مقاله پژوهشی

تأثیر نانوذرات سیلیکون بر شاخص‌های مورفو- فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) تحت تنش شوری در کشت هیدروپونیک

زینب ویسی، منصور قربانپور* و مرتضی اکرمیان

گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۷/۱۰)

چکیده

نانوذرات با توجه به گونه گیاهی، روش‌های مورد استفاده، شرایط کشت، غلظت و غیره می‌توانند اثرات متفاوتی بر القا فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیتی گیاهان داشته باشند. در این مطالعه اثرات سطوح مختلف نانوذرات سیلیکون (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و تنش شوری (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در شرایط کشت هیدروپونیک روی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمایی گیاه دارویی همیشه‌بهار انجام شد. تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی، جذب و انتقال نانوذرات سیلیکون توسط ریشه و برگ گیاهان در تیمارهای آزمایشی را تأیید کرد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات متقابل کاربرد نانوذرات سیلیکون و تنش شوری بر تمامی صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار (P< ۰/۰۵) بود. نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش ارتفاع گیاه، وزن خشک اندام هوایی، تعداد کاپیتول، قطر بزرگترین گل، عملکرد گل، کلروفیل کل و کارتنوئید و محتوی نسبی آب برگ شد. در مقابل کاربرد نانوذرات سیلیکون منجر به کاهش اثرات منفی تنش شوری (پراکسیداسیون لیپید)، بهبود پارامترهای رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی، عملکرد کمی (تولید گل) و کیفی (میزان کوئرسیتین) گیاه در مقایسه با شاهد شد و از این نظر بین سطوح نانوذرات سیلیکون اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت. نتایج حاصل از آنالیز عصاره‌ها با دستگاه HPLC نشان داد که بیشترین میزان کوئرستین (۳۰۹/۷۸ میکروگرم بر گرم وزن خشک) مربوط به تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار بود. همچنین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گل گیاه در تیمارهای مختلف آزمایشی تأثیر معنی‌داری (P < ۰/۰۱) بر مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان داد و روند تغییرات مشابهی با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی داشت. بنابراین، استفاده از غلظت مناسب نانوذرات سیلیکون در کاهش اثرات منفی تنش شوری و افزایش محتوی متابولیت‌های مهم دارویی گیاه همیشه‌بهار مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: همیشه‌بهار، نانو سیلیکون، تنش شوری، کوئرسیتین، عملکرد گل

مقدمه

افزایش جمعیت جهان، روند کاهش منابع آب شیرین و شور شدن زمین‌های کشاورزی، بررسی و ارزیابی در زمینه واکنش و گزینش گیاهان در شرایط نامناسب محیطی به‌ویژه شوری را ضروری ساخته است. سالانه هزینه‌ای بیش از ۲۷ بیلیون دلار برای جبران خسارت‌های ناشی از تنش شوری درکشاورزی

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

مصرف می شود (Ozturk *et al*., 2004). از آنجا که حل مسئله شوری و غلبه‌کردن بر آن مستلزم صرف تلاشی دراز مدت و هزینه هنگفت است، بنابراین آنچه که امروزه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، برنامه‌ریزی مناسب برای حل مشکل شوری و تلاش برای یافتن و پرورش گیاهانی است که بتوانند در شرایط شوری محیط نیز عملکرد قابل قبولی داشته باشند.

شوری خاک یکی از مشکلات اساسی در بسیاری از مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان از جمله ایران است. در این مناطق اغلب میزان بارندگی به اندازه‌ای نیست که بتواند نمک‌های خاک را شسته و از دسترس ریشه گیاه خارج کند و همچنین میزان تبخیر بالا از سطح خاک منجر به تجمع نمک در سطح خاک و شورترشدن خاک سطح الارض می‌شود (Aghai *et al*., 2014).

غلظت بالای نمک در خاک باعث کاهش نفوذپذیری خاک و پتانسیل آب خاک و درنتیجه ایجاد خشکی فیزیولوژیکی و اثر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه می‌شود. شوری پتانسیل آبی سوبسترا را کاهش می‌دهد و منجر به محدودیت جذب آب و مواد غذایی توسط گیاه می‌شود. همچنین، از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و افزایش نشت یونی درنهایت باعث کم‌شدن کارآیی فتوسنتز، کاهش بیوماس و تغییر در میزان اسمولیت‌ها و متابولیت‌های ثانویه گیاه می‌شود (Parida *et al*., 2007). کمیت و کیفیت محصول گیاهان دارویی نه تنها متأثر از فاکتورهای ژنتیکی گیاه است بلکه تحت تأثیر عوامل محیطی و شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک نیز قرار دارد (Duan *et al*., 2004).

همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)، گیاهی دارویی از تیره کاسنی که حاوی اسانس، فلاونوئید، ساپونین، رزین، اسیدهای آلی شامل اسید سالیسیلیک، ماده‌ای به نام کالندولین، صمغ، مواد لعابی، آلبومین و یک ماده رنگی در گلبرگ‌های خشک و اینولین در ریشه است (امید بیگی، ۱۳۷۶). با توجه به ارزش دارویی قوی این گیاه و کشت وسیع آن در سراسر دنیا، اما درباره تأثیر تنش شوری بر پارامترهای رشد و متابولیت‌های ثانویه آن اطلاعات جامعی در دسترس نیست. لیکن، Razmjoo و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی اثر شوری روی گیاه بابونه آلمانی دریافتند که با افزایش شوری، ارتفاع بوته، تعداد گل، تعداد شاخه فرعی، قطر کاپیتول، وزن تر و خشک گل کاهش یافت. همچنین، اعمال تنش شوری باعث کاهش ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد شاخه فرعی، وزن تر و خشک گیاه دارویی بادرنجبویه شد (Ozturk *et al*., 2004). نتایج مشابهی روی گیاه شیرین‌بیان در تیمار با سطوح مختلف شوری گزارش شده است (Cui *et al*., 2021).

ورود نانوفناوری به عرصه‌های مختلف علمی و صنعتی، دستاوردهای نوینی را ایجاد کرده است. این فناوری با کوچک کردن اندازه مواد موجب بروز ویژگی‌هایی از آنها می‌شود که قبلاً وجود نداشت یا محسوس نبود. نانوذرات با سلول‌های گیاهان برهمکنش داشته و بسته به خواص نانوذرات، تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی زیادی ایجاد می‌کنند (Hatami *et al*., 2016). اثر بخشی نانوذرات از روی ترکیب‌بندی شیمیایی، اندازه، پوشش سطح، واکنش‌پذیری و از همه مهم‌تر، میزان مصرف و غلظت آنان تعیین می‌شود (Khodakovskaya *et al*., 2012). در بین انواع مختلف نانوذرات، نانوسیلیکون اکسید فلزی مهمی است که خاصیت واکنش‌پذیری سطح به حجم بالایی دارد. آنها در سطح برگ از طریق روزنه و یا کرک‌ها وارد گیاه شده و سپس از طریق جریان شیره سلولی به اندام های مختلف انتقال می‌یابند (Nair *et al*., 2010). سیلیکون در گیاهان عالی معمولاً با نفوذ در ساقه و برگ باعث استحکام فیزیکی اندام‌ها می‌شود، همچنین، باعث بهبود فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی، تبادلات گازی و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌گردد که نتیجه آن افزایش کارآیی گیاه در مواجهه با انواع تنش‌های محیطی است (Etesami and Jeong, 2018). مطالعات نشان داده است که نانوذرات سیلیکون با افزایش فعالیت فتوسنتزی، بهبود وضعیت آب، کاهش جذب سدیم، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید در گیاهان در معرض تنش نسبت به سیلیکون مؤثرتر عمل کردند (Ghorbanpour *et al*., 2020; Tripathi *et al*., 2017). گزارشات اخیر محققین حاکی از این است که نانوذرات می‌توانند باعث جذب و انتقال بیشتر آب و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

مواد معدنی در گیاه شوند، همچنین، به عنوان ترکیبات پیام‌رسان برای واکنش‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی عمل کنند اما اساس مکانیسم آنها هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است (Rastogi *et al*., 2019).

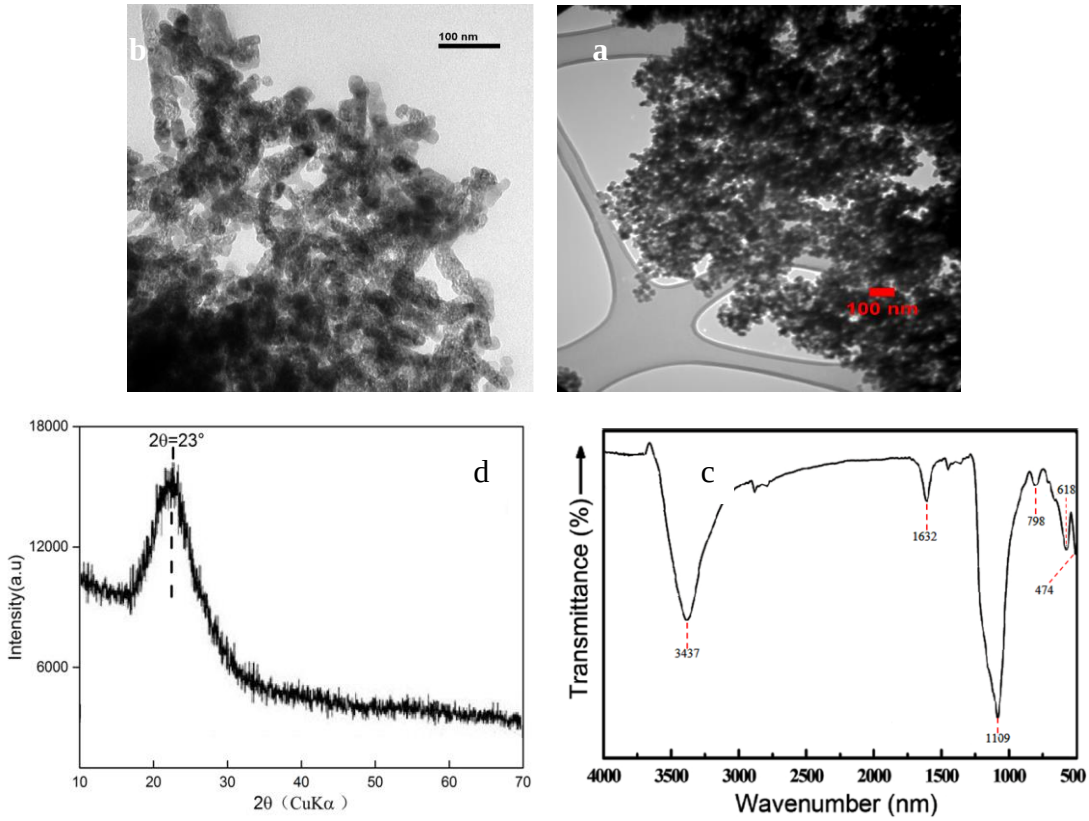
با توجه به اینکه اثرات مفید نانوذرات سیلیکون بر روی صفات مورفو- فیزیولوژیک و بیوشیمایی گیاه دارویی همیشه‌بهار کمتر گزارش شده است، همچنین، با توجه به روند روبه رشد شورشدن خاک‌های زراعی در مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور و لزوم پژوهش در زمینه یافتن راهکارهای تحمل و مقاومت به شوری در گیاهان این پژوهش نیز به‌منظور بررسی و ارزیابی اثر نانوذرات سیلیکون در شرایط شوری و برهمکنش آنها بر عملکرد و کیفیت محصول گیاه دارویی همیشه‌بهار انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تیمارهای آزمایش و شرایط رشد: این آزمایش در گلخانه پژوهشی گروه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی، دانشگاه اراک، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و در شرایط کشت هیدروپونیک اجرا شد. در این تحقیق، تأثیر محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیکون در چهار غلظت شامل صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر در سه سطح شوری شامل صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم روی گیاه همیشه‌بهار مورد بررسی قرار گرفت. بذر گیاه (با خلوص ۹۴٪، قوه نامیه ۹۰٪ و وزن هزار دانه ۱۲/۸ گرم) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. ابتدا بذرها با هیپوکلرید سدیم ۵ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شدند و سپس با آب‌مقطر به‌طور کامل چندین بار شستشو و در گلدان کشت شدند. در هر واحد آزمایشی ابتدا ۱۰ بذر کشت گردید. در طول دوران رشد مراقبت‌های لازم از قبیل آبیاری، حذف علف‌های هرز و سایر عملیات داشت به‌صورت مرتب انجام شد، پس از جوانه‌زنی و سبزشدن بوته‌ها، به‌تدریج به‌منظور جلوگیری از ایجاد رقابت بین بوته‌ای، اقدام به تنک کردن بوته‌های اضافی گردید. به‌طوریکه در هر واحد آزمایشی در نهایت دو بوته قوی‌تر نگهداری شد. آزمایش به‌صورت کشت بدون خاک در ماسه صورت گرفت. برای کشت از گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر استفاده گردید. کف هر گلدان به‌منظور زهکشی بهتر به‌طور یک اندازه سنگ‌ریزه قرار داده شد. در مجموع ۳۶ گلدان مورد استفاده قرار گرفت. گلدان‌ها تا زمان جوانه‌زنی بذر با آب‌مقطر آبیاری شدند. به‌دلیل سازگاری بهتر گیاه، پس از جوانه‌زنی به مدت یک هفته آبیاری با آب معمولی و محلول غذایی هوگلند (Hoagland and Arnon, 1950) با pH حدود ۷-۶/۵ و با غلظت ۱/۲ مورد استفاده قرار گرفت. گیاهان در شرایط کنترل شده از نظر دما (۲±۲۳ در جه سانتی‌گراد) و رطوبت نسبی (۶۰-۶۵٪) رشد یافتند. پیش از ورود به مرحله زایشی با مشاهده اولین نشانه‌های ظهور ساقه گل‌دهنده گیاه همیشه‌بهار تیمارهای شوری به‌مدت چهار هفته و محلول‌پاشی نانوذرات سیلیکون در دو مرحله اعمال گردید. تیمار شوری به‌همراه محلول غذایی هوگلند اعمال شد، به این صورت که گیاهان یک روز در میان (به‌مدت چهار هفته) تحت تیمار کلرید سدیم قرار گرفتند. مقدار ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول هوگلند و کلرید سدیم به هر گلدان داده شد. به‌منظور جلوگیری از تجمع نمک در بستر کشت هر هفته یک بار آبشویی بستر کشت صورت گرفت. نانوذرات سیلیکون در دو مرحله (مرحله اول: یک روز بعد از شروع تنش شوری و مرحله دوم: دو هفته بعد، به عبارت دیگر، مرحله اول: ۵۷ روز پس از کاشت و مرحله دوم: ۷۱ روز پس از کاشت) به‌صورت محلول‌پاشی برگی بر روی گیاهان اعمال شد. روی هر گیاه ۵۰ میلی‌لیتر محلول نانوذرات سیلیکون محلول‌پاشی گردید و برای شاهد نیز گیاهان مورد نظر با ۵۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر همزمان محلول‌پاشی شدند. برداشت گل‌های بازشده هنگامی که هنوز وارد مرحله تولید بذر نشده بودند به‌صورت روزانه انجام شد. بعد از گذشت یک ماه از برداشت گل نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری صفات مورد نظر صورت گرفت.

مشخصات نانوذرات سیلیکون: نانو سیلیکون مورد استفاده در این آزمایش از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]



شکل ۱- (a) تصویر میکروسکوپ الکترونی رویشی (SEM)، (b) تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، (c) طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)، (d) پراش اشعه ایکس (XRD) نانوذرات سیلسکون مورد استفاده در آزمایش

مطابق گواهی شرکت، میزان خلوص ۹۹٪، اندازه ۳۰-۲۰ نانومتر، سطح ویژه ۶۰۰-۱۸۰ مترمربع در گرم، چگالی انباشتگی ۰/۱۰> گرم در سانتی‌متر مکعب و چگالی واقعی ۲/۴ گرم در سانتی‌متر مکعب گزارش شده است. نانوذرات سیلیکون قبل از استفاده براساس تکنیک‌های مختلفی مشخصه‌یابی شدند که نتایج آن در شکل ۱ ارائه شده است (Ghorbanpour *et al.*, 2020). براساس آنالیز تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی (Hitachi، S-4160، ژاپن) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (LEO، 906E، Zeies، آلمان)، نانوذرات سیلیکون مورد آزمایش، کروی شکل و با قطر حدود ۲۰ تا ۳۰ نانومتر بودند. نتایج طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز نشان داد که وجود پیک‌های مشخصه در طیف جذبی ۱۱۰۹ و ۴۷۴ سانتی‌متر در مترمربع به‌ترتیب با گروه‌های عاملی Si-O-Si و Si-O مطابقت دارد. همچنین، بررسی طیف پراش اشعه ایکس پیک گسترده‌ای را در زاویه ۲۳ درجه نشان داد، که وجود سیلیکون در نانوذرات را تأیید می‌کند. مطابق نتایج آنالیزهای انجام‌شده، نانوذرات سیلیکون از پایداری و خلوص بالایی برخوردار بودند و به این دلیل در مطالعه حاضر استفاده شدند.

تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی: به‌منظور اطمینان از نفوذ و جذب نانوذرات سیلیکون به داخل اندام‌های گیاه، از ریشه و برگ گیاه تحت تیمارهای آزمایشی تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تهیه شد.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک: طی این آزمایش برخی صفات مورفولوژیک (شامل ارتفاع گیاه، وزن خشک اندام هوایی، تعداد کاپیتول، قطر بزرگترین گل و عملکرد گل)، اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری طول و قطر به‌ترتیب با استفاده از خط‌کش و کولیس انجام شد. نمونه‌های برگی و گل‌های جمع‌آوری شده در سایه و به دور از تابش مستقیم خورشید خشک شدند و سپس با ترازوی دیجیتال وزن آنها اندازه‌گیری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

شد. عملکرد گل شامل مجموع وزن خشک گل‌های جمع‌آوری شده طی دوره گلدهی گیاه بود که براساس گرم در بوته گزارش شد.

اندازه‌گیری کلروفیل کل و کارتنوئید: برای تعیین میزان کلروفیل و کارتنوئید کل، ۰/۵ گرم برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد ساییده شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ قرار داده شد. از محلول رویی به مقدار ۳ میلی‌لیتر در داخل کووت ریخته و مقدار جذب در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (SPECORD 200 PLUS) خوانده گردید. از معادلات زیر برای تعیین غلظت کلروفیل کل و کاروتنوئید استفاده شد (Arnon, 1967):

کلروفیل کل = [(20.2(A645)-8.02(A663)]V/1000W

کارتنوئید = 1000(A470)-3.27(Chla)-104(Chlb)/227

در این رابطه، V حجم محلول صاف‌شده (محلول رویی که پس از سانتریفیوژ بدست آمد)، A جذب نور در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر و W وزن تر (تازه) نمونه برحسب گرم است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر محاسبه و ارائه شد.

اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ: به‌منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)، در ساعت ۱۱-۹ صبح از جوانترین برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته و سالم گیاهان نمونه برداری شد. بلافاصله بعد از نمونه‌برداری، وزن تر برگ‌ها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها در آب‌مقطر به‌مدت ۶ ساعت در دمای اتاق و نور کم برای محاسبه وزن اشباع، غوطه‌ور شدند و پس از این مدت نمونه‌ها به سرعت و با دقت با دستمال کاغذی خشک و وزن اشباع آنها اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌های مورد نظر در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شده و دوباره وزن شدند، در پایان محتوی نسبی آب برگ‌ها از طریق رابطه زیر محاسبه شد (Ritchie and Nguyen, 1990).

$$RWC\ (\%) = \frac{FW-DW}{TW-DW} \times 100$$

که در آن FW وزن‌تر، DW وزن‌خشک، TW وزن آماس برگ است.

اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید: اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید با سنجش محتوی مالون دی آلدئید تعیین شد (Heath and Packer, 1969). به این صورت که ۰/۲ گرم از ماده گیاهی در ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد وزنی- حجمی ساییده شد و بعد در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۴ میلی‌لیتر اسید تیوباربیوتیک (TBA) ۵ درصد در TCA ۲۰ درصد اضافه گردید. مخلوط فوق در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. پس از سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه، جذب روشناور در ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-160 (Shimadzu) خوانده شد. برای محاسبه غلظت مالون دی‌آلدئید از ضریب خاموشی ۱۵۵ $mM^{-1}\ cm^{-1}$ استفاده شد و درنهایت مقدار مالون دی‌آلدهید که محصول پراکسیداسیون لیپیدها است براساس میکروگرم در گرم وزن تر محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان قند محلول: برای اندازه‌گیری میزان کل قندهای محلول از معرف آنترون با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر براساس روش (Fsles, 1951) استفاده شد.

تهیه و استخراج عصاره: برای تهیه عصاره، مقدار ۰/۵ گرم پودر گل خشک‌شده را در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به‌عنوان حلال اضافه نموده و مخلوط حاصل برای ۲۴ ساعت توسط شیکر هم‌زده شد و بعد از صاف‌کردن توسط کاغذ صافی، عصاره حاصل در شیشه‌های غیرقابل نفوذ نسبت به هوا و نور، در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید کل: اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم انجام شد. به این صورت که مقدار۵۰۰ میلی‌لیتر از عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول۸۰٪، ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول آلومینیوم کلرید ۱۰ ٪، ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار، و ۲/۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر اضافه شد. بعد از نگهداری در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه، جذب مخلوط در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

طول‌موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. از کوئرسیتین به‌منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد ($y = 0.0069x - 0.239, R^2 = 0.9826$). به این ترتیب که میزان جذب‌های ثبت‌شده از نمونه‌ها در معادله بجای y فرض شد و مقدار x بدست آمده به‌عنوان غلظت در نظر گرفته شد (Chang *et al*., 2002a).

اندازه‌گیری میزان فنل کل: برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل از معرف Folin-Ciocalteau استفاده شد (Singleton and Rossi, 1965). به ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ ٪، ۲/۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ۱۰۰ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰ ٪ اضافه شد. سپس جذب این مخلوط در طول‌موج ۷۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک خوانده شد. از اسید گالیک به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد ($y= 0.0005x + 0.0096, R^2= 0.9899$).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش ۲ و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH): فعالیت مهار رادیکال‌های ۲ و ۲-دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) توسط ترکیبات استخراج‌شده از گل‌های گیاه همیشه‌بهار طبق روش Shyu و Hwang اندازه‌گیری شد (۲۰۰۲). به این صورت که ۲ میلی‌لیتر از محلول DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار) به ۲ میلی‌لیتر از عصاره (با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) افزوده و مخلوط بدست آمده به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرارگرفت. میزان جذب در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک خوانده شد. اسید آسکوربیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون بکار رفت ($y = 0.1x + 48.883, R^2 = 0.9727$). درنهایت درصد مهار رادیکال‌های آزاد توسط عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (درصد) = (AC – AS/AS) × 100

که در این رابطه AC و AS به‌ترتیب میزان جذب کنترل و جذب نمونه هستند.

اندازه گیری میزان کوئرسیتین با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا: از روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC) جهت جداسازی و تعیین مقدار کوئرستین استفاده شد. دستگاه HPLC مورد استفاده مدل Waters ساخت کشور آمریکا مجهز به دتکتور Absorbance ʎ Dual 2487 Uv 2695، ستون C18 با ابعاد ۱۵۰×۴/۶ میلی‌متر و ۳/۵ میلی‌متر و نرم‌افزار Millennium۳۲ بود. حلال‌های شیمیایی مورد استفاده شامل متانول با درجه خلوص HPLC از شرکت مرک آلمان و استاندارد کوئرستین از شرکت سگیما آلدریچ تهیه شد. برای تهیه محلول استاندارد کوئرستین با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر، مقدار ۰/۲ میلی‌گرم از استاندارد در یک میلی‌لیتر متانول با خلوص HPLC حل شدند. از این محلول استوک، غلظت‌های مناسب جهت رسم منحنی‌های کالیبراسیون مربوط به استاندارد تهیه گردید و هر کدام طبق روش بهینه‌شده به ستون C18 تزریق شدند. مساحت پیک غلظت‌های هر استاندارد محاسبه شد و منحنی استاندارد با نرم‌افزار اکسل رسم شد سپس معادله خط y=ax+b بدست آمد. مساحت پیک خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x (غلظت) بدست آمد.

به‌منظور تجزیه داده‌های آزمایشی ابتدا نرمال‌بودن داده‌ها با استفاده از Minitab 16 بررسی و سپس محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام گرفت. مقایسه میانگین با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (۰/۰۵) برای مقایسه میانگین استفاده شد.

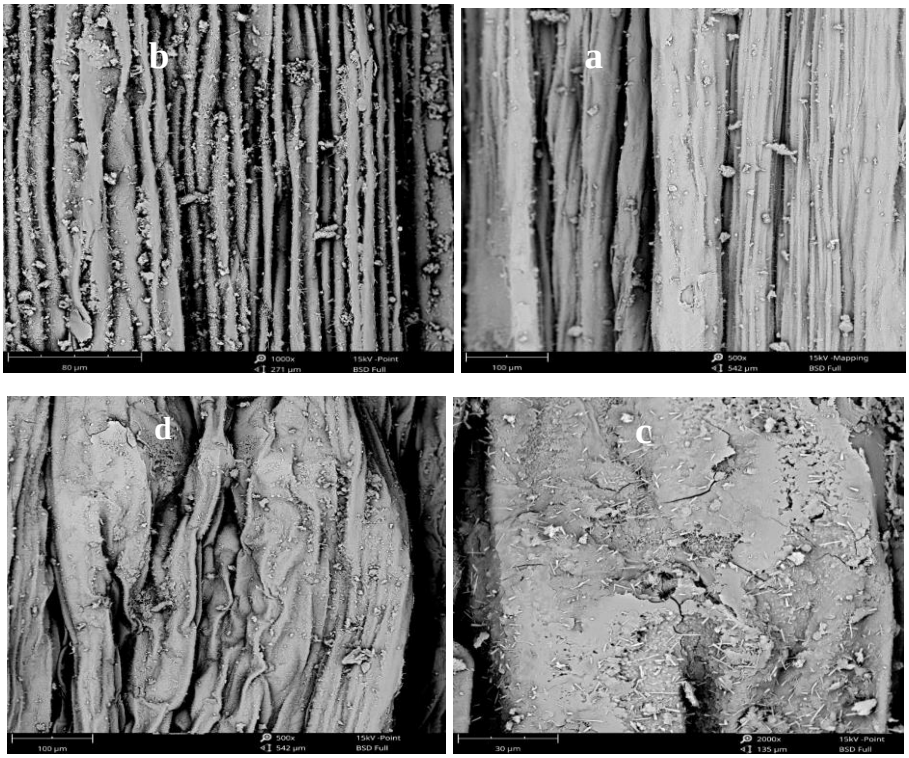
نتایج

صفات مورفولوژیکی: در این مطالعه، از تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) به‌منظور تأیید جذب و انتقال نانوذرات سیلیکون توسط ریشه و برگ گیاهان در تیمارهای آزمایشی استفاده شد (شکل ۲). برخی تغییرات ساختاری سطح ریشه و برگ پس از اعمال تیمارها در شکل ۲ نشان داده شده است. ایجاد حفرات کوچک و بزرگ، انباشته شدن و یا توزیع یکنواخت نانوذرات سیلیکون در سطح اندام‌ها، همچنین، چروکیدگی و جمع‌شدن ریشه و برگ از مهم‌ترین تغییرات قابل مشاهده است.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثرات اصلی تیمار محلول‌پاشی نانوذرات سیلیکون و اعمال تنش شوری در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از سطح ریشه (a، b) و برگ (c، d) گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) در تیمارهای آزمایشی. (a) تصویر سطح ریشه در تیمار نانوذرات سیلیکون (۷۵ میلی‌گرم در لیتر) و کلرید سدیم (۵۰ میلی‌مولار). (b) تصویر سطح ریشه در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم. (c) تصویر سطح برگ در تیمار نانوذرات سیلیکون (۷۵ میلیگرم در لیتر) و کلرید سدیم (۵۰ میلی‌مولار). (d) تصویر سطح برگ در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیرسطوح مختلف نانوذرات سیلیکون بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده گیاه دارویی همیشه‌بهار تحت تنش شوری در کشت هیدروپونیک

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		ارتفاع گیاه	وزن خشک گیاه	تعداد کاپیتول	قطر بزرگترین گل	عملکرد گل	کلروفیل	کارتنوئید
نانو سیلیکون	۳	۳/۹۶^{ns}	۱/۷۰^{ns}	۱۱۴/۴۸**	۰/۱۹^{ns}	۱۹۹/۸۵**	۰/۰۰۲^{ns}	۲۳/۳۵^{ns}
تنش شوری	۲	۲۲۵/۷۷**	۷۶/۷۰**	۱۸۹/۰۶**	۰/۲۰^{ns}	۳۳۷/۷۵**	۰/۱۴**	۶۲۲/۳۳**
نانوسیلیکون × تنش شوری	۶	۲۹/۵۱*	۲/۸۴**	۱۶۰/۱۸**	۰/۳۷*	۱۷۳/۶۰**	۰/۰۲**	۱۳۱/۳۳**
خطا	۲۲	۹/۴۷	۰/۷۳	۱۶/۱۶	۰/۱۴	۳۰/۳۲	۰/۰۰۷	۲۳/۱۷
ضریب تغییرات (٪)		۱۰/۴۶	۸/۳۴	۲۳/۹۵	۸/۵۶	۱۹/۸۷	۱۱/۰۱	۹/۵۱

ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

شرایط کشت هیدروپونیک بر برخی صفات اندازه‌گیری شده تأثیر معنی‌دار نداشتند، اما برهمکنش معنی‌داری بین تیمارها آزمایشی روی تمامی صفات مشاهده شد (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش شدت تنش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

ادامه جدول ۱-

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		محتوی آب نسبی	مالون دی‌آلدئید	فلاونوئید کل	قند محلول	کوئرسیتین	فعالیت آنتی اکسیدانی	فنل کل
نانو سیلیکون	۳	۹/۸۴**	۳/۷۵**	۰/۵۵*	۰/۰۹**	۱۵۳۹۳**	۸/۸۵**	۰/۷۸**
تنش شوری	۲	۱۶۸/۹۶**	۴/۴۸**	۰/۲۶ns	۰/۰۸**	۲۷۰۳۸**	۱۹/۱۷**	۰/۰۴ns
نانوسیلیکون × تنش شوری	۶	۱۶/۶۶**	۰/۰۹۹*	۰/۷۷**	۰/۰۲**	۲۰۰۳**	۹/۹۱**	۰/۹۳**
خطا	۲۲	۱۸۶/۱	۰/۳۸	۰/۱۷	۰/۰۰۳	۵۴۰/۱۵۱	۱/۳۲	۰/۲۲
ضریب تغییرات (٪)		۲۲/۴۰	۱۵/۳۹	۱۱/۶۱	۸/۳۷	۹/۶۵	۸/۷۲	۷/۱۹

ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

شوری (از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) از میزان ارتفاع گیاه به‌ترتیب ۱۱/۲ و ۲۳/۸ درصد نسبت به شاهد کاسته شد. در مقابل کاربرد نانوذرات سیلیکون منجر به افزایش ارتفاع گیاه همیشه‌بهار در مقایسه با شاهد مورد نظر شد و از این نظر بین سطوح نانوذرات سیلیکون اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). بیشترین و کمترین ارتفاع گیاه (۳۷/۸ و ۲۴ سانتی‌متر) به‌ترتیب در کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون در شرایط بدون تنش شوری، و تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهد شد.

بررسی تغییرات وزن خشک اندام هوایی گیاه همیشه‌بهار، حاکی از وجود برهمکنش معنی‌دار تیمارهای نانوذرات سیلیکون × تنش شوری در سطح یک درصد بود (جدول ۲). نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری (از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) از وزن خشک اندام هوایی گیاه به‌ترتیب ۱۴/۵ و ۴۷/۹ درصد نسبت به شاهد کاسته شد. لیکن، استفاده از نانوذرات سیلیکون باعث کاهش اثرات مضر تنش شوری بر وزن خشک اندام هوایی گیاه نسبت به شاهد شد. بیشترین وزن خشک اندام هوایی گیاه با میانگین ۱۳/۰۱ گرم در کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون در شرایط بدون تنش شوری مشاهد شد.

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین مقدار تعداد کاپیتول با میانگین ۳۴/۱۶ در تیمار ترکیبی نانوذرات سیلیکون در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار بدست آمد که نسبت به شاهد افزایش ۷۳/۷ درصدی نشان داد، در حالیکه کمترین تعداد کاپیتول ۹/۳۳ در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانو سیلیکون و بدون اعمال تنش شوری مشاهده شد که نسبت به شاهد کاهش ۵۲/۵ درصدی را نشان داد. جدول مقایسه میانگین مشخص نمود که بیشترین قطر گل با میانگین ۴/۹۰ سانتی‌متر مربوط به تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو سیلیکون و بدون اعمال تنش شوری بود در حالیکه با غلظت‌های ۱۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانو سیلیکون و بدون اعمال تنش و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری به‌ترتیب با میانگین ۴/۷۶ و ۴/۸۶ سانتی‌متر از نظر آماری تفاوت معنی‌دار نداشت. کمترین مقدار قطر گل با میانگین ۳/۹۳ سانتی‌متر در عدم محلول‌پاشی نانوذرات سیلیکون تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد که نسبت به شاهد کاهش ۷/۷۴ درصدی را نشان داد (جدول ۲).

برهمکنش تیمارهای نانوذرات سیلیکون و تنش شوری بر عملکرد گل در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین مقدار عملکرد گل با میانگین ۴۵/۳۳ گرم گل در بوته در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدست آمد که نسبت به شاهد افزایش ۳۲/۷ درصدی داشت، همچنین، کمترین مقدار عملکرد گل ۲۰ گرم گل در بوته بود که در عدم استفاده از نانوذرات سیلیکون و تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

جدول ۲- میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف نانوذرات سیلیکون و تنش شوری بر شاخص‌های مورفو- فیزیولوژی گیاه دارویی همیشه‌بهار در شرایط کشت هیدروپونیک

نانوسیلیکون (میلی‌گرم بر لیتر)	تنش شوری (میلی‌مولار)	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	قطر بزرگترین گل (سانتی‌متر)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	تعداد کاپیتول	عملکرد گل (گرم در گیاه)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
۰	۰	۳۳/۰ab	۴/۲۶ab	۱۲/۳۴ab	۱۹/۶۶bcd	۳۴/۱۶bc	۰/۹۷a	۵۶/۸۲bc
	۵۰	۲۹/۳۳bc	۴/۵۳ab	۱۰/۵۵c	۱۳/۳۳def	۲۵/۰cde	۰/۷۲cde	۴۵/۷۹efg
	۱۰۰	۲۵/۱۶cd	۳/۹۳b	۶/۴۲e	۱۱/۸۳ef	۲۰/۰e	۰/۶۷e	۴۲/۳۰fg
۷۵	۰	۳۴/۰ab	۴/۳۳ab	۱۱/۳۷bc	۱۶/۵۰cde	۲۹/۸۳bcd	۰/۸۷ab	۶۵/۶۵a
	۵۰	۳۲/۳۳b	۴/۱۰b	۱۲/۱۹ab	۲۵/۱۶b	۳۸/۸۳ab	۰/۸۴abcd	۵۴/۶۰bcd
	۱۰۰	۲۴/۸۳cd	۴/۸۶a	۸/۸۵d	۲۱/۰bc	۳۱/۶۶bc	۰/۷۲cde	۴۷/۲۴def
۱۵۰	۰	۳۷/۸۳a	۴/۷۶a	۱۳/۰۱a	۹/۳۳f	۲۰/۱۶e	۰/۹۸a	۵۹/۶۲ab
	۵۰	۲۵/۵۰cd	۴/۴۰ab	۱۱/۱۶bc	۳۴/۱۶a	۴۵/۳۳a	۰/۷۰de	۴۸/۷۹cdef
	۱۰۰	۲۵/۸۳cd	۴/۰۶b	۶/۳۵e	۱۱/۸۳ef	۲۱/۰de	۰/۶۵e	۳۸/۵۱g
۳۰۰	۰	۳۱/۳۳b	۴/۹۰a	۱۲/۰۳ab	۱۲/۵۰ef	۲۰/۳۳e	۰/۸۶abc	۵۶/۳۶bc
	۵۰	۲۹/۶۶bc	۴/۵۰ab	۱۱/۲۲bc	۱۲/۸۳def	۲۵/۳۳cde	۰/۸۲bcd	۵۲/۳۷bcde
	۱۰۰	۲۴/۰d	۴/۴۰ab	۸/۰۹d	۱۳/۳۳def	۲۰/۸۳de	۰/۶۵e	۴۳/۴۷fg

میانگین‌های با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد هستند.

(جدول ۲).

صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی: در رابطه با میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش تنش شوری (از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) میزان کلروفیل و کارتنوئید کل به‌ترتیب ۲۵/۷، ۳۰/۹ و ۱۹/۴ و ۲۷/۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. در مقابل کاربرد نانوذرات سیلیکون منجر به بهبود و یا حفظ رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه همیشه‌بهار در شرایط تنش شوری و یا عدم تنش در مقایسه با شاهد مورد نظر شد و از این نظر بین سطوح نانوذرات سیلیکون اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). بیشترین اثر بهبوددهندگی کلروفیل و کارتنوید کل، در غلظت ۷۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون در تنش ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به‌ترتیب با افزایش ۱۴/۳، ۱۲/۲ و ۱۶/۱ و ۱۲/۷درصد نسبت به شاهد مورد نظر مشاهده شد (جدول ۲).

بررسی تغییرات محتوی نسبی آب برگ در گیاه همیشه‌بهار حاکی از وجود برهمکنش معنی‌دار نانوذرات سیلیکون و تنش شوری از نظر این صفت در سطح یک درصد بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری (از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) میزان محتوی نسبی آب برگ به ترتیب ۱۲/۱ و ۴۲/۹ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. لیکن، بیشترین میزان افزایش محتوی نسبی آب برگ (۱۶/۸ و ۲۲/۵ درصد) به‌ترتیب با کاربرد نانوذرات سیلیکون در غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم حاصل شد (جدول ۳).

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، افزایش تنش شوری (از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار) باعث افزایش معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) پراکسیداسیون لیپید (مالون دی‌آلدئید) به‌ترتیب به میزان ۲۷/۲

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

جدول ۳- میانگین اثرات متقابل تأثیر نانوذرات سیلیکون و تنش شوری بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی همیشه‌بهار در شرایط کشت هیدروپونیک

نانو سیلیکون (میلی‌گرم در لیتر)	تنش شوری (میلی‌مولار)	محتوی نسبی آب برگ (درصد)	مالون دی‌آلدئید (میکروگرم بر گرم وزن تر)	قند محلول	فلاونوئید	فنل کل	فعالیت آنتی اکسیدانی	کوئرسیتین (میکروگرم بر گرم وزن خشک)
				(میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)				
۰	۰	۷۶/۱۲^{a}	۲/۹۴^{e}	۰/۶۵^{cde}	۳/۲۵^{cd}	۶/۳۵^{bcde}	۱۴/۰۲^{bcd}	۱۹۷/۱۲^{f}
	۵۰	۶۶/۹۰^{c}	۴/۰۴^{bcd}	۰/۶۰^{def}	۴/۰۵^{ab}	۶/۹۲^{abc}	۱۵/۲۶^{ab}	۲۵۹/۲۳^{cd}
	۱۰۰	۴۳/۴۳^{fg}	۴/۹۳^{ab}	۰/۵۴^{f}	۳/۲۶^{cd}	۶/۸۲^{abc}	۱۴/۶۱^{abc}	۲۴۷/۴۵^{de}
۷۵	۰	۷۷/۰۶^{a}	۳/۵۷^{cde}	۰/۴۳^{g}	۳/۲۴^{cd}	۵/۹۰^{de}	۱۱/۷۶^{ef}	۲۰۰/۲۵^{g}
	۵۰	۶۹/۴۰^{b}	۴/۲۶^{bc}	۰/۵۸^{def}	۲/۶۲^{d}	۵/۶۶^{e}	۹/۶۴^{g}	۲۸۶/۶۲^{b}
	۱۰۰	۵۶/۰۵^{e}	۴/۷۵^{b}	۰/۷۸^{b}	۳/۹۹^{ab}	۶/۶۷^{abcd}	۱۶/۵۳^{a}	۲۱۹/۰۹^{fg}
۱۵۰	۰	۷۶/۹۳^{a}	۳/۰۲^{de}	۰/۵۷^{ef}	۳/۶۵^{abc}	۵/۹۹^{de}	۱۱/۸۹^{ef}	۲۷۱/۵۵^{c}
	۵۰	۶۱/۲۶^{d}	۳/۲۱^{cde}	۰/۶۲^{cdef}	۴/۱۳^{a}	۷/۲۰^{a}	۱۲/۳۳^{def}	۳۰۹/۷۸^{a}
	۱۰۰	۵۲/۲۰^{ef}	۳/۲۳^{cde}	۰/۶۷^{cd}	۳/۸۸^{abc}	۶/۷۰^{abcd}	۱۴/۶۸^{abc}	۲۱۴/۱۱^{ef}
۳۰۰	۰	۶۵/۵۰^{cd}	۳/۹۹^{bcd}	۰/۷۱^{bc}	۳/۳۹^{bc}	۷/۰۴^{ab}	۱۱/۲۲^{fg}	۲۵۶/۶۲^{d}
	۵۰	۴۷/۱۰^{f}	۴/۱۹^{bc}	۰/۹۲^{a}	۳/۹۱^{abc}	۶/۸۲^{abc}	۱۲/۸۷^{cdef}	۲۴۸/۱۸^{de}
	۱۰۰	۳۸/۷۶^{h}	۵/۹۳^{a}	۰/۷۸^{b}	۳/۲۳^{cd}	۶/۱۷^{cde}	۱۳/۳۰^{cde}	۱۷۷/۶۷^{h}

میانگین‌های با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد هستند.

و ۴۰/۳ درصد نسبت به شاهد شد (جدول ۳). همچنین، مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین مقدار مالون دی‌آلدئید (۵/۹۳ میکروگرم در گرم وزن تر) مربوط به گیاهان تحت تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار بود که افزایش دو برابری نسبت به شاهد نشان داد.

برهمکنش تیمارهای آزمایشی روی میزان قند محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. براساس مقایسه میانگین اثرات متقابل، بیشترین میزان قند محلول (۰/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در گیاهان تحت تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار مشاهد شد که افزایش ۲۹/۳ درصدی نسبت به شاهد داشت (جدول ۳).

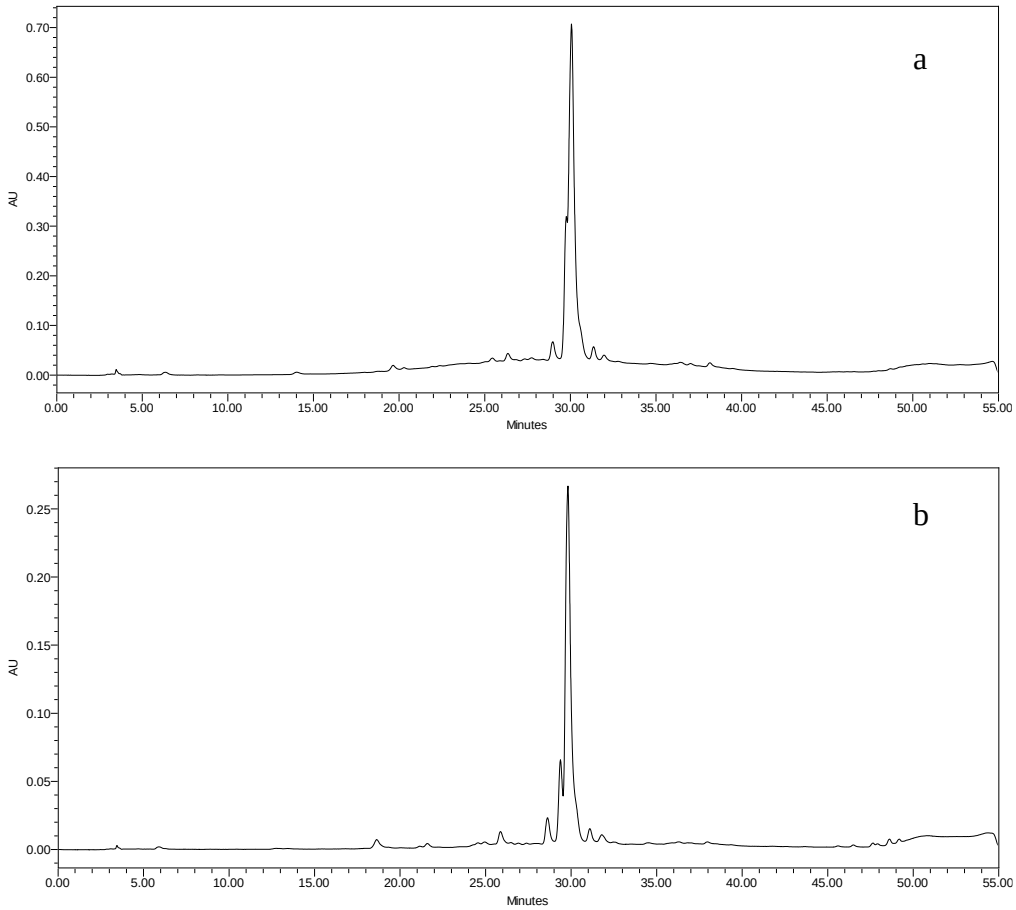
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها تأثیر معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) برهمکنش نانوذرات سیلیکون و تنش شوری روی فلاونوئید کل را نشان می‌دهد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید کل (۴/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار (افزایش ۲۱/۳ درصد نسبت به شاهد) مشاهد شد، درحالیکه کمترین مقدار آن (۲/۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمار ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون در همان سطح تنش شوری (۵۰ میلی-مولار) حاصل شد (جدول ۳).

در بررسی تغییرات فنل کل مشاهده شد که برهمکنش معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در سطح یک درصد وجود دارد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین شاخص فنل کل (۷/۲۰ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار بود که نسبت به شاهد ۱۱/۸ درصد افزایش داشت. درحالیکه کمترین میزان این شاخص (۵/۶۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در کاربرد ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار حاصل شد که نسبت به شاهد ۱۰/۹ درصد کاهش داشت.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل گیاه همیشه‌بهار در تیمارهای مختلف

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]



شکل ۳- نمونه کروماتوگرام HPLC عصاره گل گیاه همیشه‌بهار (a) در تیمار محلول‌پاشی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش ۵۰ میلی‌مولار در مقایسه با (b) شاهد.

آزمایشی تأثیر معنی‌داری (P < ۰/۰۱) بر مهار رادیکال‌های آزاد DPPH دارد. به‌طوریکه بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۶/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمارهای ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش شوری ۱۰۰ مشاهده شد که نسبت به شاهد ۱۵/۲ درصد افزایش داشت (جدول ۳). همچنین، کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹/۶۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در کاربرد ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار حاصل شد که نسبت به شاهد ۳۱/۲ درصد کاهش نشان داد.

برهمکنش معنی‌داری از نظر محتوی کوئرستین در گل گیاه همیشه‌بهار بین تیمارهای آزمایشی در سطح یک درصد مشاهده شد (جدول ۱). نتایج حاصل از آنالیز عصاره‌ها با دستگاه HPLC نشان داد که بیشترین میزان ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین (۳۰۹/۷۸ میکروگرم بر گرم وزن خشک) مربوط به تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار بود. درمقابل، کمترین میزان کوئرستین (۱۷۷/۶۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک) در شاهد مشاهده شد. نمونه کروماتوگرام HPLC عصاره گل گیاه همیشه‌بهار در تیمار محلول‌پاشی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات سیلیکون و تنش ۵۰ میلی‌مولار در مقایسه با استاندارد کوئرسیتین در شکل ۳ ارائه شده است.

بحث

تعامل گیاه با نانوذرات، سه مرحله را شامل می‌شود: قرارگرفتن نانوذرات در سطح ریشه یا برگ، نفوذ نانوذرات از طریق کوتیکول و اپیدرم، انتقال و تغییر شکل نانوذرات در داخل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

گیاه. نانوذرات به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد، مانند اندازه کوچک، بالابودن نسبت سطح به حجم، شکل و غیره دارای خواصی هستند که اندازه بزرگتر آن‌ها (بالک)، این ویژگی‌ها را ندارند (Hatami *et al*., 2016). کاربرد نانوذرات باعث ایجاد تغییراتی در مورفولوژی ریشه و برگ گیاهان می‌شود، به‌عنوان مثال، سلول‌های اپیدرمی برگ گیاهان بادرنجبویه تیمارشده با نانوکامپوزیت اکسید منیزیوم، کوچک و متورم نشان دادند، در حالیکه گیاهان شاهد دارای سلول‌های اپیدرمی صاف و مرتب بودند. همچنین، بسته‌شدن روزنه‌ها، افزایش تعداد تریکوم‌ها در سطح برگ، افزایش طول تارهای کشنده و تعداد ریشه‌های جانبی از دیگر تغییرات مشاهده شده بود (Rezaei *et al*., 2019). با این حال، مکانیسم‌های تشکیل منافذ در بافت‌های ریشه پس از قرارگرفتن در معرض نانوذرات هنوز ناشناخته مانده و باید مورد بررسی بیشتری قرار گیرد. ما دو احتمال را پیشنهاد می‌کنیم که می‌تواند تشکیل منافذ در ریشه گیاهان تحت تیمار با نانوذرات را توضیح دهد. اول اینکه اندازه منافذ با غلظت نانوذرات افزایش می‌یابد و احتمال انباشته (آگلومره) شدن نانوذرات در غلظت‌های بالاتر زیادتر (به‌دلیل تأثیر بر سرعت جریان شیره سلولی) است. بنابراین تشکیل منافذ می‌تواند نتیجه یک برخورد فیزیکی بین ریشه‌ها و تجمع نانوذرات باشد، یعنی انباشته‌شدن کمتر نانوذرات (در غلظت کم نانوذرات) باعث ایجاد منافذ کوچکتر و تجمع بیشتر (در غلظت زیاد نانوذرات) باعث ایجاد منافذ بزرگتر می‌شود. دوم اینکه تشکیل منافذ در ریشه‌ها یک واکنش گیاه به نانوذرات است به‌عنوان یک عامل تنش‌زای خارجی، که به وضوح با غلظت نانوذرات ارتباط دارد (Ghorbanpour *et al*., 2020).

در میان انواع مختلف نانومواد، نانوذرات سیلیکون توانایی بالقوه‌ای در بهبود عملکرد گیاه هم در شرایط مطلوب محیطی و هم در محیط‌های تنش‌زا دارد. مکانیسم‌های مختلفی در اثرات بهبوددهندگی نانوذرات سیلیکون تحت تنش‌های محیطی نقش دارند از جمله فعال‌سازی دفاع آنتی‌اکسیدانی و بهبود توانایی گیاه در جذب آب و مواد مغذی از خاک (Tripathi *et al*., 2017). شوری، یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که موجب آسیب شدید به محصولات کشاورزی و همچنین کاهش تنوع زیستی گیاهی می‌گردد. مطالعات قبلی نشان داده است که تنش شوری نه تنها از طریق کاهش پتانسیل اسمزی باعث تغییرات مورفولوژیکی و کاهش رشد اندام هوایی می‌شود، بلکه سمیت یونی حاصل از افزایش عناصر مضر در تنش شوری نیز کلیه فعالیت‌های فیزیولوزیکی و متابولیسمی گیاه را مختل می‌کند، که متعاقباً باعث کاهش فشار تورژسانس و کاهش ارتفاع و عملکرد پیکره رویشی می‌شود (صفرنژاد و حمیدی، ۱۳۹۵). گزارش شده است که در شرایط تنش شوری، ارتفاع گیاه و سطح برگ بسیار سریع‌تر از سایر صفات مورفولوژیکی و فنولوژیکی کاهش می‌یابند، زیرا تجمع ماده خشک در گیاه حاصل میزان فتوسنتز خالص و سطح فتوسنتزکننده است (Munns, 2002). تحقیقات نشان می‌دهد که کاهش وزن خشک گیاه در شرایط شور می‌تواند به‌دلیل کاهش رشد، کاهش سرعت فتوسنتز و آسیب به پایداری غشا توسط نمک باشد (سلامی و همکاران، ۱۳۸۵). بابایی و همکاران (۱۳۸۹) در یک مطالعه روی گیاه آویشن گزارش کردند که تنش شوری موجب کاهش پارامترهای رشد و عملکرد اندام رویشی از جمله ارتفاع بوته شد، که با نتایج آزمایش حاضر همسویی دارد. رشد و ارتفاع بوته به‌طور قابل ملاحظه‌ای به شرایط محیطی که گیاه در آن رشد می‌کند وابسته است. به‌دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک در اثر تنش شوری، جذب آب کاهش و درنتیجه روزنه‌ها بسته شده و نیز میزان تنفس و فتوسنتز کاهش می‌یابد. این موضوع یکی از دلایل اصلی کاهش رشد گیاه در شرایط شوری است (Naveed *et al*., 2020). همچنین، گزارش شده است که افزایش سطح شوری آب آبیاری موجب کاهش ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه‌های جانبی، قطر ساقه، فواصل میانگره‌ها، تعداد و سطح برگ، عملکرد تر و خشک پیکره رویشی در گیاه دارویی آگاستاکه گردید (Khorsandi *et al*., 2010). هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر، سلامی و همکاران (۱۳۸۵) گزارش کردند که در دو گیاه دارویی سنبل‌الطیب و زیره‌سبز با افزایش سطح شوری، وزن خشک اندام‌های هوایی و زمینی کاهش پیدا

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

کرد. در این پژوهش نیز کاهش وزن خشک اندام هوایی گیاه، تعداد کاپیتول، عملکرد گل همیشه‌بهار در شرایط تنش شوری مشاهده شد و کاربرد نانوذرات سیلیکون در غلظت‌های خاص سبب بهبود شرایط تنش و افزایش معنی‌دار این پارامترها نسبت به شاهد شد. محققان زیادی اثر سیلیکون در رشد و ارتفاع و عملکرد گیاهان زراعی و همچنین در فیزیولوژی و متابولیسم گیاهان مختلف، را بررسی نمودند (امیری و همکاران، ۱۳۹۲). شواهد فراوانی در درست است که نشان می‌دهد زمانی‌که سیلیکون در اختیار گیاهان قرار گیرد نقش چشمگیری در رشد، تغذیه معدنی، مقاومت مکانیکی و مقاومت در برابر تنش‌های گوناگون دارد (Farooq *et al*., 2009). براساس مطالعات قبلی، نانوذرات سیلیکون به‌طور مستقیم و غیرمستقیم در بهبود رشد ریشه و اندام هوایی گیاهان مؤثر است (Siddiqui *et al*., 2014).

در آزمایش حاضر، تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل و کارتنوئید نسبت به شاهد شد، نتایج مشابهی در ژنوتیپ‌های گیاه گندم گزارش گردید (Sairam *et al*., 2002). کاهش میزان کلروفیل در تنش شوری می‌تواند به‌دلیل افزایش بیش از حد یون سدیم، کاهش جذب نیتروژن و کمبود منیزیوم باشد (Hajiboland and Cheraghvareh, 2014). کاهش میزان کلروفیل به‌عنوان یک شاخص مهم برای نشان دادن آسیب به رشدونمو گیاه در تنش شوری محسوب می‌شود. تنش شوری با تأثیر بر عوامل روزنه‌ای و بسته‌شدن روزنه‌ها باعث کاهش ورود دی‌اکسید کربن به سلول‌های برگ، کاهش واکنش‌های فتوشیمیایی از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در چرخه تثبیت کربن و تولید رادیکال‌های آزاد در کلروپلاست و درنتیجه کاهش کلروفیل می‌شود (Parida and Das, 2005). اما محلول‌پاشی گیاه همیشه‌بهار با نانوذرات سیلیکون در غلظت کمتر باعث افزایش کلروفیل در همه سطوح تنش شوری شد و حتی در غلظت‌های بیشتر باعث افزایش کلروفیل (در تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار) و یا حفظ آن در تنش شدید (۱۰۰ میلی‌مولار) شد. این موضوع نشان می‌دهد که نانوذرات سیلیکون (به‌ویژه در غلظت‌های کمتر) با حذف یا سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد، باعث بهبود سیستم دفاعی گیاه و افزایش کارآیی فتوسیستم II و عملکرد کوآنتومی می‌شوند (Tripathi *et al*., 2017). در آزمایش حاضر افزایش محتوی کارتنوئید (به‌عنوان گیرنده کمکی نور در فتوسنتز که کلروفیل را نیز از اکسیداسیون نوری محافظت می‌کند) در تیمار با نانوذرات سیلیکون نسبت به شاهد این است که باعث افزایش ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی به نام فلاونوئید شد. این ترکیبات جمع‌آوری کننده قوی رادیکال‌های آزاد هستند (Wei *et al*., 1990). همچنین، گزارش شده است که تأثیر مثبت نانوذرات سیلیکون بر رشد گیاه می‌تواند به‌دلیل تجمع یکنواخت آن در سطح برگ، افزایش استحکام برگ‌ها، تأثیر بر فراساختار کلروپلاست و نیز افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ باشد (Liang, 1998).

در پژوهش حاضر، محتوی نسبی آب برگ در گیاهان تحت تنش کاهش یافت، در مقابل استفاده از نانوذرات سیلیکون باعث بهبود وضعیت آبی گیاه شد. در گیاهان تحت تنش شوری به‌دلیل کاهش پتانسیل اسمزی میزان جذب آب توسط گیاه کاهش می‌یابد که درنتیجه باعث کاهش محتوی نسبی آب برگ می‌شود (Khan *et al*., 2015). اما سیلیکون با رسوب در سطح خارجی سلول‌های اپیدرم برگ، باعث کاهش اتلاف آب از روزنه‌ها و متعاقباً افزایش محتوی نسبی آب برگ می‌شود (Liu *et al*., 2015). علاوه بر این، افزایش محتوی نسبی آب برگ با کاربرد سیلیکون می‌تواند به‌دلیل افزایش توانایی جذب آب به‌واسطه افزایش نسبت ریشه به شاخساره (Wang *et al*., 2015)، هدایت هیدرولیکی ریشه (Hattori *et al*., 2008) و فعالیت ریشه (Chen *et al*., 2014) باشد.

پراکسیداسیون لیپید (تولید مالون دی‌آلدئید) یکی از شاخص‌های عمده آسیب غشا در شرایط تنش شوری در گیاهان است. نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش سطح شوری میزان پراکسیداسیون لیپید نیز افزایش یافت که می‌تواند به‌دلیل القا تنش اکسیداتیو درنتیجه تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال باشد که به نوبه خود لیپیدها، پروتئین‌ها و نهایتاً

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

ساختار غشا سلولی را تخریب می‌کنند (Molassiotis *et al.*, 2006). افزایش محتوی مالون دی‌آلدئید و نشت الکترولیت از غشاء در اثر تنش شوری در گیاه همیشه‌بهار و گوجه‌فرنگی بیشتر گزارش شده است که با نتایج بدست‌آمده در این پژوهش همخوانی دارد (Stevens *et al.*, 2006). همچنین، گزارش شده است که سیلیکون از آسیب غشای سلولی ناشی از تولید مالون دی‌آلدئید با تنظیم دفاع آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیرآنزیمی) در گیاهان پیشگیری می‌کند (Zhu and Gong, 2014). کاهش تولید مالون دی‌آلدئید و پراکسیداسیون لیپید در کاربرد سیلیکون در گیاهان مختلف از قبیل جو (Liang *et al.*, 2003)، ذرت (Moussa, 2006) و انگور (Soylemezoglu *et al.*, 2009) نیز گزارش شده است. بنابراین، این نتایج پیشنهاد می‌کند که نانوذرات سیلیکون از ساختار غشای سلولی و نفوذپذیری آن در گیاه همیشه‌بهار تحت تنش شوری محافظت می‌کند.

در مطالعه حاضر، تنش شوری باعث کاهش میزان قند محلول شد، اما محلول‌پاشی نانوذرات سیلیکون اثر تنش شوری را کاهش داد و سبب افزایش قند محلول گردید. گزارش شده است که کاربرد سیلیکون می‌تواند تحمل به شوری در گیاه را با تغییر میزان اسمولیت‌ها مانند پرولین (Yin *et al.*, 2013)، گلایسن‌بتائین (Torabi *et al.*, 2015)، کربوهیدرات‌ها (Ming *et al.*, 2012)، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مثل فنل‌ها (Hashemi *et al.*, 2010)، قند محلول و آمینواسیدها (Hajiboland *et al.*, 2016) افزایش دهد. در واقع سیلیکون شوک اسمزی ناشی از سمیت یونی Na^+ و Cl^- را به حداقل می‌رساند. بهبود تنظیم اسمزی از طریق افزایش سطح اسمولیت‌ها در تیمار با سیلیکون در سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد، افزایش فعالیت فتوسنتزی و رشد بهتر در شرایط تنش شوری مؤثر است (Pereira *et al.*, 2013).

شواهد زیادی نشان می‌دهد که در شرایط تنش تولید برخی از ترکیبات ثانویه در گیاهان تا چندین برابر افزایش می‌یابد (Selmar *et al.*, 2017). بسیاری از فلاونوئیدها جزء فعالی از گیاهان دارویی بوده و خواص دارویی دارند. آن‌ها به‌عنوان ترکیبات فعال بیولوژیکی، عوامل محافظت‌کننده در مقابل تنش (حفاظت اسمزی)، تعدیل اسمزی و به‌عنوان جاروب کننده‌های رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در مقاومت گیاهان دارند (Chang *et al.*, 2002b). نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت شوری تا سطح ۵۰ میلی‌مولار میزان فلاونوئیدها نیز افزایش می‌یابد. یکی از دلایل افزایش میزان فلاونوئیدها در شرایط تنش، ایجاد محدودیت در انتقال الکترون فتوسنتزی طی تنش است که سبب ایجاد تغییرات متابولیک در گیاه از جمله منجر به القای سنتز فلاونوئیدها برای تعدیل این وضعیت می‌شود. نتایج مشابهی از افزایش محتوی فلاونوئید و فنل کل در گیاه مریم‌گلی در تیمار با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم گزارش شد (Ghorbanpour, 2015). همچنین، نشان داده شده است که محتوی فلاونوئید، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کالوس گیاه مرزه خوستانی با قرارگرفتن در معرض سطوح کم نانو لوله‌های کربنی چند دیواره به‌دلیل افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (Ghorbanpour and Hadian, 2015). در پژوهش حاضر، تنش شوری و تیمار نانوذرات سیلیکون (در غلظت‌های مناسب) باعث افزایش معنی‌دار میزان کوئرسیتین (از ترکیبات فلاونوئیدی) در گیاه همیشه‌بهار شد. افزایش فعالیت آنزیم PAL (آنزیم اصلی در مسیر بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه) در گیاهان تحت تیمار سیلیکون دلیل اصلی افزایش ترکیبات فنلی گزارش شد (Silva *et al.*, 2010). گزارش شد که محتوی چندین نوع متابولیت ثانویه مانند فنولیک‌ها، فلاونوئیدها، اسید رزمارینیک و اسید کافئیک به‌دنبال افزایش سطح پراکسید هیدروژن ناشی از استفاده از غلظت‌های زیاد نانوذرات افزایش می‌یابد (Hatami *et al.*, 2019). در پژوهش حاضر، افزایش تولید متابولیت‌های با ارزشی مثل کوئرسیتین با افزایش غلظت نانوذرات سیلیکون (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) ادامه پیدا نکرد و حتی نسبت به شاهد کاهش هم داشت. یکی از دلایل اصلی کاهش متابولیت‌ها در غلظت‌های بالای نانوذرات، شروع پاسخ فوق حساسیت و سمی‌شدن سلول‌ها به‌دلیل تماس بیشتر محرک‌ها با آنها و ایجاد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

اثر بازخوردی و عدم‌بیان ژن‌ها مؤثر است (Yang *et al.*, 2006). احتمالاً یکی از موانع ادامه تولید و تجمع مواد فنلی و فلاونوئیدی در غلظت‌های بالای نانوذرات، سمیت نانوذرات مورد استفاده باشد (Hazrati Jahan *et al.*, 2017). به‌طورکلی، افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه با افزایش فعالیت آنزیم‌های مربوط به دفاع اکسیداتیو و متابولیسم ثانویه و غالباً با رونویسی ژن‌های مربوط به آنها ارتباط مثبت دارد. از جمله مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تنش، افزایش سطوح ترکیبات فنلی است، چرا که این گونه ترکیبات به‌عنوان پالاینده‌های گونه‌های فعال اکسیژن عمل کرده و درنتیجه سبب ثبات غشاهای سلولی و مانع پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (Tattini *et al.*, 2004). نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت شوری میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نیز افزایش می‌یابد، زیرا با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در گیاه، به‌نظر می‌رسد افزایش این متابولیت‌ها در گیاه تحت شرایط تنش شوری، سبب افزایش مقاومت آن در برابر عوامل نامساعد محیطی می‌شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق، محلول‌پاشی با نانوذرات سیلیکون باعث بهبود پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمایی گیاه همیشه‌بهار شد. به طوریکه کاربرد نانوذرات سیلیکون در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار پارامترهای مورفولوژیکی (شامل ارتفاع بوته، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد گل) و بهبود صفات فیزیولوژیکی (شامل محتوی نسبی آب برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی) گردید. همچنین، استفاده از نانوذرات سیلیکون در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تحت تنش ۵۰ میلی‌مولار موجب افزایش متابولیت‌های ثانویه از جمله فنل و فلاونوئید کل و کوئرسیتین شد. همچنین، مشاهده شد که استفاده از غلظت‌های مناسب نانوذرات سیلیکون نه تنها سبب کاهش اثرات منفی تنش شوری می‌شود، بلکه در شرایط نرمال باعث افزایش معنی‌دار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه همیشه‌بهار گردید که این خود عاملی است که باعث می‌شود تا خواص دارویی و آنتی‌اکسیدانی گیاه افزایش یابد. بنابراین، با توجه به جدیدبودن فناوری نانو و روند رو به رشد تحقیقات گسترده در زمینه استفاده از این فناوری برای تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان و به‌طورکلی دستیابی به محصولات کشاورزی با کیفیت، همچنین با توجه به شوری خاک‌های ایران و افزایش این اراضی در سال‌های اخیر می‌توان به آینده استفاده از این فناوری در بحث کشاورزی و به‌ویژه گیاهان دارویی امیدوار بود. تحقیات بیشتر و پژوهش‌های تکمیلی در شرایط مزرعه‌ای نیازمند است تا چنین نتایج امیدبخشی تأیید گردد.

تشکر و قدرانی

مقاله حاضر از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه اراک است. لذا از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه اراک به‌دلیل حمایت در اجرای این تحقیق تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

امیدبیگی، ر. (۱۳۷۶) رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات طراحان نشر.

امیری، ا.، باقری، ع. ا.، خواجه، م.، نجف آبادی‌پور، ف. ا. و یدالهی، پ. (۱۳۹۲) تأثیر محلول‌پاشی سیلیکون برعملکرد و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلرنگ در شرایط تنش خشکی. مجله پژوهش‌های به‌زراعی ۵: ۳۷۲-۳۶۱.

بابایی، ک.، امینی‌دهقی، م.، مدرس‌ثانوی، ع. م. و جباری، ر. (۱۳۸۹) بررسی اثر تنش شوری بر برخی صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و شیمیایی گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris*). نشریه زراعت ۷۱: ۸۶-۷۹.

صفرنژاد، ع. و حمیدی، ح. (۱۳۹۵) بررسی ویژگی‌های مورفولوژی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) تحت تنش شوری. فصل‌نامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۶: ۱۴۰-۱۲۵.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

Aghai, K., Talai, N., Kanani, M. and Yazdani, M. (2014) Effect of salt stress on some physiological and biochemical parameters of two *Salvia* species. Journal of Plant Process and Function 3: 85-96.

Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002a) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Food and Drug Analysis 10: 178-182.

Chang, W. C., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K. and Kim, S. K. (2002b) Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant Science 163: 1161-1168.

Chen, D., Yin, L., Deng, X. and Wang, S. (2014) Silicon increases salt tolerance by influencing the two-phase growth response to salinity in wheat (*Triticum aestivum* L.). Acta Physiology Plant 36: 2531-2535.

Cui, J., Zhang, E., Zhang, X. and Wang, Q. (2021) Silicon alleviates salinity stress in licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) by regulating carbon and nitrogen metabolism. Scientific Reports 11: 1115.

Duan, D., Liu, X., Ajmal khan, M. and Gul, B. (2004) Effects of salt and water stress on the germination of *Chenopodium glaucum* L. seed. Pakistan Journal of Botany 364: 793-800.

Etesami, H. and Jeong, B. R. (2018) Silicon (Si): Review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. Ecotoxicology and Environmental Safety 147: 881-896.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. M. A. (2009) Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development 29: 185-212.

Fsles, F.W. (1951) The assimilation and degradation of carbohydrates of yeast cells. Journal of Biological Chemistry 193: 113-116.

Ghorbanpour, M. (2015) Major essential oil constituents, total phenolics and flavonoids content and antioxidant activity of *Salvia officinalis* plant in response to nano-titanium dioxide. Indian Journal Plant Physiology 20: 249-256.

Ghorbanpour, M. and Hadian, J. (2015) Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant *Satureja khuzestanica* grown in vitro. Carbon 94: 749-759.

Ghorbanpour, M., Mohammadi, H. and Kariman, K. (2020) Nanosilicon-based recovery of barley (*Hordeum vulgare*) plants subjected to drought stress. Environmental Science: Nano 7: 443-461.

Hajiboland, R. and Cheraghvareh, L. (2014) Influence of Si supplementation on growth and some physiological and biochemical parameters in salt-stressed tobacco (*Nicotiana rustica* L.) plants. Journal of Sciences 25: 205-217.

Hajiboland, R., Cherghvareh, L. and Dashtebani, F. (2016) Effect of silicon supplementation on wheat plants under salt stress. Journal of Plant Process and Function 5: 1-12.

Hashemi, A., Abdolzadeh, A. and Sadeghipour, H. R. (2010) Beneficial effects of silicon nutrition in alleviating salinity stress in hydroponically grown canola, *Brassica napus* L. plants. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 56: 244-253.

Hatami, M., Naghdi Badi, H. and Ghorbanpour, M. (2019) nano-elicitation of secondary pharmaceutical metabolites in plant cells: A review. Journal of Medicinal Plants 3: 6-36.

Hatami, M., Kariman, K. and Ghorbanpour, M. (2016) Engineered nanomaterial-mediated changes in the metabolism of terrestrial plants. Science of the Total Environment 571: 275-291.

Hattori, T., Sonobe, K., Araki, H., Inanaga, S., An, P. and Morita, S. (2008) Silicon application by sorghum through the alleviation of stress-induced increase in hydraulic resistance. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 31: 1482-1495.

Hazrati Jahan, R., Zare, N., Dezhsetan, S. and Sheikhzadeh Mosaddeg, P. (2017) Enhanced taxol-precursor. Journal of System and Management Sciences 33: 73-89.

Heath, R. L. and Packer, L. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archive of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Hoagland, D. R. and Arnon, D. I. (1950) The water-culture method for growing plants without soil. Circular of California Agricultural Experiment Station. 2nd Ed.

Khan, M. S. A., Karim, M. A., Abullah, A. M., Parveen, S., Bazzaz, M. M. and Hossain, M. A. (2015) Plant water relations and proline accumulations in soybean under salt and water stress environment. Journal of Plant Sciences 3: 272-278.

Khodakovskaya, M. V., de Silva, K., Biris, A. S., Dervishi, E. and Villagarcia, H. (2012) Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. ACS Nano 6: 2128-2135.

Khorsandi, O., Hassani, A., Sefidkon, F., Shirzad, H. and Khorsand, A. (2010) Effect of salinity (NaCl) on growth, yield, essential oil content and composition of *Agastache foeniculum* Kuntz. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 26: 438-451.

Liang, Y. C. (1998) Effect of si on leaf ultrastuture, cholorophyll contect and photosynthetic active in baeley under salt stress. Pedosphera 8: 289-296

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

Liang, Y., Chen, Q. I. N., Liu, Q., Zhang, W. and Ding, R. (2003) Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Plant Physiology 160: 1157-1164.

Liu, P., Yin, L., Wang, S., Zhang, M., Deng, X., Zhang, S. and Tanaka, K. (2015) Enhanced root hydraulic conductance by aquaporin regulation accounts for silicon alleviated salt induced osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. Environmental and Experimental Botany 111: 42-51.

Ming, D. F., Pei, Z. F., Naeem, M. S., Gong, H. J. and Zhou, W. J. (2012) Silicon alleviates PEG - induced water - deficit stress in upland rice seedlings by enhancing osmotic adjustment. Journal of Agronomy and Crop Science 198: 14-26.

Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G. and Therios, E. (2006) Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. Biologia Plantarum 50: 61-8.

Moussa, H. R. (2006) Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). International Journal of Agriculture and Biology 8: 293-297.

Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment 25: 239-250.

Nair, S. H., Varghese, B. G., Nair, T., Maekawa, Y., Yoshida, D. and Kumar, S. (2010) Nano particulate material delivery to plants. Plant Science 179: 154-163.

Naveed, M., Sajid, H., Mustafa, A., Niamat, B., Ahmad, Z., Yaseen, M., Kamran, M., Rafique, M., Ahmar, S. and Chen, J. T. (2020) Alleviation of salinity-induced oxidative stress, improvement in growth, physiology and mineral nutrition of canola (*Brassica napus* L.) through calcium-fortified composted animal manure. Sustainability 12: 846.

Ozturk, A., Unlukara, A., Ipek, A. and Gurbuz, B. (2004) Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of Lemon Balm (*Melissa officialis* L.). Pakistan Journal of Botany 36: 787-792.

Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants. A review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.

Parida, A. K., Dagaonkar, V. S., Phalak, M. S. and Auramgabadkar, L. P. (2007) Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. Plant Biotechnology Reports 1: 37-48.

Pereira, T. S., da Silva Lobato, A. K., Tan, D. K. Y., da Costa, D. V., Uchoa, E. B., do Nascimento Ferreira, R., dos Santos Pereira, E., Avila, F. W., Marques, D. J. and Guedes, E. M. S. (2013) Positive interference of silicon on water relations, nitrogen metabolism, and osmotic adjustment in two pepper (*Capsicum annuum*) cultivars under water deficit. Australian Journal of Crop Science 7: 1064.

Rastogi, A., Tripathi, D. K., Yadav, S., Chauhan, D. K., Zivcak, M., Ghorbanpour, M., El-Sheery, N. I. and Brestic, M. (2019) Application of silicon nanoparticles in agriculture. 3Biotech 9: 90.

Razmjoo, K., Heydarizadeh, P. and Sabzalian, M. R. (2008) Effect of salinity and drougth stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomilla*. International Journal of Agriculture and Biology 10: 451-454.

Rezaei, Z., Jafarirad, S. and Kosari-Nasab, M. (2019) Modulation of secondary metabolite profiles by biologically synthesized MgO/perlite nanocomposites in *Melissa officinalis* plant organ cultures. Journal of Hazardous Materials 380: 120878

Ritchie, S. W. and Nguyen, H. T. (1990) Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science 30: 105-111.

Sairam, R. K., Veerabhadra Rao, K. and Serivastava, G. C. (2002) Differentioal response wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037-1046.

Selmar, D., Kleinwachter, M., Abouzeid, S., Yahyazadeh, M. and Nowak, M. (2017) The impact of drought stress on the quality of spice and medicinal plants. In: Medicinal Plants and Environmental Challenges (eds. Ghorbanpour, M. and Varma, A.) Pp. 159-188. Springer International Publishing AG.

Shyu, Y. S. and Hwang, L. S. (2002) Antioxidant activity of the crude extract of lignin glycosides from unroasted Burma black sesame meal. Food Research International 35: 357-65.

Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Faisal, M. and Al Sahli, A. A. (2014) Nano-silicon dioxide mitigates the adverse effects of salt stress on *Cucurbita pepo* L. Environmental Toxicology and Chemistry 33: 2429-2437.

Silva, I. T., Rodrigues, F. A., Oliveira, J. R., Pereira, S. C., Andrade, C. C. L., Silveira, P. R. and Conceicao, M. M. (2010) Wheat resistance to bacterial leaf streak mediated by silicon. Journal of Phytopathol 158: 253-262.

Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16: 144-158.

Soylemezoglu, G., Demir, K., Inal, A. and Gunes, A. (2009) Effect of silicon on antioxidant and stomatal response of two grapevine (*Vitis vinifera* L.) rootstocks grown in boron toxic, saline and boron toxic-saline soil. Scientia

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

Horticulturae 123: 240-246.

Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparam, K. (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): Associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. Plant Growth Regulation 49: 77-83.

Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D. and Agati, G. (2004) Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. New Phytologist 163: 547-561.

Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, V. P., Prasad, S. M., Dubey, N. K. and Chauhan, D. K. (2017) Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. Plant Physiology and Biochemistry 110: 70-81.

Torabi, F., Majd, A. and Enteshari, S. (2015) The effect of silicon on alleviation of salt stress in borage (*Borago officinalis* L.). Soil Science and Plant Nutrition 61: 788-798.

Wang, S., Liu, P., Chen, D., Yin, L., Li, H. and Deng, X. (2015) Silicon enhanced salt tolerance by improving the root water uptake and decreasing the ion toxicity in cucumber. Frontiers in Plant Science 6: 759.

Wei, H., Tye, L., Bresnick, E. and Birt, D. F. (1990) Inhibitory effect of apigenin, a plant flavonoid, on epidermal ornithine decarboxylase and skin tumor promotion in mice1.Cancer Research 50: 499-502.

Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C. and Yang, P. (2006) Influence of nano-anatase TiO_2 on the nitrogen metabolism of growing spinach. Biological Trace Element Research 110: 179-190.

Yin, L., Wang, S., Tanaka, K., Fujihara, S., Itai, A., Den, X., et al. (2016) Silicon-mediated changes in polyamines participate in silicon-induced salt tolerance in *Sorghum bicolor* L. Plant, Cell and Environment 39: 245-258.

Zhu, Y. and Gong, H. (2014) Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. Agronomy for Sustainable Development 34: 455-472.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]

The effects of silicon nanoparticles on morpho-physiological and biochemical parameters of *Calendula officinalis* L. plants under salinity stress in hydroponic culture conditions

Zeinab Veisi, Mansour Ghorbanpour*, Morteza Akramian

[1] Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

(Received: 07/06/2021, Accepted: 02/10/2021)

Abstract

Nanoparticles depending on the plant species, methods used, culture conditions, concentration, etc. may have different effects on the induction of physiological and metabolic processes in plants. In this study, the effects of different levels of silicon nanoparticles (0, 75, 150 and 300 mg/L) and salinity stress (0, 50 and 100 mM NaCl) were investigated as a factorial experiment based on completely randomized design with three replications under hydroponic culture conditions on morphological, physiological and biochemical parametres of *Calendula officinalis* L. plant. Scanning Electron Microscopy (SEM) confirmed the adsorption and translocation of silicon nanoparticles through leaves and roots upon experimental treatments. The results of analysis of variance (ANOVA) showed that the interaction effects of silicon nanoparticles and salinity stress on all measured traits were significant ($P < 0.05$). Results showed that salinity stress reduced plant height, shoot dry weight, number of capitols, the largest flower diameter, flower yield, total chlorophyll as well as carotenoids and leaf relative water content.In contrast, the application of silicon nanoparticles reduced the negative effects of salinity stress (lipid peroxidation), improved growth parameters, photosynthetic pigments, quantitative (flower production) and qualitative (quercetin content) yield of the plant compared to the control, and there were a statistically significant differences in this regard between silicon nanoparticle levels. The results of analysis of extracts by HPLC showed that the highest amount of quercetin (309.78 µg/g dry weight) was related to the treatment of 150 mg/L silicon nanoparticles and salinity stress of 50 mM. Also, the antioxidant activity of plant flower extracts in different experimental treatments showed a significant ($P < 0.01$) difference on inhibition of DPPH free radicals and had a similar trend with phenolic and flavonoid contents. Therefore, the use of appropriate concentration of silicon nanoparticles seemed to be effective in reducing the negative effects of salinity stress and increasing the content of pharmacologically active metabolites in marigold.

Keywords: *Calendula officinalis*, Nano-silicone, Salinity stress, Quercetin, Flower yield.

Corresponding author, Email: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.47.10.9]