Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research

DOI:10.22092/IJMAPR.2026.368929.3530

Vol. 42, No. 3, Page 572-589 (2026)

Effect of foliar spraying of bulk and nano calcium-containing materials (calcium chloride and calcium carbonate) on antioxidant enzyme activity, quantity, and quality of essential oil of scented Geranium (*Pelargonium graveolens* L.) under drought stress conditions

Kobra Sepahvand[1], Abdolhossein Rezaei Nejad[2*], Sadegh Mousavi-Fard[3] and Reza Abolghasemi[4]

1. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
2*. Corresponding author. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran, E-mail: rezaeinejad.h@lu.ac.ir
3. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
4. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

Received: 17/03/2025 Revised: 23/09/2026 Accepted: 23/09/2026

Abstract

Background and Objectives: Drought stress is a shortage of available water that limits normal plant growth and delays life cycle completion; it affects growth and development by inducing biochemical, physiological, and morphological changes. Identifying effective management strategies to alleviate drought stress can improve plant yield and quality. However, the effects of stress-mitigating agents such as nano calcium chloride and calcium carbonate on scented geranium (*Pelargonium graveolens*) characteristics have not been studied. Therefore, this study assessed the impact of foliar application of bulk and nano calcium chloride and calcium carbonate on selected antioxidant properties, essential oil content, and yield of scented geranium under drought stress.

Methodology: This experiment was conducted in 2023 at Lorestan University under greenhouse conditions using a factorial design in a completely randomized design (CRD) with four replications. The first factor was irrigation at two levels: no stress (80% of available water, control) and severe water deficit (20% of available water). The second factor was foliar application of calcium sources, calcium chloride and calcium carbonate in bulk and nano forms, each at concentrations of 5, 10, and 15 mM, along with a control (0 mM). In total, 13 treatments (26 treatment combinations) were evaluated. Rooted cuttings of *Pelargonium graveolens* were transplanted into 15-cm-diameter pots. After transplantation, plants were irrigated normally until full establishment. Foliar applications of calcium treatments were then initiated and applied every two weeks, 10 times in total. Drought stress treatments were imposed after the first foliar application according to scheduled irrigation intervals. At the end of the experiment (150 days after initiation), aboveground plant parts were harvested for biomass measurements. Fresh weights of leaves and stems were recorded immediately, and samples were then shade-dried to determine dry weights. Essential oils were extracted from dried, ground leaves by hydro-distillation in a Clevenger-type apparatus for three hours. To assess the activities of the antioxidant enzymes catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), and superoxide dismutase (SOD), enzymes were extracted from frozen fresh leaf samples, and absorbance was read using a spectrophotometer.

Results: Analysis of variance showed that drought stress, calcium treatments, and their interaction significantly affected most evaluated traits ($p < 0.01$). Under 80% available water, 10 mM calcium carbonate increased catalase activity by 97.89% over the control (no foliar application). This increase was statistically similar to that from 15 mM nano calcium carbonate under the same irrigation condition or under 20% available water, which increased enzyme

Copyright: © 2026 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

activity by 43.69%. Under 80% and 20% available water, 15 mM nano calcium carbonate increased superoxide dismutase activity by 72.34% and 15.48%, respectively, over the control. Under both irrigation levels, 15 mM nano calcium carbonate and nano calcium chloride increased flavonoid content by 50.37% and 39%, respectively, over the control. Under 80% available water, 15 mM calcium chloride increased essential oil yield by 56.86% over the control; this increase was statistically similar to that from 10 and 15 mM nano calcium chloride. Drought stress (20% available water) reduced essential oil yield. However, under drought conditions, 15 mM nano calcium carbonate increased essential oil yield by 80.95% over the control and was statistically similar to 10 and 15 mM nano calcium chloride.

Conclusion: Both bulk and nano calcium treatments affected enzymatic, antioxidant, and essential oil-related traits under both stress and non-stress conditions. Among the treatments, 15 mM nano calcium carbonate was the most effective for enhancing drought tolerance in scented geranium.

Keywords: Antioxidant enzymes, drought stress, essential oil, foliar application, nano calcium carbonate.

اثر محلول‌پاشی مواد کلسیم‌دار بالک و نانو کلرید و کربنات کلسیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کمیت و کیفیت اسانس شمعدانی عطری (*Pelargonium graveolens* L.) در شرایط تنش خشکی

کبری سپهوند[۱]، عبدالحسین رضایی‌نژاد[۲*]، صادق موسوی فرد[۳] و رضا ابوالقاسمی[۴]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استاد تمام، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران، پست‌الکترونیک: Email:Rezaeinejad.h@lu.ac.ir

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۷ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۵/۰۷/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۷/۰۱

چکیده

سابقه و هدف: تنش خشکی را می‌توان فقدان آب کافی مورد نیاز برای رشد طبیعی و تکمیل چرخه زندگی گیاه تعریف کرد که روی فرایندهای رشد و نمو مؤثر است و به‌صورت تغییرات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی بروز می‌کند. یافتن راهکارهای مدیریتی مناسب برای کاهش آثار ناشی از تنش خشکی، زمینه را برای افزایش عملکرد و کیفیت گیاه فراهم خواهد کرد. از سویی، تاکنون تأثیر اعمال تعدیل‌کننده‌های اثر تنش مانند نانو کلرید و کربنات کلسیم بر خصوصیات گیاه شمعدانی عطری ارزیابی نشده است. ازاین‌رو، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی مواد نانو و بالک کلرید کلسیم و کربنات کلسیم بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، میزان و عملکرد اسانس شمعدانی عطری در شرایط تنش خشکی انجام شده است.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۴۰۲ در دانشگاه لرستان به‌صورت گلدانی در فضای گلخانه انجام شد. فاکتور اول شامل کم‌آبیاری در دو سطح شاهد (۸۰ درصد آب قابل دسترس) و تنش (۲۰ درصد آب قابل دسترس) و فاکتور دوم کلرید و کربنات کلسیم به صورت بالک و نانو هریک با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار به‌همراه شاهد (صفر میلی‌مولار) اعمال شد. ابتدا قلمه‌های ریشه‌دار شمعدانی عطری در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر کاشته شدند. بعد از کشت قلمه‌ها تا استقرار کامل گیاه، هر گلدان به‌طور عادی آبیاری و بعد محلول‌پاشی منابع مختلف کلسیم هر دو هفته یکبار و جمعاً ۱۰ نوبت انجام شد. بعد از اولین محلول‌پاشی، تیمارهای خشکی (برحسب دور آبیاری) اعمال شد. به‌منظور اندازه‌گیری وزن تر و خشک شاخساره در اواخر دوره آزمایش (۱۵۰ روز پس از کاشت قلمه ریشه‌دار در گلدان)، قسمت‌های هوایی از سطح خاک گلدان برداشت و بلافاصله وزن تر هر بخش (برگ، ساقه) به‌صورت جداگانه اندازه‌گیری شد. سپس وزن تر نمونه‌ها جداگانه در شرایط سایه خشک و برای ثبت وزن خشک دوباره توزین شدند. استخراج اسانس از برگ خشک و خرد شده با استفاده از روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر و به‌مدت ۳ ساعت انجام شد. برای سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پروکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز از برگ تازه نمونه‌های فریز شده عصاره‌گیری انجام و با کمک دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد.

نتایج: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بیشتر ویژگی‌های تحت تأثیر تنش کم‌آبیاری، کلسیم و اثر متقابل کلسیم × کم‌آبیاری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. کاربرد ۱۰ میلی‌مولار کربنات کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش (۹۷/۸۹ درصد) میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شد که با محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در همین سطح آبیاری و با محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس اختلاف معنی‌داری نداشت. کاربرد نانوکربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار در آبیاری ۸۰ و ۲۰ درصد آب قابل دسترس به ترتیب باعث افزایش ۷۲/۳۴ و ۱۵/۴۸ درصد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد (عدم محلول‌پاشی در همین سطح آبیاری‌ها) شد. همچنین کاربرد نانوکربنات کلسیم و نانو کلرید کلسیم ۱۵ میلی‌مولار در آبیاری ۸۰ و ۲۰ درصد آب قابل دسترس به ترتیب باعث افزایش ۵۰/۳۷ و ۳۹ درصدی مقدار فلاونوئید

نسبت به شاهد گردید. کاربرد ۱۵ میلی‌مولار کلرید کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۵۶/۸۶ درصد عملکرد اسانس نسبت به شاهد شد که با کاربرد ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار نانو کلرید کلسیم در همین سطح آبیاری اختلاف معنی‌داری نداشت. تیمار آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث کاهش عملکرد اسانس شد. همچنین، کاربرد نانوکربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۸۰/۹۵ درصد عملکرد اسانس نسبت به شاهد شد که با ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار نانو کلرید کلسیم در همین سطح آبیاری اختلاف معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: کاربرد مواد کلسیم‌دار نانو و بالک اثر مثبتی بر ویژگی‌های آنزیمی، آنتی‌اکسیدان، میزان و عملکرد اسانس شمعدانی عطری در شرایط تنش و کم‌آبیاری داشت. بهترین تیمار در این پژوهش برای مقاومت به تنش خشکی گیاه شمعدانی معطر، غلظت ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم بود.

واژه‌های کلیدی: محلول‌پاشی، مقاومت به تنش، آنتی‌اکسیدان، نانو کربنات کلسیم.

مقدمه

تنش خشکی در بین تنش‌های غیرزیستی، یکی از مهمترین تنش‌های پویا و زیان‌بار است که از رشد و نمو گیاه جلوگیری می‌کند و بهره‌وری گیاهان را بیشتر از هر جزء اکولوژی، با توجه به ژنوتیپ، دوره و شدت تنش و مرحله نمو گیاه، محدود می‌نماید. در واقع خشکی، کمبود آب محیط گیاه است که ظرفیت عملکرد گیاهان را با تغییر در رشد و نمو گیاهان و تحریک تأثیرات مخرب روی فرایندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، کاهش می‌دهد (Anjum *et al*., 2017). یکی از تغییرات بیوشیمیایی در گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی، تولید گونه‌های اکسیژن فعال است. بنابراین یکی از پیامدهای اجتناب‌ناپذیر تنش خشکی، افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال در اجزای مختلف سلولی، مانند کلروپلاست‌ها، پراکسی‌زوم‌ها و میتوکندری‌ها می‌باشد. گیاهان برای کاستن آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال، دارای سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی هستند. زمانی که گیاهان در معرض تنش کم‌آبی قرار می‌گیرند، لازم است که تمام سامانه‌های دفاعی برای مقابله با این نوع صدمات را فعال کنند (Yang *et al*., 2021).

شمعدانی معطر (*Pelargonium graveolens* L.) گیاهی دارویی- زینتی و چندساله از تیره شمعدانی است. این گیاه همیشه سبز و پایا، علفی، دارای ساقه‌های گوشتی پوشیده از کرک به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر تا یک متر است (Rezaei Nejad *et al*., 2020). اسانس این گیاه از دیرباز در پزشکی عمومی و دندانپزشکی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. به دلیل داشتن خواص ضد ویروسی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، بازسازی سلولی، قابض بودن، آرام‌بخشی، ترمیم جای زخم، مسکن، ضد تومور و آنتی‌اکسیدان بر کیفیت زندگی بیماران تأثیرگذار بوده است (Feier *et al*., 2023; Jaradat *et al*., 2022). برخی از نانوذرات به جای عمل به عنوان نانوحامل، رشد گیاه و تحمل تنش را افزایش می‌دهند. این نقش بیولوژیکی نانوذرات به خواص فیزیکی و شیمیایی، به روش کاربرد (کاربرد برگی، هیدروپونیک، خاک) و غلظت اعمال شده بستگی دارد (Zhao *et al*., 2020). به‌طورکلی، کلسیم جزء عناصری می‌باشد که در واکنش گیاهان به تنش‌های زنده و غیرزنده اهمیت به‌سزایی دارد. تنظیم اسمزی از طریق جذب و تجمع یون کلسیم و افزایش دیگر یون‌ها و ترکیبات آلی در شرایط تنش، انجام می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که حضور کلسیم برای حفظ غشاء سلولی در برابر تنش‌های مختلف محیطی، در محیط بیرونی ضروری می‌باشد (Akhtar *et al*., 2022). نتایج تحقیقات محققان مختلف، حکایت از تأثیر مثبت کاربرد محلول‌پاشی کلسیم به‌دلیل افزایش کارایی جذب این عنصر در تنش‌های محیطی دارد (Ayyaz *et al*., 2022). کلسیم در حفظ و پایداری دیواره سلولی، غشاءها و پروتئین‌های متصل به غشاء، دارای اهمیت می‌باشد (Balantic *et al*., 2022). نانوذرات کلسیم به‌طورکلی برای تقویت عملکرد گیاه و تنظیم سازوکار دفاعی گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی ازجمله خشکی (Ayyaz *et al*., 2022) و شوری (Nasrallah *et al*., 2022)

پذیرفته شده‌اند. نانوذرات کلسیم با تعدیل pH، مواد آلی و ظرفیت تبادل کاتیونی محیط کشت مواد معدنی محدود را در دسترس گیاه قرار می‌دهند (Badihi *et al*., 2021). گزارش شده که محلول‌پاشی مکمل نانوذرات کلسیم بر گیاهان گوجه فرنگی اثر سمیت شوری را با بهبود بقا، پارامترهای رشد، آنابولیک (فرآیندهای متابولیکی که در آن‌ها ترکیبات ساده‌تر به ترکیبات پیچیده‌تر تبدیل می‌شوند مانند اسمولیت‌ها) و سازوکارهای دفاعی (آنزیمی‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی) اصلاح کرد (Abeed *et al*., 2023). یافتن راهکارهای مدیریتی مناسب برای کاهش اثر ناشی از تنش کم‌آبیاری، زمینه را برای افزایش عملکرد و کیفیت گیاه فراهم خواهد کرد. از سویی، تاکنون تأثیر اعمال تعدیل‌کننده‌های اثر تنش مانند نانو کلرید کلسیم و کربنات کلسیم بر ویژگی‌های گیاه شمعدانی عطری مورد ارزیابی قرار نگرفته است. ازاین‌رو، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی مواد نانو و بالک کلرید کلسیم و کربنات کلسیم بر برخی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، میزان و عملکرد اسانس گیاه شمعدانی عطری در شرایط تنش خشکی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، شرایط رشد و طراحی آزمایشی

این پژوهش در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان (خرم‌آباد، طول جغرافیایی ۳۳ درجه و ۲۶ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۱۵ دقیقه طول شرقی و در ارتفاع ۱۱۴۸ متر از سطح دریا) در سال ۱۴۰۲ انجام شد. در فصل گرم برای خنک کردن گلخانه از سیستم پوشال و پنکه استفاده گردید. میانگین دمای روزانه گلخانه ۲۸–۲۰ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه ۱۸–۱۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی بین ۷۰–۶۰ درصد و شدت نور ۵۰۰–۴۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه بود. آزمایش به صورت فاکتوریل دو فاکتوره در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اول کم‌آبیاری در دو سطح به ترتیب شامل عدم تنش (۸۰ درصد آب قابل دسترس، شاهد)، تنش شدید (۲۰ درصد آب قابل دسترس) و فاکتور دوم کلرید کلسیم (بدون آب ساخت شرکت مرک آلمان با جرم مولی ۱۱۰/۹۸ گرم بر مول) و کربنات کلسیم (بدون آب ساخت شرکت مرک آلمان با جرم مولی ۱۰۰/۰۹ گرم بر مول) به صورت بالک و نانو (اندازه نانو کربنات کلسیم کمتر از ۱۰۰ نانومتر و اندازه نانو کلرید کلسیم کمتر از ۵۰۰ نانومتر، تولید شده در دانشگاه لرستان) هریک با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار به‌همراه شاهد (صفر میلی‌مولار یعنی محلول‌پاشی با آب مقطر) جمعاً در ۱۳ سطح (۲۶ ترکیب تیماری) به صورت محلول‌پاشی است. همچنین برای حل کردن نانومواد در آب از التراسونیک به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد.

در طی انجام آزمایش، ابتدا قلمه‌های گیاه شمعدانی عطری ریشه‌دار شد. آنگاه قلمه‌های ریشه‌دار شده در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر کشت گردید. بستر مورد استفاده در گلدان‌ها از مخلوط ماسه، کود دامی و خاک به نسبت (۱:۱:۱) آماده شد. بعد از کشت قلمه‌ها تا استقرار کامل، گیاه هر گلدان به‌طور عادی آبیاری گردید و بعد محلول‌پاشی منابع مختلف کلسیم (دو هفته) یکبار جمعاً ۱۰ نوبت انجام شد. بعد از اولین محلول‌پاشی تیمارهای خشکی (برحسب دور آبیاری: ۴ روز برای ۸۰٪ آب قابل دسترس و ۸ روز برای ۲۰٪ آب قابل دسترس) اعمال شدند. برای تعیین میزان آب خاک در ظرفیت مزرعه‌ای و نقطه پژمردگی دائم، از دستگاه صفحات فشاری استفاده شد. دستگاه صفحه فشاری از یک محفظه مانند دیگ زودپز تشکیل شده است که فشار داخل آن از طریق کمپرسور قابل افزایش است. یک صفحه سرامیکی که قطر آن برابر قطر داخلی دستگاه است درون آن قرار می‌گیرد. در قسمت پایین صفحه سرامیکی محفظه‌ای برای گردآوری و خروج آب تعبیه شده است. پس از قرار گرفتن نمونه خاک در حالت اشباع روی صفحه سرامیکی، درپوش محفظه را بسته و به‌تدریج فشار داخل محفظه افزایش می‌یابد. با افزایش فشار، آب اضافی از نمونه خاک خارج و وارد مخزن زیر صفحه سرامیکی و از آنجا به خارج هدایت می‌شود. هنگامی که فشار به نقطه ظرفیتی مورد نظر رسید فشار داخل محفظه از طریق شیر تخلیه خارج و با باز کردن درپوش دستگاه، نمونه خاک

را به سرعت خارج کرده و درصد جرمی رطوبت آن اندازه‌گیری می‌شود. در این آزمایش، سه نمونه خاک گلدان به عنوان سه تکرار در دستگاه با فشار ۰/۰۳ مگاپاسگال (برابر ظرفیت آب خاک در حد ظرفیت مزرعه) و فشار ۱/۵ مگاپاسکال (برابر ظرفیت آب خاک در حد نقطه پژمردگی) قرار داده شد. سپس درصد آب قابل استفاده در حد ۸۰ و ۲۰ درصد محاسبه (آب قابل استفاده براساس درصد برابر است با میزان آب در ظرفیت مزرعه منهای میزان آب در نقطه پژمردگی دائم) و به‌روش وزنی تبدیل به دور آبیاری شد.

روش اندازه‌گیری صفات

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

فعالیت CAT براساس روش Gallego (۱۹۹۶) و با اندازه‌گیری میزان تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین شد. واکنش آنزیمی در مخلوطی از بافر استخراج، H_2O_2 و عصاره آنزیمی انجام و کاهش جذب در طول ۱۲۰ ثانیه ثبت گردید. فعالیت CAT برحسب میکرومول در دقیقه در گرم بافت تر محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت APX با استفاده از روش توصیف شده توسط Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. عصاره آنزیمی با یک مخلوط واکنش حاوی ۵۰ میلی‌مولار بافر تریس (pH 7.0)، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۰/۱ میلی‌مولار H_2O_2 و ۰/۵ میلی‌مولار اسید اسکوربیک، با جذب در ۲۹۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر ترکیب شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

فعالیت SOD با استفاده از روش نیتروبلو تترازولیوم (NBT) فتوشیمیایی اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل عصاره آنزیمی، محلول ارزیابی (متیونین، NBT، Na_2EDTA)، بافر فسفات سدیم (۵۰ میلی‌مولار، pH 7.8) و ریبوفلاوین در معرض نور فلورسنت (۳۰ وات) به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری و درصد مهار احیای NBT محاسبه شد. فعالیت SOD برحسب میکرومول در دقیقه در گرم بافت تر بیان شد.

استخراج عصاره

برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، نیم گرم پودر گیاه خشک‌شده با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (حلال استخراج) مخلوط و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه آلتراسونیک تحت امواج فراصوت قرار گرفت. این عمل با هدف افزایش نفوذ حلال به داخل سلول‌های گیاهی و استخراج مؤثرتر ترکیبات انجام شد. سپس، عصاره حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد تا ذرات جامد از عصاره مایع جدا شوند. عصاره شفاف به دست آمده در شیشه‌های تیره و غیرقابل نفوذ به هوا و نور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا از تخریب ترکیبات حساس به نور و اکسیژن جلوگیری شود.

سنجش فنل کل

میزان فنل کل با استفاده از معرف فولین–سیوکالتو (McDonald *et al.*, 2001) تعیین شد. معرف فولین–سیوکالتو مخلوطی از فسفومولیبدات و فسفوتنگستات است که در حضور ترکیبات فنلی احیا شده و کمپلکس آبی رنگی تشکیل می‌دهد. شدت رنگ آبی ایجاد شده با میزان ترکیبات فنلی موجود در نمونه متناسب است. ۴۰۰ میکرولیتر از عصاره رقیق‌شده با ۲ میلی‌لیتر معرف فولین–سیوکالتو و ۱۶۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم مخلوط و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

سنجش فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید کل با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم (Hang *et al.*, 2002) تعیین شد. در این روش، فلاونوئیدها با کلرید آلومینیوم کمپلکس رنگی تشکیل می‌دهند که میزان جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره رقیق‌شده با ۱۸۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۲ درصد مخلوط و پس از ۱۵ دقیقه انکوباسیون، جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (FRAP)

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش قدرت احیا

کنندگی آهن (Ferric Reducing Antioxidant Power) تعیین شد. در این روش، قدرت احیاکنندگی آنتی‌اکسیدان‌ها در احیای یون آهن فریک (Fe^{+3}) به یون آهن فروس (Fe^{+2}) اندازه‌گیری می‌شود. محلول FRAP شامل TPTZ (۲و۴و۶-تری پیریدیل-s-تریازین)، $FeCl_3$ (کلرید آهن III) و بافر استات بود. ۳۷۵ میکرولیتر از عصاره گیاهی با ۱۱۲۵ میکرولیتر محلول FRAP مخلوط و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری وزن خشک شاخساره

به‌منظور اندازه‌گیری وزن تر و خشک شاخساره در اواخر دوره آزمایش، قسمت‌های هوایی از سطح خاک گلدان برداشت شد و بلافاصله وزن تر هر بخش (برگ، ساقه) به‌صورت جداگانه، توسط ترازوی دیجیتالی با دقت یک میلی‌گرم اندازه‌گیری گردید. بعد از ثبت وزن تر، نمونه‌ها در پاکت‌های جداگانه قرار داده شدند، سپس در اتاق خشک و دوباره توزین گردیدند.

اندازه‌گیری عملکرد اسانس

استخراج اسانس از برگ خشک و خرد شده با استفاده از روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر و به‌مدت ۳ ساعت انجام شد. اسانس به دست آمده توسط سولفات سدیم خشک، آبگیری و وزن شد. درصد و عمکرد اسانس نیز براساس روابط زیر اندازه‌گیری گردید (Amani Machiani *et al.*, 2018).

۱۰۰×وزن خشک سرشاخه‌ها /وزن اسانس استخراج شده =درصد اسانس

وزن خشک بوته × درصد اسانس = عملکرد اسانس

تجزیه‌وتحلیل کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی/ طیف‌سنجی جرمی (GC/MS)

تجزیه‌وتحلیل ترکیبات اسانس با استفاده از کروماتوگرافی گازی (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) با یک ستون موبینه HP-5MS (۳۰ متر × ۰/۲۵ میلی‌متر قطر داخلی؛ ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) و آشکارساز یونیزاسیون شعله (FID) انجام شد. دمای ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد به ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و در نهایت به مدت ۳ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و پس از آن دما از ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به تدریج افزایش یافت. پس از آن، دما با سرعت ۱۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه از ۶۰ درجه سانتی‌گراد به ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و متعاقباً به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد باقی ماند. کروماتوگراف گازی با یک آشکارساز انتخابی جرمی HP 5973 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) همراه شد. طیف‌سنج جرمی مجهز به یک آنالایزر تله یونی بود که در ۱۵۰۸ ($amu\ s^{-1}$) با ولتاژ ۱۳۵۰ ضرب الکترون تنظیم شده بود. اسکن در ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت در محدوده ۴۰ تا ۵۵۰ (m/z) انجام شد. کل زمان اجرا برای یک نمونه تقریباً ۷۲ دقیقه بود. اجزای تشکیل دهنده نمونه‌های اسانس با مقایسه با طیف جرمی ذخیره شده در Wiley NBS75 K.L شناسایی شدند. همچنین شاخص‌های بازداری (RI) نسبت به n-آلکان‌ها (C5-C24) در ستون HP-5MS غیرقطبی در شرایط کروماتوگرافی یکسان محاسبه شدند. به منظور کمی‌سازی، فراوانی سطح پیک نرمال شده بدون استفاده از عوامل تصحیح محاسبه شد (Adams, 2001).

محاسبات آماری

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با نرم‌افزار آماری Minitab18، مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار نشد ولی سطوح مختلف کلسیم و اثر متقابل کلسیم × تنش خشکی در سطح احتمال ۰/۰۱ بر این ویژگی معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین برهم‌کنش کلسیم × تنش خشکی نشان داد که کاربرد مواد کلسیم‌دار نانو و بالک اثر مثبتی بر این ویژگی‌ها در شرایط تنش و عدم تنش داشت. به‌طوری‌که کاربرد ۱۰ میلی‌مولار کربنات کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد

آب قابل دسترس باعث افزایش (۹۷/۸۹ درصد) میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شد که با محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در همین سطح آبیاری و با محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

فعالیت آسکوربات پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تأثیر تنش خشکی، سطوح مختلف کلسیم و اثر متقابل کلسیم × تنش خشکی در سطح احتمال ۰/۰۱ بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین برهم‌کنش کلسیم × تنش خشکی نشان داد (جدول ۲) که کاربرد مواد کلسیم‌دار نانو و بالک اثر مثبتی بر این ویژگی در شرایط تنش و عدم تنش داشت. به‌طوری‌که نانوکربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس (۸۵/۵۵ درصد) باعث بیشترین افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد شد که با ۱۰ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در همین سطح آبیاری اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین میزان فعالیت آن نیز در تیمار شاهد ثبت شد. محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۶۵/۷۶ درصد فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به عدم محلول‌پاشی در همین شرایط آبیاری شد.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

براساس نتایج تجزیه واریانس، تأثیر تنش خشکی، سطوح مختلف کلسیم و اثر متقابل کلسیم × تنش خشکی در سطح احتمال ۰/۰۱ بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین برهم‌کنش کلسیم × تنش خشکی نشان داد (جدول ۲) که کاربرد مواد کلسیم‌دار نانو و بالک اثر مثبتی بر این ویژگی در شرایط تنش و عدم تنش داشت. به‌طوری‌که کاربرد ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۷۲/۳۴ درصد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد شد که با ۱۰ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در همین شرایط و نیز با محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس اختلاف معنی‌داری نداشت.

مقدار فنل کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تنش خشکی بر فعالیت فنل کل معنی‌دار نشد و سطوح مختلف کلسیم و اثر متقابل کلسیم × تنش خشکی در سطح احتمال ۰/۰۱ بر فعالیت فنل کل معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین برهم‌کنش کلسیم × تنش خشکی نشان داد (جدول ۲) که کاربرد مواد کلسیم‌دار نانو و بالک اثر مثبتی بر این ویژگی در شرایط تنش و عدم تنش داشت. به‌طوری‌که کاربرد ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۱۰۲/۳۸ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی فنل نسبت به شاهد شد. محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۹۱/۶۶ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی فنل کل نسبت به عدم محلول‌پاشی در همین شرایط آبیاری شد که با محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس تفاوت معنی‌داری نداشت.

مقدار فلاونوئید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تأثیر تنش خشکی، سطوح مختلف کلسیم و اثر متقابل کلسیم × تنش خشکی در سطح احتمال ۰/۰۱ بر مقدار فلاونوئید کل معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین برهم‌کنش کلسیم × تنش خشکی نشان داد (جدول ۲) که کاربرد مواد کلسیم‌دار نانو و بالک اثر مثبتی بر این ویژگی در شرایط تنش و عدم تنش داشت. به‌طوری‌که کاربرد ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۵۰/۳۷ درصد مقدار فلاونوئید کل نسبت به شاهد شد. محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکلرید کلسیم در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۳۹ درصد مقدار فلاونوئید کل نسبت به عدم محلول‌پاشی در همین شرایط آبیاری شد، به‌نحوی‌که با کاربرد ۱۵ میلی‌مولار کربنات کلسیم در همین سطح آبیاری اختلاف معنی‌دار نداشت.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تنش خشکی

بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار نشد و سطوح مختلف کلسیم و اثر متقابل کلسیم × تنش خشکی در سطح احتمال ۰/۰۱ بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین برهم‌کنش کلسیم × تنش خشکی نشان داد (جدول ۲) که کاربرد مواد کلسیم‌دار نانو و بالک اثر مثبتی بر این ویژگی در شرایط تنش و عدم تنش داشت. به‌طوری‌که کاربرد ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۲۲/۳۰ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به شاهد شد که با کاربرد ۱۰ و ۱۵میلی‌مولار نانوکلرید کلسیم در همین سطح آبیاری اختلاف معنی‌دار نداشت. محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۲۵/۳۷ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به عدم محلول‌پاشی در همین شرایط آبیاری شد.

وزن خشک شاخساره

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تنش خشکی، سطوح مختلف کلسیم و اثر متقابل کلسیم × تنش خشکی در سطح احتمال ۰/۰۱ بر وزن خشک شاخساره معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین برهم‌کنش کلسیم × تنش خشکی نشان داد (شکل ۱) که کاربرد مواد کلسیم‌دار نانو و بالک اثر مثبتی بر این ویژگی در شرایط تنش و عدم تنش داشت. به‌طوری‌که کاربرد ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۵۴/۷۴ درصد وزن خشک شاخساره نسبت به شاهد شد که با کاربرد ۱۰ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در همین سطح آبیاری اختلاف معنی‌دار نداشت. محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۹۱/۸۶ درصد وزن خشک شاخساره نسبت به عدم محلول‌پاشی در همین شرایط آبیاری شد.

میزان اسانس

براساس نتایج تجزیه واریانس، تأثیر تنش خشکی، سطوح مختلف کلسیم و اثر متقابل کلسیم × تنش خشکی در سطح احتمال ۰/۰۱ بر میزان اسانس معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین برهم‌کنش کلسیم × تنش خشکی نشان داد (جدول ۴) که کاربرد مواد کلسیم‌دار نانو و بالک اثر مثبتی بر این ویژگی در شرایط تنش و عدم تنش داشت. به‌طوری‌که کاربرد ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس باعث بیشترین میزان اسانس (۸۰/۵۳ درصد) نسبت به شاهد شد که با ۱۰ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در همین سطح آبیاری اختلاف معنی‌داری نداشت. محلول‌پاشی ۱۵ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۲۹/۹۱ درصد میزان اسانس نسبت به عدم محلول‌پاشی در همین شرایط آبیاری شد که با ۱۰ میلی‌مولار نانوکربنات کلسیم در همین سطح آبیاری اختلاف معنی‌داری نداشت.

عملکرد اسانس

براساس نتایج تجزیه واریانس، تأثیر تنش خشکی، سطوح مختلف کلسیم و اثر متقابل کلسیم × تنش خشکی در سطح احتمال ۰/۰۱ بر عملکرد اسانس معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین برهم‌کنش کلسیم × تنش خشکی نشان داد (جدول ۴) که کاربرد مواد کلسیم‌دار نانو و بالک اثر مثبتی بر این ویژگی در شرایط تنش و عدم تنش داشت. به‌طوری‌که کاربرد ۱۵ میلی‌مولار کلرید کلسیم در آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۵۶/۸۶ درصد عملکرد اسانس نسبت به شاهد شد که با ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار نانو کلرید کلسیم اختلاف معنی‌داری نداشت. تیمار آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث کاهش عملکرد اسانس شد. به‌نحوی‌که با کاربرد نانوکربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار در آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۸۰/۹۵ درصد عملکرد اسانس نسبت به شاهد شد که با ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار نانو کلرید کلسیم اختلاف معنی‌داری نداشت.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی مواد بالک و نانو $CaCl_2$ و $CaCO_3$ بر فعالیت‌های آنزیمی و آنتی‌اکسیدانی شمعدانی عطری تحت تنش خشکی

Table 1. ANOVA for foliar bulk/nano-$CaCl_2$ and $CaCO_3$ effects on enzymatic and antioxidant activities of *Pelargonium graveolens* under drought stress

S.O.V.	df	CAT	APX	SOD	Phenols	Felavoenoids	FRAP	Shoot dry weight
		Activity						
Drought stress (DS)	1	0.000055^{ns}	38.368**	375.523**	0.000022^{ns}	0.003393**	0.003838^{ns}	1672.2**
Ca	12	0.002410**	54.172**	716.859**	0.001301*	0.005777**	0.105119**	34.00**
DS × Ca	12	0.000790**	2.723**	195.927**	0.000210*	0.001804**	0.015505**	1.96**
Experimental	78	0.000158	1.018	2.830	0.000036	0.000058	0.002940	0.26
C.V. (%)		8.58	7.00	3.63	9.66	2.31	3.78	3.71

^{ns}, *, and **: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively. CAT= Catalase, APX= Ascorbate peroxidase, SOD= Superoxide dismutase

جدول ۲- فعالیت‌های آنزیمی و آنتی‌اکسیدانی شمعدانی عطری با مواد بالک و نانو **CaCl2** و **CaCO3** تحت تنش خشکی

Table2. Enzymatic and antioxidant activities of *Pelargonium graveolens* in response to foliar bulk/nano-$CaCl_2$ and $CaCO_3$ under drought stress

Treatment			Phenols (mg GAE g^{-1} DW)	Felavoenoids (mg Rutin Eq g^{-1} DW)	FRAP (µmol Fe g^{-1} DW)	CAT	APX	SOD
Available water content (%)	Compound	Concentration (mM)				Activity (µmol min^{-1} g^{-1})		
80	Control	0	0.042^{m}	0.264^{j}	1.30^{hi}	0.095^{l}	9.0^{kl}	37.6^{h}
	$CaCl_2$	5	0.047^{k-m}	0.292^{i}	1.32^{hi}	0.127^{jk}	8.7^{l}	46.0^{e-g}
		10	0.052^{j-l}	0.317^{gh}	1.35^{f-h}	0.129^{i-k}	15.6^{c-e}	45.4^{fg}
		15	0.065^{fg}	0.337^{de}	1.53^{b-d}	0.158^{c-f}	16.2^{b-d}	54.6^{bc}
	$CaCl_2$-NPs	5	0.055^{h-k}	0.312^{h}	1.35^{f-h}	0.131^{h-k}	10.5^{jk}	47.6^{d-f}
		10	0.074^{c-e}	0.356^{c}	1.58^{b}	0.146^{e-i}	14.0^{fg}	55.0^{bc}
		15	0.074^{cd}	0.319^{f-h}	1.56^{bc}	0.132^{h-k}	15.6^{c-e}	53.9^{bc}
	$CaCO_3$	5	0.050^{k-m}	0.316^{h}	1.32^{hi}	0.142^{f-j}	12.9^{gh}	28.0^{m}
		10	0.067^{d-g}	0.328^{d-f}	1.34^{gh}	0.188^{a}	15.7^{c-e}	47.5^{d-f}
		15	0.070^{d-f}	0.327^{e-g}	1.53^{b-d}	0.144f^{g-j}	14.7^{ef}	48.7^{d}
	$CaCO_3$-NPs	5	0.050^{k-m}	0.312^{h}	1.36^{f-h}	0.155^{c-g}	13.9^{fg}	33.3^{kl}
		10	0.065^{e-g}	0.321^{f-h}	1.41^{e-g}	0.163^{b-e}	15.4^{de}	63.9^{a}
		15	0.085^{ab}	0.397^{a}	1.59^{b}	0.178^{ab}	16.7^{b-d}	64.8^{a}
20	Control	0	0.048^{k-m}	0.269j	1.34^{gh}	0.119^{k}	11.1^{j}	56.2^{b}
	$CaCl_2$	5	0.052^{kl}	0.338^{de}	1.40^{e-g}	0.138^{g-j}	11.4^{ij}	32.8^{l}
		10	0.061^{g-i}	0.338^{d}	1.47^{de}	0.158^{c-f}	17.30^{ab}	34.8^{i-l}
		15	0.061^{g-i}	0.365^{bc}	1.50^{cd}	0.158^{c-f}	17.5^{ab}	35^{h-k}
	$CaCl_2$ NPs	5	0.046^{k-m}	0.338^{d}	1.25^{ij}	0.136^{h-k}	11.5^{h-j}	36.2^{hI}
		10	0.064^{fg}	0.366^{bc}	1.53^{b-d}	0.158^{c-f}	16.5^{b-d}	47.8^{de}
		15	0.083^{b}	0.374^{b}	1.53^{b-d}	0.142^{f-j}	17.0^{bc}	46.9^{d-f}
	$CaCO_3$	5	0.045^{lm}	0.318^{f-h}	1.42^{ef}	0.148^{d-h}	12.6^{g-i}	33.6^{j-l}
		10	0.062^{gh}	0.321^{f-h}	1.21^{j}	0.136^{h-k}	14.4^{ef}	44.1^{g}
		15	0.061^{g-j}	0.368^{b}	1.51^{b-d}	0.132^{h-k}	16.4^{b-d}	52.8^{c}
	$CaCO_3$ NPs	5	0.053^{i-l}	0.298^{i}	1.30^{hi}	0.145^{e-i}	13.8^{fg}	35.7^{h-j}
		10	0.092^{a}	0.317^{gh}	1.53^{b-d}	0.165^{b-d}	16.9^{b-d}	55.5^{b}
		15	0.080^{bc}	0.339^{d}	1.68^{a}	0.171^{a-c}	18.4^{a}	64.9^{a}

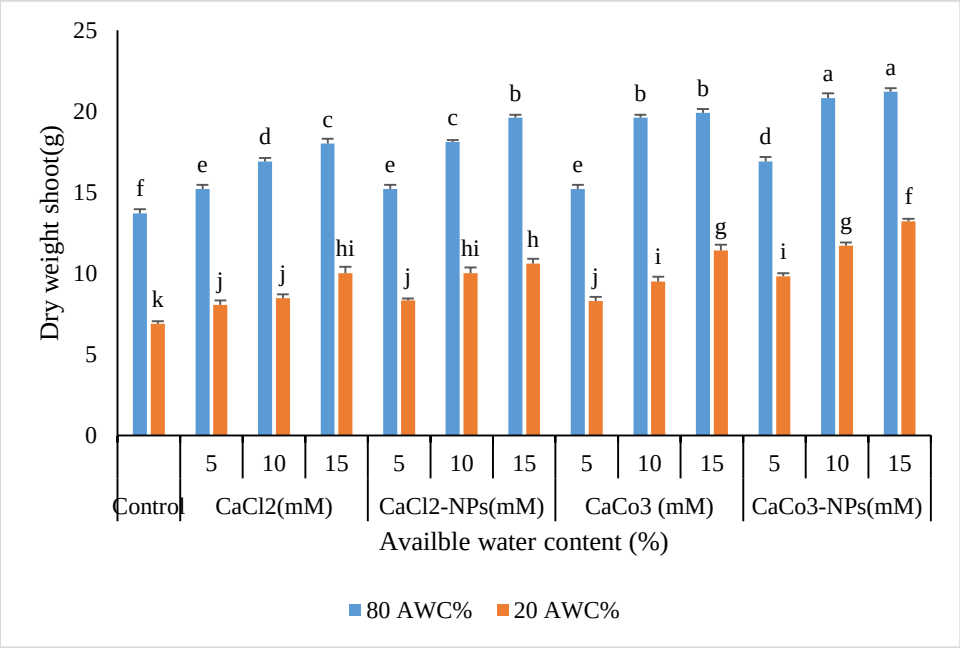
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test). CAT= Catalase, APX= Ascorbate peroxidase, SOD= Superoxide dismutase

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی مواد کلسیم‌دار بالک و نانو $CaCl_2$ و $CaCO_3$ بر ویژگی‌های میزان و عملکرد اسانس شمعدانی عطری تحت تنش خشکی

Table 3. ANOVA for foliar balk / nano $CaCO_3$ and $CaCl_2$ effects on content and oil yield of *Pelargonium graveolens* under drought stress

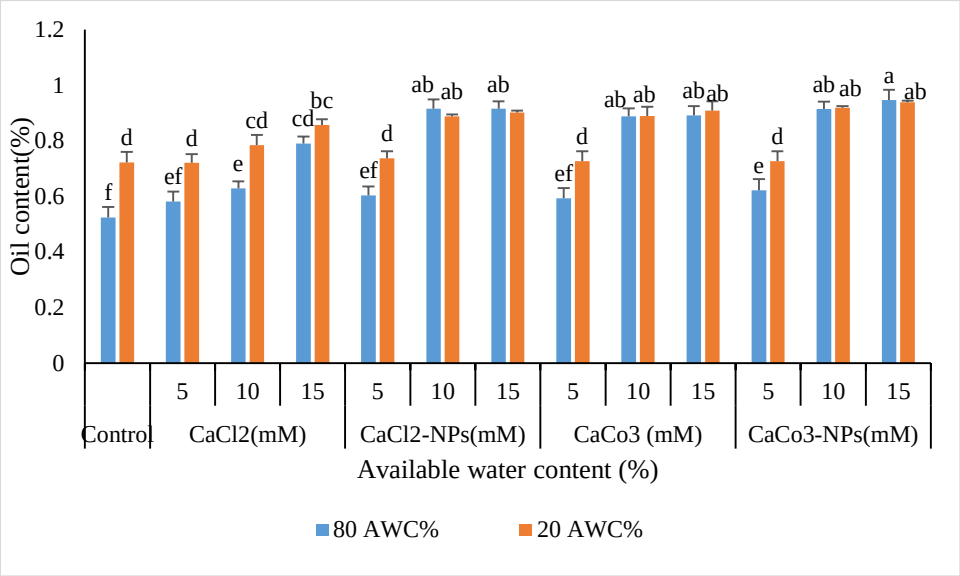
S.O.V	df	Oil content	Oil yield
Drought	1	0.095**	0.113**
Ca	12	0.093**	0.008**
DS × Ca	12	0.008**	0.000357**
Experimental error	52	0.0026	0.000036
C.V.(%)		6.57	5.99

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



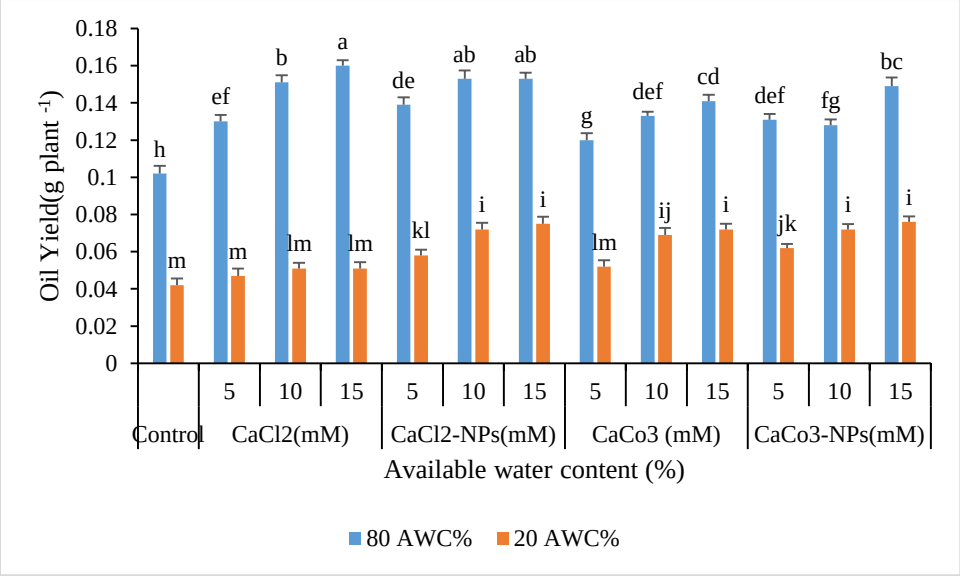
شکل ۱– اثر متقابل تنش خشکی × محلول‌پاشی مواد کلسیم‌دار مواد بالک و نانو $CaCl_2$ و $CaCO_3$ بر وزن خشک شاخساره شمعدانی عطری

Figure 1. *Pelargonium graveolens* shoot dry weight as affected by drought stress × foliar bulk/nano-$CaCl_2$ and $CaCO_3$ interaction.Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).



شکل ۲- اثر متقابل تنش خشکی× محلول‌پاشی مواد بالک و نانو $CaCo_3$ و $CaCl_2$ بر درصد اسانس شمعدانی عطری

Figure 2. *Pelargonium graveolens* essential oil content as effected by drought stress /foliar bulk / nano $CaCo_3$ and $CaCl_2$ interaction. Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).



شکل ۳- اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی مواد کلسیم‌دار بالک و نانو کلرید و کربنات کلسیم بر عملکرد اسانس گیاه شمعدانی عطری

Figure 3. The interactive effect of drought stress and foliar application of bulk and nano calcium chloride and calcium carbonate on the essential oil yield of scented geranium. Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

تجزیه‌وتحلیل اجزای اسانس

برای بررسی تغییرات اجزای اسانس گیاه شمعدانی عطری با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی/طیف‌سنجی جرمی (GC/MS) شاهد و چهار تیمار در شرایط تنش ۸۰ و ۲۰ درصد آب قابل دسترس که از نظر صفات مورد بررسی در این پژوهش بیشترین مقدار را در صفات مورد ارزیابی داشتند انتخاب شدند. در مجموع ۲۲ ترکیب اسانس جداسازی شد و تمام نمونه‌های اسانس عمدتاً حاوی مونوترپن‌های اکسیژن‌دار مانند رزاکسید، ایزوپروپیل متیل هگزنال، منتانون، سیترونلول، سیترونلیل فرمات، ژرانیل فرمات، سیترونلول استات، ایزوکاریوفیلن، سیترونلیل پروپیونات، سیترونلیل بوتیرات، کاریوفیلن اکسید، فنیل اتیل تیگلات و سیترونلیل تیگلات بودند که تقریباً ۹۴ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دهد (جدول ۴). با توجه به داده‌های ارائه شده در جدول ۴، سه ترکیب اصلی اسانس منتانون، سیترونلول و سیترونلیل فرمات بودند که بیشترین مقدار منتانون مربوط به تیمار شاهد ۸۰ درصد آب قابل دسترس، بیشترین مقدار سیترونلول مربوط به تیمار ۱۰ میلی‌مولار نانو کلرید کلسیم در سطح آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس بود که نسبت به شاهد ۳/۳ درصد افزایش ایجاد نموده است. در مورد سیترونلیل فرمات نیز بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۱۰ میلی‌مولار نانو کلرید کلسیم در سطح آبیاری ۸۰ درصد آب قابل دسترس بود که باعث افزایش ۱۲/۸ درصد نسبت به شاهد شد. تنش ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث کاهش اجزای اسانس نسبت به شاهد ۸۰ درصد آب قابل دسترس شد.

جدول ۴- اجزای اسانس شمعدانی عطری تحت تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی مواد بالک و نانو $CaCl_2$ و $CaCO_3$

Table 4. Essential oil composition of *Pelargonium graveolens* as affected by drought stress and foliar bulk/nano-$CaCl_2$ and $CaCO_3$

No	RI	Compound	Control	$CaCl_2$ (10 mM)	Nano $CaCl_2$ (10 mM)	$CaCO_3$ (15 mM)	Nano $CaCO_3$ (15 mM)	Control	$CaCl_2$ (10 mM)	Nano $CaCl_2$ (10 mM)	$CaCO_3$ (15 mM)	Nano $CaCO_3$ (15 mM)
			(80% AWC)					(20% AWC)				
			%					%				
1	920	α-pinene	0.7	0.6	0.6	0.8	0.4	0.4	0.5	-	0.3	0.3
2	1090	linalool	1.1	0.4	0.4	0.6	0.4	0.6	-	-	0.4	0.4
3	1099	*cis*-rose oxide	4.8	3.4	3.6	4.2	3.8	3.0	2.8	1.5	2.1	1.9
4	1113	2-isopropyl-5-methyl-2- hexenal	2.4	2.2	1.9	2.5	2.2	1.8	1/6	1.1	1.1	1.0
5	1149	citronellal	0.6	0.8	0.4	0.9	1.1	0.8	0.4	-	1.2	0.5
6	1154	*p*-menthan-3-one	10.1	7.7	7.6	8.2	7.8	6.8	5.8	5.2	5.6	5.4
7	1230	citronellol	42.1	41.9	40.1	42.6	38.2	42.0	40.9	43.5	41.0	39.4
8	1266	citronellyl formate	22.2	22.2	25.1	21.8	20.6	20.3	21.6	23.3	21.9	22.3
9	1290	geraniol formate	1.7	2.1	2.7	2.0	1.7	1.2	1.1	1.3	1.5	1.8
10	1339	citronellol acetate	1.1	1.2	1.1	1.0	1.2	1.1	1.4	1.4	1.1	1.1
11	1360	copaene	0.3	0.3	-	-	0.4	-	-	-	0.5	0.5
12	1405	Z-caryophyllene	1.5	1.2	1.4	1.1	1.8	1.2	1.6	2.0	2.0	1.8
13	1430	citronellyl propionate	1.3	1.5	1.6	1.3	1.7	1.9	2.3	2.5	1.8	1.9
14	1438	β-humulene	0.3	0.3	-	0.5	0.4	-	-	-	0.5	0.8
15	1504	γ-cadinene	0.5	0.6	-	0.5	0.8	-	-	-	1.1	0.6
16	1516	citronellyl butyrate	1.9	2.3	2.8	2.2	2.8	3.0	3.8	4.6	2.9	3.2
17	1547	geranyl butyrate	0.6	0.7	1.0	0.7	0.9	1.0	1.0	1.3	0.8	1.0
18	1565	caryophyllene oxide	1.5	1.7	2.2	2.2	2.9	2.7	2.3	-	1.6	2.1
19	1577	phenylethyl tiglate	1.7	2.6	2.7	2.7	2.9	3.6	3.0	3.0	2.5	2.7
20	1600	viridiflorol	0.2	0.3	-	-	0.4	0.3	-	-	0.3	0.3
21	1653	citronellyl tiglate	1.5	1.9	2.5	1.9	2.5	3.7	4.6	5.5	3.2	4.0
22	1688	geranyl tiglate	0.7	1.0	1.7	1.1	1.2	2.0	2.0	2.59	2.0	2.6

RI= Retention Indices

بحث

گیاهان دارای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی هستند که می‌توانند به‌طور مداوم رادیکال‌های آزاد اکسیژن مضر را از بین ببرند، اما در برابر آثار زیان‌آور تنش‌های غیرزیستی زمانی که ظرفیت تخریب‌کننده تنش غیرزیستی قوی‌تر از ظرفیت دفاع سلولی باشد، آسیب‌پذیرند (Khan *et al*., 2017). بنابراین، واکنش دقیق و به موقع سیستم‌های دفاعی به محرک‌های تنش قبل از آغاز آسیب‌های تنش برای بقای گیاه در مواجهه با شرایط محیطی تنش‌زا حیاتی است (Khan *et al*., 2017). در این پژوهش تیمار تنش خشکی بر تمامی شاخص‌های سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی مورد آزمایش تأثیر معنی‌داری داشت. نتایج بدست آمده نشان داد اعمال تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز تحت تنش شد. محلول‌پاشی مواد کلسیم‌دار بالک و نانو باعث افزایش میزان این آنزیم‌ها شد. غلظت‌های بالاتر تأثیرگذارتر از غلظت‌های پایین بود. در میان مواد کلسیم‌دار نانو کربنات کلسیم بیشترین تأثیر را بر این ویژگی‌ها داشت. اندازه نانو کربنات کلسیم کمتر از ۱۰۰ نانومتر بود و این موضوع باعث تأثیر بیشتر این ماده نسبت به نانوکلرید کلسیم (با اندازه کمتر از ۵۰۰ نانومتر) شد. البته نقش مهم کلسیم برون‌زا در فعال‌سازی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان به اثبات رسیده است (Weng *et al*., 2022; Liang & Zhang, 2018). مطالعه‌ای در شرایط کشت هیدروپونیک نشان داد که فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز در کینوا تایوانی تیمار شده با ۵ میلی‌مولار کربنات کلسیم به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (Chao *et al*., 2021). نانوذرات نقش اساسی در محافظت از گیاهان در برابر استرس‌های غیرزیستی مختلف از طریق تحریک فعالیت آنزی‌م‌های آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌نمایند (Soliman *et al*., 2015). کربنات کلسیم در مقیاس نانو موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهچه گندم شده و نقش مهمی در از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال و حفاظت از سیستم فتوسنتزی ایفا می‌کند. این موضوع ممکن است بدان سبب باشد که یون کلسیم به عنوان پیام‌رسان ثانویه در واکنش به پیام‌رسان‌های تنش زیستی و غیرزیستی عمل می‌کند (Shabbir *et al*., 2022).

میزان یون کلسیم سیتوپلاسمی تحت تأثیر شرایط محیطی تنظیم شده و تنش‌های نامطلوب موجب فعال‌سازی کانال‌های یون کلسیم، پمپ‌های یونی یا پروتئین‌های ناقل یون کلسیم تعبیه‌شده در غشای پلاسمایی یا غشای اندامک‌ها می‌شوند تا جریان ورودی یون کلسیم را تسهیل نمایند (Tian *et al*., 2020; Dvorak *et al*., 2021). یون کلسیم و پروتئین‌های ناقل یون کلسیم در مسیرهای پیام‌رسانی تنش‌های مختلف نقش داشته و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز را تنظیم می‌کنند (Dvorak *et al*., 2021). از سوی دیگر، کربنات کلسیم در مقیاس نانو در مقایسه با کربنات کلسیم معمولی به سهولت بیشتری توسط گیاه جذب و انتقال می‌یابد که این موضوع نشان‌دهنده زیست‌فراهمی بالاتر نانو کربنات کلسیم است (Hua *et al*., 2015). با این حال، برای جلوگیری از سمیت یون کلسیم، غلظت کلسیم در شرایط استراحت در سیتوپلاسم در سطحی پایین ($< 0.1\ \mu M$) حفظ می‌شود (Dale *et al*., 2002).

همچنین، نتایج بدست آمده نشان دادکه اعمال تنش خشکی باعث افزایش فعالیت فنل کل، فلاونوئید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شمعدانی عطری شد. محلول‌پاشی مواد کلسیم‌دار بالک و نانو باعث شد میزان این ویژگی‌ها افزایش یابد، به‌طوری‌که غلظت‌های بالاتر تأثیرگذارتر از غلظت‌های پایین بود. در میان مواد کلسیم‌دار، نانو کربنات کلسیم بیشترین تأثیر را بر این ویژگی‌ها داشت.

ترکیبات فنلی شامل گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه در گیاه هستند که خواص آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند، این ترکیبات به عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل کرده و سبب تحمل گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند (Rimmer, 2006). بیوسنتز ترکیبات فنلی از اسید آمینه‌های آروماتیک به نام فنیل آلانین شروع می‌شود و اولین مرحله در آمینه شدن فنیل آلانین توسط آنزیم فنیل آلانین

آمونیالیاز و تبدیل آن به ترانس سینامیک اسید است (Dutilleul *et al*., 2003). کلسیم از طریق تأثیر بر آنزیم‌های مؤثر در سنتز و اکسیداسیون فنل‌ها مانند فنیل آلانین آمونیالیاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در چرخه متابولیسم اسیدهای فنلیک نقش ایفا می‌کند (Castaneda & Perez, 1996). گزارش شده است که محلول‌پاشی برگ‌های کیوی فروت با کلرید کلسیم موجب افزایش فنل و آنتی‌اکسیدان کل میوه گردید (Koutinas *et al*., 2010).

کاربرد برگی کلسیم، وزن تر بوته، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و غلظت کلسیم برگ‌های کاهو را افزایش داد و از ظهور عارضه نوک‌سوختگی برگ ممانعت کرد (Niazi *et al*., 2021). مطالعات دیگر نیز همبستگی مثبت معنی‌دار بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای ترکیبات فنلیک و ویتامین ث را در فلفل نشان داد (Farhoudi *et al*., 2017). همچنین نتایج Khani و همکاران (۲۰۲۰) در گیاه کاهو با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد که گزارش کردند کلسیم با افزایش محتوای فنل و فلاونوئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهو را در شرایط آبیاری نرمال و کم‌آبیاری بهبود بخشید. همچنین کاربرد پس از برداشت تیمار کلسیم در حفظ آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از قبیل فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و آسکوربیک اسید مؤثر بوده است (Aghdam *et al*., 2013).

در این پژوهش تنش خشکی درصد اسانس را افزایش و عملکرد اسانس را کاهش داد. افزایش درصد اسانس تحت تنش خشکی در ریحان (Hassani & Omidbaigi,, 2002) و بادرشبو (Hassani, 2006) گزارش شده است. افزایش میزان محتوای اسانس و کاهش عملکرد اسانس با افزایش دور آبیاری تا حدودی نشان می‌دهد که تنش آبی با کاهش رشد رویشی بر عملکرد کل اسانس تأثیر منفی می‌گذارد (Eiasu *et al*., 2012). افزایش دورآبیاری در گیاه شمعدانی موجب افزایش اسانس و کاهش عملکرد اسانس شد (Eiasu *et al*., 2012) همچنین، در مطالعه دیگری نیز تنش خشکی سبب کاهش عملکرد اسانس گیاه شمعدانی گردید (Eiasu *et al*., 2012).

در پژوهشی بررسی اثر تیمارهای مختلف آبیاری بر خصوصیات مورفولوژیکی و رشدی گل مکزیکی (*Agastache foeniculum*) نشان داد که تیمار خشکی باعث کاهش عملکرد اسانس و افزایش درصد اسانس شد (Mahmoudi Surestani & Omidbeigi, 2012). آنالیز اجزای اسانس نشان داد که ترکیبات اصلی اسانس منتانون، سیترونلول و سیترونلیل فرمات بودند که با نتایج پژوهش Prasad و همکاران (۲۰۱۲) که نشان دادند ترکیبات اصلی اسانس شمعدانی سیترانلیل‌ها و ژرانیول بودند مطابقت دارد. همچنین Rezaei Nejad و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که با کاهش مقدار آب خاک عملکرد ترکیبات عمده اسانس شمعدانی معطر در هر بوته به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی برگی با ترکیبات کلسیم‌دار به‌ویژه در قالب نانو، اثر مثبتی بر بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و بهبود عملکرد اسانس در گیاه شمعدانی عطری، چه در شرایط نرمال آبیاری و چه تحت تنش خشکی دارد. در میان تیمارها، نانوکربنات کلسیم با غلظت ۱۵ میلی‌مولار، بیشترین اثربخشی را در افزایش مقاومت گیاه نسبت به کم‌آبی و بهبود صفات کمی و کیفی اسانس از خود نشان داد. بنابراین، استفاده از نانوکربنات کلسیم به‌عنوان راهکاری مدیریتی و مؤثر در افزایش تحمل به تنش خشکی و بهبود کیفیت گیاه شمعدانی عطری قابل توصیه است.

References

- Abeed, A.H.A., AL-Huqail, A.A., Albalawi, S., Alghamdi, S.A., Ali, B., Alghanem, S.M.S., Al-Haithloul, H.A.S., Amro, A., Tammam, S.A. and El-Mahdy, M.T., 2023. Calcium nanoparticles mitigate severe salt stress in *Solanum lycopersicon* by instigating the antioxidant defense system and renovating the protein profile. South African Journal of Botany, 161: 36-52. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.08.005
- Adams, R.P., 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole

mass spectroscopy. Carol Stream, Allured Publishing Corporation, USA. https://doi.org/10.1021/jasms.8b01049
- Aghdam, M.S., Dokhanieh, A.Y., Hassanpour, H. and Fard, J.R., 2013. Enhancement of antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas*) fruit by postharvest calcium treatment. Scientia Horticulturae, 161: 160-164. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.07.006
- Akhtar, N., Ilyas, N., Arshad, M., Meraj, T.A., Hefft, D.I., Jan, B.L. and Ahmad, P., 2022. The impact of calcium, potassium, and boron application on the growth and yield characteristics of durum wheat under drought conditions. Agronomy, 12(8): 1917. https://doi.org/10.3390/agronomy12081917
- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Morshedloo, M.R. and Maggi, F., 2018. Evaluation of competition, essential oil quality and quantity of peppermint intercropped with soybean. Industrial Crops and Products, 111: 743-754. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.11.052
- Anjum, S.A., Ashraf, U., Zohaib, A., Tanveer, M., Naeem, M., Ali, I. and Nazir, U., 2017. Growth and developmental responses of crop plants under water deficit: A review. Zemdirbyste-Agriculture, 104: 267-276, https://doi.org/ 10.13080/z-a.2017.104.034
- Ayyaz, A., Fang, R., Ma, J., Hannan, F., Huang, Q., Sun, Y., Javed, M., Ali, S., Zhou, W. and Farooq, M.A., 2022. Calcium nanoparticles (Ca-NPs) improve drought stress tolerance in *Brassica napus* by modulating the photosystem II, nutrient acquisition and antioxidant performance. NanoImpact, 28: 100423. https://doi.org/10.1016/j.impact.2022.100423
- Badihi, L., Gerami, M., Akbarinodeh, D., Shokrzadeh, M. and Ramezani, M., 2021. Physio-chemical responses of exogenous calcium nanoparticle and putrescine polyamine in saffron (*Crocus sativus* L.). Physiology and Molecular Biology of Plants, 27(1): 119-133. https://doi.org/10.1007/s12298-020-00923-x
- Balantic, K., Weiss, V.U., Allmaier, G. and Kramar, P., 2022. Calcium ion effect on phospholipid bilayers as cell membrane analogues. Bioelectrochemistry, 143: 107988. https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2021.107988
- Benzie, I.F. and Strain, J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measure of 'antioxidant power': The FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239: 70-76. https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292
- Castaneda, P. and Pérez L.M., 1996. Calcium ions promote the response of citrus limon against fungal elicitors or wounding. Phytochemistry, 42(3): 595-598. https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00981-7
- Chao, Y.Y., Wang, W.J. and Liu, Y.T., 2021. Effect of calcium on the growth of djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz.) sprouts. Agronomy, 11: 82. https://doi.org/10.3390/agron omy11010082
- Dale, S., Jerome, P., Colin, B. and Harper, J.F., 2002. Calcium at the crossroads of signaling. Plant Cell, 14 Suppl(Suppl): S401-417. https://doi:10.1105/tpc.002899
- Dutilleul, C., Garmier, M., Noctor, G., Mathieu, C., Chétrit, P., Foyer, C.H. and De Paepe, R., 2003. Leaf mitochondria modulate whole cell redox homeostasis, set antioxidant capacity, and determine stress resistance through altered signaling and diurnal regulation. The Plant Cell, 15(5): 1212-1226. https://doi.org/10.1105/tpc.009464
- Dvorak, P., Krasylenko, Y., Zeiner, A., Samaj, J. and Takac, T., 2021. Signaling toward reactive oxygen species-scavenging enzymes in plants. Frontiers in Plant Science, 11: 618835. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.618835
- Eiasu, B.K., Steyn, J.M. and Soundy, P., 2012. Physiomorphological response of rose-scented geranium (*Pelargonium* spp.) to irrigation frequency. South African Journal of Botany, 78: 96-103. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2011.05.013
- Farhoudi, R., Mehrnia, M.A. and Lee, D.J., 2017. Antioxidant activities and bioactive compounds of five Jalopeno pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. Natural Product Research, 6: 1-4. https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1410801
- Feier, R., Sireteanu Cucui, R.M., Ratiu, R.F., Baciu, D., Galea, C., Sachelarie, L., Nistor, C., Cocos, D., Hurjui, L.L. and Cernei, E.R., 2023. Comparative study of ozonated olive oil and extra virgin olive oil effects on oral hygiene. Applied Sciences, 13(5): 2831. https://doi.org/10.3390/app13052831
- Gallego, S.M., Benavídes, M.P. and Tomaro, M.L., 1996. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. Plant Science, 121: 151e159. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(96)04528-1
- Hassani, A., 2006. Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 22(3): 256-261. https://ijmapr.areeo.ac.ir/article_102394.html?lang=en
- Hassani, A. and Omidbaigi, R., 2002. Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolic properties of basil. Iranian Journal of Agriculture Science, 12(3): 44-61. https://doi.org/10.22059/ijhs.2015.55870
- Hua, K.H., Wang, H.C., Chung, R.S. and Hsu, J.C., 2015. Calcium carbonate nanoparticles can enhance

plant nutrition and insect pest tolerance. Journal of Pesticide Science, 40: 208-213. https://doi.org/10.1584/jpest ics. D 15-025
- Hang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in proplis by two complementary colorimetric methods. The Journal of Food and Drug Analysis, 10: 178-182. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748
- Jabereldar, A.A., El Naim, A.M., Abdalla, A.A. and Dagash, Y.M., 2017. Effect of water stress on yield and water use efficiency of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) in semi-arid environment. International Journal of Agriculture and Forestry, 7(1): 1-6. https://doi.org/10.5923/j.ijaf.20170701.01
- Jaradat, N., Hawash, M., Qadi, M., Abualhasan, M., Odetallah, A., Qasim, G., Reem Awayssa, R., Akkawi, A., Abdullah, I. and Al-Maharik, N., 2022. Chemical markers and pharmacological characters of *Pelargonium graveolens* essential oil from Palestine. Molecules, 27(17): 5721. https://doi.org/10.3390/molecules271757217
- Khan, M.N., Mobin, M., Abbas, Z.K., AlMutairi, K.A. and Siddiqui, Z.H., 2017. Role of nanomaterials in plants under challenging environments. Plant Physiology and Biochemistry, 110: 194-209. https://doi.org/10.1016/j.plaphy2016.05.038
- Khani, A., Barzegar, T., Nikbakht, J. and Ghahremani, Z., 2020. Effect of foliar spray of calcium lactate on the growth, yield and biochemical attributes of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under water deficit stress. Advances in Horticultural Science, 34(1): 1124. https://doi.org/10.13128/ahsc-8252
- Koutinas, N., Sotiropoulos, T., Petridis, A., Almaliotis, D., Deligeorgis, E., Therios, I. and 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. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.45.6.984
- Liang, C.J. and Zhang, B.J., 2018. Effect of exogenous calcium on growth, nutrients uptake and plasma membrane H^+-ATPase and $Ca2^+$-ATPase activities in soybean (*Glycine max*) seedlings under simulated acid rain stress. Ecotoxicology and Environmental Safety, 165: 261-269. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.019
- Lisbalchin, M., 2002. Geraniums and Pelargonium. Published by Taylor and Francis, London and New York, 223p. https://www.taylorfrancis.com/books/edit/10.1201/9780203216538/geranium-pelargonium-maria-lis-balchin
- Mahmoudi Surestani, M. and Omidbeigi, R., 2012. Comparing herbal yield, essential oil content and composition of anis hyssop (*Agastache foeniculum* Kuntze.) in field and greenhouse conditions under drought stress. Plant Products, 36(4): 43-53. https://plantproduction.scu.ac.ir/article_12186.html
- McDonald, S., Prenzler, P.D., Antolovich, M. and Robards, K., 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73: 73-84. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00288-0
- Mogazy, A.M., Mohamed, H.I. and El-Mahdy, O.M., 2022. Calcium and iron nanoparticles: A positive modulator of innate immune responses in strawberry against *Botrytis cinerea*. Process Biochemistry, 115: 128-145. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.02.014
- Nakano, Y. and Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology, 22: 867-880. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232
- Nasrallah, A.K., Kheder, A.A., Kord, M.A., Fouad, A.S., El-Mogy, M.M. and Atia, M.A., 2022. Mitigation of salinity stress effects on broad bean productivity using calcium phosphate nanoparticle application. Horticulturae, 8: 75. https://doi.org/10.3390/horticulturae8010075
- Niazi, H., Barzegar, B., Ghahremani, Z. and Nadirkhanlou, L., 2021. Effect of light duration and calcium on growth, yield and quality of lettuce (*Lactuca sativa* cv. New Red Fire). Journal of Vegetable Sciences, 4(2): 111-131. https://doi.org/10.22034/iuvs.2021.521006.1135
- Prasad, A., Kumar, S., Pandey, A. and Chand, S., 2012. Microbial and chemical sources of phosphorus supply modulate the yield and chemical composition of essential oil of rose-scented geranium (*Pelargonium species*) in sodic soils. Biology and Fertility of Soils, 48(1): 117-122. https://doi.org/10.1007/s00374-011-0578-9
- Rezaei Nejad, A.H., Feyzian, M. and Sepahvand, K., 2012. Effect of water deficit stress on growth, yield, essential oil content and composition of *Pelargonium graveolens* L. Plant Production Technology, 5(1): 83-94. https://ppt.basu.ac.ir/article_585_en.html?lang=fa
- Rezaei Nejad, A., Izadi, Z., Sepahvand, K., Mumivand, H. and Mousavi-Fard, S., 2020. Changes in total phenol and some enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities of Rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*) in response to exogenous ascorbic acid and iron nutrition. Journal of Ornamental Plants, 10(1): 27-36. http://jornamental.iaurasht.ac.ir/article_671578_fb98e6c027582e141407a12700282fb2.pdf
- Rimmer, D.L., 2006. Free radicals, antioxidants, and

soil organic matter recalcitrance. European Journal of Soil Science, 57(2): 91-94. https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2005.00735.x
- Shabbir, R., Javed, T., Hussain, S., Ahmar, S., Naz, M., Zafar, H., Pandey, S., Chauhan, J., Siddiqui, M.H. and Pinghua, C., 2022. Calcium homeostasis and potential roles to combat environmental stresses in plants. South African Journal of Botany, 148: 683-93. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.038
- Soliman, A., Elfeky, S. and Darwish, E., 2015. Alleviation of salt stress on *Moringa peregrine* using foliar application of nanofertilizers. Journal of Horticulture and Forestry, 7: 36-47. https://doi.org/10.5897/JHF2014.0379
- Tian, W., Wang, C., Gao, Q., Li, L. and Luan, S., 2020. Calcium spikes, waves and oscillations in plant development and biotic interactions. Nature Plants. 6: 750-759. https://doi.org/10.1038/s41477-020-0667-6
- Weng, X.H., Li, H., Ren, C.S., Zhou, Y.B., Zhu, W.X., Zhang, S.Z. and Liu, L.Y., 2022. Calcium regulates growth and nutrient absorption in poplar seedlings. Frontiers in Plant Science, 13: 887098. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.887098
- Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z. and Chen, S., 2021. Response mechanism of plants to drought stress. Horticulturae, 7(3): 50. https://doi.org/10.3390/horticulturae7030050
- Zaimenko, N.V., Didyk, N.P., Dzyuba, O.I., Zakrasov, O.V., Rositska, N.V. and Viter, A.V., 2014. Enhancement of drought resistance in wheat and corn by nanoparticles of natural mineral analcite. Ecologia Balkanica, 6: 1-10. http://web.uni-plovdiv.bg/mollov/EB/2014_vol6_iss1/eb.13119.pdf
- Zhao, L., Lu, L., Wang, A., Zhang, H., Min Huang, M., Wu, H., Xing, B., Wang, Z. and Ji, R., 2020. Nanobiotechnology in agriculture: Use of nanomaterials to promote plant growth and stress tolerance. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 68(7): 1935-1947. https://doi.org/doi/full/10.5555/20203293029