


Research Article

Plant Prod., 2021, 44(1), 103-114
<http://plantproduction.scu.ac.ir/>


ISSN (P): 2588-543X
ISSN (E): 2588-5979

The Effect of Synthesis Nanosilver by Plant Extract on Morphological and Antioxidant Properties of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) under Salinity Stress

Hanieh Shahraki¹, Nafiseh Mahdi Nezhad^{2*} , Baratali Fakheri³, Fatemeh Haddadi⁴

- 1- M.Sc. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
- 2- *Corresponding Author: Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran (nmahdinezhad@uoz.ac.ir)
- 3- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
- 4- Assistant Professor, Departement of Biology, Faculty of Science, University of Zabol, Zabol, Iran

Citation: Shahraki, H., Mahdi Nezhad, N., Fakheri, B., & Haddadi, F. (2021). The effect of synthesis nanosilver by plant extract on morphological and antioxidant properties of artichoke (*Cynara scolymus* L.) under salinity stress. *Plant Productions*, 44(1), 103-114.

 10.22055/ppd.2020.29011.1746

Received: 27 May, 2019

Accepted: 15 January, 2020

Abstract

Background and Objectives

Salinity stress is one of the environmental factors limiting the growth of plants and has a negative effect on their physiological processes. The harmful effects of salinity appear in plants in various ways, such as death or reduction of production. Artichoke is a plant with low demand and resistance to salinity. It is a perennial plant; the height of the stem is about 2 meters. Its leaves are wide, long, and white. One of the pillars of sustainable agriculture is the use of nano fertilizers in crop ecosystems to remove or reduce chemical input. Using nano fertilizers Compared to traditional fertilizers can lead to benefits like efficiency and quality increase due to high absorption velocity, prevention of leaking waste, availability even during growth, and complete absorption by plants. The reason is appropriately fast nutrition release, reduction of plants toxicity and any other stress deriving from a high concentration of local salty areas in soil, yield increase due to efficient nutrition condition of plants. Salinity stress disturbs the nutritional balance in plants. Moreover, Iron is one of the essential elements in plants. The balanced consumption of this element increases the yield and quality of plants. Using micronutrients through soil or spraying improves plant growth under stress



conditions. Foliar application of elements, which prevents soil contamination, is a useful method for rapidly absorbing elements in plants.

Materials and Methods

A factorial experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with three replications in the greenhouse of Zabul University Institute to investigate the effects of salinity and nanosilver on morphological and physiological traits of Artichoke. Salinity stress in 3 (0, 6, and 12 mM) and nanosilver spraying in 3 levels (0, 40, and 80 mM) were considered as treatments. The nanosilver spraying was performed at the seedling stage (6-8 leaves). The control was distilled water. Application of salinity stress began in the seedling stage and continued until sampling. Sampling and evaluation of the fresh weight plant and fresh and dry weight of root were done at the flowering. Analysis of variance (ANOVA) was performed by SAS software (version 9.1) based on all data. Then means of results were compared with the LSD test at $P < 0.05$ level.

Results

The main effects of salinity stress, nanosilver, and their interaction on all traits were significant at a 1% probability level. The maximum number of leaves (5 numbers), fresh weight of the plant, fresh and dry weight of root (8.82, 5.93, 0.64 g per plant, respectively), and plant height were obtained by using nanosilver and lack of salinity.

Discussion

Nanosilver foliar application reduced the effects of salinity and increased the physiological and morphological characteristics of Artichoke.

Keywords: Heavy metals, Osmotic stress, proline, Physiologic characterizes, Vegetative characterizes

تأثیر نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاهی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و خواص آنتی‌اکسیدانی کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.) تحت تنش شوری

هانیه شهرکی^۱، نفیسه مهدی‌نژاد^{۲*}، براتعلی فاخری^۳، فاطمه حدادی^۴

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
 ۲- *نویسنده مسئول: دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران (nmahdinezhad@uoz.ac.ir)
 ۳- استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
 ۴- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۶

چکیده

با توجه به افزایش روزافزون زمین‌های شور به واسطه کم آبی و آبیاری با آب‌های شور به نظر می‌رسد بررسی راهکارهای افزایش تحمل به تنش شوری ضروری می‌باشد. یکی از راهکارها استفاده از نانو ذرات نقره سبز تولید شده توسط گیاهان دارویی می‌باشد که با ریسک کمتری می‌تواند در موارد متعددی از جمله محلول‌پاشی بر روی گیاهان کاربرد داشته باشد. در راستای بررسی این موضوع آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۷ در گلخانه‌ی پژوهشکده دانشگاه زابل اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل تنش شوری در سه سطح (صفر، ۶ و ۱۲ میلی‌مولار) و نانو ذرات نقره در سه سطح (شاهد، ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار) بود. نتایج به دست آمده نشان داد که محلول‌پاشی نانو ذرات نقره سنتز سبز موجب بهبود ویژگی‌های رشدی از جمله وزن بوته، وزن تر و خشک ریشه، تعداد و طول برگ و همچنین ویژگی‌های فیزیولوژیکی از قبیل فلاونوئیدها، فنل و آنتی‌اکسیدان‌ها شد. همچنین نتایج نشان داد میزان کربوهیدرات و پروتئین در تنش شوری بدون نانو ذرات نقره (به ترتیب ۰/۵۱ میکرومول بر گرم وزن تر و ۰/۵۹ گلوکز بر گرم وزن تر) افزایش می‌یابد. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد نانو ذرات نقره مقاومت گیاه در مقابل تنش شوری را افزایش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: تنش اسمزی، پرولین، فلزات سنگین، ویژگی‌های رویشی، ویژگی فیزیولوژیک

مقدمه

درمانی گیاه کنگرفرنگی می‌تواند اثرات حمایت‌کننده کبدی، ضد میکروبی، پایین آورنده کلسترول و چربی خون، تحریک بیان ژن نیتریک اکساید سنتتاز و تحریک بهبود سلول‌های اندوتلیال در آترواسکلروز را نام برد (Zhu et al., 2004). برگ‌های کنگرفرنگی محتوی ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و اسیدی می‌باشند. اسید کافئیک و استرهای

گیاه کنگرفرنگی یا آرتیشو از خانواده آفتابگردان با نام علمی *Cynara scolymus* L. شناخته می‌شود. کنگرفرنگی گیاهی است چندساله، که ارتفاع ساقه‌ی راست آن به حدود دو متر نیز می‌رسد. برگ‌های آن پهن، دراز و متمایل به رنگ سفید است (Salehi Sourmaqi, 2007). از اثرات

گیاه می‌شوند، توصیه می‌گردد. یکی از این ترکیبات نانو ذرات نقره است. امروزه نانو فناوری به علت کاربرد وسیع و فراوان در علوم و صنایع با سرعت بالایی در حال رشد می‌باشد. محققان نشان دادند که کاتیون نقره (Ag^+) از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species, ROS) بر فسفولیپیدها اثر گذاشته و باعث پراکسیداسیون آن‌ها شده و غشاء سلولی میکروارگانیسم‌ها را تخریب می‌کند. از این گذشته Ag^+ ممکن است با سولفور در گروه‌های SH- غشاء سلولی میکروارگانیسم‌ها جانشین گردد و آن‌ها را تخریب کند (Dibrov et al., 2002). همچنین اثرات تخریبی Ag^+ در ارتباط با تولید نقره فعال که شامل ترکیبات آلی می‌باشد، این ترکیبات می‌توانند میکروارگانیسم‌ها را جذب کنند و ساختار آن‌ها را تخریب کنند. در تکنولوژی نانو اولین اثر مربوط به اندازه ذرات و افزایش سطح است. افزایش نسبت سطح به حجم نانو ذرات باعث می‌شود تا واکنش پذیری نانو ذرات به شدت افزایش یابد. علاوه بر این افزایش سطح ذرات فشارسطحی را تغییر داده و منجر به تغییر فاصله بین ذرات با فاصله بین اتم‌های ذرات می‌شود (Senjen, 2007). با توجه به مزایای نانو ذرات، می‌توان با تحقیقات بیشتر به افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی با راهکارهای مقرون به صرفه نظیر استفاده از نانو ذرات امیدوار بود. از طرفی نانو ذرات نقره سبز تولید شده توسط گیاهان دارویی با ریسک کمتری می‌تواند در موارد متعددی از جمله محلول‌پاشی بر روی گیاهان کاربرد داشته باشد و همچنین به دلیل ارزان و سهل‌الوصول بودن روش‌های زیستی مخصوصاً گیاهی نسبت به سایر روش‌ها از منظر اقتصادی نیز می‌تواند حائز اهمیت باشد (Mohanpuria et al., 2008). بدین منظور برای اولین بار نانو نقره سبز سنتز شده با استفاده از بستر گیاهی رزماری که یک روش نو ظهور و طبق اصول شیمی سبز است، در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

Shams (2015) گزارش نمود که کاربرد نانو ذرات نقره باعث افزایش تحمل گیاه ذرت شیرین در شرایط تنش خشکی شد و از کاهش عملکرد تا حدودی

اسیدکینک و اسید کافئیک، کلروژنیک و اسید پسودو کلروژنیک، نوکلروژنیک اسید، سینارین و اسید دی کافئیل کینیک ترکیبات عمده گیاه محسوب می‌شوند (Schutz et al., 2004).

در بسیاری از نقاط دنیا، گیاهان اغلب با تنش‌های غیرزیستی مانند شوری، خشکی، بالا و پایین بودن دما، مسمومیت با فلزات، ازن، پرتو فرابنفش و علف‌کش‌ها مواجه‌اند که تهدید جدی برای تولید گیاهان محسوب می‌شوند (Ahmad and Prasad, 2012). بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از زمین‌های کل جهان تحت تأثیر نمک است. این مقدار بیش از ۶ درصد از کل مساحت زمین‌های جهان را در برمی‌گیرد. زمانی که هدایت الکتریکی خاک‌ها معادل ۴ دسی زیمنس بر متر یا بیشتر باشد آن خاک در شمار خاک‌های شور طبقه‌بندی می‌شوند. این مقدار معادل ۴۰ میلی‌مولار NaCl است و فشار اسمزی ۰/۲ مگاپاسکال ایجاد می‌کند. این تعریف از شوری ناشی از EC است که به شکل در خور توجهی عملکرد بیشتر محصولات را کاهش می‌دهد (Munns and Tester, 2008).

تنش شوری از طریق تأثیر اسمزی که بر طیف وسیعی از فعالیت‌های متابولیکی دارد، باعث تحمیل کمبود آب بر گیاهان می‌گردد (Bahmani et al., 2018). مطالعات صورت گرفته در مورد اثرات شوری بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در سننین مختلف استبرق (*Calotropis procera*) نشان داده است که اثر شوری بر میزان کلروفیل به‌ویژه در غلظت‌های بالا و با افزایش سن گیاه با افزودن کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول در اندام هوایی و ریشه، افزایش می‌یابد (Sobhi et al., 2006). اثر زیان‌آور شوری بالا بر روی گیاهان را می‌توان در سطح کل گیاه، مثل مرگ گیاه و یا کاهش محصول مشابه نمود (Chen et al., 2018; Zhong et al., 2019). Dilnur et al. (2019) گزارش کردند که شوری ناشی از کلروسدیم باعث کاهش رشد در گیاه شد. امروزه، استفاده از ترکیباتی که مقاومت گیاهان را به تنش‌های محیطی افزایش داده و موجب بهبود فعالیت‌های متابولیکی

گرفته شد. بذر کنگرفرنگی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. اعمال شوری با کلرید سدیم انجام شد. محلول پاشی با نانو ذرات نقره و در مرحله گیاهچه‌ای (مرحله ۸-۶ برگی) روی گیاه کنگرفرنگی انجام شد. برای تیمار صفر نانو ذرات نقره از آب مقطر استفاده شد. در مرحله ۶-۴ برگی اعمال تنش شوری شروع شد و تا زمان نمونه‌گیری (به مدت دو ماه) ادامه داشت. بذرها در گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر و قطر دهانه ۱۴ سانتی‌متر که دارای زهکش بودند، قرار داده شد. بستر مورد استفاده شامل خاک، پیت ماس و ماسه به نسبت ۳:۱:۱ بود. خاک مورد استفاده خاک زراعی و از مزرعه دانشکده کشاورزی زابل تهیه شد. وزن هر گلدان ۲۳۰ گرم بود. مقدار بستر هر گلدان به اندازه ۴ کیلوگرم بود جمع وزن گلدان و خاک ۴۲۳۰ گرم بود. در هر گلدان ۶ عدد بذر کنگرفرنگی در عمق سه سانتی‌متری از سطح خاک کاشته شد و پس از استقرار بوته مقاوم نگه‌داشته و بقیه بوته‌ها از گلدان خارج شدند. آبیاری گلدان‌ها با آب شور زمانی که حدود ۵۰ درصد گلدان‌ها دارای ۴ تا ۶ برگ بودند، آغاز شد. منبع شوری نمک NaCl آزمایشگاهی ساخت شرکت مرک (آلمان) بود. گلدان‌ها یک روز در میان با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول هوگلدن حاوی تیمار شوری آبیاری می‌شد. همچنین هر ده روز یکبار محیط ریشه گیاهان با آب معمولی به‌طور کامل شستشو داده می‌شد تا تغییرات pH و هدایت الکتریکی ناشی از تجمع نمک‌ها در بستر کاشت در اثر انجام عمل آبیاری به حداقل برسد. نانو ذرات نقره کروی با میانگین قطر ۱۳ نانومتر و با غلظت 500 ppm در آزمایشگاه دانشگاه زابل به روش سبز و در بستر گیاهی رزماری سنتز شد. سپس با روش سری رقت (Serial dilution) از محلول‌های مادر، رقت‌های مورد نظر تهیه گشت.

برای اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه در هر گلدان به‌صورت تصادفی ۳ بوته انتخاب شد و گیاهچه‌ها برای بررسی برخی شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به آزمایشگاه انتقال داده شدند. خصوصیات خاک مورد استفاده در جدول (۱) آورده شده است.

جلوگیری می‌کند. با این حال، اثرات مثبت این نانو ذره به وسیله محققانی روی گیاه خیار بر شاخص‌های رشدی (عملکرد، تعداد برگ و ارتفاع گیاه) مشاهده شده است (Shams et al., 2013). تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره بر روی صفات شاخص‌های اندام هوایی و زمینی گیاه رازیانه تحت سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری داشت و باعث افزایش مقاومت آن‌ها به شوری شد (Ekhtiari et al., 2011). محققین اثر نانو ذرات نقره را بر روی متابولیسم رشد گیاه نخودی یا باکو پا مونیری در شرایط کشت هیدروپونیک دریافتند و متوجه شدند که نانو ذرات نقره اثر قابل توجهی بر جوانه‌زنی، القای سنتز پروتئین، کربوهیدرات، کاهش محتویات فنل کل و فعالیت کاتالاز و پراکسیداز نشان می‌دهد (Krishnaraj et al., 2012). نانو ذرات نقره مشخصات رشدی گیاه (طول ساقه و ریشه و سطح برگ) و ویژگی‌های بیوشیمیایی (محتویات کلروفیل، کربوهیدرات و پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) در خردل برگی، لویبا و ذرت را افزایش داده است (Salama, 2012; Sharma et al., 2012). Javadi et al. (2014) در بررسی اثر سطوح مختلف شوری (صفر، ۴، ۸، ۱۶، ۲۰ و ۲۰ دسی مینز بر جوانه‌زنی گیاه کنگرفرنگی و گیاه دیگر گزارش کردند با افزایش تنش شوری سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت. بدین منظور تحقیق حاضر بر روی گیاه کنگرفرنگی با هدف اثرات ذرات نانو نقره سنتز سبز بر میزان تحمل به تنش شوری در مرحله گیاهچه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

در راستای بررسی اثرات شوری و نانو ذرات نقره بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کنگرفرنگی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۷ در گلخانه‌ی پژوهشکده دانشگاه زابل اجرا شد. در این بررسی تنش شوری در سه سطح صفر (شاهد)، ۶ و ۱۲ میلی‌مولار و محلول‌پاشی با نانو ذرات نقره سنتز سبز تهیه‌شده در آزمایشگاه بیوسنتز دانشگاه زابل در سه سطح شاهد، ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار به‌عنوان تیمارهای مورد آزمایش در نظر

Table 1. Physical and chemical properties of soil in experimental site

Texture	Cu	Zn	Fe	K	P	N	Clay	Silt	Sand	EC	pH
	mg/kg					%			dS.m ⁻¹		
Lume-clay	0.75	0.69	3.1	2.1	9.5	34	30	39	31	2.8	7.8

(An et al., 2008).

کاهش تعداد برگ‌ها در شرایط شوری که توسط Al-Zubaidi (2018) در بادمجان (Hand (2017) در فلفل و Shams al-Din and Farahbakhsh (2009) در ذرت نیز گزارش شده است. نتایج این تحقیق را مورد تأیید قرار می‌دهند. محققان تغییرات مختلف ریختی از جمله کاهش تعداد برگ، ارتفاع گیاه، سطح برگ و نسبت ریشه به ساقه را تحت تأثیر افزایش شوری را گزارش کرده‌اند (Hafsi et al., 2007).

نانو ذرات نقره مشخصات رشدی (طول ساقه و ریشه و سطح برگ) در خردل برگی (*Brassica juncea* l)، لویا (*Phaseolus vulgaris*) و ذرت (*Zea mays*) را افزایش داده است (Hediat and salama, 2012; Sharma et al., 2012).

وزن تر برگ، وزن تر بوته، وزن تر و خشک ریشه

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشاهده شد که اثر محلول‌پاشی نانو ذرات نقره، شوری و اثر متقابل آن‌ها بر مقدار وزن تر برگ، وزن تر بوته، وزن تر و خشک ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین مقدار وزن تر برگ، وزن تر بوته، وزن تر و خشک ریشه مربوط به محلول‌پاشی ۸۰ میلی‌مولار نانو ذرات نقره و عدم کاربرد شوری بود. شاخص‌های وزن تر برگ، وزن تر بوته، وزن تر و خشک ریشه گیاه کنگرفرنگی به ترتیب ۰/۲۸، ۰/۱۸، ۰/۳۳ و ۰/۲۰ درصدی افزایش را نسبت به شاهد (عدم کاربرد شوری و عدم کاربرد ذرات نقره) نشان داد (جدول ۳).

در تحقیق حاضر در تیمار ۸۰ میلی‌مولار نانو نقره افزایش وزن تر گیاه در اندام هوایی دیده شد که می‌تواند به دلیل اثر نانو ذرات نقره به‌عنوان بازدارنده فعالیت اتیلن در گیاهچه‌های کنگرفرنگی در این تیمار باشد. همچنان که در تحقیق مشابه دیگری کاربرد شکل دیگری از نقره (تیوسولفات نقره) همین نتیجه را در گیاه سیب‌زمینی در شرایط کشت درون شیشه در پی داشت (Rustami, 2009).

اندازه‌گیری ویژگی‌های مورفولوژیکی

برای این منظور صفاتی از قبیل ارتفاع بوته با استفاده از خط کش مدرج اندازه‌گیری شد، اندازه‌گیری وزن تر بوته، وزن تر برگ، وزن تر و خشک ریشه، با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم صورت گرفت. ابتدا نمونه‌های مورد نظر گل‌ولای آن‌ها شسته شدند. سپس برای تعیین وزن خشک، ریشه‌ها در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و در انتها با استفاده از ترازوی دقیق دیجیتالی (دقت یک‌هزارم گرم) وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی

برای اندازه‌گیری پرولین و کربوهیدرات از روش Irrigoyen et al. (1992) فلاونوئید و فنل به ترتیب با روش Krizek et al. (1998) و Singleton and Rossi (1965) و تعیین فعالیت رادیکال DPPH از روش Abe et al. (1998) استفاده شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ و سپس میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD و در سطح آماری پنج درصد مقایسه شد.

نتایج و بحث

صفات تعداد برگ، طول برگ و ارتفاع بوته

نتایج نشان داد که صفات تعداد برگ، طول برگ و ارتفاع بوته تحت تأثیر تیمار محلول‌پاشی نانو ذرات نقره، شوری و اثر متقابل آن‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). مقایسه میانگین برهمکنش اثر متقابل نانو ذرات نقره و شوری نشان داد که در کاربرد ۸۰ میلی‌مولار نانو ذرات نقره و عدم کاربرد شوری تعداد برگ، طول برگ و ارتفاع (به ترتیب ۵/۰۰ عدد، ۲۱/۸۹ و ۵۵/۱۲ سانتی‌متر) بیشترین مقدار را نشان داد (جدول ۳).

نقره در دسته مواد پرخطر محسوب می‌شود و اثر سمیت نقره بر تعداد زیادی از موجودات زنده گزارش شده است (Gubbins et al., 2011). اخیراً، از نانو ذرات نقره برای جلوگیری از ریزش دانه در گیاه گاوزبان استفاده شده است

Table 2. Analysis of variance of the effects of salinity stress and silver nanoparticles on some physiological and biochemical traits in *Cynara scolymus*

	df	Mean square											
		Plant height (cm)	Leaf length	Number of leaves	Fresh leaf weight	Root fresh weight (gr.plant)	Plant weight	Root dry weight (gr.plant)	Phenol	Flavonoids	Antioxidants	Carbohydrate	Proline
Ag+	2	515.72**	276.36**	9.53**	0.33**	25.59**	27.05**	0.14**	0.19**	0.05**	22.31**	1.18**	0.16**
Salt stress	2	4324.87**	350.04**	3.72**	0.62**	26.98**	64.19**	0.47**	0.25**	0.08**	152.89**	14.75**	0.13**
Ag × S.S	4	23.72**	3.86**	0.12**	0.02**	0.37**	0.38**	0.002**	0.02**	0.007**	27.72**	2.27**	0.01**
Error	54	1.20	0.51	0.02	0.0006	0.02	0.04	0.0005	0.0001	0.0003	1.58	0.009	0.0001
C.V. (%)	-	2.64	4.58	3.10	3.28	3.11	3.03	5.22	3.19	3.76	4.57	2.26	3.20

** significant at 1 probability level, respectively.

Table 3. Comparison of mean vegetative indices under salinity stress and silver nanoparticles

Ag	Salt	Number of leaves	Leaf length	Plant height (cm)	Plant weight	Fresh leaf weight	Root fresh weight (gr.plant)	Root dry weight (gr.plant)	Phenol	Flavonoids	Antioxidants	Carbohydrate	Proline
0	0	3.89 ^d	14.83 ^e	46.16 ^d	7.21 ^e	0.79 ^d	3.95 ^d	0.51 ^c	0.21 ^g	0.40 ^f	26.86 ^c	3.55 ^f	0.31 ^d
	6	3.55 ^e	12.53 ^f	39.05 ^e	5.84 ^g	0.69 ^f	3.19 ^e	0.33 ^g	0.23 ^f	0.46 ^e	27.68 ^c	3.85 ^d	0.37 ^c
	12	3.00 ^f	8.78 ^h	24.44 ^h	4.02 ⁱ	0.57 ^h	2.32 ^f	0.26 ⁱ	0.30 ^e	0.51 ^{cd}	29.94 ^b	5.91 ^a	0.51 ^a
40	0	4.55 ^b	19.79 ^b	54.05 ^b	8.37 ^b	0.98 ^b	5.36 ^b	0.58 ^b	0.19 ^h	0.46 ^e	23.13 ^e	3.73 ^e	0.25 ^f
	6	4.11 ^c	17.24 ^d	47.05 ^d	7.61 ^d	0.77 ^e	4.59 ^c	0.37 ^f	0.33 ^d	0.49 ^d	27.72 ^c	3.92 ^d	0.31 ^d
	12	3.78 ^d	11.64 ^g	27.05 ^g	5.23 ^h	0.66 ^g	3.10 ^e	0.31 ^h	0.47 ^b	0.52 ^c	32.29 ^a	4.56 ^b	0.38 ^b
80	0	5.00 ^a	21.89 ^a	55.12 ^a	8.82 ^a	1.11 ^a	5.93 ^a	0.64 ^a	0.30 ^e	0.45 ^e	25.13 ^d	3.51 ^f	0.21 ^h
	6	4.55 ^b	18.44 ^c	49.43 ^c	8.00 ^c	0.83 ^c	5.40 ^b	0.49 ^d	0.42 ^c	0.57 ^b	26.66 ^c	4.14 ^c	0.23 ^g
	12	4.44 ^b	12.53 ^f	30.45 ^f	6.08 ^f	0.77 ^e	3.91 ^d	0.40 ^e	0.51 ^a	0.60 ^a	27.58 ^c	4.58 ^b	0.28 ^e

†† In each column, averages that have the same letter do not have a significant difference in the Duncan test at the 5% probability level.

بر اساس نتایج این تحقیق استفاده از نانو ذرات نقره موجب افزایش وزن ریشه شده است (جدول ۳). پاسخ حاصل از وساطت نیترات نقره با اتیلن، پلی آمین‌ها و مسیرهای وابسته به کلسیم درگیر می‌شود و نقش مهمی در تنظیم مورفوزن از جمله تولید ریشه بازی می‌کند (Rezvani et al., 2012). نانو ذرات نقره توانایی تغییر در رشد گیاه و تغییر تولید متابولیت‌های ثانویه را دارند (Najafi et al., 2013). در مطالعاتی که روی زعفران صورت گرفته مشاهده شد که با اسپری کردن نانو ذرات نقره وزن ریشه و بنه زعفران افزایش یافت (Rezvani et al., 2012).

فنل، فلاونوئید و آنتی اکسیدان

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت ترکیبات آنتی اکسیدان، فنل و فلاونوئید تحت تأثیر تیمار نانو ذرات نقره و شوری و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت و اختلاف از نظر آماری در سطح یک درصد معنی دار گردید (جدول ۲). کاربرد محلول پاشی نانو ذرات نقره در هر سطح شوری بر میزان فنل و فلاونوئید افزوده شد به طوری که بیشترین فنل و فلاونوئید مربوط به محلول پاشی ۸۰ میلی مولار نانو ذرات نقره و سطح ۱۲ میلی مولار شوری (به ترتیب ۰/۵۱ و ۰/۶۰) به دست آمد همچنین بیشترین مقدار آنتی اکسیدان مربوط به محلول پاشی ۴۰ میلی مولار و سطح ۱۲ میلی مولار شوری (۳۲/۲۹) حاصل شد (جدول ۳).

نتایج این مطالعه نشان داد که طی محلول پاشی با نانو ذرات نقره تحت تنش شوری میزان فنل و فلاونوئید بالایی حاصل شد که به ترتیب حدود ۵۸ و ۳۳ درصد نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد شوری و نانو ذرات نقره) برتری داشت. از بین ترکیبات گیاهی که دارای خواص آنتی اکسیدانی می‌باشند، ترکیبات فنولی توزیع گسترده‌ای در بسیاری گیاهان دارند. ویژگی‌های آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتاً ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیایی آن‌هاست که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و

خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه می‌سازد. ترکیبات فنولی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند (Ahmadi et al., 2007). فلزات نقره و سرب می‌توانند سبب کاهش و یا افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان شوند. برای مثال نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ ppm و نیترات سرب با غلظت ۱۲۰ ppm میزان فلاونوئید و فنل کل را در ماش سبز (*Vigna radiata*) به ترتیب افزایش و کاهش دادند (Najafi and Jamei, 2014) و با نتایج (Suri-yaprabha et al., 2012) که بیان کردند کاربرد نانو ذرات نقره باعث افزایش محتوای فنل نسبت به تیمار شاهد شد هم‌خوانی دارد. فلاونوئیدها و مشتقات آن‌ها در واقع بزرگترین گروه ترکیبات فنلی (متابولیت‌های ثانویه) در گیاهان هستند (Haslam, 2005) و در حفاظت گیاهان در برابر تنش‌ها نقش ایفا می‌کنند. همچنین آنتی اکسیدان بودن فلاونوئیدها باعث می‌شود که بتوانند به طور مستقیم با وارد شدن در واکنش‌های احیایی و یا به طور غیرمستقیم به وسیله کلاته کردن آهن مانع تنش اکسیداتیو شوند (Popova et al., 2003). (Suri-yaprabha et al., 2012) اثر نانو ذرات نقره را بر گیاه ذرت مطالعه کردند و گزارش کردند که نانو ذرات نقره اثر افزایشی بر محتوای فنل داشته است. آن‌ها نتیجه گرفتند که افزایش فنل و در نتیجه افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی شاید به خاطر تأثیر نانو ذرات نقره بر آنزیم‌های تولیدکننده این ترکیبات باشد.

کربوهیدرات و پرولین

نتایج تجزیه واریانس داده‌های جدول (۲) نشان داد که سطوح نانو ذرات نقره، شوری و اثر متقابل شوری و نانو تأثیر معنی‌داری بر تجمع کربوهیدرات و پرولین برگ کنگر فرنگی داشتند و اختلاف از نظر آماری در سطح یک درصد معنی دار گردید. در سطوح کاربرد شوری بر مقدار کربوهیدرات و پرولین افزوده شد. نتایج اثر متقابل کاربرد نانو در هر سطح شوری نشان داد که بیشترین میزان کربوهیدرات و پرولین مربوط به عدم

شد که با نتایج این آزمایش همخوانی دارد. بر اساس تحقیقات صورت گرفته می‌توان بیان کرد کربوهیدرات‌ها گروهی از ترکیبات آلی هستند که افزایش آن به‌عنوان یک پیام متابولیکی عمل می‌کند و موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به دفاع و کاهش فوتوسنتز می‌شود (Kocal et al., 2008). گیاه با افزایش ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها، پرولین و پروتئین‌سازی می‌تواند در برابر تنش ایجادشده مقاومت کند (Hong et al., 2000).

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاکی از آن بود که با افزایش شدت تنش شوری از مقدار ویژگی‌های کمی گیاه کنگرفرننگی کاسته شد. نانو ذرات نقره سنتز سبز به‌صورت محلول‌پاشی اثرات سوء ناشی از تنش شوری را تقلیل داد و منجر به بهبود خصوصیات کمی آن شد. گزارش‌های متعددی نشان می‌دهند که ذرات نانو نقره اثرات مثبت بر رشد و القای سیستم دفاعی گیاهان دارویی و بهبود بخشیدن بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه می‌توانند داشته باشند. اما بحث در مورد تأثیر بیولوژیکی ذرات نانو نیازمند جمع‌آوری یافته‌های علمی قابل قبول بیشتری است تا بتوان به جرأت نانو ذره نقره را به‌عنوان القاء‌کننده کارآمد در بسیاری از گیاهان دارویی معرفی نمود و به نظر می‌رسد گامی با ارزش در جهت مهندسی متابولیت و تولید داروهای گیاهی باشد.

سپاس‌گزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه زابل برای حمایت مالی آن‌ها در انجام این پروژه با شماره UOZ-GR-۱۵۸-۹۶۱۸ تشکر و قدردانی می‌گردد.

کاربرد نانو ذرات نقره و کاربرد ۱۲ میلی‌مولار شوری (به ترتیب ۵/۹۱ و ۰/۵۱) به‌دست آمد (جدول ۳).

براساس نتایج این مطالعه محلول‌پاشی با شوری ۱۲ میلی‌مولار سبب افزایش ۳۹ درصدی پرولین نسبت به شاهد (عدم کاربرد شوری و نانو ذرات نقره) شد. سازش گیاهان به تنش‌های محیطی با انباشتن متابولیت‌هایی مانند ترکیبات نیتروژن‌دار (پرولین، سایر اسیدهای آمینه و پلی‌آمین‌ها) انجام می‌گیرد. القای سنتز پرولین از نخستین پاسخ‌های گیاه به تنش محیطی محسوب می‌شود. تجمع پرولین یک مکانیسم مقاومتی گیاهان به فاکتورهای تنشی مختلف از جمله، فلزات سنگین است (Eraslan et al., 2007). نقش پرولین در تنش، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها، جلوگیری از تجزیه ماکرومولکول‌ها و دخالت در حفظ استحکام دیواره سلولی و پاک‌سازی رادیکال‌های هیدروکسیل تولیدشده تحت تنش در گیاهان عنوان شده است (Zhang et al., 2000). پرولین می‌تواند از گلوتامات که پیشرو اولیه در سلول‌های تحت تنش اسمزی است، سنتز شود و آنزیم پرولین کربوکسیلیک اسید سینتاز و پرولین کربوکسیلیک اسید ردوکتاز در این مسیر بیوسنتز مشارکت دارند که در زمان تنش شوری رونویسی از ژن‌های این دو آنزیم افزایش یافته و باعث افزایش پرولین می‌شود (Sairam and Tyagi, 2004). (Rajaei et al. (2009) بر روی تنش شوری در گیاه زعفران کار کردند و گزارش دادند که شوری باعث کاهش رشد و افزایش محتوای پرولین و یون سدیم در تمامی اندام‌ها می‌شود. همچنین Zarei et al. (2018) بیان کردند تیمار شوری باعث افزایش محتوای پرولین نسبت به تیمار شاهد

References

- Abe, N., Murata, T., & Hirota, A. (1998). Novel DPPH radical scavengers, bi sorbicillinol and demethyl trichodimerol, from a fungus. *Biotechnol Biochem*, 62, 661-666.
- Ahmad, P., & Prasad, M. N. V. (2012). *Abiotic stress responses in plants: Metabolism, productivity and sustainability*. New York: Springer.
- Ahmadi, F., Kadivar, M., & Shahedi, M. (2007). Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff in model and food systems. *Food Chemistry*, 105(1), 57-64.

- Al-Zubaidi, A. H. (2018). Effects of salinity stress on growth and yield of two varieties of eggplant under greenhouse conditions. *Research on Crops*, 18(2), 1533-1540.
- An, J., Zhang, M., Wang, S., & Tang, J. (2008). Physical, chemical and microbiological changes in stored green asparagus spears as affected by coating of silver nanoparticles-PVP. *Food Science and Technology*, 41(6), 1100-1107.
- Bahmani, M., Naghdi, R., & Kartoolinejad, D. (2018). Milkweed seedlings tolerance against water stress: Comparison of inoculations with *Glomus intraradices* and *Pseudomonas putida*. *Environmental Technology and Innovation*, 10, 111-121.
- Chen, C., Wang, C., Liu, Z., Liu, X., Zou, L., Shi, J., Chen, S., Chen, J., & Tan, M. (2018). Variations in physiology and multiple bioactive constituents under salt stress provide insight into the quality evaluation of Apocyni Veneti Folium. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3042-3058.
- Dibrov, P., Dzioba, J., Gosink, K. K., & Hase, C. C. (2002). Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag⁺ in *Vibrio cholerae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(8), 2668-2670.
- Dilnur, T., Peng, Z., Pan, Z., Palanga, K.K., Jia, Y., Gong, W., & Du, X. (2019). Association analysis of salt tolerance in Asiatic cotton (*Gossypium arboreum*) with SNP markers. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2168-2188.
- Ekhtiari, R., Mohebi, H. R., & Mansouri, M. (2011). Investigating the effects of nanosilver particles on salinity tolerance of fennel (*Foeniculumvulgare Mill.*) In early growth at laboratory conditions. *Journal of Plant and Ecosystem*, 7(27), 55-62.
- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A., & Alpaslan, M. (2007). Boron toxicity alters nitrate reductase activity, proline accumulation, membrane permeability and mineral constituents of tomato and Pepper plants. *Journal Plant Nutrition*, 30(6), 981-994.
- Gubbins, E. J., Batty, L. C., & Lead, J. R. (2011). Phytotoxicity of silver nanoparticles to *Lemna minor* L. *Environmental Pollution*, 159(6), 1551-1559.
- Hafsi, C., Lakhdar, A., Rabhi, M., Debez, A., Abdelly, C., & Ouerghi, Z. (2007). Interactive effect of salinity and potassium availability on growth, water status, and ionic composition of *Hordeum maritimum*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170(4), 469-473.
- Hand, M. J., Taffouo, V. D., Nouck, A. E., Nyemene, K. B. L., Tonfack, L. B., Meguekam, T. L., & Yoimbi, E. (2017). Effects of salt stress on plant growth, nutrient partitioning, chlorophyll content, leaf relative water content, accumulation of osmolytes and antioxidant compounds in pepper (*Capsicum annum* L.) Cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45(2), 481-490.
- Haslam, E. (2005). *Practical polyphenolics: From structure to molecular recognition and physiological action*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hediat, M., & Salama, H. (2012). Effects of silver nanoparticles in some crop plants, Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *International Research Journal of Biotechnology*, 3(10), 190-197.
- Hong, Z., Lakkineni, K., Zhang, Z., & Verma, D. S. (2000). Removal of feedback inhibition of 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and production of plant from osmotic stress. *Plant Physiology*, 122(4), 1129-1136.
- Irrigoyen, J. H., Emerich, D. W., & Sanchez Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. *Physiologia Plantarum*, 84(1), 55-66.

- Javadi, H., Seghatoleslami, M. J., & Mousavi, S.Gh. (2014). Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of four medicinal plant species. *Iranian Journal of Agricultural Research*, 12(1), 53-64. [In Farsi]
- Kocal, N., Sonnewald, U., & Sonnewald, S. (2008). Cell wallbound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhibition of photosynthesis during compatible interaction between tomato and *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*. *Plant Physiology*, 148(3), 1523-1536.
- Krishnaraj, C., Jagan, E., Ramachandran, R., Abirami, S., Mohan, N., & Kalaichelvan, P. (2012). Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopamonnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism. *Process Biochemistry*, 47(4), 651-658.
- Krizek, D. T., Britz, S. J., & Mirecki, R. M. (1998). Inhibitory effect of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New red fire lettuce. *Physiologia Plantarum*, 103(1), 1-7.
- Mohanpuria, P., Rana, N. K., Kumar Yadav, S. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal Nanoparticle Research*, 10, 507-517.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Plant Biology*, 59, 651-81.
- Najafi, S., & Jamei, R. (2014). Effect of silver nanoparticles and $Pb(NO_3)_2$ on the yield and chemical composition of mung bean (*Vigna radiata*). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 10(1), 316-325.
- Najafi, S., Heidari, R., & Jamei, R. (2013). Influence of silver nanoparticles and magnetic field on phytochemical, antioxidant activity compounds and physiological factors of *Phaseolus vulgaris*. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 3, 2812-2816.
- Popova, L., Ananieva, E., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V., & Stoinova, Z. H. (2003). Salicylic acid-and methyl jasmonate-induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Journal Plant Physiology*, 2003, 133-152.
- Rajaei, S. M., Niknam, V., Seyedi, S. M., Ebrahimzadeh, H., & Razavi, K. (2009). Contractile roots are the most sensitive organ in *Crocus sativus* to salt stress. *Biology Plantarum*, 53(3), 523-529. [In Farsi]
- Rezvani, N., Sorooshzadeh, A., & Farhadi, N. (2012). Effect of nano-Silver on growth of saffron in flooding stress. *World Academy of Science Engineering and Technology*, 6(1), 11-16.
- Rustami, F., & Ehsanpour, A. A. (2010). The effect of silver thiosulfate (STS) on chlorophyll content and the antioxidant enzymes activity of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Cell and Molecular Research*, 2(1), 29-34.
- Sairam, R. K., & Tyagi, A. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current science*, 86(3), 407-421.
- Salama, H. M. H. (2012). Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *International Research Journal of Biotechnology*, 3(10), 190-197.
- Salehi Sourmaqi, M. H. (2007). *Medicinal plants and herbs*, (1st ed. Vol. I), Tehran. World Food Publishing. [In Farsi]
- Schutz, K., Kammerer, D., Carle, R., & Schieber, A. (2004). Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads, juice, and pomace by HPLC-DAD-ESI/MS (n). *Journal Agriculture Food Chemistry*, 52(13), 4090-4096.
- Senjen, R. (2007). *Nanosilver- a threat to soil, water and human health? Friends of the Earth Australia*. <http://nano.foe.org.au/node/189>.

- Shams al-Din., S., & Farahbakhsh, H. (2009). The Effect of Salinity on Yield and Some Agronomical and Physiological Traits of Two Maize (*Zea mays* L.) Cultivars in Kerman. *Plant Productions*, 32(1), 13-25. [In Farsi]
- Shams, G., Ranjbar, M., & Amiri, A. (2013). Effect of silver nanoparticles on concentration of silver heavy element and growth indexes in cucumber (*Cucumis sativus*). *Journal of Nanoparticle Research*, 15(5), 1-12.
- Shams, H., Ghoshchi, F., & Kasraie, P. (2015). The effect of foliar silver nano particles on yield and yield components sweet corn under water deficit stress. *Iranian Journal of Dynamic Agriculture*, 12(1), 13-21. [In Farsi]
- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G., Saradhi, P. P., Khanna, P. K., & Arora, S. (2012). Silver nanoparticle mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(8), 2225-2233.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sobhi, O. A., Al-Zahrani, H. S., & Al-Ahmadi, S. B. (2006). Effect of Salinity on Chlorophyll and Carbohydrate Contents of *Calotropis procera* Seedlings. *Scientific Journal of King Faisal University*, 7(1), 105-115.
- Suri-yaprabha, R., Karunakaran, G., Yuvakkumar, R., Prabu, P., Rajendran, V., & Kannan, N. (2012). Growth and physiological responses of maize (*Zea mays* L.) to porous silica nanoparticles in soil. *Journal of Nanoparticle Research*, 14, 1294-1296.
- Zarei, L., Koushesh Saba, M., Vafaei, Y., & Javadi, T. (2018). Effect of gamma-amino-butyric acid foliar application on physiological characters of *tomato* (cv. Namib) under salinity stress. *Plant Productions*, 41(1), 15-28. [In Farsi]
- Zhang, F., Li X., Wang, C. and Shen, Z. (2000). Effect of cadmium on antioxidation rate of tissue and inducing accumulation of free proline in seedlings of mung bean. *Journal of Plant Nutrition*, 23(3), 356-368.
- Zhong, M., Wang, Y., Zhang, Y., Shu, S., Sun, J., & Guo, S. (2019). Overexpression of transglutaminase from cucumber in tobacco increases salt tolerance through regulation of photosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 2-17.
- Zhu, X., Zhang, H., & Lo, R. (2004). Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 52(24), 7272-8.