

تغییر پذیری فراسنجه‌های فیزیولوژیکی کلزا در پاسخ به کاربرد ۲۴-اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی در شرایط تنش شوری

شیرین مکاری فیروزسالاری^۱، سعید خماری^{۲*}، رئوف سیدشریفی^۳، اسماعیل گلی کلانپا^۴، کامبیز عزیزپور^۵
۱ دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی
۲ و ۳ استاد یار و استاد فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی
۴ استادیار شیمی و حاصلخیزی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی
۵ استادیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۴/۱۹)

چکیده

این پژوهش با هدف تعیین تأثیر ترکیب تیماری هورمون ۲۴-اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی بر تحمل گیاهچه کلزا به تنش شوری طراحی و اجرا شد. به این منظور، آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۳۹۴ انجام شد. عامل‌های آزمایش عبارت بودند از: محلول‌پاشی برگی نانو اکسید روی (۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام)، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ از ZnO-NPs)، ۲۴-اپی-براسینولید (۰، ۱۵ و 30 mg h^{-1}) و تنش شوری (۰، ۵۰ و 100 mM NaCl). نتایج نشان داد، تنش شوری موجب افزایش معنی‌دار میزان مالون-دی‌آلدئید و کاهش شایان‌توجه وزن خشک و سطح برگ گیاهچه، پایداری غشا، پیشینه عملکرد کوانتومی نظام نوری یا فتوسیستم II (Fv/Fm) و فعالیت کاتالاز و پراکسیداز شد. محلول‌پاشی توأم ۲۴-اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی توانست تأثیر زیان‌بار تنش اکسایشی (اکسیداتیو) ناشی از شوری را مرتفع کند. به طوری که با تحریک فعالیت پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان)ها، محتوای مالون‌دی‌آلدئید کاهش و در مقابل، فراسنجه‌های وزن خشک و سطح برگ گیاهچه، محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشا و Fv/Fm افزایش یافتند. از سوی دیگر، اثر منفی نانو اکسید روی در 1000 mg.ha^{-1} EBL ۳۰ به همراه ZnO-NPs (۵۰۰ قسمت در میلیون (پی پی ام)) بهترین نتیجه را به منظور تخفیف اثرگذاری‌های سوء تنش شوری در برداشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های پاداکسنده، پایداری غشا، پراکسیداسیون لیپیدی، شوری، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II.

Changes in physiological parameters of rapeseed in response to application of 24-epibrassinolide and nano-zinc oxide under salinity stress

Shirin Mokari-Firouzsalar¹, Saeid Khomari², Raouf Seyyed-Sharifi³, Esmaeil Goli-Kalanpa⁴, Kambiz Azizpour⁵

1. Ph.D. Student of Crop Physiology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili
- 2 and 3. Assistant Professor and Professor of Crop Physiology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili
4. Assistant Professor of Soil Chemistry and Fertility, Department of Soil Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili
5. Assistant Professor of Crop Physiology, Department of Agronomy and Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University
(Received: February 14, 2017- Accepted: July 10, 2017)

ABSTRACT

This research was conducted to determine the effects of 24-epibrassinolide and zinc oxide nano-particles (ZnO-NPs) on the salinity tolerance capability of canola seedling. In this regard, a factorial potting experiment was carried out based on randomized complete block design with three replications in year 2015. The experimental factors included foliar spray of ZnO-NPs (0, 500 and 1000 ppm), 24-epibrassinolide (0, 15 and 30 mg.ha^{-1}) and salinity stress levels (0, 50 and 100 mM NaCl). According to results, salt stress caused to increase of malondialdehyde and considerable decrease of seedling dry weight and leaf area, membrane stability, quantum yield of photosystem II (Fv/Fm) and catalase and peroxidase activity. Co-application of 24-epibrassinolide and ZnO-NPs alleviated the salt stress mediated oxidative damage. Such that with promotion of antioxidant system, the malondialdehyde content was decreased and in contrast, the parameters of dry matter and leaf area, relative water content, membrane stability and Fv/Fm were increased. On the other hand, negative impact of ZnO-NPs at 1000 ppm on dry matter production and membrane stability was observed. According to results, it seems that co-application of 30 mg.ha^{-1} EBL with 500 ppm ZnO-NPs had the best result in order to ameliorate the deleterious impacts of salinity stress.

Keywords: Antioxidant enzymes, lipid peroxidation, quantum yield of photosystem II, Salinity, membrane stability.

مقدمه

تنش شوری یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که میزان تولید محصولات کشاورزی و بازده استفاده از اراضی مناطق خشک و نیمه‌خشک را کاهش می‌دهد (Bybordi *et al.*, 2010) و به‌واسطه آسیب اکسایشی (اکسیداتیو) موجب تولید انواع اکسیژن واکنشی (ROS) شامل رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و هیدروکسیل (OH) می‌شود (Mittler, 2002). انواع ROS نیز منجر به تخریب غشا، پراکسیداسیون لیپیدی و تغییرپذیری در DNA و RNA شده و تغییرپذیری سوخت‌وسازی (متابولیکی) و ساختاری جبران‌ناپذیری را ایجاد می‌کند، که در نهایت مرگ یاخته‌ای رخ می‌دهد (Miller *et al.*, 2010).

براسینواستروئیدها هورمون‌هایی هستند که موجب بهبود کیفیت و کمیت عملکرد می‌شود (Vardhini & Anjum, 2015) و با بهبود سامانه دفاع پاداکسندگی (آنتی-اکسیدانی) از گیاه در برابر عامل‌های تنش‌زا محافظت می‌کنند (Arora *et al.*, 2010). Arora *et al.* (2010) تأثیر ۲۸-هموبراسینولید (HBL) بر پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده در ذرت را بررسی و مشاهده کردند که کاربرد HBL سمیت یونی ناشی از تنش شوری بر رشد گیاهچه‌ها را به‌شدت تخفیف می‌دهد. عنصر روی (Zn) یکی از ریزمغذی‌های اصلی در بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاه است، ولی مانند دیگر فلزهای سنگین در غلظت‌های بالا اثر بازدارنده بر رشد و توسعه گیاه دارد و موجب کلروز برگ و آسیب اکسایشی می‌شود (Nagajyoti *et al.*, 2010). بررسی‌های انجام گرفته توسط پژوهشگران نشان می‌دهد، کاربرد روی در غلظت‌های مطلوب موجب بهبود کمیت و کیفیت گیاه کلزا می‌شود و حال آنکه غلظت‌های بالای روی به دلیل ایجاد سمیت، فراسنجه‌های رشدی کلزا را به‌طور شایان‌توجهی کاهش می‌دهد (Belouchrani *et al.*, 2016). با این وجود نتایج بررسی‌های برخی پژوهشگران نشان می‌دهد، کاربرد نانو اکسید روی در غلظت‌های پایین تأثیر منفی بر رشد اندام‌های هوایی ندارد و حتی موجب افزایش آن می‌شود (Rahmani *et al.*, 2016). ترکیب‌های نانو می‌توانند از راه ریشه جذب و به‌واسطه سامانه آوندی به اندام‌های هوایی منتقل شوند.

همچنین تأثیر آن‌ها روی سوخت‌وساز (متابولیسم) و نمو گیاه وابسته به میزان پویایی، فعالیت شیمیایی، رسوب و غلظت نانو ذرات است (Dietz & Herth, 2011).

با توجه به اهمیت بررسی تأثیر مواد تنظیم‌کننده زیستی (Bio-regulators) و نانو ذرات عنصرهای ریزمغذی در ارتباط با تحریک رشد رویشی و زایشی گیاهان زراعی به‌ویژه در شرایط تنش‌های محیطی، این پژوهش به‌منظور ارزیابی اثر ۲۴-اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی بر برخی فراسنجه‌های رشدی و فیزیولوژیک کلزا در شرایط تنش شوری اجرا شد. از سوی دیگر، این پرسش مطرح است که آیا محلول پاشی برگی این ترکیب‌ها تأثیر مثبت و محرکی بر میزان رشد و کارایی سامانه دفاعی گیاه در شرایط رخداد شوری دارد؟

مواد و روش‌ها

بذرهای کلزای پاییزه (رقم اکاپی) از بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان شرقی تهیه شد. به‌منظور ارزیابی تأثیر نانو ذرات اکسید روی (شامل نانو ذرات اکسید روی با خلوص ۹۹/۹ درصد، تهیه‌شده از شرکت تکنان اسپانیا) و هورمون ۲۴-اپی‌براسینولید (شامل ماده تنظیم‌کننده‌ای با نام شیمیایی 22R,23R,24R-2 α ,3 α ,22,23-Tetrahydroxy-B-homo-7-oxa-5 α -ergostan-6-one از گروه براسینواستروئیدها با خلوص بالای ۸۵ درصد و با وزن مولکولی ۴۸۰/۶۸ گرم تهیه‌شده از شرکت سیگما-آلدريج آمریکا) بر برخی ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیکی گیاهچه کلزا در واکنش به تنش شوری، آزمایشی گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) با چهار تکرار در گلخانه و آزمایشگاه دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۴ با عرض جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳۴ دقیقه شرقی و طول جغرافیایی ۳۸ درجه و ۳۱ دقیقه شمالی و ارتفاع آن ۱۳۵۰ متر از سطح دریا اجرا شد. عامل‌های آزمایشی شامل محلول پاشی برگی نانو اکسید روی (NP-ZnO) ۱۰۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) و ۵۰۰ و ۲۴-اپی-براسینولید (EBL) ۳۰ mg ha⁻¹ و ۱۵ و ۰، و اعمال تنش شوری (۱۰۰ mM NaCl و ۵۰ و ۰، بود).

توسط دستگاه هدایت سنج الکتریکی (WTW ساخت آلمان، شرکت Walz مدل LF-340 سال ۱۹۹۸) شد. و در نهایت سعی شد شدت شوری خاک (۵/۵ و ۱۰/۴ دسی زیمنس بر متر به ترتیب برای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) در محدوده اعداد گفته شده در مواد و روش‌ها حفظ شده و از انباشت بیش از حد نمک در خاک جلوگیری شود.

آبیاری بر پایه کاهش میزان آب خاک تا FC ۶۵٪ به طور یکنواخت انجام پذیرفت. به طور خلاصه، در آغاز یک گلدان شاهد (حاوی ترکیب خاک آزمایش) با آبیاری مفرط اشباع و سطح خاک با پلاستیک پوشانده و تبخیر به صفر رسانده شد. در ادامه پس از ۲۴ ساعت با فاصله زمانی هر شش ساعت رطوبت وزنی خاک اندازه‌گیری شد که با ثابت ماندن درصد رطوبت وزنی خاک، صد در صد ظرفیت مزرعه‌ای به دست آمد. در روز سی‌ام پس از کاشت اقدام به محلول‌پاشی برگی نانو اکسید روی و هورمون ۲۴- اپی براسینولید در غلظت‌های تعیین شده شد. در زمان ۲۴ ساعت پس از محلول‌پاشی برگی نانو اکسید روی و هورمون ۲۴- اپی براسینولید، نمونه‌های تصادفی از برگ (آخرین برگ بسیار توسعه یافته) و ریشه بوته‌های موجود در هر گلدان برداشته شد.

شمار کل واحدهای آزمایشی مشتمل بر ۱۰۸ عدد گلدان هم‌شکل به قطر ۳۰ و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر بود. گلدان‌ها با مخلوطی از خاک زراعی (لوم شنی) و کود گاوی کامل پوسیده به نسبت پنج به یک پر شدند (جدول ۱). زیرگلدانی به منظور باز چرخش املاح زهکش شده از گلدان‌ها در نظر گرفته شد.

برای ارتقای کارایی محلول‌پاشی برگی از Tween-20 که یک نوع دترجنت غیر یونی با نام شیمیایی پلی سوربات - ۲۰ است و از اتوکسیلاسیون سوربیتان پیش از افزودن لوریک اسید به دست می‌آید، به میزان ۰/۰۱ درصد استفاده شد (Hayat et al., 2010). سطوح مختلف تنش شوری با استفاده از نمک کلرید سدیم (NaCl) از آغاز کاشت بذر در گلدان‌ها اعمال شد. هدایت الکتریکی عصاره گل اشباع (شوری اولیه) خاک حدود ۰/۶۵ دسی زیمنس بر متر بود. آب‌شور در قالب اجزای ۲۵ میلی‌مولاری با فاصله زمانی ۲۴ ساعت به گلدان‌ها داده شد تا از رخداد تکانه (شوگ) نمک به‌ویژه در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار اجتناب شود. در ادامه برای انجام کنترل دقیق‌تر بر درجه شوری خاک گلدان‌ها، هر هفته به‌طور تصادفی اقدام به سنجش هدایت الکتریکی آب نفوذ یافته به زیرگلدانی‌ها

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک گلدان

Table 1. Physicochemical Properties of Potted Soils

ppm			درصد						Texture	pH	EC (dS/m)	Characteristic
zinc	potassium	Phosphorus	Total nitrogen	Organic carbon	grit	silt	Clay	Saturated extract				
0/815	285	20/34	0/08	0/73	67	20	13	29	Sandy looney	7/2	0/65	amount

۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. سپس هدایت الکتریکی (EC) (C1) نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در ادامه نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۰/۱ مگاپاسکال اتوکلاو شد و EC برای بار دوم (C2) سنجیده شد. برای محاسبه شاخص پایداری غشاء از رابطه زیر استفاده شد:

$$CMS = (1 - C1/C2) \times 100 \text{ (Saneoka et al., 2004)}$$

برای اندازه‌گیری بیشینه عملکرد کوانتومی نظام نوری یا فتوسیستم II (با دستگاه فلورومتر) با استفاده از گیره-های مخصوص، پس از سنجش فراسنجه‌های Fm (فلورسانس بیشینه)، F0 (فلورسانس کمینه) از رابطه زیر محاسبه شد:

وزن خشک گیاهچه‌های نمونه‌برداری شده، پس از ۲۴ ساعت قرار دادن در آون ۸۰ درجه سلسیوس تعیین شد. سطح برگ‌ها نیز با استفاده از دستگاه سطح‌سنج برگ اندازه‌گیری شد. محتوای نسبی آب برگ با روش Weatherley (1995) تعیین شد. پس از سنجش وزن تر، اشباع و خشک نمونه‌های برگی میزان رطوبت نسبی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد که در آن، FW وزن تر، TW وزن اشباع و DW وزن خشک نمونه‌های برگی است:

$$RWC (\%) = (FW - DW) / (TW - DW) \times 100$$

برای تعیین شاخص پایداری غشاء، ۰/۳ گرم نمونه برگی پس از دو مرتبه شستشو با آب مقطر، سطح آن‌ها با کاغذ صافی خشک شد. نمونه‌ها در لوله‌های آزمایش حاوی

و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام)) بدون کاربرد EBL کمترین وزن خشک گیاهچه ثبت شد که نسبت به تیمار شاهد بیش از دو برابر کمتر بود.

بیشینه سطح برگ (۵۰٪ بیشتر از شاهد) گیاهچه در شرایط بدون تنش و محلول‌پاشی ۳۰ mg h⁻¹ هورمون و ۵۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) روی و کمینه میزان آن (۶۰٪ کمتر از شاهد) در شرایط تنش شوری شدید (۱۰۰ mM) و بدون محلول‌پاشی هورمون و روی مشاهده شد. به‌طور کلی، در غلظت ۵۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) نانوآکسید روی، سودمندی غلظت ۳۰ mg h⁻¹ هورمون به لحاظ میزان افزایش وزن خشک و سطح برگ در سطوح مختلف شوری بالاتر از دیگر ترکیب‌های تیماری برای کاهش تأثیر تنش شوری بود. این نتایج نشان می‌دهد، با افزایش غلظت نمک، گیاهچه کلزا به مقادیر بیشتری از ۲۴-پی‌براسینولید برای کاهش تأثیر زیانبار تنش و غلظت بالای نانو اکسید روی نیاز دارد.

Soliman *et al.* (2015) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، نانوآکسید روی باعث بهبود رشد در شرایط تنش‌زا و عادی شده و تحمل به تنش شوری را افزایش داد. با این حال، غلظت‌های بالای روی توانست اثر سمی نیز در گیاه ایجاد کند (Rahmani *et al.* 2016). در این پژوهش مشاهده شد که محلول‌پاشی توأم ۲۴-پی‌براسینولید و نانو ذرات اکسید روی در غلظت مناسب می‌تواند به‌عنوان روشی کاربردی برای کاهش تأثیر زیانبار تنش شوری و سمیت روی در گیاه کلزا در نظر گرفته شود. پژوهش Arora *et al.* (2010) نیز نشان‌دهنده تأثیر مثبت EBL بر تنش ناشی از غلظت سمی نانو اکسید روی بود. کاهش تجمع ماده خشک و سطح برگ به‌واسطه تنش شوری و غلظت بالای نانوآکسید روی (۱۰۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام)) را می‌توان به تولید ROS نسبت داد که منجر به پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش MDA می‌شود. در این پژوهش، کاربرد توأم EBL و روی رشد گیاهچه کلزا در شرایط شوری ملایم را بهبود بخشید. بنا به نظر اغلب پژوهشگران، کاربرد براسینواستروئیدها موجب ارتقای رشد و نمو گیاه در شرایط شوری می‌شوند (Talaat & Shawky, 2013). در پژوهش‌هایی، به‌رغم تأثیر بازدارنده شوری بر فراسنجه‌های رشدی سوپا (Cicek & Cakirlar, 2008)، سطح برگ و وزن خشک گیاهچه ماش (Hayat *et al.*,

$$Fv/Fm = (Fm - F0)/Fm$$

به‌منظور استخراج آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، ۱۰۰ mg از بافت گیاهی در هاون ساییده و در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. از عصاره به‌دست‌آمده برای اندازه‌گیری کاتالاز به روش Aebi (1984) و پراکسیداز به روش Mac-Adam *et al.* (1992) استفاده شد. به این منظور استخراج محتوای مالون دی‌آلدئید ۰/۱ گرم بافت گیاهی تازه در ۱ میلی‌لیتر اسید تری کلرو استیک ۰/۱٪ ساییده شد. عصاره به‌دست‌آمده در ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. از عصاره به‌دست‌آمده برای اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) با استفاده از روش Zaho *et al.* (1994) استفاده شد. پس از بررسی عادی (نرمال) بودن توزیع داده‌ها (بر پایه آزمون شاپیرو-ویلک) و یکنواختی واریانس خطاهای آزمایشی (بنا بر آزمون لون)، تجزیه واریانس (ANOVA) و ضریب همبستگی متغیرهای اندازه‌گیری‌شده توسط نرم‌افزارهای آماری SPSS و STATISTICA و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال آماری ۵ درصد انجام شد.

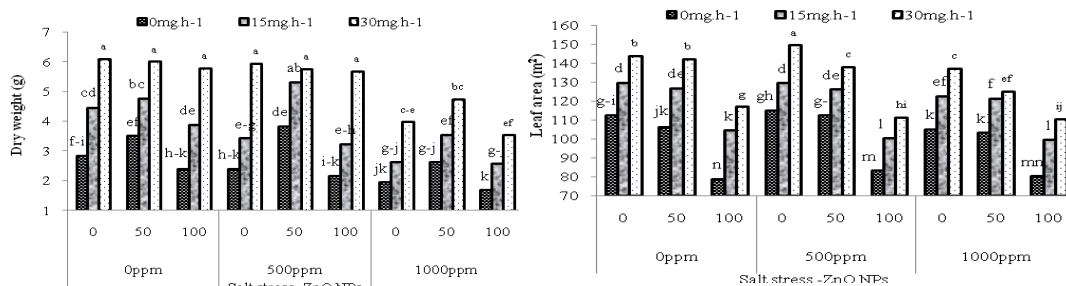
نتایج و بحث

وزن خشک و سطح برگ گیاهچه

اثر متقابل سه جانبه تنش شوری، نانوآکسید روی و ۲۴-پی‌براسینولید بر میزان وزن خشک و سطح برگ گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۲). با تشدید تنش شوری (۱۰۰ mM نمک)، وزن خشک و سطح برگ گیاهچه نسبت به بدون اعمال تنش و شوری خفیف (۵۰ mM نمک) به‌طور معنی داری کاهش یافت و با وجود اثر مثبت ۲۴-پی‌براسینولید در غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در هکتار و نانوآکسید روی در غلظت ۵۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) بر میزان ماده خشک و سطح برگ در شرایط تنش شوری و بدون تنش داشت، کاربرد نانوآکسید روی در غلظت بالا (۱۰۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام)) به همراه تنش شوری موجب افت شایان‌توجه وزن خشک و سطح برگ گیاهچه شد. بالاترین میزان وزن خشک (حدود ۱۱۳٪ بیشتر از شاهد) در تیمار ۳۰ mg h⁻¹ هورمون و در شرایط بدون کاربرد نانوآکسید روی و تنش شوری مشاهده شد. در حالی که در تنش شوری ۱۰۰ mM و نانوآکسید روی (غلظت‌های ۵۰۰

(فتوستنسز)، افزایش ROS و محدودیت روزنه‌ای است. نتایج پژوهشی نیز نشان داد، کاربرد نانواکسید روی در غلظت متناسب موجب بهبود رشد شد، اما در غلظت بالا موجب کاهش رشد شد (Rahmani *et al.*, 2016).

کاربرد هورمون ۲۸-هموپراسینولید تأثیر منفی تنش بر رشد را بهبود داد و موجب افزایش سطح برگ و وزن خشک شد. از دیگر سو، کمبود روی منجر به اختلال در رشد گیاهان تحت تنش می‌شود (Hajiboland & Amirazad, 2010) که از دلایل آن اختلال در نورساخت



شکل ۱. تغییرپذیری وزن خشک (راست) و سطح برگ (چپ) گیاهچه کلزا متأثر از ۲۴-آپی براسینولید و نانو ذرات اکسیدروی در شرایط تنش شوری (حرف‌های همسان نشان‌دهنده نبود اختلاف آماری معنی‌دار است)

Fig1- Change of canola dry matter (right) and leaf area (left) affected by EBL and ZnO-NPs foliar under salt condition (the same characters indicate no significant difference)

شاخص پایداری غشا (حدود ۳۰٪ بیشتر از شاهد) در شرایط بدون تنش و شوری ملایم و محلول‌پاشی ۳۰ mg h⁻¹ EBL بدون کاربرد ZnO-NPs اندازه گرفته شد. پایین‌ترین شاخص پایداری غشا (حدود ۳۰٪ کمتر از شاهد) نیز در شرایط رخ دادن تنش شدید و کاربرد ۱۰۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) نانو اکسید روی بدون کاربرد EBL مشاهده شد. بیشینه RWC (۲۰٪ بیشتر از شاهد) به‌واسطه کاربرد ۳۰ mg h⁻¹ EBL در شرایط بدون اعمال تنش و شوری ملایم و غلظت‌های ۰ و ۵۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) روی ملاحظه شد.

شاخص پایداری غشا، محتوای نسبی آب (RWC)

برگ و بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II

اثر متقابل سه جانبه تنش شوری، نانواکسید روی و ۲۴-آپی براسینولید بر شاخص پایداری غشا، محتوای نسبی آب (RWC) برگ و بیشینه عملکرد کوانتومی نظام نوری II معنی‌دار بود (جدول ۲). کاربرد ۱۰۰ mM نمک و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) نانواکسید روی موجب افت شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ شدند، درحالی‌که کاربرد ۳۰ mg h⁻¹ EBL توانست از اثرگذاری‌های زیانبار تنش بکاهد و در همه سطوح تنش موجب افزایش شاخص پایداری غشا و RWC شد. بالاترین

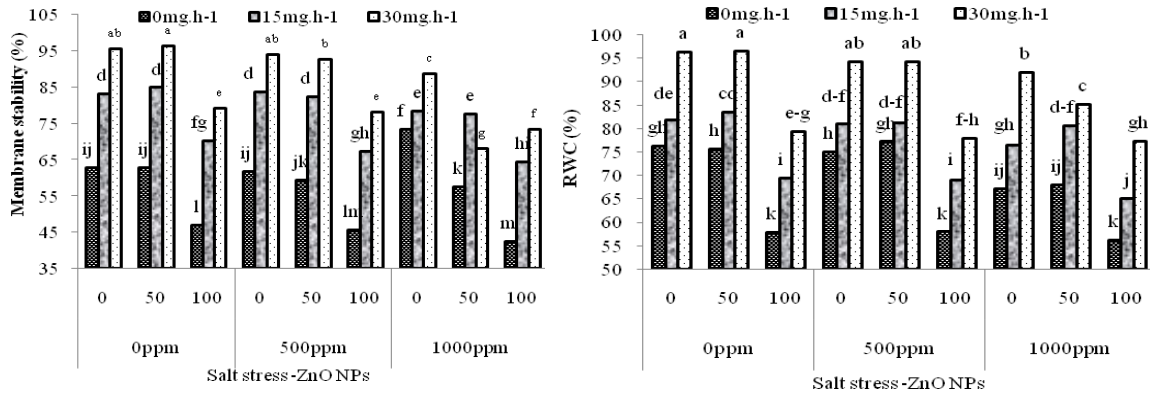
جدول ۲. تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی برگی ۲۴-آپی براسینولید و نانو اکسیدروی بر ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیک گیاهچه کلزا در شرایط تنش شوری

Table 2. Analysis of variance for the effects of foliar application of EBL and ZnO-NPs on canola seedling morpho-physiological traits under salt stress condition.

S.O.V	df	Peroxidase	catalase	MDA	Fv/Fm	Mmbrane stability	RWC	Leaf area	Dry matter
Replication	3	1.39 ^{ns}	3.08 ^{ns}	2×10 ⁻³ ^{ns}	0.0001 ^{ns}	32.6 ^{**}	5.5 ^{ns}	22.6 ^{**}	0.37 ^{ns}
EBL	2	15.01 ^{**}	69.6 ^{**}	3×10 ⁻³ ^{**}	0.022 ^{**}	7576.2 ^{**}	687.4 ^{**}	8592 ^{**}	64.66 ^{**}
Zn	2	74.6 ^{**}	24.2 ^{**}	2×10 ⁻³ ^{**}	0.0029 ^{**}	394.2 ^{**}	295.8 ^{**}	516.8 ^{**}	19.99 ^{**}
NaCl	2	71.4 [*]	372.24 ^{**}	1×10 ⁻³ ^{**}	0.3 ^{**}	2838.8 ^{**}	2551.8 ^{**}	8606 ^{**}	9.8 ^{**}
EBL*Zn	4	2.79 ^{ns}	15.96 ^{**}	2×10 ⁻⁵ [*]	0.0006 [*]	192.6 ^{**}	10.2 ^{**}	59.9 ^{**}	1.09 ^{**}
EBL*NaCl	4	2.68 ^{ns}	24.42 ^{**}	2×10 ⁻⁵ [*]	0.0038 [*]	192.6 ^{**}	23.2 [*]	59.9 ^{**}	0.86 ^{**}
Zn*NaCl	4	14.92 ^{**}	22.95 ^{**}	1×10 ⁻⁵ ^{ns}	0.0011 ^{**}	75.5 ^{**}	20.85 ^{**}	42.83 ^{ns}	0.45 ^{**}
EBL*Zn*NaCl	8	4.4 [*]	5.8 [*]	3×10 ⁻³ ^{**}	0.0007 [*]	152.9 ^{**}	17.1 ^{**}	66.37 ^{**}	0.48 ^{**}
Error	78	2.76	1.88	9×10 ⁻⁶	0.0002	72.06	2.65	26.3	0.16
CV%	-	10.3	4.4	11.87	1.77	1.8	2.1	10.5	1.85

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ns غیر معنی‌دار

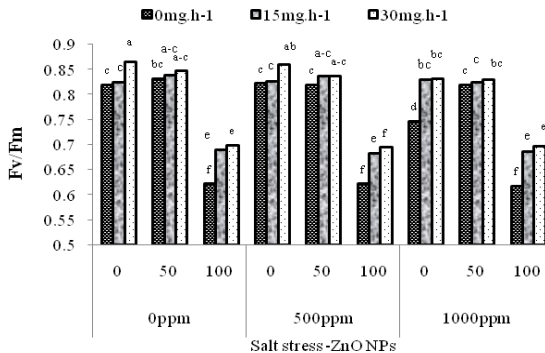
**and * significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively. Ns: not significant



شکل ۲. تغییرپذیری پایداری غشا (راست) و RWC (چپ) کلزا متأثر از ۲۴-اپی براسینولید و نانو ذرات اکسیدروی در شرایط تنش شوری (حرف‌های همسان نشان‌دهنده نبود اختلاف آماری معنی‌دار است)

Fig 2- Change of canola membrane stability (right) and RWC (left) affected by EBL and ZnO-NPs under salt condition (the same characters indicate no significant difference)

با توجه به شکل ۳ می‌توان دریافت سودمندی محلول‌پاشی EBL در جلوگیری از افت عملکرد نورساخت در شرایط تنش شوری شدید (۱۰۰ mM NaCl) بیشتر از هنگامی بود که ماده تنظیم‌کننده به کار نرفت (شکل ۳).



شکل ۳. تغییرپذیری Fv/Fm گیاهچه کلزا متأثر از محلول‌پاشی برگی ۲۴-اپی براسینولید و نانو ذرات اکسیدروی در شرایط تنش شوری (حرف‌های همسان نشان‌دهنده نبود اختلاف آماری معنی‌دار است)

Fig 3- Change of canola Fv/Fm affected by EBL and ZnO-NPs foliar under salt stress condition (the same characters indicate no significant difference)

نتایج این تحقیق نشان داد، بیشینه عملکرد کوانتومی نظام نوری II (Fv/Fm)، محتوای نسبی آب برگ (RWC) و شاخص پایداری غشا در کلزا به‌طور معنی‌داری در پاسخ به تنش شوری کاهش یافتند که با نتایج Hayat *et al.* (2010) همخوانی داشت. همچنین کاربرد توأم براسینواستروئید (۳۰ میلی‌گرم در هکتار) و نانو اکسیدروی

درحالی‌که کمترین میزان RWC (۱۵٪ کمتر از شاهد) در شرایط شوری شدید و بدون کاربرد ۲۴-اپی براسینولید در همه سطوح نانو اکسید روی ثبت شد. کاربرد ۲۴-اپی-براسینولید توانست RWC برگ گیاهچه کلزا را به‌ویژه در شرایط تنش شوری ملایم (۵۰ mM) بهبود دهد. حال آنکه غلظت بالای نانو اکسید روی (۱۰۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام)) اثر بازدارنده داشته و به همراه تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار RWC برگ شد. جدول ۲ نشان داد، میزان پایداری غشا با فعالیت کاتالاز همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت درحالی‌که با میزان مالون دی آلدئید همبستگی منفی نشان داد. بنابراین به نظر می‌رسد پراکسیداسیون لیپیدی یکی از عامل‌های اصلی کاهش پایداری غشا باشد. با توجه به نتایج این آزمایش، همچنان که انتظار می‌رفت بیشینه عملکرد کوانتومی نظام نوری II (Fv/Fm) تحت تأثیر ۱۰۰ mM نمک به‌کاربرده شده در محیط کشت به‌شدت کاهش یافت. از دیگر سو، محلول‌پاشی ۲۴-اپی براسینولید به میزان ۳۰ mg h⁻¹ موجب افزایش جزئی اما معنی‌دار کارایی سامانه نورساختی برگ کلزا در شرایط تنش شوری و غلظت بالای نانو اکسید روی شد. به‌طوری‌که، بیشترین Fv/Fm (حدود پنج٪ بیشتر از شاهد) با کاربرد ۳۰ mg h⁻¹ هورمون (بدون اعمال تنش شوری و کاربرد نانو اکسید روی) به دست آمد. درحالی‌که کمینه میزان عددی Fv/Fm (۲۴٪ کمتر از شاهد) در شرایط تنش شدید (۱۰۰ mM) و بدون کاربرد ۲۴-اپی براسینولید و در همه مقادیر نانو اکسید روی مشاهده شد.

MDA (محصول پراکسیداسیون لیپیدی) برگ گیاهچه‌ها در شرایط تنش شوری کاست. به طوری که بیشترین میزان MDA (حدود ۹۲٪ بیشتر از شاهد) در شرایط تنش شوری شدید (۱۰۰ mM) و کاربرد ۱۰۰۰ قسمت در میلیون (پی-پی) روی به همراه بدون محلول پاشی EBL ثبت شد. کمینه شاخص MDA (۴۴/۵۳٪ کمتر از شاهد) به واسطه محلول پاشی ترکیبی هورمون و روی (EBL $30 \text{ mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ + ZnO-NPs ۱۰۰۰ ppm) در شرایط بدون شوری (شاهد) مشاهده شد. همچنین تجزیه همبستگی ساده بین فراسنجه‌های بررسی شده نشان داد، میزان MDA برگ با وزن خشک گیاهچه، سطح و RWC برگ، پایداری غشای یاخته‌ای، عملکرد کوانتومی نظام نوری II، و فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده (کاتالاز و پراکسیداز) همبستگی منفی و معنی داری داشت (جدول ۳) که نشان می‌دهد، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی موجب کاهش رشد شده و فرایند-های معمولی گیاه را برهم زده است. در این پژوهش مشاهده شد، کاربرد تیمار ترکیبی EBL ($30 \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1}$) و ZnO-NPs (۵۰۰ قسمت در میلیون (پی-پی ام)) توانست از میزان MDA برگ به طور معنی داری در شرایط تنش شوری و بدون شوری بکاهد. افزایش ظرفیت سامانه دفاعی پاداکسنده می‌تواند موجب کاهش مقادیر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و مالون دی آلدئید (MDA) شده و از وارد آمدن آسیب به لیپیدها (پراکسیداسیون لیپیدی) جلوگیری کند. تجمع MDA به عنوان یکی از نشانه‌های پراکسیداسیون لیپیدی در یاخته گیاهی در نظر گرفته می‌شود (Mittler, 2002).

از آنجایی که کاهش MDA می‌تواند منجر به افزایش تحمل به تنش شوری شود (Hayat et al., 2013) و با توجه به نتایج این بررسی، به نظر می‌رسد گیاهان تیمار شده با ۲۴- پی براسینولید و نانو اکسید روی توانایی زیادی در مهار تنش اکسایشی داشته و ممکن است حساسیت آن‌ها به تنش شوری را کاهش دهند. نتایج بررسی‌های Yadava et al (2016) نیز کاهش MDA را در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده نشان داد. آنان چنین بیان داشتند، کاربرد ۲۴- پی براسینولید تأثیر مثبتی بر سامانه دفاعی پاداکسنده دارد و تا حدودی از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری به عمل می‌آورد.

در غلظت‌های متناسب موجب افزایش RWC، شاخص پایداری غشای یاخته‌ای و Fv/Fm در شرایط تنش شوری و بدون تنش شد؛ که با توجه به یافته‌های دیگر دانشمندان می‌توان چنین بیان داشت، ممکن است کاربرد خارجی ۲۴- پی براسینولید (Hayat et al., 2010) و روی (Wang et al., 2009) موجب حفاظت از نظام نوری II و غشاهای حساس تیلاکوئیدی (Hayat et al., 2010) در برابر آسیب اکسایشی ناشی از شوری شود. عملکرد فلورسانس سبزین (کلروفیل)، شاخص حساسی از سلامت غشای تیلاکوئیدی است که با تنش‌های محیطی تخریب می‌شود (Weng et al., 2008). براسینواستروئیدها با افزایش آکواپورین‌ها (Morillon et al., 2001) و پمپ پروتونی (Sakurai et al., 1999) نقش مهمی را در برقراری فشار آماس (تورژانس) و تداوم توسعه یاخته‌ای ایفا کرده و منجر به القای تحمل به تنش در گیاهان می‌شوند. از سوی دیگر، براسینواستروئیدها می‌توانند تا پایداری غشای یاخته‌ای در برابر آسیب‌های ناشی از تنش‌های غیرزنده را ارتقا دهند (Hayat et al., 2010). همچنین Sharma et al. (1995) به نقش مهم عنصر روی در تنظیم حرکت‌های روزنه‌ای و تعادل آبی بافت برگ اشاره کرده‌اند و این امر به حفظ محتوای پتاسیم بالا در یاخته‌های محافظ روزنه برگ نسبت داده شده است. تغذیه گیاه با مقادیر کافی از روی، باعث حفاظت یاخته در برابر آسیب اکسایشی ناشی از ROS خواهد شد (Wang & Jin, 2005). گیاهانی که در شرایط کمبود روی رشد می‌یابند، کارایی عملکرد کوانتومی پایینی داشته و به اجزای کلروپلاستی نیز آسیب جبران‌ناپذیری وارد می‌شود (Chen et al., 2007). بنابراین به نظر می‌رسد کاربرد ترکیبی این دو تیمار در غلظت‌های مناسب موجب افزایش تحمل گیاه به تنش شوری شد.

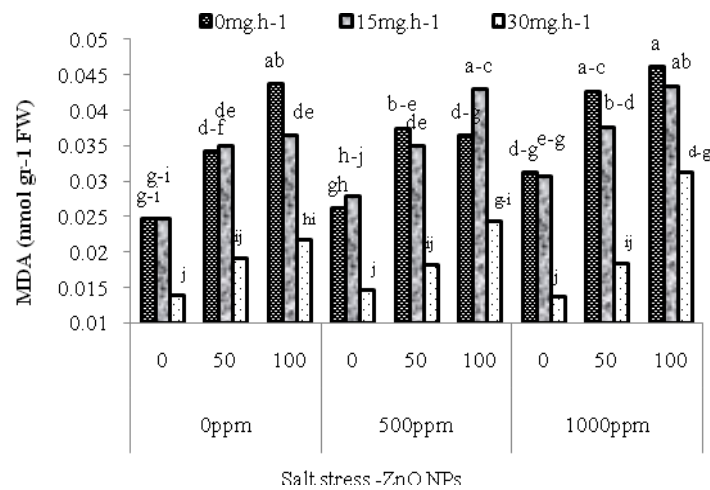
میزان مالون دی آلدئید (MDA)

اثر متقابل سه جانبه تنش شوری، نانو اکسید روی و ۲۴- پی براسینولید بر میزان مالون دی آلدئید معنی دار بود (جدول ۲). در شرایط بدون تنش، محتوای مالون دی آلدئید برگ کلزا کمترین میزان را داشت و با تشدید تنش شوری و افزایش غلظت نانو اکسید روی بر میزان آن افزوده شد (شکل ۴). کاربرد EBL به همراه نانو اکسید روی در غلظت ۵۰۰ قسمت در میلیون (پی-پی ام) به طور زیادی از میزان

جدول ۳. ضریب‌های همبستگی صفات اندازه‌گیری شده

Table 3. Correlation between measured characteristics

	Fv/Fm	Dry matter	RWC	Membrane stability	Leaf area	Peroxidase	Catalase	MDA
Fv/Fm	1							
Dry matter	0.439**	1						
RWC	0.776**	0.788**	1					
membrane stability	0.642**	0.757**	0.888**	1				
leaf area	0.826**	0.733**	0.958**	0.917**	1			
peroxidase	0.425**	0.540**	**0.434	0.332	0.387	1		
catalase	0.759**	0.567**	**0.683	**0.524	**0.666	0.554**	1	
MDA	-0.551**	0.639**	0.701**	0.701**	0.773**	0.219-	0.402**	1



شکل ۴. تغییرپذیری محتوای مالون دی آلدئید برگ گیاهچه کلزا متأثر از محلول پاشی ۲۴-پی برای ساینولید و نانو ذرات اکسید روی در شرایط تنش شوری (حرف‌های همسان نشان‌دهنده نبود اختلاف آماری معنی‌دار است)

Fig 4- Change of canola MDA affected by EBL and ZnO-NPs foliar under salt stress condition (the same characters indicate no significant difference)

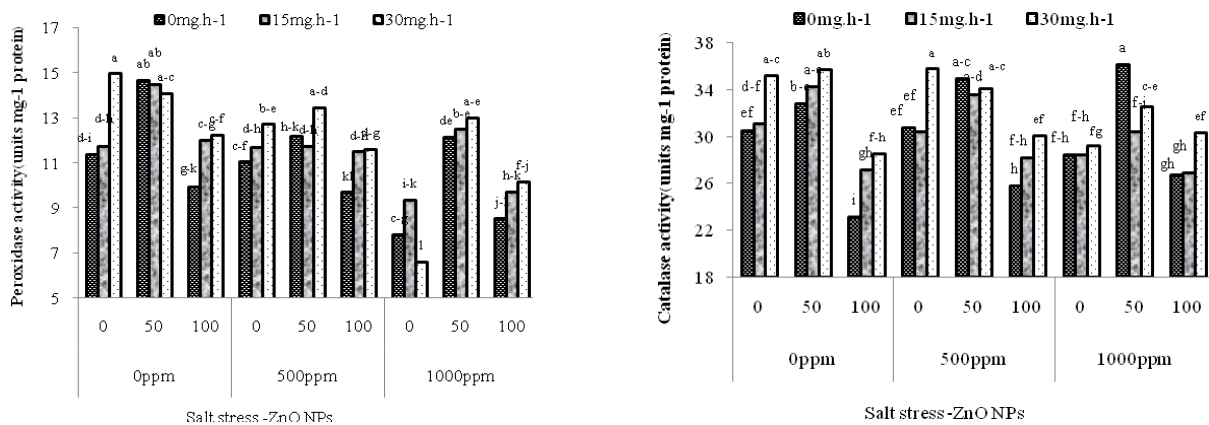
کاربرد ۳۰ mg h⁻¹ EBL به همراه قسمت در میلیون (پی-پی) ۵۰۰ نانواکسید روی موجب افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در شرایط تنش شوری شد و افزایش غلظت نانو اکسید روی (۱۰۰۰ قسمت در میلیون پی‌پی‌ام)) و تشدید تنش شوری (۱۰۰ mM) فعالیت آن را کاهش داد. بیشینه فعالیت آنزیم پراکسیداز (حدود ۳۰٪ بیشتر از شاهد) با کاربرد ۳۰ mg h⁻¹ EBL و بدون کاربرد نانواکسید روی در شرایط بدون تنش شوری ثبت شد. در حالی که نبود نمک و کاربرد توأم مقادیر بالایی از هورمون و روی (mg.ha⁻¹) (۱۰۰۰ ppm ZnO-NPs + ۳۰ EBL) کمترین میزان (نزدیک به ۲۵٪ شاهد) فعالیت پراکسیداز را نشان داد. بالاترین سطح فعالیت آنزیم کاتالاز (حدود ۳۰٪ بیشتر از شاهد) در شرایط بدون محلول پاشی EBL و کاربرد ۱۰۰۰ قسمت در

فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز

اثر متقابل سه جانبه تنش شوری، نانواکسید روی و ۲۴-پی برای ساینولید بر میزان فعالیت کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۲). تنش شوری ملایم (۵۰ mM NaCl) منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های پاداکننده به‌ویژه در شرایط بدون محلول پاشی ZnO-NPs شد، در حالی که کاربرد ۳۰ میلی‌گرم در لیتر ۲۴-پی برای ساینولید موجب کاهش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش شوری و غلظت بالای نانواکسید روی شد. همچنین شوری ۱۰۰ mM فعالیت پراکسیداز و کاتالاز را حتی به کمتر از شاهد کاهش داد که ممکن است به تجزیه پروتئین‌ها به‌واسطه رخدادهای تنش شدید نسبت داده شود (شکل ۵). بررسی میانگین‌های مربوط به فعالیت پراکسیداز نشان داد،

MDA در برگ همراه بود. با این حال، کاربرد EBL در گیاهچه‌های رشد یافته در شرایط نمک زیاد (شوری ۵۰۰ mM) در این پژوهش) و میزان سمی (۱۰۰۰ در این بررسی) نانو اکسید روی، فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده را تا حدودی بهبود بخشید. همبستگی مثبت آنزیم‌های پاداکسنده با وزن خشک، سطح برگ و RWC به احتمال نشان می‌دهد، این آنزیم‌ها با کاهش آسیب‌های ناشی از تنش شوری و غلظت‌های سمی نانو اکسید روی موجب بهبود جذب آب، نورساخت و رشد می‌شود.

میلیون (پی‌پی‌ام) نانو اکسید روی در شرایط تنش شوری ملایم (۵۰ mM NaCl) مشاهده شد و کمترین فعالیت این آنزیم به تنش شوری شدید (۱۰۰ mM) و بدون کاربرد هورمون و روی اختصاص داشت، که نزدیک به نصف شاهد بود. با توجه به نتایج به دست آمده، حساسیت آنزیم پراکسیداز به استفاده از مقادیر بالای روی و تنش شوری قدری بیشتر از کاتالاز بود. فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در شرایط تنش شوری و کاربرد ۱۰۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) نانو اکسید روی افت کرد که بیانگر کاهش توان سامانه دفاعی پاداکسنده است. از سوی دیگر با افزایش



شکل ۵. تغییرپذیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (راست) و کاتالاز (چپ) گیاهچه کلزا متأثر از ۲۴-آپی براسینولید و نانو اکسید روی در شرایط تنش شوری (حرف‌های همسان نشان‌دهنده نبود اختلاف آماری معنی‌دار است)

Fig 5- Change of canola peroxidase (right) and catalase activity (left) affected by EBL and ZnO-NPs under salt condition (the same characters indicate no significant difference)

کاهش داده و از میزان MDA بکاهد (Arora et al., 2010).

نتیجه‌گیری کلی

هدف این پژوهش، تعیین غلظت بهینه نانو اکسید روی و ۲۴-آپی براسینولید (EBL) برای افزایش رشد و فرآیندهای فیزیولوژیک مرتبط با تنش شوری بود، نتایج نشان داد، کاربرد EBL در غلظت ۳۰ mg.ha⁻¹ به همراه نانو اکسید روی در غلظت ۵۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) موجب افزایش رشد و تحمل به تنش شوری در گیاهچه‌های کلزا شد. از سوی دیگر، نانو اکسید روی در غلظت بالا (۱۰۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام)) نه تنها کمکی به بهبود رشد و تحمل به شوری نکرد. بلکه اثر سمی بر جا گذاشته و همراه با تنش شوری با ایجاد آسیب اکسایشی منجر کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده و ماده خشک موجب افزایش

در نتایج دیگر پژوهش‌ها نیز تأیید شده است، براسینواستروئیدها تأثیر محافظتی بر رشد گیاه داشته و به‌عنوان بهبوددهنده سامانه پاداکسنده در مقابل تنش‌های مختلف مدنظر قرار می‌گیرند. EBL با افزایش فعالیت پراکسیداز و کاتالاز (Fariduddin et al., 2013) منجر به افزایش تحمل به تنش شوری می‌شود. همچنین گزارش شده است که میزان MDA و H₂O₂ در نتیجه کمبود روی افزایش می‌یابد (Hajiboland & Beiramzadeh, 2008). بنابراین کاربرد روی به‌صورت نانو ذرات در غلظت مناسب (۵۰۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام)) در این بررسی) و ۲۴-آپی براسینولید می‌تواند موجب مهار H₂O₂ و کاهش MDA تولید شده در نتیجه تنش شوری شود. باوجوداین، غلظت سمی عنصر روی پراکسیداسیون لیپیدی را تشدید می‌کند. اما کاربرد EBL توانست تنش ناشی از سمیت روی را

افزایش داد. در نهایت بر پایه نتایج این پژوهش می‌توان چنین بیان داشت، کاربرد تیمار ترکیبی (EBL $\text{mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ۳۰ + ZnO-NPs قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) ۵۰۰) بهترین راه‌حل برای رویارویی با تأثیر منفی تنش شوری بود که با فعال کردن سامانه دفاعی پاداکسنده (آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز) موجب کاهش میزان مالون دی‌آلدئید و پایداری تر شدن غشاهای یاخته‌ای شد و تحمل به تنش شوری را در گیاهچه کلزا القا کرد.

پراکسیداسیون لیپیدی شد. با این وجود کاربرد ۲۴-پی-براسینولید در غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در هکتار توانست از آسیب‌های ناشی از غلظت‌های بالای نانو اکسید روی و تنش شوری بکاهد. به طوری که با تحریک فعالیت پاداکسنده‌ها موجب محتوای کاهش مالون دی‌آلدئید شد و در مقابل، فراسنجه‌های وزن خشک و سطح برگ گیاهچه، محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشا و Fv/Fm را در شرایط تنش شوری و سمیت غلظت بالای نانو اکسید روی

REFERENCES

1. Aebi, H. E. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
2. Arora, P., Bhardwaj, R. & Kanwar, M. K. (2010). 24-Epibrassinolide induced antioxidative defense system of *Brassica juncea* L. under Zn metal stress. *Physiology & Molecular Biology of Plants*, 16: 285-293.
3. Belouchrani, A. S., Mameri, N., Abdi, N., Grib, H., Lounici, H. & Drouiche, N. (2016). Phytoremediation of soil contaminated with Zn using Canola (*Brassica napus* L.). *Ecological Engineering*, 95:43-49
4. Bybordi, A., Tabatabaei, S. J. & Ahmadev, A. (2010). Effect of salinity on the growth and peroxidase and IAA oxidase activities in canola. *Journal of Food Agriculture & Environment*, 8 (1):109-112.
5. Chen, W., Yang, X., He, Z., Feng, Y. & Hu, F. (2007). Differential changes in photosynthetic capacity, 77K chlorophyll fluorescence and chloroplast ultra structure between Zn-efficient and Zn-inefficient rice genotypes (*Oryza sativa* L.) under low Zn stress. *Physiologia Plantarum*, 132: 89-101.
6. Cicek, N. & Cakirlar, H. (2008). Effect of salt stress on some physiological and photosynthetic parameters at three different temperature in six soybean (*Glycine max*) cultivars. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 194: 34-46.
7. Dietz, K. J. & Herth, S. (2011). Plant nanotoxicology. *Trends in Plant Sciences*, 16: 582-589.
8. Fariduddin, Q., Khalil, R.R.A. E., Mir, B. A., Yusuf, M. & Ahmad, A. (2013). 24-Epibrassinolide regulates photosynthesis, antioxidant enzyme activities and proline content of *Cucumis sativus* under salt and / or copper stress. *Environmental Monitoring & Assessment*, 185: 7845-7856.
9. Hajiboland, R. & Amirzad, F. (2010). Drought tolerance in Zn-deficient red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra) plants. *Horticultural Science*, 37: 88-98.
10. Hajiboland, R. & Beiramzadeh, N. (2008). Growth, gas exchange and function of antioxidant defense system in two contrasting rice genotypes under Zn and Fe deficiency and hypoxia. *Acta Biologica Szegediensis*, 52: 283-294.
11. Hayat, S., Ahmad, A. & Alyemeni, M. N. (2013). *Salicylic acid: plant growth and development*. Springer.
12. Hayat, Sh., Hasaa, S.A., Yusuf, M., Hayat, Q. & Ahmad, A. (2010). Effect of 28-homobrassinolide on photosynthesis, fluorescence and antioxidant system in the presence or absence of salinity and temperature in *Vigna radiata*. *Environmental & Experimental Botany*, 60: 105-112.
13. Mac-Adam, J. W., Nelson, C. J & Sharp, R. E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiology*, 99: 872-878.
14. Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S. & Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell & Environment*, 33: 453-467.
15. Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7: 405-410.
16. Morillon, R., Catteron, M., Sangwon, R. S., Sangwan, B. S. & Lassalles, J. P. (2001). Brassinolide may control aquaporin activities in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 212: 199-204.
17. Nagajyoti, P. C., Sreekanth, T.V.M. & Lee, K. D. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8: 199-216.
18. Rahmani, F., Peymani, A., Daneshvand, E. & Biparva, P. (2016). Impact of zinc oxide and copper oxide nanoparticles on physiological and molecular processes in *Brassica napus* L. *Indian Journal of Plant Physiology*, 21(2): 122-128.
19. Sakurai, A., Yokota, T. & Clouse, S.D. (1999). *Brassinosteroids Steroidal Plant Hormones*. Springer, Tokyo.
20. Saneoka, H., Moghaieb, R. E. A., Premachandra, G. S. & Fujita, K. (2004). Nitrogen Nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relation in *Agrostis pabustris* Huds. *Environmental & Experimental Botany*, 52: 131-138.
21. Sharma, P. N., Tripathi, A. & Bisht, S. S. (1995). Zinc requirement for stomatal opening in cauliflower. *Plant Physiology*, 107: 751-756.
22. Soliman, A. S., El-feky, S. A. & Darwish, E. (2015). Alleviation of salt stress on *Moringa peregrina* using

- foliar application of nanofertilizers. *Journal Horticulture and Forestry*, 7(2): 36-47.
23. Talaat, N. B. & Shawky, B. T. (2013). 24-Epibrassinolide alleviates salt- induced inhibition of productivity by increasing nutrients and compatible solutes accumulation and enhancing antioxidant system in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 35: 729-740.
 24. Vardhini, B. V. & Anjum, N. A. (2015). Brassinosteroids make plant life easier under abiotic stresses mainly by modulating major components of antioxidant defense system. *Frontiers in Environmental Science*, 2: 67.
 25. Wang H, Liu R. L. & Jin J. Y. (2009). Effects of zinc and soil moisture on photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence parameters of maize. *Biological Plantarum*, 53: 191-194.
 26. Wang, H. & Jin, J. Y. (2005). Photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence parameters, and lipid peroxidation of maize leaves as affected by zinc deficiency. *Photosynthetica*, 43: 591-596.
 27. Weatherley, P. E. (1995). Studies in water relation of cotton plants, the field measurement of water deficit in leaves. *New Phytologist*, 49: 81-87.
 28. Weng, X. Y., Xu, H. X., Yang, Y. & Peng, H. H. (2008). Water-water cycle involved in dissipation of excess photon energy in phosphorus deficient rice leaves. *Biologia Plantarum*, 52: 307-313.
 29. Yadava, P., Kausha, J., Gautam, A., Parmar, H. & Singh, I. (2016). Physiological and Biochemical Effects of 24-Epibrassinolide on Heat-Stress Adaptation in Maize (*Zea mays* L.). *Natural Science*, 8: 171-179.
 30. Zaho, S. J., Xu, C. C. & Zou, Q. (1994). Improvements of the method for measurement of malondialdehyde in plant tissue. *Plant Physiology Communications*, 30: 207-210.