

## بررسی مقاومت به تنش شوری در بذره‌های حاصل از بوته‌های گوجه‌فرنگی محلول پاشی شده با ۲۴- اپی‌براسینولید و نانواکسید روی

احمد جوادی<sup>۱</sup>، سعید خماری<sup>۱\*</sup>، بهروز اسماعیل‌پور<sup>۲</sup> و علی اصغری<sup>۱</sup>

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی،<sup>۲</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و

منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۰/۲۵)

### چکیده

به منظور ارزیابی اثر محلول پاشی توام ۲۴- اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی قبل از گلدهی بر کیفیت بذره‌های تولید شده و همچنین امکان القای تحمل شوری در گیاهچه، آزمون قدرت بذر و گیاهچه با حضور نمک NaCl در بستر کشت انجام گرفت. در این پژوهش، علاوه بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه گوجه‌فرنگی، پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهچه نیز اندازه گرفته شد. آزمایش حاضر به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۴ اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های ۲۴- اپی‌براسینولید (۰، ۰/۸ و ۱/۶ میکرو مولار)، نانواکسید روی (۰، ۶۰۰، ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام) و سطوح تنش شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) بود. بر اساس نتایج حاصله، بذره‌های گوجه‌فرنگی در حضور شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کم‌ترین سرعت و درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های رشدی گیاهچه را نشان داد. همچنین در همین سطح تنش، کاهش معنی‌دار در مقدار مالون دی‌آلدهید و افزایش قابل توجهی در محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه مشاهده گردید. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که، کاربرد توام ۲۴- اپی‌براسینولید (غلظت ۱/۶ میکرو مولار) و نانواکسید روی (غلظت ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام) اثرات بازدارنده تنش شوری بر همه صفات مورد بررسی به جز درصد جوانه‌زنی بذر را به طور معنی‌داری تعدیل نمود.

کلمات کلیدی: براسینو استروئید، تنش شوری، کیفیت بذر، گوجه‌فرنگی، نانو اکسید روی

### مقدمه

محصول در سال‌های اخیر رشد فزاینده‌ای یافته و به حدود ۱۶۲ میلیون تن رسیده است. علاوه بر تولید میوه و محصولات حاصل از فرآورش آن، تولید بذر کیفی گوجه‌فرنگی نیز حایز اهمیت زیادی می‌باشد، به طوری که عملکرد بذر معمولاً از ۵۰ تا ۳۵۰ کیلوگرم در هکتار متغیر است (George, 2009). هدف اصلی از تولید بذر گوجه‌فرنگی، دستیابی به توده بذری

گوجه‌فرنگی یکی از سبزیجات مهم و پرمصرف در ایران بوده و به دلیل خوش خوراکی و برخورداری از انواع ویتامین‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر لیکوپن در سراسر جهان تولید می‌گردد (George, 2009; Eevera and Vanangamudi, 2006). بر اساس آمار فائو (Anonymous, 2014) میزان تولید این

\* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Saeid.khomari@gmail.com

حایز اهمیت فراوانی می‌باشند. برخی محققان، تولید بذره‌های کیفی در گیاهان تیمار شده با براسینو استروئید و نانو اکسید روی را گزارش نموده‌اند (Oh *et al.*, 2012؛ پارباد، ۱۳۹۱).

براسینو استروئیدها در غلظت‌های بسیار پایین (در حد میکرو مولار) و متغیر در بافت‌های مختلف گیاهی حضور دارند، به طوری که بافت‌های جوان (برگ‌های در حال توسعه) دارای مقادیر بالاتری از براسینو استروئیدها در مقایسه با بافت‌های مسن‌تر هستند (Yokota and Takahashi, 1986). براسینو استروئیدها از طریق تاثیر بر رشد و تقسیم سلولی (Bajguz, 2000; Schaller, 2003) خصوصیات الکتریکی، نفوذپذیری و پایداری غشاها و فعالیت آنزیم‌های متصل به غشای سلولی (Khripach *et al.*, 1998) موجب بهبود رشد و توسعه گیاهچه (Anuradha and SeetaRamRao, 2001) می‌گردند. از طرف دیگر، اثر مثبت و محرک براسینو استروئیدها جهت غلبه بر آسیب‌های فیزیولوژیکی ناشی از تنش‌های دمایی (Dhaubhadel *et al.*, 1999)، خشکی (Li and Van Staden, 1998)، فلزات سنگین (Bajguz, 2000)، عوامل بیماری‌زا و آفت‌کش‌ها (Sasse, 1999) و شوری (Sasse *et al.*, 1995) به اثبات رسیده است. عنصر ریز مغذی روی (Zn) نقش اساسی در متابولیسم گیاه (Romheld and Marschner, 1991) و نیز بیوسنتز پروتئین‌ها، RNA و DNA ایفا می‌کند (Welch, 2001). اگرچه نیاز گیاهان به روی اندک (۱۰-۵ ppm) است، ولی اگر مقدار کافی از این عنصر در دسترس نباشد گیاهان از صدمات فیزیولوژیکی ناشی از ناکارآمدی سیستم‌های متعدد آنزیمی و سایر فرآیندهای متابولیکی مرتبط با روی رنج خواهند برد (Baybordi, 2006). روی برای حفظ پیوستگی ساختار غشای سلول‌های ریشه ضروری است (Welch, 2001)، به طوری که در شرایط کمبود روی نفوذپذیری غشای سلول‌های ریشه افزایش می‌یابد (Marschner and Cakmak, 1986).

هدف از اجرای این پژوهش، افزایش کیفیت بذره‌های گوجه فرنگی و در نتیجه القای قابلیت تحمل گیاهچه‌های حاصله در شرایط تنش شوری بود، که این مهم از طریق محلول پاشی برگ‌گی ۲۴-پی براسینولید و نانو اکسید روی در

برخوردار از کیفیت بالا و استقرار مزرعه‌ای مطلوب است که می‌تواند تحت هر شرایطی جوانه‌زنی سریع و یکنواخت داشته باشد (Atanassova and Georgiev, 2000). عوامل متعددی همچون گسترش مکانیزاسیون کشاورزی و وقوع شرایط محیطی نامطلوب نظیر شوری در خاک، ضرورت توجه به تولید بذره‌های برخوردار از جوانه‌زنی سریع و یکنواخت را ایجاب می‌نمایند (Almansouri *et al.*, 2001).

به طور کلی غلظت‌های بالای نمک موجب مهار کامل جوانه‌زنی بذر و سبز شدن گیاهچه می‌شود (Pessaraki, 1999). دلایل محکمی وجود دارد که تنش شوری در گیاهان مختلف می‌تواند سبب تجمع انواع اکسیژن واکنشی (ROS) مانند آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن منفرد گردد (Lee *et al.*, 2001). در این راستا طبق پژوهش‌های انجام شده، ظرفیت سیستم آنتی اکسیدان تحت تنش شوری افزایش می‌یابد که به نوعی شاخصی از تحمل گیاه به تنش نمک خواهد بود (Parida and Das, 2005; Lin-Dai *et al.*, 2009).

کیفیت بذر، تولید اقتصادی گیاهان را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد. در بسیاری از نظام‌های کشاورزی مدرن، توده بذری برخوردار از کیفیت بالا که موجب سبز شدن سریع و یکنواخت گیاهچه‌ها تحت شرایط محیطی متغیر می‌گردد، مورد نیاز است (Finch-Savage *et al.*, 2004). عملکرد و کیفیت بذر متاثر از شرایط رشد و نمو گیاه مادری است. بذرها منبعی غنی از هورمون‌های گیاهی بوده و برای نمو و توسعه عادی میوه‌ها ضروری هستند، به طوری که تعداد و نحوه توزیع بذرها در درون میوه تعیین کننده اندازه و شکل میوه می‌باشد. از طرف دیگر، میوه گوجه فرنگی به عنوان مرکز انتقال مواد غذایی جذب شده توسط گیاه به سمت بذرها عمل نموده و در این ارتباط نقش تنظیمی هورمون‌ها نیز حایز اهمیت بالایی خواهد بود (Srivastava and Handa, 2005). در این راستا، غلظت درونی هورمون‌های گیاهی نظیر براسینو استروئیدها و وضعیت تغذیه‌ای گیاه به ویژه با عناصر ریز مغذی در طی دوره تشکیل و نمو بذر روی گیاه مادری

مرحله قبل از گلدهی و در ادامه آزمون بذره‌های استخراج شده در محیط جوانه‌زنی استاندارد حاوی نمک NaCl دنبال گردید.

#### مواد و روش‌ها

بذره‌های گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L. cv 'Y') متعلق به رقم وای از شرکت تولید بذر فلات تهیه گردید. آزمایش‌های مزرعه‌ای و آزمایشگاهی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شدند. تیمارهای آزمایش شامل محلول پاشی برگ‌گی ۲۴- اپی براسینولید (EBL) (با غلظت‌های ۰، ۰/۸ و ۱/۶ میکرو مولار) و نانو اکسید روی (NP-ZnO) (با غلظت‌های ۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام) و سه سطح شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) بود. در آزمون تحمل شوری گیاهچه، از نمک NaCl (به عنوان نمک غالب در خاک-های شور) به منظور برقراری سطوح تنش استفاده گردید. برخی از خصوصیات فیزیکیوشیمیایی خاک محل انجام آزمایش در افق ۰-۳۰ سانتی‌متری تعیین گردید (جدول ۱).

این پژوهش به صورت دو مرحله‌ی مزرعه‌ای و آزمایشگاهی به اجرا درآمد، بدین صورت که ابتدا نشاءهای تولید شده از بذره‌های گوجه فرنگی، پس از ۲۵ روز رشد در خزانه، جهت کشت در زمین اصلی به مزرعه منتقل شدند. در ادامه پس از استقرار نشاءها و رشد رویشی قابل قبول، در مرحله قبل از شروع گلدهی اقدام به محلول‌پاشی توام EBL و NP-ZnO گردید. به منظور افزایش جذب سطحی و ماندگاری محلول پاشیده شده روی برگ‌های گوجه‌فرنگی از سورفکتانت Tween-20 با غلظت ۰/۱ درصد استفاده شد، تیمار شاهد نیز شامل پاشش آب مقطر و Tween-20 بود. پس از برداشت میوه‌های کاملاً رسیده، بذرها به روش تخمیر (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت) استخراج و خشک (با رطوبت ۰/۸) گردیدند. کیفیت توده بذری فراوری شده با بررسی قابلیت جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه، از طریق آزمون جوانه‌زنی استاندارد در شرایط تنش شوری مورد مطالعه قرار گرفت.

آزمون جوانه‌زنی استاندارد: بذره‌های استخراج شده مطابق با قوانین انجمن بین‌المللی آزمون بذر (ISTA)، پس از ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی با محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم، به صورت چهار تکرار ۵۰ بذری در دمای متناوب ۲۵/۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. شمارش روزانه تعداد بذره‌های جوانه زده (خروج دو میلی‌متری ریشه‌چه) تا پایان روز چهاردهم از شروع آزمایش ادامه یافت. در هر واحد آزمایشی، درصد جوانه‌زنی استاندارد و طول و وزن خشک گیاهچه اندازه‌گیری شد. شاخص سرعت جوانه‌زنی بذر ( $\bar{R}$ ) نیز با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Ellis and Roberts, 1981):

$$\bar{R} = \frac{\sum n}{\sum Dn}$$

n = تعداد بذور جوانه زده در هر روز.....  
D = تعداد روز از آغاز آزمایش

**سنجش مقدار پرولین گیاهچه:** این سنجش در گیاهچه-های گوجه فرنگی با استفاده از معرف نین هیدرین و به روش اسپکتروفتومتری صورت گرفت (Bates, 1973).

**سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی:** این سنجش از طریق اندازه‌گیری مقدار مالون دی آلدهید (MDA) با استفاده از روش Heath and Packer (۱۹۶۸) انجام شد. به این منظور، ۰/۱ گرم بافت گیاهی تازه در یک میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل در ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. یک میلی‌لیتر تری-کلرواستیک اسید ۲۰ درصد (حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید) به ۴۰۰ میکرو لیتر از رو شناور حاصله اضافه شد. مخلوط به دست آمده در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم انکوبه گردید. سپس دوباره در ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس MDA-TBA می‌باشد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت مالون دی آلدهید از ضریب خاموشی مربوطه ( $0.155 \text{ cm}^{-1} \cdot \mu\text{M}^{-1}$ ) بهره گرفته شد و مقادیر با واحد  $\mu\text{mol.g}^{-1} \text{ FW}$  بیان گردید.

جدول ۱- مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک مزرعه

| ppm  |        |     | درصد      |          |    |     |    |      |             | مشخصه | EC(dS/m) | pH  | بافت  |
|------|--------|-----|-----------|----------|----|-----|----|------|-------------|-------|----------|-----|-------|
| فسفر | پتاسیم | روی | نیترژن کل | کربن آلی | شن | لای | رس | آهک  | عصاره اشباع |       |          |     |       |
| ۸/۲۹ | ۸/۲۹   | ۲۸  | ۰/۰۶      | ۰/۶۲     | ۳۵ | ۴۲  | ۲۳ | ۱۴/۴ | ۴۹          | لومی  | ۷/۸      | ۲/۶ | مقدار |

آنزیمی به آن اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه از شروع واکنش در دمای آزمایشگاه، جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. اعداد مربوط به جذب بر عدد ضریب خاموشی تراگایاکول ( $2676 \mu\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) تقسیم شدند و فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس میکرومول تراگایاکول تولید شده در دقیقه بیان شد. محلول جذب زمینه (Blank) شامل تمام موارد به جز عصاره استخراج شده بود. پس از آزمون نرمال بودن توزیع داده‌ها (بر اساس آزمون شاپیرو-ویلک) و بررسی یکنواختی واریانس خطاهای آزمایشی (طبق آزمون لون)، تجزیه واریانس (ANOVA)، متغیرهای اندازه گیری شده توسط نرم افزارهای آماری SPSS، STATISTICA و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSD در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت و رسم شکل‌ها توسط برنامه EXCEL انجام پذیرفت.

### نتایج

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، محلول پاشی توام ۲۴-پی‌براسینولید و نانو اکسید روی (EBL+NP-ZnO) و تنش شوری از نظر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر، طول و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، مقدار مالون دی‌آلدهید، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و محتوای پرولین آزاد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل بین عوامل آزمایشی (EBL+NP-ZnO×شوری) از نظر طول و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، مقدار مالون دی‌آلدهید، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و محتوای پرولین آزاد برگ در سطح احتمال یک درصد و به لحاظ سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار به دست آمد. به لحاظ درصد جوانه‌زنی استاندارد، اثر متقابل معنی‌داری بین عوامل آزمایشی

**سنجش فعالیت کاتالاز:** بدین منظور، ۱۰۰ میلی‌گرم بافت گیاهیچه توسط یک میلی‌لیتر بافر استخراج (۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۶) تهیه و ۴ گرم پودر PVP اضافه شد) در چهار درجه سانتی‌گراد هموژن گردید. هموژنای حاصل در سرعت ۱۲۰۰۰rpm و دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه، سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۶) و ۴۰ میکرولیتر محلول ۳۰ میلی‌مولار آب اکسیژنه ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) با هم مخلوط گردید. پس از افزودن ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی، در پایان پنج دقیقه از شروع واکنش در دمای آزمایشگاه، جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. اعداد جذب بر عدد ضریب خاموشی پراکسید هیدروژن ( $\mu\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) تقسیم و فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میکرو مول  $\text{H}_2\text{O}_2$  تولید شده در دقیقه بیان شد (Aebi, 1984).

### سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: این سنجش با استفاده از

روش (MacAdam et al. ۱۹۹۲) صورت پذیرفت. به منظور استخراج آنزیم پراکسیداز، ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه گیاهی در یک میلی‌لیتر بافر استخراج (بافر فسفات+PVP+KCl)، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (با استفاده از هاون چینی سرد) ساییده شد. همگنای تهیه شده پس از انتقال به لوله اپندورف در ۱۲۰۰۰rpm و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جهت ممانعت از تخریب آنزیم تا زمان اندازه‌گیری فعالیت، نمونه‌های سانتریفیوژ شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس نمونه‌های عصاره حاوی آنزیم از فریزر خارج و در حمام یخ قرار داده شدند. در ادامه ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار، ۵۰ میکرولیتر گایاکول ۲۰۰ میلی‌مولار و ۴۰ میکرولیتر محلول ۳۰ میلی‌مولار آب اکسیژنه با هم مخلوط گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر عصاره

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر محلول پاشی EBL+NP-ZnO بر برخی ویژگی‌های مرتبط با جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه گوجه فرنگی تحت تنش شوری

| میانگین مربعات  |            |                      |                      |                      |                      |                      |
|-----------------|------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| منابع تغییر     | درجه آزادی | جوانه‌زنی استاندارد  | سرعت جوانه‌زنی       | طول ریشه‌چه          | طول ساقه‌چه          | وزن خشک ریشه‌چه      |
| بلوک            | ۲          | ۲/۲۰۳ <sup>ns</sup>  | ۰/۰۰۵۷ <sup>**</sup> | ۰/۰۰۶ <sup>**</sup>  | ۰/۰۱۰ <sup>**</sup>  | ۰/۰۰۰۱ <sup>**</sup> |
| EBL+NP-ZnO      | ۸          | ۱۷۹/۹۶ <sup>**</sup> | ۰/۰۰۳۶ <sup>**</sup> | ۱/۲۰۲ <sup>**</sup>  | ۱/۱۸۳ <sup>**</sup>  | ۰/۰۱۱۸ <sup>**</sup> |
| شوری            | ۲          | ۳۲/۳۰ <sup>**</sup>  | ۰/۲۵۴ <sup>**</sup>  | ۲۴/۳۹۳ <sup>**</sup> | ۲۴/۱۳۱ <sup>**</sup> | ۰/۲۴۱ <sup>**</sup>  |
| EBL+NP-ZnO×شوری | ۱۶         | ۱/۶۷۹ <sup>ns</sup>  | ۰/۰۰۰۲ <sup>*</sup>  | ۴/۰۲۶ <sup>**</sup>  | ۰/۲۵۸ <sup>**</sup>  | ۰/۰۰۲۵ <sup>**</sup> |
| خطا             | ۵۲         | ۵/۹۳۸                | ۰/۰۰۰۱               | ۰/۰۶۴                | ۰/۰۷۷                | ۰/۰۰۰۰۱              |
| ضریب تغییرات(%) | -          | ۲/۶۵                 | ۴/۷۱۲                | ۱/۵۶۷                | ۱/۴۷۳                | ۱/۴۷۷                |

ns و \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

ادامه جدول ۲-

| میانگین مربعات  |            |                       |                       |                       |                          |                         |
|-----------------|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------|
| منابع تغییر     | درجه آزادی | شاخص طولی قدرت گیاهچه | مالون دی‌آلدئید       | پراکسیداز             | کاتالاز                  | پرویلین                 |
| بلوک            | ۲          | ۰/۰۲۰۱ <sup>ns</sup>  | ۰/۰۰۱۰۶ <sup>**</sup> | ۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>  | ۰/۰۰۰۰۰۴ <sup>**</sup>   | ۰/۰۰۰۰۰۹۷ <sup>**</sup> |
| EBL+NP-ZnO      | ۸          | ۳۰/۱۷۸ <sup>**</sup>  | ۰/۱۱۳ <sup>**</sup>   | ۰/۰۰۰۰۲ <sup>**</sup> | ۰/۰۰۰۰۰۷۷۵ <sup>**</sup> | ۰/۰۰۰۰۱۷ <sup>**</sup>  |
| شوری            | ۲          | ۱۹۸/۹۹ <sup>**</sup>  | ۲/۰۸۸ <sup>**</sup>   | ۰/۰۱۷ <sup>**</sup>   | ۰/۰۰۰۰۶۵ <sup>**</sup>   | ۰/۰۰۰۰۳۴ <sup>**</sup>  |
| EBL+NP-ZnO×شوری | ۱۶         | ۲/۲۴۴ <sup>**</sup>   | ۰/۰۵۱ <sup>**</sup>   | ۰/۰۰۰۰۵ <sup>**</sup> | ۰/۰۰۰۰۰۱۶ <sup>**</sup>  | ۰/۰۰۰۰۰۴ <sup>**</sup>  |
| خطا             | ۵۲         | ۰/۱                   | ۰/۰۰۰۵۷               | ۰/۰۰۰۰۶               | ۰/۰۰۰۰۰۰۱                | ۰/۰۰۰۰۰۰۴               |
| ضریب تغییرات(%) | -          | ۲/۳۹۴                 | ۸/۹۰۸                 | ۲/۱۶۱                 | ۱/۹۷۰                    | ۱/۴۸۳                   |

ns و \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

مورد مطالعه دیده نشد (جدول ۲).

روی) تعلق داشت (جدول ۳).

با افزایش شدت تنش شوری، درصد جوانه‌زنی استاندارد بذره‌های گوجه فرنگی به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت، به طوری که کم‌ترین قابلیت جوانه‌زنی در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl مشاهده گردید. از سوی دیگر، درصد جوانه‌زنی بذره‌های حاصل از بوته‌های محلول پاشی شده با ۲۴-پی-براسینولید و نانواکسید روی (EBL+NP-ZnO) نسبت به شاهد (عدم محلول پاشی) افزایش چشم‌گیری نشان داد. بالاترین درصد جوانه‌زنی بذر به ترکیب تیماری B<sub>2</sub>N<sub>2</sub> (غلظت ۳۰ میلی‌گرم در هکتار ۲۴-پی‌براسینولید و غلظت ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام نانواکسید روی) و پایین‌ترین درصد جوانه‌زنی بذر به ترکیب تیماری B<sub>0</sub>N<sub>0</sub> (عدم کاربرد ۲۴-پی‌براسینولید و نانواکسید

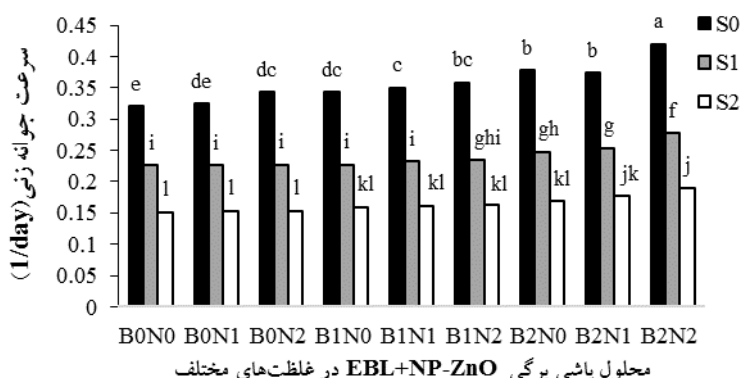
افزایش غلظت نمک NaCl در محیط کشت، موجب تاخیر معنی‌داری در جوانه‌زنی بذره‌های گوجه‌فرنگی شد. غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی را در مقایسه با سطوح دیگر تنش به خود اختصاص داد. از طرف دیگر، اثر منفی تنش شوری بر سرعت جوانه‌زنی بذره‌های حاصل از بوته‌های محلول پاشی شده در مقایسه با شاهد (عدم محلول پاشی) تا حدودی رفع گردید، به طوری که توده بذری به دست آمده از بوته‌های محلول‌پاشی شده با غلظت‌های بالای ۲۴-پی‌براسینولید و نانواکسید روی (B<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) سریع‌ترین جوانه‌زنی را نسبت به تیمار شاهد (B<sub>0</sub>N<sub>0</sub>) در هر سه سطح تنش از خود نشان داد (شکل ۱).

جدول ۳- درصد جوانه‌زنی استاندارد بذرهاى گوجه فرنگى متاثر از محلول پاشى EBL+NP-ZnO و تنش شوری

| درصد جوانه‌زنی استاندارد (%) | سطوح تیماری                   | تیمارهای آزمایشی   |
|------------------------------|-------------------------------|--|
| ۸۵/۳۳ <sup>g</sup>           | B <sub>0</sub> N <sub>0</sub> | محلول پاشی برگی EBL+NP-ZnO<br>در غلظت‌های مختلف<br>(LSD= ۲/۰۹) |
| ۸۷/۲۲ <sup>fg</sup>          | B <sub>0</sub> N <sub>1</sub> |  |
| ۸۸/۶۶ <sup>f</sup>           | B <sub>0</sub> N <sub>2</sub> |  |
| ۹۱/۲۲ <sup>e</sup>           | B <sub>1</sub> N <sub>0</sub> |  |
| ۹۱/۳۳ <sup>de</sup>          | B <sub>1</sub> N <sub>1</sub> |  |
| ۹۳/۳۳ <sup>cd</sup>          | B <sub>1</sub> N <sub>2</sub> |  |
| ۹۵/۱۱ <sup>bc</sup>          | B <sub>2</sub> N <sub>0</sub> |  |
| ۹۶/۶۶ <sup>b</sup>           | B <sub>2</sub> N <sub>1</sub> |  |
| ۹۸/۸۷ <sup>a</sup>           | B <sub>2</sub> N <sub>2</sub> |  |
| ۹۳/۰۴ <sup>a</sup>           | S <sub>0</sub>                | تنش شوری   |
| ۹۲/۰۳ <sup>ab</sup>          | S <sub>1</sub>                | (LSD= ۱/۲۰۶)   |
| ۹۰/۸۵ <sup>b</sup>           | S <sub>2</sub>                |  |

B<sub>0</sub>

(شاهد، عدم کاربرد ۲۴-پی‌براسینولید)، B<sub>1</sub> (غلظت ۰/۸ میکرومولار ۲۴-پی‌براسینولید)، B<sub>2</sub> (غلظت ۱/۶ میکرومولار ۲۴-پی‌براسینولید). N<sub>0</sub> (شاهد، عدم کاربرد نانو اکسید روی)، N<sub>1</sub> (غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام نانو اکسید روی)، N<sub>2</sub> (غلظت ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام نانو اکسید روی). S<sub>0</sub> (شاهد، غلظت صفر میلی‌مولار نمک NaCl)، S<sub>1</sub> (غلظت ۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl)، S<sub>2</sub> (غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl)



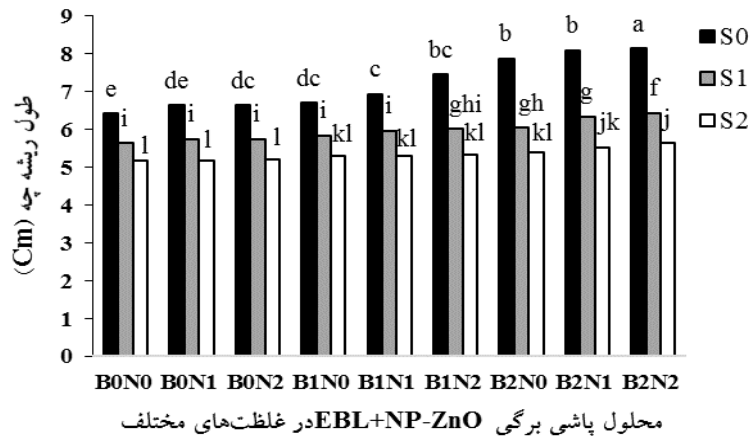
شکل ۱- شاخص سرعت جوانه‌زنی بذرهاى گوجه فرنگى متاثر از محلول پاشى EBL+NP-ZnO و تنش شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (LSD= ۰/۰۱۹۶). S<sub>0</sub> (شاهد، غلظت صفر میلی‌مولار نمک NaCl)، S<sub>1</sub> (غلظت ۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl)، S<sub>2</sub> (غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl)

طوری که بالاترین غلظت ۲۴-پی‌براسینولید در ترکیب با غلظت‌های ۶۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام نانو اکسید روی، موجب افزایش حدود ده درصد در طول ریشه‌چه در مقایسه با شاهد (B<sub>0</sub>N<sub>0</sub>) گردید (شکل ۲).

حضور نمک NaCl در بستر کشت موجب تولید ساقه‌چه‌های کوتاه‌تری نسبت به محیط فاقد نمک گردید. با افزایش

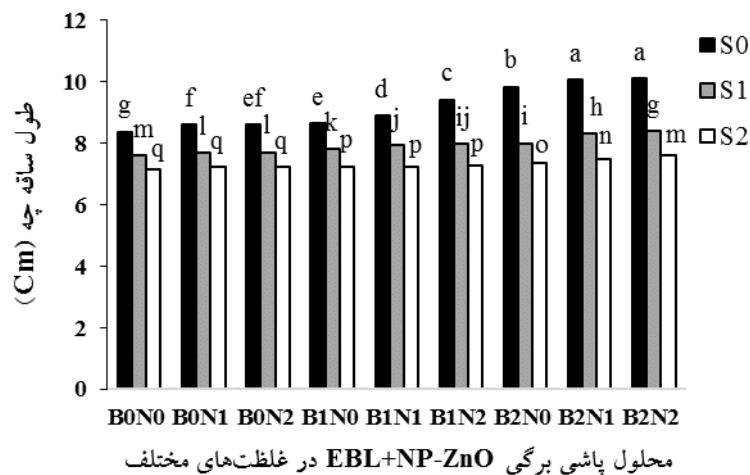
طول ریشه‌چه گوجه‌فرنگی متاثر از تنش شوری به طور معنی‌داری کاهش یافت. طول‌ترین ریشه‌چه در شرایط غیر شور (شوری صفر میلی‌مولار) و کوتاه‌ترین آن در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک ثبت شد. بذرهاى حاصله از بوته‌های محلول‌پاشی شده با ۲۴-پی‌براسینولید و نانو اکسید روی، در تمامی سطوح تنش ریشه‌چه طول‌تری نسبت به شاهد تولید نمودند. به

غلظت نمک، اثر بازدارندگی تنش شوری بر رشد گیاهچه (کاهش معنی‌دار طول ساقه‌چه) شدت یافت. به طوری‌که



محلول پاشی برگ‌گی EBL+NP-ZnO در غلظت‌های مختلف

شکل ۲- شاخص طول ریشه‌چه بذره‌های گوجه فرنگی متأثر از محلول پاشی EBL+NP-ZnO و تنش شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (LSD= ۰/۰۵۷۵).



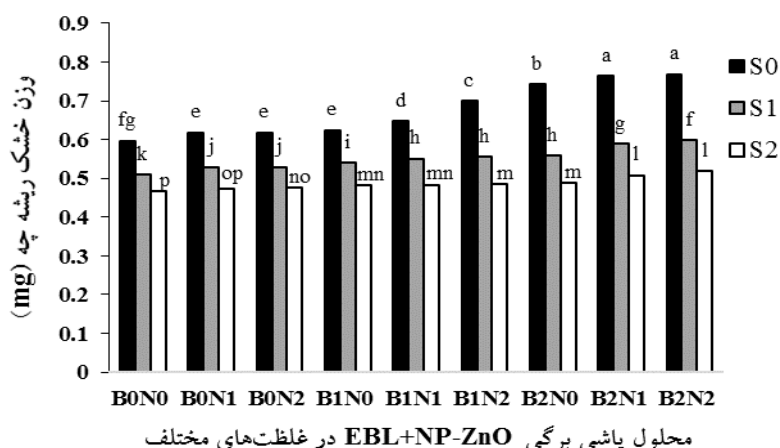
محلول پاشی برگ‌گی EBL+NP-ZnO در غلظت‌های مختلف

شکل ۳- شاخص طول ساقه‌چه بذره‌های گوجه فرنگی متأثر از محلول پاشی EBL+NP-ZnO و تنش شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (LSD= ۰/۰۶۳۱).

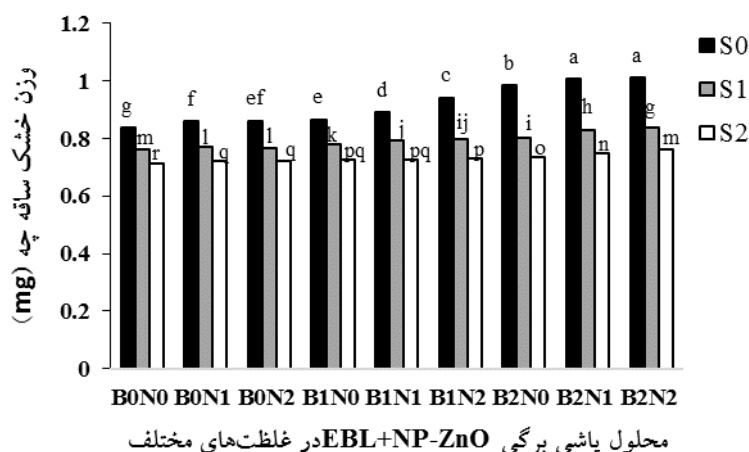
ملاحظه‌ای داشت. به طوری‌که شوری ۱۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl نسبت به شاهد، وزن خشک گیاهچه را حدود ۲۲ درصد کاهش داد. از سوی دیگر، بذره‌های حاصل از بوته‌های محلول-پاشی شده با EBL+NP-ZnO اثرات سوء ناشی از تنش شوری را به لحاظ وزن خشک ریشه‌چه تا حدودی تعدیل نمود. به نحوی که در ترکیب‌های تیماری B<sub>2</sub>N<sub>1</sub> و B<sub>2</sub>N<sub>2</sub> (به ترتیب غلظت ۱/۶ میکرومولار ۲۴-پی‌براسینولید همراه با غلظت‌های ۶۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام نانو اکسید روی) بالاترین وزن خشک ریشه‌چه مشاهده گردید (شکل ۴).

غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد کم‌ترین طول ساقه‌چه را به خود اختصاص داد. از طرف دیگر، محلول پاشی با EBL+NP-ZnO موجب حصول بذرهایی شد که در سطوح مختلف تنش شوری ساقه‌چه‌های طول‌تری در مقایسه با توده بذری شاهد (آب مقطر+ Tween-20) تولید کردند. بالاترین غلظت ۲۴-پی‌براسینولید همراه با غلظت‌های ۶۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام نانو اکسید روی طول‌ترین ساقه‌چه را نسبت به تیمار شاهد (B<sub>0</sub>N<sub>0</sub>) داشتند (شکل ۳). با شورتر شدن محیط کشت، وزن خشک ریشه‌چه کاهش قابل

تنش شوری حاکم بر محیط کشت بذرهاى گوجه‌فرنگى موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک ساقه‌چه گردید و این



شکل ۴- شاخص وزن خشک ریشه‌چه بذرهاى گوجه‌فرنگى متأثر از محلول پاشى EBL+NP-ZnO و تنش شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (LSD= ۰/۰۰۷۷).

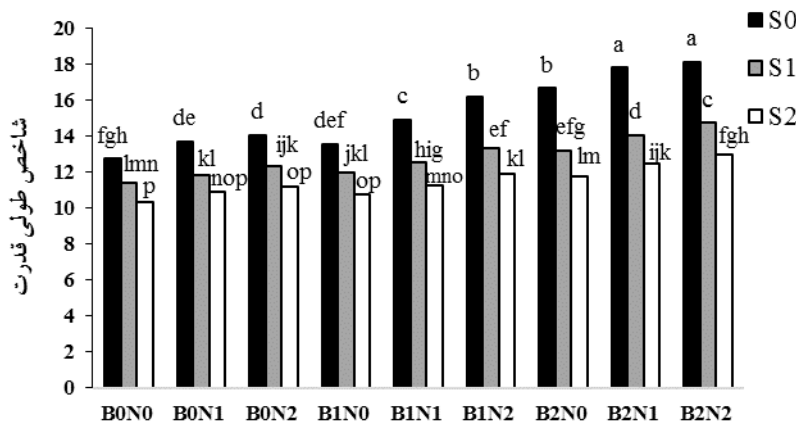


شکل ۵- شاخص وزن خشک ساقه‌چه بذرهاى گوجه‌فرنگى متأثر از محلول پاشى EBL+NP-ZnO و تنش شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (LSD= ۰/۰۰۶۴).

شاخص طولی قدرت گیاهچه گوجه‌فرنگی به طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفت و با افزایش غلظت نمک کاهش قابل ملاحظه‌ای یافت. به طوری‌که سطح ۱۰۰ میلی-مولار با کاهش حدود ۲۵ درصدی شاخص قدرت نسبت به شاهد (عدم حضور نمک) کم‌ترین مقدار را داشت. از طرف دیگر بذرهاى به دست آمده از بوته‌های محلول‌پاشی شده، یک مقاومت نسبی در برابر تنش شوری از خود نشان دادند. چرا که تمامی ترکیب‌های غلظتی ۲۴-پی‌براسینولید و نانوآکسید روی تحت سطوح مختلف تنش شوری شاخص قدرت بالاتری در مقایسه با شرایط عدم محلول پاشی (شاهد) داشتند. بالاترین

کاهش با افزایش غلظت نمک به نحو قابل توجهی تشدید گردید. از طرف دیگر، محلول پاشی ترکیب‌های غلظتی ۲۴-پی‌براسینولید و نانوآکسید روی بر روی بوته‌های گوجه‌فرنگی موجب تولید بذرهایی شد که تا حدودی توانایی مقابله با تنش شوری را داشتند. چراکه غلظت ۱/۶ میکرومولار ۲۴-پی‌براسینولید توأم با غلظت‌های ۶۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوآکسید روی در سطوح مختلف نمک بالاترین وزن خشک ساقه‌چه را به خود اختصاص دادند، و سایر سطوح ۲۴-پی‌براسینولید و نانوآکسید روی در غلظت‌های مختلف NaCl وزن خشک ساقه‌چه بالاتری نسبت به شاهد از خود نشان دادند (شکل ۵).

مقدار شاخص طولی قدرت گیاهچه گوجه فرنگی در غلظت ۱/۶ میکرومولار ۲۴-پی‌براسینولید توام با غلظت‌های ۶۰۰ و



محلول پاشی برگی EBL+NP-ZnO در غلظت‌های مختلف

شکل ۶- شاخص طولی قدرت گیاهچه‌های گوجه فرنگی متاثر از محلول پاشی EBL+NP-ZnO و تنش شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (LSD=۰/۵۸۶).

پراکسیداز تحت تنش شوری شد. روند صعودی فعالیت آنزیم در سطوح تنش در تمامی ترکیب‌های غلظتی ۲۴-پی‌براسینولید و نانوآکسید روی مشهود بود. در شرایط غیر شور، تفاوت بین غلظت‌های مختلف ۲۴-پی‌براسینولید+نانوآکسید روی از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. از طرف دیگر در تنش ۵۰ میلی‌مولار، محلول پاشی غلظت ۱/۶ میکرومولار ۲۴-پی‌براسینولید توام با غلظت‌های ۶۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوآکسید روی بالاترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را موجب گردید. در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، تیمار مربوط به غلظت بالای ۲۴-پی‌براسینولید توام با غلظت بالای نانوآکسید روی ( $B_2N_2$ ) بالاترین میزان فعالیت پراکسیداز گیاهچه را به نمایش گذاشت (شکل ۸).

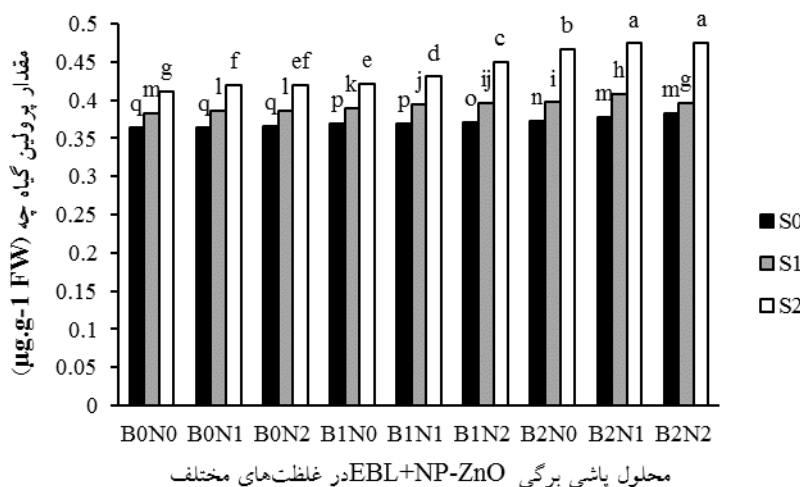
با شورتر شدن محیط، فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. به طوری‌که در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، بالاترین فعالیت آنزیم کاتالاز به دست آمد. محلول-پاشی بوته‌های گوجه فرنگی با غلظت‌های مختلف ۲۴-پی‌براسینولید+نانوآکسید روی موجب تولید بذرهایی شد که فعالیت کاتالاز گیاهچه در سطوح مختلف تنش به طور قابل توجهی افزایش یافت. به نحوی‌که در سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار، غلظت بالای ۲۴-پی‌براسینولید در ترکیب با غلظت بالای نانوآکسید روی ( $B_2N_2$ ) بیش‌ترین فعالیت آنزیمی را از خود نشان داد (شکل ۹).

۱۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوآکسید روی (به ترتیب  $B_2N_1$  و  $B_2N_2$ ) در سطوح مختلف تنش شوری حاصل گردید (شکل ۶).

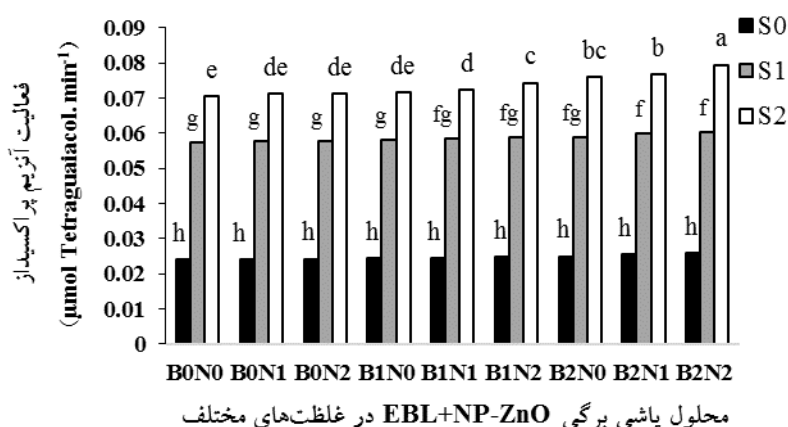
افزایش شدت تنش شوری در بستر کشت بذره‌های گوجه فرنگی موجب افزایش پرولین آزاد گیاهچه گردید. به طوری‌که در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl، محتوای پرولین در حدود ۱۲ درصد نسبت به شاهد (عدم حضور نمک) افزایش نشان داد. در توده‌های بذری به دست آمده از بوته‌های محلول پاشی شده با ترکیب‌های غلظتی EBL+NP-ZnO، روند صعودی میزان پرولین گیاهچه تحت تنش شوری مشهودتر بود. به نحوی‌که غلظت ۱/۶ میکرومولار ۲۴-پی‌براسینولید توام با غلظت ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوآکسید روی در سطوح مختلف نمک بالاترین میزان پرولین گیاهچه را به خود اختصاص داد (شکل ۷).

فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه گوجه فرنگی به شدت تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفت، به طوری‌که با افزایش سطوح تنش فعالیت این آنزیم آنتی اکسیدان به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. در سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار، افزایش به ترتیب حدود ۵۸ و ۶۶ درصدی فعالیت آنزیم نسبت به شرایط عدم حضور نمک در بستر کشت (شاهد) مشاهده گردید. توده‌های بذری متعلق به بوته‌های محلول پاشی شده با غلظت‌های مختلف ۲۴-پی‌براسینولید+نانوآکسید روی منجر به تولید گیاهچه‌های برخوردار از فعالیت بالاتر آنزیم

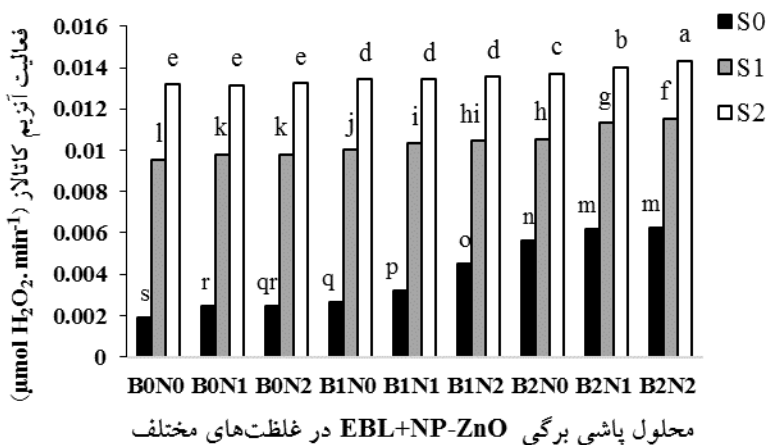
میزان مالون دی‌آلدئید گیاهیچه گوجه فرنگی در حضور نمک NaCl در محیط کشت به طور قابل توجهی افزایش



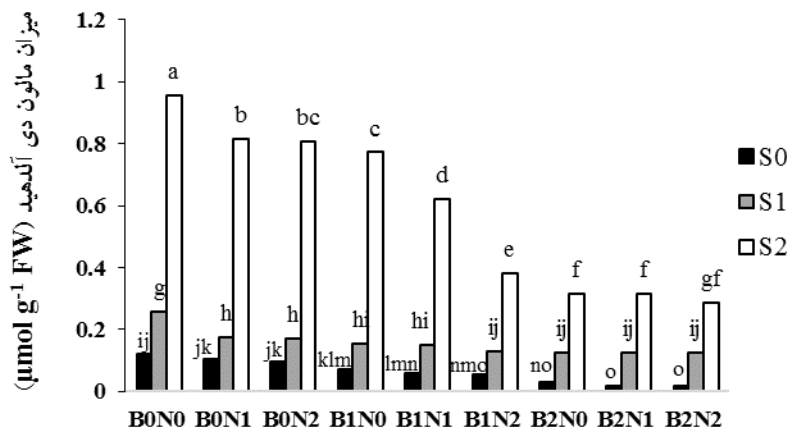
شکل ۷- مقدار پرولین گیاهیچه‌های گوجه فرنگی متاثر از محلول پاشی EBL+NP-ZnO و تنش شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (LSD= ۰/۰۰۲).



شکل ۸- فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهیچه‌های گوجه فرنگی متاثر از محلول پاشی EBL+NP-ZnO و تنش شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (LSD= ۰/۰۰۱۹).



شکل ۹- فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌هاى گوجه فرنگى متاثر از محلول پاشى EBL+NP-ZnO و تنش شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (LSD= ۰/۰۰۰۱).



محلول پاشى برگى EBL+NP-ZnO در غلظت‌هاى مختلف

شکل ۱۰- میزان مالون دی‌آلدئید گیاهچه‌هاى گوجه فرنگى متاثر از محلول پاشى EBL+NP-ZnO و تنش شوری. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (LSD= ۰/۰۳۹۲).

گیاهچه گوجه فرنگى تحت تنش نمک را می‌توان به تغییرات هورمونی نسبت داد، چراکه شوری با افزایش اسید آبسزیک و کاهش اتیلن در بذر، مانع از جوانه‌زنى مطلوب می‌شود (کافى و همکاران، ۱۳۸۸). در برخى پژوهش‌ها اثرات محرک تنش شوری بر تغییرات هورمون‌هاى درون گیاه مورد بررسی و تایید واقع شده‌اند (Thomas *et al.*, 1992; Aldesuquy, 1998; Vaidyanathan *et al.*, 1999; Parida and Das, 2005). در این راستا، بسیاری از محققان اعلام نمودند که یک رابطه آنتاگونیستی بین براسینواستروئیدها و اسید آبسزیک در مرحله جوانه‌زنى بذر وجود دارد (Erik *et al.*, 1996; Steber and Divi and Krishna, 2001; Zhang *et al.*, 2009). (Mc Court, 2001; Zhang *et al.*, 2009). نیز عنوان نمودند که افزایش بیان ژن مسئول بیوستز براسینواستروئید (*AtDWF4*) موجب تولید بالای این دسته از هورمون‌ها در بذر شده و این امر به رفع اثرات بازدارنده اسید آبسزیک بر جوانه‌زنى بذر کمک شایانى می‌کند. بطور کلی در محیط‌هاى شور، افزایش غلظت املاح مضر در محیط ریشه، از طریق کاهش پتانسیل آب گیاه، سبب کاهش طول ریشه‌چه در گیاهچه‌ها می‌گردد، که علت احتمالی کاهش طول ریشه‌چه به مصرف بیش‌تر انرژی در ریشه‌چه برای جذب فعال عناصر غذایى مرتبط است که متعاقب آن انرژی تخصیص یافته برای

یافت. به طوری که در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار حدود ۵۹ درصد و در تنش ۱۰۰ میلی‌مولار حدود ۸۹ درصد نسبت به شاهد (عدم حضور نمک) افزایش در میزان مالون دی‌آلدئید گیاهچه گوجه فرنگى ملاحظه گردید. از سوى دیگر توده‌هاى بذرى به دست آمده از بوته‌هاى محلول‌پاشى شده با EBL+NP-ZnO، در شرایط تنش شوری گیاهچه‌هاى تولید نمودند که مقدار مالون دی‌آلدئید آن‌ها به شدت کاهش یافت. به طوری که محلول پاشى غلظت ۱/۶ میکرومولار ۲۴-اپی-براسینولید توام با غلظت‌هاى ۶۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام (به ترتیب  $B_2N_1$  و  $B_2N_2$ ) و عدم حضور نانوآکسید روی ( $B_2N_0$ ) در هر سه سطح شوری کم‌ترین میزان مالون دی‌آلدئید گیاهچه را به خود اختصاص دادند (شکل ۱۰).

#### بحث

در مجموع تنش شوری با کاهش قابلیت جوانه‌زنى بذر مانع رشد مطلوب گیاهچه گوجه فرنگى گردید. همسو با نتایج پژوهش حاضر، در مطالعات مختلف یافته‌هاى مشابهی در مورد گوجه فرنگى گزارش شده است (Kaveh *et al.*, 2001; Haghghi *et al.*, 2012). یکی از دلایل احتمالی کاهش رشد

در بذرها، آثار فیزیولوژیکی بسیار مهمی بر درصد جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه خواهد داشت (Prasad *et al.*, 2012). به طوری که (Alpaslan *et al.*, 1999) گزارش نمودند که افزایش غلظت روی موجب تعدیل اثر منفی NaCl با کنترل جذب سدیم و کلر و یا محدودیت انتقال این عناصر در گیاه می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط (Prasad *et al.*, 2012) انجام شد، مشاهده گردید که تیمار بذرها با دام‌زمینی با نانو ذرات اکسید روی (غلظت 1000 ppm) افزایش معنی‌داری در جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه و شاخص قدرت نسبت به سایر غلظت‌های همان ماده و غلظت‌های مختلف از مواد دیگر در بردارنده این عنصر مانند سولفات روی ایجاد کرد. استدلال دقیق برای این اثرات تاکنون شناخته نشده است، ولی این احتمال وجود دارد که به خاطر تمرکز بالای روی در بذرها تیمار شده با نانو ذرات روی باشد. بطور کلی رسانش عنصر روی و سایر عناصر ریز مغذی در قالب مکمل و یا کود هم-چنان با چالش رو به رو است. با استفاده از نانو ذرات و نانو پودرها می‌توان کودهایی با رهایش کنترل شده یا تاخیری تولید کرد. چراکه سطح ویژه بالای نانو ذرات، چگالی بیشتر نواحی واکنش‌پذیر بر روی سطح ذره و یا افزایش واکنش‌پذیری این نواحی بر روی سطح، سبب واکنش‌پذیری بالای نانو ذرات می‌شوند. این ویژگی‌ها موجب جذب راحت‌تر کودها و سمومی می‌شوند که با این ابعاد تولید شده‌اند و نسبت به کودها و سموم رایج تاثیر بیشتری خواهند داشت (پاریاد، ۱۳۹۱). لذا در این تحقیق از عنصر روی در ابعاد نانو استفاده گردید، تا جذب و رسانش این عنصر به بافت هدف با اطمینان بیشتری صورت گیرد. عنصر روی در ساخته شدن تریپتوفان که جزیی از ساختمان برخی از پروتئین‌ها است و ترکیبی ضروری برای سنتز هورمون رشد (اکسین‌ها مانند ایندول استیک اسید) به شمار می‌آید نقش مهمی ایفا می‌کند. کاهش هورمون رشد در گیاهان مبتلا به کمبود روی فاصله میان گره‌ها را کوتاه می‌کند و حالت کوتولگی غیرطبیعی برگ‌ها در این گیاهان مشاهده می‌شود (Haslett *et al.*, 2001).

رشد ریشه‌چه کاهش یافته است (بهبودیان و همکاران، ۱۳۸۴). در پژوهش حاضر طول ساقه‌چه گوجه فرنگی در حضور نمک کاهش بیشتری را نسبت به ریشه‌چه از خود نشان داد، که همسو با این یافته پژوهشگران دیگری کاهش طول ساقه‌چه گوجه‌فرنگی در محیط‌های شور را گزارش نموده‌اند (مختاری و همکاران، ۱۳۸۷؛ طالب‌زاده، ۱۳۸۳). به نظر می‌رسد علت کاهش طول ساقه‌چه، اختلال در انتقال مواد غذایی از لپه به جنین باشد (باقری و همکاران، ۱۳۷۳). طول ریشه‌چه و ساقه-چه بذرها تیمار شده با ۲۴-پی‌براسینولید تحت تنش شوری بیشتر از گیاهچه‌های رشد یافته در محیط شور بدون حضور ۲۴-پی‌براسینولید می‌باشد که علت احتمالی آن کاهش اثر مهارکنندگی رشد توسط هورمون ۲۴-پی‌براسینولید تحت شرایط تنش می‌باشد (Agami, 2013). این نتایج با افزایش رشد گیاهچه‌های گوجه فرنگی تیمار شده با ۲۴-پی‌براسینولید تحت تنش کم آبی مطابقت دارد (Khripach *et al.*, 1998). افزایش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه در حضور ۲۴-پی‌براسینولید ممکن است به توانایی آن در تحریک رشد گیاهچه مرتبط باشد که این امر بواسطه رشد و توسعه سلولی صورت می‌گیرد (Ozdamir *et al.*, 2004). نتایج نشان داد که وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه نیز در شرایط تنش شوری کاهش یافت، اما ۲۴-پی‌براسینولید سبب افزایش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه-چه گوجه فرنگی شد. همسو با این نتایج، پژوهشگران متعددی گزارش نمودند که ۲۴-پی‌براسینولید موجب افزایش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه گوجه‌فرنگی و برخی گیاهان مشابه در شرایط تنش شوری گردید (Schilling *et al.*, 1991; Ozdamir *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2012). همچنین در این پژوهش محلول‌پاشی نانو اکسید روی در بوته‌های گوجه‌فرنگی موجب تولید بذرهایی شد که از نظر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه اثرات سوء ناشی از حضور نمک در بستر جوانه-زنی را کاهش داد. در این راستا نتایج مشابهی در مورد افزایش جوانه‌زنی و قدرت گیاهچه بر اثر تیمار با نانو اکسید روی گزارش شده است (Ajouri, *et al.*, 2004; Prasad *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2004). بطور کلی افزایش غلظت روی

باشد. عنصر روی نیز به عنوان کوفاکتور، تاثیر مهمی در فعالیت آنزیم‌های برگ به ویژه در شرایط تنش دارد (Bagci et al., 2007). بطور کلی پرولین از دو مسیر عمده ساخته می‌شود: مسیر گلوتامات، که آنزیم‌های آن در سیتوپلاسم قرار دارند، و مسیر اورنیتین که آنزیم‌های آن در میتوکندری می‌باشند. عنصر روی در آنزیم‌های کلیدی مسیر گلوتامات که در گیاهان عالی اهمیت بیش‌تری دارد، شرکت می‌کند (Delaney et al., 1993). لذا به نظر می‌رسد که افزایش محتوای پرولین گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی تحت تاثیر نانو اکسید روی، به واسطه فعال شدن آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز پرولین در سیتوپلاسم سلول‌های گیاه می‌باشد. بنابراین به طور کلی می‌توان اظهار داشت که برای جبران حداقل برخی از اثرات مضر تنش شوری، عنصر روی که نقش فزاینده‌ای در فرآیند تنظیم اسمزی (به واسطه افزایش پرولین و سایر ترکیبات اسمولیت) ایفا می‌کند می‌تواند در مقاومت به تنش شوری گیاه گوجه‌فرنگی موثر باشد.

در این تحقیق، با شورت‌تر شدن بستر کشت تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاهچه گوجه فرنگی افزایش یافت که این امر موجب افزایش واکنش‌های پراکسیداتیو و تجمع مواد سمی مانند مالون دی‌آلدئید گردید. از طرفی سیستم‌های آنتی-اکسیدان نظر آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در گیاهچه گوجه فرنگی در جهت خنثی کردن این اثرات سوء افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان دادند. دلایل محکمی وجود دارد که تنش شوری در گیاهان مختلف می‌تواند سبب تجمع انواع اکسیژن واکنش‌گر مانند آنیون سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل، اکسیژن منفرد و پراکسید هیدروژن گردد (Lee et al., 2001). این رادیکال‌های آزاد ضمن راه‌اندازی واکنش‌های پراکسیداتیو، قابلیت آسیب زدن به غشاء و ماکرومولکول‌های ضروری مثل رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها را دارند و منجر به تشکیل محصولات سمی نظیر مالون دی‌آلدئید می‌شوند. تنش اکسیداتیو زمانی رخ می‌دهد که تعادل بین تولید ROSها و ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیداتی گیاه بر هم بخورد. گیاهان با سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان آنزیمی (مثل کاتالاز و پراکسیداز) و غیر آنزیمی (مثل پرولین) به طور طبیعی

حضور نمک در بستر کشت موجب افزایش معنی‌دار در محتوای پرولین گیاهچه‌های گوجه فرنگی گردید. در این راستا، مطالعات نشان می‌دهد که گیاهان تا زمانی می‌توانند آب را جذب کنند که پتانسیل آب آن‌ها پایین‌تر از محیط باشد. بدین منظور، محلول‌های اسمزی سازگار که با واکنش‌های آنزیمی تداخل ندارند برای حفظ تعادل پتانسیل آب داخل سلول در سیتوپلاسم تجمع می‌یابند. این نوع مواد مانند پرولین، گلاسیسین بتائین و پلی‌اول‌ها موجب ایجاد محیطی سازگار با ماکرومولکول‌های سلول (به ویژه پروتئین‌ها) می‌شوند (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). (Ali et al., 1999). در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که پرولین به مانند یک مولکول تنظیمی و علامت دهنده عمل می‌کند، به طوری که در هنگام مواجهه گیاه با تنش شوری، مقاومت به تنش آن را مضاعف می‌سازد. Zhang et al. (۲۰۰۰) نتیجه گرفتند که یک ارتباط مثبت بین تجمع پرولین و مقدار آنتی‌اکسیدان بافت وجود دارد، به طوری که در نتیجه تنش‌های مختلف مقدار رادیکال آزاد افزایش می‌یابد و باعث تجمع پرولین در بافت گیاهی می‌شود. با توجه به این مطلب، افزایش غلظت پرولین گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی می‌تواند پاسخی در برابر کاهش فشار اسمزی و افزایش رادیکال‌های آزاد تولید شده در گیاهچه‌های رشد یافته در شرایط تنش شوری باشد. از سوی دیگر محلول‌پاشی ۲۴-پی براسینولید و نانوآکسید روی موجب تشدید روند صعودی محتوای پرولین آزاد گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی در حضور نمک NaCl شد. (Agami ۲۰۱۳) گزارش نمود که ۲۴-پی براسینولید در شرایط شوری موجب افزایش محتوای پرولین آزاد گردید. (Talaat and Shawky ۲۰۱۳) عنوان نمودند که ۲۴-پی براسینولید با تاثیر بر بیان ژن‌های مسئول بیوسنتز پرولین، موجب افزایش محتوای پرولین می‌گردد. از سوی دیگر به دلیل اینکه این هورمون موجب افزایش بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک در سلول‌های گیاهی می‌گردد (Bajguz, 2000)، لذا احتمالاً افزایش پرولین به واسطه حضور ۲۴-پی براسینولید، ناشی از افزایش سنتز اسیدهای نوکلئیک در سلول‌های گیاهی و تبدیل آن‌ها به اسید آمینه‌های مورد نیازی چون پرولین می-

میزان ROS های درون سلول را در حد تعادل نگه می‌دارند (Tavallali *et al.*, 2010). در این راستا پژوهشگران عنوان داشتند که در گیاهان، تعدادی از آنزیم‌ها سطوح  $H_2O_2$  درون سلولی را تنظیم می‌کنند و بنابراین به نظر می‌رسد پراکسیدازها و کاتالاز از مهم‌ترین این آنزیم‌ها هستند (de Azevedo Neto *et al.*, 2006). به طور کلی براسینواستروئیدها مقدار تجمع مالون دی‌آلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را کاهش می‌دهند. چراکه براسینواستروئیدها بر روی ترکیب اسیدهای چرب و نفوذپذیری غشاء اثر گذاشته و اثر مثبت بر تجمع مواد محلول دارند (Khripach *et al.*, 1998). لذا در این پژوهش، کاهش تجمع مالون دی‌آلدئید در اثر تیمار با ۲۴-اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی در شرایط تنش شوری نشان دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و حفظ سلامت غشاء تحت تنش شوری می‌باشد. در این راستا گزارشی مبنی بر تاثیر براسینواستروئیدها بر کاهش مالون دی‌آلدئید به دلیل حفظ لیپیدهای غشاء از خسارت القا شده به وسیله رادیکال‌های آزاد اکسیژن وجود دارد (Ozdamir *et al.*, 2004). کاهش تجمع مالون دی‌آلدئید و رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز و پراکسیداز تحت تاثیر ۲۴-اپی‌براسینولید توسط پژوهشگران متعدد گزارش شده است (Ali *et al.*, 2008; Shahbaz *et al.*, 2008; Hayat *et al.*, 2010; Talaat and Shawky, 2013). باید خاطر نشان کرد که گیاه به منظور حفاظت از غشای سلولی و دیگر اندام‌ها از خسارت اکسیداتیو ناشی از ROS ها، یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسدانتی قوی که شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشند را توسعه می‌دهد (Maia *et al.*, 2010) که فعالیت هر کدام از این آنزیم‌ها از طریق یکسری ژن‌های اختصاصی کنترل می‌شود. در این راستا پژوهشگران متعددی عنوان داشتند که براسینواستروئیدها از طریق تاثیر بر بیان ژن‌های مسئول کنترل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر خسارت اکسیداتیو ناشی از ROS ها در شرایط تنش می‌شوند (Ramonell *et al.*, 2001; Goda *et al.*, 2002; Cao *et al.*, 2009; Bajgu *et al.*, 2006; Choe *et al.*, 2005). به طور کلی در شرایط تنش شوری عنصر روی با افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، آسیب اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله تنش شوری را تا حدود زیادی کاهش می‌دهد، بنابراین می‌توان اظهار داشت که آسیب‌های غشایی القا شده به وسیله NaCl و تنش اکسیداتیو به طور کارآمدی به وسیله عنصر ریز مغذی روی کنترل می‌شود (Tavallali *et al.*, 2010). چرا که عنصر روی در القای بیان ژن‌های مسئول سنتز پروتئین‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موثر است و در پاره‌ای موارد حتی به عنوان کوفاکتور این دسته از آنزیم‌ها نیز محسوب می‌شود (Grewal and Wiliams, 2000; Bagci *et al.*, 2007).

### نتیجه‌گیری

بذرهای حاصل از بوته‌های گوجه‌فرنگی محلول‌پاشی شده با ۲۴-اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی قابلیت تحمل به تنش شوری بالایی را از خود نشان دادند. به طوری که در حضور نمک شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد گیاهیچه و همچنین فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در این بذرها نسبت به شاهد در سطح بالاتری بود. که این امر موجب افت شدید واکنش‌های پراکسیداتیو و تولید محصولات سمی نظیر مالون دی‌آلدئید در گیاهیچه‌های گوجه‌فرنگی گردید. در کل تمامی سطوح ۲۴-اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی در مقایسه با شاهد (عدم محلول-پاشی) اثرات مثبتی در جهت تحمل به تنش شوری در مرحله جوانه زنی از خود نشان دادند، اما بذرهای حاصل از بوته‌های محلول‌پاشی شده با ترکیب توام سطح بالای ۲۴-اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی ( $B_2N_2$ ) از تحمل به تنش بالاتری برخوردار بودند. لذا با توجه به نتایج حاصل، می‌توان توصیه نمود که در مزارع تولید بذر گوجه‌فرنگی جهت تولید بذرهای با کیفیت بالا و قابلیت تحمل به تنش شوری گیاهیچه‌های حاصل، از محلول‌پاشی برگی ۲۴-اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی قبل از گلدهی در غلظت‌های بهینه استفاده گردد.

### تشکر و قدردانی

میزان ROS های درون سلول را در حد تعادل نگه می‌دارند (Tavallali *et al.*, 2010). در این راستا پژوهشگران عنوان داشتند که در گیاهان، تعدادی از آنزیم‌ها سطوح  $H_2O_2$  درون سلولی را تنظیم می‌کنند و بنابراین به نظر می‌رسد پراکسیدازها و کاتالاز از مهم‌ترین این آنزیم‌ها هستند (de Azevedo Neto *et al.*, 2006). به طور کلی براسینواستروئیدها مقدار تجمع مالون دی‌آلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را کاهش می‌دهند. چراکه براسینواستروئیدها بر روی ترکیب اسیدهای چرب و نفوذپذیری غشاء اثر گذاشته و اثر مثبت بر تجمع مواد محلول دارند (Khripach *et al.*, 1998). لذا در این پژوهش، کاهش تجمع مالون دی‌آلدئید در اثر تیمار با ۲۴-اپی‌براسینولید و نانو اکسید روی در شرایط تنش شوری نشان دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و حفظ سلامت غشاء تحت تنش شوری می‌باشد. در این راستا گزارشی مبنی بر تاثیر براسینواستروئیدها بر کاهش مالون دی‌آلدئید به دلیل حفظ لیپیدهای غشاء از خسارت القا شده به وسیله رادیکال‌های آزاد اکسیژن وجود دارد (Ozdamir *et al.*, 2004). کاهش تجمع مالون دی‌آلدئید و رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز و پراکسیداز تحت تاثیر ۲۴-اپی‌براسینولید توسط پژوهشگران متعدد گزارش شده است (Ali *et al.*, 2008; Shahbaz *et al.*, 2008; Hayat *et al.*, 2010; Talaat and Shawky, 2013). باید خاطر نشان کرد که گیاه به منظور حفاظت از غشای سلولی و دیگر اندام‌ها از خسارت اکسیداتیو ناشی از ROS ها، یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسدانتی قوی که شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشند را توسعه می‌دهد (Maia *et al.*, 2010) که فعالیت هر کدام از این آنزیم‌ها از طریق یکسری ژن‌های اختصاصی کنترل می‌شود. در این راستا پژوهشگران متعددی عنوان داشتند که براسینواستروئیدها از طریق تاثیر بر بیان ژن‌های مسئول کنترل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر خسارت اکسیداتیو ناشی از ROS ها در شرایط تنش می‌شوند (Ramonell *et al.*, 2001; Goda *et al.*, 2002; Cao *et al.*, 2009; Bajgu *et al.*, 2006; Choe *et al.*, 2005). به طور کلی در شرایط تنش شوری عنصر روی با افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، آسیب اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله تنش شوری را تا حدود زیادی کاهش می‌دهد، بنابراین می‌توان اظهار داشت که آسیب‌های غشایی القا شده به وسیله NaCl و تنش اکسیداتیو به طور کارآمدی به وسیله عنصر ریز مغذی روی کنترل می‌شود (Tavallali *et al.*, 2010). چرا که عنصر روی در القای بیان ژن‌های مسئول سنتز پروتئین‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موثر است و در پاره‌ای موارد حتی به عنوان کوفاکتور این دسته از آنزیم‌ها نیز محسوب می‌شود (Grewal and Wiliams, 2000; Bagci *et al.*, 2007).

بدین وسیله نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و مالی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی و شرکت تولید بذر فلات اعلام می‌دارند.

## منابع

باقری، ع.، سرمد نیا، غ.، حاج‌رسولی‌ها، ش. (۱۳۷۳). بررسی عکس‌العمل توده‌های مختلف اسپرس به تنش‌های خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی. مجله علوم و صنایع کشاورزی ۲: ۴۵-۴۱.

بهبودیان، ب.، لاهوتی، م.، نظامی، ا. (۱۳۸۴). بررسی اثرات تنش شوری بر جوانه‌زنی ارقام نخود. مجله علمی کشاورزی ۲۸(۲): ۱۳۷-۱۲۷.

پاریاد، س. (۱۳۹۱). اثر اندازه بذر و تغذیه گیاه مادری بر کیفیت بذور حاصل در کدوی دارویی (*Cucurbita pepo* L.). پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

طالب‌زاده، ز. (۱۳۸۳). بررسی اثرات شوری بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

کافی، م.، برزوئی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع.، نباتی، ج. (۱۳۸۸). فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. جهاد دانشگاهی مشهد. چاپ اول. ۵۰۲ ص.

مختاری، ا.، ابریشم‌چی، پ.، گنجعلی، ع. (۱۳۸۷). بررسی تاثیر کلسیم در بهبود آسیب‌های ناشی از تنش شوری بر جوانه‌زنی بذور گوجه فرنگی. مجله علوم و صنایع کشاورزی، ویژه علوم باغبانی ۲۲(۱): ۱۰۰-۸۹.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.

Agami, R. A. (2013). Alleviating the adverse effects of NaCl stress in maize seedlings by pretreating seeds with salicylic acid and 24-epibrassinolide. *South African Journal of Botany* 88: 171-177.

Ajourri, A., Asgedom, H. and Becker, M. (2004) Seed priming enhances germination and seedling growth of barley under conditions of P and Zn deficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 167: 630-636.

Aldesuquy, H. S. (1998) Effect of seawater salinity and gibberlic acid on abscisic acid, amino acids and water-use efficiency of wheat plants. *Agrochemical* 42: 147-157.

Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2008) 24-Epibrassinolide protects against the stress generated by saline and nickel in *Brassica juncea*. *Chemosphere* 72: 1387-1392

Ali, G., Srivastava, P. S. and Iqbal, M. (1999) proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in regenerants grown under NaCl stress. *Biologia Plantarum* 42: 89-95.

Almansouri, M., Kinet, J. M. and Lutts, S. (2001) Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Plant and Soil* 231(2): 243-254.

Alpaslan, M., Inal, A., Gunes, A., Cikili, Y. and Ozcan, H. (1999) Effect of zinc treatment on the alleviation of sodium and chloride injury in tomato (*Lycopersicon esculentum* L. Mill. c.v. lala) grown under salinity. *Turkish Journal of Botany* 23: 1-6.

Anonymous. 2014. FAO statistics division. <http://www.faostat.fao.org>.

Anuradha, S. and SeetaRamRao, S. (2001) Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regulation* 33: 151-153.

Atanassova, B. and Georgiev, H. (2000) Using genic male sterility in improving hybrid seed production in Tomato (*lycopersicon esculentum* L. mill.). In II Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes. 579: 185-188.

Bagci, S. A., Ekiz, H., Yilmaz, A. and Cakmak, I. (2007) Effects of zinc deficiency and water stress on grain yield of field-grown Wheat cultivars in central Anatolia. *Agronomy and Crop Science* 193: 198-206.

Bajgu, A. and Hayat, S. (2009) Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 1-8.

Bajguz A. (2000) Blockade of heavy metals accumulation in *Chlorella vulgaris* cells by 24-epibrassinolide. *Plant physiology and biochemistry* 38: 797-801.

Bates, L. S. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.

Baybordi, A. (2006) Zinc in soils and crop nutrition. (1sted.). Parivar Press. P. 179.

Cao, S., Xu, Q., Cao, Y., Qian, K., An, K., Zhu, Y., Binzeng, H. and Zhao, H. (2005) Loss-of-function mutations in DET2 gene lead to an enhanced resistance to oxidative stress in Arabidopsis. *Physiologia Plantarum* 123: 57-66.

- Choe, S. (2006) Brassinosteroid biosynthesis and inactivation, *Physiologia Plantarum* 126: 539–548.
- de Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Enéas-Filho, J., de Abreu, C. E. B. and Gomes-Filho, E. (2006) Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany* 56: 87-94.
- Delaney, A. J., Hu, C. A. A., Kishor, K. P. B. and Verma, D. P. S. (1993) Cloning ornithine-aminotransferase cDNA from *Vigna anconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis, *Journal of biological chemistry* 268: 18673-18678.
- Dhaubhadel, S., Chaudhary, S., Dobinson, K. F. and Krishna, P. (1999). Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermo tolerance of *Brassica napus* and tomato seedlings. *Plant molecular biology* 40: 333–342.
- Divi, U. K., Krishna, P. (2010) Overexpression of the brassinosteroid biosynthetic gene AtDWF4 in Arabidopsis seeds overcomes abscisic acid-induced inhibition of germination and increases cold tolerance in transgenic seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation* 29(4): 385–393.
- Eevera, T. and Vanangamudi, K. (2006) Tomato. P159-185, In: Vanangamudi, K., N. Natarajan., P. Srimathi., K. Natarajan., T. Saravanan., M. Bhaskaran., A. Bharathi., P. Natesan., and K. Malarkodi (eds.), *Advances in science and technology, Vol.2. Quality seed production in vegetables*. Agrobios, India.
- Ellis, R. H. and Roberts, E. H. (1981) The quantification of aging and survival in orthodox seeds. *Seed Science Technology* 9: 373-409.
- Erik, T., David, N. and Orcutt, M. (1996) *The Physiology of Plants Under Stress, Abiotic Factors*, Wiley, 704pp.
- Finch-Savage, W. E., Dent, K. C. and Clark, L. J. (2004) Soak conditions and temperature following sowing influence the response of maize (*Zea mays* L.) seeds to on-farm priming (pre-sowing seed soak). *Field crops research* 90: 361-374.
- George, R. A. T. (2009) *Vegetable seed production*. 3rd ed. CABI Publishing. 329p.
- Goda, H., Shimada, Y., Asami, T., Fujioka, S. and Yoshida, S. (2002) Microarray analysis of brassinosteroid-regulated genes in Arabidopsis, *Plant Physiology* 130: 1319–1334.
- Grewal, H. S and Wiliams, R. (2000) Zinc nutrition effects alfalfa response to water stress and excessive moisture. *Plant Nutrition* 23: 942-962.
- Haghighi, M., Afifipour, Z. and Mozafarian, M. (2012) The Effect of N-Si on Tomato Seed Germination under Salinity Levels. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* 6(16): 87-90.
- Haslett, B. S. Reid, R. J. and Rengel, Z. (2001) Zinc mobility in wheat: Uptake and distribution of zinc applied to leaves or roots. *Annals of Botany* 87: 379-386.
- Hayat, S., Hasan, S. A., Yusuf, M., Hayat, Q. and Ahmad, A. (2010) Effect of 28-homobrassinolide on photosynthesis, fluorescence and anti-oxidant system in the presence or absence of salinity and temperature in *Vigna radiata*. *Environmental and Experimental Botany* 69: 105–112
- Heath, R. L., Packer, L. (1968) "Photo peroxidation in isolated chloroplasts, I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation", *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Kaveh, H., Nemati, H., Farsi, M. and Vatandoost Jartoodeh, F. (2011) How Salinity Affect Germination and Emergence of Tomato Lines. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* 5(15): 159-163.
- Khripach V. A. Zhabinskii V. N. and Groot A. E. (1998) *Brassinosteroids: A New Class of Plant Hormones*. Academic press, United States of America 460 p.
- Lee, D. H., Kim, Y. S. and Lee, C. B. (2001) The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Physiology* 158: 737-45.
- Li L. and Van Staden J. (1998) Effects of plant growth regulators on drought resistance of two maize cultivars. *The South African Journal of Botany* 64(2): 116–120.
- Lin-Dai, Q., Chen, C., Feng, B., Liu, T., Tian, X., Gong, Y., Sun, Y., Wang, J. and Du, S. (2009) Effects of different NaCl concentration on the antioxidant enzymes in oilseed rape (*Brassica napus* L.) seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation* 59: 273-278.
- MacAdam, J. W., Nelson, C. J. and Sharp, R. E. (1992) Peroxidase Activity in the Leaf Elongation Zone of Tall Fescue. *Plant Physiology* 99:872-878.
- Maia, J. M., Costa de Macedo, C. E., Voigt, E. L., Freitas, J. B. S. and Silveira, J. A. G. (2010) Antioxidative enzymatic protection in leaves of two contrasting cowpea cultivars under salinity. *Biologia Plantarum* 54:159–163.
- Marschner, I. I. and Cakmak, I. (1986) Mechanism of phosphorus- induced zinc deficiency in cotton. II. Oh, K.
- Ozdamir, F., Bor, M., Demiral, T. and Turkan, I. (2004) Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, prolin content and antioxidative system of rice (*Oriza sativa* L.) under salinity stress. *Plant growth Regulation* 42: 203-211.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on Plants. *Ecotoxicology and environmental safety* 60: 324-349.
- Pessarakli, M. (1999) *Handbook of plant and crop stress*. Marcel Dekker, Inc., New York.

- Prasad T. N. V. K. V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja Reddy, K., Sreepasad, T. S., Sajanalal, P. R. and Pradeep. T. (2012) Effect of Nano scale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition* 35: 905-927.
- Ramonell, K. M., Kuang, A., Porterfield, D. M., Crispi, M. L., Xiao, Y., Mc Clure, G. and Musgrave, M. E. (2001) Influence of atmospheric oxygen on leaf structure and starch deposition in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Cell and Environment* 24: 419-428.
- Romheld, V. and Marschner, H. (1991) Function of micronutrients in plants. In: Mortvedt, J. J., Shuman, L. M., Welch, R. M. (Eds), *Micronutrients in Agriculture*. Published by Soil Science Society America, Inc. Madison, Wisconsin, USA. pp, 297-328.
- Sasse J. M., Smith R. and Hudson I. (1995) Effects of 24-Epibrassinolide on germination of seed of *Eucalyptus camaldulensis* in saline conditions. *Proc. Plant growth regulation society of America* 22: 136-141.
- Sasse, J. M. (1999) Physiological actions of brassinosteroids. In: Sakurai A., Yokota T. and Clouse S.D. (eds), *Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones*, Springer Verlag, Tokyo, pp. 137-161.
- Schaller, H. (2003) The role of sterols in plant growth and development. *Progrss in Lipid Research* 42:163-175.
- Schilling, G., Schiller, C. and Otto, S. (1991) Influence of brassinosteroid on organ retention and enzyme activities of sugar beet plants. In: Cutler HG, Yokota T and Adam G (Eds.), *Brassinosteroids. Chemistry, bioactivity and applications*. American Chemical Society, Washington DC, USA. Pp. 208-219.
- Shahbaz, M., Ashraf, M. and Athar, H. (2008) Does exogenous application of 24-epibrassinolide ameliorate salt induced growth inhibition in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Growth Regulation* 55: 51-64.
- Singh, A. L., Basu, M. S. and Singh, N. B. (2004) *Mineral Disorders of Groundnut*. New Delhi, India: ICAR Publications.
- Srivastava, A. and Handa, A. K. (2005) Hormonal regulation of tomato fruit development: a molecular perspective. *Journal of Plant Growth Regulation* 24, 67-82.
- Steber, C. M., Mc Court, P. (2001) A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 125(2): 763-769.
- Talaat, N. B. and 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.
- Tavallali, V., Rahemi, M., Eshghi, S., kholdebarin, B. and Ramezani, A. (2010) Zinc alleviates salt stress and increases antioxidant enzyme activity in the leaves of pistachio (*Pistacia vera* L. Badami) seedlings. *Turkish Journal Agriculture Forestry* 34(4): 349-359.
- Thomas, J. C., McElwain, E. F., Bohnert, H. J. (1992) Convergent induction of osmotic stress responses. *Plant Physiology* 100: 416-423.
- Vaidyanathan, R., Kuruvilla, S. and Thomas, G. (1999) Characterization and expression pattern of an abscisic acid and osmotic stress responsive gene from rice. *Plant Science* 140: 21-30.
- Welch, R. M. (2001) Impact of mineral nutrients in plants on human nutrition on a worldwide scale. *Plant Nutrition-Food Security and Dordrecht, Netherlands*. pp. 284-258.
- Wu, X. X., Ding, H. D., Zhu, Z. W., Yang, J., and Zha, D. (2012) Effects of 24-epibrassinolide on photosynthesis of eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stress. *African Journal of Biotechnology* 11(35): 8665-8671.
- Yamada, K., Asami, T. and Yoshizawa, Y. (2012) Synthesis of novel brassinosteroid biosynthesis inhibitors based on the ketoconazole scaffold. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 22(4): 1625-1628.
- Yokota, T. and Takahashi, N. (1986) Conjugation of brassinosteroids. In "Conjugate d Plant Hormones. Structure, Metabolism and Function. Proceeding of the International Symposium " (K. Schreiber H. R. Schitte, and G. Sembdner, Eds.), VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin. pp. 288-296.
- Zhang, F., Li, X., Wang, C. and Shen, Z. (2000) Effect of cadmium on autoxidation rate of tissue and inducing accumulation of free proline in seedling of *mung bean*. *Journal of Plant Nutrition* 23(3): 357- 368.
- Zhang, S. S., Cai, Z. Y. and Wang, X. L. (2009) The primary signaling outputs of brassinosteroids are regulated by abscisic acid signaling. *PNAS USA* 106(11): 4543-4548.

## Investigation of resistance to salinity stress in seeds produced from tomato plants sprayed with 24-epibrassinolide and nano-zinc oxide

Ahmad Javadi<sup>1</sup>, Saeid Khomari<sup>1\*</sup>, Behrouz Esmailpour<sup>2</sup>, Ali Asghari<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili

<sup>2</sup> Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili

(Received: 19/10/2016, Accepted: 14/01/2017)

### Abstract

In order to evaluate the effect of combined foliar spray of EBL+nZnO before flowering on quality of produced seeds and also the possibility of salt tolerance induction in seedlings, seed and seedling vigour test was conducted with presence of NaCl in growth medium. In this research, in addition to seed germination and seedling growth parameters of tomato, lipid peroxidation and activity of some antioxidative enzymes were also measured. The present experiment was carried out as factorial based on RCB design with three replications in Research Farm and Seed Technology Lab of faculty of Agriculture and Natural Resources in the University of Mohaghegh Ardabili in 2015. The experimental factors included 24-epibrassinolide (0, 0.8 and 1.6 mM), Nano-zinc oxide (0, 600 and 1200 ppm) and salinity stress (0, 50 and 100 mM NaCl). According to obtained results, salinity of 100 mM indicated the least percentage and rate of germination and seedling performance. Also, in the same stress level, significant decrease was observed in malondialdehyde content and considerable increases recorded in free proline amount and activity of catalase and peroxidase. In general, combined application of EBL (1.6mM) + nZnO (1200 ppm) significantly alleviated the deterrent impacts of salinity on all traits considered, except seed germination percent.

**Keywords:** Brassinosteroid, Salinity stress, Seed Quality, Tomato, Nano-zinc oxide

Saeid.khomari@gmail.com