Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 50, No 3, Autumn 2019 (649-665)
DOI: 10.22059/ijhs.2018.259323.1456

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۰، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۸ (ص ۶۶۵-۶۴۹)

اثر محلول‌پاشی لاکتات‌کلسیم بر خصوصیات فیزیولوژیکی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد کاهو (*Lactuca sativa* L.) تحت شرایط کم‌آبیاری

آرزو خانی[۱]، طاهر برزگر[۲*]، جعفر نیکبخت[۲] و زهرا قهرمانی[۳]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۲۲)

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثر لاکتات‌کلسیم بر برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی، آنتی‌اکسیدانی و عملکرد کاهو تحت شرایط کم‌آبیاری، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در شرایط اقلیمی زنجان در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه رژیم آبیاری مختلف (۱۰۰، ۸۵ و ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه) به‌عنوان فاکتور اصلی و محلول‌پاشی لاکتات‌کلسیم در سه سطح (۰، ۰/۷۵ و ۱/۵ گرم در لیتر) به‌عنوان فاکتور فرعی بودند. نتایج نشان داد که تنش کم‌آبیاری به‌طور معنی‌داری فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان پرولین، فنل، فلاونوئید و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را افزایش داد و شاخص پایداری غشا، محتوای نسبی آب برگ، باقیمانده آب برگ و عملکرد را کاهش داد. کاربرد برگی لاکتات‌کلسیم به‌طور معنی‌داری وضعیت آب برگ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد گیاه را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. بیشترین مقدار پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز با کاربرد لاکتات‌کلسیم ۱/۵ گرم در لیتر در شرایط کم‌آبیاری ۷۰ درصد حاصل شد. حداکثر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت ۰/۷۵ گرم در لیتر و شرایط کم‌آبیاری ۸۵ درصد به‌دست آمد. با توجه به نتایج، کاربرد لاکتات‌کلسیم ۱/۵ گرم در لیتر برای بهبود وضعیت آب برگ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی و عملکرد کاهو پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پایداری غشا، پرولین، محتوای نسبی آب.

Effect of foliar spray of calcium lactate on physiological characteristics, antioxidant activity and yield of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under deficit irrigation

Arezoo Khani[1], Taher Barzegar[2*], Jaefar Nikbakht[2] and Zahra Ghahremani[3]
1, 2, 3. Former M. Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
(Received: Jun. 3, 2018 - Accepted: Aug. 13, 2018)

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of calcium lactate (Ca) on some physiological, antioxidant properties and yield of lettuce cv. New Red Fire under deficit irrigation, a split plot experiment based on randomized complete blocks design with three replications was conducted in Zanjan climatic conditions during 2017. Experimental treatments consisted of three different irrigation regimes (70, 85 and 100% ETc) as the main plot and calcium lactate at three levels (0, 0.75 and 1.5 $g.l^{-1}$) as a sub plot. Results showed that deficit irrigation significantly increased the antioxidant activity, proline, phenol, flavonoids contents as well as peroxidase and catalase enzymes activity. In contrast, deficit irrigation reduced the membrane stability index, leaf relative water content, excised leaf water retention and yield. The foliar application of calcium lactate significantly increased plant water status, antioxidant activity and yield. The highest proline content and catalase and peroxidase enzymes activity was obtained with application of 1.5 $g.l^{-1}$ Ca under deficit irrigation of 70% ETc. The maximum antioxidant activity was achieved under 0.75 $g.l^{-1}$ Ca treatment and deficit irrigation of 85% ETc. According to results, application of 1.5 $g.l^{-1}$ Ca can be proposed to improve plant water status, enzyme and non-enzyme antioxidant activity and yield of lettuce.

Keywords: Antioxidant enzymes, proline, relative water content, membrane stability.

* Corresponding author E-mail: tbarzegar@znu.ac.ir

مقدمه

کاهو (*Lactuca sativa* L.) مهم‌ترین سبزی سالادی مورد استفاده در جهان می‌باشد و به‌عنوان یک سبزی فصل سرد در مناطق مختلف جهان کشت می‌گردد (Křístková *et al.*, 2008). از نظر ارزش غذایی، کاهو دارای ویتامین‌های A، B، C و E، کارتنوئیدها و مواد معدنی نظیر سدیم، آهن، فسفر، منیزیم، روی، منگنز و کلسیم است (Perucka & Olszowka, 2011). برگ‌های کاهو حاوی ترکیبات خاصی به نام لاکتوسین‌ها هستند که عملکرد تیروئید، و همچنین کارایی فیبر، اسیدفولیک و بتاکاروتن را تحریک می‌کنند. همچنین برگ کاهو منبع غنی از اسیدهای فنولیک بوده که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان مهارکننده بیماری‌های سرطانی عمل نماید (Stepkowska, 2004).

تنش کم‌آبی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که رشد و تولید گیاهان را در سراسر دنیا محدود می‌کند. کم‌آبیاری یک راهبرد برای تولید پایدار محصولات کشاورزی در شرایط کمبود آب است (Kirnak *et al.*, 2002). بسیاری از گیاهان، دارای مکانیسم خاصی جهت مقابله با شرایط کم‌آبی و افزایش کارآیی مصرف آب می‌باشند. یکی از مهم‌ترین سازگاری‌های فیزیولوژیکی گیاهان تنظیم اسمزی است که از طریق تجمع ترکیبات آلی و غیرآلی در سلول، پتانسیل آب را کاهش داده و امکان جذب بیشتر آب از محیط‌های کم‌آب را برای گیاه فراهم می‌کند (Ashraf, 2010).

گیاهان برای تنظیم پتانسیل اسمزی درون سلول در شرایط محیطی نامساعد، مواد با وزن مولکولی کم را که محلول سازگار نامیده می‌شوند، تجمع می‌دهند. این مواد عموماً شامل اسیدهای آمینه، قندها و اسیدهای آلی می‌باشند که در بین آنها احتمالاً پرولین گسترده‌ترین ترکیب محلول است و به‌نظر می‌رسد تجمع آن در فرآیند سازگاری به تنش خشکی در بسیاری از گیاهان دخالت دارد (Jafarzadeh *et al.*, 2013). مطالعات انجام‌شده نشان داد که تنش آبی اثر معنی‌داری بر رشد، عملکرد و مقدار کلروفیل در گیاه ریحان داشته است (Hassani & Omid Beighi, 2002). اثرات تنش رطوبتی در گیاه گشنیز منجر به کاهش محتوای نسبی آب بافت و پتانسیل آب برگ گردید. همچنین در این مطالعه تنش آبی سبب افزایش محتوای پرولین و مالون‌دی‌آلدهید شد (Anjali & Kale, 2007). گزارش شده است که تنش خشکی فعالیت آنزیم پراکسیداز را در پونه افزایش داد (Hassanpour & Niknam, 2014). Sayyari *et al.* (2013)، گزارش کردند که تنش کم‌آبی وزن تر، وزن خشک، سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ را کاهش داد اما منجر به افزایش پرولین در کاهو شد.

کلسیم یکی از عناصر غذایی ضروری است که نقش قابل‌توجهی در رشد و کیفیت سبزی‌ها دارد. به‌عنوان یک کاتیون دو ظرفیتی برای فعالیت‌های ساختاری دیواره و غشای سلول، یک کاتیون متقابل برای آنیون‌های آلی و غیرآلی درون واکوئل و یک پیام‌رسان درون‌سلولی لازم است. کلسیم نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاه ایفا می‌کند. این عنصر با اتصال به فسفولیپیدها، لایه‌های چربی را پایدار کرده و در نهایت موجب یکپارچگی ساختار غشاهای سلولی می‌شود (Kader & Lindberg, 2010). کلسیم در تنظیم مکانیسم‌های مختلف گیاهان در شرایط محیطی نظیر کم‌آبی، گرما، سرما و شوری نقش دارد. علاوه بر این نشان داده شده است که کلسیم برای کاهش اثرات نامطلوب تنش آب روی گیاهان و افزایش تحمل به کم‌آبی نیاز است (Cousson, 2009). اثر مثبت کلسیم در بهبود تحمل به تنش‌های غیرزیستی به تنظیم روابط آبی، فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، انباشت اسمولیت‌ها، بهبود محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی و تعادل تغذیه‌ای نسبت داده شده است (Kurtyka *et al.*, 2008).

کلسیم به‌صورت نمک‌های مختلف و یا ترکیب با مواد مختلف از جمله کلریدکلسیم، لاکتات‌کلسیم، پروپیونات‌کلسیم و آسکوربات‌کلسیم استفاده می‌شود. لاکتات‌کلسیم یک جایگزین مناسب برای کلریدکلسیم است زیرا از تلخی یا طعم‌های مرتبط با نمک کلرید اجتناب می‌کند (Luna-Guzman & Barrett, 2000). بر اساس مطالعات انجام‌شده کاربرد کلسیم در گیاه چای، با افزایش میزان پرولین، ترکیبات فنلی برگ و

فعالیت آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز و پراکسیداز، میزان هیدروژن پراکسید و پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش را کاهش داد (Upadhyaya *et al.*, 2011). طبق آزمایشی در زغال‌اخته کاربرد پس از برداشت تیمار کلسیم در حفظ آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از قبیل فنل و فلانوئیدها مؤثر بوده است (Soleimani Aghdam *et al.*, 2013). ارزیابی منابع مختلف کلسیم در گیاه ذرت نشان داد که با افزایش غلظت لاکتات‌کلسیم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای آنتوسیانین و فنل کل افزایش یافت (Sánchez-Madrigal *et al.*, 2015). ازآنجایی‌که در منابع موجود و نتایج فعالیت‌های تحقیقاتی مربوطه گزارشی در زمینه کاربرد لاکتات‌کلسیم تحت تنش کم‌آبی ارائه نشده است و همچنین با توجه بـه وضعیت بحران آب در ایران و ارزش دارویی و غذایی گیاه کاهو و از طرفی فقدان اطلاعات کافی درباره ویژگی‌های این گیاه در اوضاع نامساعد اقلیمی نظیر خشکی، این تحقیق به‌منظور بررسی اثر تنش کم‌آبی بر تغییرات برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و اثر محلول‌پاشی لاکتات‌کلسیم بر کاهش تأثیر مضر تنش کم‌آبی بر کاهوی رقم New Red Fire انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در تابستان و پاییز سال ۱۳۹۶ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۸۵ و ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه) و سه سطح لاکتات‌کلسیم (۰، ۰/۷۵ و ۱/۵ گرم در لیتر) که تیمار آبیاری به‌عنوان عامل اصلی و لاکتات‌کلسیم به‌عنوان عامل فرعی بود. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و آب محل آزمایش در جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده است.

بذرهای کاهوی رقم نیو رد فایر (New Red Fire) از شرکت TAKII SEED تهیه و در داخل سینی‌های مخصوص کاشت بذر (۷۲ حفره‌ای) در بستر حاوی پیت‌ماس در گلخانه (دمای $^{\circ}C$ ۳±۲۳ روز و $^{\circ}C$ ۳±۱۸ شب با رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد) کشت شدند. پس از آماده‌شدن زمین، نشاها در مرحله چهار تا پنج برگی در ۱۳ شهریور به زمین اصلی منتقل شدند. فاصله ردیف‌ها ۳۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. پس از استقرار اولیه گیاهان در مرحله شش تا هفت برگی، یک هفته پس از انتقال نشا، اولین محلول‌پاشی برگی لاکتات‌کلسیم صورت گرفت و محلول‌پاشی‌های بعدی در دو مرحله با فاصله ۱۰ روز یکبار در طول دوره‌ی رشد گیاه انجام گرفت. تیمارهای آبیاری یک هفته پس از اولین محلول‌پاشی اعمال شد. زمان محلول‌پاشی برای تمام تیمارها یکسان بود و برای محلول‌پاشی تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. نیاز آبی گیاه برای تیمار شاهد با استفاده از میانگین بلندمدت داده‌های روزانه و داده‌های سال جاری شاخص‌های هواشناسی ثبت‌شده در ایستگاه هواشناسی زنجان و رابطه‌ی استاندارد فائو- پنمن- مانتیس (رابطه ۱) برآورد گردید (Vaziri *et al.*, 2008).

$$ET_C = ET_0 \times K_C \qquad (1)$$

که در آن: ET_C: نیاز آبی کاهو (میلی‌متر در روز)، ET_0: تبخیر-تعرق گیاه مرجع چمن (میلی‌متر در روز) و K_C: ضریب گیاهی کاهو (بدون واحد) می‌باشد.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 1. Physical and chemical properties of the Experimental soil

Soil Texture	Organic matter (%)	pH	EC ($dS.m^{-1}$)	N (%)	Ca ($g.kg^{-1}$)	Na ($g.kg^{-1}$)	K ($g.kg^{-1}$)
Loamy clay	0.94	7.4	1.49	0.07	0.12	0.13	0.20

جدول ۲. خصوصیات شیمیایی آب آبیاری محل آزمایش

Table 2. Chemical properties of the irrigation water used in the experiment

SO_4^{-2} ($mg.l^{-1}$)	HCO_3^- ($mg.l^{-1}$)	CO_3^{-2} ($mg.l^{-1}$)	Cl ($mg.l^{-1}$)	Mg ($mg.l^{-1}$)	Ca ($mg.l^{-1}$)	K ($mg.l^{-1}$)	Na ($mg.l^{-1}$)	EC ($dS.m^{-1}$)	PH
550.5	159	0/0	435.3	241.6	400	2.74	152	2.7	7.2

لازم به توضیح است مقادیر ET_0 براساس روش استاندارد فائو- پنمن- مانتیث برآورد شد. میانگین بلندمدت پارامترهای هواشناسی ایستگاه سینوپتیک زنجان در دوره رشد گیاه را که برای محاسبه مقادیر ET_0 و ET_C مورد استفاده قرار گرفت، در جدول ۲ نشان داده شده است. پس از محاسبه مقادیر ET_C، مقادیر نیاز خالص و نیاز ناخالص آب آبیاری گیاه کاهو بر اساس فواصل کشت، نوع سیستم آبیاری (قطره‌ای- نواری) و دور آبیاری (سه روز) برآورد شده و سپس در هر نوبت آبیاری به گیاه تأمین می‌گردید. نیاز آری سایر تیمارها (تیمارهای تنش آبی) بر اساس نیاز آبی تیمار شاهد و درصد تنش آبی، برآورد و توزیع شد. در پایان دوره‌ی رشد (۶۲ روز)، از هر واحد آزمایشی با حذف اثر حاشیه‌ای از شش بوته نمونه‌برداری و برای اندازه‌گیری صفات موردنظر به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان منتقل شد.

صفات مورد ارزیابی

برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، دو میلی‌لیتر کربنات‌سدیم دو درصد، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین‌سیکالچو ۵۰ درصد اضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت جذب آنها در طول‌موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسید گالیک به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد به‌کار رفت. محتوای فنل کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن تر گیاه گزارش شد (Meda *et al.*, 2005). میزان محتوای فلاونوئید عصاره با روش رنگ‌سنجی ارزیابی شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره گیاه در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم‌کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم‌استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب مخلوط حاصل در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل SAFAS MONACO (RS 232) خوانده شد. میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد (Chang *et al.*, 2002).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از رادیکال آزاد DPPH (2,2- Diphenyl- Picryl- Hydrazyl) استفاده شد. ابتدا عصاره‌های گیاهی در غلظت دو گرم در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد تهیه شد. سپس مخلوطی به نسبت ۱:۱ از محلول DPPH (8 mg/100) و عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های متفاوت تهیه شد. جذب نمونه‌ها بعد از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها از رابطه (۲) به‌دست آمد (Sun *et al.*, 2007).

$$\text{فعالیت آنتی‌اکسیدانی} = \frac{\text{جذب DPPH} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب DPPH}} \times ۱۰۰ \quad (۲)$$

به‌منظور اندازه‌گیری شاخص پایداری غشای سلول، یک گرم برگ با آب مقطر شسته‌شده و در لوله‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شدند. لوله‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب‌گرم ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و هدایت الکتریکی آنها پس از سرد شدن با دستگاه هدایت‌سنج قرائت شد (EC_1). سپس لوله‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و هدایت الکتریکی آنها پس ار سرد شدن قرائت شد (EC_1) و در نهایت شاخص پایداری غشای سلولی با استفاده از رابطه (۳) به‌صورت درصد محاسبه شد (Azizpour *et al.*, 2010).

$$EL= (EC_1/EC_2) \times 100 \quad (۳)$$

جدول ۳. آمار هواشناسی مربوط به ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه زنجان در فصل زراعی ۱۳۹۶

Table 3. Meteorological statistics of the Agricultural Research Station of Zanjan University during the crop year 2017

Meteorological parameter	May	June	July	August	September
Rainfall (mm)	0.01	1.11	5.00	0.00	0.02
Average temperature (˚C)	22.94	25.71	27.68	24.79	15.73
Minimum temperature (˚C)	11.29	16.8	17.61	14.68	7.89
Maximum temperature (˚C)	32.47	33.96	36.82	35.12	25.05

برای اندازه‌گیری درصد محتوای نسبی آب برگ (RWC)، ابتدا یک گرم از برگ‌های تازه (FW) توزین گردید. سپس برگ‌ها را به‌مدت ۲۴ ساعت درون آب مقطر غوطه‌ور کرده دوباره وزن کرده و وزن اشباع برگ‌ها (TW) اندازه‌گیری شد. در نهایت برگ‌ها را به‌مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و وزن خشک برگ‌ها (DW) تعیین گردید. در نهایت محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه (۴) محاسبه گردید (Hanson & Hitz, 1982).

$$RWC\ (\%) = \frac{(FW-DW)}{(TW-DW)} \times 100 \qquad (۴)$$

برای تعیین میزان باقیمانده آب برگ ((ELWR Excised Leaf Water Retention)، جوان‌ترین برگ‌ها از هر واحد آزمایشی جمع‌آوری شده و وزن تر (FW) اندازه‌گیری شد. سپس در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۱۲ ساعت نگهداری و مجددا وزن آن تعیین شد (WL) و با استفاده از رابطه (۵) مقدار ELWR محاسبه شد (Lonbani & Arzani, 2011).

$$ELWR = [1-(FW-WL)/\ FW]\times 100 \qquad (۵)$$

برای اندازه‌گیری پرولین برگ، ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگ تر در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد، همگن شده و عصاره به‌دست‌آمده صاف شد. دو میلی‌لیتر اسید استیک و دو میلی‌لیتر ناین‌هیدرین به دو میلی‌لیتر از این عصاره صاف شده، اضافه شد. محلول به‌دست‌آمده به‌مدت یک ساعت در حمام آب و در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از آن برای پایان‌یافتن واکنش، لوله‌های آزمایش درون یک بستر یخی قرار گرفتند و چهار میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه شد. غلظت پرولین نمونه‌ها در تولوئن با استفاده از غلظت‌های مختلف پرولین، بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Bates *et al.*, 1973).

برای تهیه عصاره آنزیمی یک گرم نمونه گیاهی در پنج میلی‌لیتر بافر استخراج سدیم پتاسیم فسفات (NaKPi) ۲۰۰ میلی‌مولار (pH=7) در هاون، سابیده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. قسمت بالایی محلول به‌عنوان عصاره آنزیمی جدا و در فریز با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX) با استفاده از پیش‌ماده گایاکول اندازه‌گیری شد. افزایش جذب بر اساس میزان اکسیدشدن گایاکول در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت ۳ دقیقه بر حسب ($units.g^{-1}\ FW.min^{-1}$) به‌روش اسپکتروفتومتری (اسپکتروفتومتر JENWAY مدل UV-6505) در دمای آزمایشگاه اندازه‌گیری شد (Chance & Maehly,1955). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر روی طول‌موج ۲۴۰ نانومتر و مدت زمان یک دقیقه و با فاصله زمانی پنج ثانیه تنظیم شد. برای قرائت نمونه‌ها از مخلوط واکنش با حجم نهایی ۲۹۳۰ میکرولیتر حاوی ۲۹۰۰ میکرولیتر بافر سدیم پتاسیم فسفات، ۱۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۱۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی برگ استفاده شد. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر تعیین و به‌ازای هر گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد (Cakmak & Horst, 1991).

در نهایت به‌منظور ارزیابی عملکرد و وزن متوسط بوته، بوته‌ها پس از برداشت با ترازوی دیجیتال گرمی (مدل EK3000I) وزن شدند. وزن متوسط تک‌بوته به‌صورت گرم و عملکرد کل به‌صورت کیلوگرم در هکتار برآورد شد.

آنالیز داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS V9 و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک و پنج درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد که اثر سطوح مختلف آبیاری بر همه صفات معنی‌دار شد. همچنین لاکتات‌کلسیم اثر معنی‌داری بر محتوای فنل، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار پرولین، محتوای نسبی و باقیمانده آب برگ، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و عملکرد داشت. اثر متقابل سطوح مختلف لاکتات‌کلسیم و تنش کم‌آبی بر محتوای فنل، فلاونوئید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، باقیمانده آب برگ و عملکرد در سطح ۵ درصد و بر محتوای پرولین در سطح ۱ درصد

معنی‌دار شد و بر شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول‌های ۴ و ۵).

فلاونوئید و فنل کل

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اعمال تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌داری محتوای فنل و فلاونوئید برگ را افزایش داد، همچنین کاربرد لاکتات‌کلسیم باعث افزایش مقدار فلاونوئید و فنل کل گردید (جدول ۴ و شکل ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار فنل کل در برگ گیاهان محلول‌پاشی شده با لاکتات‌کلسیم ۰/۷۵ گرم در لیتر و بیشترین مقدار فلاونوئید به‌ترتیب در برگ گیاهان محلول‌پاشی شده با لاکتات‌کلسیم ۰/۷۵ و ۱/۵ گرم در لیتر تحت شرایط آبیاری ۷۰ درصد نیاز آبی حاصل شد (شکل ۱). با توجه به نتایج، در شرایط تیمارهای مختلف آبیاری با وجود افزایش محتوای فنل کل با محلول‌پاشی لاکتات‌کلسیم، بین غلظت‌های مختلف لاکتات‌کلسیم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل A-۱). در تمام سطوح آبیاری، کاربرد ۰/۷۵ گرم در لیتر لاکتات‌کلسیم بیشترین تأثیر را بر مقدار فلاونوئید کل داشت و فقط در تیمار کم‌آبیاری ۷۰ درصد با سطح ۱/۵ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نشان نداد (شکل B-۱).

ترکیبات فنولی شامل گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه در گیاه هستند که خواص آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند این ترکیبات به‌عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل کرده و سبب تحمل گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند (Rimmer, 2006). فلاونوئیدهای موجود در برگ به‌عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند، همچنین فلاونوئیدها به‌دلیل داشتن نقش آنتی‌اکسیدانی به‌طور مستقیم با واردشدن در واکنش‌های احیایی و یا به‌طور غیرمستقیم به‌وسیله کلاته‌کردن آهن مانع تنش اکسیداتیو می‌شود (Schallaer & Kieber, 2002).

جدول ۴. تجزیه واریانس اثر لاکتات‌کلسیم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی کاهو تحت شرایط کم‌آبیاری

Table 4. Variance analysis of effect of calcium lactate on enzymatic and non-enzymatic antioxidant activity in lettuce under deficit irrigation

S.O.V	df	Mean of Squares					
		Phenol	Flavonoids	Antioxidant activity	Proline	CAT activity	POX activity
Replacation	2	0.002	0.3083	16.7254	0.1025	0.0577	0.003
Irrigation	2	6.1878**	11.9323**	132.4716**	15.3456**	1.9531**	0.851**
Error (a)	4	0.1352	0.3306	23.524	0.371	0.0094	0.0018
Calcium lactate	2	1.0575**	24.2656**	318.416**	6.7774**	0.7021**	0.052*
Calcium lactate × Irrigation	4	0.4755*	1.1492*	43.0049*	1.3735**	0.0751*	0.0302*
Error (b)	12	0.1211	0.3384	9.6861	0.1483	0.023	0.0084
Coefficient of Variation (%)	-	2. 31	4.19	3.73	3.9	8.87	16.93

ns، * و **: نبود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱درصد.

ns,*,**: Non significant, Significant at 5 and 1% of probability levels, respectively.

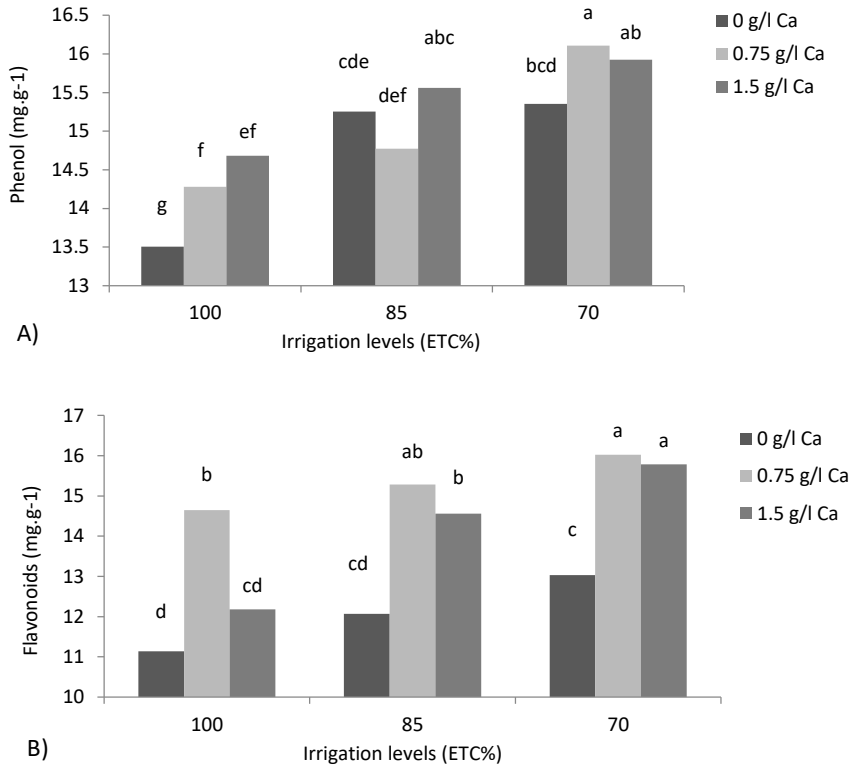
جدول ۵. تجزیه واریانس اثر لاکتات‌کلسیم بر خصوصیات فیزیولوژیکی کاهو تحت شرایط کم‌آبیاری

Table 5. Variance analysis of effect of calcium lactate on physiological characteristics in lettuce under deficit irrigation

S.O.V	df	Mean of Squares			
		Yield	ELWR	RWC	Membrane stability index
Replacation	2	206838.82	23.6771	8.6149	2.7341
Irrigation	2	21349043.15**	238.2608**	42.7998*	29.1756*
Error (a)	4	83934.71	14.1064	9.0367	7.3687
Calcium lactate	2	6105376.18**	420.1241**	186.6916**	2.052^{ns}
Calcium lactate × Irrigation	4	413961.66*	29.6617*	1.3029^{ns}	0.2965^{ns}
Error (b)	12	101407.46	6.1765	9.3237	7.0076
Coefficient of Variation (%)	-	2.82	3.4	3.9	3.34

ns، * و **: نبود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱درصد.

ns,*,**: Non significant, Significant at 5 and 1% of probability levels, respectively.



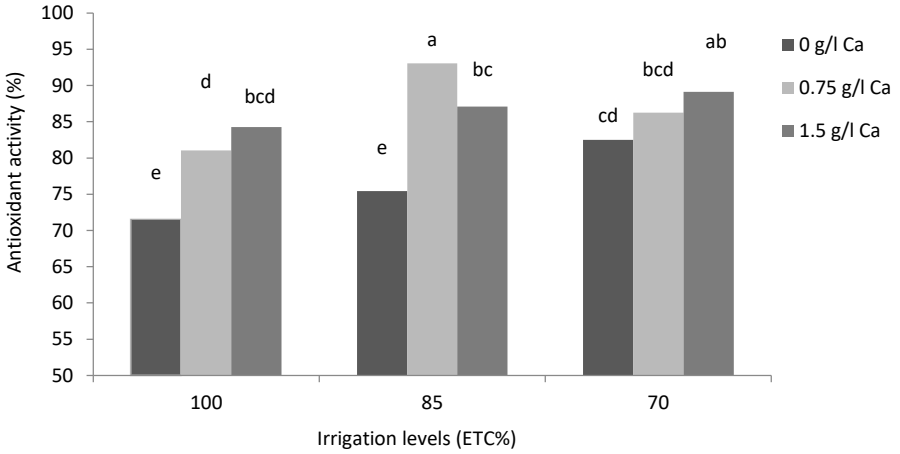
شکل ۱. اثر محلول‌پاشی لاکتات‌کلسیم بر محتوای فنل کل (A) و فلاونوئید (B) کاهو تحت شرایط کم‌آبیاری

Figure 1. Effect of calcium lactate on Total phenol (A) and Flavonoids (B) contents of lettuce under deficit irrigation

زمانی که گیاه در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد مقدار زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن مانند آنیون‌ها، سوپر اکسیدها، رادیکال‌های هیدروکسید و پراکسید هیدروژن تولید می‌شود. در بسیاری از گیاهان سیستم آنزیمی برای از بین‌بردن این رادیکال‌ها فعال می‌شوند (Jubany-Mari *et al.*, 2010). در بررسی اثر تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول در گندم مشخص شده است که علت بالا رفتن سطوح ترکیبات فنلی، افزایش فعالیت و میزان آنزیم بیوسنتزی فنل‌ها می‌باشد (Khazaie & Borzooei, 2006). بیوسنتز ترکیبات فنلی از اسیدآمینه‌ای آروماتیک به‌نام فنیل‌آلانین شروع می‌شود و اولین مرحله دآمینه شدن فنیل‌آلانین توسط آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز و تبدیل آن به ترانس سینامیک‌اسید انجام می‌گیرد (Dutilleul *et al.*, 2003). کلسیم از طریق تأثیر بر آنزیم‌های مؤثر در سنتز و اکسیداسیون فنل‌ها نظیر فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز، پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز نقش خود در چرخه متابولیسم اسیدهای فنولیک را مشخص می‌سازد (Castaneda *et al.*, 1996). محلول‌پاشی برگ‌های کیوی فروت توسط کلریدکلسیم موجب افزایش فنل و آنتی‌اکسیدان کل در میوه گردید (Koutinas *et al.*, 2010). همچنین غلظت ۰/۱ مولار کلسیم باعث کاهش فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ کاهو شد، اما غلظت ۰/۲ مولار باعث افزایش آنها گردید (Perucka & Olszowka, 2010).

فعالیت آنتی‌اکسیدان

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد با افزایش شدت تنش کم‌آبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهو افزایش یافت. همچنین کاربرد لاکتات‌کلسیم سبب افزایش در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی شد (شکل ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ گیاهان محلول‌پاشی‌شده با لاکتات‌کلسیم ۰/۷۵ گرم در لیتر، تحت شرایط آبیاری ۸۵ درصد نیاز آبی حاصل گردید ولی در دو تیمار آبیاری ۱۰۰ و ۷۰ درصد، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱/۵ گرم در لیتر لاکتات‌کلسیم مشاهده شد (شکل ۲).



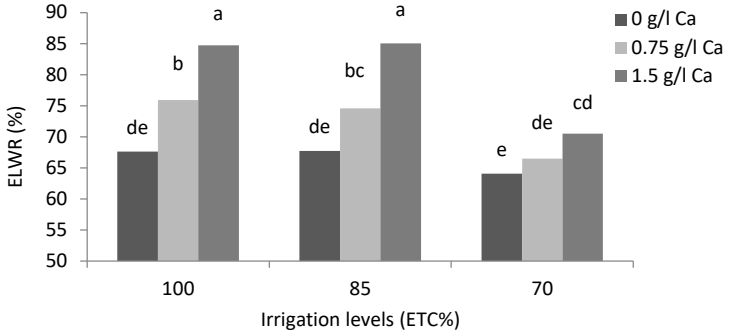
شکل ۲. اثر محلول‌پاشی لاکتات‌کلسیم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهو تحت شرایط کم‌آبیاری
Figure 2. Effect of calcium lactate on Antioxidant activity of lettuce under deficit irrigation

در طول تنش خشکی، گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش یافته که موجب اختلال در سیستم انتقال الکترون شده و باعث ایجاد فعالیت‌های اکسیدانی در کلروپلاست، میتوکندری و میکروبادی‌ها برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده در اثر تنش، می‌گردند (Pandey *et al.*, 2001). همبستگی بالایی بین محتوای فنل کل و فلاونوئید با فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد، کلسیم با بهبود محتوای این ترکیبات، فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد و همچنین ممکن است اثر افزایشی به‌دلیل نقش بازدارندگی آن بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز باشد (Barbagallo *et al.*, 2012). کلسیم تولید گونه‌های فعال اکسیژن از جمله هیدروژن پراکسید را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز که هیدروژن پراکسید را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کنند، کاهش داده (Noctor, 2006) و در نهایت منجر به افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود. همچنین کاربرد پس از برداشت تیمار کلسیم در حفظ آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از قبیل فنل، فلاونوئیدها، آنتوسیانین و آسکوربیک‌اسید مؤثر بوده است (Soleimani aghdam *et al.*, 2013).

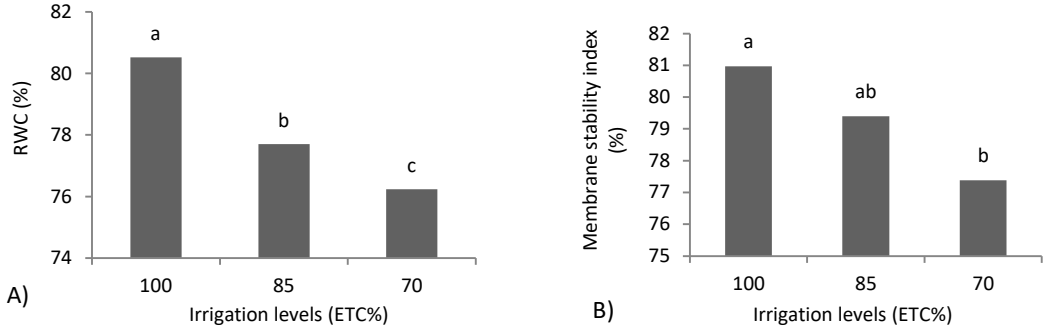
وضعیت آب برگ (RWC, ELWR) و شاخص پایداری غشای سلولی (MSI)

نتایج نشان داد که اعمال کم‌آبیاری محتوای نسبی آب برگ، باقیمانده آب برگ و شاخص پایداری غشا را به‌طور معنی‌داری کاهش داد به‌طوری‌که بیشترین مقدار آنها در تیمار ۱۰۰درصد نیاز آبی گیاه و کمترین مقدارشان در شرایط کم‌آبیاری ۷۰ درصد نیاز آبی به‌دست آمد (شکل‌های ۳ و ۴). تیمار لاکتات‌کلسیم به‌طور معنی‌داری مانع از کاهش محتوای نسبی آب برگ و باقیمانده آب برگ شد (شکل‌های ۳ و ۵)، ولی اثر معنی‌داری بر شاخص پایداری غشای سلولی نداشت (جدول ۳). با نتایج اثرات متقابل مشخص شد که بیشترین درصد باقیمانده آب برگ با کاربرد تیمار لاکتات‌کلسیم ۱/۵ گرم در لیتر تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ و ۸۵ درصد حاصل شد و کمترین درصد باقیمانده آب برگ در تیمار صفر لاکتات‌کلسیم در شرایط کم‌آبیاری ۷۰ درصد به‌دست آمد (شکل ۳).

غشاهای سلولی از اولین بخش‌های سلولی است که توسط تنش‌های محیطی آسیب می‌بینند. حفظ یکپارچگی و ثبات غشای سلولی تحت شرایط تنش کم‌آبی یکی از اجزای مهم تحمل به خشکی در گیاهان است (Ahmadizadeh *et al.*, 2011). دلایل زیادی برای کاهش پایداری غشا در شرایط خشکی بیان شده است. زمانی که محتوای آب در اندام‌های گیاه تحت تنش خشکی کاهش می‌یابد موجب افزایش تراوایی و نشت یونی از سلول و مرگ آن می‌شود (Apel & Hirt, 2004). علت کاهش محتوای نسبی آب برگ، کاهش پتانسیل آب برگ و کاهش جذب از ریشه‌ها در شرایط خشکی می‌باشد (Ma *et al.*, 2006).



شکل ۳. اثر محلول‌پاشی لاکتات‌کلسیم بر محتوای باقیمانده آب برگ کاهو تحت شرایط کم‌آبیاری
Figure 3. Effect of calcium lactate on Excised leaf water retention content of lettuce under deficit irrigation

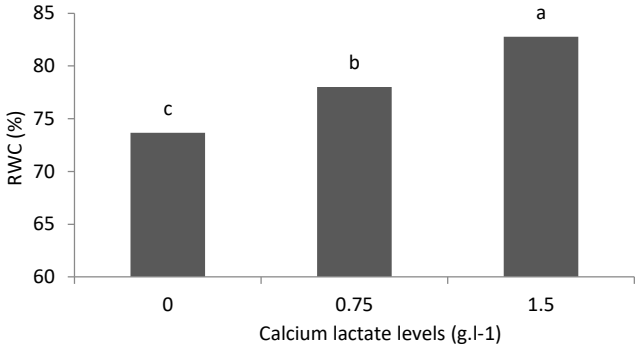


شکل ۴. تأثیر سطوح مختلف آبیاری بر محتوای نسبی آب برگ (A) و شاخص پایداری غشا (B) کاهو
Figure 4. Effect of irrigation levels on Leaf relative water content (A) and membrane stability index (B) of lettuce

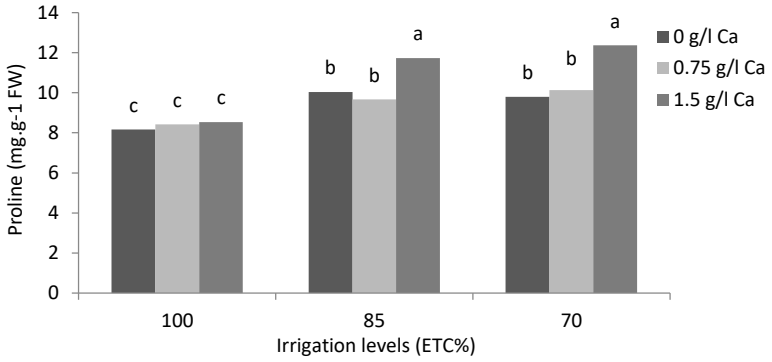
در شرایط کم‌آبیاری به‌دلیل کاهش سطح برگ، تجمع کلروفیل‌ها افزایش یافته اما به‌علت تعرق بالا، گیاه آب بیشتری از دست می‌دهد و در نتیجه محتوای نسبی آب برگ و به‌دنبال آن فتوسنتز کاهش می‌یابد (Masumi *et al.*, 2010). مطالعات انجام‌شده روی گیاه خربزه (Mani, 2014) نشان داد که با افزایش شدت کم‌آبی، محتوای نسبی آب برگ کاسته شد که با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش همسویی دارد. نتایج تحقیقات نشان داد که محتوای نسبی آب در برگ با کاربرد کلسیم افزایش یافت. افزایش محتوای نسبی آب به معنای افزایش ظرفیت نگهداشت آب است که می‌تواند از دست‌رفتن آب در برگ‌ها در یک محیط خشک جلوگیری کند (Ma *et al.*, 2005). تنش کم-آبی با القای تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سبب پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشاهای سلولی شده و نفوذپذیری غشاء و نشت یونی را افزایش می‌دهد. نتایج حاصل با نتایج مطالعات پیشین که گزارش شده است با پیشرفت تنش، نشت یونی افزایش می‌یابد همخوانی دارد (Gue *et al.*, 2006). کاهش پایداری غشای سلولی بیانگر اختلال در عملکرد غشا با افزایش در نفوذپذیری و نشت الکترولیت‌ها از سلول می‌باشد (Bernstein *et al.*, 2010). یون‌های کلسیم نقش اساسی در حفظ ساختار غشای سلولی و ثبات و پایداری دیواره سلولی دارند. این عنصر با تقویت اتصال بین مولکولی به ترکیبات پکتینی موجود در تیغه میانی ثبات می‌بخشد (Hernandez-Munoz *et al.*, 2008).

محتوای پرولین

نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری پرولین نشان داد که با افزایش شدت تنش کم‌آبی، مقدار پرولین افزایش یافت. کاربرد لاکتات‌کلسیم تأثیر معنی‌داری بر محتوای پرولین داشت. بیشترین مقدار پرولین با کاربرد ۱/۵ گرم در لیتر لاکتات‌کلسیم به‌ترتیب در تیمارهای کم‌آبیاری ۷۰ و ۸۵ درصد نیاز آبی گیاه به‌دست آمد (شکل ۶). در شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد، کاربرد لاکتات‌کلسیم تأثیری بر تجمع پرولین نشان نداد (شکل ۶).



شکل ۵. اثر لاکتات‌کلسیم بر محتوای نسبی آب برگ کاهو
Figure 5. Effect of Calcium lactate on leaf relative water content of lettuce



شکل ۶. اثر محلول‌پاشی لاکتات‌کلسیم بر محتوای پرولین کاهو تحت شراط کم‌آبیاری
Figure 6. Effect of calcium lactate on Proline contents of lettuce under deficit irrigation

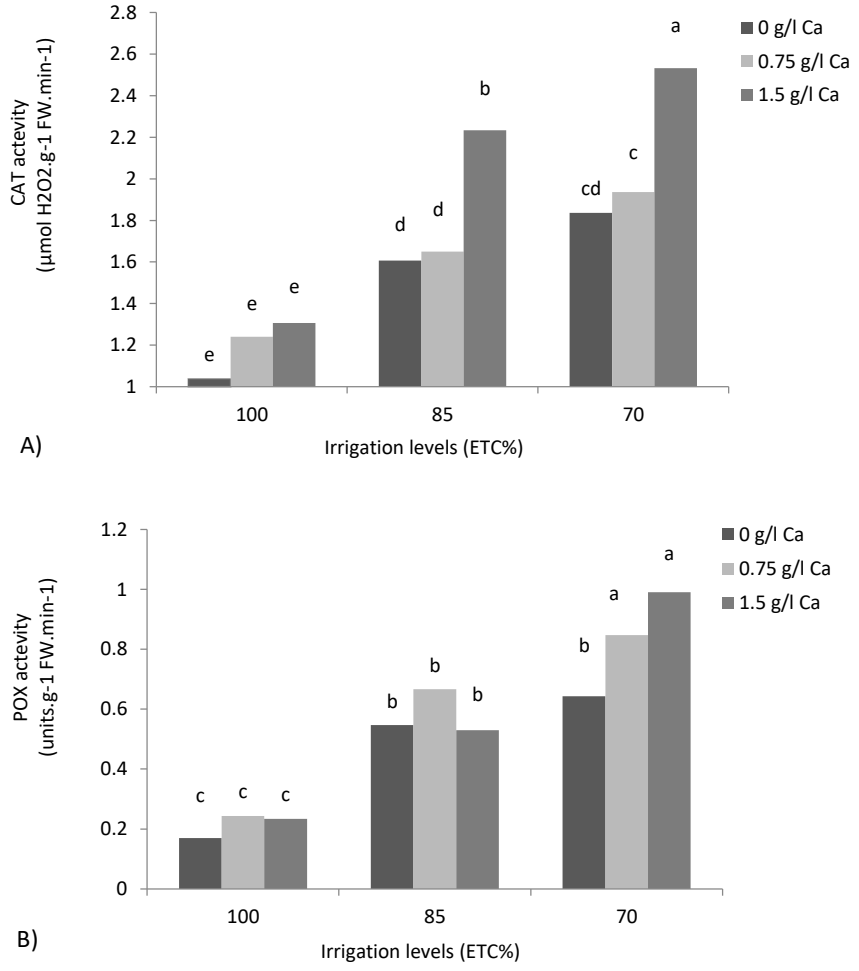
افزایش پرولین در طول دوره تنش کم‌آبی ممکن است نتیجه تجزیه پروتئین‌ها و نیز کاهش استفاده از آنها به‌دلیل کاهش رشد گیاه باشد (Movahhedi Dehnavi *et al.*, 2011). پرولین به‌عنوان محافظ اسمزی در گیاهان تحت تنش، در غلظت‌های بالا در سلول‌های گیاه بدون ایجاد اختلال در ساختار سلولی و متابولیسم، تجمع می‌یابد؛ بنابراین تجمع پرولین نقش مهمی در تنظیم اسمزی، سم‌زدایی ROS و یکپارچگی غشای سلولی گیاهان تحت شرایط تنش ایفا می‌کند (Demiralay *et al.*, 2013). علاوه بر این، پرولین به‌عنوان یک منبع نیتروژن در کاهش صدمات و ترمیم رشد در شرایط تنش نقش دارد (Aydin *et al.*, 2012). گزارش شده است که تنش خشکی باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پرولین (پرولین اکسیداز) در گوجه‌فرنگی گردید که نتیجه آن تجمع پرولین در شرایط تنش است (Fujita *et al.*, 2003). بر اساس مطالعات انجام‌شده کاربرد کلریدکلسیم در گیاه چای، با کاهش میزان هیدروژن پراکسید و پراکسیداسیون لیپیدها، میزان پرولین و ترکیبات فنلی برگ را افزایش داد (Upadhyaya *et al.*, 2011).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز

نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش کم‌آبی میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد لاکتات‌کلسیم نیز فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را افزایش داد. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز با کاربرد ۱/۵ گرم در لیتر لاکتات‌کلسیم در شرایط کم‌آبیاری ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه حاصل شد (شکل A-۷) و بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت شرایط کم‌آبیاری ۷۰ درصد به‌ترتیب با کاربرد ۱/۵ و ۰/۷۵ گرم در لیتر لاکتات‌کلسیم به‌دست آمد (شکل B-۷).

در وضعیت کم‌آبی، به‌دلیل محدودشدن جذب و تثبیت دی‌اکسیدکربن و افزایش فعالیت اکسیژنازی

آنزیم روبیسکو، تنفس نوری افزایش می‌یابد که این امر نیز افزایش تولید هیدروژن پراکسید را به‌همراه خواهد داشت (Miller *et al.*, 2010). گیاهان برای کاهش‌دادن تأثیر زیانبار گونه‌های فعال اکسیژن، سازوکارهای متفاوتی دارند که از جمله آنها می‌توان به سامانه دفاع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد که پراکسیدازها و کاتالاز از مهمترین آنزیم‌های از بین‌برنده پراکسید هیدروژن به‌شمار می‌آیند (Shen *et al.*, 2010). در پژوهشی با بررسی اثر تنش کم‌آبی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه کلزا دریافتند که تنش کم‌آبی باعث افزایش فعالیت در چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان از جمله گایاکول پراکسیداز می‌شود (Abedi, *et al.*, 2012). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نشان‌دهنده مهار کارآمد هیدروژن پراکسید توسط این آنزیم است که این افزایش در نتایج تحقیقات انجام‌شده درباره برخی گونه‌های تیره نعناعیان گزارش شده است (Ozgen *et al.*, 2006). کاربرد کلریدکلسیم در گیاه چای، با کاهش میزان هیدروژن پراکسید و پراکسیداسیون لیپیدها، میزان فعالیت این آنزیم‌ها را افزایش داد (Upadhyaya *et al.*, 2011). مطالعه روی گیاه چمن ژاپنی (*Zoisia Japonica*) نشان داد که استفاده از تیمار کلریدکلسیم در شرایط کم‌آبیاری مقدار مالون‌دی‌آلدهید را کاهش داد. این نتیجه منجر به افزایش رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن گردید. این ثابت کرد که تیمار با غلظت مناسب کلسیم، آسیب اکسیداسیون ناشی از کم‌آبی را کاهش می‌دهد (Chengbin *et al.*, 2013).



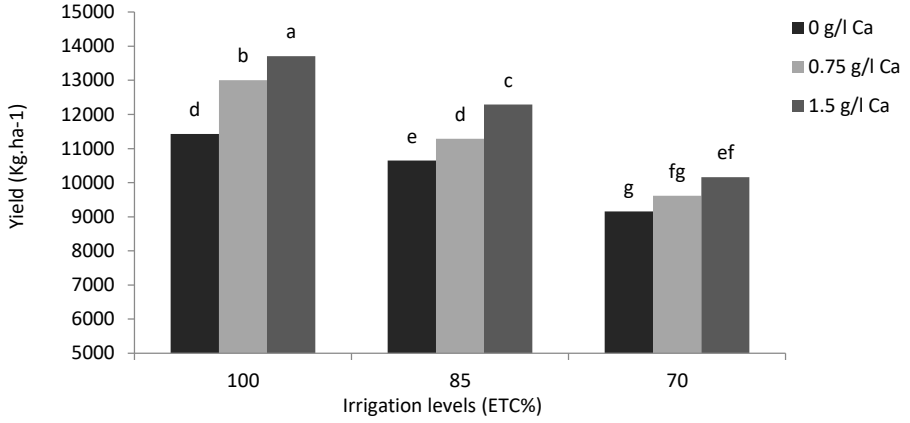
شکل ۷. اثر محلول‌پاشی لاکتات‌کلسیم بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (A) و پراکسیداز (B) کاهو تحت شرایط کم‌آبیاری
Figure 7. Effect of calcium lactate on Catalase (A) and Peroxidase (B) of lettuce under deficit irrigation

عملکرد

اعمال شزایط کم‌آبیاری به‌طور معنی‌داری عملکرد بوته را کاهش داد و کاربرد لاکتات‌کلسیم باعث افزایش مقدار عملکرد گردید (جدول ۵). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار عملکرد در گیاهان محلول‌پاشی شده با لاکتات‌کلسیم ۱/۵ گرم در لیتر تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی و کمترین مقدار در تیمار شاهد لاکتات‌کلسیم تحت شرایط کم‌آبیاری ۷۰ درصد نیاز آبی حاصل شد (شکل ۸).

کاهو از سبزی‌های برگی است که عملکرد آن با تعداد برگ و سطح برگ تولیدشده همبستگی دارد. حداکثر پتانسیل عملکرد به توسعه اولیه سطح برگ برای جذب نور مطلوب و فتوسنتز بستگی دارد. برای انجام فتوسنتز توسعه سطح برگ و تبادلات گازی، باز بودن روزنه‌ها ضروری است؛ بنابراین در اثر کمبود آب و بسته شدن روزنه‌ها تبادلات گازی کاهش یافته، دی‌اکسیدکربن کمتری در دسترس گیاهان قرار می‌گیرد و شدت فتوسنتز کاهش می‌یابد، همچنین تنش کم‌آبی عمدتا رشد برگ و در نتیجه سطح برگ را در بسیاری از گونه‌ها کاهش می‌دهد که این امر موجب کاهش تولید مواد فتوسنتزی می‌گردد. کاهش فتوسنتز منجر به کاهش رشد و عملکرد تولیدی در گیاهان خواهد شد (Farooq *et al.*, 2009). تنش کم‌آبی با کاهش جذب نیتروژن و استفاده آن توسط گیاه، مانع بزرگ‌شدن سلولها شده و سطح برگ و فتوسنتز را کاهش می‌دهد (Farooq *et al.*, 2009). گزارش شده است که کاهش سطوح اکسین و جیبرلین در اثر تنش کم‌آبی، تقسیم سلولی و طویل‌شدن سلول را متوقف کرده و در نتیجه رشد رویشی مناسب برای عملکرد بالا کاهش می‌یابد (Simsek & Comlekcioglu, 2011). در پژوهشی در شرایط تنش خشکی، دانه و برگ کمتری در مقایسه با شرایط بدون تنش در گشنیز تولید شد، که این امر موجب کاهش تولید مواد فتوسنتزی و در نتیجه کاهش عملکرد این گیاه گردید (Drunasky & Struve, 2005). کاهش میزان عملکرد تحت شرایط تنش خشکی در گیاه ریحان نیز گزارش شده است (Hassani & Omid Beighi, 2002).

کمبود کلسیم در فرآیندهای فتوسنتز دخالت می‌کند که در نتیجه باعث کاهش کارایی کربوکسیلاسیون و فتوسنتز می‌شود که منجر به کاهش قابل‌توجهی در تولید زیست‌توده گیاهان می‌شود (Alarcon *et al.*, 1999). سطح برگ یکی از خصوصیات بسیار مهم در رشد گیاه می‌باشد به‌طوری که هر چقدر سطح برگ افزایش یابد، مقدار فتوسنتز افزایش می‌یابد. از آنجا که فتوسنتز در کلروپلاست‌ها صورت می‌گیرد، علاوه بر شکل ساختمانی برگ، میزان فشردگی دیواره تیلاکوئید، حرکت کلروپلاست در داخل سلول‌ها و افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ به جذب حداکثر نور و بالا رفتن میزان فتوسنتز کمک می‌کند (Taiz & Ezeiger, 2008).



شکل ۸. اثر محلول‌پاشی لاکتات‌کلسیم بر عملکرد کاهو تحت شرایط کم‌آبیاری

Figure 8. Effect of calcium lactate on yield of lettuce under deficit irrigation

همبستگی بین خصوصیات فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهو تحت شرایط کم‌آبیاری

براساس آنالیز ضریب همبستگی پیرسون، وضعیت آب برگ (محتوای نسبی آب و باقیمانده آب برگ) با میزان فنل کل، فلاونوئید، مقدار پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی معنی‌داری نداشت و با میزان عملکرد همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. شاخص پایداری غشا با مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی منفی نشان داد که با مقدار فنل و فعالیت آنزیم کاتالاز همبستگی منفی معنی‌داری داشت و میزان شاخص پایداری غشا با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی کاهش یافت که با توجه به این‌که افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در پاسخ به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن که مسبب تخریب غشا و کاهش پایداری غشا می‌باشند، قابل توجیه است. همچنین با عملکرد کاهو همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت و با افزایش شاخص پایداری غشا، عملکرد نیز افزایش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با محتوای فنل کل، فلاونوئید و پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز همبستگی مثبت معنی‌داری نشان داد که بیانگر آن است که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهو به مقدار زیادی با محتوای این ترکیبات و فعالیت آنزیم‌ها مرتبط است.

ازآنجایی‌که آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز برای مقابله با صدمات پراکسید هیدروژن در شرایط تنش تولید می‌شوند، با افزایش پراکسید هیدروژن، کاتالاز و پراکسیداز نیز افزایش می‌یابند که Navvabpour *et al*. (2013)، وجود همبستگی مثبت بین پراکسید هیدروژن و آنزیم کاتالاز را نیز در آزمایشی گزارش کردند؛ بنابراین وجود همبستگی مثبت بین آنزیم کاتالاز و پراکسیداز طبیعی به نظر می‌رسد. این نتایج با نتایج مطالعات قبلی نیز همخوانی دارد (Ebrahimi *et al.*, 2009; Anjum *et al.*, 2010). با این‌که همبستگی بین پرولین و شاخص پایداری غشا معنی‌دار نشد، ولی دارای یک روند منفی بود که با افزایش سطح پرولین خسارت به غشا و نشت الکترولیت افزایش یافت و این روند بدین دلیل است که افزایش در میزان پرولین، نشان‌دهنده شرایط تنش حاکم بر گیاه است که هر چه میزان پرولین بیشتری تولید شود یعنی تنش شدیدتر بوده و خسارت به غشاء افزایش می‌یابد و پرولین فقط می‌تواند تا حدودی این خسارت را تخفیف بخشد (Mansourifar *et al.*, 2010). در بررسی انجام‌شده بر روی ذرت دانه‌ای، وجود همبستگی منفی بین نشت الکترولیت و محتوای نسبی آب گزارش شد (Tarigh Aleslami *et al.*, 2016). در آزمایشی همبستگی بین فلاونوئیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است (Athukorala *et al.*, 2006). طبق بررسی انجام‌شده در سرخارگل، بین میزان فنل ریشه و فلاونوئید ریشه همبستگی مثبت مشاهده شد (Alizadeh Ahmadabadi *et al.*, 2016). در پژوهشی در بای‌بری (Bayberry) نیز رابطه مستقیمی بین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گزارش شد (Blokhina *et al.*, 2003).

جدول ۵. همبستگی بین خصوصیات فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهو تحت شرایط کم‌آبیاری

Table 5. Correlation between physiological characteristics and antioxidant activity of lettuce under deficit irrigation

Attributes	MSI	ELWR	RWC	Antioxidant activity	Flavonoids	Phenol	Proline	CAT activity	POX activity	Yield
MSI	1									
ELWR	0.383^{*}	1								
RWC	0.443^{*}	0.686^{**}	1							
Antioxidant activity	-0.248^{ns}	0.263^{ns}	0.380^{ns}	1						
Flavonoids	-0.234^{ns}	0.041^{ns}	0.181^{ns}	0.714^{**}	1					
Phenol	-0.411^{*}	-0.142^{ns}	-0.090^{ns}	0.465^{*}	0.553^{**}	1				
Proline	-0.214^{ns}	0.039^{ns}	0.109^{ns}	0.449^{*}	0.540^{**}	0.725^{**}	1			
CAT activity	-0.440^{*}	-0.035^{ns}	0.030^{ns}	0.560^{**}	0.624^{**}	0.817^{**}	0.894^{**}	1		
POX activity	-0.376^{ns}	-0.344^{ns}	-0.140^{ns}	0.520^{**}	0.678^{**}	0.789^{**}	0.773^{**}	0.824^{**}	1	
Yield	0.528^{**}	0.802^{**}	0.630^{**}	-0.050^{ns}	-0.210^{ns}	-0.513^{**}	-0.398^{*}	-0.440^{*}	-0.704^{**}	1

ns، * و **: نبود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱درصد.

ns,*,**: Non significant, Significant at 5 and 1% of probability levels, respectively.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصله از آزمایش، می‌توان بیان نمود که کم‌آبیاری تأثیر معنی‌داری بر گیاه کاهو دارد. طی کاربرد کم‌آبیاری عملکرد، شاخص پایداری غشاء، محتوای نسبی آب و باقیمانده آب برگ کاهش و تجمع پرولین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی برای مقابله با اثرات زیان‌بار تنش اکسیداتیو ناشی از کم‌آبیاری افزایش یافت. استفاده از لاکتات‌کلسیم اثرات مثبت و معنی‌داری بر گیاه کاهو در شرایط کم‌آبیاری داشت، به‌طوری که سبب بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی، ترکیبات فنلی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ‌ها و عملکرد شد. در نهایت با توجه به اینکه استفاده از لاکتات‌کلسیم ۱/۵ گرم در لیتر، در شرایطی که آب در دسترس گیاه تا حد ۸۵ درصد نیاز آبی گیاه باشد، منجر به حفظ شاخص پایداری غشاء و محتوای آب برگ شد؛ به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند و با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی و تجمع پرولین برای مقابله با تنش اعمال‌شده، عملکرد بوته را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. لذا بر اساس نتایج حاصل و با توجه به بحران کم‌آبی کنونی، استفاده از لاکتات‌کلسیم ۱/۵ گرم در لیتر در شرایط آبیاری نرمال و کم‌آبیاری در جهت تعدیل اثرات مضر تنش کم‌آبی و بهبود عملکرد و کیفیت کاهو می‌تواند مفید واقع شود.

REFERENCES

1. Abedi, T. & Pakniyat, H. (2012). Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46(4), 27-34.
2. Ahmadizadeh, M., Valizadeh, M., Zaefizadeh, M. & Shahbazi, H. (2011). Antioxidative protection and electrolyte leakage in durum wheat under drought stress condition. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(3), 236-246.
3. Alarcon, A. L., Madrid, R., Egea, C. & Guillen, I. (1999). Calcium deficiency provoked by the application of different forms and concentrations of Ca^{+2} to soilless cultivated muskmelons. *Scientia Horticulturae*, 81, 89-102.
4. Alizadeh Ahmadabadi, A., Khorasani Nejad, S. & Hemati, Kh. (2016). Effect of deficit irrigation and ecosystemic stress on morphological and phytochemical characteristics of *Echinacea purpurea*. *Agricultural Crop Management*, 19(1), 1-14. (in Farsi)
5. Anjali, S. & Kale, P. B. (2007). Response and recovery of *Coriandrum sativum* L. variety indoor exposed to soil moisture stress. *Indian Journal of Plant Physiology*, 12, 266-270.
6. Anjum, N. A., Umar, S. & Chan, M. T. (2010). Ascorbate-glutathione pathway and stress tolerance in plants. *Springer Dordrecht Heidelberg*, 265-291.
7. Apel, K. & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen spicies: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Plant Biology*, 55, 373-399.
8. Ashraf, M. (2010). Inducing drought tolerance in plants. Recent advances. *Biotechnology Advances*, 28, 169-183.
9. Athukorala, Y., Kim, K. N. & Jeon, Y. J. (2006). Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydroliysate from brown algae, Ecklonia cava. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1065-1074.
10. Aydin, A., Kant, C. & Turan, M. (2012). Humic acid application alleviates salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants decreasing membrane leakage. *African Journal of Agricultural Research*, 7(7), 1073-1086.
11. Azizpour, K., Shakiba, M. R., Khosh Kholgh, S. N., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E. & Pessarakli, M. (2010). Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *Journal of Plant Nutrition*, 33, 859-873.
12. Barbagallo, R. N., Chisari, M. & Patané, C. (2012). Polyphenol oxidase total phenolics and ascorbic acid changes during storage of minimally processed 'California Wonder' and 'Quadrato d'Asti' sweet peppers. *Food Science and Technology*, 49, 192-196.
13. Bates, L. S., Waldren, R. P. & Tevre I. V. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39, 205- 207.
14. Bernstein, N., Shoresh, M., Xu, Y. & Huang, B. (2010). Involvement of the plant antioxidative response in the differential growth sensitivity to salinity of leaves vs roots during cell development. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(7), 1161-1171.
15. Blokhina, O., Virolainen, E. & Fagerstedt, K. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91, 179- 194.

16. Cakmak, I. & Horst, W. (1991). Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). *Plant Physiology*, 83, 463-468.
17. Castaneda, P. & Perez, L. M. (1996). Calcium ions promote the response of citrus lemon against fungal elicitors or wounding, *Phytochemistry*, 42, 595-598.
18. Chance, B. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775.
19. Chang, Y. L., Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J. & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3713-3717.
20. Chengbin, X., Xuemei, L. & Lihong, Z. (2013). The effect of calcium chloride on growth, photosynthesis and antioxidant responses of (*Zoysia japonica*) under drought conditions. *Plos One*, 8(7), 1-10.
21. Cousson, A. (2009). Involvement of phospholipase C-independent calcium-mediated abscisic acid signaling during *Arabidopsis* response to drought. *Biologia Plantarum*, 53, 53-62.
22. Demiralay, M., Sağlam, A. & Kadıoğlu, A. (2013). Salicylic acid delays leaf rolling by inducing antioxidant enzymes & modulating osmoprotectant content in *Ctenanthe setosa* under osmotic stress. *Turkish Journal of Biology*, 37, 49-59.
23. Drunasky, N. & Struve, D. K. (2005). Quercus macrocarpa and Q. prinus physiological and morphological response to drought stress. *Urban Forestry & Urban Greening*, 4, 13-22.
24. Dutilleul, C., Garmier, M., Noctor, G., Mathieua, C., Chetrita, P., Foyer, C. & Paepe, R. (2003). Leaf mitochondria modulate whole cell redox homeostasis set antioxidant capacity, and determine stress resistance through altered signaling and diurnal regulation. *Plant cell*, 15, 1212-1226.
25. Ebrahimi, A., Naghavi, M. R. & Sabokdast, M. (2009). Evaluation and comparision of chlorophyll content, carotenoid, protein and enzyme in different barley species native in Iran. *Journal of Agricultural Science*, 40, 77-89. (in Farsi)
26. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185-212.
27. Fujita, T., Maggio, A., Garcia-Rios, M., Stauffacher, C., Bressan, R. A. & Csonka, L. N. (2003). Identification of regions of the tomato γ-glutamyl kinase that are involved in allosteric regulation by proline. *Journal of Biological Chemistry*, 278(16), 14203-14210.
28. Gue, Z., Ou, W., Lu, S. & Zhong, Q. (2006). Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology Biochemistry*, 44, 828-836.
29. Hanson, A. D. & Hitz, W. D. (1982). Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annual Review of plant Biology*, 33, 163-203.
30. Hassani, A. & Omid Beighi, R. (2002). Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolical characteristics of basil (*Ocimum basilicum*). *Agricultural Knowledge*, 12 (3), 47-59.
31. Hassanpour, H. & Niknam, V. (2014). Effect of drought stress on growth and activity of antioxidant enzymes of *Mentha pulegium* L. in flowering stage. *Journal of Plant Physiology*, 3 (8), 25-34. (in Farsi)
32. Hernandez-Munoz, P., Almenar, E., Valle, V. D., Velez, D. & Gavara, R. (2008). Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 110, 428-435.
33. Jafarzadeh, L., Omidi, H. & Bostani, A. A. (2013). Effect of drought stress and bio-fertilizer on flower yield, photosynthesis pigments and proline content of Marigold (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29(3), 666-680. (in Farsi)
34. Jubany-Mari, T., Prinsen, E., Munne-Bosch, S. & Alegre, L. (2010). The timing of methyl jasmonate, hydrogen peroxidase and ascorbate accumulation during water deficit and subsequent recovery in the Mediterranean shrub (*Cistus albidus* L.). *Journal Environmental and Experimental Botany*, 69, 47-55.
35. Kader, A. & Lindberg, S. (2010). Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress. *Plant Signaling and Behavior*, 5, 233-238.
36. Khazaie, H. R. & Borzooei, A. (2006). Effects of water stress on antioxidant activity and physiological characteristics of wheat. *The first international conference on the theory and practices in Biological Water Saving (ICTPB)*, Beijing China.
37. Kirnak, H., Tas, I., Kaya, C. & Higgs, D. (2002). Effects of deficit irrigation on growth, yield, and Fruit quality of eggplant under semi-arid conditions. *Australian Journal of Agriculture Research*, 53, 1367-1373.
38. Koutinas, N., Sotiropoulos, T., Petridis, A., Almaliotis, D., Deligeorgis, E., Therios, I. & Voulgarakis, N. (2010). Effects of preharvest calcium foliar sprays on several fruit quality attributes and nutritional status of the Kiwifruit cultivar Tsechelidis. *Horticultural Science*, 45(6), 984-987.

39. Křístková, E., Doležalová, I., Lebeda, A., Vinter, V. & Novotná, A. (2008). Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. *Horticultural Science*, 35, 113-129.
40. Kurtyka, R., Małkowski, E., Kita, A. & Karcz, W. (2008). Effect of calcium and cadmium on growth and accumulation of cadmium, calcium, potassium and sodium in maize seedlings. *Polish Journal of Environmental Studies*, 17 (1), 51-56.
41. Lonbani, M. & Arzani, A. (2011). Morpho-physiological traits associated with terminal drought-stress tolerance in triticale and wheat. *Agronomy Research*, 9, 315-329.
42. Luna-Guzman, I. & Barrett, D. M. (2000). Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupe. *Postharvest Biology and Technology*, 19, 61-72.
43. Ma, Q. Q., Wang, W., Li, Y. H., Li, D. Q. & Zou, Q. (2006). Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar-applied glycinebetaine. *Journal of Plant Physiology*, 163(2), 165-175.
44. Ma, R., Zhang, M., Li, B., Dud, G., Wang, J. & Chen, J. (2005). The effects of exogenous Ca^{2+} on endogenous polyamine levels and drought-resistant traits of spring wheat grown under arid conditions. *Journal of Arid Environments*, 63, 177-190.
45. Mani, F. (2014). Evaluation of drought stress on yield and physiological attributes in Cantaloupe crop (*Cucumis melo* L.). *Indian Journal of Applied Research*, 4, 6-10.
46. Mansourifar, S., Shaban, M., Ghobadi, M. & Sabbaghpour, H. (2010). Physiological characteristics of Chickpea (*Arietinum cicer* L.) under drought stress and nitrogen fertilizer initiator. *Iranian Journal of Pulses Research*, 3(1), 53-66. (in Farsi)
47. Masumi, A., Kafi, M., Khazaii, H. R., Davari, K. & Zare Mehrjerdi, M. (2010). Effect of drought stress on water condition and electrolyte leakage, photosynthesis and chlorophyll fluorescence at different growth stages of twonative masses of *Kochia scoparia* in salinity conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 10(3), 476-484. (in Farsi)
48. Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. *Food Chemistry*, 91, 571-577.
49. Miller, G., Suzuki, N. & Ciftci Yilmaz, S. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant Cell and Environment*, 33, 453-467.
50. Movahhedi Dehnavi, M., Ranjbar, M., Yadavi, A. R. & Kavusi, B. (2011). Effect of cycocel on proline, soluble sugares, protein, oil and fatty acids of flax (*Linum usitatissimum* M.) plants under drought stress in a pot trial Environ. *Stresses in Crop Science*, 3, 129-138. (in Farsi)
51. Navvabpour, S., Mirkarimi, Sh. & Mazandarani, A. (2013). Evaluation of changes in enzymatic and non-enzymatic defense system of soybean cultivars in response to carcinogenic B carcinoma during growth stages. *Crop Biotechnology*, 5, 63-73. (in Farsi)
52. Noctor, G. (2006). Metabolic signaling in defense and stress: the central roles of soluble redox couples. *Plant Cell and Environment*, 29, 409-425.
53. Ozgen, U., Mavi, A., Terzi, Z., Yildirim, A., Coskun, M. & Houghton, P. J. (2006). Antioxidant properties of some medicinal Lamiaceae (Labiatae) species. *Pharmaceutical Biology*, 44, 107-112.
54. Pandey, R. K., Maranville, J. W. & Admou, A. (2001). Tropical wheat response to irrigation and nitrogen in a Sahelian environment. I. Grain yield, yield components and water use efficiency. *European Journal of Agronomy*, 15, 93-105.
55. Perucka, I. & Olszowka, K. (2010). Effect of calcium chloride treatment on the level of chlorogenic, β-carotene, lutein and tocopherols in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Acta Agrobotanica*, 64, 65-72.
56. Perucka, I. & Olszowka, K. (2011). Accumulation of potassium, magnesium, calcium in fresh and cold stored leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L.) after $CaCl_2$ foliar treatment before harvest. T*he Elementary School Journal*, 445- 454.
57. Rimmer, D. L. (2006). Free radicals, antioxidants, and soil organic matter recalcitrance. *European Journal of Soil Science*, 57, 91-94.
58. Sánchez-Madrigal, M. Á., Neder-Suárez, D., Quintero-Ramos, A., RuizGutiérrez, M. G., Meléndez-Pizarro, C. O., Piñón-Castillo, H. A., Galicia-García, T. & Ramírez-Wong, B. (2015). Physicochemical properties of frozen tortillas from nixtamalized maize flours enriched with β-glucans. *Food Science and Technology*, 35(3), 552-560.
59. Sayyari, M., Ghavami, M., Ghanbari, F. & Kordi, S. (2013). Assessment of salicylic acid impacts on growth rate and some physiological parameters of lettuce plants under drought stress conditions. *International Journal of Agriculture and Crop Science*, 5(17), 1957-2013.
60. Shen, X., Zhou, Y., Duan, L., Li, Z., Enej, A. E. & Li, J. (2010). Silicon effects on photosynthesis andantioxidant parameters of soybean seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. *Plant Physiology*, 167, 1248-1252.

61. Simsek, M. & Comlekcioglu, N. (2011). Effects of different irrigation regimes and nitrogen levels on yield and quality of melon (*Cucumis melo* L.). *African Journal of Biotechnology*, 10(49), 10009-10018.
62. Soleimani Aghdam, M., Yousefpour, A. & Hassanpour, H. (2013). Enhancement of antioxidant capacity of cornelian cherry fruit by postharvest calcium treatment. *Scientia Horticulture*, 161, 160-164.
63. Stepkowska, I. (2004). Porównanie dziaáania leczniczego Lactuca sp. (L) (Asteraceae) na podstawie medycyny dawnej, ludowej i współczesnej. *Post Fitoter*, 4, 173–177.
64. Sun, T., Powers, J. R. & Tang, J. (2007). Evaluation of the antioxidant activity of *Asparagus, broccoli* and their juices. *Food Chemistry*, 105, 101-106.
65. Taiz, L. & Ezeiger, H. (2008). *Plant Physiology*. (2nd Ed.). Sinaye Associates Inc. Publisher. Sonderland Massachusetts. 757p.
66. Tarigh Aleslami, M., Kafi, M., Nezami, A. & Zarghami, R. (2016). Interaction of cold and drought stress on changes in chlorophyll index, relative water content of leaves, electrolyte leakage and grain yield in three maize hybrid varieties. *Journal of Crop Breeding*, 9(23), 146-156. (in Farsi)
67. Upadhyaya, H., Panda, S. K. & Dutta, B. K. (2011). $CaCl_2$ improves post-drought recovery potential in (*Camellia sinensis* L. O. Kuntze). *Plant Cell Reports*, 30, 495-503.
68. Vaziri, Z. H., Salamat, A., Ansari, M., Masihi, M., Heydari, N. & Dehghani sanich, H. (2008). *Evapotranspiration plant (water consumption guidelines for plants) (Translation*). Publications of the National Committee of Irrigation and Drainage, printing, Tehran. (in Farsi)