حفاظت کلسیم‌کلرید از گیاه پریوش *Catharanthus roseus* تحت تنش شوری با القاء سیستم دفاع آنتی‌اکسیداتیو و افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی

مهری عسکری[۱*]، فریبا امینی[۲]، سهیلا شکری[۳]

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۲۲
تاریخ تصویب: ۹٤/۱۲/۱۱

چکیده

در این مطالعه اثرات کلسیم‌کلرید به عنوان یک عامل تعدیل‌کننده تنش شوری بر گیاه پریوش بررسی شد.گیاهان ۴۹ روزه با غلظت‌های مختلف کلریدسدیم (۰، ۳۵، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) به تنهایی و توام با غلظت‌های مختلف کلریدکلسیم (۰، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) به مدت ۲۱ روز تیمار شدند. سپس درصد بازدارندگی رادیکال دی‌فنیل-۲-پیکریل‌هیدرازیل (۱%)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سطح و تعداد برگ، وزن تر و خشک بخش هوایی و مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی اندازه‌گیری شد. نتایج کاهش معنی‌دار مقدار رنگیزه‌ها،

۱* استادیار فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه،گروه زیست‌شناسی، (نویسنده مسئول m-askary@araku.ac.ir)
۲ استادیار فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه،گروه زیست‌شناسی
۳ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

وزن تر و خشک بخش هوایی، سطح و تعداد برگ را تحت تنش شوری نشان داد. تیمار توام گیاهان با کلریدسدیم و کلریدکلسیم، مقادیر رنگیزه‌ها، سطح برگ، وزن تر و خشک بخش هوایی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گایاکول‌پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و درصد بازدارندگی رادیکال دی‌فنیل-۲-پیکریل‌هیدرازیل ۱% را در مقایسه با گیاهان رشد یافته تحت تنش شوری به تنهایی افزایش داد. بیشترین افزایش فاکتورهای بالا، در تیمارهای ترکیبی (۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم + ۵ میلی‌مولار کلریدکلسیم) مشاهده شد. بنابراین کلسیم اثرات زیان‌آور تنش شوری را کاهش داد و رشد و متابولیسم گیاه پریوش را تحریک کرد.

واژه های کلیدی: *دی‌فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل، سوپر اکسید دیسموتاز، شاخص رشد، کاتالاز، گایاکول‌پراکسیداز*

مقدمه

شوری خاک یکی از تنش‌های محیطی است که بر تولید محصولات ۸۰۰ میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی اثر می‌گذارد Rengasamy, (2010). حدود ۱۲/۵ درصد از اراضی ایران نمکی و شوره‌زارها هستند(1992) Alkhani and Ghorbani. شوری خاک به عنوان یک تنش محیطی، سبب تغییرات شدید در رشد، فیزیولوژی و متابولیسم گیاهان می‌شود و عامل تهدیدکننده کشت گیاهان در سراسر جهان است. سدیم بیش از حد، رشد گیاهان حساس به شوری و گلیکوفیت‌ها که شامل اغلب گیاهان زراعی هستند را ممانعت می‌کند Gobinathan et al., (2009). شوری از راه‌های مختلفی مثل کاهش جذب آب، تجمع یون‌ها در سطوح سمی، کاهش قابلیت دسترسی به مواد مغذی و افزایش پتانسیل اسمزی در محیط ریشه، رشد گیاهان را کاهش می‌دهد Tunçtürk et al., (2011). همچنین با کاهش دسترسی به نیتروژن، می‌تواند سبب کاهش محتوای کلروفیل شود Duran et al., (2011). شوری باعث تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS:Reactive Oxygen Species) به طرق مختلف می‌شود. گیاهان در پاسخ به تنش شوری و جلوگیری از هدر رفت آب، هدایت روزنه‌ای را کاهش می‌دهند Hsu and Kao (2003). با این کار غلظت CO_2 درونی و احیای CO_2 در چرخه‌ی کالوین کم می‌شود Hsu and Kao (2003) این پاسخ منجربه کاهش $NADP^+$ (پذیرنده‌ی نهایی الکترون در فتوسیستم I) می‌شود. به دنبال کاهش $NADP^+$ جریان الکترون به O_2 منتقل می‌شود و تشکیل رادیکال سوپراکسید O_2^- افزایش می‌یابد Gaber, (2010); Hsu and Kao (2003)، همچنین با کاهش CO_2 درونی و واکنش‌های چرخه‌ی کالوین،تنفس نوری به ویژه در گیاهان C_3، افزایش می‌یابد که منجر به تولید H_2O_2 بیشتر در پراکسی‌زوم می‌شود Ghannoum, (2009).گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) سبب آسیب‌های شدید غشاء و مولکول‌های مهم مثل DNA و کلروفیل، از طریق به راه انداختن یک سری واکنش‌های زنجیره‌ای می‌شوند (Foyer and Noctor, (2005). در وضعیت پایدار، مولکول‌های ROS توسط مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه زدوده می‌شوند ولی در تنش‌های محیطی تعادل میزان ROS و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها تغییر می‌کند که نتیجه‌ی آن آسیب اکسیداتیو است Foyer and Noctor, (2005). برای بقا در شرایط تنشی، گیاهان به آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی از قبیل سوپراکسیددیسموتاز، گایاکول‌پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز مجهز می‌شوند Jaleel, (2007).

از راه‌های ممکن برای کاهش اثر شوری بر تولیدات گیاهی افزودن کلسیم به محیط رشد گیاه است. غنی کردن محیط با کلسیم،

رشد مهارشده توسط تنش شوری را در گیاهان گلیکوفیت بهبود می‌دهد Kader and Lindberg, (2010). اثر کلسیم بر کاهش اثرات سوء تنش شوری بر گیاهان مختلف مثل پنبه Amuthavalli et al., (2012)، کاسنی (Arshi, 2010b)، گندم Duran et al., (2011)، برنج Cha-um et al., (2012) و توت‌فرنگی Khayyat et al.,(2009) گزارش شده است. کلسیم نقش ساختاری مهمی در تولید بافت‌های گیاهی و تواناسازی آنها برای رشد بهتر دارد. کاتیون کلسیم به دلیل توانایی تشکیل پیوند بین مولکول‌ها، نقش مهمی در حفظ تمامیت و ساختار غشا و دیواره‌ی سلولی دارد. همچنین کلسیم مقاومت بافت‌های گیاهی تحت تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی را افزایش می‌دهد Kader and Lindberg, (2010).

گیاه پریوش *Catharanthus roseus* از خانواده خرزهره یک گیاه دارویی و منبع آلکالوئیدهای ضد توموری مثل وین‌بلاستین و وین‌کریستین است که در شیمی‌درمانی لوسمی و درمان سرطان لنفاوی استفاده می‌شود. ریشه‌های این گیاه منبع اصلی آلکالوئید ضد فشارخون آجمالیسین هستند Jaleel et al. (2007); Sreevalli et al., (2004). با توجه به افزایش اراضی شور ایران (Sadeghi, 2011)، هدف از این مطالعه بررسی نقش کلسیم بر تعدیل اثرات تنش شوری بر گیاه پریوش است.

مواد و روش‌ها:

تهیه و آماده سازی بذر: بذر گیاه پریوش (*Catharantus roseus*) از شرکت پاکان بذر اصفهان (۱۳۹۱) تهیه شد. ابتدا بذرها توسط اتانول ۷۰% به مدت دو دقیقه و سپس هیپوکلریت‌سدیم ۱% به مدت پنج دقیقه ضدعفونی سطحی و سپس ۵ بار با آب مقطر شستشو شدند Wang and Oyaizu, (2009). پس از ضدعفونی و جوانه‌زنی بذرها در پتری‌دیش، گیاهک‌ها به گلدان‌های حاوی پرلیت و خاک زراعی (خاک لومی رسی با pH=7/6 به نسبت ۱:۱ (وزنی/وزنی) انتقال یافت. گیاهان ۴۹ روزه به مدت ۳ هفته، یعنی روزهای ۴۹، ۵۶ و ۶۳ اعمال تنش شدند. آزمایش در سه تکرار، به صورت فاکتوریل و در قالب کاملا تصادفی در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه اراک انجام شد. فاکتور اول سطوح مختلف شوری (۰، ۳۵، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرورسدیم) و فاکتور دوم سطوح مختلف کلسیم‌کلرید (۰، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) بود که به طور هم‌زمان اعمال شد. محلول هوگلند فاقد کلریدسدیم و فاقد کلسیم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سایر محلول‌های غذایی دارای مواد محلول هوگلند اما بدون نیترات‌کلسیم بودند. برداشت نهایی یک هفته بعد از آخرین تنش یعنی روز ۷۰ انجام شد. شاخص‌های رشد مثل تعداد، سطح برگ (با کمک کاغذ شطرنجی) و وزن تر بخش هوایی (شامل

برگ و ساقه) ۳ گیاه از هر تیمار توسط ترازو اندازه‌گیری شد. سپس وزن خشک بخش هوایی همان گیاهان با قرار دادن به مدت ۲٤ ساعت در آون C°۷۵ تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شد. میزان کلروفیل *a*، *b* کلروفیل کل (روش Arnon, 1949) و کارتنوئیدها (روش Lichtenthaler and wellbum,1983) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ اندازه‌گیری شد.

ارزیابی فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال آزاد ۱،۱-دی‌فنیل-۲-پیکریل‌هیدرازیل DPPH توسط عصاره گیاه:روش فوق بر اساس تک الکترون رادیکال آزاد DPPH با جذب ماکزیمم در ۵۱۷ nm با رنگ بنفش استوار است. زمانی‌که الکترون تک رادیکال DPPH با یک هیدروژن از یک ترکیب آنتی‌اکسیدان واکنش می‌دهد و فرم احیای DPPH-H را تشکیل می‌دهد رنگ بنفش به زرد تبدیل می‌شود. در این روش از بی‌رنگ شدن رنگ بنفش استفاده می‌شود.

تهیه عصاره گیاهی برای ارزیابی فعالیت DPPH:۱۰۰ میلی‌گرم برگ پریوش در ازت مایع پودر و در ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۰% به مدت ۲٤ ساعت در ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. مواد جامد نامحلول با استفاده از سانتریفیوژ g ۳۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه جدا شد. مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از محلول استخراجی را با ۸۰۰ میکرولیتر از DPPH محلول در اتانول ۰/۵ میلی‌مولار مخلوط شد و میزان جذب در ۵۱۷ نانومتر پس از ۳۰ دقیقه تاریکی قرائت شد (Abe et al., (1998.

تهیه عصاره گیاهی برای تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: ۰/۱ گرم برگ در نیتروژن مایع سائیده و در ۱میلی‌لیتر بافر سدیم‌فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH= ۷) حاوی ۱ میلی‌مولار EDTA حل شد. ترکیب حاصل در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت rpm۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. از محلول شفاف رویی که حاوی عصاره آنزیمی بود، جهت تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گایاکول پراکسیداز (GPOX) استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز SOD به روش Giannopolitis و Ries (1977): اساس این روش بر اندازه‌گیری اثر بازدارندگی SOD با احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) است. ۳میلی‌لیتر از مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات‌سدیم ۵۰ میلی‌مولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم (NBT) ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۲۰ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره در غیاب نور ترکیب شد. واکنش با برداشتن فویل آلومینیومی و قرار دادن نمونه‌ها در زیر نور فلورسانت شروع شد. پس از ۱۵ دقیقه نور قطع شد و بلافاصله جذب نمونه‌ها در طول موج ۵٦۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدلT80+PG Instruent

(UV/Vis Spectrometer) ثبت شد. میزان فعالیت آنزیم برحسب یک واحد در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) به روش Cakmak و Marschner (1992): ۱۰۰میکرولیتر از عصاره آنزیمی به همراه ۲ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات‌سدیم ۲۵ میلی‌مولار حاوی ۱۰ میلی‌مولار H_2O_2 به روش نورسنجی در طول‌موج ۲٤۰ نانومتر تعیین شد. جذب نمونه‌ها پس از قرار داده شدن در دستگاه بلافاصله و سپس بدون خارج کردن نمونه از دستگاه بعد از گذشت یک دقیقه برای بار دوم ثبت شد. نمونه شاهد در این آزمایش ۲ میلی‌لیتر بافر حاوی H_2O_2 فاقد عصاره آنزیمی است. میزان فعالیت آنزیم برحسب میکرومول پراکسیدهیدروژن مصرف شده در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز (GPOX) بر اساس روش Polle و همکاران (۱۹۹٤): ۳ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات‌سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار، گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، H_2O_2 ۱۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط شد. جذب بر اساس اکسیداسیون گایاکول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت ۳ دقیقه در طول موج ٤۷۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم برحسب میکرومول تتراگایاکول تولید شده در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

نتایج

تنش شوری به تنهایی و تیمار کلسیم‌کلرید به تنهایی بر مقدار رنگیزه‌ها، سطح برگ، وزن تر و خشک بخش هوایی، میزان I% (درصد بازدارندگی رادیکال DPPH در ۲۵ میکرولیتر عصاره)، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، گایاکول‌پراکسیداز و کاتالازبرگ گیاهان پریوش ($P\leq0/01$) اثر معنی‌داری نشان دادند. اثر متقابل هر دو تیمار (شوری و کلسیم‌کلرید) بر مقدار رنگیزه‌ها، سطح برگ، وزن تر و خشک بخش هوایی ($P\leq0/01$) و میزان I%، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، گایاکول‌پراکسیداز و کاتالاز ($P\leq0/05$) معنی‌دار بود. تیمار کلسیم‌کلرید به تنهایی و تاثیر متقابل تنش شوری و تیمار کلسیم‌کلرید بر تعداد برگ اثر معنی‌داری نداشتند.

نتایج رنگیزه‌های فتوسنتزی: بیشترین مقدار کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئید در تیمار شاهد (بدون شوری) به ترتیب با میانگین‌های ۱/٥٤، ۰/۸۸، ۲/٤۳ و ۱/۱۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ مشاهده شد. با افزایش شوری مقدار رنگیزه‌ها کاهش معنی‌داری نشان دادند. کمترین مقدار کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئید در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار شوری به ترتیب با میانگین‌های ۱/۲۷، ۰/٥۸، ۱/۸٥ و ۰/۸۷میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ مشاهده

شد که به ترتیب ۱۷/۵٤، ۳٤/۱، ۲۳/۸۷ و ۲۲/۳۳ درصد نسبت به رنگیزه‌های گیاه شاهد کاهش نشان می‌دهد (جدول ۱). تیمار کلسیم به تنهایی مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی پریوش را افزایش داد. تیمار ۵ میلی‌مولار کلسیم‌کلرید مقدار کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئید را نسبت به تیمار ۰ میلی‌مولار کلسیم‌کلرید ٤/۲۵، ۱۱/٤۲، ٦/٦۳ و ۵/٤۵ درصد و تیمار ۱۰ میلی‌مولار کلسیم‌کلرید مقدار همین رنگیزه‌ها را به ترتیب ۲/۸۳، ۸/۵۷، ٤/۷۳ و ۲/۸۲ درصد افزایش داد (جدول ۲). با کاربرد کلسیم‌کلرید میزان کاهش رنگیزه‌ها تحت سطوح شوری کمتر شد. کاهش ۱۷/۵٤، ۳٤/۱، ۲۳/۸۷ و ۲۲/۳۳ درصدی کلروفیل *a* و *b*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد با افزودن ۵ میلی‌مولار کلسیم به ترتیب به ۱٤/٦۵، ۲۵/۸۱، ۱۹/۱۳ و ۲۰ درصد و با کاربرد ۱۰ میلی‌مولار کلسیم‌کلرید به ترتیب ۱٦/۵۷، ۲۹/۰٤، ۲۱/۵۲ و ۲۱/۷٤ درصد

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های اثر تیمار شوری بر رنگیزه‌ها (mg/g وزن تر برگ)، سطح برگ (cm^2)، تعداد برگ،وزن تر وخشک بخش هوایی (گرم)، درصد تخریب (I%) DPPH، فعالیت SOD (unit mg -1 protein) ، Gpox(میکرومول تتراگایاکول تولید شده در دقیقه به ازای ۱ میلی‌گرم پروتئین) وCAT (میکرومول پراکسیدهیدروژن مصرف شده در دقیقه به ازای ۱ میلی‌گرم پروتئین) گیاهان ۷۰ روزه پریوش. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار ($P\leq0/05$) بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار SD± و مقایسه برای هر ردیف جداگانه انجام شده است.

شاخص‌ها	تیمار شوری (میلی‌مولار)			
	0	35	70	100
کلروفیل *a*(mg/g وزن تر برگ)	1/54^{a} ±0/02	1/5 ^{b}± 0/610	1/44^{c}±0/430	1/72^{d}±0/80
کلروفیل *b*(mg/g وزن تر برگ)	0/88^{a}±0/88	0/08^{b}±0/20	0/37^{c}±0/10	1/0±^{d}58/0
کلروفیل کل(mg/g وزن تر برگ)	2/43^{a}±0/07	2/30^{b}±0/03	2/17^{c}±0/04	1/85^{d}±0/2
کاروتنوئید(mg/g وزن تر برگ)	1/12^{a}± 0/03	1/70^{b}± 0/810	1/700^{c}± 0/30	0/78^{d}± 0/60
سطح برگ کل (Cm^2)	^{a}±13/24 29/1	^{b} 48/20± 675/1	49/1±^{c}08/17	71/1±^{d}3/12
تعداد برگ	0±^{a}14	11/33^{b}±1	9/87^{c}±0/766	7/87^{d}±0/766
وزن تر بخش هوایی(گرم)	0/15±^{a} 0/630	/34 ^{b}± 0/430	0/63^{c}±0/620	0/92^{d}±0/430
وزن خشک بخش هوایی(گرم)	0/050^{a}±0/300	0/340^{b}±0/300	0/630^{c}±0/200	0/920^{d}±0/300
درصد تخریب (I%) DPPH	9/837±^{d} 1/6	41/819 ^{c}± 2/73	32/711^{b}±2/47	53/70^{a}±3/28
فعالیت سوپراکسیددیسموتاز SOD	51^{d}±3/57	03/38^{c}±9/2	74/22^{b}±6/7	26/5^{a}±4/48
فعالیت گایاکول‌پراکسیدازGPOX	0/710^{d}±0/9100	0/420^{c}±0/6100	0/430^{b}±0/9100	0/740^{a}±0/6300
فعالیت کاتالاز CAT	0/210^{d}±0/2100	0/20^{c}±0/400	0/30^{b}±0/300	0/740^{a}±0/300

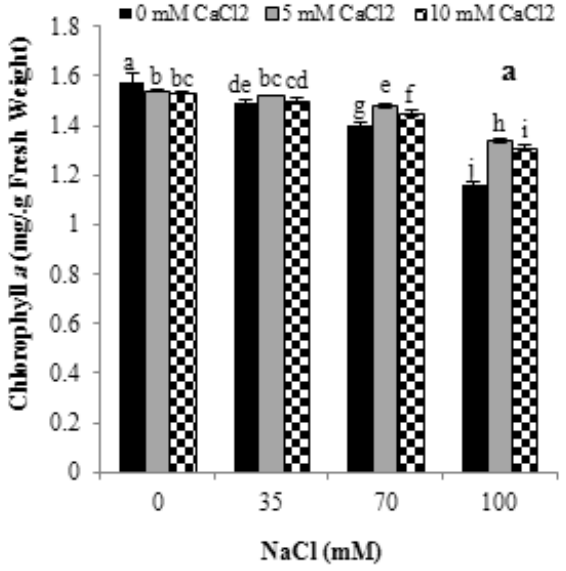
جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثر تیمارکلسیم‌کلرید بر مقدار رنگیزه‌ها (mg/g وزن تر برگ)، سطح برگ کل (Cm^2)، وزن تر و خشک بخش هوایی (گرم) درصد تخریب (I%) DPPH، فعالیت SOD (unit mg -1 protein) ، Gpox (میکرومول تتراگایاکول تولید شده در دقیقه به ازای ۱ میلی‌گرم پروتئین) و CAT (میکرومول پراکسیدهیدروژن مصرف شده در دقیقه به ازای ۱ میلی‌گرم پروتئین) گیاهان ۷۰ روزه پریوش. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار SD± و مقایسه برای هر ردیف جداگانه انجام شده است.

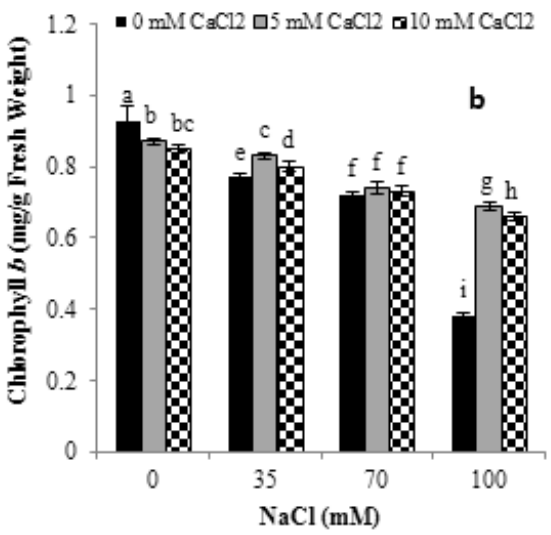
شاخص‌ها	تیمارکلسیم‌کلرید (میلی‌مولار)		
	0	5	10
کلروفیل *a* (mg/g وزن تر برگ)	1/14±^{c} 0/61	1/74^{a}± 0/80	1/54^{b} ±0/80
کلروفیل *b* (mg/g وزن تر برگ)	0/07^{c}±0/2	0/87^{a}±0/70	0/67^{b}±0/70
کلروفیل کل (mg/g وزن تر برگ)	2/11^{c}±0/3	2/52^{a}±0/41	2/12^{b}±0/51
کاروتنوئید (mg/g وزن تر برگ)	0/99^{c}±0/41	1/440^{a}±0/70	1/810^{b}±0/70
سطح برگ کل	71/24±c 5/87	91/16a± 3/98	81/74b ±4/52
وزن تر بخش هوایی (گرم)	0/83±^{c} 0/11	0/24^{a}± 0/70	0/04^{b}±0/60
وزن خشک بخش هوایی (گرم)	0/730^{c}±0/10	0/140^{a}±0/700	0/930^{b}±0/600
درصد تخریب DPPH (I%)	71/748±^{c} 9/100	32/390^{a}± 11/71	12/391^{b} ±01/10
فعالیت سوپراکسیددیسموتاز SOD	33/521^{c}±81/8	54^{a}±91/7	83/45^{b}±81/3
فعالیت گایاکول‌پراکسیداز GPOX	0/820^{c}±0/10	0/330^{a}±0/210	0/030^{b}±0/110
فعالیت کاتالاز CAT	0/420^{c}±0/310	0/30^{a}±0/410	0/820^{b}±0/410

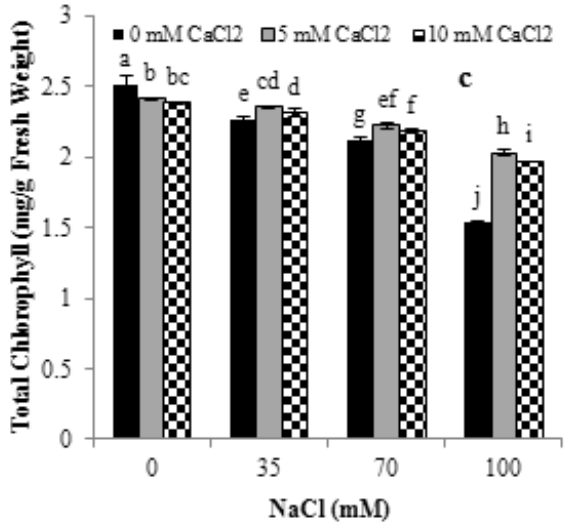
تغییر کرد (شکل ۱)

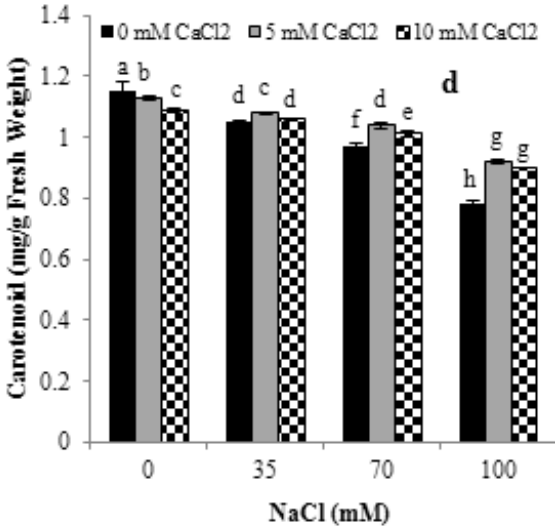
نتایج تعداد و سطح برگ:

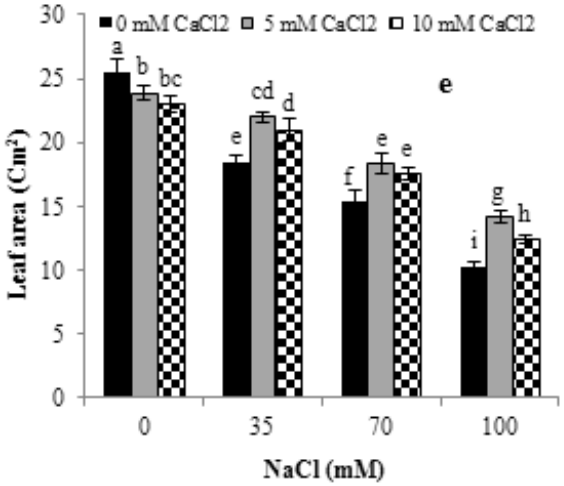
سطح و تعداد برگ با افزایش شوری کاهش معنی‌داری یافتند، این کاهش در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار به ترتیب ۴۹/۰۳ و ٤٤/٤٣ درصد نسبت به گیاهان شاهد رسید (جدول۱). تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌مولار کلسیم‌کلرید به تنهایی مقدار سطح برگ کل گیاهان را نسبت به شاهد ۱۲/۵۷ و ٦/۰۲ درصد افزایش داد (جدول ۲). تیمار کلسیم به تنهایی و اثر متقابل تنش شوری و کلسیم بر تعداد برگ گیاهان پریوش اثر معنی‌داری نشان نداد. ولی تیمار ۵ میلی‌مولار کلسیم باعث افزایش سطح برگ گیاهان تحت تنش شوری شد. به طوری‌که کاهش ۴۹/۰۳ درصدی سطح برگ گیاه پریوش تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد در اثر کاربرد ۵ میلی‌مولار کلسیم‌کلرید به ٤٤%/۳۸ تغییر









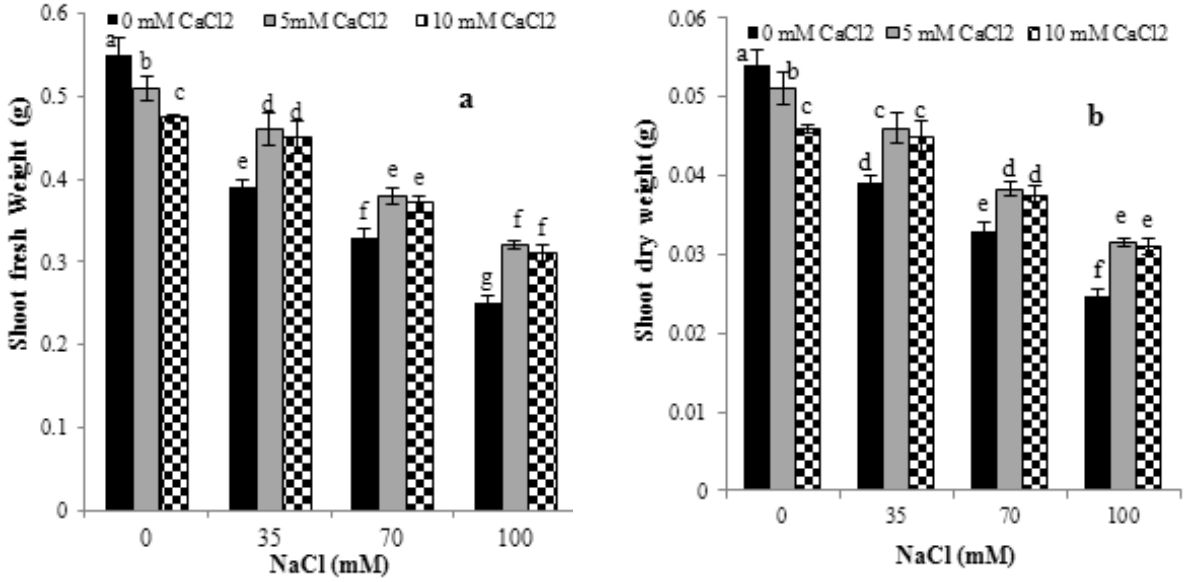


شکل ۱- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تیمار شوری و تیمارکلسیم‌کلرید بر مقدار (a) کلروفیل a ، (b) کلروفیل b ، (c) کلروفیل کل ، (d) کاروتنوئید (mg/g وزن تر برگ) و (e) سطح برگ Cm2 گیاهان ۷۰ روزه پریوش. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار ($P\leq0/05$)بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار SD± و مقایسه برای هر شاخص جداگانه انجام شده است

کـرد (شـکل ۱).

نتایج وزن تر و خشک بخش‌هوایی:

بیشـترین مقـداروزن تـر و خشـک بخش‌هوایـی در تیمـار شـاهد (بـدون شـوری) بـه ترتیـب بـا میانگین‌هـای ۰/۵۱ و ۰/۰۵گـرم مشـاهده شـد. کمتریـن مقـدار وزن تـر و خشـک بخـش هوایـی در تیمـار ۱۰۰ میلی‌مـولار شـوری بـه ترتیـب بـا میانگین‌هـای ۰/۲۹و ۰/۰۲۹گـرم مشـاهده شـد. بـا افزایـش شـوری مقـدار وزن تـر و خشـک بخش‌هوایـی کاهـش معنـی‌داری پیـدا کردنـد (جدول۱).تیمـار ۵ میلی‌مـولار کلسـیم‌کلرید مقـدار وزن تـر و خشـک بخش‌هوایـی را نسـبت بـه تیمارشـاهد (۰میلی‌مـولار کلسـیم‌کلرید) بـه ترتیـب ۱۰/۵۲ و ۱۰/۸۱درصـد افزایـش داد. تیمـار ۱۰ میلی‌مـولار کلسـیم‌کلرید نیـز مقـدار وزن تـر و خشـک بخش‌هوایـی را نسـبت بـه تیمـار شـاهد ۵/۲٦ و ۵/٤ درصـد افزایـش داد (جـدول ۲). کاهـش ٤۳/۱٤ و ٤۲ درصـدی وزن تـر و خشـک بخـش هوایـی در شـوری ۱۰۰ میلی‌مـولار بـا کاربـرد ۵ میلی‌مـولار کلسـیم‌کلرید بـه ترتیـب بـه ٤۱/۸۲، ٤۱/٤۹ تغییـر یافـت (شـکل ۲).



شـکل ۲- مقایسـه میانگین‌هـای اثرمتقابـل تیمـار شـوری (۰، ۳۵، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌مـولار) و تیمارکلسـیم‌کلرید (۰، ۵ و ۱۰۰ میلی‌مـولار) بـر مقـدار وزن تـر بخـش هوایـی (a) و وزن خشـک بخـش هوایـی (b) (گـرم) گیاهـان ۷۰ روزه پریـوش. حـروف یکسـان نشـان‌دهنده عـدم اختـلاف معنـی‌دار ($P\leq$۰/۰۵)بیـن میانگین‌هـا مطابـق آزمـون دانکـن اسـت. دادهـا میانگیـن ۳ تکـرار ±SD و مقایسـه بـرای هـر شـاخص جداگانـه انجـام شـده اسـت.

نتایج درصد بازدارندگی رادیکال DPPH، I% عصاره برگ گیاه پریوش:

کمترین میزان I% (درصد تخریب رادیکال DPPH در تیمار ۰ میلی‌مولار شوری (شاهد) با میانگین ۹/۷۳۸ و بیشترین میزان I% در ۱۰۰ میلی‌مولار شوری با میانگین ۳۵/۰۷ اندازه‌گیری شد. با افزایش شوری میزان I% افزایش معنی‌داری را نشان داد، به‌طوری‌که میزان I% در شوری ۳۵، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد به ترتیب ۱/۵۳، ۲/۳۷ و ۳/۶۰ برابر افزایش داشت (جدول ۱).با تیمار کلسیم‌کلرید میزان فعالیت I% نسبت به تیمار ۰ کلسیم‌کلرید افزایش یافت. اعمال کلسیم‌کلرید ۵ و ۱۰ میلی‌مولار به ترتیب میزان فعالیت I% را ۲۹ و ۱۸ درصد نسبت به شاهد (۰ میلی‌مولار کلسیم‌کلرید) افزایش داد (جدول ۲).

اعمال تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌مولار کلسیم تحت تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (I%) گیاه پریوش نسبت به تیمارهای شوری تنها و شاهد شد. تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌مولار کلسیم‌کلرید مقدار I% را در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار به ترتیب تا ۴/۸۵ و ۴/۳۴۷ برابر نسبت به شاهد افزایش داد. در سایر سطوح شوری نتایج مشابهی مشاهده گردید (شکل ۲).

نتایج فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز:

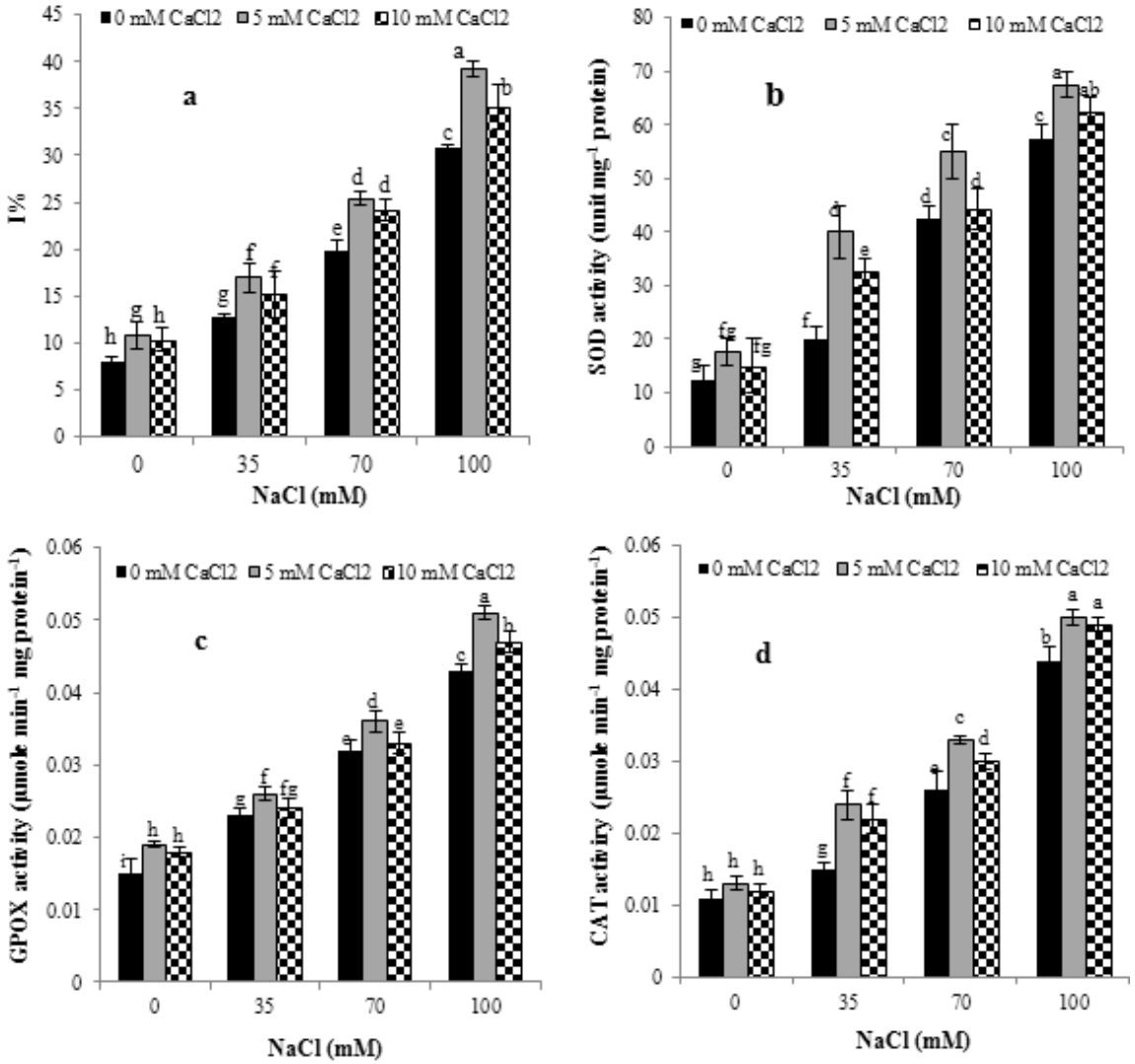
با افزایش شوری میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گایاکول پراکسیداز (GPOX) و کاتالاز (CAT) نیز افزایش معنی‌داری را نشان دادند، به‌طوری‌که در شوری ۳۵، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار میزان فعالیت آنزیم SOD نسبت به شاهد به ترتیب ۲، ۳/۱۴ و ۴/۱۶ برابر، میزان فعالیت آنزیم GPOXبه ترتیب ۱/۴۱، ۲ و ۲/۷۶ برابر و میزان فعالیت آنزیم CAT در همین سطوح شوری نسبت به شاهد به ترتیب ۱/۶۶، ۲/۵ و ۳/۹۱ برابر افزایش را نشان داد. بیشترین اثر افزایشی تنش شوری به تنهایی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مربوط به SOD، سپس کاتالاز و کمترین مربوط به GPOX بود (جدول ۱).

اعمال کلسیم‌کلرید ۵ و ۱۰ میلی‌مولار به تنهایی به ترتیب میزان فعالیت SOD را ۱/۳۵ و ۱/۱۶ برابر نسبت به شاهد افزایش داد. همچنین اعمال کلسیم‌کلرید ۵ و ۱۰ میلی‌مولار میزان فعالیت آنزیم GPOXرا به ترتیب ۱/۱۷ و ۱/۰۷ برابر و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را ۱/۲۵ و ۱/۱۶ برابر نسبت به شاهد افزایش داد. سطح ۵ میلی‌مولار کلسیم اثر افزایشی بیشتری نسبت به سطح ۱۰ میلی‌مولار کلسیم بر مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نشان داد. اثر افزایشی کلسیم‌کلرید به تنهایی بر مقدار هر سه آنزیم آنتی‌اکسیدانت فوق از اثر تنش شوری، حتی شوری ۳۵ میلی‌مولار، کمتر

بـود (جـدول ۲).

اسـتفاده از غلظـت ۵ و ۱۰ میلی‌مـولار کلسـیم‌کلرید تحـت تنـش شـوری باعـث افزایـش فعالیـت آنزیم‌هـای آنتی‌اکسـیدانی سوپرکسیددیسـموتاز، گایاکول‌پراکسـیداز و کاتـالاز پریـوش نسـبت بـه تیمارهـای شـوری و شـاهد شـد. بیشـترین میـزان فعالیـت آنزیـم SOD در تیمـار ۱۰۰ میلی‌مـولار شـوری همـراه بـا دریافـت ۵ میلی‌مـولار کلسـیم بـا میانگیـن 5/67 unit mg-1 protein مشـاهده شـد. ایـن میـزان فعالیـت آنزیم سوپراکسیددیسـموتاز ٥/٤ برابـر میـزان فعالیـت آنزیـم SOD گیـاه شـاهد اسـت. در گیاهـان تحـت تیمـار ۱۰۰ میلی‌مـولار شـوری و ۱۰ میلی‌مـولار کلسـیم‌کلرید نیـز میـزان فعالیـت SOD بـالا و ۵ برابـر میـزان فعالیـت آنزیم SOD در گیاهان شـاهد محاسـبه شـده اسـت. کلسـیم ۵ میلی‌مـولار نسـبت بـه ۱۰ میلی‌مـولار میـزان فعالیـت آنزیـم SOD را در تمـام سـطوح شـوری بیشـتر افزایش داد (شـکل ۳).

بیشـترین میزان فعالیت آنزیـم GPOX در تیمار ۱۰۰ میلی‌مـولار شـوری همـراه بـا دریافـت ۵ میلی‌مولارکلسـیم‌کلرید بـا میانگیـن protein 051/0 min-1µmol/mg مشـاهده شـد. ایـن میـزان فعالیـت آنزیـم ٣/٤ برابـر میـزان فعالیـت آنزیـم GPOX گیـاه شـاهد اسـت. در گیاهـان تیمـار شـده بـا ۱۰ میلی‌مـولار کلسـیم‌کلرید همـراه بـا ۱۰۰ میلی‌مـولار شـوری میـزان فعالیـت آنزیـم GPOX ٣/١٣ برابـر میـزان فعالیـت آنزیـم GPOX در گیاهـان شـاهد اسـت. در تیمـار شـوری ۱۰۰میلی‌مـولار میانگیـن میـزان فعالیـت GPOX برابـر µmol/ 0/043 mg protein min-1 اسـت کـه ٢/٧٦ برابـر میـزان فعالیـت GPOXشـاهد اسـت. کلسـیم ۵ میلی‌مـولار نسـبت بـه ۱۰ میلی‌مـولار میـزان فعالیـت آنزیـم GPOX را در تمـام سـطوح شـوری بیشـتر افزایـش داد (شـکل ۳). کمتریـن میـزان فعالیـت آنزیـم کاتـالاز CAT در شـاهد بـا میانگیـن 0/011 µmol/mg protein min-1 و بیشـترین میـزان فعالیـت در تیمـار ۱۰۰ میلی‌مـولار شـوری همـراه بـا دریافـت ۵ میلی‌مولارکلسـیم بـا میانگیـن protein 0/051 min-1µmol/mg مشـاهده می‌شـود. ایـن میـزان فعالیـت آنزیـم کاتـالاز ٤/٥٤ برابـر میـزان فعالیـت آنزیـم CAT گیـاه شـاهد اسـت. در گیاهـان تیمـار شـده بـا ۱۰ میلی‌مـولار کلسـیم‌کلرید همـراه بـا ۱۰۰ میلی‌مـولار شـوری میـزان فعالیـت آنزیـم CAT ٤/٤٥ برابـر میـزان فعالیـت آنزیـم CAT در گیاهـان شـاهد اندازه‌گیـری شـد، البتـه در ایـن غلظـت از شـوری تفـاوت بیـن ۵ و ۱۰ میلی‌مـولار کلسـیم در افزایـش فعالیـت کاتـالاز معنـی‌دار نیسـت. در تیمـار شـوری ۱۰۰میلی‌مـولار (بـدون دریافـت کلسـیم) میانگیـن میـزان فعالیـت CAT برابـر 0/044 µmol/mg protein min-1 اسـت کـه ٤ برابـر میـزان فعالیـت CAT گیاهـان شـاهد اسـت (شـکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تیمارشوری و کلسیم‌کلرید بر (a) میزان I٪، (b) میزان فعالیت آنزیم آنزیم SOD(unit mg GPOX) protein-۱ (میکرومول تتراگایاکول تولید شده در دقیقه به ازای ۱ میلی‌گرم پروتئین) و (d) آنزیمCAT (میکرومول پراکسیدهیدروژن مصرف شده در دقیقه به ازای ۱ میلی‌گرم پروتئین) گیاهان ۷۰ روزه پریوش. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار (P≤۰/۰۵) بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار ±SD و مقایسه برای هر شاخص جداگانه انجام شده است.

بحث

در این مطالعه میزان تمامی رنگیزه‌های فتوسنتزی در اثر تیمار شوری کاهش معنی‌داری را نشان دادند، نتایج مشابه در واریته‌های مختلف گندم تحت تیمار شوری گزارش شده است Duran et al., (2011). کاهش محتوای کلروفیل‌ها در اثر تنش شوری، احتمالا به افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز، القا تخریب ساختار کلروپلاست و بی‌ثباتی کمپلکس پروتئین رنگدانه در

تنش شوری مربوط می‌شود Jaleel et al., (2007). کاهش در سطح پیگمان‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل‌های a و b و رنگدانه‌های کمکی از قبیل کاروتنوئیدها با قرارگرفتن در معرض تنش‌های زیستی و غیرزیستی در بسیاری از گونه‌ها مشاهده شده است Lau et al., (2006). کاروتنوئیدها از اجزای ضروری آنتن‌های فتوسنتزی و کمپلکس‌های مرکز واکنش هستند. بنابراین نقشی مهم در جذب، به‌دام‌اندازی و انتقال انرژی نورانی برای فرایندهای فتوسنتزی بازی می‌کنند. در تحقیقی اثر تنش شوری بر بیان ژن‌های کاروتنوئیدهای برگ گیاه گوجه‌فرنگی مطالعه شد Babu et al., (2011). بیان ٤ ژن مهم مسیر سنتز کاروتنوئید مثل فیتوئن‌سنتاز phytoene synthase، فیتوئن‌دساچوراز phytoene desaturase، زئاکاروتن‌دساچوراز zeta carotene desaturase و لیکوپن‌بتاسیکلاز lycopene beta cyclase با افزایش غلظت نمک در گوجه فرنگی‌های مورد آزمایش کاهش یافتند. لیکوپن‌بتاسیکلاز، آنزیمی که لیکوپن را به بتاکاروتن تبدیل می‌کند، در مقایسه با دیگر ژن‌های مورد مطالعه بسیار بیشتر تحت تاثیر شوری قرار گرفت Babu et al., (2011). در ۲ واریته گیاه تنباکو نیز میزان کاروتنوئیدها با افزایش غلظت شوری کاهش را نشان دادند Celik and Atak, (2012). پیگمان‌های فتوسنتزی ماکرومولکول‌های مهم گیاهی هستند که نقشی حیاتی در فتوسنتز دارند و فتوسنتز هم مسئول رشد گیاه و تولید وزن خشک است Siddiqui et al., (2012).

در این تحقیق تیمار کلسیم به تنهایی میزان تمامی رنگیزه‌های فتوسنتزی را نسبت به شاهد افزایش داد. نتایج مشابه برای گیاه باقلای تیمارشده با کلسیم و پتاسیم Siddiqui et al., (2012) و نخود گزارش شده است Howladar and Rady, (2012). کلسیم می‌تواند به عنوان پیامبر ثانویه درافزایش فعالیت سیتوکینین نقش ایفاء کند و بنابراین در بهبود سنتز کلروفیل عمل کند. همچنین کلسیم می‌تواند در مسیر سنتز کلروفیل با نور برهم‌کنش داشته باشد Siddiqui et al., (2012).

در مطالعه اخیر در گیاهان تحت تنش شوری افزودن کلسیم به محیط، اثرات منفی تنش شوری را بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بهبود داد. مشابه نتایج گزارش شده در ارقام گندم که مقدار کلروفیل a، b و کارتنوئیدها در اثر تیمار شوری به طور معنی‌داری کاهش یافتند و با افزودن کلسیم به محیط، اثرات منفی شوری بر مقدار رنگیزه‌ها بهبود یافت. تحت تنش شوری، فعالیت‌های متابولیکی گیاه کاهش می‌یابد، زیرا که شوری ضمن افزایش جذب سدیم در حد سمیت، جذب عناصر پرمصرف مثل کلسیم، پتاسیم، نیتروژن،

فسفر و منیزیم را کاهش می‌دهد، بنابراین شوری فعالیت و تولید کلروفیل را به طور منفی متاثر می‌کند Duran et al., (2011) ولی تیمار خارجی کلسیم، نفوذپذیری غشای سلولی در برابر سدیم را کاهش می‌دهد و با جلوگیری از انتقال غیرفعال سدیم، از تجمع سدیم و در نتیجه سمیت سدیم در گیاه ممانعت می‌کند Whittington and Smith, (1992)، همچنین کلسیم جذب مواد معدنی را از عرض غشای پلاسمایی سلول تنظیم می‌کند White, (2000). کاهش اثرات تنش شوری بر رنگیزه‌ها توسط کلسیم در گزارشات مختلفی ذکر شده است. در سویا بیشترین میزان کاهش کلروفیل کل در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار برابر ۳٤% گزارش شده که با افزودن ۱۰ میلی‌مولار کلسیم این کاهش به ۲۷ درصد نسبت به شاهد رسید، یعنی کلسیم‌کلرید اثر کاهشی و منفی شوری بر مقدار کلروفیل را بهبود داد Arshi et al., (2010a).

در مطالعه اخیر وزن تر و خشک بخش هوایی، سطح و تعداد برگ پریوش در اثر تیمار شوری کاهش معنی‌داری را نشان دادند. میزان کاهش رشد برگ ناشی از افزایش شوری خاک به علت اثر اسمزی شوری است. شوری با کاهش رشد طولی وتقسیم سلولی، تولید آهسته‌تر برگ و کوچکتر شدن اندازه نهایی برگ‌ها را سبب می‌شود Munns and Tester, (2008). تنش شوری، تقسیم و توسعه‌ی سلولی و متعاقبا توسعه برگی را مهار می‌کند Hernandez et al., (2001). به طور کلی در هنگام تنش‌های غیرزیستی مثل شوری، گیاه تلاش می‌کند به منظور صرفه‌جویی انرژی با کاهش سطح برگ، با شرایط موجود مقابله کند Jaleel et al., (2008). کاهش سطح برگ تحت شوری برای گیاه کاسنی گزارش شده است Arshi et al., (2010b). در این تحقیق افزایش سطح برگ در اثر تیمار کلسیم به تنهایی مشاهده شد. همچنین کلسیم اثرات منفی شوری را بر سطح برگ بهبود بخشید. مشابه افزایش سطح و وزن خشک برگ گیاه کاسنی با افزودن کلسیم در تنش شوری که توسط محققین گزارش شده است Arshi et al., (2010b). کلسیم یک ضرورت برای حفظ تمامیت غشای پلاسمایی و دیواره محسوب می‌شود، به طوری‌که کاهش در دسترسی به کلسیم رشد گیاهان را کاهش می‌دهد Arshadet al., (2012). بنابراین افزودن کلسیم باعث افزایش پارامترهای رشد می‌شود. کلسیم برای تقسیم سلولی، طویل شدن سلول و افزایش دسترسی به نیتروژن مورد نیاز است Hirschi (2004). در گیاهان رشد یافته با نسبت بالای سدیم به کلسیم، هدایت هیدرولیکی کاهش می‌یابد، افزودن کلسیم رشد را به وسیله‌ی برگرداندن هدایت هیدرولیکی به حالت قبل مثل گیاه شاهد بهبود می‌دهد Cramer, (1992).

کاهش اثرات تنش شوری بر شاخص‌های رشد توسط کلسیم در گزارشات مختلفی ذکر شده است. در پنبه *Gossypium hirsutum* L. افزودن ۵ میلی‌مولار کلسیم به گیاه تحت شوری ۵۰ میلی‌مولار باعث افزایش پارامترهای رشد (وزن تر و خشک گیاه و ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه) شد (Amuthavalli et al., (2012. بنابراین تحت تنش شوری، افزودن کلسیم می‌تواند اثرات مهاری شوری را در گیاه تنش‌دیده، کاهش دهد (Munns and Tester, (2008. در این مطالعه میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول‌پراکسیداز، کاتالاز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل I% (درصد تخریب رادیکال DPPH) با افزایش غلظت سطوح شوری، افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد نشان دادند، همچنین تیمار کلسیم نیز باعث افزایش پارامترهای فوق شد و اعمال کلسیم در گیاهان پریوش تحت تنش شوری باعث افزایش بیشتر فعالیت همه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانیحتی بیش از تنش شوری به تنهایی شد. مشابه افزایش فعالیت تخریب رادیکال DPPH در گیاه *Cakile maritime* Ksouri et al., (2007) و *Sorghum bicolor* Kafi et al., (2011) که توسط محققین گزارش شده است. به طور کلی یکی از پیامدهای شوری در گیاهان تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROSها) مثل آنیون سوپراکسید - O_2 مخصوصا در کلروپلاست و میتوکندری است (Mittler, (2002. تحت شرایط طبیعی فیزیولوژیکی SOD سریعا - O_2 را به H_2O_2 و اکسیژن مولکولی تبدیل می‌کند و از این نظر نقش حیاتی‌تری را نسبت به کاتالاز و پراکسیداز ایفا می‌کند (Shi et al., (2007. سوپراکسیددیسموتاز در تحمل گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی نقش ویژه‌ای دارد و اولین خط مقاومت نسبت به سطوح بالای ROS را فراهم می‌کند. رادیکال سوپراکسید معمولا اولین رادیکال آزادی است که طی تنش‌ها تولید می‌شود (Gill and Tuteja, (2010. گیاهان سویا تحت تیمار شوری یک افزایش وابسته به سطح شوری را در فعالیت SOD نشان می‌دهند (Arshi et al., (2010a. همچنین فعالیتSOD در گیاه *Pennisetum typoidies* تحت تنش شوری در مقایسه با گیاه شاهد افزایش یافت Gobinathan et al., (2009). یکی دیگر از ROSهایی که هنگام تنش شوری تولید می‌شود H_2O_2 است (Mittler, (2002. کاتالاز در از بین بردن H_2O_2 و تبدیل آن به آب و اکسیژن نقش مهمی ایفا می‌کند (Gill and Tuteja, (2010. فعالیت CAT نیز مستقیما توسط مقدار ROS تنظیم می‌شود. افزایش فعالیت کاتالاز در Pennisetum *typoidies*Gobinathan et al., (2009) و کولتیوارهای سویا Arshi et al., (2010a) تحت شوری گزارش شده

است. گایاکول‌پراکسیداز نیز در دفاع در برابر تنش‌های زیستی به وسیله‌ی تخریب H2O2 نقش دارد. فعالیت این آنزیم با توجه به گونه‌ی گیاهی و نوع تنش متفاوت است Gill and tuteja, (2010). در ۲ واریته از گیاه تنباکو میزان فعالیت GPOX با افزایش غلظت شوری افزایش یافت Celik and Atak, (2012). در گیاه *Dioscorea rotundata* نیز تنش شوری باعث افزایش فعالیت پراکسیدازGPOX در مقایسه با گیاه شاهد شد Jaleel et al., (2008).

افزایش کلسیم سیتوزولی، به عنوان یک سیگنال مولکولی، بیان ژن و فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مختلفی را تنظیم می‌کند Alam et al., (2011). اثر افزایشی تیمار کلسیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه شلغم گزارش شده است Alam et al., (2011). این افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر تیمار کلسیم باعث حفاظت غشاها و ارتقاء مقاومت به تنش‌های غیرزیستی می‌شود Jiang and Huang, (2001). از نظر برخی محققین کلسیم از طریق بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تنش، در افزایش تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی موثر است Siddiqui et al., (2011). کلسیم به عنوان یک پیامبر ثانویه به تحریکات خارجی عمل می‌کند و پروتئین‌هایی مثل کالمودولین را که با کلسیم برهم‌کنش دارند را نیز تحریک می‌کند. تغییر ساختار فضایی این پروتئین‌ها در پاسخ به کلسیم باندشده اتفاق می‌افتد، پروتئین کالمودولین مکانیسم‌های متنوعی شامل انتقال یون، تنظیم ژن، رشد، تکثیرسلولی، مرگ سلول و تحمل تنش را تنظیم می‌کند Park et al., (2008). همچنین کلسیم با کاهش مقدار هیدروژن‌پراکسید در ثبات غشاء موثر است Hirschi, (2004). کلسیم از طرفی تولیدROS را مهار می‌کند Arshi et al., (2010a) و از سوی دیگر تولید آنزیم‌های جاروب کننده H2O2 مختلف مثل CAT, GPOX, SOD و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی را افزایش می‌دهد. دیده شده که میزان H2O2با اعمال ۵ میلی‌مولار کلسیم در گیاه فیلانتوس آماروس تحت تنش شوری نسبت به اعمال شوری تنها، کاهش می‌یابد. در همین گیاه ۵ میلی‌مولار کلسیم باعث افزایش میزان CAT, GPOX, SOD نسبت به گیاهانی که کلسیم دریافت نکردند، شده است(Jaleel et al., (2007. در گیاه هالوفیت *Cakile maritima* مقاومت به شوری همراه با کلسیم با بیشترین فعالیت پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات‌پراکسیداز، مونو دهیدرو آسکوربات‌رداکتاز، دهیدروآسکوربات‌رداکتاز و گلوتاتیون‌رداکتاز همراه است. در عدم حضور کلسیم گیاهان *Cakile maritime* تحت تنش شوری، حداقل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را نشان

می‌دهند و مقاومت به شوری با غلظتی متوسط از کلسیم بهبود می‌یابد Ben Amor et al., (2010). بنابراین یک سازوکار مهم برای تسهیل تحمل شوری در گیاهان، مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد Jaleel et al., (2007). در آزمایشی اثر توام کلریدسدیم (شوری) و کلریدکلسیم بر گیاه گوجه‌فرنگی بررسی شد. نتایج افزایش معنی‌دار مقدار سدیم و کلر برگ و کاهش معنی‌دار مقدار کلسیم را با افزایش شوری نشان داد. در محلول غذایی شامل کلریدسدیم + کلریدکلسیم، مقدار سدیم و کلسیم برگ به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌دار داشتند ولی مقدار کلر تغییر معنی‌داری نشان نداد. به عبارتی درصد کلر برگ‌های گیاه گوجه فرنگی تفاوت معنی‌داری را در محلول غذایی شامل کلریدسدیم و کلریدکلسیم در غلظت‌های مختلف نشان نداد، بنابراین استفاده از کلریدکلسیم برای کاهش اثرات مخرب سدیم، تاثیر چندانی در افزایش کلر و خطرات احتمالی ناشی از غلظت بالای آن مشاهده نشد Tabatabaeian,(2014).

نتیجه‌گیری

با در نظرگرفتن اثرات متقابل شوری و تیمار کلسیم‌کلرید می‌توان گفت که تیمار کلسیم‌کلرید می‌تواند اثرات مخرب شوری را تعدیل کند و به این شکل توانایی گیاه پریوش را برای رشد و بقاء در شرایط شوری بهبود دهد. افزایش رنگیزه‌ها، وزن تر و خشک بخش هوایی، سطح برگ و آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی سازوکارهایی هستند که کلسیم به واسطه آنها تحمل گیاه پریوش را جهت بقاء و تحمل شوری افزایش می‌دهد. همچنین کلسیم با افزایش آنتی‌اکسیدانت‌های پریوش در بهبود کیفیت گیاه دارویی فوق می‌تواند موثر باشد.

منابع

Abe, N., Murata, T. Hirota, A. (1998) Novel 1,1-diphenyl-2-picryhy- drazyl-radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 62: 61-662.

Alam, R., Iqbal, A., Khan, I., Ali, I. (2011) Enhanced antioxidant defense after exogenous application of Ca2+ and K+ in Brassica napus seedlings under water deficit stress. African Journal of Biotechnology. 10(64): 14052-14060.

Alkhani, H., Ghorbani, M. A. (1992) Contribution to the halophytic vegetation and flora of Iran. In: `Towards the Rational Use of High Salinity Tolerance Plants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 1: 35-44.

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

Arnon, DI. (1949)Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris.Plant Physiology. 24: 1–15.

Arshad, M., Saqib, M., Akhtar, J., Asghar, M. (2012)Effect of calcium on the salt tolerance of different of wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes.Pakistan Journal Agricultur Science. 49(4):497-504.

Arshi, A., Ahmad, A., Aref, IM., Iqbal, M., (2010a)Calcium interaction with salinity-induced effects on growth and metabolism of soybean (*Glycine max* L.) cultivars. Journal of Environmental Biology. 31(5) 795-801.

Arshi, A., Ahmad, A., Aref, IM., Iqbal, M., (2010b) Effect of calcium against salinity-induced inhibition in growth, ion accumulation and proline contents in *Cichorium intybus* L. Journal of Environmental Biology. 31(6) 939-944.

Babu, M. A., Singh, D., Gothandam, K.M., (2011)Effect of salt stress on expression of *carotenoid pathway* genes in tomato. Journal of Stress Physiology anf Biochemistry. 7 (3):87-94.

Ben Amor, N., Megdiche, W., Jiménez, A., Abdelly, C. (2010)The effect of calcium on the antioxidant systems in the halophyte *Cakile maritima* under salt stress. Acta Physiologiae Plantarum.32:453-461.

Cakmak, I., Marschner, H. (1992)Manesium deficiency *Oryza sativa* and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascrobate peroxidase, and glutatione reductase in bean leaves. Plant Physiology. 98: 1222-1227.

Celik, O., Atak, C. (2012)The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties.Turkish Journal of Biology. 36: 339-356.

Cha-um, S., Pal Singh, H., Samphumphuang, T., and Kirdmanee, C.,(2012) Calcium-alleviated salt tolerance in indica rice (*Oryza sativa* L. spp. indica). Physiological and morphological changes.Australian Journal Crop Sience 6(1):176-182.

Cramer, G R. (1992)Kinetics of maize leaf elongation. II. Response of a Na-excluding cultivar and a Na including cultivar to varying Na/Ca salinities, Journal of Experimental Botany. 43: 857-864.

Duran, RE,. Coskun, Y., Savaskan, C. (2011)The examination of Na-Ca effect on some qualitative and quantitative characters in durum wheat plants. African Journal of Biotechnology. 10(64): 14013-14023.

Foyer, C.H., Noctor, G. (2005)Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. ThePlant Cell. 17: 1866-1875.

Gaber, M. (2010) Antioxidative defense under salt stress.Plant signaling and Behavior. 5(4): 369-374.

Ghannoum, O. (2009)C4 photosynthesis and water stress. Annals of Botany. 103: 635-44.

Giannopolitis, C.N., Ries, S.K. (1977)Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. Plant Physiology. 59: 309-314.

Gill, S.S., Tuteja, N. (2010)Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants.Plant Physiology and Biochemistry.

48: 909-930.

Gobinathan, P., Sankar, B., Murali, P.V., Panneerselvam, R. (2009)Interactive Effects of Calcium Chloride on Salinity-Induced Oxidative Stress in *Pennisetum typoidies*. Botany Research International. 2 (3): 143-148.

Hsu, S.Y., Kao, C.H. (2003) Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. Plant Growth Regulation. 39:83–90.

Hernandez, J.A., Ferrer, M.A., Jimenez, A., Barcelo, A.R., Sevilla, F., (2001) Antioxidant system and $O^{2\bullet}-/H_2O_2$ production in the apoplast of *Pisum sativum* L. leaves: its relation with NaCl-induced necrotic lesions in minor veins, Plant Physiology. 127: 817–831.

Hirschi, K.D. (2004)The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal.Plant Physiology. 136: 2438–2442.

Howladar, S.M., Rady, M.M. (2012)Effects of calcium paste as a seed coat on growth, yield and enzymatic activities in NaCl stressed-pea plants.African Journal of Biotechnology. 11(77):14140-14145.

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Lakshmanan, G.M.A., Sridharan, R., and Panneerselvam, R. (2007)NaCl as a physiological modulator of proline metabolism and antioxidant potential in *Phyllanthus amarus*. Comptes Rendus Biologies. 330: 806-813.

Jaleel, C.A., Gopi, R., Gomathinayagam, M., Panneerselvam, R. (2008)Effect of calcium chloride on metabolism of salt stressed *Dioscorea Rotundata*. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica. 50(1): 63–67.

Jiang, Y.W., Huang, B.G., (2001) Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cool-season grasses. Journal of Experimental Botany. 35: 341-349.

Kader, M.A., Lindberg, S., (2010)Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress. Plant Signaling and Behavior. 5 (3):233-238.

Kafi, M., Nabati, J., Masoumi, A., Mehrgerdi, M.Z., (2011)Effect of salinity and silicon application on oxidative damage of sorghum (*Sorcgum bicolor* L.) monech..Pakistan journal of Botany.43(5): 2457-2462.

Khayyat, M., Rajaee, S., Sajjadinia, A., Eshghi,S., and Tafazoli, E. (2009) Calcium

effects on changes in chlorophyll contents, dry weight and micronutrients of strawberry (Fragaria × ananassa Duch.) plants under salt-stress conditions. Fruits 64: 53–59

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., and Abdelly, C., (2007) Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima.* Plant Physiology and Biochemistry. 45: 244-249.

Lau, T.S.L., Eno, E., Goldstein, G., Smith, C., Christopher, D.A., (2006) Ambient levels of UV-B in Hawaii combiend with nutrient deficiency decrease photosynthesis in nearisogenic maize lines varying in leaf flavonoids: Flavonoids decrease photoinhibition in plants exposed to UV-B. Photosynthetica. 44: 394-403.

Lichtenthaler, H.K., and Wellburn, A.R., (1983) Determinations of total carotenoids and *chlorophylls a* and *b* of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592.

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

Munns, R,, Tester, M., (2008)Mechanism of Salinity Tolerance.Annual Review of Plant Biology.59: 651-681.

Park, H.Y., Kim, S.A., Korlach, J., Rhoades, E., Kwok, L.W., Zipfel, W.R., Waxham, M.N., Webb, W.W. and Pollack. L. (2008) Conformational changes of calmodulin upon Ca^{2+} binding studied with a microfluidic mixer. Proceedings of the National Academyof Sciences.United State American. 105, 542–547.

Polle, A., Otter, T., Seifert, F. (1994)Apoplastic peroxidases and lignification in needles of norway spruce (*Picea Abies* L.). Plant Physiology. 106: 53-56.

Rengasamy, P. (2010)Soil processes affecting crop production in salt affected soils. Functional Plant Biology. 37: 613–620.

Sadeghi, H. (2011) Differential response to salinity in two Iranian barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars.Romanian agricultural research. 28: 57-64.

Shi, Q., Ding, F., Wang, X., Wei, M. (2007) Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. Plant

Physiology and Biochemistry. 45: 542-550.

Siddiqui, MH., Al-Whaibi, M.H., Basalah, M.O. (2011)Interactive effect of calcium and gibberellin on nickel tolerance in relation to antioxidant systems in *Triticum aestivum* L. Protoplasma. 248: 503–511.

Siddiqui, M.H., Al-Whaibi, M.H., Sakran, A.M., Basalah, M.O., Ali, H.M. (2012) Effect of Calcium and Potassium on Antioxidant System of *Vicia faba* L. Under Cadmium Stress.International Journal of Molecular Sciences. 13, 6604-6619.

Sreevalli, Y., Kulkarni, R.N., Baskaran, K., Chandrashekara, R.S.(2004) Increasing the content of leaf and root alkaloids of high alkaloid content mutants of periwinkle through nitrogen fertilization, Industrial Crops and Products. 19: 191–195.

Tabatabaeian, J., (2014). The effects of calcium on improvement of salt stress damages in tomato. Journal plant production research, gorgan university of agricultural sciences and natural resources. 21(2): 125-137, (In Persian).

Tunçtürk, M., Tunçtürk, R., Yildirim, B., Çiftçi, V. (2011)Effect of salinity stress on plant fresh weight and nutrient composition of some Canola (*Brassica napu*s L.) cultivars.African Journal of Biotechnology. 10:1827-1832.

Wang, Y. X., and Oyaizu, H. (2009) Evaluation of the phytoremediation potential of four plant species for dibenzofu-ran-contaminated soil. Journal of Hazardous Materials 168: 760-764.

White, P.J. (2000)Calcium cannel in higher plant. Biochimica et Bophysica Acta. 1465:171-189.

Whittington, J., Smith, F.A. (1992)Calcium-salinity interactions affect ion transportin *Chara corallina*. Plant, Cell and Environment. 15: 727-733.