


## 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 Behzad<sup>1</sup>, Abdollah Ehtesham Nia<sup>2\*</sup> , Mohamadreza Raji<sup>3</sup>, Hasan Mouvivand<sup>4</sup>,  
Majid Alikhani-Koupaei<sup>5</sup>

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., Mouvivand, 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<sup>-1</sup>) 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

تولیدات گیاهی، ۱۴۰۳، ۴۷(۲)، ۲۷۵-۲۹۱

<https://plantproduction.scu.ac.ir/>

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

Doi: 10.22055/ppd.2024.46214.21441

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۱



تولیدات گیاهی

مقاله پژوهشی

## تأثیر تنش شوری و کاربرد تعدیل کننده نانوذرات نقره بر گلدهی و برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی گل جعفری فرانسوی (*Tagetes patula* L.)

خاتون بهزاد<sup>۱</sup>، عبدالله احتشام نیا<sup>۲\*</sup>، محمدرضا راجی<sup>۳</sup>، حسن مومیوند<sup>۴</sup>، مجید علیخانی کوبائی<sup>۵</sup>

- 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 گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، سراوان، ایران

### چکیده

شوری یکی از اصلی‌ترین تنش‌های 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 تنش‌های غیرزیستی و به روش‌های متنوع، تحمل گیاهان را در برابر تنش‌ها بهبود می‌بخشد. 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 تنشی 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 میلی‌مولار سدیم کلرید، به ترتیب معادل ۰/۰۶۷، ۲/۴۵۰، ۵/۴۴۰ و ۹/۵۲۰ 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. بذرها 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 (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) کاهش داد، این اثر تدریجی نانوذرات نقره زمانی که در غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اعمال شد، برجسته‌تر بود. کاربرد نانوذرات نقره سبب افزایش خصوصیات کمی و کیفی گل جعفری از جمله وزن تر گل (به میزان ۲/۲۳ درصد) شد. نانوذرات نقره در غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ (۷/۷۰ درصد)، محتوای فنل کل (۵/۹۶ درصد)، محتوای فلاونوئیدهای کل (۳۴/۹۱ درصد) و میزان پنتاسیم برگ (۴/۰۵۵ درصد) در شرایط تنش شوری گردید. همچنین در این تیمار، کم‌ترین میزان سدیم برگ (۰/۱۶۲ درصد)، نشت یونی (۲۵/۴۴ درصد) و مالون‌دی‌آلدئید (۲۱/۵۶ درصد) یادداشت شد. نتایج حاضر نشان داد

\* نویسنده مسئول: عبدالله احتشام نیا

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 تنش شوری را کاهش دهد، در حالی که در غلظت‌های بالاتر (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) احتمالاً به دلیل سمیت یون نانوذرات برای بهبود رشد و گلدهی این گیاه در مناطق شور پیشنهاد نمی‌شود.

### کلید واژه‌ها: پرولین، میزان پتاسیم برگ، محتوای نسبی آب، نانوذرات

#### مقدمه

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 باغبانی 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 به‌طور قابل توجهی می‌توانند خواص فیزیکی و شیمیایی خود را تغییر دهند. نانوذرات می‌توانند از مواد حجیم 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 حجیم، حلالیت، سطح و واکنش-پذیری بیشتری دارند. بنابراین، موقعیت امیدوارکننده‌ای را برای بهبود اثرات مضر تنش 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 قبیل 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 معتقدند که نانوذرات نقره به‌علت 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 تنشی در گیاه جلوگیری می‌شود، نانوذرات نقره با اندازه مناسب و پایداری شیمیایی قابل توجه در شکل و اندازه ثابت در محلول‌ها باقی می‌مانند. یکی از دلایل کاربرد گسترده این نانوذرات، پتانسیل ضد میکروبی،

گل جعفری فرانسوی (*Tagetes patula* L.) یک گیاه زینتی مهم در فضای سبز، متعلق به تیره میناسانان<sup>۱</sup> بوده و پراکنش آن بیش‌تر در مناطق معتدله و حاره می‌باشد (Funk *et al.*, 2007). جعفری فرانسوی، به‌عنوان 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 پابند به‌صورت گسترده کشت می‌شود به همین علت بررسی واکنش گیاه در شرایط تنش‌های محیطی از اهمیت بالایی برخوردار است. تنش‌های 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 انباشت نمک در ناحیه ریشه و ایجاد اختلال در جذب آب کافی از محلول خاک می‌شود (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). تنش شوری منجر به سمیت یون، عدم تعادل مواد غذایی و تنش اسمزی می‌گردد (Yin *et al.*, 2013). تنش شوری از طریق مکانیسم اسمزی به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک، باعث اختلال در تعلق و فتوسنتز می‌شود. مکانیسم اثر سمیت یونی نیز مربوط به جذب یون و

۲۰۲۱). 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 دنیایی<sup>۱</sup> و آویشن باغی<sup>۲</sup> در شرایط تنش شوری پرداخته شد. نتایج نشان داد که نانوذرات نقره در غلظت ۱۰ میلی‌لیتر، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه را در سطح تنش ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش داد، همچنین در سطح تنش ۱۰۰ میلی‌مولار، شاخص بنیه بذر و طول ساقچه‌ها در غلظت نانو نقره ۲۰ و ۳۰ میلی‌مولار نانو نقره 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 (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 کاروتنوئید در غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره حاصل شد. همچنین بیان کردند که بیش‌ترین میزان فنل در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره و بیش‌ترین میزان فلاونوئید در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره به دست آمد (Pourbeyrami *et al.*, 2021). در پژوهشی دیگر نیز اثر محلول‌پاشی نانوذرات نقره بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و خواص آنتی‌اکسیدانی کنگر فرنگی در تنش شوری گزارش شد که محلول‌پاشی 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 ضد میکروبی آن‌ها به شدت افزایش می‌یابد (Nejatzadeh, 2021). به نظر می‌رسد نانوذرات نقره می‌تواند به‌عنوان 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 آلسترومریا نشان دادند، تیمار با نانوذرات نقره و اسانس‌های گیاهی که به‌عنوان عوامل ضد میکروبی عمل می‌کنند، روابط آبی را بهبود می‌بخشد به طوری که نشت الکترولیت 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 نانو ذرات نقره باعث افزایش مقاومت به شوری گیاه ریحان در مراحل مختلف جوانه‌زنی شد (Darvishzadeh *et al.*, 2015). در پژوهشی، اثر تنش شوری بر ویژگی‌های رشدی، فیزیولوژیکی و عمرانبارمانی جعفری فرانسوی تیمار شده با اتانول مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج پژوهش نشان داد که تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار 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 تنش شوری بررسی شد. نتایج نشان داد ترکیب نانوذرات نقره باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، افزایش قندهای محلول، پرولین و پروتئین‌های محلول شد. پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید کاهش یافت درحالی‌که آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در پاسخ به نانوذرات افزایش یافت (Khalofah *et al.*, )

1- *Thymus daenensis*2- *Thymus vulgaris* L.

دقیقه ضد عفونی و بعد از آن ۳ بار و هر بار یک دقیقه با آب مقطر شسته شدند. 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 تغلیظ شد. عصاره تغلیظ 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 سنتز نانو نقره، 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 سنتز شد. برای جداسازی نانوذرات از دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد (Kaviani and Osfoori, 2018). محلول پاشی نانونقره به صورت هفتگی به مدت ۵ مرتبه تا مرحله گلدهی اعمال شد. پس از ۳ مرحله کاربرد آب شور، یک بار آبشویی انجام گرفت و بلافاصله تیمار شوری مربوطه نیز اعمال گردید. محلول پاشی برگی با نانوذرات نقره در ۳ مرحله، چهار برگی، رشد کامل و گلدهی انجام گردید. پیش از کاربرد نانوذرات نقره جهت همگنی و پراکندگی بهتر ذرات نانو، اولتراسونیک همژنایزر (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	C	K	P	N	EC	pH
Texture	%	ppm	ppm	%	ds/m	
clay loam	۱/۰۲	۳۴۶	۷/۸	۰/۰۷	0.72	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، فنل 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 تنش شوری و کاربرد نانوذرات نقره بر تعدیل اثرات منفی تنش شوری بود.

### مواد و روش

این آزمایش در اردیبهشت سال ۱۴۰۰ در گلخانه گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی واقع در شهرستان خرم‌آباد، استان لرستان انجام شد. بذرها 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 مخلوط خاک لوم رسی، کود دامی پوسیده و ماسه با نسبت وزنی ۱:۱:۲ 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 ضد عفونی شد و سپس کاشت بذر مورد نظر انجام شد. پس از استقرار بوته‌ها با حذف بوته‌های اضافی، اولین آبیاری بلافاصله 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، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید، به ترتیب معادل ۰/۰۶۷، ۲/۴۵۰، ۵/۴۴۰ و ۹/۵۲۰ دسی‌زیمنس بر متر) و فاکتور دوم کاربرد برگی تعدیل کننده نانونقره در چهار سطح (صفر، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. تیمار شوری پس از استقرار گیاهان در گلدان بصورت 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 سنتز سبز و از دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. برای سنتز 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 رنگیزه‌های اختصاصی نیز، در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت شد و غلظت مالون‌دی‌آلدنید بر حسب میکرومول بر گرم وزن تازه برگ، با استفاده از رابطه (۳) محاسبه شد (Buege and Aust, 1978):

$$MDA = [(A532 - A600)/155] \times 1000 \quad (۳) \text{ رابطه}$$

### پرولین

نمونه‌های برگ 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 ورتکس شدند تا دو فاز جداگانه تشکیل شد. سپس میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت مقدار پرولین بر اساس نمودار استاندارد پرولین و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ با استفاده از رابطه (۴) به دست آمد (Bates et al., 1973):

$$Proline = [(\mu\text{gr proline/ml} \times \text{ml toluene}/115.5)]/[(\text{gr samplpes}/5)] \quad (۴) \text{ رابطه}$$

### 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 سانتی‌متر مربع) 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 ( $EC_1$ ). 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 ( $EC_2$ ) ثبت و در نهایت طبق رابطه (۱) تعیین شد (Lutts et al., 1996):

$$EC = (EC1/EC2) \times 100 \quad (۱) \text{ رابطه}$$

#### 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 ماکزیمم وزن تر (وزن اشباع) 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):

$$RWC = (FW - DW)/TW - DW \times 100 \quad (۲) \text{ رابطه}$$

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

#### مالون‌دی‌آلدنید

نیم گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی حاوی پنج - میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد و تیوباریوتیک ۰/۵ درصد آسیاب شده و عصاره به دست آمده سانتریفیوژ شد (به مدت ۱۵ دقیقه دور ۶۰۰۰). پس از سانتریفیوژ، محلول رویی 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 مالون‌دی‌آلدنید - تیوباریوتیک

## اندازه‌گیری محتوای فلاونوئیدهای کل

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

## اندازه‌گیری عناصر غذایی اندام هوایی

به منظور تهیه عصاره جهت اندازه‌گیری عناصر پتاسیم 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 ۵۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت قرار داده شد تا نمونه‌ها تبدیل به خاکستر شدند. سپس ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به هر نمونه اضافه شد و در نهایت توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. این عصاره به‌طور مستقیم جهت اندازه‌گیری پتاسیم و سدیم توسط دستگاه فلیم‌فوتومتری استفاده شد (Wahing et al., 1989).

## زمان غنچه دهی، زمان گلدهی کامل، وزن تر و خشک گل

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

## 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 تنش شوری در سطح احتمال ۱ درصد و اثر تعدیل کننده نانوقره در سطح ۵ درصد معنی دار شد، اما اثر متقابل دو پارامتر بر محتوای نسبی آب برگ معنی دار نشد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش شوری بر محتوای نسبی برگ نشان داد که تنش شوری به‌طور معنی داری سبب کاهش این ویژگی شد، به‌طوری که در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد (عدم تنش شوری) ۳/۰۵، ۳۳/۱۰ و ۶۵/۲۱ درصد کاهش یافت و کم‌ترین میزان (۶۴/۸۲ درصد) متعلق به تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار تنش شوری بود (شکل ۱-a). محلول‌پاشی نانوذرات نقره سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ شد، به‌طوری که در غلظت ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سطح شاهد به ترتیب ۳/۳۷ و ۸/۲۲ درصد افزایش و در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۲ درصد کاهش یافت (شکل ۱-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 می‌آید (Siahmansour et al., 2020). کاربرد نانو ذرات نقره باعث بهبود وضعیت آب گیاه می‌شود و رطوبت نسبی برگ را افزایش می‌دهد. نانوذرات به واسطه خاصیت آبدوستی که دارند با آزاد کردن کم ذرات آب به گیاه کمک می‌نمایند که در شرایط تنش به خوبی عمل کند (Sabertanha et al., 2017). گزارش شده که کاربرد نانوذرات نقره در غلظت ۶۰ میلی‌گرم در لیتر تاثیر قابل توجهی در کنترل تنش شوری در گیاه مرزه و افزایش محتوای نسبی داشته که با نتایج پژوهش حاضر سازگار است (Nejatzadeh, 2021).



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

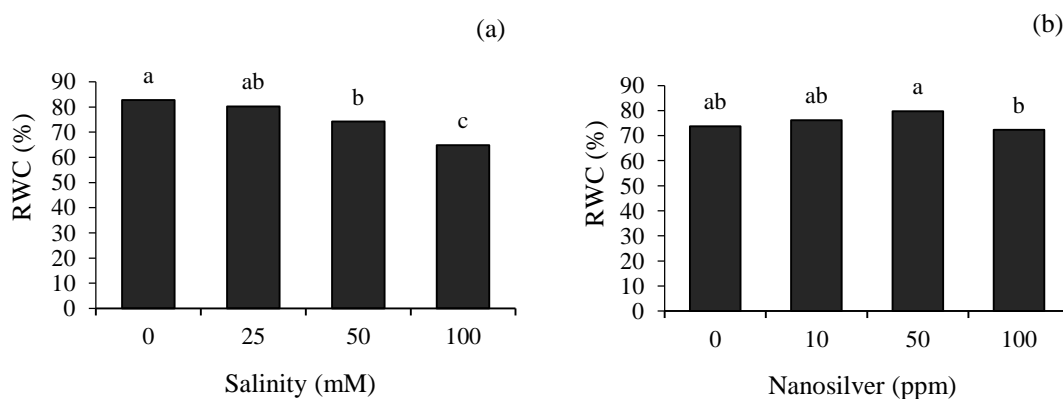
S.O.V.	Df.	Mean squares					
		RWC	Electrolyte leakage	MDA	Total phenol	Total flavonoids	Proline
Salinity	3	1015.30**	1417.41**	9.97**	9.64**	1.00**	27.61**
Silver nano	3	172.99*	227.04**	0.657**	0.553**	0.11*	11.83**
Salinity*Silver nano	9	12.76 <sup>ns</sup>	11.05**	0.196**	0.232**	0.046 <sup>ns</sup>	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 <sup>ns</sup>
Salinity*Silver nano	9	0.015*	0.439**	26.86**	5.54**	0.494 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>
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 تعدیل کننده نانوذرات نقره سبب کاهش آن هم در شرایط تنش و هم غیر تنش شد به طوری که کمترین میزان (۰/۴۴۸ میکروگرم در گرم وزن تازه) در سطح بدون تنش 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

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

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

**نشت یونی**

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

(۳۰/۳۶ درصد) در شرایط عدم تنش شوری و کاربرد ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره مشاهده گردید (جدول ۳). در اثر تنش شوری، میزان رادیکال‌های آزاد و پراکسید هیدروژن افزایش می‌یابد، نتیجه فعالیت این رادیکال‌های آزاد، پراکسید شدن چربی‌های غشا، کاهش پایداری غشا و در نهایت افزایش نشت یونی خواهد بود (Ghasem *et al.*, 2021). به نظر می‌رسد نانوذرات نقره می‌تواند به‌عنوان 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 اسانس‌های گیاهی که به‌عنوان عوامل ضد میکروبی عمل می‌کنند، روابط آبی را بهبود می‌بخشد به طوری که نشت الکترولیت برگ از این طریق افزایش نمی‌یابد و منجر به تاخیر در پیری گل می‌شود (Najafi and Jamei, 2014).

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 <sup>eg</sup>	40.64 <sup>eh</sup>	0.895 <sup>h</sup>	2.75 <sup>ej</sup>
	10	0.448 <sup>g</sup>	38.21 <sup>fh</sup>	1.05 <sup>gh</sup>	1.67 <sup>j</sup>
	50	0.575 <sup>fg</sup>	30.36 <sup>h</sup>	1.25 <sup>g</sup>	2.21 <sup>ij</sup>
	100	0.874 <sup>ef</sup>	39.53 <sup>fh</sup>	1.22 <sup>g</sup>	2.43 <sup>hj</sup>
25	0	0.886 <sup>ef</sup>	45.30 <sup>cg</sup>	1.91 <sup>de</sup>	5.36 <sup>bd</sup>
	10	0.925 <sup>ef</sup>	41.59 <sup>eg</sup>	1.62 <sup>f</sup>	3.97 <sup>eg</sup>
	50	0.929 <sup>ef</sup>	38.09 <sup>gh</sup>	1.88 <sup>ef</sup>	3.19 <sup>fi</sup>
	100	1.009 <sup>ef</sup>	42.29 <sup>eg</sup>	1.99 <sup>ce</sup>	3.66 <sup>eh</sup>
50	0	1.390 <sup>d</sup>	50.89 <sup>be</sup>	2.16 <sup>bd</sup>	6.24 <sup>ab</sup>
	10	1.194 <sup>de</sup>	48.50 <sup>cg</sup>	2.20 <sup>bc</sup>	3.59 <sup>fh</sup>
	50	1.062 <sup>de</sup>	44.35 <sup>dg</sup>	2.16 <sup>bd</sup>	3.87 <sup>eg</sup>
	100	1.185 <sup>de</sup>	49.09 <sup>cf</sup>	2.30 <sup>b</sup>	3.56 <sup>fh</sup>
100	0	3.105 <sup>a</sup>	64.71 <sup>a</sup>	3.16 <sup>a</sup>	6.75 <sup>a</sup>
	10	2.024 <sup>c</sup>	55.94 <sup>ac</sup>	2.22 <sup>bc</sup>	4.38 <sup>df</sup>
	50	2.110 <sup>c</sup>	53.35 <sup>bd</sup>	3.30 <sup>a</sup>	4.88 <sup>ce</sup>
	100	2.603 <sup>b</sup>	61.67 <sup>ab</sup>	3.20 <sup>a</sup>	5.75 <sup>ac</sup>

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

## محتوای پرولین

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 ۵۹/۷۹، ۱۰۱/۵۴ و ۲۵۱/۵۲ درصد افزایش یافت و در سطح تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار، بیشترین میزان (۰/۶۸۱) 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 ۲۶/۶۸ درصد کاهش یافت و کمترین میزان (۰/۲۷۲) میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تازه) را نشان داد. در حالی که در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب ۱۲/۳۹ و ۴۶/۰۹ درصد افزایش یافت و در غلظت ۱۰۰ میلی-گرم بر لیتر، بیشترین میزان (۰/۵۴۲) میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تازه) به دست آمد (شکل ۲-b). در شرایط تنش شوری، گیاهان ترکیبات فنلی (فنل کل و فلاونوئیدها) را به عنوان آنتی اکسیدان‌های طبیعی آزاد می‌کنند. این ترکیبات از طریق گروه‌های هیدروکسیلی فراوان خود و نیز به عنوان عوامل فلززدا، موجب کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شوند و از این طریق از اکسیداسیون چربی‌های غشا جلوگیری می‌کنند (Isan, 2019). اثر نانوقره بر ترکیبات متابولیت ثانویه متغیر بوده و می‌تواند سبب کاهش و یا افزایش تولید این ترکیبات در گیاهان شود. برای نمونه نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر میزان فلاونوئید و فنل کل را در ماش سبز به ترتیب افزایش و کاهش داد (Najafi and Jamei, 2014). گزارش شده که مقدار فنل 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).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی تنش شوری و تعدیل کننده نانوقره در سطح احتمال یک درصد بر محتوای 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 تعدیل کنند نانوذرات نقره سبب کاهش آن شد، به طوری که بیشترین محتوای پرولین (۶/۷۵) میکرومول بر گرم وزن تازه) در تیمار شاهد (عدم محلول پاشی) و سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و کمترین محتوای پرولین (۱/۶۷) میکرومول بر گرم وزن تازه) در تیمار شاهد (عدم تنش شوری) و سطح محلول پاشی ۱۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره مشاهده گردید (جدول ۳). در شرایط تنش شوری، بیان ژن آنزیم دلتا-۱-پرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) افزایش یافته که این آنزیم نقش کلیدی در سنتز پرولین دارد. در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم فوق، سنتز و تجمع پرولین نیز در اندام‌های گیاهی افزایش می‌یابد (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 می‌باشد (Zhang et al., 2021).

## محتوای فنل و فلاونوئیدهای کل

تجزیه واریانس نشان دهنده معنی دار بودن اثر اصلی تنش و تعدیل کننده در سطح احتمال یک درصد بر محتوای فلاونوئید کل داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری و تعدیل کننده نانوقره بر محتوای فنل کل نشان داد که تنش شوری و محلول پاشی نانوذرات نقره سبب افزایش فنل گیاه شد، به طوری که بیشترین محتوای فنل (۳/۱۶) میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تازه) در بالاترین سطح شوری (۱۰۰ میلی مولار) و تیمار محلول پاشی ۵۰ میلی گرم در لیتر نانوقره مشاهده گردید. نتایج همچنین نشان داد که کمترین میزان (۰/۸۹۵) 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 تعدیل کننده نانوقره در سطح پنج درصد معنی دار شد، اما اثر متقابل دو پارامتر بر محتوای

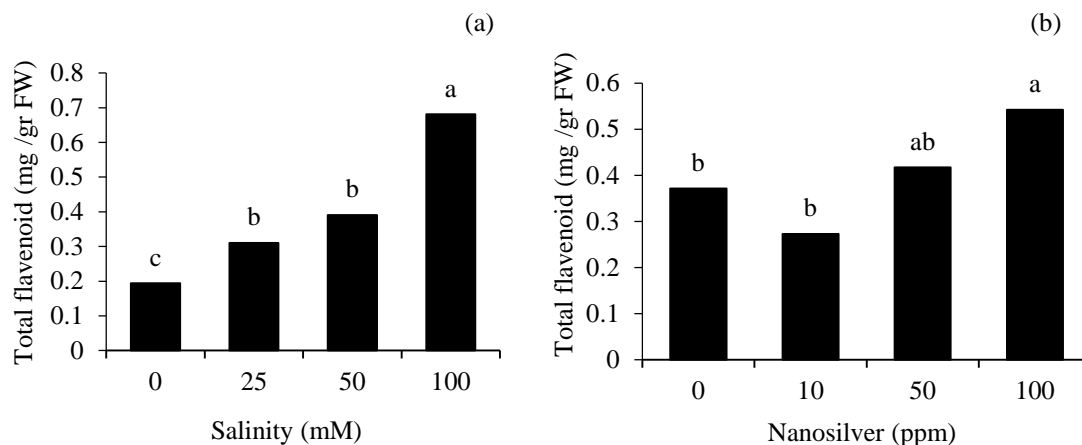


Figure 2. Effect of salinity stress (a) and nanosilver application (b) on total flavonoid content of *T. patula*

شاهد (بدون تنش 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 تنش 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 پرمصرف در گیاهان می‌باشد که نقش مهمی در رشد سلول، تحرکات برگ، سازش‌های متابولیک، جوانه‌زنی، تنظیم اسمزی و حرکات روزنه‌ای در برابر تنش شوری (سدیم) دارد. در شرایط تنش شوری نقش اصلی با یون‌های یک‌ظرفیتی بوده و به‌طور کلی یون سدیم مهم‌ترین عامل موثر در ایجاد تنش 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 تریچه را نیز در شرایط تنش 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 تنش شوری و تعدیل کننده در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل مقدار پتاسیم برگ نشان داد که تنش شوری به‌طور معنی‌داری سبب کاهش این عنصر شد درحالی‌که محلول‌پاشی تعدیل کننده نانوذرات نقره سبب افزایش پتاسیم هم در شرایط تنش شوری و هم عدم تنش شوری گردید. به‌طوری که بیش‌ترین میزان پتاسیم (۴/۰۵۵ درصد) در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تعدیل کننده و در سطح شاهد (بدون تنش شوری) و کم‌ترین مقدار عنصر پتاسیم (۰/۹۹۰ درصد) در تیمار شاهد (بدون کاربرد تعدیل کننده) و تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده گردید (جدول ۴). طبق نتایج تجزیه واریانس، اثرات اصلی تنش شوری و تعدیل 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 محلول‌پاشی تعدیل کننده نانوذرات نقره سبب کاهش سدیم هم در شرایط تنش شوری و هم عدم تنش شوری گردید. بیش‌ترین میزان سدیم (۱/۰۹۳ درصد) در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی تعدیل کننده) مشاهده گردید. همچنین کم‌ترین مقدار سدیم (۰/۱۶۲ درصد) در تیمار محلول‌پاشی 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 <sup>h</sup>	2.809 <sup>bc</sup>	57 <sup>a</sup>	67 <sup>a</sup>
	10	0.177 <sup>h</sup>	4.055 <sup>a</sup>	56.5 <sup>ab</sup>	70 <sup>a</sup>
	50	0.162 <sup>h</sup>	3.143 <sup>ab</sup>	55 <sup>bc</sup>	69 <sup>a</sup>
	100	0.170 <sup>h</sup>	2.857 <sup>bc</sup>	45.75 <sup>hi</sup>	65 <sup>b</sup>
25	0	0.405 <sup>fg</sup>	2.010 <sup>cf</sup>	55 <sup>bc</sup>	63 <sup>bc</sup>
	10	0.346 <sup>gh</sup>	2.263 <sup>be</sup>	48.5 <sup>fg</sup>	64 <sup>b</sup>
	50	0.399 <sup>fg</sup>	2.355 <sup>be</sup>	50 <sup>f</sup>	62 <sup>de</sup>
	100	0.395 <sup>fg</sup>	2.259 <sup>be</sup>	44 <sup>ij</sup>	62 <sup>de</sup>
50	0	0.783 <sup>cd</sup>	1.995 <sup>cf</sup>	47 <sup>gh</sup>	61 <sup>ef</sup>
	10	0.568 <sup>ef</sup>	1.715 <sup>eg</sup>	52.25 <sup>e</sup>	59.5 <sup>fg</sup>
	50	0.613 <sup>de</sup>	2.08 <sup>cf</sup>	53 <sup>de</sup>	58 <sup>gh</sup>
	100	0.811 <sup>bc</sup>	1.549 <sup>eg</sup>	45 <sup>i</sup>	59 <sup>g</sup>
100	0	1.093 <sup>a</sup>	0.990 <sup>g</sup>	54 <sup>ce</sup>	57 <sup>i</sup>
	10	0.836 <sup>bc</sup>	1.87 <sup>dg</sup>	54/5 <sup>cd</sup>	58 <sup>gh</sup>
	50	0.922 <sup>ac</sup>	2.085 <sup>cf</sup>	44 <sup>ij</sup>	58 <sup>gh</sup>
	100	1.002 <sup>ab</sup>	1.133 <sup>fg</sup>	43 <sup>j</sup>	57 <sup>i</sup>

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

### زمان غنچه‌دهی

داری داشت درحالی‌که تعدیل‌کننده نانونقره هم در سطح شاهد (بدون تنش) و هم سطوح شوری، سبب افزایش این ویژگی شد، به طوری که بیش‌ترین زمان برای گل‌دهی کامل (۷۰ روز) در تیمار محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تعدیل‌کننده در سطح بدون تنش شوری (شاهد) مشاهده گردید که با تیمار شاهد (عدم تنش شوری و تعدیل‌کننده) و تیمار محلول‌پاشی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بدون تنش شوری تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین کم‌ترین زمان برای گل‌دهی کامل (۵۷ روز) در بالاترین سطح تنش شوری (۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) با محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تعدیل‌کننده و شاهد (بدون تعدیل‌کننده) مشاهده شد (جدول ۴).

### وزن تر و خشک گل

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

تجزیه واریانس اثر تنش شوری و تعدیل‌کننده بر زمان غنچه‌دهی نشان داد که اثرات اصلی و متقابل دو تیمار بر این ویژگی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری و تعدیل‌کننده نانوذرات نقره بر زمان غنچه‌دهی گل جعفری (*Tagest patula*) نشان داد که با افزایش سطوح شوری زمان ظهور غنچه کاهش معنی‌داری داشت، درحالی‌که تعدیل‌کننده نانونقره هم در سطح شاهد (بدون تنش) و هم سطوح شوری، سبب افزایش این ویژگی شد، به طوری که بیش‌ترین زمان برای غنچه‌دهی (۵۷ روز) در تیمار شاهد (بدون تنش شوری و تعدیل‌کننده) مشاهده گردید. نتایج همچنین نشان داد که کم‌ترین زمان برای غنچه‌دهی (۴۳ روز) در بالاترین سطح تنش شوری (۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و تیمار محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تعدیل‌کننده مشاهده شد (جدول ۴).

### زمان گل‌دهی کامل

نتایج تجزیه واریانس اثرات اصلی و متقابل تنش شوری و تعدیل‌کننده نانونقره بر زمان گل‌دهی کامل نشان دهنده معنی‌دار بودن اثرات بر این ویژگی بود (جدول ۲). با افزایش سطوح شوری، زمان گل‌دهی کامل کاهش معنی-

بهبود و همکاران: تاثیر تنش شوری و کاربرد تعدیل کننده...

به طوری که در غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار 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 میلی مولار تنش شوری به دست آمد (شکل ۳-ا). اثر اصلی تعدیل کننده نانونقره نیز نشان داد که کاربرد نانوذرات نقره سبب افزایش وزن تر گل شد، به طوری که در سطوح ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نسبت به سطح شاهد به ترتیب ۳۰/۳۱، ۴۲/۲۰ و ۱۵/۴۶ درصد افزایش یافت و در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانونقره، بیشترین میزان وزن تر گل کلرید سدیم، کمترین میزان وزن خشک گل (۰/۴۹۴ گرم) مشاهده شد (شکل ۳-ب).

یادداشت شد (شکل ۳-ب). همان طور که نتایج اثرات اصلی تنش شوری بر وزن خشک گل نشان داد که این ویژگی در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نسبت به سطح شاهد به ترتیب ۱۰/۹۴، ۲۸/۳۳ و ۴۶/۳۷ درصد کاهش یافت و در تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار کمترین میزان وزن خشک گل (۰/۴۹۴ گرم) مشاهده شد (شکل ۳-ج).

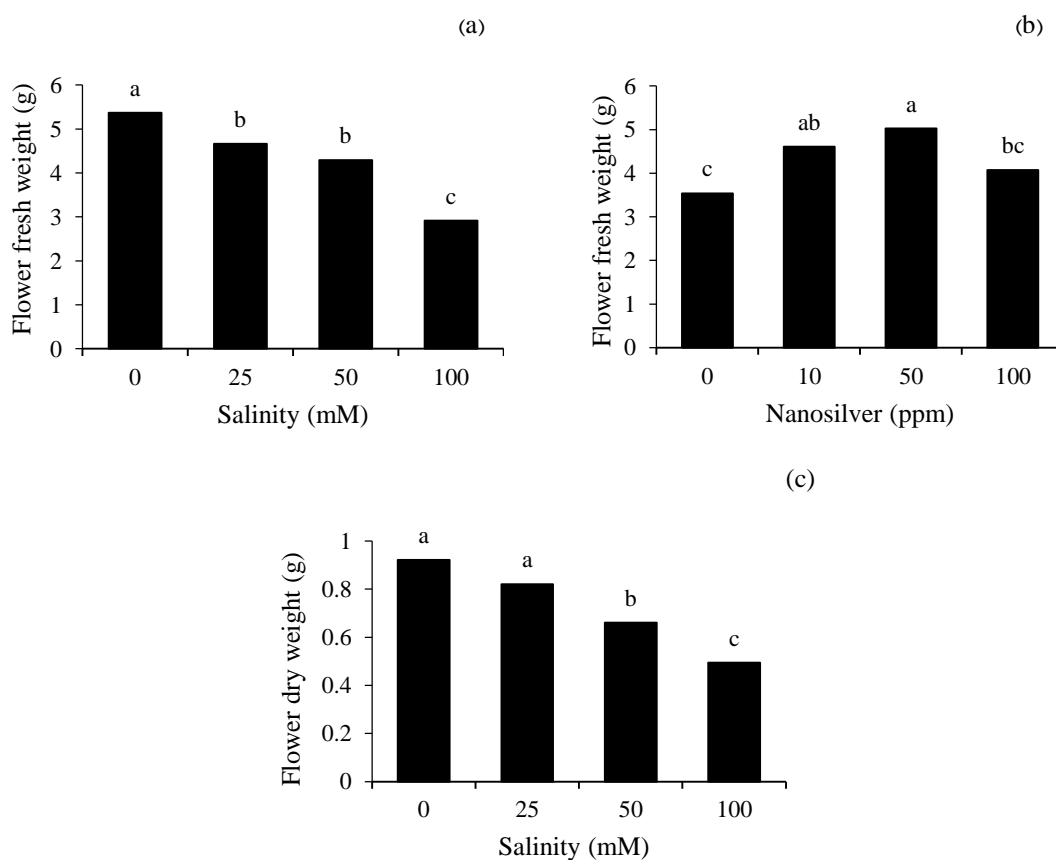


Figure 3. Effect of salinity stress (a, c) and nanosilver application (b) on flower fresh and dry weights of *T. patula*.

### نتیجه گیری

بنابراین می توان بیان نمود که کاربرد نانوذرات نقره به صورت محلول پاشی در سطوح ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر می تواند اثرات منفی ناشی از تنش شوری را کاهش داده و موجب بهبود ویژگی های زینتی گل جعفری در سطوح تنش شوری ۲۵ و ۵۰ میلی مولار شود.

نتایج این مطالعه مشخص نمود که تنش شوری اثر متفاوتی بر گلدهی و ویژگی های بیوشیمیایی جعفری فرانسوی دارد، به طوری که این گیاه نسبت به شوری شدید (۱۰۰ میلی مولار) حساس بوده و ویژگی های کمی و کیفی گیاه دچار اختلال می شود. براساس نتایج مشاهده شده در این بررسی، تیمار نانوذرات نقره در غلظت های ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر در شرایط تنش شوری، محتوای نسبی آب برگ، محتوای پتاسیم برگ، وزن تر و خشک گل و زمان غنچه دهی و گل دهی کامل را افزایش و در مقابل، نشت یونی، محتوای مالون دی آلدئید، پرولین، محتوای فنل و فلاونوئیدهای کل و محتوای سدیم برگ را کاهش داد.

### سپاس گذاری

نویسندگان از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان و گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان واحد خرم آباد، جهت مساعدت در انجام پژوهش حاضر سپاس گذاری می کنند.

### 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., & Tzortzakos, 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., Nejatizadeh, 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)
- Hasanpourghdam, 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)

- 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 kotschyi*. *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 inleaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinitary resistance. *Annul 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](https://doi.org/10.1007%2F978-3-319-59379-1_1).
- Najafi, S. & Jamei, R. (2014). Effect of silver nanoparticles and Pb (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 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  $\alpha$ -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.