

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii,  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie,  
ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, Polska,  
e-mail: beata.smolik@zut.edu.pl

BEATA SMOLIK, JUSTYNA PELC

**Skuteczność zastosowania substancji biologicznie czynnych  
w łagodzeniu stresu wywołanego przez fluorek sodu  
na podstawie parametrów morfologicznych,  
biochemicznych i fizjologicznych u pszenicy jarej  
(*Triticum aestivum* L.) odmiany Bryza**

---

Efficacy of the use of biologically active substances to relieve the stress induced by sodium fluoride on the basis of morphological, biochemical and physiological parameters in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Bryza

**Streszczenie.** Rośliny w trakcie swojego wzrostu i rozwoju stale są narażone na wpływ czynników stresowych. Jednym z tych czynników jest zanieczyszczenie środowiska związkami fluoru. Fluor jest pierwiastkiem wysoce toksycznym i dotychczas nie wykazano jego pozytywnego wpływu na rośliny. Celem pracy była ocena stopnia łagodzenia stresu wywołanego przez 10 mM NaF poprzez zastosowanie różnych substancji biologicznie czynnych (witamina C, glutation, witamina PP, witamina E, kwas salicylowy), na podstawie pomiarów cech morfologicznych (długość korzenia, długość siewki, świeża masa), biochemicznych (MDA, prolina) i fizjologicznych (chlorofil całkowity, karotenoidy) w 10-dniowych siewkach pszenicy jarej odmiany Bryza w warunkach laboratoryjnych. Dodatek NaF do podłoża wykazał hamujący wpływ na wzrost i świeżą masę roślin oraz podwyższał parametry biochemiczne będące wskaźnikami stresu oksydacyjnego. Spośród zastosowanych substancji kwas askorbinowy (witamina C),  $\alpha$ -tokoferol (witamina E) i kwas salicylowy w największym stopniu łagodziły toksyczne oddziaływanie fluorku na siewki pszenicy.

**Słowa kluczowe:** fluor, substancje biologicznie czynne, parametry stresu oksydacyjnego

WSTĘP

Fluor jest pierwiastkiem szeroko rozpowszechnionym w przyrodzie. Występuje w powietrzu, wodzie, glebie, a także w organizmach żywych [Gramowska i Siepak 2002, Gautan i in. 2010]. Powietrze będące głównym nośnikiem zanieczyszczeń, rozprządza

związki fluoru do wszystkich elementów środowiska [Wędzisz 1994]. Z powietrza fluor absorbowany jest przez rośliny za pomocą aparatów szparkowych. Pobór fluorków przez aparaty szparkowe w toku wymiany gazowej nasila się w wyniku działania czynników abiotycznych, takich jak nasłonecznienie, wysoka temperatura i duża wilgotność. Pobrane przez korzenie roślinne, transportowane jest do różnych części rośliny, a następnie odkładany w liściach. Fluor wpływa negatywnie na kiełkowanie i wzrost roślin oraz powoduje powstawanie reaktywnych form tlenu, które uszkadzają poszczególne składniki w komórkach [Gramowska i Siepak 2002].

W celu utrzymania wydajności ekonomicznej kluczowe jest przeciwdziałanie stresom roślinnym oraz zwiększenie poziomu tolerancji roślin w stosunku do ksenobiotyków. Można to osiągnąć różnymi metodami chemicznymi, które mogą zwiększyć wydajność upraw poprzez zmniejszenie stresu wywołanego przez czynniki abiotyczne. Egzogenne stosowanie związków regulujących wzrost roślin jest wydajnym i prostym sposobem radzenia sobie ze szkodliwym wpływem związków fluoru [Chen i in. 2009, Farooq i in. 2009, 2012, Jazi i Oregani 2014, Son i in. 2014].

Kwas askorbinowy (witamina C) jest jednym z najefektywniejszych antyoksydantów występujących we wszystkich komórkach roślinnych [Smirnoff i in. 2001, Ebrahim 2005]. Jest kofaktorem wielu enzymów, w tym związanych z syntezą roślinnej ściany komórkowej [Shalata i Neumann 2001, Smirnoff i Wheeler 2008, Dolatabadian i Jouneghani 2009, Kostopoulou i in. 2015]. Bierze udział w transporcie elektronów oraz regulacji i rozwoju komórek. Kwas askorbinowy chroni komórki roślinne przed szkodliwym działaniem reaktywnych form tlenu [Davey i in. 2000, Smirnoff 2000, Guo i in. 2005, Athar i in. 2008, Moghadam 2016]. Wiele badań wykazało, że kwas askorbinowy odgrywa istotną rolę w poprawie tolerancji roślin na stres abiotyczny [Farooq i in. 2012, Venkatesh i Park 2014].

Glutation (GSH) jest tripeptydem, zaangażowanym głównie w utrzymanie równowagi redoks w komórkach roślinnych [Mohanpuria i in. 2007]. W roślinach występuje głównie w postaci zredukowanej (GSH) oraz w postaci utlenionej (GSSG) [Hell 1997]. Glutation jest obecny w stosunkowo wysokich stężeniach i występuje jako przeciwutleniacz we wszystkich komórkach roślinnych [Dixon i in. 1998, Noctor i in. 2012].

Amid kwasu nikotynowego (witamina PP) jest witaminą rozpuszczalną w wodzie, należąca do witamin z grupy B. Witamina PP jest składnikiem koenzymów nikotynoamidowych ( $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADH}$  i  $\text{NADP}^+$ ,  $\text{NADPH}$ ), które uczestniczą w wielu enzymatycznych reakcjach utleniania i redukcji w komórkach żywych. Jest również kluczowym metabolitem przemian pirydyny w komórkach roślinnych [Abdelhamid i in. 2013, Azoos i in. 2013].

$\alpha$ -tokoferol (witamina E) jest lipofilnym antyoksydantem syntetyzowanym przez wszystkie rośliny. Jej poziom różni się w zależności od rodzaju tkanki i waha się podczas rozwoju rośliny, a także podczas odpowiedzi na czynniki stresowe. W badaniach egzogenne wprowadzenie  $\alpha$ -tokoferolu wpłynęło na zwiększenie tolerancji u roślin poddanych różnym stresom środowiskowym [Smirnoff 2005, Srivastava i in. 2005, Bybordi 2012, Kumar i in. 2012].

Kwas salicylowy (SA) należy do grupy związków fenolowych, które występują powszechnie w tkance roślinnej. Jako substancja podobna do hormonu pełni ważną rolę w rozwoju roślin. Uczestniczy w regulacji ważnych procesów fizjologicznych roślin, takich jak kiełkowanie nasion, pobieranie i transport jonów, przepuszczalność błony,

metabolizm azotu, metabolizm prolina. Kwas salicylowy zaangażowany jest w wywołanie specyficznych odpowiedzi na stresy biotyczne i abiotyczne – wywołuje wydzielanie białek stresowych [Chen i in. 2009, Miura i Tada 2014, Naser i in. 2014].

Pszenica jest jednym z najważniejszych zbóż na całym świecie. W 2016 r. światowa produkcja pszenicy wyniosła 713 milionów ton [Farooq i in. 2012, Schmidt i in. 2016].

Postępujące zmiany klimatyczne oraz zanieczyszczenie środowiska m.in. związkami fluoru powodują obniżenie plonowania oraz niszczenie upraw [Singh i Chaudhary 2006]. Celem pracy była ocena stopnia łagodzenia stresu wywołanego przez 10 mM NaF poprzez zastosowanie różnych substancji biologicznie czynnych na podstawie pomiarów cech morfologicznych (długość korzenia, długość siewki, świeża masa), biochemicznych (dialdehyd malonowy, prolina) i fizjologicznych (chlorofil całkowity, karotenoidy) w 10-dniowych siewkach pszenicy jarej odmiany Bryza w warunkach laboratoryjnych.

#### MATERIAŁY I METODY

Doświadczenie zostało założone w kwietniu 2015 r. w laboratorium Katedry Fizjologii Roślin i Biochemii Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Materiał do badań stanowiły niezaprawione nasiona pszenicy jarej (*Triticum aestivum* L.) odmiany Bryza.

Nasiona poddane były ocenie pod względem wrażliwości na obecność 10 mM NaF oraz stopnia niwelowania toksyczności tego pierwiastka poprzez zastosowanie substancji biologicznie czynnych: kwasu askorbinowego (1 mM wit. C), glutationu (100  $\mu$ M GSH), amidu kwasu nikotynowego (50  $\mu$ M wit. PP),  $\alpha$ -tokoferolu (1 mM wit. E), kwasu salicylowego (1 mM SA).

Po dezynfekcji nasiona umieszczono w szalkach Petriego ( $\varnothing$  10 cm) wyłożonych papierem filtracyjnym. Następnie do każdej szalki dodano 25 cm<sup>3</sup> odpowiednich roztworów. W doświadczeniu uwzględniono następujące kombinacje: 1) woda destylowana (kontrola), 2) 10 mM NaF, 3) wit. C, 4) wit. C + NaF, 5) GSH, 6) GSH + NaF, 7) wit. PP, 8) wit. PP + NaF, 9) wit. E, 10) wit E + NaF, 11) SA, 12) SA + NaF. Doświadczenie założono w sześciu powtórzeniach, po 10 roślin w powtórzeniu.

Płytki inkubowano w temperaturze 21°C w ciemności przez 72 godzin, po czym obliczono liczbę kiełkujących nasion i zmierzono długość korzeni. Z obu wartości obliczono indeks kiełkowania (IG%) ze wzoru podanego przez Barbero i in. 2001  $\%GI = 100 \times (GS \times LS)/(GC \times LC)$ , gdzie: GS i GC – liczba wykiełkowanych nasion odpowiednio w badanej próbie i kontroli, LS i LC – długości korzeni (mm) w badanej próbie i kontroli.

Po upływie 72 godzin płytki z roślinami przeniesiono do fitotronu do ściśle kontrolowanych warunków termicznych (25°C) oraz świetlnych (około 100  $\mu$ E·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>). Fotoperiodyzm podczas doświadczenia ustawiony był na 16/8h.

Po 10 dniach hodowli określono skuteczność łagodzenia stresu wywołanego przez 10 mM NaF poprzez zastosowanie różnych substancji biologicznie czynnych, oznaczając parametry morfologiczne (długość korzenia, długość siewki, świeżą masę), biochemiczne (dialdehyd malonowy, prolinę) i fizjologiczne (chlorofil całkowity i karotenoidy). Dialdehyd malonowy (MDA) oznaczono metodą Sudhakara i in. [2001], prolinę zgodnie z metodą Batesa [1973], natomiast chlorofil całkowity i karotenoidy metodą Arnona i in. [1956] w modyfikacji Lichtenthalera i Wellburna [1983] w liściach 10-dniowych siewek pszenicy

(*Triticum aestivum* L.) odmiany Bryza. Istotność różnic określono za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji i na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

#### WYNIKI I DYSKUSJA

W tabeli 1 przedstawiono dane dotyczące wpływu 10 mM fluorku sodu oraz substancji biologicznie czynnych na indeks kiełkowania, długość korzenia, długość siewki oraz świeżą masę 10-dniowych siewek pszenicy. Zawartość 10 mM NaF fluorku sodu w podłożu spowodował obniżenie indeksu kiełkowania o 62,2% w porównaniu z próbą kontrolną. Pozostałe oznaczone parametry biometryczne w porównaniu z próbą kontrolną również się zmniejszyły. Wrażliwość pszenicy na fluorek sodu w swoich badaniach wykazali również Sudhakar i in. [2008] i Bhargava i Bhardwaj [2010].

Tabela 1. Wpływ 10 mM NaF oraz substancji biologicznie czynnych na wybrane parametry biometryczne 10-dniowych siewek pszenicy jarej odmiany Bryza  
Table 1. Effect of BAS on the germination, morphological parameters of 10-days wheat seeds var Bryza exposed to 10 mM NaF stress in the laboratory

Dawka Dose	Indeks kiełkowania Germination index (%)	Długość korzeni Root lenght (cm)	Długość siewki Seedling length (cm)	Świeża masa Fresh weight (g)
Kontrola/ Control	–	10,73 ±0,46	12,87 ±0,35	0,82 ±0,33
NaF	37,80	2,23 ±0,64	3,81 ±0,36	0,49 ±0,25
wit./vit. C	115	12,31 ±0,36	16,42 ±0,45	0,83 ±0,88
wit./vit. C + NaF	84,05	6,87 ±0,21	9,37 ±0,61	0,52 ±0,12
GSH	90,01	10,62 ±0,35	16,63 ±0,41	0,87 ±0,12
GSH + NaF	78,12	7,01 ±0,36	7,53 ±0,45	0,55 ±0,21
wit./vit. PP	107,14	12,83 ±0,65	15,63 ±0,51	0,82 ±0,11
wit./vit. PP + NaF	61,97	6,67 ±0,21	8,87 ±0,35	0,51 ±0,15
wit./vit. E	117,14	13,61 ±0,37	17,98 ±0,27	0,89 ±0,09
wit./vit. E + NaF	52,86	6,52 ±0,35	9,41 ±0,37	0,54 ±0,10
SA	97,14	6,67 ±0,37	14,17 ±0,31	0,83 ±0,08
SA + NaF	87,14	3,37 ± 0,12	7,47 ±0,35	0,52 ±0,20
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub>	–	0,578	0,247	0,112

NIR – najmniejsza istotna różnica przy poziomie istotności  $\alpha < 0,05$ ; ± odchylenie standardowe  
LSD – least significant difference, significantly different  $\alpha < 0,05$ ; ± standard deviation

Dodatek substancji biologicznie czynnych wpłynął łagodząco na stres wywołany 10 mM NaF. Najbardziej efektywnymi substancjami biologicznie czynnymi były kolejno glutation, kwas salicylowy oraz kwas askorbinowy. Dodatek tych substancji wpłynął korzystnie na omawiane parametry. Eraslan i in. [2007] wykazali, że dodanie kwasu salicylowego (0,05 mmol) zwiększyło kiełkowanie nasion i wzrost siewek marchwi (*Daucus carota* L. odm. Nantes) rosnącej w warunkach stresu solnego. Natomiast Shalata i Neumann [2001] wykazali łagodzący wpływ kwasu askorbinowego (0,5 mmol) wobec siewek pomidora (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. M82) rosnącego w warunkach stresu wywołanego 300 mmol NaCl.

W tabeli 2 zestawiono wyniki oznaczonych parametrów biochemicznych (prolina, MDA) oraz fizjologicznych (chlorofil całkowity i karotenoidy). Dodatek 10 mM NaF wpłynął na zwiększenie zawartości wolnej proliny oraz dialdehydu malonowego w 10-dniowych siewkach pszenicy. Podwyższona zawartość tych związków wskazuje na toksyczny wpływ tego pierwiastka na tkankę roślinną. Zastosowanie substancji biologicznie czynnych, a w szczególności amidu kwasu nikotynowego,  $\alpha$ -tokoferol oraz kwasu salicylowego wpłynęło istotnie na obniżenie zawartości wolnej proliny w siewkach. W przypadku dialdehydu malonowego – wskaźnika stopnia utlenienia lipidów, substancje biologicznie czynne, a w szczególności kwas salicylowy, wpłynęły na obniżenie zawartości tego związku w 10-dniowych siewkach pszenicy poddanej stresowi fluorokowemu.

Tabela 2. Wpływ 10 mM NaF oraz substancji biologicznie czynnych na zawartość MDA, proliny, chlorofilu całkowitego oraz karotenoidów w 10-dniowych siewkach pszenicy jarej odmiany Bryza

Table 2. Effect of BAS on contents of the MDA, proline, total chlorophyll and carotenoids of 10-days wheat seeds var Bryza exposed to 10 mM NaF stress in the laboratory

Dawka Dose	MDA (nmol·g <sup>-1</sup> ś.m.)	Prolina Proline (μmol·g <sup>-1</sup> ś.m.)	Chlorofil całkowity Total chlorophyll (μg·g <sup>-1</sup> ś.m.)	Karotenoidy Carotenoids (μg·g <sup>-1</sup> ś.m.)
Kontrola/ Control	38,93 ±2,60	1,92 ±0,19	634,54 ±0,57	82,41 ±3,33
NaF	74,47 ±0,49	17,43 ±0,59	354,21 ±0,64	49,19 ±2,55
wit./vit. C	21,13 ±0,58	3,21 ±0,02	679,76 ±7,11	83,54 ±0,88
wit./vit. C + NaF	50,80 ±0,73	8,31 ±0,04	458,65 ±4,78	52,26 ±1,16
GSH	25,60 ±0,40	2,85 ±0,01	635,13 ±2,50	87,58 ±1,17
GSH + NaF	43,28 ±0,61	8,43 ±0,06	488,76 ±1,78	55,31 ±2,12
wit. /vit. PP	25,27 ±0,50	2,61 ±0,05	651,13 ±1,81	82,59 ±1,14
wit./vit. PP + NaF	43,01 ±0,67	4,53 ±0,07	453,17 ±2,85	51,35 ±1,53
wit./vit. E	23,82 ± 0,51	3,25 ±0,03	667,76 ±1,56	89,56 ±0,96
wit./vit. E + NaF	43,28 ± 0,56	5,10 ±0,03	502,12 ±3,54	54,30 ±1,04
SA	36,07 ±0,82	4,60 ±0,14	671,3 ±3,53	83,59 ±0,84
SA + NaF	37,09 ±0,91	4,93 ±0,06	484,13 ±1,57	52,27 ±2,05
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub>	0,928	0,736	57,691	14,451

NIR – najmniejsza istotna różnica przy poziomie istotności  $\alpha < 0,05$ ;  $\pm$  odchylenie standardowe  
LSD – least significant difference, significantly different  $\alpha < 0.05$ ;  $\pm$  standard deviation

Zhang i Kirkham [1996] zaobserwowali podobne działanie hamujące egzogenego kwasu askorbinowego na peroksydację lipidów w sadzonkach słonecznika narażonych na stres wodny. Natomiast Baghizadeh i Hajmohammadrezaei [2011] oraz Kadioglu i in. [2010] wykazali, że kwas askorbinowy oraz kwas salicylowy zmniejszają skutki i uszkodzenia tkanek w wyniku stresu suszy wobec *Hibiscus esculents* L. oraz *Ctenanthe setosa*. Również w badaniach Abdelhamida i in. [2013] stwierdzono łagodzący wpływ amidu kwasu nikotynowego wobec *Vicia faba* rosnącego w warunkach stresu solnego. Wykazano, że zawartość proliny oraz dialdehydu malonowego była mniejsza w próbach z dodatkiem tej substancji biologicznie czynnej.

W niniejszej pracy fluorek sodu wpłynął również na obniżenie zawartości chlorofilu całkowitego oraz karotenoidów (tab. 2). Elloumi i in. [2005] wyjaśniają, że jest to spowodowane tym, że jony magnezu stanowiące element budowy chlorofilu w celu zmniejszenia toksyczności fluoru tworzą z nim kompleksy w formie  $MgF_2$ . W wyniku tego dalsza synteza chlorofilu a i b oraz innych barwników, w tym karotenoidów, nie jest możliwa [Gadi i in. 2012, Kartick i in. 2012]. Gupta i in. 2009 podają, że zawartość barwników w liściach może obniżyć się nawet o 80%. Wykazano, że dodatek substancji biologicznie czynnych wpłynął istotnie na zwiększenie ich zawartości w siewkach rosnących w szalkach z dodatkiem fluorku sodu, co wskazuje na łagodzący wpływ substancji biologicznie czynnych. Cai i in. [2010] po dodaniu glutationu również zaobserwowali wzrost zawartości barwników asymilacyjnych w siewkach ryżu rosnących z dodatkiem 5 i 50  $\mu M$  Cd. Dodanie kwasu salicylowego (0,05 mmol) również spowodowało zwiększenie zawartości tych substancji w siewkach marchwi w badaniach Eraslan i in. [2007]. Dodanie kwasu askorbinowego także skutkowało podwyższeniem zawartości chlorofilu całkowitego oraz karotenoidów w roślinach poddanych działaniu stresu solnego w badaniach Bybordiego [2012] u kukurydzy (*Zea mays* L.) oraz w badaniach Kostopolou i in. [2015] u pomarańczy gorzkiej (*Citrus aurantium* L.).

#### PODSUMOWANIE

Substancje biologicznie czynne, a w szczególności kwas askorbinowy, kwas salicylowy oraz  $\alpha$ -tokoferol, powodują zmniejszenie toksyczności 10 mM fluorku sodu dla pszenicy jarej odmiany Bryza w warunkach in vitro. Wszystkie zastosowane substancje biologicznie czynne wpłynęły na poprawę oznaczanych parametrów morfologicznych, fizjologicznych i biochemicznych w porównaniu z roślinami z kombinacji kontrolnej siewek pszenicy, co może świadczyć o łagodzeniu stresu oksydacyjnego wywołanego przez fluorek sodu.

#### PIŚMIENNICTWO

- Abdelhamid M.T., Sadak M.SH., Schmidhalter U., El-Saady A.K.M., 2013. Interactive effects of salinity stress and nicotinamide on physiological and biochemical parameters of faba bean plant. *Acta Biol. Colomb.* 18, 499–510.
- Arnon D.J., Allen M.B., Halley F. 1956. Photosynthesis by isolated chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta.* 20, 449–461.

- Athar H.R., Khan A., Ashraf M., 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environ. Exp. Bot.* 63, 224–231.
- Azooz M.M., Alzahrani A.M., Youssef M.M., 2013. The potential role of seed priming with ascorbic acid and nicotinamide and their interactions to enhance salt tolerance in broad bean (*Vicia faba* L.). *Aust. J. Crop Sci.* 7, 2091–2100.
- Baghizadeh A., Hajmohammadrezaei M., 2011. Effect of drought stress and its interaction with ascorbate and salicylic acid on okra (*Hibiscus esculents* L.) germination and seedling growth. *J. Stress Physiol. Biochem.* 1(7), 55–65.
- Barbero P., Beltrami M., Baudo R., Rossi D., 2001. Assessment of lake orta sediments phytotoxicity after limiting treatment. *J. Limnol.* 60(2), 269–276.
- Bates L.S., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 39, 205–207.
- Bhargava D., Bhardwaj N., 2010. Effect of sodium fluoride on seed germination and seedling growth of *Triticum aestivum* Var. Raj. 4083. *J. Phytol.* 2(4), 41–43.
- Bybordi A., 2012. Effect of ascorbic acid and silicium on photosynthesis, antioxidant enzyme activity, and fatty acid contents in canola exposure to salt stress. *J. Integr. Agr.* 11(10), 1610–1620.
- Cai Y., Cao F., Wei K., Zhang G., Wu F., 2010. Genotypic dependent effect of exogenous glutathione on Cd-induced changes in proteins, ultrastructure and antioxidant defense enzymes in rice seedlings. *J. Hazard. Mater.* 192(15), 1056–1066.
- Chen Z., Zheng Z., Huang J., Lai Z., Fan B., 2009. Biosynthesis of salicylic acid in plants. *Plants Signal. Behav.* 4, 493–496.
- Davey M.W., Montagu M.V., Inze D., Sanmartin M., Kanellis A., Smirnoff N., Benzie I.J.J., Strain J.J., Favell D., Fletcher J., 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J. Sci. Food Agric.* 80, 825–860.
- Dixon D.P., Cummins I., Cole D.J., Edwards R., 1998. Glutathione-mediated detoxification systems in plants. *Curr. Biol.* 1, 258–266.
- Dolatabadian A., Jouneghani S.R., 2009. Impact of exogenous ascorbic acid on antioxidant activity and some physiological traits of common bean to salinity stress. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.* 37(2), 165–172.
- Ebrahim M.K., 2005. Amelioration of sucrose- metabolism and yield changes, in storage roots of NaCl-stressed sugarbeet, by ascorbic acid. *Agrochimica* 49(3–4), 93–103.
- Elloumi N., Abdallah F.B., Mezghani I., Rhouma A., Boukhrisb M., 2005. Effect of fluoride on almond seedlings in culture solution. *Fluoride* 38(3), 193–198.
- Eraslan F., Inal A., Gunes A., Alpaslan M., 2007. Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Sci. Hort.* 113(2), 120–128.
- Farooq M., Irfan M., Aziz T., Ahmad T., Cheema S.A., 2012. Seed priming with ascorbic acid improves drought resistance of wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 199(1), 12–22.
- Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Bas S. M. A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Develop.* 29, 185–212.
- Gadi B.R., Pooja V., Ram A., 2012. Influence of NaF on seed germination, membrane stability and some biochemicals content in *Vigna* seedlings. *J. Chem. Bio. Phys. Sci. Sec. B.* 2(3), 1371–1378.
- Gautam R., Bhardwaj N., Saini Y., 2010. Fluoride accumulation by vegetables and crops grown in Nawa Tehsil of Nagaur District (Rajasthan, India). *J. Phytol.* 2(2), 80–85.

- Gramowska H., Siepak J., 2002. Wpływ poziomu fluoroków na reakcje liści i igieł drzew miasta Poznania i okolic. *Rocz. Ochr. Śr.* 4, 457–475.
- Guo, Z., Tan H., Zhu Z., Lu S., Zhou B., 2005. Effect of intermediates on ascorbic acid and oxalate biosynthesis of rice and in relation to its stress resistance. *Plant Physiol. Biochem.* 43(10), 955–962.
- Gupta S., Banerjee S., Mondal S., 2009. Phytotoxicity of fluoride in the germination of paddy (*Oryza Sativa*) and its effect on the physiology and biochemistry of germinated seedlings. *Fluoride* 42(2), 142–146.
- Hell R., 1997. Molecular physiology of plant sulfur metabolism. *Planta* 202, 138–148.
- Jazi S.B., Oregani K.E., 2014. Impact of salicylic acid on the growth and photosynthetic pigment of canola (*Brassica napus* L.) under lead stress. *Int. J. Biosci.* 4(10), 290–297.
- Kadioglu A., Saruhan N., Sağlam A.S., Tuba T., 2010. Acet Exogenous salicylic acid alleviates effects of long term drought stress and delays leaf rolling by inducing antioxidant system. *J. Plant Growth Regul.* 64(1), 27–37.
- Kartick C., Pal, Mondal N.K., Bhaumik R., Banerjee A., Datta J.K., 2012. Incorporation of fluoride in vegetation and associated biochemical changes due to fluoride contamination in water and soil: a comparative field study. *AES* 6, 123–139.
- Kostopolou Z., Therios I., Roumeliotis E., Kanellis A. K., Molassiotis A., 2015. Melatonin combined with ascorbic acid provides salt adaptation in *Citrus aurantium* L. seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 86, 155–165.
- Kumar S., Singh R., Nayyar H., 2012.  $\alpha$ - Tocopherol application modulates the response of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings to elevated temperatures by mitigation of stress injury and enhancement of antioxidants. *J. Plant Growth Regul.* 32(2), 307–314.
- Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11, 591–592.
- Miura K., Tada Y., 2014. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Front. Plant Sci.* 5, 4.
- Moghadam H.R.T., 2016. Application of super absorbent polymer and ascorbic acid to mitigate deleterious effects of cadmium in wheat. *Pesqui. Agropecu. Trop.* 46(1), 9–18.
- Mohanpuria P., Rana N.K., Yadav S.K., 2007. Cadmium induced oxidative stress influence on glutathione metabolic genes of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze. *Environ. Toxicol.* 22(4), 368–374.
- Naser Alavi S.M., Arvin M.J., Kalantari K.M., 2014. Salicylic acid and nitric oxide alleviate osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *J. Plant Interac.* 9, 683–688.
- Noctor G., Mhamdi A., Chaouche S., Han Y., Neukermans J., Marquez-Garcia B., 2012. Glutathione in plants: an integrated overview. *Plant Cell Environ.* 35(2), 454–484.
- Schmidt M., Horstmann S., De Collib L., Danaherb M., Speerc K., Zanninia E., Arendt E.K., 2016. Impact of fungal contamination of wheat on grain quality criteria. *J. Cereal Sci.* 69, 95–103.
- Shalata A., Neumann P.M., 2001. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increase resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *J. Exp. Bot.* 52(364), 2207–2211.
- Singh G.P., Chaudhary H.B., 2006. Selection parameters and yield enhancement of wheat (*Triticum aestivum* L.) under different moisture stress condition. *Asian J. Plant Sci.* 5(5), 894–898.
- Smirnoff N., 2000. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3(3), 229–235.
- Smirnoff N., 2005. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. In: Smirnoff N. (ed.), *Antioxidants and reactive oxygen species in plants*. Blackwell Publishing, Oxford, UK, 53–86.
- Smirnoff N., Conklin P., Loewus F.A., 2001. Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52, 437–440.



- Smirnoff N., Wheeler G.L., 2008. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 35(4), 219–314.
- Son J.A., Narayanankutty D.P., Roh K.S., 2014. Influence of exogenous application of glutathione on rubisco and rubisco activase in heavy metal-stressed tobacco plant grown in vitro. *Saudi J. Biol. Sci.* 21, 89–97.
- Srivastava A.K., Bhargava P., Rai L.C., 2005. Salinity and copper-induced oxidative damage and changes in antioxidative defense system of *Anabaena doliolum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 22, 1291–1298.
- Sudhakar C., Lakshim A., Giridarakumar S., 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Sci.* 161, 613–619.
- Sudhakar P., Prabhakar P., Bhiravamurthy P.V., 2008. Effects of fluoride on early root and shoot growth of typical crop plants of India. *Fluoride* 41(1), 57–60.
- Venkatesh J., Park S., 2014. Role of L-ascorbate in alleviating abiotic stresses in crop plants. *Bot. Stud.* 55, 38.
- Wędzisz A., 1994. Fluor – środowisko – żywność. *Bromat. Chem. Toksykol.* 27, 347–352.
- Zhang J., Kirkham M.B., 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytologist.* 132(3), 361–373.

**Summary.** Plants throughout their lives are constantly exposed to the abiotic stress. One of these factors is the pollution of the environment with fluorine compounds. Fluoride is a highly toxic element and has not yet been shown to have a positive effect on plants. The aim of this study was to assess if some biologically active substances (vitamin C, glutathione, vitamin PP, vitamin E, salicylic acid) applied to medium may enhance plant tolerance to oxidative stress induced with 10 mM NaF. To evaluate this, various morphological (root length, seedling length, fresh weight), biochemical (MDA, proline) and physiological characteristics (total chlorophyll, carotenoids) of 10-day-old spring wheat seedlings var. Bryza were measured. Addition of NaF to the substrate had an inhibitory effect on growth and fresh weight of plants and increased biochemical parameters as an indicator of oxidative stress. Of the substances used ascorbic acid (vitamin C),  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E) and salicylic acid most mitigated the toxic effects of fluoride on wheat seedlings.

**Key words:** fluoride, biologically active substances, parameters of oxidative stress

Otrzymano/ Received: 19.07.2017  
Zaakceptowano/ Accepted: 4.10.2017