

The effect of salinity stress and the application of silver nanoparticles on flowering and some physico-biochemical characteristics of French parsley (*Tagetes patula* L.)

Khatoun Behzad¹, Abdollah Ehtesham Nia^{2*} , Mohamadreza Raji³, Hasan Moumivand⁴, Majid Alikhani-Koupaei⁵

1. M.Sc. Graduate of Horticulture, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Khorramabad, Iran -
2. Associate Professor Lorestan University, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Khorramabad, Iran
3. Assistant Professor Lorestan University, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Khorramabad, Iran
4. Associate Professor Lorestan University, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Khorramabad, Iran
5. Assistant Professor Saravan University, Department of Plant medicine, Faculty of Agriculture, Saravan, Iran

Citation: Behzad, Kh., Ehtesham Nia, A., Raji, M.R., Moumivand, H., Alikhani-Koupaei, M. (2024) The effect of salinity stress and the application of silver nanoparticles on flowering and some physico-biochemical characteristics of French parsley (*Tagetes patula* L.). *Plant Productions*, 47(2), 275-291

Abstract

Introduction

Salinity stress leads to ion toxicity and osmotic stress. Salinity stress through the osmotic mechanism, due to the reduction of the osmotic potential of the soil solution, causes disturbances in transpiration and photosynthesis. The mechanism of action of ionic toxicity is also related to ion absorption and changes in physiological processes caused by toxicity, deficiency or change in the balance of mineral elements. In the last decade, the tendency to use metal nanoparticle compounds in agriculture and horticultural sciences has become popular. Researchers believe that silver nanoparticles are absorbed faster by plants due to their small size and high solubility, therefore, by using these materials, optimal conditions for plant growth are created and stress conditions are prevented in the plant.

Materials and Methods

The experiment was conducted in the greenhouse of Horticultural Science Department, Faculty of Agriculture located in Khorramabad city, Lorestan province in 2021. The experiment was conducted as a factorial in the form of a completely randomized design with four replications. The first factor was included salinity treatment at four levels (0, 25, 50 and 100 mM NaCl, respectively equivalent to 0.067, 2.450, 5.440 and 9.520 dS m⁻¹) and the second factor was foliar application of nanosilver at 4 levels (0, 10, 50 and 100 ppm). Salinity treatments were started gradually with the application of low concentration of salt after establishing the plants in the pot. Nano silver foliar spraying was applied weekly for 5 times until the flowering stage. Foliar spraying with silver nanoparticles was done in 3 stages of four leaves, full growth and flowering.

* Corresponding Author: Abdollah Ehtesham Nia
E-mail: Ehteshamnia.ab@lu.ac.ir



Results and Discussion

In this study, application of nanosilver increased the quantitative and qualitative characteristics of parsley, including the fresh weight of the flower (by 2.23%). Nanosilver in concentrations of 10 and 50 mg/liter increases the relative content of leaf water (7.70%), the content of total phenol (5.96%), the content of total flavonoids (34.91%) and the amount of potassium in leaves (4.055 %) under salinity stress conditions. Additionally, the lowest amount of sodium leaf (0.162 %), ion leakage (25.44 %) and malondialdehyde (21.56 %) was observed in this treatment. Researchers believe that silver nanoparticles are absorbed faster by plants due to their small size and high solubility, therefore, by using these materials, optimal conditions for plant growth are created and any stressful conditions are prevented in the plant. Silver nanoparticles with suitable size and remarkable chemical stability remain in constant shape and size in solutions.

Conclusion

Based on the results observed in this study, the treatment of silver nanoparticles in concentrations of 10 and 50 ppm in the conditions of salinity stress, relative water content of leaves, potassium content of leaves, fresh and dry weight of flowers and time of budding and flowering were increased, while ion leakage, malondialdehyde, proline, total phenol and flavonoid content, and sodium content of leaves were decreased. Therefore, it can be stated that the application of silver nanoparticles in the form of foliar spraying at levels of 10 and 50 ppm can reduce the negative effects caused by salinity stress and improve the ornamental characteristics of parsley in 25 and 50 mM of salinity stress.

Keywords: Leaf potassium content, Nanoparticles, Proline, Relative water content

تأثیر تنفس شوری و کاربرد تعديل کننده نانوذرات نقره بر گلدهی و برخی ویژگی‌های فیزیکوپیوژیمیایی گل جعفری فرانسوی (*Tagetes patula L.*)

خاتون بهزاد^۱، عبدالله احشام نیا^{۲*}، محمدرضا راجی^۳، حسن مومنوند^۴، مجید علیخانی کوپائی^۵

- ۱- کارشناسی ارشد دانشگاه لرستان، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، خرم آباد، ایران
- ۲- دانشیار دانشگاه لرستان، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، خرم آباد، ایران
- ۳- استادیار دانشگاه لرستان، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، خرم آباد، ایران
- ۴- دانشیار دانشگاه لرستان، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، خرم آباد، ایران
- ۵- استادیار دانشگاه سراوان، گروه گیاهپژوهی، دانشکده کشاورزی، سراوان، ایران

چکیده

شوری یکی از اصلی ترین تنفس‌های محیطی است که استقرار گیاهچه و عملکرد گیاهان فضای سبز را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در دهه اخیر، تمایل به استفاده از ترکیبات نانوذرات فلزات در بخش کشاورزی، ژنتیک و اصلاح گیاهی، علوم دامی و علوم باغبانی رایج شده است. کاربرد نانوذرات نقره در تنفس‌های غیرزیستی و به روش‌های متنوع، تحمل گیاهان را در برابر تنفس‌ها بهبود می‌بخشد. نانوذرات نقره به عنوان کوچک بودن و حلالیت بالا سریع تر توسط گیاهان جذب می‌شوند و بنابراین با کاربرد این مواد شرایط بهینه برای رشد گیاه ایجاد می‌شود و از ایجاد هرگونه شرایط تنفسی در گیاه جلوگیری می‌شود. به همین منظور، جهت بررسی اثر نانوذرات نقره بر تحمل به شوری گل جعفری فرانسوی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل تیمار شوری در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولاًر سدیم کلرید، به ترتیب معادل ۰/۰۶۷، ۲/۴۰۰، ۰/۰۵۰ و ۰/۰۴۴۰ دسی‌زیمنس بر متر) و فاکتور دوم کاربرد نانوذرات نقره در چهار سطح (صفر، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. آزمایش در اردیبهشت سال ۱۴۰۰ در گلخانه گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی واقع در شهرستان خرم آباد، استان لرستان انجام شد. بذرهای گل جعفری فرانسوی (*Tagetes patula L.*) از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد و بذرها در گلدان‌های پلاستیکی حاوی مخلوط خاکی شامل خاک، کود دامی پوسیده و ماسه با نسبت وزنی ۱:۱:۲ کشت شد. در این بررسی کاربرد نانوذرات نقره نه تنها به طور قابل توجهی تمام پارامترهای ارزیابی شده را بهبود بخشید، بلکه تا حدی اثرهای مخرب در شرایط شوری (۰ و ۱۰۰ میلی‌مولاًر) کاهش داد، این اثر تدریجی نانوذرات زمانی که در غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اعمال شد، بر جسته تر بود. کاربرد نانوذرات سبب افزایش خصوصیات کمی و کیفی گل جعفری از جمله وزن تر گل (به میزان ۲/۲۳ درصد) شد. نانوذرات در غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ (۷/۲۰ درصد)، محتوای فنل کل (۵/۹۶ درصد)، محتوای فلاونوئیدهای کل (۹۱/۳۴ درصد) و میزان پتاسیم برگ (۰/۵۵ درصد) در شرایط تنفس شوری گردید. همچنین در این تیمار، کم ترین میزان سدیم برگ (۰/۱۶۲ درصد)، نشت یونی (۴۴/۲۵ درصد) و مالون دی‌آلدئید (۵۶/۲۱ درصد) یادداشت شد. نتایج حاضر نشان داد

* نویسنده مسئول: عبدالله احشام نیا

رایانامه: Ehteshamnia.ab@lu.ac.ir

کاربرد نانوذرات نقره در بهبود تحمل به شوری در گیاه جعفری فرانسوی مفید بود و کاربرد غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میلی-گرم در لیتر این ماده می‌تواند اثرات تنفس شوری را کاهش دهد، در حالی که در غلظت‌های بالاتر (۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر) احتمالاً به دلیل سمیت یون نانوذرات برای بهبود رشد و گلدهی این گیاه در مناطق شور پیشه‌هاد نمی‌شود.

کلید واژه‌ها: پرولین، میزان پتانسیم برگ، محتوای نسبی آب، نانوذرات

تغییر فرایندهای فیزیولوژیکی ناشی از سمیت، کمبود یا تغییر در تعادل عناصر معدنی می‌شود (Bybordi, 2012). در دهه اخیر، تمایل به استفاده از ترکیبات نانوذرات فلزات در بخش کشاورزی، ژنتیک و اصلاح گیاهی، علوم دامی و علوم باگبانی رایج شده است (Solgi and Taghizadeh, 2017). نانوذرات توده‌های مولکولی یا اتمی هستند که حداقل یک بعد آن‌ها بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر باشد (Donaldson *et al.*, 2005) که در مقایسه با مواد غیر نانویی به طور قابل توجهی می‌توانند خواص فیزیکی و شیمیایی خود را تغییر دهند. نانوذرات می‌توانند از مواد حجمی بسیار متنوعی ایجاد شوند که فعالیت آن‌ها بستگی به ترکیب شیمیایی و همچنین اندازه و شکل آن‌ها دارد (Allafchian *et al.*, 2018; Donaldson *et al.*, 2005). نانوذرات در مقایسه با مواد حجمی، حلالیت، سطح و واکنش-پذیری بیشتری دارند. بنابراین، موقعیت امیدوارکننده‌ای را برای بهبود اثرات مضر تنفس غیرزیستی و زیستی برای دستیابی به هدف کشاورزی پایدار در سطح جهانی به دست آورده‌اند (Nejatzadeh, 2021). نانوذرات اولین بار توسط وزارت کشاورزی آمریکا در سال ۲۰۰۳، فناوری نانو در بخش‌های مختلف کشاورزی استفاده شد. در میان آن‌ها نانوذرات فلزی از قلیل نقره، طلا، پلاتین و پالادیم دارای کاربردهای زیادی در زمینه‌های مختلف علمی مانند دارو، پزشکی، مهندسی پزشکی و مهندسی کشاورزی هستند (Allafchian *et al.*, 2018). محققین معتقد‌اند که نانوذرات نقره به علت کوچک بودن و حلالیت بالا سریع‌تر توسط گیاهان جذب می‌شوند و بنابراین با کاربرد این مواد شرایط بهینه برای رشد گیاه ایجاد می‌شود و از ایجاد هرگونه شرایط تنفسی در گیاه جلوگیری می‌شود، نانوذرات نقره با اندازه مناسب و پایداری شیمیایی قبل توجه در شکل و اندازه ثابت در محلول‌ها باقی می‌مانند. یکی از دلایل کاربرد گسترده این نانوذرات، پتانسیل ضدمیکروبی،

مقدمه

گل جعفری فرانسوی (*Tagetes patula* L.) یک گیاه زیستی مهم در فضای سبز، متعلق به تیره میناسانان^۱ بوده و پراکنیش آن بیشتر در مناطق معتدل و حاره می‌باشد (Funk *et al.*, 2007). جعفری فرانسوی، به عنوان گل جعفری پاکوتاه با ارتفاع ۲۰ تا ۳۰ سانتی‌متر شناخته شده است (Romagnoli *et al.*, 2005). گل جعفری در فضای سبز شهری با داشتن تنوع رنگ گل و داشتن ارقام پاکوتاه و پابلند به صورت گسترده کشت می‌شود به همین علت بررسی واکنش گیاه در شرایط تنفس‌های محیطی از اهمیت بالایی برخوردار است. تنفس‌های غیرزیستی همانند شوری تهدیدی جدی برای کشاورزی جهان به شمار می‌آیند. شوری عبارت است از حضور بیش از اندازه نمک‌های حل شده و عناصر معدنی محلول در آب و خاک که منجر به انباست نمک در ناحیه ریشه و ایجاد اختلال در Mosa *et al.*, (2017). تخمین زده می‌شود که ۸۰۰ میلیون هکتار از زمین‌های زراعی جهان تحت تأثیر شوری مهم‌ترین نمک عامل ایجاد آن یعنی سدیم کلرید هستند که باعث می‌شود محصولات آن‌ها دچار خسارت شود (Josine *et al.*, 2013). شوری مهم‌ترین عامل محدود کننده رشد گیاه در جهان است که گفته شده که ۵۰ درصد سطح زمین‌های تحت آبیاری در کشور با درجات مختلف شوری روبرو می‌باشند و پیش‌بینی شده که این میزان تا ۷۵ درصد کل زمین‌های فاریاب کشور پیشروی کند (Kalher *et al.*, 2018). تنفس شوری منجر به سمیت یون، عدم تعادل مواد غذایی و تنفس اسمزی می‌گردد (Yin *et al.*, 2013). تنفس شوری از طریق مکانیسم اسمزی به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک، باعث اختلال در تعرق و فتوسترنز می‌شود. مکانیسم اثر سمیت یونی نیز مربوط به جذب یون و

2021). در مطالعه‌ای به بررسی تاثیر نانوذرات نقره بر تحمل شوری در گیاه مرزه در طول آزمایش‌های جوانه‌زنی درون شیشه‌ای پرداختند. بررسی‌ها نشان داد که استفاده از نانوذرات نقره در بهبود تحمل به شوری در گیاهچه مرزه مفید بود و کاربرد آن ممکن است تفاوت مکانیسم‌های دفاعی گیاهان را در برابر سمیت نمک تحریک کند (Nejatzadeh, 2021). در مطالعه‌ای به بررسی تاثیر نانوذرات نقره بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه آویشن دنایی^۱ و آویشن باغی^۲ در شرایط تنفس شوری پرداخته شد. نتایج نشان داد که نانوذرات نقره در غلظت ۱۰ میلی لیتر، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه را در سطح تنفس ۲۰۰ میلی مولار افزایش داد، همچنین در سطح تنفس ۱۰۰ میلی مولار، شاخص بنیه بذر و طول ساقه‌چهه‌ها در غلظت نانو نقره ۲۰ و ۳۰ میلی مولار نانوذرات مؤثر بود (Qavam et al., 2018). در مطالعه‌ای به بررسی اثر شوری و نانوذرات نقره بر پارامترهای رشد و ویژگی‌های بیوشیمیایی پدازه زعفران تیمار شده در شرایط غوطه‌ور پرداخته شد، نتایج نشان داد که نانوذرات نقره مقاومت گیاه به شوری افزایش می‌دهد کاربرد نانوذرات نقره در بهبود صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گیاه دارویی ریحان تاثیر مثبتی داشته و می‌توان با استفاده بهینه از نانوذرات نقره باعث افزایش مقاومت به شوری گیاه ریحان در مراحل جوانه‌زنی در شرایط آزمایشگاهی پرداخته شد. نتایج این بررسی نشان داد که (Karimijafari et al., 2020) در پژوهشی دیگر، اثر نانوذرات روی و اکسیدروی بر شاخص‌های رشدی گیاه رزماری مورد بررسی قرار گرفت و گزارش شد که بالاترین محتوای پتاسیم برگ، وزن خشک اندام هوایی و محتوای کلروفیل در تیمار با نانوذرات روی در مقایسه با تیمار شاهد و اکسیدروی به دست آمد (Hasanpouraghdam et al., 2021). در آزمایشی با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر روی گل زنبق مردابی نشان داده شد که بیشترین تعداد برگ، طول گیاهچه، بیشترین میزان کلروفیل^a، کلروفیل^b و کاروتوئید در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر نانوذرات نقره حاصل شد. همچنین بیان کردند که بیشترین میزان فل کل در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات نقره و بیشترین میزان فلاونوئید در غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات نقره به دست آمد (Pourbeyrami et al., 2021).

در پژوهشی دیگر نیز اثر محلول پاشی نانوذرات نقره بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و خواص آنتی‌اکسیدانی کنگره فرنگی در تنفس شوری گزارش شد که محلول پاشی نانوذرات

ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است. خاصیت زیستی ذرات نقره به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن‌ها به ویژه ابعاد آن‌ها بستگی دارد، به نحوی که با تبدیل ذرات به ابعاد کوچک در حد نانومتر، خاصیت ضدیکروبی آن‌ها به شدت افزایش می‌یابد (Nejatzadeh, 2021). به نظر می‌رسد نانوذرات نقره می‌تواند به عنوان یک مولکول پیام‌رسان با افزایش توان دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه خسارات ناشی از گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن را کاهش دهد و بدین ترتیب پایداری غشا افزایش و نشت یونی کاهش یابد. در مطالعه (Langroudi et al., 2019) در گل آلتسترومیرا نشان دادند، تیمار با نانوذرات نقره و انسان‌های گیاهی که به عنوان عوامل ضد میکروبی عمل می‌کنند، روابط آبی را بهبود می‌بخشد به طوری که نشت الکتروولیت برگ از این طریق افزایش نمی‌یابد و منجر به تاخیر در پیری گل می‌شود.

در پژوهشی به بررسی تاثیر نانوذرات نقره بر تحمل به شوری گیاه ریحان در مراحل جوانه‌زنی در شرایط آزمایشگاهی پرداخته شد. نتایج این بررسی نشان داد که کاربرد نانوذرات نقره در بهبود صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گیاه دارویی ریحان تاثیر مثبتی داشته و می‌توان با استفاده بهینه از نانوذرات نقره باعث افزایش مقاومت به شوری گیاه ریحان در مراحل مختلف جوانه‌زنی شد (Darvishzadeh et al., 2015). در پژوهشی، اثر تنفس شوری بر ویژگی‌های رشدی، فیزیولوژیکی و عمرانبارمانی جعفری فرانسوی تیمار شده با اتانول مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج پژوهش نشان داد که تنفس شوری ۱۰۰ میلی مولار نمک باعث کاهش زیست توده گیاه و ارتفاع بوته شد و اثر منفی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند بسته شدن روزنه و محتوای کلروفیل داشت (Chrysargyris et al., 2018). در مطالعه‌ای تاثیر نانوذرات نقره بر گیاه کتان در شرایط تنفس شوری بررسی شد. نتایج نشان داد ترکیب نانوذرات نقره باعث افزایش رنگدانه‌های فتوستتری، افزایش قندهای محلول، پرولین و پروتئین‌های محلول شد. پراکسیدهیدروژن و مالوندی‌آلدید کاهش یافت در حالی که آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در پاسخ به نانوذرات افزایش یافت (Khalofah et al., 2018).

1- Thymus daenensis

2- Thymus vulgaris L.

دقیقه ضدغونی و بعد از آن ۳ بار و هر بار یک دقیقه با اب مقطور شسته شدن. ۵ گرم از پودر اندام‌های گیاه مرزه در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول حل شد (برای محلول آبی در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب) و در سه زمان مختلف هر ۷۲ ساعت یک بار اتانول را در ظرف ریخته و اتانول تازه افزوده شد و بعد از جمع آوری در یخچال نگهداری و با استفاده از دستگاه روتاری تغییض شد. عصاره تغییض شده وزن شده ریخته و خشک شد و تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری شد. برای تهیه محلول ۵ میلی-مولار نیترات نقره مقدار ۰/۰۲۸ گرم از نیترات نقره در ۳۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل گردید و برای ادامه کار در تاریکی نگهداری شد. برای ستر نانوذرات نیترات نقره ۳ میلی-مولار تهیه و ۵ میلی‌لیتر عصاره به آن اضافه و بعد از گذاشتن در فضای تاریک به مدت ۲۴ ساعت نانوذرات نقره ستر شد. برای جداسازی نانوذرات از دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد (Kaviani and Osfoori, 2018). محلول‌پاشی نانوفقره به صورت هفتگی به مدت ۵ مرتبه تا مرحله گلدھی اعمال شد. پس از ۳ مرحله کاربرد آب شور، یک بار آبشویی انجام گرفت و بالافاصله تیمار شوری مربوطه نیز اعمال گردید. محلول‌پاشی برگی با نانوذرات نقره در ۳ مرحله، چهار برگی، رشد کامل و گلدھی انجام گردید. پیش از کاربرد نانوذرات نقره جهت همگنی و پراکندگی بهتر ذرات نانو، اولتراسونیک همثناپر (Hielscher UP400s, Teltow, Germany) به مدت ۳۰ دقیقه برای هر غلظت انجام گردید.

Table 1. Some characteristics of the soil used in the research.

| Soil Texture | C % | K ppm | P ppm | N % | EC ds/m | pH |
|--------------|------|-------|-------|------|---------|------|
| clay loam | ۱/۰۲ | ۳۴۶ | ۷/۸ | ۰/۰۷ | ۰.۷۲ | ۷/۴۰ |

نقره موجب بهبود ویژگی‌های رشدی از جمله وزن بوته، وزن تر و خشک ریشه، تعداد و طول برگ و همچنین ویژگی‌های فیزیولوژیکی از قبیل فلاونوئیدها، فل و آنتی‌اکسیدان‌ها شد (Shahraki *et al.*, 2021). بنابراین براساس مطالعات صورت گرفته، هدف اصلی پژوهش بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و گلدهی جعفری فرانسوی در شرایط تنفس شوری و کاربرد نانوذرات نقره بر تعديل اثرات منفی تنفس شوری بود.

مواد و روش

این آزمایش در اردیبهشت سال ۱۴۰۰ در گلخانه گروه علوم باگبانی، دانشکده کشاورزی واقع در شهرستان خرم‌آباد، استان لرستان انجام شد. بذرهای گل جعفری فرانسوی (*Tagetes patula L.*) از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد و بذرها و در گلدان‌های پلاستیکی (با ابعاد قطر دهانه ۱۶ و ارتفاع ۱۶ سانتی‌متر) حاوی محلول خاک لوم رسی، کود دامی پوسیده و ماسه با نسبت وزنی ۱:۲ کشت شد (جدول ۱). پیش از کشت، بستر کاشت با اضافه کردن ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از محلول قارچ‌کش تیوفانات متیل در یک لیتر آب ضدغونی شد و سپس کاشت بذر مورد نظر انجام شد. پس از استقرار بوته‌ها با حذف بوته‌های اضافی، اولین آبیاری بالافاصله پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی تا زمان استقرار کامل گیاه هر دو روز یکبار به صورت دستی صورت گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. فاکتور اول شامل تیمار شوری در چهار سطح (صفر، ۰/۰۷، ۰/۴۵، ۰/۴۴) و دوم کاربرد برگی تعديل کننده نانوفقره در چهار سطح (صفر، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. تیمار شوری پس از استقرار گیاهان در گلدان به صورت تدریجی با کاربرد غلظت کم نمک شروع شد. برای اعمال تیمار شوری، غلظت‌های مورد نظر تهیه و به صورت تدریجی در اختیار گیاه قرار گرفت. نانوذرات نقره مورد استفاده به روش ستر سبز و از دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. برای ستر نانو ذرات نقره از عصاره مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica Jamzad*) استفاده شد. ابتدا اندام‌های مرزه با سدیم هیپوکلریت ۳۰٪ به مدت ۵

تولید شده در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد و جذب سایر رنگیزهای اختصاصی نیز، در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت شد و غلاظت مالوندی‌آلدئید بر حسب میکرومول بر گرم وزن تازه برگ، با استفاده از رابطه (۳) محاسبه شد (Buege and Aust, 1978)

$$MDA = [(A532 - A600)/155] \times 1000 \quad (3)$$

پرولين

نمونه‌های برگی توسط ازت مایع در داخل هاون چینی خرد شد. سپس روی هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک ۳ درصد روی نمونه‌ها ریخته شد. سپس عصاره درون سانتریفیوژ با دمای ۴ درجه سلسیوس با دور ۱۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس دو میلی‌لیتر از عصاره صاف شده رویی را با دو میلی‌لیتر شناساگر ناین هیدرین و دو میلی‌لیتر استیک اسید خالص در فالکون ریخته و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. بعد از سرد شدن لوله‌های آزمایش (در حمام یخ) ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه ورتكس شدند تا دو فاز جداگانه تشکیل شد. سپس میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت مقدار پرولين بر اساس نمودار استاندارد پرولين و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ با استفاده از رابطه (۴) به دست آمد (Bates et al., 1973)

$$Proline = [(\mu\text{gr proline}/\text{ml} \times \text{ml toluene}/115.5)] / [(\text{gr samples}/5)] \quad (4)$$

اندازه‌گیری محتوای فنل کل

به منظور اندازه‌گیری محتوای فنل کل موجود در برگ، ۳۰۰ میکرولیتر عصاره با ۱۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷ درصد و ۰/۵ میلی‌لیتر فولین ۱۰ درصد مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار داده شد. سپس میزان جذب با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد و میزان فنل با استفاده از نمودار استاندارد گالیک اسید بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر وزن تر تعیین شد. سپس منحنی استاندارد از روی الگوی جذب ترسیم شد سپس میزان فنل کل با مقایسه نسبت به منحنی استاندارد، بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم وزن تر گیاه محاسبه گردید (Singleton et al., 1999).

بررسی ویژگی‌های مورد مطالعه نشت الکتروولیت

جهت تعیین میزان نشت الکتروولیت، ابتدا برگ‌های گیاه را با آب مقطر شسته، سپس دیسک‌هایی با اندازه مساوی (دو سانتی‌مترمربع) از برگ‌ها جدا شد. دیسک‌های تهیه شده را در لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی محلول توسط دستگاه سنجش هدایت الکتریکی تعیین شد (EC₁). پس از آن لوله‌های حاوی محلول، به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و پس از سرد شدن، هدایت الکتریکی آن (EC₂) ثبت و در نهایت طبق رابطه (۱) تعیین شد (Lutts et al., 1996):

$$EC = (EC_1/EC_2) \times 100 \quad (1)$$

محتوای نسبی آب

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، از هر گیاه (برگ‌های توسعه یافته بالایی) یک برگ (برگ دوم از بالا) جدا و وزن تر یادداشت شد و در لیوان حاوی آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. سپس برگ از آب خارج و رطوبت آن با استفاده از دستمال کاغذی گرفته شد و ماکریم وزن تر (وزن اشبع) آن اندازه‌گیری شد. در نهایت برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت درون آون در دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند و وزن خشک آن‌ها یادداشت گردید و محتوای نسبی از طریق رابطه (۲) به دست آمد (Ritchie and Hanson, 1990)

$$RWC = (FW - DW/TW - DW) \times 100 \quad (2)$$

FW: وزن تازه برگ، TW: وزن تورژسانس، DW: وزن خشک برگ

مالوندی‌آلدئید

نیم گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی حاوی پنج - میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد و تیوباریویوتیک ۰/۵ درصد آسیاب شده و عصاره به دست آمده سانتریفیوژ شد (به مدت ۱۵ دقیقه دور ۶۰۰۰). پس از سانتریفیوژ، محلول روبی به مدت ۲۵ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه قرار گرفت و پس از کاهش فوری دمای آن در حمام یخ، به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شد. ماده قرمز زنگ مالوندی‌آلدئید- تیوباریویوتیک

آنالیز آماری

برای تجزیه آماری از نرم افزارهای SAS Version 9.4 و Excel استفاده شد. مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب

تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنفس شوری در سطح احتمال ۱ درصد و اثر تعديل کننده نانوفقره در سطح ۵ درصد معنی دار شد، اما اثر متقابل دو پارامتر بر محتوای نسبی آب برگ ک معنی دار نشد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی تنفس شوری بر محتوای نسبی برگ نشان داد که تنفس شوری به طور معنی داری سبب کاهش این ویژگی شد، به طوری که در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد (عدم تنفس شوری) ۳/۰۵ و ۲۱/۶۵ درصد کاهش یافت و کمترین میزان (۶۴/۸۲ درصد) متعلق به تیمار ۱۰۰ میلی مولار تنفس شوری بود (شکل a). محلول پاشی نانوذرات نقره سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ شد، به طوری که در غلظت ۱۰ و ۵۰ میلی گرم در لیتر نسبت به سطح شاهد به ترتیب ۳/۳۷ و ۸/۲۲ درصد افزایش و در سطح ۱۰۰ میلی گرم در لیتر ۲ درصد کاهش یافت (شکل b). محتوای نسبی آب برگ، شاخصی برای نشان دادن وضعیت پتانسیل آبی گیاه بوده و کاهش این شاخص، به علت کاهش میزان جذب آب توسط گیاه است. نمک موجود در خاک، پتانسیل منفی ایجاد نموده، که در نتیجه آن، جذب آب توسط گیاه کاهش یافته و در نهایت خشکی فیزیولوژیکی به وجود می آید (Siahmansour *et al.*, 2020).

کاربرد نانوذرات نقره باعث بهبود وضعیت آب گیاه می شود و روابط نسبی برگ را افزایش می دهد. نانوذرات به واسطه خاصیت آبدوستی که دارند با آزاد کردن کم کم ذرات آب به گیاه کمک می نمایند که در شرایط تنفس به خوبی عمل کنند (Sabertanha *et al.*, 2017). گزارش شده که کاربرد نانوذرات نقره در غلظت ۶۰ میلی گرم در لیتر تاثیر قابل توجهی در کنترل تنفس شوری در گیاه مرزه و افزایش محتوای نسبی داشته که با نتایج پژوهش حاضر سازگار است (Nejatzadeh, 2021).

اندازه گیری محتوای فلاونوئیدهای کل

برای سنجش میزان فلاونوئید کل از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد. در این روش ابتدا ۱/۰ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد درون لوله های آزمایش ریخته شد. ۰/۱ میلی لیتر استات پتابسیم یک مولار به لوله ها اضافه و با محتويات آنها مخلوط شد، سپس ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر به لوله ها اضافه شد و در مرحله آخر ۰/۵ میلی لیتر از محلول عصاره متانولی برگ به محلول یاد شده اضافه شد. نمونه ها به مدت ۴۰ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفتند. سپس جذب نوری نمونه ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکترو فوتومتر تعیین شد. مقدار فلاونوئید کل برای هر کدام از عصاره ها بر حسب میلی - گرم کوئرستین برگرم وزن تر محاسبه شد. سپس منحنی استاندارد از روی الگوی جذب ترسیم و محتوای فلاونوئید کل با مقایسه نسبت به منحنی استاندارد، بر حسب میلی گرم کوئرستین در یک گرم وزن تر گیاه محاسبه شد (Kamali *et al.*, 2014).

اندازه گیری عناصر غذایی اندام هوایی

به منظور تهیه عصاره جهت اندازه گیری عناصر پتابسیم و سدیم ۰/۵ گرم از اندام هوایی خشک و آسیاب شده را وزن کرده و سپس در کوره با دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت خشک گردید و سپس در دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت قرار داده شد تا نمونه ها تبدیل به خاکستر شدند. سپس ۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به هر نمونه اضافه شد و در نهایت توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد. این عصاره به طور مستقیم جهت اندازه گیری پتابسیم و سدیم توسط دستگاه فلیم فوتومتری استفاده شد (Wahing *et al.*, 1989).

زمان غنچه دهی، زمان گلدھی کامل، وزن تر و خشک گل

زمان غنچه دهی و گلدھی کامل با شمارش تعداد روز از پس از کاشت تا مشاهده نخستین غنچه و گل کامل روی هر بوته اندازه گیری شد. جهت اندازه گیری وزن تر و خشک، از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ استفاده شد و سپس جهت اندازه گیری وزن خشک، هر اندام در آون به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۸۰ درجه سلسیوس خشک گردید.

Table 1. Variance analysis of traits of *T. patula* in NaCl salinity and silver nanoparticles treatment.

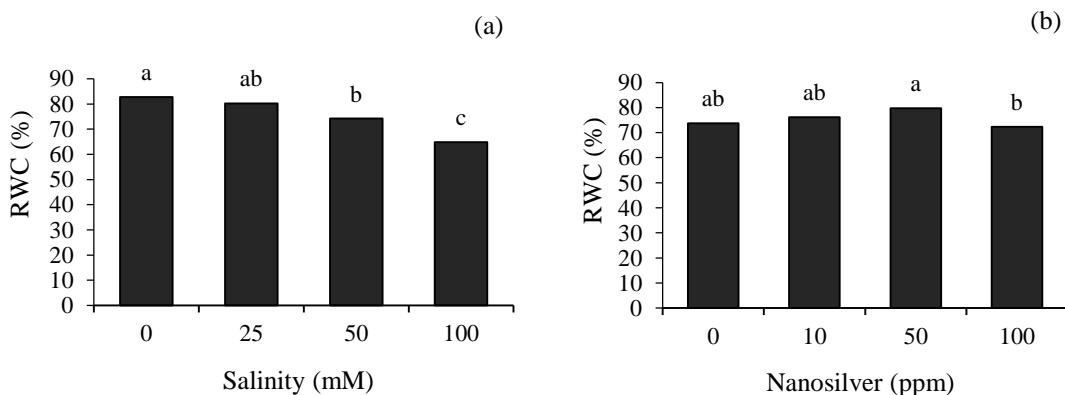
| S.O.V. | Df. | Mean squares | | | | | |
|----------------------|-----|---------------------|---------------------|---------|--------------|---------------------|---------|
| | | RWC | Electrolyte leakage | MDA | Total phenol | Total flavonoids | Proline |
| Salinity | 3 | 1015.30** | 1417.41** | 9.97** | 9.64** | 1.00** | 27.61** |
| Silver nano | 3 | 172.99* | 227.04** | 0.657** | 0.553** | 0.11* | 11.83** |
| Salinity*Silver nano | 9 | 12.76 ^{ns} | 11.05** | 0.196** | 0.232** | 0.046 ^{ns} | 1.16** |
| Error | 48 | 44.53 | 59.34 | 0.026 | 0.01 | 0.030 | 0.24 |
| CV. | - | 8.83 | 16.55 | 8.35 | 3.21 | 0.45 | 4.32 |

*, ** and ns: Significant at 5% and 1% levels of probability and non-significant, respectively.

Table 2. Variance analysis traits of *T. patula* in NaCl salinity and silver nanoparticles treatment.

| S.O.V. | Df. | Mean squares | | | | | |
|----------------------|-----|--------------|---------|--------------|----------------|---------------------|---------------------|
| | | Na | K | Budding time | Flowering time | Flower fresh weight | Flower dry weight |
| Salinity | 3 | 1.90** | 13.68** | 390.60** | 408.18** | 17.00** | 0.561** |
| Silver nano | 3 | 0.063** | 0.577** | 16.27** | 16.51** | 6.68** | 0.016 ^{ns} |
| Salinity*Silver nano | 9 | 0.015* | 0.439** | 26.86** | 5.54** | 0.494 ^{ns} | 0.001 ^{ns} |
| Error | 48 | 0.005 | 0.11 | 0.594 | 0.453 | 0.536 | 0.0011 |
| CV. | - | 2.31 | 4.33 | 5.12 | 10.11 | 5/7 | 7.08 |

*, ** and ns: Significant at 5% and 1% levels of probability and non-significant, respectively.

**Figure 1. Effect of salinity stress (a) and nanosilver application (b) on RWC of *T. patula***

افزایش داد تعديل کننده نانوذرات نقره سبب کاهش آن هم در شرایط تنفسی و هم غیر تنفسی شد به طوری که کمترین میزان (۰/۴۴۸ میکرو گرم در گرم وزن تازه) در سطح بدون تنفس و محلول پاشی ۱۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۳). از اکسیداسیون چربی های غشا، مالون دی آلدئید به وجود می آید، رادیکال های آزاد با تحریک واکنش های زنجیره ای، پراکسیداسیون غشا را افزایش داده و موجب نابودی غشا می شوند. علت کاهش مالون دی آلدئید در اثر

مالون دی آلدئید

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثرات اصلی و مقابله تنفس شوری و تعديل کننده اثر معنی داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان مالون دی آلدئید داشت. اثرات مقابله نشان داد که بیشترین مالون دی آلدئید (۳/۱۰۵ میکرو گرم در گرم وزن تازه) در تیمار ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و سطح شاهد (عدم محلول پاشی) مشاهده گردید. در حالی که تنفس شوری محتوای مالون دی آلدئید را

(۳۰/۳۶ درصد) در شرایط عدم تنفس شوری و کاربرد ۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره مشاهده گردید (جدول ۳). در اثر تنفس شوری، میزان رادیکال‌های آزاد و پراکسیدهیدروژن افزایش می‌یابد، نتیجه فعالیت این رادیکال‌های آزاد، پراکسیده شدن چربی‌های غشا، کاهش پایداری غشا و در نهایت افزایش نشت یونی خواهد بود (Ghasem *et al.*, 2021). به نظر می‌رسد نانوذرات نقره می‌تواند به عنوان یک مولکول پیام‌رسان با افزایش توان دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه خسارات ناشی از گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن را کاهش دهد و بدین ترتیب پایداری غشا افزایش و نشت یونی کاهش یابد. مطالعات نشان داده‌اند، تیمار با نانوذرات نقره و انسان‌های گیاهی که به عنوان عوامل ضد میکروبی عمل می‌کنند، روابط آبی را بهبود می‌بخشد به طوری که نشت الکتروولیت برگ از این طریق افزایش نمی‌یابد و منجر به تاخیر در پیری گل می‌شود (Najafi and Jamei, 2014).

نانوذرات نقره را می‌توان به نقش این نانوذرات در حذف رادیکال‌های آزاد، کاهش اکسیداسیون غشا و حفظ سیالیت غشا نسبت داد، تیمار گیاهان با نانوذرات سازوکار تبادل الکترونی سلولی را نشان می‌دهد که از نشت الکترون جلوگیری نموده و تولید پراکسیداسیون لبید و سطح مالون- دی‌آلثید را کاهش می‌دهد (Hassanvand *et al.*, 2021; Nejatzadeh, 2021).

نشت یونی

با توجه به جدول تجزیه واریانس اثرات اصلی و متقابل تنفس شوری و تعديل کننده‌ها بر نشت یونی در سطح احتمال یک درصد معنی دار گردید (جدول ۱). تنفس شوری سبب افزایش نشت یونی گیاه شد به طوری که بیشترین مقدار نشت یونی (۶۴/۷۱ درصد) در بالاترین سطح تنفس شوری (۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و عدم کاربرد تعديل کننده مشاهده گردید. نتایج همچنین نشان داد که کاربرد نانوذرات نقره سبب کاهش نشت یونی گیاه شد به طوری که کمترین مقدار

Table 3. Mean comparison for the effects of foliar application with nanosilver and salinity stress on MDA, electrolyte leakage, total flavonoid content and proline of *T. patula*

| Treatments | | Traits | | | |
|---------------|------------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|--|
| Salinity (mM) | Nanosilver (ppm) | MDA ($\mu\text{g g}^{-1}$ F.W.) | Electrolyte leakage (%) | Total phenol content (mg GA/g F.W.) | Proline ($\mu\text{mol g}^{-1}$ F.W.) |
| 0 | 0 | 0.825 ^{eg} | 40.64 ^{eh} | 0.895 ^h | 2.75 ^{gl} |
| | 10 | 0.448 ^g | 38.21 ^{fh} | 1.05 ^{gh} | 1.67 ^j |
| | 50 | 0.575 ^{fg} | 30.36 ^h | 1.25 ^g | 2.21 ^{ij} |
| | 100 | 0.874 ^{ef} | 39.53 ^{fh} | 1.22 ^g | 2.43 ^{hi} |
| 25 | 0 | 0.886 ^{ef} | 45.30 ^{cg} | 1.91 ^{de} | 5.36 ^{bd} |
| | 10 | 0.925 ^{ef} | 41.59 ^{eg} | 1.62 ^f | 3.97 ^{eg} |
| | 50 | 0.929 ^{ef} | 38.09 ^{gh} | 1.88 ^{ef} | 3.19 ^{fi} |
| | 100 | 1.009 ^{ef} | 42.29 ^{eg} | 1.99 ^{ce} | 3.66 ^{eh} |
| 50 | 0 | 1.390 ^d | 50.89 ^{be} | 2.16 ^{bd} | 6.24 ^{ab} |
| | 10 | 1.194 ^{de} | 48.50 ^{cg} | 2.20 ^{bc} | 3.59 ^{fh} |
| | 50 | 1.062 ^{de} | 44.35 ^{dg} | 2.16 ^{bd} | 3.87 ^{eg} |
| | 100 | 1.185 ^{de} | 49.09 ^{cf} | 2.30 ^b | 3.56 ^{fh} |
| 100 | 0 | 3.105 ^a | 64.71 ^a | 3.16 ^a | 6.75 ^a |
| | 10 | 2.024 ^c | 55.94 ^{ac} | 2.22 ^{bc} | 4.38 ^{df} |
| | 50 | 2.110 ^c | 53.35 ^{bd} | 3.30 ^a | 4.88 ^{ce} |
| | 100 | 2.603 ^b | 61.67 ^{ab} | 3.20 ^a | 5.75 ^{ac} |

*Mean in each column and for each day with the same letter is not significantly different at 1% of probability level.

فلاونوئید کل معنی دار نشد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تنش شوری بر محتوای فلاونوئید کل نشان داد که با افزایش تنش شوری مقدار این ویژگی افزایش معنی داری داشت. به طوری که نسبت به سطح شاهد در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم به ترتیب $59/79$ ، $54/101$ و $52/251$ درصد افزایش یافت و در سطح تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار، بیشترین میزان ($68/0$) میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تازه) ثبت شد (شکل ۲-a). نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی محلول پاشی نانوذرات نقره نیز بر محتوای فلاونوئید نشان داد که کاربرد ۱۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره سبب کاهش محتوای فلاونوئید و کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر سبب افزایش آن شد، به طوری که نسبت به سطح شاهد در سطح ۱۰ میلی گرم در لیتر، $68/26$ درصد کاهش یافت و کمترین میزان ($27/0$) میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تازه) را نشان داد. در حالی که در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب $39/46$ و $39/12$ درصد افزایش یافت و در غلظت 100 میلی-گرم بر لیتر، بیشترین میزان ($42/54$) میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تازه) به دست آمد (شکل ۲-b). در شرایط تنش شوری، گیاهان ترکیبات فتلی (فل کل و فلاونوئیدها) را به عنوان آنتی اکسیدان های طبیعی آزاد می کنند. این ترکیبات از طریق گروه های هیدروکسیلی فراوان خود و نیز به عنوان عوامل فلز زدا، موجب کاهش رادیکال های آزاد می شوند و از این طریق از اکسیداسیون چربی های غشا جلوگیری می کنند (Isan, 2019). اثر نانوذرات نقره بر ترکیبات متابولیت ثانویه متغیر بوده و می تواند سبب کاهش و یا افزایش تولید این ترکیبات در گیاهان شود. برای نمونه نانو ذرات نقره با غلظت 50 میلی گرم در لیتر میزان فلاونوئید و فل کل را در ماش سبز به ترتیب افزایش و کاهش داد (Najafi and Jamei, 2014). گزارش شده که مقدار فل کل در گیاه گوجه فرنگی در تمام غلظت نانوذرات نقره در مقایسه با شاهد افزایش یافته که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (Karimi et al., 2016).

محتوا پرولین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی تنش شوری و تعديل کننده نانوذرات در سطح احتمال یک درصد بر محتوا پرولین معنی دار شد (جدول ۱). اثرات متقابل نشان داد که تنش شوری به طور معنی داری سبب افزایش مقدار آن شد در حالی که محلول پاشی تعديل کننده نانوذرات نقره سبب کاهش آن شد، به طوری که بیشترین محتوا پرولین ($75/6$) میکرومول بر گرم وزن تازه) در تیمار شاهد (عدم محلول پاشی) و سطح شوری 100 میلی مولار کلرید سدیم و کمترین محتوا پرولین ($7/1$) میکرومول بر گرم وزن تازه) در تیمار شاهد (عدم تنش شوری) و سطح محلول پاشی 10 میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره مشاهده گردید (جدول ۳). در شرایط تنش شوری، بیان ژن آنزیم دلتا-۱-پرولین-۵-کربوکسیلات سنتاز (P5CS) افزایش یافته که این آنزیم نقش کلیدی در سنتز پرولین دارد. در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم فوق، سنتز و تجمع پرولین نیز در اندام های گیاهی افزایش می یابد (Khosravian et al., 2022). همچنین افزایش سنتز پرولین در اثر تنش شوری، در اثر تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک، کاهش انتقال آن از آوند آبکش و نیز جلوگیری از اکسیداسیون پرولین در حین تنش می باشد (Zhang et al., 2021).

محتوا فل و فلاونوئید های کل

تجزیه واریانس نشان دهنده معنی دار بودن اثر اصلی تنش و تعديل کننده در سطح احتمال یک درصد بر محتوا فلاونوئید کل داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری و تعديل کننده نانوذرات نقره بر محتوا فل کل نشان داد که تنش شوری و محلول پاشی نانوذرات نقره سبب افزایش فل گیاه شد، به طوری که بیشترین محتوا فل ($16/3$ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تازه) در بالاترین سطح شوری (100 میلی مولار) و تیمار محلول پاشی 50 میلی گرم در لیتر نانوذرات مشاهده گردید. نتایج همچنین نشان داد که کمترین میزان ($95/18$) میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تازه) در سطح بدون تنش شوری (شاهد) و تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۳). تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش شوری در سطح احتمال یک درصد و اثر تعديل کننده نانوذرات در سطح پنج درصد معنی دار شد، اما اثر متقابل دو پارامتر بر محتوا

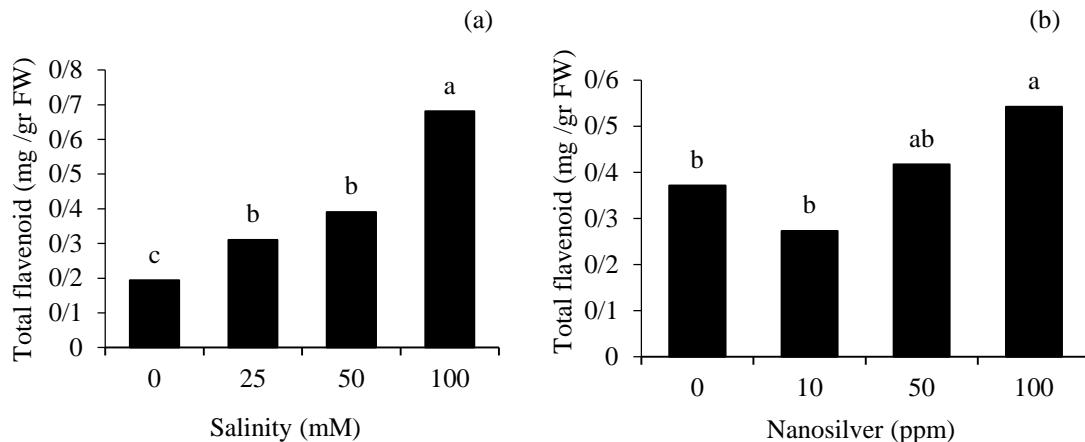


Figure 2. Effect of salinity stress (a) and nanosilver application (b) on total flavonoid content of *T. patula*

شاهد (بدون تنفس شوری) مشاهده گردید (جدول ۴). سازوکار جذبی که بین یون‌های مشابه مانند سدیم و پتاسیم وجود دارد، می‌تواند یک شاخص انتخاب مفید برای گزینش ارقام محتمل در برنامه‌های اصلاحی به منظور بهبود و جذب موثر عناصر غذایی باشد (Khan *et al.*, 2008). افزایش تنفس شوری سبب افزایش سدیم در محیط رشد ریشه و در نتیجه افزایش جذب آن می‌گردد. در نتیجه جذب سایر کاتیون‌های موثر در گیاه از جمله پتاسیم و کلسیم کاهش می‌یابد. پتاسیم یکی از کاتیون‌های پرصرف در گیاهان می‌باشد که نقش مهمی در رشد سلول، تحرکات برگی، سازش‌های متابولیک، جوانهزنی، تنظیم اسمزی و حرکات روزنگاری در برابر تنفس شوری (سدیم) دارد. در شرایط تنفس شوری نقش اصلی با یون‌های یک‌ظرفیتی بوده و به طور کلی یون سدیم مهم‌ترین عامل موثر در ایجاد تنفس است، از آنجایی که یون سدیم از فعالیت بسیاری آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند، بنابراین مقدار این یون در سیتوپلاسم باید در میزان حداقلی نگهداشته شود (Summart *et al.*, 2010). کاربرد نانوذرات نقره غلظت پتاسیم برگ تربچه را نیز در شرایط تنفس شوری افزایش و غلظت سدیم را کاهش داد (Jafari *et al.* 2013).

میزان پتاسیم و سدیم برگ

تجزیه واریانس نشان داد که میزان پتاسیم برگ تحت تاثیر معنی‌دار اثرات اصلی و متقابل تنفس شوری و تعديل کننده در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل مقدار پتاسیم برگ نشان داد که تنفس شوری به طور معنی‌داری سبب کاهش این عنصر شد درحالی که محلول پاشی تعديل کننده نانوذرات نقره سبب افزایش پتاسیم هم در شرایط تنفس شوری و هم عدم تنفس شوری گردید. به طوری که بیشترین میزان پتاسیم (۴۰۵۵ درصد) در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تعديل کننده و در سطح شاهد (بدون تنفس شوری) و کمترین مقدار عنصر پتاسیم (۰۹۹۰ درصد) در تیمار شاهد (بدون کاربرد تعديل کننده) و تنفس شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده گردید (جدول ۴). طبق نتایج تجزیه واریانس، اثرات اصلی تنفس شوری و تعديل کننده‌ها در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال پنج درصد بر میزان سدیم برگ معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محلول پاشی تعديل کننده نانوذرات نقره سبب کاهش سدیم هم در شرایط تنفس شوری و هم عدم تنفس شوری گردید. بیشترین میزان سدیم (۱۰۹۳ درصد) در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و تیمار شاهد (عدم محلول پاشی تعديل کننده) مشاهده گردید. همچنین کمترین مقدار سدیم (۰۱۶۲ درصد) در تیمار محلول پاشی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانونقره در سطح

Table 4. Mean comparison for the effects of foliar application with nanosilver and salinity stress on sodium, potassium, budding time and flowering time of *T. patula*.

| Treatments | | | Traits | | |
|------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|-------------------------|
| Salinity (mM) | Nanosilver (ppm) | Sodium (%) | Potassium (%) | Budding time (Day) | Flowering time (Day) |
| 0 | 0 | 0.195 ^h | 2.809 ^{bc} | 57 ^a | 67 ^a |
| | 10 | 0.177 ^h | 4.055 ^a | 56.5 ^{ab} | 70 ^a |
| | 50 | 0.162 ^h | 3.143 ^{ab} | 55 ^{bc} | 69 ^a |
| | 100 | 0.170 ^h | 2.857 ^{bc} | 45.75 ^{hi} | 65 ^b |
| 25 | 0 | 0.405 ^{fg} | 2.010 ^{cf} | 55 ^{bc} | 63 ^{bc} |
| | 10 | 0.346 ^{gh} | 2.263 ^{be} | 48.5 ^{fg} | 64 ^b |
| | 50 | 0.399 ^{fg} | 2.355 ^{be} | 50 ^f | 62 ^{de} |
| | 100 | 0.395 ^{fg} | 2.259 ^{be} | 44 ^{ij} | 62 ^{de} |
| 50 | 0 | 0.783 ^{cd} | 1.995 ^{cf} | 47 ^{gh} | 61 ^{ef} |
| | 10 | 0.568 ^{ef} | 1.715 ^{eg} | 52.25 ^e | 59.5 ^{fg} |
| | 50 | 0.613 ^{de} | 2.08 ^f | 53 ^{de} | 58 ^{gh} |
| | 100 | 0.811 ^{bc} | 1.549 ^{eg} | 45 ⁱ | 59 ^g |
| 100 | 0 | 1.093 ^a | 0.990 ^g | 54 ^{ce} | 57 ⁱ |
| | 10 | 0.836 ^{bc} | 1.87 ^{dg} | 54/5 ^{cd} | 58 ^{gh} |
| | 50 | 0.922 ^{ac} | 2.085 ^{cf} | 44 ^{ij} | 58 ^{gh} |
| | 100 | 1.002 ^{ab} | 1.133 ^{fg} | 43 ^j | 57 ⁱ |

*Mean in each column and for each day with the same letter is not significantly different at 1% of probability level.

داری داشت در حالی که تعديل کننده نانو نقره هم در سطح شاهد (بدون تنفس) و هم سطوح شوری، سبب افزایش این ویژگی شد، به طوری که بیشترین زمان برای گل دهی کامل (۷۰ روز) در تیمار محلول پاشی ۱۰ میلی گرم در لیتر تعديل کننده در سطح بدون تنفس شوری (شاهد) مشاهده گردید که با تیمار شاهد (عدم تنفس شوری و تعديل کننده) و تیمار محلول پاشی ۵۰ میلی گرم در لیتر بدون تنفس شوری و تیمار محلول پاشی ۵۰ میلی گرم در لیتر بدون تنفس شوری تفاوت معنی داری نداشت. همچنین کمترین زمان برای گل دهی کامل (۵۷ روز) در بالاترین سطح تنفس شوری (۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) با محلول پاشی ۱۰۰ میلی گرم در لیتر تعديل کننده و شاهد (بدون تعديل کننده) مشاهده شد (جدول ۴).

وزن تر و خشک گل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی تنفس شوری و تعديل کننده بر وزن تر گل در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد، اما اثرات متقابل دو تیمار معنی دار نبود (جدول ۲)، همچنین تجزیه واریانس برای وزن خشک گل نیز نشان داد که تنها اثر اصلی تنفس شوری بر این ویژگی در سطح احتمال یک درصد معنی دار گردید (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تنفس شوری بر وزن تر گل نشان داد که کلرید سدیم سبب کاهش معنی دار این ویژگی شد،

زمان غنچه دهی

تجزیه واریانس اثر تنفس شوری و تعديل کننده بر زمان غنچه دهی نشان داد که اثرات اصلی و متقابل دو تیمار بر این ویژگی در سطح احتمال یک درصد معنی دار گردید (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنفس شوری و تعديل کننده نانوذرات نقره بر زمان غنچه دهی گل جعفری (Tagest patula) نشان داد که با افزایش سطوح شوری زمان ظهور غنچه کاهش معنی داری داشت، در حالی که تعديل کننده نانو نقره هم در سطح شاهد (بدون تنفس) و هم سطوح شوری، سبب افزایش این ویژگی شد، به طوری که بیشترین زمان برای غنچه دهی (۵۷ روز) در تیمار شاهد (بدون تنفس شوری و تعديل کننده) مشاهده گردید. نتایج همچنین نشان داد که کمترین زمان برای غنچه دهی (۴۳ روز) در بالاترین سطح تنفس شوری (۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) و تیمار محلول پاشی ۱۰۰ میلی گرم در لیتر تعديل کننده مشاهده شد (جدول ۴).

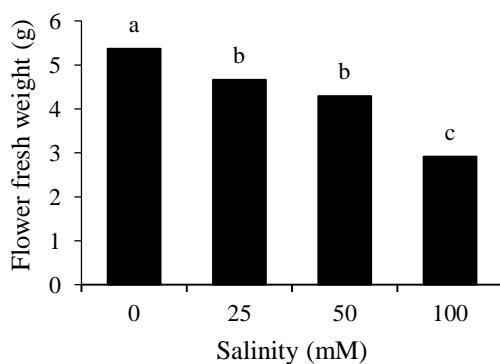
زمان گل دهی کامل

نتایج تجزیه واریانس اثرات اصلی و متقابل تنفس شوری و تعديل کننده نانو نقره بر زمان گل دهی کامل نشان دهنده معنی دار بودن اثرات بر این ویژگی بود (جدول ۲). با افزایش سطوح شوری، زمان گل دهی کامل کاهش معنی-

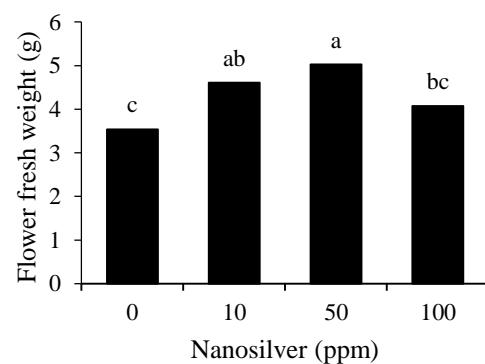
(۵/۰۲۴ گرم) یادداشت شد (شکل b-۳). همان‌طور که نتایج اثرات اصلی تنفس شوری بر وزن خشک گل نشان داد که این ویژگی در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سطح شاهد به ترتیب ۱۰/۹۴، ۱۰/۹۳ و ۴۶/۳۷ میلی‌مولار تنفس شوری به دست آمد (شکل a-۳). اثر اصلی درصد کاهش یافت و در تنفس شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، کم‌ترین میزان وزن خشک گل (۰/۴۹۴ گرم) مشاهده شد (شکل c-۳).

به‌طوری که در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار به ترتیب ۱۳/۲۱، ۱۹/۹۶ و ۴۵/۷۰ درصد نسبت به سطح شاهد کاهش یافت و کم‌ترین وزن تر (۲/۹۱ گرم) در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار تنفس شوری به دست آمد (شکل a-۳). اثر اصلی تعديل کننده نانونقره نیز نشان داد که کاربرد نانوذرات نقره سبب افزایش وزن تر گل شد، به‌طوری که در سطوح ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سطح شاهد به ترتیب ۱۰/۴۲، ۱۵/۴۶ و ۳۰/۳۱ میلی‌گرم بر لیتر نانونقره، بیش‌ترین میزان وزن تر گل

(a)



(b)



(c)

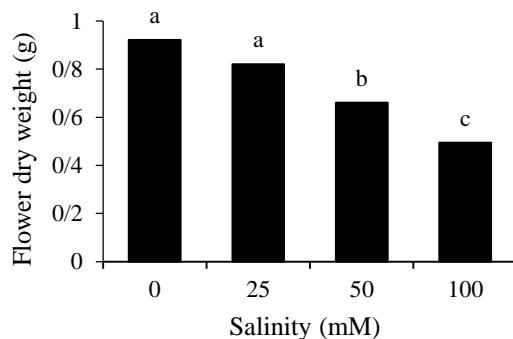


Figure 3. Effect of salinity stress (a, c) and nanosilver application (b) on flower fresh and dry weights of *T. patula*.

بنابراین می‌توان بیان نمود که کاربرد نانوذرات نقره به- صورت محلول‌پاشی در سطوح ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌تواند اثرات منفی ناشی از تنفس شوری را کاهش داده و موجب بهبود ویژگی‌های زینتی گل جعفری در سطوح تنفس شوری ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولا رشود.

سپاس‌گزاری

نویسنده‌گان از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان و گروه علوم و مهندسی باگبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان واحد خرم‌آباد، جهت مساعدت در انجام پژوهش حاضر سپاس‌گزاری می‌کنند.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه مشخص نمود که تنفس شوری اثر متفاوتی بر گلدهی و ویژگی‌های بیوشیمیابی جعفری فرانسوی دارد، به طوری که این گیاه نسبت به شوری شدید (۱۰۰ میلی‌مولا) حساس بوده و ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه دچار اختلال می‌شود. براساس نتایج مشاهده شده در این بررسی، تیمار نانوذرات نقره در غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در شرایط تنفس شوری، محتوای نسبی آب برگ، محتوای پتاسیم برگ، وزن تر و خشک گل و زمان غنچه‌دهی و گل‌دهی کامل را افزایش و در مقابل، نشت یونی، محتوای مالون‌دی‌آلدئید، پرولین، محتوای فلز و فلاونوئیدهای کل و محتوای سدیم برگ را کاهش داد.

References

- Allafchian, A.R., Jalali, A.H., Aghaei, F. & Farhang, H.R. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Glaucium corniculatum* (L.) Curtis extracts and evaluation of its Antibacterial activity. *IET Nanobiotechnol*, 12 (5), 574-578.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil J*, 39, 205-207.
- Buege, J.A. & Aust, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzyme*, 52, 302-310.
- Bybordi, A. (2012). Study effect of salinity on some physiologic and morphologic properties of two grape cultivars. *Life Science Journal*, 9, 1092-1101.
- Chrysargyris, A., Tzionis, A., Xylia, P., & Tzortzakis, N. (2018). Effects of Salinity on Tagetes Growth, Physiology, and Shelf Life of Edible Flowers Stored in Passive Modified Atmosphere Packaging or Treated with Ethanol. *Crop and Product Physiology, a section of the journal Frontiers in Plant Science*, 9, 1765. doi: 10.3389/fpls.2018.01765.
- Darvishzadeh, F., Nejatzadeh, F. & Iranbakhsh, A. (2015). The effect of silver nanoparticles on salinity tolerance of basil plants during the germination stages in laboratory conditions. *New Journal of Cell-Molecular Biotechnology*, 5 (20), 70-63. (In Persian)
- Donaldson, K., Oberdörster, G., Maynard, A., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Karn, B., Kreyling, W. & Lai, D. (2005). Principles for characterizing potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and Fibre Toxicology*, 2 (8).
- Funk, V.A., Chan, R. & Holland, A. (2007). Cymbonotus (Compositae: Arctotideae, Arctotidinae): an endemic Australian genus embedded in a southern African clade. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 153(1), 1-8.
- Ghasemi, V., Ehtesham Nia, A., Rezaei Nejad, A. & Mumivand, H. (2021). The effect of different levels of salinity stress and cultivar on biochemical and physiological characteristics and nutrient concentration of William Sweet (*Dianthus barbatus*). *Journal of Plant Production*, 30 (1), 1-19. DOI: 10.22069/JOPP.2021.19072.2815. (In Persian)
- Hasanpouraghdam, M.B., Vojodi Mehraban, L. & Shamsi Khotab, T. (2021). The effect of foliar application of Zinc oxide on some growth characteristics and elemental concentration of Rosemary under NaCl salinity. *The Plant Production (Scientific Journal of Agriculture)*, 44 (3), 421-432. (In Persian)
- Hassanvand, A., Saadatmand, S., Lari Yazdi, H. & Iranbakhsh, A.R. (2021). The effect of biosynthesized silver nanoparticles on some physiological and biochemical parameters of viola tricolor (*Viola tricolor* L.). *Journal of Plant Environmental Physiology*, 62 (16), 109-122. (In Persian)

بهزاد و همکاران: تاثیر تنفس شوری و کاربرد تعديل کننده...

- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, 52, 39.
- Josine, T.L., Ji, J., Wang, G. & Guan, C.F. (2013). Advances in genetic engineering for plants abiotic stress control. *African Journal of Biotechnology*, 10 (28), 5402-5413.
- Kalher, M., Dehestani, M., Shirmardi, M. & Gholam Nejad, J. (2018). The effect of different cultivation media on some physicochemical traits of marigold under salt stress. *Plant products (scientific journal of agriculture)*, 42 (1), 1-12. (In Persian)
- Kamali, M., Khosroyar, S. & Jalilvand, M. (2014). Evaluation of phenolic, flavonoids, anthocyanin contents and antioxidant capacities of different extracts of aerial parts of *Dracocephalum kotschy*. *JNKUMS*, 6, 627 -34.
- Karimi.jafari, A. & Hossein zadeh namil, M. (2020). The effect of salinity and nano silver on growth and biochemistry of saffron corms in soaking conditions. *Applied Biology*, 29 (1), 159-174. doi: 10.22051/jab.2016.2474
- Kaviani, N. & Osfoori, M. (2018). Biological Preparation of Silver Nanoparticles Using *Artemisia sieberi*. *Modar-es Journal of Biotechnology*, 9 (1), 23-27.
- Khalofah, A., Kilany, M. & Migdadi, H. (2021). Phytostimulatory influence of comamonas testosteroni and silver nanoparticles on *Linum usitatissimum L.* under salinity stress. *Plants*, 10 (4), 790.
- Khan, M.A., Shirazi, M.U., Khan, M.A., Mujtaba, S.M., Islam, E., Mumtaz, S., Shereen, A., Sharma, V.K., Yngard, R.A. & Lin, Y. (2008). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *advances in colloid and interface science*, 26, 2027-2038.
- Khosravian, Z., Ranjbar, M. & Ahadi, A.M. (2022). Investigating the effect of chitosan on gene expression, p5cs enzyme activity, and proline content in rapeseed (*Brassica napus L.*) under salt stress. *Agricultural Biotechnology Journal*, 14 (4), 181-200. DOI: 10.22103/jab.2022.18349.1348. (In Persian)
- Langroudi, M.E., Hashemabadi, D., KalateJari, S. & Asadpour, L. (2020). Effects of silver nanoparticles, chemical treatments and herbal essential oils on the vase life of cut alstroemeria (*Alstroemeria 'Summer Sky'*) flowers. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 95(2), 175-182.
- Lutts, S., Kinet, J.M. & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa L.*) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*. 78, 3. 389-398.
- Mosa, K., Ismail, A. & Ahmed Helmy, M. (2017). Introduction to Plant Stresses. https://doi.org/10.1007%2F978-3-319-59379-1_1.
- Najafi, S. & Jamei, R. (2014). Effect of silver nanoparticles and Pb (NO₃)₂ on the yield and chemical composition of mung bean (*Vigna radiata*). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 10 (1), 316-325.
- Nejatzadeh, F. (2021). Effect of silver nanoparticles on salt tolerance of *Satureja hortensis L.* during in vitro and in vivo germination tests. *Heliyon*, 7(2), e05981.
- Pourbeyrami Hir, Y., Mehri, S., Chamani, E. & Maleki Lajayer, H. (2021). The effect of silver nanoparticles on morphological and physiological properties of Iris pseudacorus under in vitro conditions. *Iranian journal of plant biology*, 13 (50), 1-14. (In Persian)
- Ritchie S.W. & Hanson A.D. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science Journal*, 30, 105-11.
- Romagnoli, C., Mares, D., Fasulo, M.P. & Bruni, A. (2005). Antifungal effects of α-terthienyl from *Tagetes patula* on five dermatophytes. *Phytotherapy Research*, 8(6), 332-336.
- 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 under salinity stress. *The Plant Production (Scientific Journal of Agriculture)*, 44 (1), 103-114. (In Persian)
- Siahmansour, S., Ehtesham-Nia, A. & Rezaeinejad, A. (2020). Effect of salicylic acid foliar application on Morphophysiological and biochemical traits of Goldenberry (*Physalis peruviana L.*) under salinity stress condition. *J. Plant Production Research*. 27, 1. 165-178. (In Persian)
- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).

- Solgi, M. & Taghizadeh, M. (2017). The Effects of Silver Nitrate, Thymol, Green Silver Nanoparticles and Chitosan on Vase Life of Carnation Cut Flowers cv. White Liberty. *The Plant Production (Scientific Journal of Agriculture)*, 40 (2), 1-12. (In Persian)
- Summart, J., Thanonkeo, P., Panichajakul, S., Prathepha, P. & McManus, M.T. (2010). Effect of salt stress on growth, inorganic ion and proline accumulation in (*Thai aromatic*) rice, Khao Dawk Mali 105, callus culture. *African journal of Biotechnology*, 9, 145-152.
- Wahing, I., Van, W., Houba, V.J.G. & Vander, J.J. (1989). Soil and plant analysis a series of syllabi. *Plant analysis procedure*. Wageningen agriculture university.
- Yin, L., Wang, S., Li, J., Tanaka, K. & Oka, M. (2013). Application of silicon improves salt tolerance through ameliorating osmotic and ionic stresses in the seedling of Sorghum bicolor. *Acta Physiology Plant*, 35, 3099-3107.
- Zhang, G., Wang, Y., Wu, K., Zhang, Q., Feng, Y., Miao, Y. & Yan, Z. (2021). Exogenous application of chitosan alleviates salinity stress in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Horticulturae*, 7, 342. doi.org/10.3390/horticulturae7100342.