

## بررسی اثرات نانوذرات اکسید روی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.) تحت تنش شوری

فرزاد رسولی<sup>۱\*</sup>، فاطمه عابدینی<sup>۲</sup> و سید هادی فخرقاضی<sup>۳</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۷)

### چکیده

در این پژوهش تأثیر محلول پاشی نانوذره اکسید روی با سه غلظت (صفر، ۱۰۰۰ ppm و ۲۰۰۰ ppm) بر پاسخ گیاه فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.) در سطوح شوری متفاوت (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم) بررسی و مطالعه شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در شرایط گلدانی انجام شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد سطوح بالای شوری و نانوذره اکسید روی باعث کاهش میزان کلروفیل، میزان کاروتنوئید، فنل کل، وزن خشک برگ‌ها، میزان پرولین، کاهش کربوهیدرات محلول کل، ارتفاع گیاه، قطر ساقه و فعالیت آنزیم کاتالاز شد، اما سطوح بالای شوری باعث افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید شد. با افزایش شدت تنش شوری (۵۰ میلی‌مولار)، میزان کربوهیدرات محلول افزایش یافته و با ادامه روند افزایش تنش به ۷۵ میلی‌مولار شوری در این آزمایش میزان کربوهیدرات محلول کاهش یافت. اثر متقابل شوری و نانوذره اکسید روی بر میزان کلروفیل، پرولین، مالون‌دی‌آلدهید، فنل کل، کربوهیدرات محلول، وزن خشک برگ‌ها و کاروتنوئید معنی‌دار بود. نتایج این آزمایش نشان داد که محلول پاشی روی به شکل نانو ذرات تا حدودی آسیب‌های ناشی از شوری را کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: شاخص کلروفیل، کاروتنوئید، مالون‌دی‌آلدهید، فنل کل و پرولین

۱، ۲ و ۳. به‌ترتیب استادیار، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

\*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: Farrasoli@gmail.com

## مقدمه

به شکل نانو ذرات می‌تواند در تولید محصولات کشاورزی به منظور افزایش عملکرد مفید باشد (۴۵). تغذیه با روی در گیاهان به نظر می‌رسد نقش عمده‌ای در مقاومت به شوری داشته باشد. نانو ذرات اکسید روی می‌تواند به آپوپلاست اپی‌درم و سلول‌های غشا نفوذ کند و از طریق مسیر سیمپلاست به داخلی‌ترین بافت پوسته ریشه و ساقه برسد و در نهایت به آوند چوبی انتقال داده شده و رشد ریشه و اندام هوایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴۹). روی نقش مهمی در چندین عملکرد سلولی مهم مانند متابولیسم پروتئین، بیان ژن، یکپارچگی ساختاری و عملکردی غشا، متابولیسم فتوسنتزی و متابولیسم IAA دارد (۳۴). استفاده از روی می‌تواند اثرات نامطلوب NaCl را کاهش دهد (۳) در این پژوهش خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه فلفل دلمه‌ای تحت تنش شوری همراه با به‌کاربردن نانوذره اکسید روی برای مقابله با اثرات مخرب شوری مورد مطالعه قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش با گیاه فلفل دلمه‌ای رقم (California Wander 310) در تابستان ۱۳۹۵ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در چهار تکرار اجرا شد و برای هر تکرار سه گلدان در نظر گرفته شد. محیط کشت گلدان‌ها در این آزمایش، مخلوط دو قسمت ورمی‌کولایت و یک قسمت پیت بود و گیاهان توسط محلول غذایی هوگلند تغذیه شدند. تیمارهای شوری شامل (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار سدیم کلرید) و نانوذره اکسید روی در سه غلظت (صفر، ۱۰۰۰ ppm و ۲۰۰۰ ppm) به صورت محلول پاشی انجام گرفت. EC محلول غذایی به ترتیب (۱/۲۲، ۴/۴۳، ۶ و ۸/۳) دسی‌زیمنس بر متر بود. پس از رشد گیاهان و رسیدن آنها به مرحله شش‌برگی تیماردهی شوری اعمال شد و بعد از سپری شدن دو هفته، محلول پاشی نانوذره اکسید روی چهار بار به فاصله هر هفته یکبار انجام شد. لازم به ذکر است همزمان با تیمار نانوذره اکسید روی اعمال شوری ادامه یافت. محلول پاشی برگ‌گی در اول صبح و تا موقعی که محلول مورد

تنش شوری به‌عنوان یک تنش زیست‌محیطی، محدودیت‌های گسترده‌ای برای تولید محصولات کشاورزی ایجاد می‌کند. شوری در غلظت‌های بالا حتی می‌تواند منجر به مرگ گیاه شود. شوری در مرحله اول به علت کاهش پتانسیل اسمزی در محلول خاک با ایجاد تنش و در مرحله بعد به دلیل ایجاد اثرات سمیت بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارد (۳۹). فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان خانواده سیب‌زمینی‌سانان در جهان است و با هدایت الکتریکی بحرانی ۱/۵۵ دسی‌زیمنس بر متر جزء گیاهان حساس به شوری طبقه‌بندی شده است (۷) که حاوی مقادیر زیادی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مواد ضروری از قبیل ویتامین‌ث، کاروتنوئیدها، ترکیبات فنولیک و عناصری مانند پتاسیم است (۱۲). صفاتی که تحمل به شوری را موجب می‌شوند، پیچیده بوده و ترکیبی از صفات مختلف است که می‌توان به تقسیم‌بندی یون‌ها برای تنظیم اسمزی، تجمع عناصر ضروری همچون پتاسیم، سنتز حلال‌های سازگار، محدود کردن ورود یون‌های شوری به جریان تعرق و توانایی جذب گونه‌های فعال اکسیژن واکنشی (ROS) تولید شده توسط سموم سدیم اشاره کرد (۱۵). غلظت بالای سدیم باعث عدم تعادل اسمزی، اختلال در غشای پلاسمایی، کاهش رشد، کاهش تقسیم سلولی و کاهش میزان فتوسنتز می‌شود (۳۳).

توسعه سریع فناوری نانو، باعث تشویق تولید نانو ذرات (NPs) در سراسر جهان شده است. در فناوری نانو با کاهش اندازه ذرات، تعداد ذرات در واحد وزن افزایش می‌یابد که اثربخشی کودها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با کاهش اندازه ذرات همچون نانوذرات، سطح جذب کود افزایش می‌یابد که منجر به افزایش سرعت انحلال کودها با حلالیت کم در آب می‌شود (۳۷). گزارش‌های متعددی در ارتباط با اثرات مثبت و منفی نانوذرات اکسید روی، ارائه شده است که این اثرات مثبت و منفی نانوذرات روی گیاهان به گونه گیاهی، سن و ویژگی‌های نانو ذرات وابسته است. استفاده از عناصر کم‌مصرف

تولید یک کمپلکس رنگی می‌کند، در طول موج ۴۸۵ نانومتر انجام گرفت. از غلظت‌های مختلف گلوکز برای ترسیم نمودار استاندارد استفاده شد. تمامی جذب‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-1800, Shimadzu, Japan) انجام شد. برگ‌ها پس از جدا شدن از بوته مادری، وزن تر آنها اندازه‌گیری شد. سپس در داخل پاکت‌های کاغذی به مدت ۴۸ ساعت در داخل آن با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و وزن خشک برگ‌ها تعیین شد. قطر ساقه با کولیس اندازه‌گیری شد.

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS و MSTAT-C با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که ویژگی‌هایی مانند فعالیت آنزیم کاتالاز، غلظت مالون‌دی‌آلدئید اسید، فنل کل، میزان پرولین، شاخص کلروفیل، میزان کاروتنوئید، کربوهیدرات محلول، وزن خشک برگ، ارتفاع گیاه و قطر ساقه در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر محلول‌پاشی برگی نانوذره اکسید روی و محلول غذایی حاوی شوری و اثرات متقابل این دو عامل قرار گرفت.

### فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثرات تنش شوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار و محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی معنی‌دار نبود. همچنین اثرات متقابل این دو فاکتور در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱). میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با افزایش تنش شوری تا غلظت ۵۰ میلی‌مولار افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در این غلظت (۵۹/۰ میکرومول بر میلی‌گرم) بدون محلول‌پاشی نانو ذره اکسید روی و کمترین میزان فعالیت

نظر روی برگ گیاهان جاری می‌شد، ادامه پیدا کرد. پس از پایان چهار مرحله از محلول‌پاشی، فعالیت آنزیم کاتالاز، غلظت مالون‌دی‌آلدئید، فنل کل، پرولین، شاخص کلروفیل، کاروتنوئید، کربوهیدرات محلول و وزن خشک برگ اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با روش ابی (۱) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم به دلیل مصرف پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی معادل  $mM-1\text{cm}-14/39$  در محاسبه آنزیم در نظر گرفته شد. اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید به عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدها به روش هلس (۲۱) در سه طول موج ۴۴۰، ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با ضریب خاموشی  $Mm-1\text{Cm}-1155$  انجام شد. برای سنجش فنل کل از روش فولین سیو کالتو (۲۴) و در طول موج ۷۶۰ نانومتر استفاده شد. منحنی استاندارد با استفاده از اسید گالیک ترسیم و پرولین با استفاده از روش بتیس (۸) و جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری شاخص کلروفیل برگ‌ها از دستگاه کلروفیل متر دستی (SPAD-502) استفاده شد. در این آزمایش به منظور اندازه‌گیری کاروتنوئید میزان کلروفیل a و کلروفیل b با استفاده از روش آرنون (۵۳) اندازه‌گیری شدند. برای این کار ۵/۰ گرم از بافت برگ در استون ۸۰ درصد ساییده شد. سپس نمونه‌ها در دور  $rpm\ 10000$  به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۶، ۶۶۳ و ۴۷۰ قرائت شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئید با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$$C_a \text{ mg/g F. } W = [12/7(A_{663}) - 2/79(A_{645})]$$

$$C_b \text{ mg/g F. } W = [21/50(A_{645}) - 5/10(A_{663})]$$

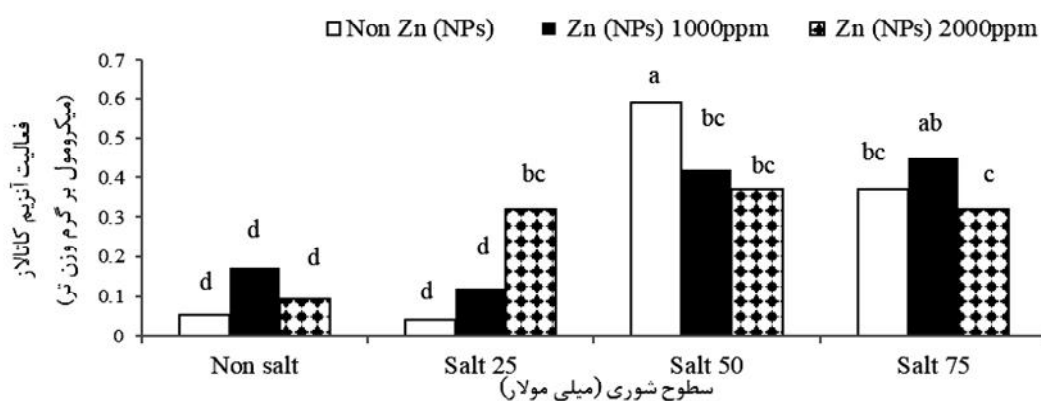
$$C_{x+c} = [1000(A_{470}) - 1/82C_a - 85/02C_b] / 198$$

اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول کل به روش فنل-اسید سولفوریک با استفاده از روش (۱۷) که بر اساس هیدرولیز اسیدی قندهای محلول و ایجاد ترکیب فورفورال بوده و با فنل

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمار شوری و ذرات نانو اکسید روی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، غلظت مالوندی آلدئید، فنل کل، میزان پرولین و شاخص کلروفیل در برگ گیاه فلفل دلمه‌ای

| میانگین مربعات    |         |        |        |                    |            | منابع تغییرات             |
|-------------------|---------|--------|--------|--------------------|------------|---------------------------|
| Chlorophyll index | Proline | Phenol | MDA    | CAT                | درجه آزادی |                           |
| ۱۴/۱۴             | ۶/۲۰    | ۰/۲۸   | ۰/۱۳   | ۰/۰۰               | ۳          | تکرار                     |
| ۳۸۰۱**            | ۱۰۱**   | ۲/۰۷** | ۰/۴۰*  | ۰/۳۷**             | ۳          | شوری                      |
| ۵۶۸**             | ۱۱۵**   | ۳/۳۷** | ۰/۸۶** | ۰/۰۰ <sup>ns</sup> | ۲          | نانوذرات اکسید روی        |
| ۱۶۵*              | ۶۶**    | ۳/۳۳** | ۰/۳۱*  | ۰/۰۵**             | ۶          | شوری × نانوذرات اکسید روی |
| ۳۵/۲              | ۱۳/۲    | ۰/۱۱   | ۰/۱۲   | ۰/۰۹               | ۳۱         | خطا                       |
| ۳۳                | ۱۵/۱۴   | ۲۵/۶   | ۲۴     | ۳۲                 |            | ضریب تغییرات (%)          |

<sup>ns</sup> عدم اختلاف معنی دار، \*\* و \* بیانگر اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک و پنج درصد



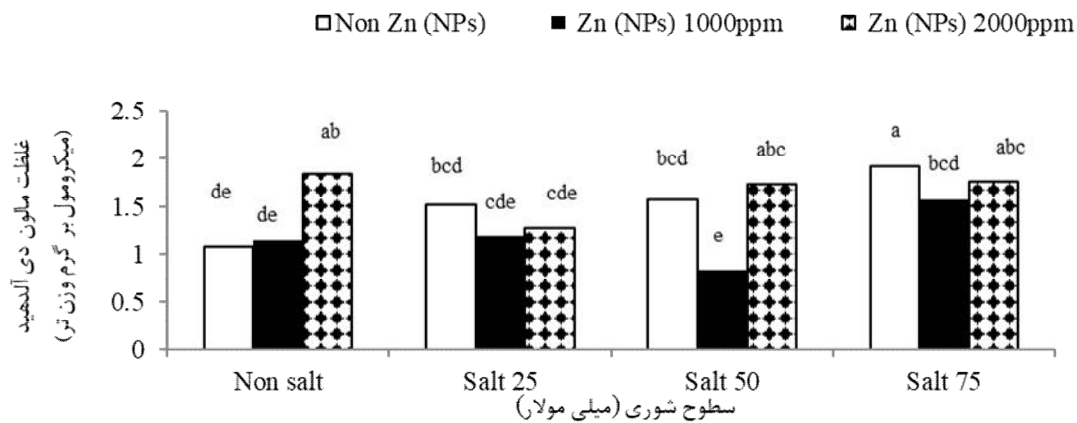
شکل ۱. اثر متقابل سطوح شوری با محلول پاشی نانوذره اکسید روی در برگ گیاه فلفل دلمه‌ای بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

سلولی ناشی از تنش‌های مختلف از جمله شوری را کاهش می‌دهد (۳۵). بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم طی تنش منجر به کاهش خسارت‌های اکسیداتیو ناشی از تنش ایجاد شده می‌شود.

#### غلظت مالوندی آلدئید اسید

در این آزمایش، محلول پاشی نانو ذره در سطح احتمال یک درصد و تنش شوری در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود. به طوری که اثرات متقابل محلول پاشی نانوذره اکسید روی در تنش شوری در سطح احتمال یک درصد معنی دار بودند (جدول ۱). میزان مالوندی آلدئید اسید (MDA) در برگ گیاهان

این آنزیم در گیاه ۲۵ میلی مولار شوری مشاهده شد. در سطح شوری ۵۰ و ۷۵ میلی مولار با کاربرد نانوذره اکسید روی به غلظت ۲۰۰۰ ppm میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به غلظت ۱۰۰۰ ppm کاهش نشان می‌دهد. نانوذره اکسید روی در تمامی غلظت‌های شوری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش داده است که می‌تواند بیانگر کاهش اثرات مخرب شوری باشد. افزایش فعالیت آنزیم CAT (شکل ۱) در فلفل دلمه‌ای برای جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها است. کاتالاز سلول‌ها را از اثرات پراکسید هیدروژن محافظت می‌کند. آنزیم کاتالاز رادیکال‌های آنیون سوپراکسید و H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> را به آب و مولکول اکسیژن تبدیل کرده و خسارت‌های



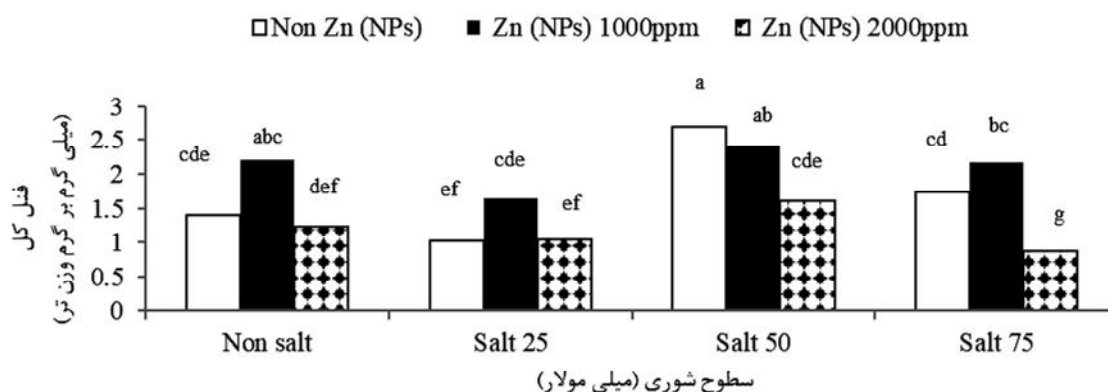
شکل ۲. اثر متقابل سطوح شوری با محلول پاشی نانوذره اکسید روی در برگ گیاه فلفل دلمه‌ای بر میزان غلظت مالون‌دی‌آلدئید اسید. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

موجب افزایش قابل توجهی در مقدار MDA شده بود (۴۵). آسیب به غشای پلاسمایی ناشی از ROSها بوده که می‌تواند باعث پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه نشت الکترولیتی شود (۲۳). نانو ذرات می‌توانند به‌طور مستقیم با پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، DNA و دیگر ماکرومولکول‌ها در سلول ارتباط برقرار کنند. گیاهانی که در معرض سطوح بالای نانو ذرات قرار گرفته‌اند منجر به تولید بیش از حد ROSها، اختلال در عملکرد میتوکندری، اختلال در هومئوستازی، پراکسیداسیون لیپید و آسیب در غشا را موجب شوند (۴۶).

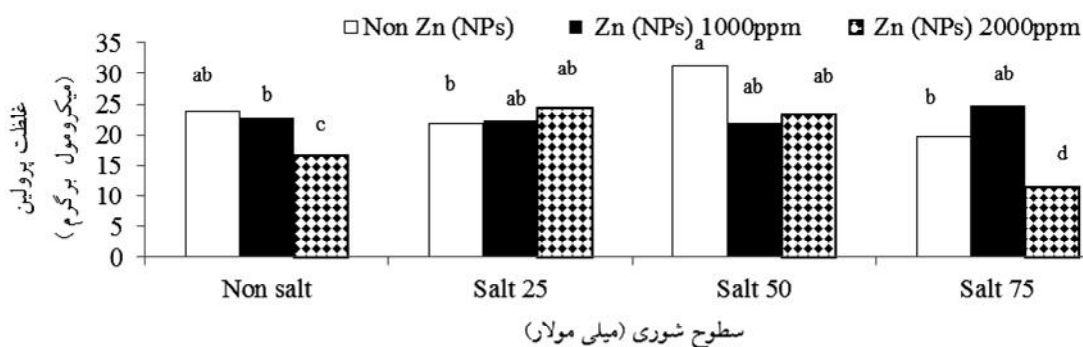
### فنل کل

نتایج نشان داد که اثرات تنش شوری و محلول پاشی نانوذره اکسید روی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. همچنین اثرات متقابل سطوح مختلف شوری با کاربرد نانوذره اکسید روی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین میزان فنل کل (۲/۶۹ میلی‌گرم بر گرم) مربوط به غلظت شوری ۵۰ میلی‌مولار بدون محلول پاشی مشاهده شد، همچنین در غلظت‌های شوری ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار همراه با محلول پاشی نانوذره اکسید روی ۱۰۰۰ ppm مقدار فنل به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش می‌یابد. کمترین میزان فنل کل (۰/۸۸ میلی‌گرم بر گرم) برای غلظت‌های شوری

تحت تنش شوری تجمع پیدا کرد. با افزایش شوری و غلظت نانوذره اکسید روی میزان غلظت MDA افزایش می‌یابد. بیشترین میزان تجمع MDA در شوری ۷۵ میلی‌مولار بدون محلول پاشی نانوذره اکسید روی و کمترین غلظت مربوط به شوری ۵۰ میلی‌مولار با محلول پاشی ۱۰۰۰ ppm نانوذره اکسید روی بود (شکل ۲). در تمامی سطوح شوری همراه با محلول پاشی نانوذره اکسید روی به غلظت ۲۰۰۰ ppm نسبت به غلظت ۱۰۰۰ ppm، میزان غلظت مالون‌دی‌آلدئید اسید افزایش یافت این مسئله می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که نانوذره اکسید روی در غلظت‌های بالا نه تنها باعث کاهش اثرات مخرب شوری نشده بلکه آن را افزایش داده است. غشای سلولی نخستین اندامی است که تحت تأثیر تنش شوری قرار می‌گیرد. یکپارچگی غشای سلولی با توجه به پراکسیداسیون لیپید در سیستم غشای و در نتیجه افزایش نفوذپذیری غشای دچار اختلال می‌شود (۲۵). تنش شوری باعث می‌شود که در اثر پراکسیداسیون غشا، اسیدهای چرب اشباع نشده و رادیکال‌های آزاد تولید شوند (۱۸). یک نشانه آشکار از آسیب تنش اکسیداتیو تخریب غشای سلولی بوده است که در نتیجه آن MDA تولید خواهد شد (۱۶). در آزمایش‌های مختلفی که روی گوجه‌فرنگی گونه *Lycopersicon pennellii* انجام شد، تیمار تنش شوری در سطوح مختلف در برگ، ریشه و میوه



شکل ۳. اثر متقابل سطوح شوری با محلول پاشی نانوذره اکسید روی در برگ گیاه فلفل دلمه‌ای بر میزان فنل کل. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.



شکل ۴. اثر متقابل سطوح شوری با محلول پاشی نانوذره اکسید روی در برگ گیاه فلفل دلمه‌ای بر غلظت پروکلین. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

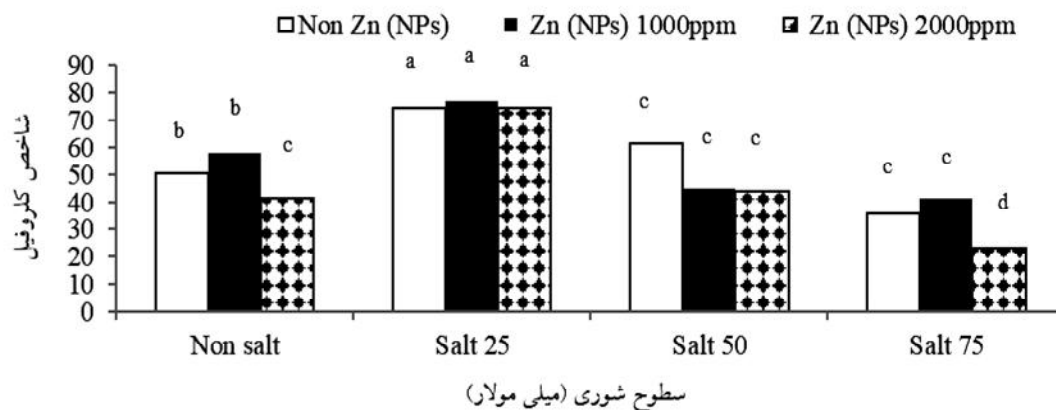
م تفاوت است (۱۱).

### پروکلین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد روند تغییرات میزان پروکلین در پاسخ به افزایش شوری، محلول پاشی نانوذره اکسید روی و اثرات متقابل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها در مورد اثرات شوری در این صفت نشان داد (شکل ۴) که بیشترین میزان پروکلین (۳۱/۲۶ میکرومول بر گرم) در شوری ۵۰ میلی‌مولار بدون محلول پاشی نانوذره و کمترین مقدار پروکلین (۱۱/۵ میکرومول بر گرم) در شوری ۷۵ میلی‌مولار با محلول پاشی نانوذره

۷۵ میلی‌مولار با محلول پاشی نانوذره اکسید روی ۲۰۰۰ ppm به‌دست آمد (شکل ۳). بر اساس گزارش کیم و همکاران (۲۶) در گیاه کاهو و لوبز و همکاران (۳۱) روی گیاه کلم تیمار بلندمدت شوری باعث کاهش انباشت فنل کل و تیمار کوتاه‌مدت باعث افزایش انباشت فنل کل می‌شود. افزایش غلظت فنل‌ها در مهار پراکسیداسیون لیپیدها و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد مؤثر است (۴۰). در کنار افزایش فنل‌ها، فعال شدن سایر مؤلفه‌های سیستم آنتی‌اکسیدانتی همچون متابولیت‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و نیز سازگاری در هومئوستازی یون‌های مهم سدیم و پتاسیم در شاخساره برای افزایش مقاومت در برابر شوری نیاز و این توانایی از یک رقم به رقم دیگر





شکل ۵. اثر متقابل سطوح شوری با محلول پاشی نانوذره اکسید روی در برگ گیاه فلفل دلمه‌ای بر میزان شاخص کلروفیل. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

### شاخص کلروفیل

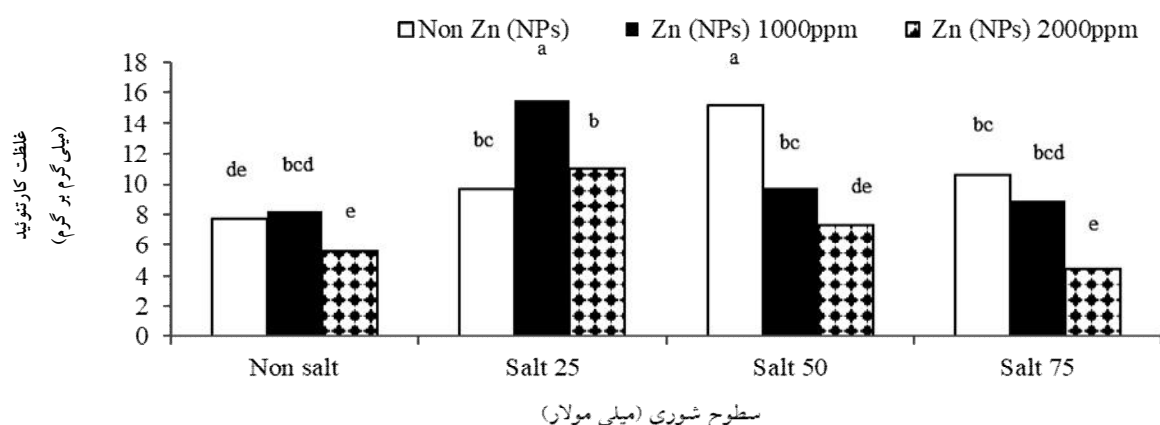
نتایج حاصل نشان داد که شاخص کلروفیل تحت تأثیر شوری و محلول پاشی نانوذره اکسید روی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. همچنین اثرات متقابل در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱). بیشترین میانگین شاخص کلروفیل در تیمار شوری سطح یک با محلول پاشی نانوذره اکسید روی با غلظت ۱۰۰۰ ppm به دست آمد که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد. یافته‌های پاترا و همکاران (۴۱) و پرسد و همکاران (۴۳) با مطالعه روی گیاه ماش نشان داد که نانوذره اکسید روی می‌تواند به‌طور معنی‌داری اثر تعدیل‌کننده‌ای در صدمات ناشی از شوری بر میزان شاخص کلروفیل داشته باشد، در شوری ۲۵ میلی‌مولار با محلول پاشی نانوذره اکسید روی با غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm اثر مخرب شوری مشاهده نشد بلکه افزایش در مقدار کلروفیل مشاهده شد. با افزایش میزان تنش شوری مقدار کلروفیل به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد که کمترین مقدار شاخص کلروفیل در سطوح ۷۵ میلی‌مولار شوری مشاهده شد (شکل ۵) کاهش میزان شاخص کلروفیل با افزایش تنش شوری به شکل‌گیری ROS و به‌دنبال آن پراکسیداسیون لیپیدها ارتباط داده شده است که این عوامل در غیرفعال شدن غشای فتوسنتزی نیز نقش دارند (۲). کاهش کلروفیل در گیاهان تحت تنش شوری به‌علت آسیب به

اکسید روی ۲۰۰۰ ppm به‌دست آمد. با افزایش تنش شوری میزان پرولین حاصل از تنش اکسیداتیو تا غلظت ۵۰ میلی‌مولار افزایش یافت. با محلول پاشی نانوذره اکسید روی در غلظت ۱۰۰۰ ppm سبب افزایش محتوای پرولین در تنش شوری ۷۵ میلی‌مولار شد. نتایج این آزمون با یافته‌های لی و همکاران (۲۹) روی گیاه گوجه‌فرنگی و گندم مطابقت داشت. پرولین به‌طور گسترده در پاسخ به تنش‌های محیطی در گیاهان آلی در مقادیر زیاد تجمع می‌یابد. افزایش پرولین بهترین روش برای تحمل تنش برای جلوگیری از آسیب غشا و پروتئین است (۲۲). مطالعات کوک و همکاران (۲۷) نشان دادند که تنش موجب افزایش انحلال پرولین و پروتئین کل می‌شود درحالی‌که محتوای کلروفیل کاهش می‌یابد. تجمع پرولین همراه با افزایش شوری در گیاه رازیانه افزایش یافت. تجمع پرولین در واکنش به انواع مختلف تنش زیست‌محیطی همچون شوری، با حفظ تعادل قدرت اسمزی سیتوزول از واکنش و محیط خارجی سلول محافظت می‌کند (۴۴). تجمع پرولین در تنش شوری بالا نه تنها به دلیل نقش حفاظت اسمزی و ممانعت از کمبود آب همچنین به عنوان جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و با تثبیت پروتئین می‌تواند یک واکنش محافظتی داشته باشد (۹). علاوه‌بر این، تجمع پرولین به عنوان یک ترکیب ذخیره‌کننده نیتروژن و حفاظت از ساختار سلولی نیز گزارش شده است (۴۴).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمار شوری و ذرات نانو اکسید روی بر میزان کاروتنوئید، کربوهیدرات کل، وزن خشک، ارتفاع و قطر ساقه در برگ گیاه فلفل دلمه‌ای

| میانگین مربعات     |                     |                 |                |             |            |                           |
|--------------------|---------------------|-----------------|----------------|-------------|------------|---------------------------|
| Stem diameter      | Plant height        | Leaf dry weight | Soluble sugars | Carotenoids | درجه آزادی | منابع تغییرات             |
| ۰/۷۶               | ۱۱/۴۵               | ۰/۰۵            | ۳۸/۸۰          | ۰/۶۴        | ۳          | تکرار                     |
| ۹/۴۱**             | ۱۰۰**               | ۰/۳۵*           | ۳۶۹**          | ۵۴/۴**      | ۳          | شوری                      |
| ۲/۸۱**             | ۳۱/۸۵*              | ۰/۶۳*           | ۱۸۶**          | ۶۰/۶**      | ۲          | نانوذرات اکسید روی        |
| ۱/۱۰ <sup>ns</sup> | ۱۰/۴۵ <sup>ns</sup> | ۰/۴۱*           | ۳۴۵**          | ۲۳/۹**      | ۶          | شوری × نانوذرات اکسید روی |
| ۰/۸۸               | ۶/۷۴                | ۰/۱۴            | ۱۷/۴           | ۵/۰۲        | ۳۱         | خطا                       |
| ۱۱                 | ۱۰                  | ۳۱              | ۳۱             | ۳۱          |            | ضریب تغییرات (%)          |

ns عدم اختلاف معنی‌دار، \*\* و \* بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد



شکل ۶. اثر متقابل سطوح شوری با محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی در برگ گیاه فلفل دلمه‌ای بر غلظت کاروتنوئید. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

شوری و محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. برهم‌کنش بین شوری و محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی اثر معنی‌داری در میزان کاروتنوئید برگ گیاه در سطح احتمال یک درصد داشت. بیشترین میزان کاروتنوئید (۱۵/۵۶ میلی‌گرم بر گرم) در شوری ۲۵ میلی‌مولار با محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی با غلظت ۱۰۰۰ ppm به‌دست آمد. کمترین میزان کاروتنوئید (۴/۴۹ میلی‌گرم بر گرم) متعلق به سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار با محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی ۲۰۰۰ ppm بود. با توجه به نمودار (شکل ۶) تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های شوری ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار با محلول‌پاشی نانوذره در غلظت ۲۰۰۰ ppm بر میزان کاروتنوئید

رنگدانه‌ها، آسیب به سیستم غشای کلروپلاستی و نفوذ پذیری غشا در اثر پراکسیداسیون لیپیدها همچنین اثر روی مراکز واکنش‌های فتوسنتزی، شکل‌گیری ROS است و برای جلوگیری از آسیب سلولی نیاز به تنظیم مسیرهای بیوسنتتیک و هیدرولیز توسط آنزیم‌هایی مانند کلروفیلاز است (۱۹). کاهش در سطوح کلروفیل در گیاهان تحت تنش همچنین می‌تواند به افزایش فعالیت آنزیم تخریب‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز) مربوط باشد (۱۰).

#### کاروتنوئید

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۲) که تغییرات میزان کاروتنوئید در گیاه فلفل دلمه‌ای تحت تأثیر



می‌شوند (۴۷). انباشت قندهای محلول کمک به تنظیم تنش اسمزی در سلول‌های گیاهی کرده و منجر به حفاظت از مولکول‌های بیولوژیکی و غشایی می‌شود. گیاه با افزایش قند محلول علاوه بر حفظ پتانسیم اسمزی در شرایط تنش، قادر است ذخیره متابولیسم کربوهیدرات سلول را در سطح مطلوب نگه دارد (۲۰). علاوه بر گزارش‌های بسیاری در مورد افزایش قندهای محلول در اثر تنش اسمزی، گزارش‌هایی نیز مبنی بر کاهش غلظت قندهای محلول در اثر تنش شوری در گیاهان مختلف وجود دارد (۲۸). کاهش قند می‌تواند به علت کاهش فتوسنتز باشد، زیرا کاهش آب موجب کاهش آماس شده و از دست دادن فشار آماس به بسته شدن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش فتوسنتز منجر می‌شود (۱۴).

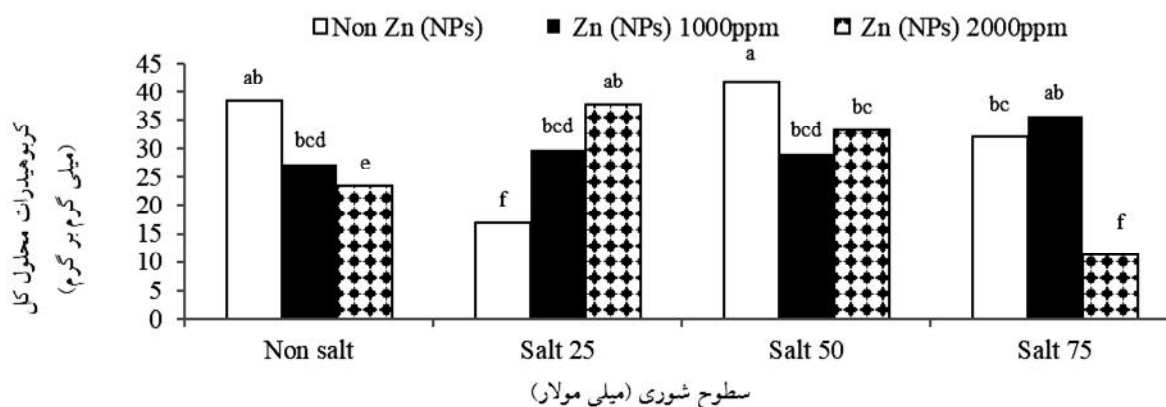
#### وزن خشک برگ

نتایج به دست آمده نشان داد که تنش شوری و محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی و اثرات متقابل بر وزن خشک برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش شدت تنش شوری وزن خشک برگ در بوته نسبت به شاهد کاهش یافت. بیشترین میزان وزن خشک برگ (۲/۰۱ گرم) در تیمار شوری ۲۵ میلی‌مولار بدون محلول‌پاشی مشاهده شد. با افزایش تنش شوری تا حدود ۷۵ میلی‌مولار وزن خشک برگ به (۰/۹۹ گرم) رسید. در تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار با محلول‌پاشی ۱۰۰۰ ppm وزن خشک برگ نسبت به تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار با محلول‌پاشی ۲۰۰۰ ppm افزایش نشان داد. کمترین میزان وزن خشک برگ در محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی در غلظت ۲۰۰۰ ppm بود (شکل ۸). نتایج مطالعات نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری وزن خشک به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (۶). در تنش شوری ابتدا تنش اسمزی به وجود می‌آید که سبب کاهش پتاسیل آب در محیط ریشه و کاهش توانایی گیاه در جذب آب می‌شود و این عامل اصلی کاهش رشد است که کاهش رشدونمو برگ را در پی دارد که در نهایت به کاهش وزن خشک منجر می‌شود (۴).

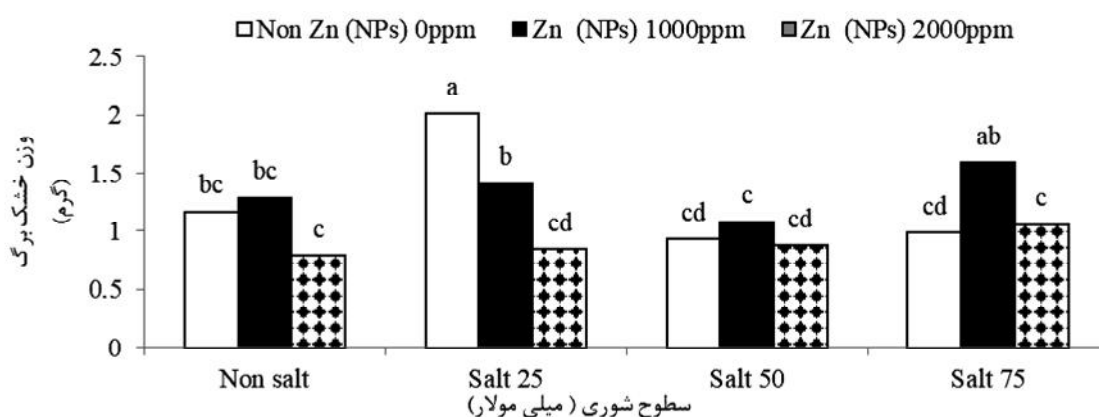
مشاهده نشد ولی در سطوح شوری صفر تا ۷۵ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری بر میزان کاروتنوئید وجود داشت. شوری به تغییرات کمی و کیفی در ترکیب رنگدانه‌ای برگ گیاهان منجر می‌شود که این عمل بستگی به گیاه مورد مطالعه و میزان شوری دارد. تخریب ساختار ظریف کلروپلاست و ناپایداری کمپلکس‌های رنگدانه- پروتئین، تجزیه کلروفیل‌ها و تغییر در محتوی و ترکیب کاروتنوئیدها نیز از نتایج شوری است (۱۰). کاروتنوئیدها شامل کاروتن و گزانتوفیل‌ها با وزن مولکولی کم در کلروپلاست هستند که غشاهای کلروپلاستی را در مقابل تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند. کاروتنوئیدها علاوه بر نقش ساختمانی و جذب نور می‌توانند به صورت مستقیم اکسیژن یکتایی را غیرفعال کنند و یا از طریق فرونشاندن کلروفیل برانگیخته شده، به صورت غیر مستقیم از تشکیل اکسیژن یکتایی جلوگیری کنند (۳۶ و ۳۸). غلظت‌های پایین نانوذره اکسید روی، تأثیر مثبت بر محتویات کلروفیل و کاروتنوئید داشت. با توجه به این واقعیت که روی در غلظت‌های پایین عمل می‌کند و به عنوان یک عنصر ضروری برای چند فرایند بیوشیمیایی، از جمله سیتوکروم و سنتز نوکلئوتید، متابولیسم اکسین، تشکیل کلروفیل، فعال شدن آنزیم و یکپارچگی غشا نقش دارد (۳۴).

#### میزان کربوهیدرات محلول

نتایج تجزیه واریانس نشان داد میزان قند محلول برگ، تحت تیمار شوری، محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی و اثرات متقابل سطوح مختلف شوری و محلول‌پاشی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان قند محلول (۴۱/۷ میلی‌گرم بر گرم) مربوط به شوری ۵۰ میلی‌مولار بود که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۷). با افزایش غلظت محلول‌پاشی، میزان قند محلول نسبت به شاهد کاهش می‌یابد. کمترین میزان قند محلول (۱۱/۳ میلی‌گرم بر گرم) مربوط به اثرات متقابل شوری ۷۵ میلی‌مولار در ۲۰۰۰ ppm نانوذره اکسید روی بود. تحقیقات نشان می‌دهد که شوری، آلودگی، سرما و فلزات سنگین باعث افزایش قند محلول



شکل ۷. اثر متقابل سطوح شوری با محلول پاشی نانوذره اکسید روی بر غلظت کربوهیدرات محلول کل در برگ گیاه فلفل دلمه‌ای. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.



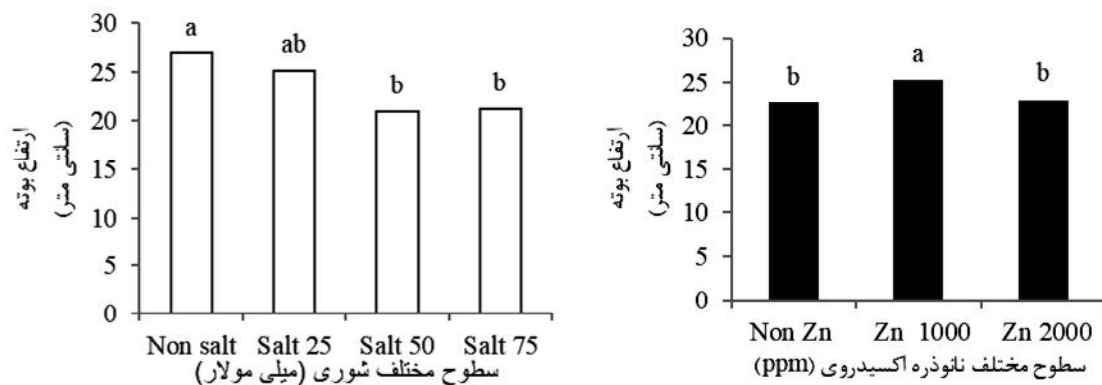
شکل ۸. اثر متقابل سطوح شوری با محلول پاشی نانوذره اکسید روی بر وزن خشک برگ در گیاه فلفل دلمه‌ای. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

به‌طور معنی‌داری ارتفاع گیاه را کاهش داد (جدول ۲). با افزایش شوری (۷۵ میلی‌مولار)، ارتفاع گیاه نسبت به شاهد، ۲۱/۷۸ درصد کاهش داشت. همچنین با کاربرد نانوذره اکسید روی ارتفاع گیاه نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۹). تحقیقات ورما و نئو (۴۸) نشان داد ارتفاع گیاه برنج در  $EC = ۸/۷$  به‌میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. همچنین در آزمایش ورما و نئو استفاده از روی تأثیر معنی‌داری در ارتفاع گیاه نداشت که با نتایج به‌دست آمده از این آزمون مطابقت دارد. تنش شوری در ابتدا توسط سیستم ریشه درک شده و به‌علت عدم تعادل مواد مغذی در سیتوزول، باعث کاهش رشد

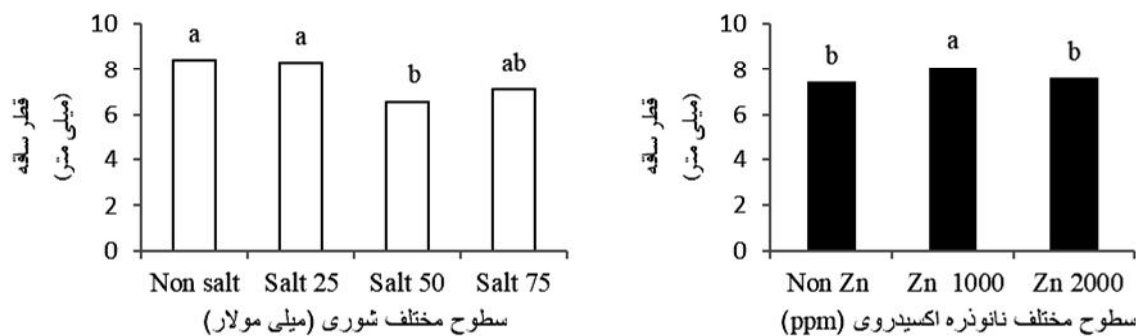
تیمار گیاه (*Vigna radiata*) در غلظت‌های بیش از ۲۰۰ ppm نانو اکسید روی، رشد ریشه این گیاه را کاهش داده است (۳۱)، همچنین به‌کار بردن غلظت‌های بالای نانوذرات اکسید روی در گندم، توقف رشد و کاهش بیوماس را به‌همراه داشت (۳۰).

#### ارتفاع بوته و قطر ساقه

با توجه به نتایج به‌دست آمده از آزمایش، ارتفاع گیاه تحت تأثیر شوری و نانوذره اکسید روی در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد معنی‌دار بود. اثرات متقابل شوری و نانوذره تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه نداشت. تنش شوری در  $EC = ۸/۳$



شکل ۹. تأثیر اثرات اصلی نانوذره اکسید روی و سطوح مختلف شوری بر ارتفاع گیاه. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد است.



شکل ۱۰. تأثیر اثرات اصلی نانوذره اکسید روی و سطوح مختلف شوری بر قطر ساقه. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

جذب آب از محیط بستگی به خصوصیات اکولوژیکی و عملکردی گیاه دارد و برای حفاظت بهتر گیاه در برابر تنش شوری است.

### نتیجه گیری

مجموع اثرات مشاهده شده از محلول پاشی نانوذره اکسید روی روی گیاه فلفل دلمه‌ای، باعث تداوم رشد در شرایط شوری شد. فلفل دلمه‌ای از گیاهان حساس به شوری است که در این آزمایش این گیاه پس از طی مراحل حساس رشدی، با ثابت نگه داشتن مقادیر رنگدانه‌ها و احتمالاً حفظ توازن فتوسنتزی با اضافه کردن تیمارهای نانوذره اکسید روی در غلظت‌های متفاوت

گیاه می‌شود (۳۴). تأثیر روی در سطح احتمال پنج درصد و تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر قطر ساقه معنی دار بود. اثرات متقابل در این آزمایش تأثیر معنی داری بر قطر ساقه نداشت. با افزایش تنش شوری به ۵۰ میلی‌مولار قطر ساقه نسبت به شاهد ۲۱/۶۶ درصد کاهش یافت. افزایش اندکی در شوری ۷۵ میلی‌مولار دیده شد که نسبت به شوری ۵۰ میلی‌مولار اختلاف معنی داری را نشان نداد. همچنین با افزایش نانوذره اکسید روی به ۱۰۰۰ ppm، قطر ساقه نسبت به شاهد ۹ درصد افزایش داشت (شکل ۱۰). کاهش قطر ساقه در اثر تنش شوری قبلاً گزارش شده است (۴۲). چاوش اوغلو و همکاران (۱۳) به این نتیجه رسیدند که اثر اسمزی و دشواری

کل و پرولین شد. با عنایت به نتایج این پژوهش و سایر پژوهش‌ها در آینده می‌توان به استفاده از نانو ذرات در بخش کشاورزی برای مقابله با تنش‌های محیطی و غیر محیطی، به‌منظور تولید محصولات کشاورزی در خاک‌های شور، امیدوار باشیم.

### سپاسگزاری

از همکاران محترم آزمایشگاه مرکزی دانشگاه مراغه به‌خاطر همکاری صمیمانه در امر انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

سازگاری خوبی را برای مقابله با تنش شوری اعمال شده پیدا کرد. همچنین افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانسی، ترکیبات ROS را حذف کرده و خسارت‌های ناشی از تنش شوری را بهبود می‌بخشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گزارش کرد با محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی در غلظت ۱۰۰۰ ppm، افزایش محتوای پرولین، افزایش فعالیت آنزیمی و کاهش اثرات مضر شوری مشاهده شد. همچنین در شوری ۷۵ میلی‌مولار همراه با محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی با غلظت ۲۰۰۰ ppm باعث کاهش در میزان کلروفیل، کاروتنوئید، کربوهیدرات محلول

### منابع مورد استفاده

1. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
2. Aghleh M., V. Nikman, H. Ebrahimzadeh and K. Razavi. 2009. Salt stress effects on growth, pigments, proteins and lipid peroxidation in *Salicornia persica* and *S. Eurotopaea*. *Biologia Plantarum* 53(2): 243-248.
3. Alpaslan, M., I. N. A. L. Ali, A. Gunes, Y. Çikili and H. Özcan. 1999. Effect of zinc treatment on the alleviation of sodium and chloride injury in tomato (*Lycopersicon esculentum* (L.) Mill. cv. Lale) grown under salinity. *Turkish Journal of Agriculture* 23: 1-6.
4. Amirjani M. R. 2011. Effect of salinity stress on growth, sugar content, pigment and enzyme activity of rice. *International Journal of Botany* 7(1): 73-81.
5. Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast, polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*. *Journal of Plant Physiology* 24: 1- 15.
6. Avarseji, Z., M. Kafi, M. Sabet Teimouri and K. Orooji. 2013. Investigation of salinity stress and potassium levels on morphophysiological characteristics of saffron. *Journal of Plant Nutrition* 36: 299-310.
7. Azuma R., N. Ito, N. Nakayama, R. Suwa, N. T. Nguyen, J. A. L. Mayoral, M. Esaka, H. Fujiyama and H. Sane. 2010. Fruits are more sensitive to salinity than leaves and stems in pepper plants (*Capsicum annum* L.). *Scientia Horticulturae* 125: 171-178.
8. Bates, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205- 208.
9. Ben Ahmed, C., B. Ben Rouina, S. Sensoy, M. Boukhriss, F. Ben Abdullah. 2010. Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree. *Journal of Agriculture Food Chemistry and the Consumer* 58: 416-422.
10. Bertrand, M. and B. Schoefs. 1999. Photosynthetic pigment metabolism in plants during stress. PP. 527-543. In: Pessaraki, M. (Ed.). Handbook of Plant and Crop Stress Marcel Dekker, New York.
11. Blasco B., J. J. Rios, R. Leyva, R. Melgarejo, C. Constan-Aguilar, E. Sánchez - Rodríguez, M. M. Rubio-Wilhelmi, L. Romero and J. M. Ruiz. 2011. Photosynthesis and metabolism of sugars from lettuce plants (*Lactuca sativa* L. var. longifolia) subjected to biofortification with iodine. *Plant Growth Regulation* 65: 137-143.
12. Bosland, P. W. and E. J. Votova. 2000. Pepper: Vegetable and Spice Capsicums. CABI Publishing, Wallingford, UK.
13. Çavuşoğlu, K. S. Kılıç and K. Kabar. 2008. Effects of some plant growth regulators on stem anatomy of radish seedlings grown under saline (NaCl) conditions. *Plant, Soil and Environment* 10: 428-433.
14. Chinnusamy, V., A. Jagendorf and J. K. Zhu. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science* 45: 437-448.
15. Colmer, T. D. and T. J. Flowers. 2008. Flooding tolerance in halophytes. *New Phytologist* 179: 964- 974
16. Del Rio, D., A. J. Stewart and N. Pellegrini. 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Disease* 15: 316-328.
17. DuBois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.

18. Elkahoui, S., J. A. Hernandez, C. Abdelly, R. Ghrir and F. Limam. 2005. Effects of salt on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Catharanthus roseus* suspension cells. *Plant Science* 168 (3): 607–613.
19. Ghosh, N., M. K. Adak, P. D. Ghosh, S. Gupta, D. N. Sen Gupta and C. Mandal. 2011. Differential responses of two rice varieties to salt stress. *Plant Biotechnology Reports* 5: 89–103.
20. Gibson, S. 2005. Control of plant development and gene expression by sugar signaling. *Journal of Plant Biology* 8(1): 93–102.
21. Heath, R. L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
22. Hsu, S. Y., Y. T. Hsu and C. H. Kao. 2003. The effect of polyethylene glycol on proline accumulation in rice leaves. *Journal of Plant Biology* 46: 73-78.
23. Kassab, O. M., S. A. Orabi and A. A. Abo Ellil. 2012. Physiological response to potassium application in fodder beet plant grown under water stress. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 6(13): 566-574.
24. Kaur, C. and H. C. Kapoor. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Journal of Food Science Technology* 37: 153-161.
25. Kavi Kishore, P. B., S. Sangam, R. N. Amrutha, P. S. Laxmi, K. R. Naidu, K. R. S. S. Rao, S. Rao, K. J. Reddy, P. Theriappan and N. Sreenivasulu. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science* 88: 424-438.
26. Kim, S., J. Kim and I. Lee. 2011. Effects of Zn and ZnO nanoparticles and Zn<sup>2+</sup> on soil enzyme activity and bioaccumulation of Zn in *Cucumis sativus*. *Journal of Chemical Ecology* 27: 49–55.
27. Koc, E., C. Islek and A. S. Ustun. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annum* L.) varieties. *G.U. Journal of Science* 23(1): 1-6.
28. Lechtenberg, M., D. Schepmann, M. Niehues, N. Hellenbrand, B. Wunsch and A. Hensel. 2008. Quality and functionality of saffron: quality control, species assortment and affinity of extract and isolated saffron compounds to NMDA and  $\sigma_1$  (sigma<sup>-1</sup>) receptors. *Planta Medicinal* 74: 764-772.
29. Li, X., Y. Yang, L. Jia, H. Chen and X. Wei. 2013. Zinc -induced oxidative damage, antioxidant enzyme response and proline metabolism in roots and leaves of wheat plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 89: 150-7.
30. Lin, D. and B. Xing. 2008. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environmental Science Technology* 42(15): 5580–5585.
31. López-Berenguer, C., M. C. Martínez-Ballesta, D. A. Moreno, M. Carvajal and C. García-Viguera. 2009. Growing hardier crops for better health: salinity tolerance and the nutritional value of broccoli. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 572–578.
32. Mahajan, P., S. K. Dhoke, A. S. Khanna. 2011. Effect of Nano-ZnO Particle Suspension on Growth of Mung (*Vigna radiata*) and Gram (*Cicer arietinum*) Seedlings Using Plant Agar Method. *Journal of Nanotechnology* 2-7
33. Mahajan, S. and N. Tuteja. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444: 139–158.
34. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants, 2<sup>nd</sup> Ed.; Academic Press: London, UK.
35. Meloni, D. A., M. A. Oliva, C. A. Martinez and J. Cambraia. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 15(2): 12-21.
36. Misra, A. N., D. Latowski and K. Strzalka. 2006. The xanthophyll cycle activity in kidney Bean and Cabbage leaves under salinity stress. *Russian Journal of Plant Physiology* 53: 102-109.
37. Mortvedt, J. J. 1992. Crop response to level of water soluble zinc in granular zinc fertilizers. *Fertilizer Research* 33: 249–255.
38. Munne-Bosch, S. and J. Penuelas. 2003. Photo- and antioxidant protection during summer leaf senescence in *Pistacia lentiscus* L. grown under Mediterranean field conditions. *Annals of Botany* 92: 385-391.
39. Netondo, G. W., J. C. Onango and E. Beck. 2004. Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. *Crop Science* 44: 806–811.
40. Oh, M. M., H. N. Trick and C. B. Rajashekar. 2009. Secondary metabolism and antioxidants are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. *Journal of Plant Physiology* 166: 180 –191.
41. Patra, P., S. R. Choudhury, S. Mandal, A. Basu, A. Goswami, R. Gogoi, C. Srivastava, R. Kumar and M. Gopal. 2013. Effect Sulfur and ZnO Nanoparticles on Stress Physiology and Plant (*Vigna radiata*) Nutrition. PP. 301-309. In: Giri, P., D. Goswami and A. Perumal (Eds). *Advanced Nanomaterials and Nanotechnology*. Springer Proceedings in Physics, vol 143. Springer, Berlin, Heidelberg.
42. Pimpongkol, A., S. Terapongtanakhon and K. Udonsiricha-khon. 2002. Anatomy of salt-and non-salt-tolerant rice treated with NaCl. In: *Proceeding of the 28<sup>th</sup> Congress Science and Technology of Thailand*, Bangkok, Thailand.
43. Prasad, T. N. V. K. V., P. Sudhakar, Y. Sreenivasulu, P. Latha, V. Munaswamy, K. R. Reddy, T. S. Sreepasad, P. R. Sajanlal and T. Pradeep. 2012. Effect of Nano scale Zinc Oxide Particles on the germination, growth and yield of

- Peanut. *Journal of Plant Nutrition* 35: 905–927.
44. Rahimi R., A. Mohammakhani, V. Roohi and N. Armand. 2012. Effects of salt stress and silicon nutrition on chlorophyll content, yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 4: 1591-1595.
45. Rosales, M. A., J. M. Ruiz, J. Hernández, T. Soriano, N. Castilla and L. Romero. 2006. Antioxidant content and ascorbate metabolism in cherry tomato exocarp in relation to temperature and solar radiation. *Journal of Science of Food and Agriculture* 86: 1545-1551.
46. Thwala, M., S. J. Klaine and N. Musee. 2016. Interactions of metalbased engineered nanoparticles with aquatic higher plants: A review of the state of current knowledge. *Environmental Toxicology Chemistry* 35: 1677–1694.
47. Van, A. F and H. Clijsters. 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Journal of Plant, Cell and Environment* 13: 195-206.
48. Verma, T. S. and H. U. Neue. 1984. Effect of soil salinity level and zinc application on growth, yield, and nutrient composition of rice. *Plant and Soil* 82: 3-14.
49. Zhao, L., J. A. Peraltavidea, M. Ren, A. Varelao Ramirez, C. Li, J. A. Hernandez-Viezcas, R. J. Aguilera and J. L. G. Torresdey. 2012. Transport of Zn in a sandy loam soil treated with ZnO NPs and uptake by corn plants: Electron microprobe and confocal microscopy studies. *Journal of Chemical Engineering* 184: 1–8.