https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en
IRANIAN JOURNAL OF PLANT BIOLOGY
E-ISSN: 2322-2204
Vol. 13, Issue, No. 4, Winter 2021
Document Type: Research Paper
Received: 16/10/2021 Accepted: 08/06/2022

Effect of selenium and calcium foliar application on antioxidant enzymes activity and some biochemical traits of safflower under drought stress conditions

Mehdi Motakefi, Alireza Sirousmehr*, Mohsen Mousavi Nik
Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

Abstract

To investigate the effect of selenium and calcium foliar application on antioxidant enzymes activity and some biochemical traits of safflower CV. Goldasht under drought stress, an experiment as a split plot based on a randomized complete block design with three replications was performed in the Agricultural Research Institute of the University of Zabol (Chah Nimeh). Experimental treatments included cut-off irrigation levels based on plant growth stages at three levels (complete irrigation throughout the growing season, R_1=irrigation up to terminal bud forms 0.25 inches in diameter and R_2=irrigation up to completed flowering as the main factor and spraying at four levels F_1= control (pure water), F_2= Hamoon Green 1 liter in 10 liters + calcium carbonate, F_3= Hamoon Green 1 liter in 20 liters + calcium carbonate and F_4= Hamoon Green 1 liter in 30 liters + calcium carbonate was the secondary factor. The highest activity of catalase, ascorbate peroxidase, polyphenol oxidase, and peroxidase enzymes, respectively (35.61, 66.67, 14.08, and 14.33 Umg protein min^{-1}), phenol and flavonoid, respectively. (28.46 and 17.01 mg g^{-1} FW), soluble carbohydrates (0.957 µmol glucose g^{-1} FW) and protein (0.021 mg g^{-1} FW) from irrigation up to terminal bud from 0.25 inches in diameter combined with spraying 1 liter in 10 liters of water + calcium were obtained. Foliar application increased the above traits at any stress level. In general, it seems that spraying 1 liter in 10 liters of water + calcium carbonate can mitigate the harmful effects of drought stress by inducing an antioxidant system and increasing the activity of antioxidant enzymes.

Keywords: Antioxidant enzymes, Carbohydrates, Cut-off irrigation, Protein, Selenium

*Corresponding author: asirousmehr@uoz.ac.ir

2322- 2204/ © 2021 University of Isfahan
This is an open access article under the CC-BY-NC-ND 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses BY-NC-ND 4.0)

DOI. 10.22108/IJPB.2022.131019.1265

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال سیزدهم، شمارهٔ پنجاهم، زمستان ۱۴۰۰، صفحهٔ ۸۸-۶۹
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۷/۲۴
تاریخ بررسی مجدد: ۱۴۰۱/۰۲/۲۶
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۳/۱۸
مقاله پژوهشی

تأثیر محلول‌پاشی سلنیوم و کلسیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی صفات بیوشیمیایی گیاه گلرنگ در شرایط تنش خشکی

مهدی معتکفی، علیرضا سیروس مهر*، محسن موسوی نیک
گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی سلنیوم و کلسیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی صفات بیوشیمیایی گلرنگ رقم گلدشت در شرایط تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل (چاه‌نیمه) انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سطوح قطع آبیاری بر اساس مراحل فنولوژیک رشد در سه سطح شاهد (آبیاری کامل در تمام طول فصل رشد)، R_1= آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ و R_2= آبیاری تا مرحله تکمیل گلدهی به‌عنوان عامل اصلی و چهار سطح محلول‌پاشی شامل F_1= شاهد (آب خالص)، F_2= هامون گرین ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کربنات کلسیم، F_3= هامون گرین ۱ لیتر در ۲۰ لیتر آب + کربنات کلسیم و F_4= هامون گرین ۱ لیتر در ۳۰ لیتر آب + کربنات کلسیم به‌عنوان عامل فرعی بود. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز به‌ترتیب (۳۵/۶۱، ۶۶/۶۷، ۱۴/۰۸و ۱۴/۳۳ واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)، فنل و فلاونوئید به‌ترتیب (۲۸/۴۶ و ۱۷/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کربوهیدرات محلول (۰/۹۵۷ میکرومول گلوکز بر گرم وزن تر) و پروتئین (۰/۰۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ توأم با محلول‌پاشی ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب+ کلسیم حاصل شد. محلول‌پاشی در هر سطح تنش باعث افزایش صفات فوق شد. در مجموع به نظر می‌رسد محلول‌پاشی ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کربنات کلسیم می‌تواند اثرات مضر ناشی از تنش خشکی را با القای سیستم آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تعدیل کند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پروتئین، سلنیوم، قطع آبیاری، کربوهیدرات

*Corresponding author: asirousmehr@uoz.ac.ir

2322- 2204/ © 2021 University of Isfahan
This is an open access article under the CC-BY-NC-ND 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses BY-NC-ND 4.0)

DOI. 10.22108/IJPB.2022.131019.1265

مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که رشد گیاهان را در مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود ساخته است (Liz *et al*., 2013). تحقیقات مختلف تأثیر کمبود آب بر رشد گیاه (مورفولوژی)، فیزیولوژی و تغییرات ژنتیکی و بیوشیمیایی را نشان داده است (Zamani *et al*., 2020). از جمله اثرات دیگر خشکی می‌توان به افزایش تشکیل گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) اشاره کرد که ممکن است باعث پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب غشا شود. ROSها مانند رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن برای سیستم‌های زیستی مضر هستند، زیرا آنها ماکرومولکول‌هایی مانند لیپیدها و پروتئین‌ها را اکسید می‌کنند و رنگدانه‌های فتوسنتزی و همچنین فتوسنتز را کاهش می‌دهند (Kavas *et al*., 2013). برای محافظت از سلول‌ها در برابر حملات اکسیداتیو، ارگانیسم‌ها مکانیسم‌های دفاعی را تشکیل داده‌اند که از اجزای آنزیمی و غیرآنزیمی تشکیل شده است. دفاع آنتی‌اکسیدانی از طریق آنزیمی شامل آنزیم‌هایی است که قادر به حذف، خنثی‌سازی یا مهار رادیکال‌های آزاد هستند. این آنزیم‌ها عبارتند از سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX)، پلی فنل اکسیداز (PPO)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و آسکوربات پراکسیداز (APX). اجزای غیرآنزیمی شامل گلوتاتیون، آسکوربات، توکوفرول، فنل، فلاونوئیدها و غیره است (Apel and Hirt, 2004; Gapper and Dolan, 2006; Kwak *et al*., 2006).

گلرنگ با نام علمی (*Carthamus tinctorius* L.) گیاهی یکساله از تیره کاسنی (Asteraceae) که به‌عنوان یک گیاه روغنی، دارویی و صنعتی شناخته می‌شود. این گیاه تا حدودی قابلیت تحمل تنش‌هایی مانند خشکی و شوری را داراست، اما در برابر تنش‌های جدی عملکرد این گیاه محدود می‌شود (Lovelli *et al*., 2007). واکنش گلرنگ نسبت به طول روز، خنثی و روز بلند است، بنابراین می‌تواند در فصول مختلف (بهار، تابستان، پاییز) در سراسر جهان رشد کند. در سال‌های اخیر، گلرنگ به‌علت کیفیت روغن مناسب و ترکیب اسیدهای چرب، به‌عنوان یک محصول اصلی دانه‌های روغنی در مناطق خشک و نیمه‌خشک در نظر گرفته شده است (Mostafavi *et al*., 2019).

تنظیم‌کننده‌ها و محرک‌های رشد آلی به‌طور فعال در بسیاری از فرآیندهای متابولیک نقش دارند و در شرایط تنش و عدم تنش نقش اساسی در رشد و نمو گیاه ایفا می‌کنند. آنها همچنین به‌عنوان پیام‌رسان‌های شیمیایی برای تعدیل فرآیندهای مختلف یا ژن‌های دخیل در رشد و نمو عمل می‌کنند و در سازگاری گیاهان با محیط‌های تنش‌زا از جمله تنش خشکی نقش مهمی دارند (Ashraf *et al*., 2011). بنابر تحقیقات، غلظت‌های پایین سلنیوم اثرات سودمندی بر متابولیسم سلول‌های گیاهی دارد و باتوجه‌به شواهد، کاربرد خاکی یا محلول‌پاشی سلنیوم می‌تواند رشد، عملکرد و کیفیت محصولات را افزایش دهد (Xu *et al*., 2003). در هنگام پیری گیاه افزودن سلنیوم باعث جلوگیری از کاهش غلظت توکوفرول و همچنین، به‌علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را تقویت می‌کند (Xue *et al*., 2001). در بررسی اثر محلول‌پاشی سلنیوم بر صفات کیفی و فعالیت‌های آنزیمی گلرنگ، سلنیوم باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد و در بین

تیمارهای محلول‌پاشی سلنیوم بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد (Khademi *et al*., 2015).

افزایش طول سلول که عامل اصلی تعیین‌کننده رشد گیاه است، با تعادل بین فشار اسمزی و قابلیت ارتجاع‌پذیری سلول کنترل می‌شود (Cosgrove, 2016). بنابراین، شکل و اندازه نهایی گیاه از دریافت و ادغام پیام‌های شیمیایی وتغییرات فیزیکی حاصل می‌شود (Stoeckle *et al*., 2018). کلسیم یکی از پویاترین مولکول‌های پیام‌رسان شناخته شده است (Trewavas and Knight, 1994). نقش اساسی کلسیم در بسیاری از مکانیسم‌های دفاعی در شرایط خشکی و پیام‌رسانی آن برای تحمل یا مقاومت به خشکی مورد نیاز است (Cousson *et al*., 2009). علاوه‌براین، وظیفه دیگر کلسیم ثبات و پایداری دیواره سلولی است (Marschner, 1995). در آزمایشی، محققان به‌منظور کاربرد کلسیم بر کیفیت روغن و تحمل به خشکی گیاه کلزا بیان داشتند، کاربرد کلسیم علاوه بر بهبود شاخص‌های رشدی گیاه در شرایط تنش خشکی باعث تعدیل اثرات مضر تنش با القای سیستم آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شد. همچنین کاربرد کلسیم در شرایط تنش باعث افزایش پروتئین و قندهای محلول در گیاه شد (Rezayian *et al*., 2018). باتوجه‌به مطالب فوق و نقش مفید عناصر سلنیوم و کلسیم در محافظت آنتی‌اکسیدانی گیاه در شرایط تنش خشکی، آزمایش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی سلنیوم و کلسیم بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی صفات بیوشیمیایی گیاه گلرنگ در شرایط تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در مزرعه تحقیقاتی چاه‌نیمه واقع در شهرستان زهک در سال زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۷، به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. این منطقه بر اساس طبقه‌بندی کوپن در اقلیم خشک بسیار گرم، با تابستان‌های گرم و خشک و بر اساس طبقه‌بندی آمبرژه نیز جزو مناطق گرم و خشک قرار می‌گیرد. میانگین دراز مدت (۳۰ ساله) بارندگی در منطقه ۶۳ میلی‌متر، میزان تبخیر سالیانه به‌طور متوسط ۴۵۰۰-۵۰۰۰ میلی‌متر، میانگین دراز مدت دمای منطقه ۲۳ درجه سانتی‌گراد و کمینه حرارت مطلق ۷- درجه است. پیش از کاشت نمونه خاک‌های مزرعه برای انجام آزمایش تجزیه خاک به آزمایشگاه منتقل شد و نتایج آن در جدول (۱) ارائه شده است.

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

Table 1. Physical and chemical properties of test soil at a depth of 0-30 cm

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

تیمارهای آزمایش شامل سطوح قطع آبیاری بر اساس مراحل فنولوژیک گیاه (Tanaka *et al.*, 2002) در سه سطح شاهد (آبیاری کامل تا پایان فصل رشد)، R_1= آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ و R_2= آبیاری تا مرحله تکمیل گل‌دهی و عامل فرعی شامل چهار سطح تیمار محلول‌پاشی شامل F_1= شاهد (آب خالص)، F_2= تنظیم‌کننده رشد هامون گرین ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کربنات کلسیم، F_3= تنظیم‌کننده رشد هامون گرین ۱ لیتر در ۲۰ لیتر آب + کربنات کلسیم و F_4= تنظیم‌کننده رشد هامون گرین ۱ لیتر در ۳۰ لیتر آب + کربنات کلسیم بود. بذر استفاده‌شده رقم گلدشت بود که از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی سیستان تهیه شد. تنظیم‌کننده رشد آلی (هامون گرین®) شامل ترکیبات نانوسلنیوم، آنتوسیانین، الکل استیک و کلسیم آلی است. تنظیم‌کننده رشد هامون گرین (شرکت سروش سپهر هامون، مشهد) یک محلول رشد آلی است که به‌صورت محلول‌پاشی در دو مرحله رشد رویشی و رشد زایشی کاربرد دارد. ازآنجایی‌که عنصر اصلی این محلول سلنیوم است، دارای اثر محافظتی در برابر تنش خشکی است. کلسیم استفاده‌شده در این آزمایش از کلسیم موجود در پودر پوسته تخم‌مرغ که در اسید سولفوریک ۹۶٪ هضم شده و سپس به‌وسیله آب مقطر به اسیدیته خنثی رسانیده شد، به دست آمده است. نمونه حاوی پودر پوسته تخم‌مرغ به‌منظور تجزیه به آزمایشگاه منتقل شد که در نتیجه هضم با اسید سولفوریک شامل (۷۰/۷۵۶ درصد وزنی کلسیم، ۰/۱۴۱ درصد وزنی پتاسیم، ۰/۵۱۳ درصد وزنی منیزیم، ۰/۰۰۲ درصد وزنی روی و ۰/۲۱۷ درصد وزنی فسفر) بوده است. سپس بر طبق نتایج به دست آمده از تجزیه و تعیین مقادیر مول بر لیتر کلسیم خالص با استفاده از جرم اتمی استاندارد کلسیم برای هر سطح تیمار محلول‌پاشی و تبدیل واحد مولاریته به گرم مقدار کلسیم در تیمار ۱ لیتر در ۱۰ لیتر (برای هر کرت در حدود ۷۸ گرم بر لیتر کلسیم)، تیمار ۱ لیتر در ۲۰ لیتر (برای هر کرت در حدود ۳۹ گرم بر لیتر کلسیم) و تیمار۱ لیتر در ۳۰ لیتر (برای هر کرت در حدود ۲۵/۸ گرم بر لیتر کلسیم) مشخص گردید.

پیش از محلول‌پاشی، ابتدا محلول به دست آمده از پودر پوسته تخم‌مرغ به‌نسبت برابر با هر سه سطح محلول هامون گرین مخلوط و سپس محلول‌پاشی انجام شد. به‌منظورجلوگیری 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 (Surfactant) استفاده شده برای محلول‌پاشی با نام تجاری (Hydrosil) بوده که ترکیبات آن شامل حلال (۱۵ درصد)، (Trisiloxan-85%)، مقدار مصرف آن ۰/۳ تا ۰/۵ میلی‌لیتر در لیتر است. محلول‌پاشی بر اساس مراحل فنولوژیک رشد (Tanaka *et al.*, 2002) در سه مرحله ۱- تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ (R1)، ۲- تکمیل شاخه‌دهی (R2)، ۳- تکمیل گل‌دهی (R3) اعمال شدند.

آماده‌سازی زمین شامل شخم و دیسک و تسطیح بود. تعداد ۳۶ کرت به طول و عرض ۲ متر فواصل بین ردیف ۴۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر، فاصله بین کرت‌های اصلی

۱/۵ متر و فاصله بین کرت‌های فرعی ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. باتوجه‌به نتایج تجزیه خاک (جدول ۱) و توصیه کودی، کودهای شیمیایی مورد نیاز به خاک اضافه شد. کاشت در آبان‌ماه ۱۳۹۶ به‌صورت دستی انجام شد و نخستین 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. در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، تعداد ۶ بوته از هر کرت به‌طور تصادفی انتخاب و نمونه‌برداری از برگ گیاهان انجام و نمونه‌ها در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

عصاره آنزیمی: برای عصاره‌گیری نمونه‌ها به‌منظور 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 پلی وینیل پیرولیدین و ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک شش نرمال در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به آن اضافه شد و در داخل هاون چینی کاملاً هموژنیزه گردید. مخلوط حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ (شرکت پارس طب، ایران) با دور ۱۳۰۰۰ rpm قرار گرفت و پس از آن، فاز بالایی برای قرائت صفات، استفاده شد. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین از روش برادفورد (Bradford, 1976) استفاده شد.

سنجش آنزیم کاتالاز: برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز، ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم (اسیدیته ۷)، ۰/۱۵ میکرولیتر EDTA، ۵۴۹/۸۵ میکرولیتر آب مقطر را در تیوب ریخته و ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد و بلافاصله در دستگاه اسپکتوفتومتری با طول موج ۲۴۰ نانومتر میزان جذب آن ثبت گردید و پس از سپری شدن زمان یک دقیقه، دوباره میزان جذب یادداشت شد. تغییرات جذب پس از تقسیم بر میزان پروتئین بر اساس واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد (Beers and Sizer, 1952).

سنجش آنزیم پراکسیداز: دو میلی‌لیتر محلول واکنش (۱/۴ میلی‌لیتر بافر سیترات - فسفات ۲۵ میلی‌مول (اسیدیته ۵/۴)، ۲۰ میکرولیتر گایاکول و ۴۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی) در یک لوله آزمایش مخلوط شدند و سپس ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۳۰ درصد به مخلوط اضافه شد و تغییرات جذب نور با فواصل ۱۰ ثانیه و به مدت یک دقیقه در طول موج ۴۷۵ نانومتر قرائت گردید (Moaveni and Kheiri, 2011).

سنجش آنزیم پلی فنل اکسیداز: برای اندازه‌گیری آنزیم پلی فنل اکسیداز ۲/۵ سی‌سی بافر فسفات پتاسیم (مخلوط KH_2PO_4 و K_2HPO_4)، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالول ۲۰ میلی‌مولار اضافه گردید. تغییرات جذب نور در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Janovitz-Klapp *et al*., 1990).

سنجش آنزیم آسکوربات پراکسیداز: برای اندازه‌گیری آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۳۷/۵ میکرولیتر آسکوربات، ۱۱۱۸/۸۵ میکرولیتر آب در تیوب ریخته شد و ۱/۵ میکرولیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد و بلافاصله در طول موج ۲۹۰ نانومتر در

دستگاه اسپکتوفتومتری میزان جذب آن یادداشت و پس از سپری شدن مدت زمان یک دقیقه، دوباره میزان جذب یادداشت گردید (Nakano and Asada, 1981).

برای سنجش کربوهیدرات‌های محلول کل از روش اشلیگل (Sheligl, 1986) استفاده شد. در هر کدام از نمونه‌ها، هیدرات کربن با استفاده از آب مقطر و بر اساس روش اسید سولفوریک استخراج شد. در این روش ۰/۱ گرم از بافت تر برگ به همراه ۱۰ سی‌سی آب مقطر، یک ساعت در بن‌ماری در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد. به یک سی‌سی از این نمونه، یک سی‌سی فنل ۰/۵ درصد و ۴ سی‌سی اسید سولفوریک ۹۸ درصد اضافه شد. میزان نور جذبی در ۴۸۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. مقدار فنل با معرف فولین- سیوکالتیو تعیین شد. برای سنجش مقدار فنل، حدود ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه را در ۱۰ میلی‌لیتر متانول به‌مدت ۲ دقیقه ساییده و محلول به دست آمده با کاغذ صافی، صاف شد. به ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره رقیق شده (۱:۳) با محلول متانول، ۱ میلی‌لیتر فولین و سپس ۰/۸ میلی‌لیتر کربنات سدیم به آن اضافه شده و نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه باقی ماند و جذب آن در ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل Gold 54، شرکت Angstrom Advanced، آمریکا) قرائت شد (McDonald *et al*., 2001).

محتوای تام فلاونوئید با استفاده از معرف آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. به ۰/۵میلی‌لیتر از هر عصاره (۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱میلی‌لیتر از محلول آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول، ۰/۱ میلی‌لیتر از استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط ۳۰ دقیقه پس از نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل بلانک خوانده شد. از کوئرستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد (Chang *et al*., 2002).

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS نسخه (۹/۱) و برای انجام مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم کاتالاز

جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل آنها در سطح احتمال پنج درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۳۵/۶۱ واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ توأم با محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد آلی به مقدار ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کلسیم و کمترین میزان آن (۱۳/۵۹ واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار آبیاری کامل توأم با محلول‌پاشی آب خالص مشاهده شد که ۶۱/۸۳ درصد طی تنش خشکی افزایش یافته است (شکل ۱).

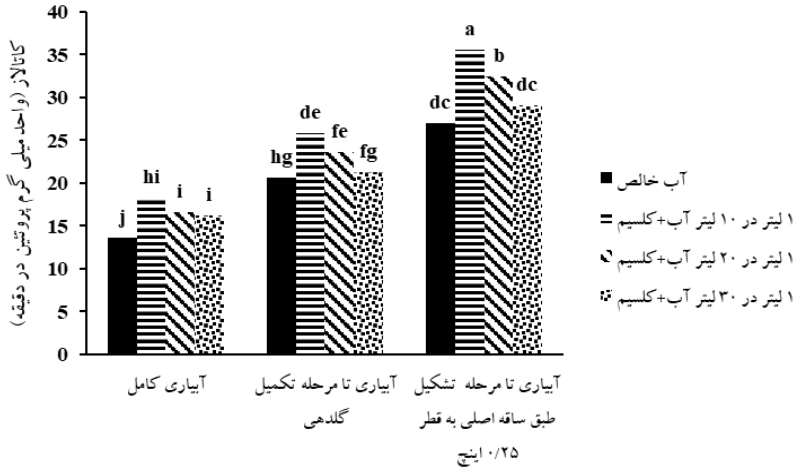
جدول ۲. تجزیه واریانس اثرات تنش خشکی و محلول‌پاشی بر صفات: کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز، فنل، فلاونوئید، کربوهیدرات و پروتئین.

Table 2. ANOVA of the effects of drought stress and foliar application on traits: catalase, ascorbate peroxidase, polyphenol oxidase, peroxidase, phenol, flavonoid, carbohydrate, and protein.

		میانگین مربعات							
منابع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	پراکسیداز	فنل	فلاونوئید	کربوهیدرات	پروتئین
تکرار	۲	۲/۰۳	۲/۶۳	۰/۰۶۷	۰/۰۱۷	۱/۳۲	۰/۱۴	۰/۰۰۲۸	۰/۰۰۰۰۰۰۴۶
آبیاری	۲	۶۶۲/۷۸**	۳۰۹۶/۶۰**	۱۶۹/۳۷۶**	۲۲۶/۲۴**	۹۳۰/۹۹**	۲۴۳/۷۶**	۰/۷۰۸**	۰/۰۰۰۱۴۳**
خطای الف	۴	۱/۶۷	۷/۷۹	۰/۴۰۶	۰/۴۹۱	۱/۵۷	۱/۱۱	۰/۰۰۴۲	۰/۰۰۰۰۰۰۷۸
محلول‌پاشی	۳	۵۷/۰۷**	۱۳۲/۴۳**	۱۶/۸۱۷**	۱۹/۸۵۷**	۹۰/۷۸**	۲۲/۲۲**	۰/۰۸۶۷**	۰/۰۰۰۰۱۹۰۵**
اثر متقابل	۶	۶/۹۳*	۱۸/۵۷*	۲/۶۱۳**	۱/۸۳۴**	۸/۳۶**	۲/۳۴*	۰/۰۰۹۹*	۰/۰۰۰۰۰۲۶۳**
خطای ب	۱۸	۲/۳۲	۵/۶۱	۰/۳۵۰	۰/۴۱۷	۱/۲۷	۰/۸۵	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۰۰۰۰۶۲
ضریب تغییرات (٪)	–	۶/۵۲	۵/۲۳	۷/۷۶	۸/۱۱	۶/۶۳	۹/۴۵	۸/۷۹	۵/۰۴

**، *و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیر معنی‌دار

**, * and ns: significant at 5% and 1% probability levels and non-significant, respectively.



شکل ۱-اثر برهم‌کنش تنش خشکی و محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم کاتالاز. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

Fig 1- Interaction effect of drought stress and foliar application on catalase activity. Same letters indicate no significant differences with Duncan test.

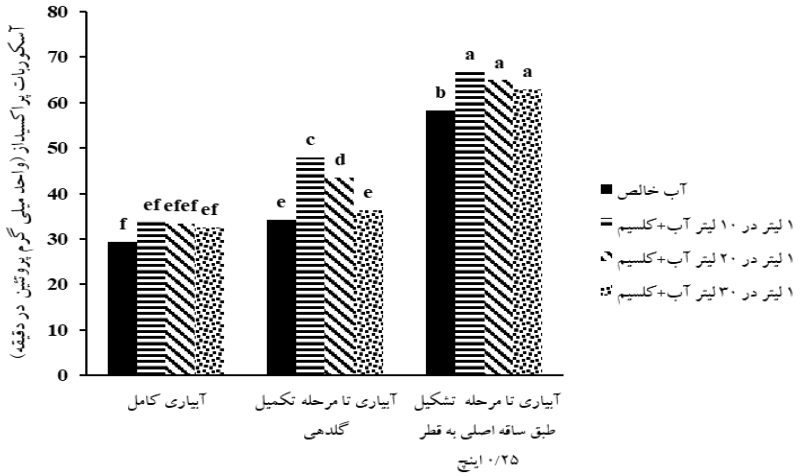
یکی از پاسخ‌های سازگاریافته گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو سنتز آنزیم‌هایی مانند کاتالاز است (Mittler, 2002). تحت تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافته و در از بین بردن پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول‌های تحت تنش نقش اساسی داشته که باعث محدود شدن آسیب سلولی و همچنین، افزایش ظرفیت اکسیداتیو گیاهان برای مقابله با تنش خشکی می‌شود (Nojavan and Khorshidi, 2006). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش

خشکی در آزمایش‌های مختلفی روی گلرنگ (Mahdavi *et al*., 2013; Fathi Amirkhiz *et al*., 2011) و کلزا (Dawood and Sadak, 2014) گزارش شده است. تحقیقات اخیر نشان داده است که سلنیوم نه‌تنها قادر به تحریک رشد و نمو گیاهان است، بلکه مقاومت و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهانی را که تحت تنش‌های مختلف قرار دارند، نیز افزایش می‌دهد (Djanaguiraman *et al*., 2005). اثر مفید سلنیوم در گیاهان تحت شرایط تنش در بیشتر موارد به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت داده شده است. کارهای تحقیقاتی انجام شده توسط Djanaguiraman و همکاران (۲۰۰۵) اثر سلنیوم به‌صورت سلنات بر پیری کاهو و سویا را نشان داد و تأیید کرد که کاهش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان در گیاهان تحت تیمار با این عنصر ملایم‌تر است که با افزایش رشد در گیاهان تیمار شده با سلنیوم خسارت اکسیداتیو را جبران می‌کند. نتایج آزمایش Khademi و همکاران (۲۰۱۵) بر گیاه گلرنگ که بیان کردند محلول‌پاشی سلنیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شد، هم‌راستا با نتایج این آزمایش است. اثر آنتی‌اکسیدانی سلنیوم در سبزیجات غنی‌شده با سلنیوم به‌علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، لیپوکسی‌ژناز (Rios *et al*., 2008)، سوپراکسید دیسموتاز (Rios *et al*., 2009)، کاتالاز (Ramos *et al*., 2010)، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز (Rios *et al*., 2009) مشخص شده است. Xu و همکاران (۲۰۱۳) در آزمایش کاربرد کلرید کلسیم در گیاه چمن ژاپنی گزارش کردند، در اثر پیش تیمار ۱۰ میلی‌مول کلرید کلسیم در گیاه فعالیت آنزیم کاتالاز هم در شرایط تنش خشکی و هم در شرایط نرمال افزایش معنی‌دار یافت.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج نشان داد اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت این آنزیم (۶۶/۶۷ واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ توأم با محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد آلی به مقدار ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کلسیم و کمترین میزان آن (۲۹/۳۳ واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار آبیاری کامل توأم با محلول‌پاشی آب خالص به دست آمد که نشان داد، فعالیت این آنزیم در تنش خشکی ۵۸ درصد افزایش یافته است (شکل ۲). از دیدگاه محققان آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان در گیاه، احیاکننده بسیاری از رادیکال‌های آزاد به‌ویژه پراکسید هیدروژن عمل می‌کند، به‌همین‌علت می‌تواند خسارت‌های حاصل از تنش اکسیداتیو را به حداقل رساند (Kafi *et al*., 2012). در میان پراکسیدازها، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز به‌ترتیب از آسکوربات و گلوتاتیون به‌عنوان دهنده الکترون استفاده می‌کنند و به‌علت نقش آنها در سم‌زدایی پراکسید هیدروژن در گیاهان شناخته شده است. این مسیر در کلروپلاست و همچنین، در سیتوزول عمل می‌کند (Hediye Sekmen *et al*., 2007). بسته به گونه گیاهی ایزوآنزیم‌های مختلف آسکوربات پراکسیداز، یا در استروما (sAPX) قرار دارند و یا به غشای تیلاکوئید (tAPX) متصل می‌شوند (Shigeoka *et al*., 2002). کلروپلاست حاوی مخزن اصلی آسکوربات سلولی در محدوده

میکرومولار است و آسکوربات پراکسیداز، پراکسید هیدروژن تولید شده را توسط چرخه آب-آب (water-water cycle) تنظیم می‌کند. این مکانیسم چرخه به‌صورت کارآمد طول عمر رادیکال آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن تولیدی توسط نور را کوتاه می‌کند تا از تولید رادیکال‌های هیدروکسیل و ترکیب آنها با مولکول‌های هدف جلوگیری و در نهایت به مهار نوری منجر می‌شود (Kohli *et al*., 2019; Asada, 2006). در آزمایشی که در گیاه گلرنگ انجام شد، محققان گزارش کردند تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده است که هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر است (Khosrowshahi *et al*., 2020). محققان افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در شرایط قطع آبیاری در مرحله تکمیل شاخه‌دهی در گیاه گلرنگ گزارش کردند (Hamidi moghaddam *et al*., 2021). در آزمایش حاضر محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد آلی سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گردید، در این راستا محققان گزارش کردند کاربرد سلنیوم در گیاه منداب باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌ویژه آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد (Khattab *et al*., 2004). در آزمایشی محققان بیان کردند کاربرد کلسیم با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی به‌ویژه آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز و همچنین، کاهش تجمع گونه‌های فعال اکسیژنی، سطح مقاومت به شوری را تا حدی در گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط تنش افزایش داده است (Hosseini Tafreshi *et al*., 2019).

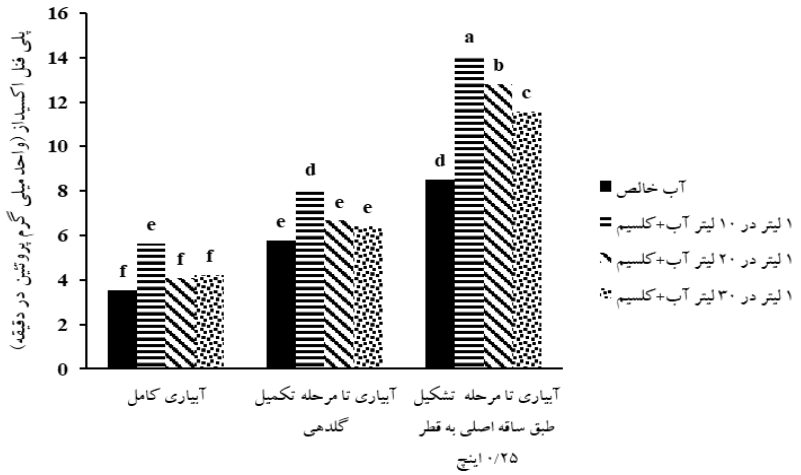


شکل ۲- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

Fig 2- Interaction effect of drought stress and foliar application on ascorbate peroxidase activity. Same letters indicate no significant differences with Duncan test.

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

تنش خشکی، محلول‌پاشی و اثر متقابل آنها بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشینه میزان فعالیت این آنزیم (۱۴/۰۸ واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به‌قطر ۰/۲۵ اینچ توأم با محلول‌پاشی تنظیم کننده رشد آلی به مقدار ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کلسیم و حداقل میزان فعالیت آن (۳/۵۲ واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار آبیاری کامل توأم با محلول‌پاشی آب خالص مشاهده شد، فعالیت این آنزیم ۷۵ درصد در طی تنش خشکی افزایش نشان داد (شکل ۳). فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط تنش خشکی از تولید بیش از اندازه اجزای خطی انتقال الکترون در واکنش مهلر جلوگیری می‌کند (Thipyapong *et al.*, 2004) و به همین علت موجب کاهش اکسیژن مولکولی و تنظیم سطح اکسیژن پلاستیدی می‌شود (Trebst and Depka, 1995). Dawood و Sadak (۲۰۱۴) در آزمایشی تحت تنش خشکی بر گیاه کلزا، گزارش کردند تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و به‌ویژه آنزیم پلی فنل اکسیداز گردید و از این طریق سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه باعث کاهش اثرات سوء تنش خشکی در این گیاه شد. Zafari و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گلرنگ تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت و فعالیت این آنزیم در تمام واریته‌های مورد آزمایش افزایش یافت که هم‌راستا با نتایج آزمایش حاضر است. در آزمایشی بر گیاه گندم، کمبود آب میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش داد، از طرفی محلول‌پاشی سلنیوم در شرایط تنش میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدان را افزایش داد و در غلظت ۲۰ گرم در هکتار به حداکثر رسید (Dadnia, 2018).

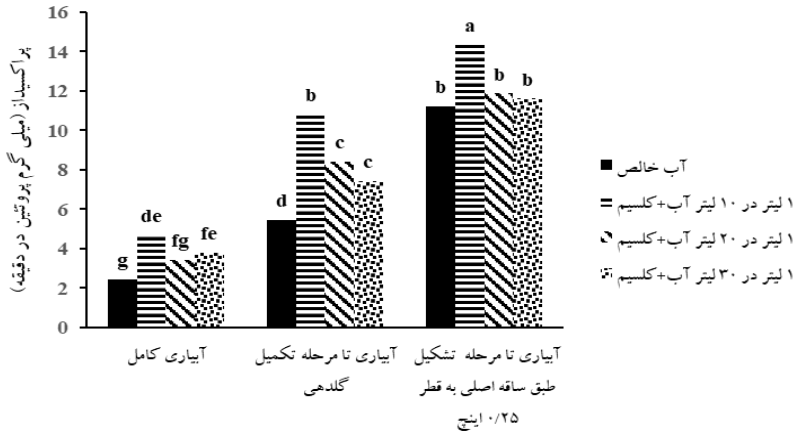


شکل ۳- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

Fig 3- Interaction effect of drought stress and foliar application on polyphenol oxidase activity. Same letters indicate no significant differences with Duncan test.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر تنش خشکی، محلول‌پاشی و اثر متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت این آنزیم (۱۴/۳۳ واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ توأم با محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد آلی به‌مقدار ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کلسیم و کمترین میزان فعالیت این آنزیم (۲/۴۲ واحد میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار آبیاری کامل توأم با محلول‌پاشی آب خالص به دست آمد که نشان داد فعالیت این آنزیم به مقدار ۸۳ درصد در طی تنش خشکی افزایش یافته است (شکل ۴). آنزیم پراکسیداز عمدتاً رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل (OH) را به آب اکسید می‌کند (Jovanović *et al*., 2018). در آزمایش حاضر سطوح مختلف تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد، نتایج مشابهی توسط Mosavi و همکاران (۲۰۲۰)، Thippeswamy و همکاران (۲۰۲۱) بر گیاه گلرنگ در شرایط تنش خشکی گزارش شده است که تأییدکننده نتایج پژوهش حاضر است. Bybordi (۲۰۱۶) در آزمایشی بر گیاه کلزا بیان کرد، محلول‌پاشی سلنیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز شد که هم‌سو با نتایج آزمایش حاضر است. پژوهشگران در آزمایشی بر گیاه چمن ژاپنی بیان کردند کاربرد تیمار کلرید کلسیم در شرایط تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز شد. نتایج آنها نشان داد که توسط کاربرد غلظت مناسب کلسیم می‌توان آسیب‌های اکسیداسیون ناشی از تنش خشکی را با سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن کاهش داد (Chengbin *et al*., 2013).



شکل ۴- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

Fig 4- Interaction effect of drought stress and foliar application on peroxidase activity. Same letters indicate no significant differences with Duncan test.

محتوای فنل و فلاونوئید

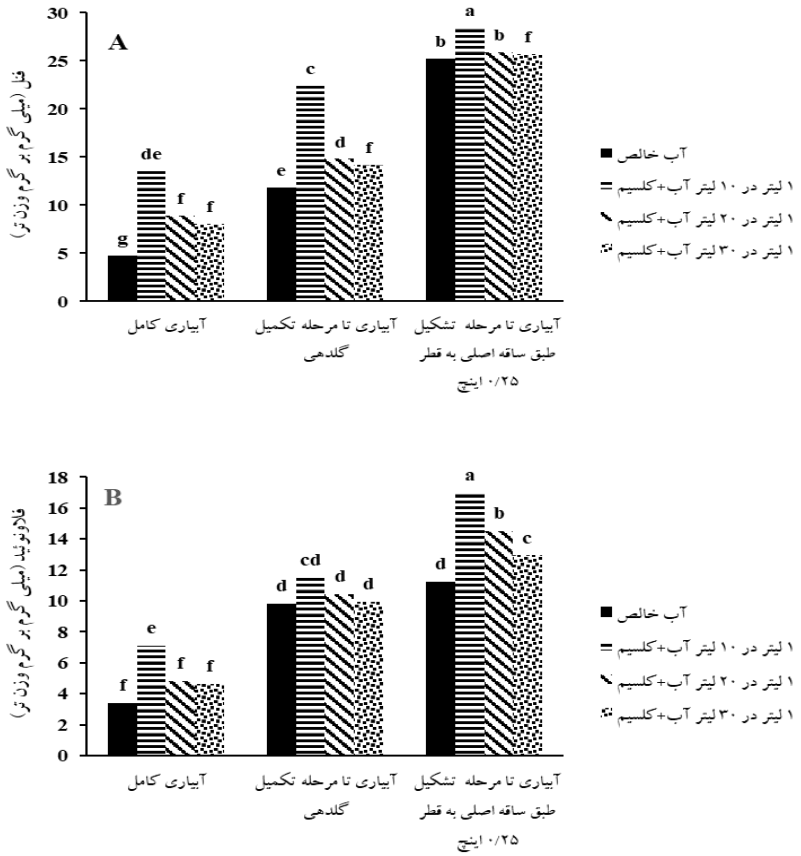
محتوای فنل تحت تأثیر تنش خشکی، محلول‌پاشی و اثر متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد و محتوای فلاونوئید در اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین میزان فنل (۲۸/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و فلاونوئید (۱۷/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ توأم با محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد آلی به مقدار ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کلسیم و کمترین میزان فنل (۴/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و فلاونوئید (۳/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار آبیاری کامل توأم با محلول‌پاشی آب خالص به دست آمد، محتوای فنل و فلاونوئید به‌ترتیب ۸۳ و ۷۹ درصد در طی تنش خشکی افزایش یافته است (شکل ۵). محتوای فنلی کل در دانه‌های روغنی برای پایداری اکسیداتیو اسیدهای چرب اشباع‌نشده چندگانه روغن‌ها و همچنین، نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار مهم است (Ali *et al*., 2013). محققان بیان کردند ترکیبات فنلی با دادن الکترون به آنزیم‌های نوع پراکسیداز و سم‌زدایی آب‌اکسیژنه تولیدشده در سلول‌ها به‌عنوان نوعی آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند (Sakihama *et al*., 2002) ، این ترکیبات در گیاهان دارای ساختار شیمیایی خاصی هستند که سلول‌ها را در برابر تنش‌های اکسیداتیو از طریق کلات کردن فلزات و اتصال با رادیکال‌های آزاد به همراه پراکسیداسیون کمتر چربی‌ها محافظت می‌کنند (Michalak, 2006). فلاونوئیدها از انواع آنتی‌اکسیدان‌هایی هستند که قابلیت انتقال یک پروتون موجود درحلقه خود را دارند و از این رو باعث پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Cao *et al*., 1997)، همچنین از پراکسیداسیون لیپید جلوگیری کرده و باعث افزایش پایداری غشا و سیالیت غشا می‌شوند و از آزاد شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن جلوگیری می‌کنند و باعث مهار واکنش‌های پراکسیداسیون می‌شوند (Kadioglu *et al*., 2011). در آزمایشی که Farooq و همکاران (۲۰۲۰)، روی ۴ واریته گلرنگ تحت تنش خشکی انجام دادند، بیان کردند فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی کل تمامی واریته‌های مورد آزمایش تحت تنش خشکی افزایش یافت، این یافته‌ها تأییدکننده نتایج حاضر در این آزمایش است. در آزمایشات مختلفی کاربرد سلنیوم باعث افزایش محتوای ترکیبات فنلی کل در برگ‌های گیاه ریحان (Skrypnik *et al*., 2019)، ذرت (Gul *et al*., 2017) و بادرنجبویه (Habibi *et al*., 2016) شد. بااین‌حال، لازم به ذکر است که مکانیسم تأثیر سلنیوم بر متابولیسم ثانویه گیاهان هنوز درک نشده است. Zhu و همکاران (۲۰۱۸) همچنین نشان دادند که افزایش سطح فلاونوئیدها در گوجه‌فرنگی توسط تیمار سلنیوم با افزایش بیان تعدادی از ژن‌های موجود در بیوسنتز این متابولیت‌های ثانویه همراه است. نقش کلسیم نیز با تأثیر بر آنزیم‌های مؤثر در سنتز و اکسیداسیون فنل‌ها مانند فنیل آلانین آمونیالیاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز مشخص شده است. از این طریق عنصر کلسیم در چرخه متابولیسم اسیدهای فنولیک نقش مؤثری دارد (Castaneda *et al*., 1996).

کربوهیدرات‌های محلول کل

تنش خشکی، محلول‌پاشی و اثر متقابل آنها بر محتوای کربوهیدرات‌های محلول معنی‌دار بود

(جدول ۲). بیشترین مقدار کربوهیدرات (۰/۹۵ میکرومول گلوکز بر گرم وزن تر) در تیمار آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ توأم با محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد آلی به مقدار ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کلسیم و کمترین میزان آن (۰/۱۹ میکرومول گلوکز بر گرم وزن تر) در تیمار آبیاری کامل توأم با محلول‌پاشی آب خالص به دست آمد، افزایش کربوهیدرات به میزان ۸۰ درصد در طی تنش خشکی مشاهده شد (شکل ۶).

در هنگام تنش خشکی گیاهانی که از مکانیسم تحمل به تنش استفاده می‌کنند، با افزایش مواد تنظیم‌کننده اسمزی (مانند پرولین و کربوهیدرات) در سلول با تنش کم‌آبی مقابله می‌کنند، زیرا افزایش قندهای محلول می‌تواند به‌عنوان ترکیبات اسمزی و همچنین، به‌عنوان حفاظت‌کننده‌های اسمزی عمل کنند که در نهایت سبب ثبات پروتئین‌ها و غشاء می‌شوند (Kafi *et al*., 2010).

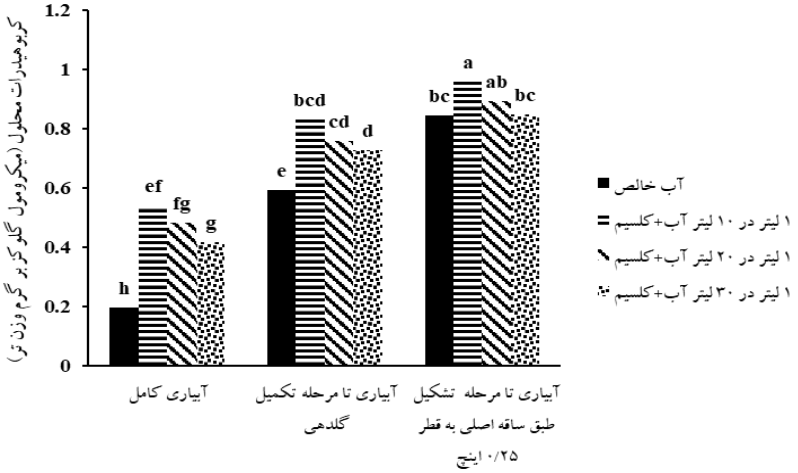


شکل ۵- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و محلول‌پاشی بر محتوای فلاونوئید (A) و فنل (B). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

Fig 5- Interaction effect of drought stress and foliar application on flavonoid (A) and Phenol (B) content. Same letters indicate no significant differences with Duncan test.

در آزمایش حاضر تجمع کربوهیدرات به‌عنوان یکی از راهکارهای تحمل گیاه در شرایط تنش خشکی نشان داده شد، این نتایج با یافته‌های محققان پیشین که افزایش محتوای کربوهیدرات را در طی

تنش خشکی بر گیاه گلرنگ (Chavoushi *et al*., 2019; Rahmani *et al*., 2019) گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. Simojoki (۲۰۰۳) با کاربرد سلنیوم در کاهو نتیجه گرفت که افزایش رشد گیاه احتمالاً به‌علت تأثیرات مثبت سلنیوم بر اندام‌های هوایی از جمله افزایش تولید و تجمع کربوهیدرات است. در آزمایش دیگری تحت تنش شوری Kong و همکاران (۲۰۰۵)، گزارش کردند که در غلظت‌های کم (۵-۱ میکرومولار)، سلنیوم تمایل به تحریک رشد، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و همچنین، تجمع قندهای محلول در آب در برگ‌های گیاه ترشک دارد. Karimi (۲۰۲۰) در آزمایشی به‌منظور تأثیر تغذیه ابتدای فصل کلسیم و روی بر عملکرد، محتوای قند و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی انگور بیان داشتند، محتوای قندهای محلول کل در تاک‌های تیمار شده توسط سولفات کلسیم و سولفات روی روند افزایشی نشان داد، به‌طوری‌که در تاک‌های تیمار شده با سولفات کلسیم یک درصد به مقدار بیشینه رسید.

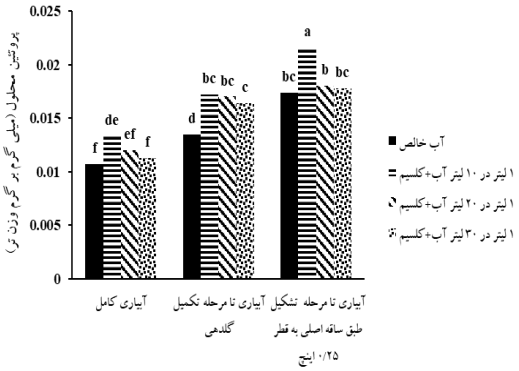


شکل ۶- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و محلول‌پاشی بر کربوهیدرات‌های محلول کل. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

Fig 6- Interaction effect of drought stress and foliar application on total soluble carbohydrates. Same letters indicate no significant differences with Duncan test

پروتئین محلول

محتوای پروتئین تحت تأثیر تنش خشکی، محلول‌پاشی و اثر متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین مقدار پروتئین (۰/۰۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ توأم با محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد آلی به مقدار ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کلسیم و کمترین میزان آن (۰/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار آبیاری کامل توأم با محلول‌پاشی آب خالص به دست آمد، بر اساس نتایج مقدار پروتئین ۵۲ درصد در اثر متقابل تنش و محلول‌پاشی افزایش یافت (شکل ۷).



شکل ۷- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و محلول‌پاشی بر پروتئین محلول. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

Fig 7- Interaction effect of drought stress and foliar application on soluble protein. Same letters indicate no significant differences with Duncan test.

املاح آلی مانند پروتئین‌های محلول می‌توانند گیاهان را در شرایط تنش از طریق تنظیم اسمزی، کاهش گونه‌های فعال اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS)، تثبیت ساختار غشا محافظت کنند و به ویژگی‌های ساختاری پروتئین‌ها و آنزیم‌ها کمک کند (Farooq *et al*., 2009). نتایج آزمایشی که Wei و همکاران (۲۰۲۰) به منظور مطالعه بر متابولیسم، مسیرها و ژن‌های مرتبط با تحمل به تنش خشکی در گلرنگ انجام دادند، بیانگر این مطلب بود که مقدار پروتئین محلول هر دو واریته گلرنگ مورد آزمایش در شرایط تنش خشکی افزایش یافت که تأییدکننده نتایج حاضر است، همچنین، Amini و همکاران (۲۰۱۴) در آزمایشی بر واریته‌های گلرنگ تحت تنش خشکی گزارش کردند، محتوای پروتئین واریته‌های مورد آزمایش تحت تنش خشکی افزایش یافت. تاکنون سازوکار تأثیر سلنیوم بر سنتز پروتئین‌ها به‌طور کامل مشخص نشده است، اما محققان پیشنهاد کردند که ممکن است یکی از علل آن افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز باشد. در آزمایشی که Hajiboland و همکاران (۲۰۱۵) به‌منظور بررسی تأثیر تیمار سلنیم بر تحمل تنش خشکی در گیاه کلزا انجام دادند، مقدار پروتئین برگ تحت تأثیر تیمار سلنیوم به صورت معنی‌داری افزایش یافت. آنها اظهار داشتند که افزایش مقدار پروتئین‌های گیاهان در شرایط تنش خشکیمی‌تواند از تحریک رشد مشاهده شده توسط سلنیوم حمایت نموده و نشان‌دهنده تحریک متابولیسم ازت در کنار تحریک متابولیسم کربن در گیاهان تحت تیمار سلنیوم باشد. Khademi و همکاران (۲۰۱۵) در آزمایشی بر گیاه گلرنگ بیان کردند، محلول‌پاشی سلنیوم باعث افزایش درصد پروتئین در این گیاه شد و بیشترین میزان پروتئین از تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم حاصل شد که با نتایج حاصل از این آزمایش هم‌خوانی دارد. نتایج محققان دیگر در گیاه باقلا نشان‌دهنده افزایش میزان پروتئین برگ با کاربرد تیمار سلنیوم بود و بیشترین میزان پروتئین از تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم حاصل شد (Moussa and Ahmed, 2010). در مطالعه Madanipour و همکاران (۲۰۱۷) بر دو رقم سویا در شرایط کم آبیاری گزارش کردند، تنش خشکی بر میزان پروتئین دانه اثر گذاشته و به کاهش این صفت منجر شده است. از طرفی محلول‌پاشی سیلیکات کلسیم بر رقم L17 باعث افزایش عملکرد پروتئین شد.

نتیجه گیری کلی

تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، فنل و فلاونوئید شد. همچنین،

محتوای کربوهیدرات و پروتئین در طی تنش خشکی افزایش یافتند. در بین تیمارهای تنش، آبیاری تا مرحله تشکیل طبق ساقه اصلی به قطر ۰/۲۵ اینچ باعث بیشترین افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه شد که نشان‌دهنده حساسیت گیاه به این شدت از تنش است. سلنیوم و کلسیم موجود در محلول به کار برده شده در این آزمایش باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و اجزای غیر آنزیمی در هر سطح تنش شد که نشان‌دهنده سازوکار بهبوددهندگی این دو عنصر در شرایط تنش خشکی است. در هر سطح تنش بیشترین مقدار صفات مطالعه‌شده در تیمار ۱ لیتر در ۱۰ لیتر آب + کلسیم به دست آمد. به‌طورکلی می‌توان گفت کاربرد سلنیوم و کلسیم در شرایط تنش خشکی با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی و غیر آنزیمی اثرات مضر تنش را در گیاه کاهش داده و باعث تحمل گیاه در شرایط تنش می‌شود.

سپاسگزاری

بخشی از هزینه اجرای این آزمایش از محل اعتبار پژوهانه IR-UOZ-GR-2904 دانشگاه زابل تأمین شده است.

References

Ali, Q., Anwar, F., Ashraf, M., Saari, N. and Perveen, R. (2013) Ameliorating effects of exogenously applied proline on seed composition, seed oil quality and oil antioxidant activity of maize (*Zea mays* L.) under drought stress. International Journal of Molecular Sciences 14(1): 818-835.

Amini, H., Arzani, A. and Karami, M. (2014) Effect of water deficiency on seed quality and physiological traits of different safflower genotypes. Turkish Journal of Biology 38(2): 271-282.

Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology 55: 373-399.

Asada, K. (2006) Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. Plant Physiology 141(2): 391-396.

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.

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(1-2): 248-254.

Beers, G. R. and Sizer, I. W. (1952) A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. Biology Chemistry 195(1): 133-140.

Bybordi, A. (2016) Effect of zeolite, selenium and silicon on yield, yield components and some physiological traits of canola under salt stress conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 14(1): 154-170 (In Persian).

Cao, G., Sofic, E. and Prior, R. L. (1997) Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. Free Radical Biology and Medicine 22(5): 749-760.

Castañeda, P. and Pérez, L. M. (1996) Calcium ions promote the response of Citrus limon against fungal elicitors or wounding. Phytochemistry 42(3): 595-598.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis 10(3): 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.

Cosgrove, D. J. (2016) Plant cell wall extensibility: connecting plant cell growth with cell wall structure, mechanics, and the action of wall-modifying enzymes. Journal of Experimental Botany 67(2): 463-476.

Dadnia, M. (2018) Wheat Response (*Triticum aestivum* L.) to selenium under normal irrigation and water deficit conditions. Journal of Crop Ecophysiology 12(45): 21-36 (In |Persian).

Dawood, M. G. and Sadak, M. S. (2014) Physiological role of glycinebetaine in alleviating the deleterious effects of drought stress on canola plants (*Brassica napus* L.). Middle East Journal of Agriculture Research 3(4): 943-954.

Djanaguiraman, M., Devi, D. D., Shanker, A. K., Sheeba, J. A. and Bangarusamy, U. (2005) Selenium–an antioxidative protectant in soybean during senescence. Plant and Soil 272(1): 77-86.

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(1): 104.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N. S. M. A., Fujita, D. B. S. M. A. and Basra, S. M. A. (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy of Sustainable Development 29: 185-212.

Fathi Amirkhiz, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavy, S. A. M., Reza Zadeh, A. R. and Heshmati, S. (2011) Effect of iron application on enzymatic activity, grain yield and oil content of safflower under water deficit conditions. Iranian Journal of Crop Sciences 13(3): 452-465 (In Persian).

Gapper, C. and Dolan, L. (2006) Control of plant development by reactive oxygen species. Plant Physiology 141(2): 341-345.

Gul, H., Kinza, S., Shinwari, Z. K. and Hamayun, M. (2017) Effect of selenium on the biochemistry of *Zea mays* under salt stress. Pakistan Journal of Botany 49(SI): 25-32.

Habibi, G., Ghorbanzade, P. and Abedini, M. (2016) Effects of selenium application on physiological parameters of *Melissa officinalis* L. plants**.** Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 32(4): 698-715 (In Persian).

Hajiboland, R., Keyvanfar, N., Joudmand, A., Rezaee, H. and Yousefnejad, M. (2015) Effect of selenium treatment on drought tolerance of canola plants. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 27(4): 557-568 (In Persian).

Hamidi moghaddam, R., Sirousmehr, A. and Ghanbari, A. (2021) Effect of sodium selenate, titanium dioxide and organic growth regulator on some physiological traits, yield and percentage oil of safflower under drought stress. Iranian Journal of Plant Biology 12(4): 1-18 (In persian).

Hediye Sekmen, A., Türkan, İ. and Takio, S. (2007) Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. Physiologia Plantarum 131(3): 399-411.

Hosseini Tafreshi, S. A., Aghaei, P. and Toghyiani, M. A. (2019) Effect of calcium pretreatment on antioxidant enzymes activity of tomato under salinity stress in hydroponic condition. Iranian National Plant Physiology Conference, Yazd, Iran. (In Persian).

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(4): 926-931.

Jovanović, S. V., Kukavica, B., Vidović, M., Morina, F. and Menckhoff, L. (2018) Class III peroxidases: functions, localization and redox regulation of isoenzymes (Eds. Gupta, D. K., Corpas, F. J. and Palma. J. M) 269-300. In Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants. Springer, Cham**.**

Kadioglu, A., Saruhan, N., Sağlam, A., Terzi, R. and Acet, T. (2011) Exogenous salicylic acid alleviates effects of long-term drought stress and delays leaf rolling by inducing

antioxidant system. Plant Growth Regulation 64(1): 27-37.

Kafi, M., Borzoee, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi, A. and Nabati, J. (2012) Physiology of environmental stresses in plants. Ferdowsi University Press, Mashhad, Iran (In Persian).

Kafi, M., Borzoee, M., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi, A. and Nabati, J. (2010) Physiology of environmental stresses in plants. Publications University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Karimi, R. (2020) The effect of early season nutrition of calcium and zinc on yield, sugar content and enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity of grape. Iranian Journal of Plant Biology 12(1): 1-22. (In Persian).

Kavas, M., Baloğlu, M. C., Akca, O., Köse, F. S. and Gökçay, D. (2013) Effect of drought stress on oxidative damage and antioxidant enzyme activity in melon seedlings. Turkish Journal of Biology 37(4): 491-498.

Khademi, B., Shaibani, H. and Borzou, A. (2015) Effect of foliar application of selenium on quality traits and enzyme activities of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under different soil moisture regimes stress in Varamin region. Agronomic Research in Semi Desert Regions 12(3): 183-196 (In Persian).

Khattab, H. (2004) Metabolic and oxidative responses associated with exposure of *Eruca sativa* (Rocket) plants to different levels of selenium. International Journal of Agriculture and Biology 6: 1101-1106.

Khosrowshahi, Z. T., Ghassemi-Golezani, K., Salehi-Lisar, S. Y. and Motafakkerazad, R. (2020) Changes in antioxidants and leaf pigments of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) affected by exogenous spermine under water deficit. Biologia Futura 71(3): 313-321.

Kohli, S. K., Khanna, K., Bhardwaj, R., Abd-Allah, E. F., Ahmad, P. and Corpas, F. J. (2019) Assessment of subcellular ROS and NO metabolism in higher plants: multifunctional signaling molecules. Antioxidants 8(12): 641.

Kong, L., Wang, M. and Bi, D. (2005) Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress. Plant Growth Regulation 45(2): 155-163.

Kwak, J. M., Nguyen, V. and Schroeder, J. I. (2006) The role of reactive oxygen species in hormonal responses. Plant Physiology 141(2): 323-329.

Li, Z., Peng, Y. and Ma, X. (2013) Different response on drought tolerance and post-drought recovery between the small-leafed and the large leafed white clover (*Trifolium repens* L.) associated with antioxidative enzyme protection and lignin metabolism. Acta Physiologiae Plantarum 35: 213-222.

Lovelli, S., Perniola, M., Ferrara, A. and Di Tommaso, T. (2007) Yield response factor to water (Ky) and water use efficiency of *Carthamus tinctorius* L. and *Solanum melongena* L.. Agricultural Water Management 92(1-2): 73-80.

Madanipour, E., Asilan, K. S. and Mansourifar, S. (2017) The effect of hexaconazole, penconazole and calcium silicate on the quantitative and qualitative traits of two varieties of soybean under water deficit conditions. Iranian Journal of Field Crop Science 48(2): 377-388 (In Persian).

Mahdavi, B., Modarres Sanavy, S. A. M., Aghaalikhani, M. and Sharifi, M. (2013) Effect of chitosan on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed germination and antioxidant enzymes activity under water stress. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 26(3): 352-365 (In Persian).

Marschner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plants. Second edition, Institute of Plant Nutrition, University of Hohenheim, Germany.

McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M. and Robards, K. (2001) Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry 73(1): 73-84.

Michalak, A. (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies 15(4): 523-530.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7(9): 405-410.

Moaveni, P. and Kheiri, T. (2011) TiO2 nano particles affected on maize (*Zea mays* L).

In: 2nd International Conference on Agricultural and Animal Science (Vol. 22, pp. 160-163). Singapore: IACSIT Press.

Mosavi, S., Bijanzadeh, E., Zinati, Z. and Barati, V. (2020) Evaluation of photosynthetic pigments, antioxidant enzyme activity and seed yield of safflower cultivars under cutting off irrigation. Journal of Crops Improvement 22(4): 571-586 (In Persian).

Mostafavi, S., Asadi-Gharneh, H. A. and Miransari, M. (2019) The phytochemical variability of fatty acids in basil seeds (*Ocimum basilicum* L.) affected by genotype and geographical differences. Food Chemistry 276: 700-706.

Moussa, H. R. and Ahmed, A. E. F. M. (2010) Protective role of selenium on development and physiological responses of *Vicia faba*. International Journal of Vegetable Science 16(2): 174-183.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidases in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Nojavan, A. M. and Khorshidi, M. (2006) An investigation of vanillin imposed oxidative stress in corn (*Zea mays* L.) and the activities of antioxidative enzymes. Pakistan Journal of Biological Sciences 9: 34-38.

Rahmani, F., Sayfzadeh, S., Jabbari, H., Valadabadi, S. A. and Masouleh, E. H. (2019) Alleviation of drought stress effects on safflower yield by foliar application of zinc. International Journal of Plant Production 13(4): 297-308.

Ramos, S. J., Faquin, V., Guilherme, L. R. G., Castro, E. M., Ávila, F. W., Carvalho, G. S. and Oliveira, C. (2010) Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. Plant, Soil and Environment 56(12): 584-588.

Rios, J. J., Blasco, B., Cervilla, L. M., Rosales, M. A., Sanchez-Rodriguez, E., Romero, L. and Ruiz, J. M. (2009) Production and detoxification of H_2O_2 in lettuce plants exposed to selenium. Annals of Applied Biology 154(1): 107-116.

Rios, J. J., Rosales, M. A., Blasco, B., Cervilla, L. M., Romero, L. and Ruiz, J. M. (2008) Biofortification of Se and induction of the antioxidant capacity in lettuce plants. Scientia Horticulturae 116(3): 248-255.

Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C. and Yamasaki, H. (2002) Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. Toxicology 177(1): 67-80.

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(372): 1305-1319.

Sheligl, H. Q. (1986) The utilization of organic acids by chlorella in the light. Planta Journal 47: 510-526.

Skrypnik, L., Novikova, A. and Tokupova, E. (2019) Improvement of phenolic compounds, essential oil content and antioxidant properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) depending on type and concentration of selenium application. Plants 8(11): 458-471.

Stoeckle, D., Thellmann, M. and Vermeer, J. E. (2018) Breakout-lateral root emergence in *Arabidopsis thaliana*. Current Opinion in Plant Biology 41: 67-72.

Tanaka, D. L., Rivaland, N. B., Bergman, J. W. and Johnson, B. L. (2002) A description of safflower plant development stages. United States Department of Agriculture. North Dakota, Report 2.

Thippeswamy, M., Rajasreelatha, V., Haleshi, C. and Sudhakar, C. (2021) Modulation of cell components and specific isoforms of antioxidant enzymes in safflower under water stress and recovery. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 17(1): 94-105.

Thipyapong, P., Melkonian, J., Wolfe, D. W. and Steffens, J. C. (2004) Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. Plant Science 167(4): 693-703.

Trebst, A. and Depka, B. (1995) Polyphenol oxidase and photosynthesis research. Photosynthesis Research 46(1): 41-44.

Trewavas, A. and Knight, M. (1994) Mechanical signaling, calcium and plant form. Signals and signal transduction pathways in plants (Ed. Palme, K) 93-105. Springer- Science+Business Media, Berlin.

Wei, B., Hou, K., Zhang, H., Wang, X. and Wu, W. (2020) Integrating transcriptomics and metabolomics to studies key metabolism, pathways and candidate genes associated with drought-tolerance in *Carthamus tinctorius* L. under drought stress. Industrial Crops and Products 151: 112465.

Xu, C., Li, X. and Zhang, L. (2013) The effect of calcium chloride on growth, photosynthesis, and antioxidant responses of *Zoysia japonica* under drought conditions. PloS One 8(7): e68214.

Xu, J., Yang, F., Chen, L., Hu, Y. and Hu, Q. (2003) Effect of selenium on increasing the antioxidant activity of tea leaves harvested during the early spring tea producing season. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(4): 1081-1084.

Xue, T., Hartikainen, H. and Piironen, V. (2001) Antioxidative and growth-promoting effect of selenium in senescing lettuce. Plant and Soil 237: 55-61.

Zafari, M., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S. and Sedghi, M. (2020) Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) biochemical properties, yield, and oil content affected by 24-epibrassinosteroid and genotype under drought stress. Journal of Agricultural and Food Chemistry 68(22): 6040-6047.

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.

Zhu, Z., Zhang, Y., Liu, J., Chen, Y. and Zhang, X. (2018) Exploring the effects of selenium treatment on the nutritional quality of tomato fruit. Food Chemistry 252: 9-15.