2021) Physiological and anatomical changes in two rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes under drought stress conditions. *Oil Crop Science* 6: 97-104.
- Zhu, Q., Kong, L., Xie, F., Zhang, H., Wang, H. and Ao, X. (2018) Effects of biochar on seedling root growth of soybeans. *Chilean Journal of Agricultural Research* 78: 549-558.

Antioxidant and biochemical response of canola to organic growth-regulating and calcium in moisture stress conditions

Mahdi Motakefi, Ahmad Ghanbari, Mohsen Mousavi nik, Alireza Sirousmehr*

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
(Received: 24/04/2022, Accepted: 16/08/2022)

Abstract

Drought is one of the most important environmental factors in reducing canola yield, especially in arid and semi-arid regions such as Iran. To Investigate the activity of rapeseed CV. Dhalgan antioxidant enzymes and some biochemical traits under drought stress conditions and foliar application organic growth-regulating and calcium, an experiment as split plots based on a randomized complete block design with three replications were performed in the Agricultural Research Institute of University of Zabol (Chah Nimeh). Experimental treatments included cut-off irrigation levels based on plant growth stages at three levels I_1 = control (complete irrigation throughout the growing season), I_2 = Irrigation up to stem elongation completion, and I_3 = Irrigation up to silique formation as the main factor and subsidiary factor included foliar application: F_1 = control (Pure water spray) and foliar application organic growth-regulating and calcium with concentrations of $F_2 = 0.1$, $F_3 = 0.05$, and $F_4 = 0.03$. The increase of drought stress levels from the full irrigation treatment compared to the irrigation up to silique formation and after that irrigation up to stem elongation completion caused an increase in the activity of catalase, peroxidase, polyphenol oxidase, ascorbate peroxidase, phenol, flavonoids, carbohydrates, and proteins. and the highest activity of these traits from irrigation up to stem elongation completion combined with spraying at a concentration of 0.1 was obtained. Increased activity of catalase enzyme (82), peroxidase (90), polyphenol oxidase (72), ascorbate peroxidase (76), soluble carbohydrates (75), protein (28), phenol (73), and flavonoids (53) percent in from irrigation up to stem elongation completion combined with spraying at a concentration of 0.1 compared to the control and pure water spray. In general, it seemed that among the experimental treatments by foliar application organic growth-regulating and calcium with concentrations of 0.1 could mitigate the harmful effects of drought by activating the enzymatic and non-enzymatic antioxidant system.

Keywords: Carbohydrates, Cut-off irrigation, Phenol, Protein, Selenium

Corresponding author, Email: asirousmehr@uoz.ac.ir