

## بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل نرگس (*Narcissus tazetta* L.) در پاسخ به محلول پاشی نانومولکول‌های سیلیسیم و کیتوزان

ام‌البین جهانتیغ\* و شکوفه حاجی‌هاشمی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان، خوزستان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۷/۲۴)

### چکیده

گیاه نرگس با عطر منحصر بفرد، یکی از زیباترین و قدیمی‌ترین گیاهان زینتی در ایران و سرتاسر جهان است. با توجه به توسعه بکارگیری فناوری نانو در عرصه علوم مختلف و افزایش نقش روزافزون آن در عرصه کشت و پرورش گیاهان، مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر ترکیبات نانو بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل نرگس در کشت مزرعه‌ای در شهر بهبهان طراحی شد. در پژوهش حاضر، تأثیر محلول پاشی گیاهان با آب مقطر (شاهد)، سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم بر عملکرد گل نرگس در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی بررسی شد. محلول پاشی بر روی گیاهان ۱۴ روزه و به مدت یک‌ماه هر پنج روز یک‌بار تکرار شد. نتایج نشان داد که تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم به طور میانگین موجب بهبود صفات مورفولوژیکی گیاه از قبیل درصد گل‌دهی ۳۲٪، سرعت گل‌دهی ۹٪، قطر گل ۸٪، وزن تر گل ۹٪ و تعداد گل در هر ساقه گل‌دهنده ۲۶٪ در مقایسه با گیاهان شاهد شدند. همچنین از لحاظ فیزیولوژیکی، افزایش میزان کلروفیل‌های a و b، کاروتنوئیدها، قندهای محلول، پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌های گیاهان تحت تأثیر تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم مشاهده شد، درحالی‌که مقدار آب‌اکسیژنه کاهش نشان داد. مؤثرترین تیمار نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم بود که موجب افزایش ۳۳٪ کلروفیل a، ۵۸٪ کلروفیل b، ۱۱٪ کاروتنوئیدها، ۴۹٪ قندهای محلول، ۱۴٪ پروتئین‌ها و ۴۲٪ فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. محلول پاشی گیاهان بر روی میزان مالون دی‌آلدئید، فعالیت آنتی‌اکسیدان کل براساس روش FRAP و میزان پرولین بدون تأثیر بود. تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم سبب افزایش میزان فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در گلبرگ‌ها و برگ‌های گیاهان شدند. افزایش ۲۲ و ۲۰٪ فنل، ۵۷ و ۵۲٪ فلاونوئیدها و ۱۰ و ۱۳٪ آنتوسیانین‌ها به ترتیب در گلبرگ و برگ تحت تیمار نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم ملاحظه گردید. براساس کاهش میزان آب‌اکسیژنه و عدم وقوع پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تیمارهای صورت گرفته بدون ایجاد تنش در گیاه و با بهبود عملکرد فیزیولوژیکی گیاه سبب ارتقاء فرایند رشد و گلدهی در گیاه نرگس شدند و مؤثرترین تیمار محلول پاشی نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم بود.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان‌ها، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، شاخص‌های مورفولوژیکی، فرایند گلدهی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، رنگیزه‌های غیرفتوسنتزی

## مقدمه

نرگس (*Narcissus tazetta*) یک گیاه زینتی چند ساله از خانواده Amaryllidaceae است که از طریق پیاز تکثیر می‌شود. نرگس دارای ۳ الی ۲۰ گل معطر در یک ساقه گل‌دهنده است که به دلیل داشتن ترکیبات آلكالوئیدی در صنایع پزشکی و آرایشی کاربرد فراوانی دارد. گیاه نرگس دارای پراکنش وسیع جغرافیایی در قاره‌های آسیا، آفریقا و اروپاست که نشان دهنده سازگاری بالای این گیاه با شرایط اکولوژیکی مختلف است (Ruiz-Ramon *et al.*, 2014; Gul and Tahir, 2013; Slezak *et al.*, 2020). *N. tazetta* از فراوان‌ترین گونه‌هایی است که در سراسر جهان به دلیل ارزش زینتی و عطری کشت می‌شود (Gul and Tahir, 2013; Dobson *et al.*, 1997; Ruiz-Ramon *et al.*, 2014). براساس فلور ایرانیکا (Labrana *et al.*, 2002) و طبقه‌بندی گیاهی (Karimian, 2015)، نرگس‌های بومی ایران متعلق به نرگس‌های فنجانی یا پپاله‌ای *N. tazetta* و نرگس‌های غیربومی متعلق به نرگس‌های شیپوری *Narcissus pseudonarcissus* هستند. شهرستان بهبهان در استان خوزستان یکی از معروف‌ترین رویشگاه‌های *N. tazetta* است که بازار بزرگی برای گل‌های شاخه بریده نرگس در زمستان به خود اختصاص داده است (Hajihashemi and Jahantigh, 2023). القای گل‌دهی در گیاهان زینتی برای برآوردن نیازهای تجاری ضروری است. برهمکنش بین عوامل درونی و بیرونی موجب تنظیم رشد گیاه از مرحله رویشی به فاز زایشی می‌شود. محلول‌پاشی برگ می‌تواند مواد مغذی را به‌طور مستقیم از قسمت‌های هوایی گیاه به اندام‌های هدف رسانده و موجب بهبود عملکرد گیاه از قبیل فرآیند گلدهی و همچنین کاهش اثرات منفی تنش بر گیاه شود (Niu *et al.*, 2021).

سیلیسیم دومین عنصر فراوان در پوسته زمین است، درحالی‌که برای بسیاری از گیاهان، به استثنای برخی از گیاهان مانند خانواده گرامینه، جزو عناصر غیرضروری در نظر گرفته می‌شود (Keller *et al.*, 2012). علیرغم غیرضروری بودن سیلیسیم در فرآیندهای رشدونمو بسیاری از گیاهان، نقش مفید کوددهی سیلیسیم بر کاهش اثرات نامطلوب تنش‌ها در گیاهان متعددی گزارش شده است (Abdelaal *et al.*, 2020; Hurtado

2009; Liu *et al.*, 2020; *et al.*). سیلیسیم با تنظیم مکانیسم‌هایی از قبیل فتوسنتز، سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، تجمع اسمولیت‌ها و تعادل در مواد مغذی موجب افزایش قدرت مقابله با تنش شوری در گیاهان می‌شود (Abdel-Halim *et al.*, 2015; Liang *et al.*, 2007; Rizwan *et al.*, 2015). اغلب سیلیسیم به‌صورت سیلیکات به خاک افزوده می‌شود؛ با این حال، می‌توان از فرم‌های کمتر فعال سیلیسیم یا نانوذرات سیلیسیم با عملکردی شبیه به فیتولیت‌ها استفاده کرد (Greger and Landberg, 2019). امروزه افزودن نانوذرات به محلول غذایی گیاهان و یا محیط‌کشت گیاهان به دلیل داشتن ویژگی‌های منحصر به‌فردی مانند نفوذ سریع‌تر و راحت‌تر از طریق غشای سلولی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. نانوذرات ساختارهای اتمی یا مولکولی با حداقل ابعاد بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که خواص فیزیکوشیمیایی متفاوتی در مقایسه با مواد توده‌ای خود دارند. نانوکودها می‌توانند نسبت به کودهای معمولی در بهبود تغذیه گیاه و محافظت از آنها در برابر تنش‌های محیطی مؤثرتر باشند (Rana *et al.*, 2021; Sheikhalipour *et al.*, 2021; Verma *et al.*, 2021; Aqaei *et al.*, 2020). اهمیت سیلیسیم برای بهبود رشد گیاه باقلا (Roohizadeh *et al.*, 2015)، افزایش راندمان مصرف آب در گوجه فرنگی (Romero-Aranda, 2006) و بهبود عملکرد فتوسنتز در گیاه جو (Liang *et al.*, 2003) نیز گزارش شده است. کود معمولی سیلیسیم اغلب در خاک به مقدار کم در دسترس گیاه قرار می‌گیرد، در حالی‌که کود نانوسیلیسیم به دلیل اندازه کوچکتر ذرات می‌تواند به‌راحتی به درون سلول‌های برگ نفوذ کرده و عملکرد مؤثرتری داشته باشد (Wang *et al.*, 2015). تیمار نانوسیلیسیم نقش مؤثری در کاهش اثرات نامطلوب تنش UVB در گیاه گندم داشته است که می‌تواند به در دسترس بودن بیشتر ذرات نانوسیلیسیم در مقایسه با سیلیسیم مرتبط باشد (Tripathi *et al.*, 2017).

امروزه استفاده از مواد زیستی مانند بیوپلیمر کیتوزان در صنعت کشاورزی به دلیل مزایای متعدد در استفاده ایمن و آسان و تولید ارزان در سراسر جهان افزایش یافته است. کیتوزان، یک پلی‌ساکارید گلوکوزامین است که از کیتین گرفته شده و

به‌صورت فراوان در طبیعت یافت می‌شود و دارای کاربردهای صنعتی، دارویی و کشاورزی است (Babel and Kurniawan, 2003). در صنعت کشاورزی، از کیتوزان برای پوشاندن سطوح بذرها، برگ‌ها و میوه‌ها استفاده می‌شود و سبب افزایش ماندگاری آن‌ها می‌گردد (Devlieghere et al., 2004). این ماده همچنین به‌عنوان کود و برای افزایش تولید گیاه، تحریک ایمنی گیاه، محافظت از گیاهان در برابر ریزجانداران و تحریک جوانه‌زنی گیاه استفاده می‌شود (Uthairatanakij et al., 2007). ساختار شیمیایی کیتوزان (پلی‌ساکارید گلوکزآمین مشتق از کیتین) به‌راحتی امکان طراحی پلیمرهای جدید با مولکول‌های خاص برای کاربردهای متعدد را می‌دهد. این ویژگی به کیتوزان اجازه می‌دهد که نقش بسیار مهم و کاربردی در طیف وسیعی از صنایع پزشکی و بیوتکنولوژی تا کشاورزی را داشته باشد (Malerba and Cerana, 2018). امروزه، تعداد زیادی از محققین در حال بررسی اثرات کودهای مبتنی بر نانوکیتوزان بر روی گیاهان مختلف تحت شرایط عادی و تنش‌زا هستند (Choudhary et al., 2017; Chouhan and Mandal, 2020). نانوکود کیتوزان-سیلیسیم با انتشار آهسته سیلیسیم موجب ارتقای کارایی سیستم آنتی‌اکسیدانی، فرایند فتوسنتز و رشد گیاه ذرت گردید (Kumaraswamy et al., 2021). با توجه به ارزش زینتی و تجاری بالای *N. tazetta*، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی برگ‌ی سیلیسیم (S)، نانوسیلیسیم (NS)، کیتوزان (C)، نانوکیتوزان (NC) و نانوکیتوزان-سیلیسیم (NC-NS) بر روند گلدهی، رنگدانه‌های فتوسنتزی و غیرفتوسنتزی، متابولیت‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های گیاه صورت پذیرفت.

#### مواد و روش‌ها

روش کاشت و تیماردهی گیاه: شهر بهبهان در موقعیت جغرافیایی ۵۰ درجه و ۱۴ دقیقه طول شرقی و ۳۰ درجه و ۳۶ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۳۱۳ متر از سطح دریا قرار گرفته است. بهبهان با آب و هوای نیمه‌خشک گرم، دارای زمستان مطبوع همراه با بارندگی‌های شدید و تابستان طولانی، بسیار

گرم و بدون باران است (Hajihashemi and Jahantigh, 2023). پیاز نرگس (*N. tazetta*) از منطقه نرگس‌زار شهرستان بهبهان، استان خوزستان، ایران تهیه گردید. این آزمایش با شش تیمار شامل آب مقطر (شاهد)، سیلیسیم (S)، نانوسیلیسیم (NS)، کیتوزان (C)، نانوکیتوزان (NC) و نانوکیتوزان-سیلیسیم (NC-NS) با هدف تعیین بهترین تیمار برای القای گلدهی در *N. tazetta* طراحی شد. این مطالعه در فصل رشد نرگس در سال ۱۴۰۰ در شرایط مزرعه‌ای در شهر بهبهان انجام شد. در ۲۴ آبان ۱۴۰۰، ۷۲ پیاز سالم با وزن تقریباً یکسان (بین ۳۰ تا ۴۰ گرم) انتخاب شد. کاشت ۱۲ پیاز در چهار کرت جداگانه به ازای هر تیمار انجام شد. هر سه بوته نرگس در هر کرت به‌عنوان یک تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد. پیازها در فواصل ۲۵ سانتی‌متری از یکدیگر، فواصل نیم متری بین ردیف‌ها و با عمق کاشت دو برابر ارتفاع پیاز کاشته شدند. خاک مزرعه دارای pH خنثی (۶/۵)، هدایت الکتریکی معادل ۰/۱۸ دسی‌زیمنس بر متر، کلسیم (۴۵۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)، پتاسیم (۱۱۸۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)، فسفر (۲۵۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) و نیتروژن (۱۳۴۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) و بدون کوددهی شیمیایی بود (Hajihashemi and Jahantigh, 2023). آبیاری پیازها در طول آزمایش با آب لوله‌کشی و به صورت هفتگی با ۸۰٪ ظرفیت زراعی براساس روش وزنی خاک انجام شد (Hajihashemi et al., 2020a). در آزمایشات مقدماتی به بررسی غلظت‌ها و دوره‌های تیماردهی مختلف پرداخته شد و براساس نتایج بدست آمده (نتایج نشان داده نشده است)، مناسب‌ترین غلظت‌ها و دوره تیماردهی جهت انجام تحقیق حاضر انتخاب گردید. ده روز پس از کاشت، پیازها شروع به جوانه‌زنی کردند. دو هفته پس از جوانه‌زنی تیماردهی به‌صورت محلول‌پاشی برگ‌ی با آب مقطر (شاهد)، S (۰/۰۵٪ وزن/حجم)، NS (۰/۰۵٪ وزن/حجم)، C (۰/۰۵٪ وزن/حجم)، NC (۰/۰۵٪ وزن/حجم) و NC-NS (۰/۱٪ وزن/حجم) انجام شد. محلول‌پاشی هر پنج روز به مدت یک‌ماه صورت گرفت. اولین گل‌ها در هفتم دی‌ماه ظاهر شدند و فرآیند گلدهی تا ظهور آخرین گل‌ها حدود یک ماه

(Hajhashemi et al., 2020b). بلافاصله پس از برداشت گل‌ها، وزن تر و قطر گل‌ها اندازه‌گیری شد.

**سنجش رنگیزه‌های فتوستتزی:** به‌منظور سنجش میزان رنگیزه‌های فتوستتزی، عصاره‌گیری ۰/۲ گرم بافت تازه برگ با ۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد صورت گرفت. سپس نمونه‌ها با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. میزان جذب محلول روشنار نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. میزان کلروفیل‌های *a*، *b*، کل و کاروتنوئیدها از طریق معادله‌های Wellburn و Lichtenthaler (۱۹۸۴) محاسبه گردید. در فرمول‌های زیر  $A_{663.2}$ ،  $A_{646.8}$  و  $A_{470}$  به ترتیب نشان‌دهنده میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر است.  $Chl\ a$ ،  $Chl\ b$ ،  $Chl\ T$ ،  $Cx+c$  به ترتیب غلظت کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گزانتوفیل‌ها) است. غلظت کلروفیل‌ها با توجه به حجم عصاره و وزن نمونه‌ها بر حسب  $mg\ g^{-1}FM$  بیان شد.

$$Chl\ a\ (mg\ l^{-1}) = (12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8})$$

$$Chl\ b\ (mg\ l^{-1}) = (21.51 A_{646.8} - 5.1 A_{663})$$

$$Chl\ T\ (mg\ l^{-1}) = Chl\ a + Chl\ b$$

$$C\ x+c = (1000 A_{470} - 1.8 Chl\ a - 85.52 Chl\ b) / 198$$

**سنجش کربوهیدرات‌های محلول:** برای اندازه‌گیری

کربوهیدرات‌های محلول (water soluble carbohydrate) به روش فنل-اسید سولفوریک، ۰/۰۱ گرم پودر بافت خشک برگ توزین شده و به لوله‌های آزمایش شیشه‌ای منتقل شد. به هر لوله ۳ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و سپس لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه درون بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و روشنار در ظرف جداگانه‌ای جمع‌آوری گردید. مجدداً در دو مرحله متوالی و در هر مرحله با افزودن ۳ میلی‌لیتر آب مقطر به رسوب‌های قبلی عصاره‌گیری صورت گرفت و هر بار محلول‌های روشنار جمع‌آوری شد. سپس حجم نهایی هر محلول روشنار به وسیله آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و نمونه‌ها با کمک کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شدند. سپس، ۲ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده با ۵۰ میکرولیتر فنل ۸۰ درصد وزنی (حل‌شده در آب مقطر) مخلوط شده و ۵

به‌طول انجامید. برداشت گل‌ها به‌صورت تدریجی و پس از بازشدن کامل گل‌ها صورت گرفت و برای مطالعات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی منجمد شدند. پس از اتمام فرآیند گلدهی، برداشت برگ‌های گیاهان به‌طور همزمان برای همه تیمارها انجام شد.

**روش آماده‌سازی نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-**

**نانوسیلیس:** پودر نانوسیلیکون دی‌اکسید (۲۰-۱۰ نانومتر)، کیتوزان (کیتین استیل‌شده) و تری-پلی فسفات سدیم (TPP) از شرکت سیگما آلدریج تهیه شد. کیتوزان (۰/۴٪ وزن/حجم) در محلول اسید استیک (۰/۵٪ حجم/حجم) تهیه شده با آب با کیفیت HPLC توسط همزن مغناطیسی ۱۰۰ دور در دقیقه حل گردید. سپس محلول با استفاده از کاغذهای صافی واتمن (۱۲۵ میلی‌متر) صاف شد. TPP (۰/۲٪ وزن/حجم) نیز در آب با کیفیت HPLC حل شده و توسط کاغذ صافی واتمن صاف شد (Hajhashemi and Kazemi, 2022). محلول TPP آماده شده به آرامی و قطره قطره به محلول کیتوزان در حال هم زدن ۱۰۰ دور در دقیقه اضافه شد تا ذرات نانوکیتوزان شکل گرفتند. سوسپانسیون ذرات نانوکیتوزان با سانتریفیوژ ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه خالص‌سازی شدند. سپس ذرات نانوکیتوزان سه‌بار با آب با کیفیت HPLC شسته شدند و هر بار مایع روشنار دور ریخته شد. به‌طور مشابه، نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم با روش مذکور و با استفاده از غلظت کیتوزان (۰/۴٪، وزن/حجم)، TPP (۰/۲٪، وزن/حجم) و نانوسیلیسیم (۰/۱٪، وزن/حجم) تهیه شد (Kumaraswamy et al., 2021). تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (Transmission electron microscopy)، ذرات نانوکیتوزان-نانوسیلیس در مقاله Hajhashemi و Kazemi (۲۰۲۲) ارائه شده است.

**شاخص‌های مورفولوژیکی:** شاخص‌های ارتفاع ساقه

گل‌دهنده، تعداد گل و درصد گلدهی در هر تیمار قبل از برداشت ثبت شدند (Hajhashemi and Jahantigh, 2023). بر اساس مشاهدات ثبت‌شده در طی فرآیند نمو گیاه، میانگین زمان ظهور اندام گل‌دهنده (Mean Germination Time) براساس اولین روز ظهور جوانه گل در هر تیمار محاسبه شد

از اسید آسکوربیک خالص در محدوده غلظت صفر تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استفاده شد ( Szollosi and Varga, 2002).

**سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا:** میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا از طریق تعیین غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) در واکنش با تیوباربیتوریک اسید سنجیده شد (Heath and Packer, 1968). طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تر برگ با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱٪ سائیده شد. نمونه‌ها با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس، ۱ میلی‌لیتر عصاره با ۴ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد وزنی حاوی ۰/۵ درصد وزنی تیوباربیتوریک اسید مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب‌گرم حرارت داده شدند و بلافاصله بر روی یخ سرد شدند. دوباره نمونه‌ها با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر شد. برای محاسبه غلظت مالون دی‌آلدئید از ضریب خاموشی معادل  $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  استفاده شد.

**سنجش پراکسید هیدروژن:** ۰/۵ گرم بافت تر برگ در ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱٪ در حمام یخ سائیده و توسط سانتریفیوژ یخچالدار با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر محلول روشنآور با ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH ۷) و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار مخلوط گردید. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار پراکسید هیدروژن در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی  $280 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  محاسبه شد (Velikova et al., 2000).

**سنجش پرولین:** نیم گرم از بافت تر برگ با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ (وزن/حجم) به‌خوبی سائیده شد. نمونه حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر عصاره گیاه با ۲ میلی‌لیتر

میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ (۳۶/۸ نرمال) به آن اضافه شد. این مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شده و پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن محلول‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. میزان کربوهیدرات‌های محلول براساس منحنی استاندارد گلوکز در محدوده غلظت بین صفر تا ۳۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد (Dubois et al., 1956).

**سنجش پروتئین‌های محلول:** استخراج پروتئین‌های محلول با استفاده از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH ۶/۸) انجام شد. عمل عصاره‌گیری در بافت تر برگ و با نسبت ۱:۳ (۱ گرم بافت برگ به ۳ حجم بافر استخراج) درون حمام یخ انجام شد. سپس نمونه‌ها با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. مقدار پروتئین‌های روشنآور براساس روش برادفورد اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976). برای رسم منحنی استاندارد پروتئین از سرم آلبومین گاوی در محدوده غلظت صفر تا ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر استفاده شد.

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز:** میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۶/۸)، پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار بود. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی سه میلی‌لیتر آغاز شد. تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت سه دقیقه ثبت شد (Aebi, 1984). میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از ضریب خاموشی  $0.036 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  محاسبه شد.

**ظرفیت آنتی‌اکسیدانت کل:** اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP (ferric reducing ability of plasma) انجام شد. محلول واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی و ۱/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی بافر استات ۳۰۰ میلی‌مولار (pH ۳/۶)، تری‌پری‌دی‌ل‌تریازن ۱۰ میلی‌مولار و کلرید آهن ۲۰ میلی‌مولار است. شدت جذب این محلول در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد

منحنی استاندارد حاصل از اسید گالیک در محدوده غلظت صفر تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر محاسبه گردید.

**سنجش فلاونوئیدها:** اندازه گیری فلاونوئیدها براساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید انجام شد. یک گرم بافت تازه (برگ و گلبرگ سفید گل نرگس) در ۱۰ میلی لیتر متانول ساییده شد. محلول حاصل در ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی لیتر عصاره متانولی با ۱/۵ میلی لیتر متانول ۸۰٪، ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلرید (۱۰٪ متانولی)، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر ترکیب شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد با استفاده از محلول کوئرستین متانولی تعیین شد (Chang et al., 2002).

نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۲۴) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تفاوت معنی داری بین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای Tukey مشخص شد ( $P \geq 0.05$ ). مقادیر ارائه شده به معنای چهار تکرار بیولوژیکی مستقل هستند. حروف بالای هر ستون در شکل‌ها، نتایج آنالیز آماری را نشان می‌دهند و نوارهای خطا نشان‌دهنده انحراف معیار هستند.

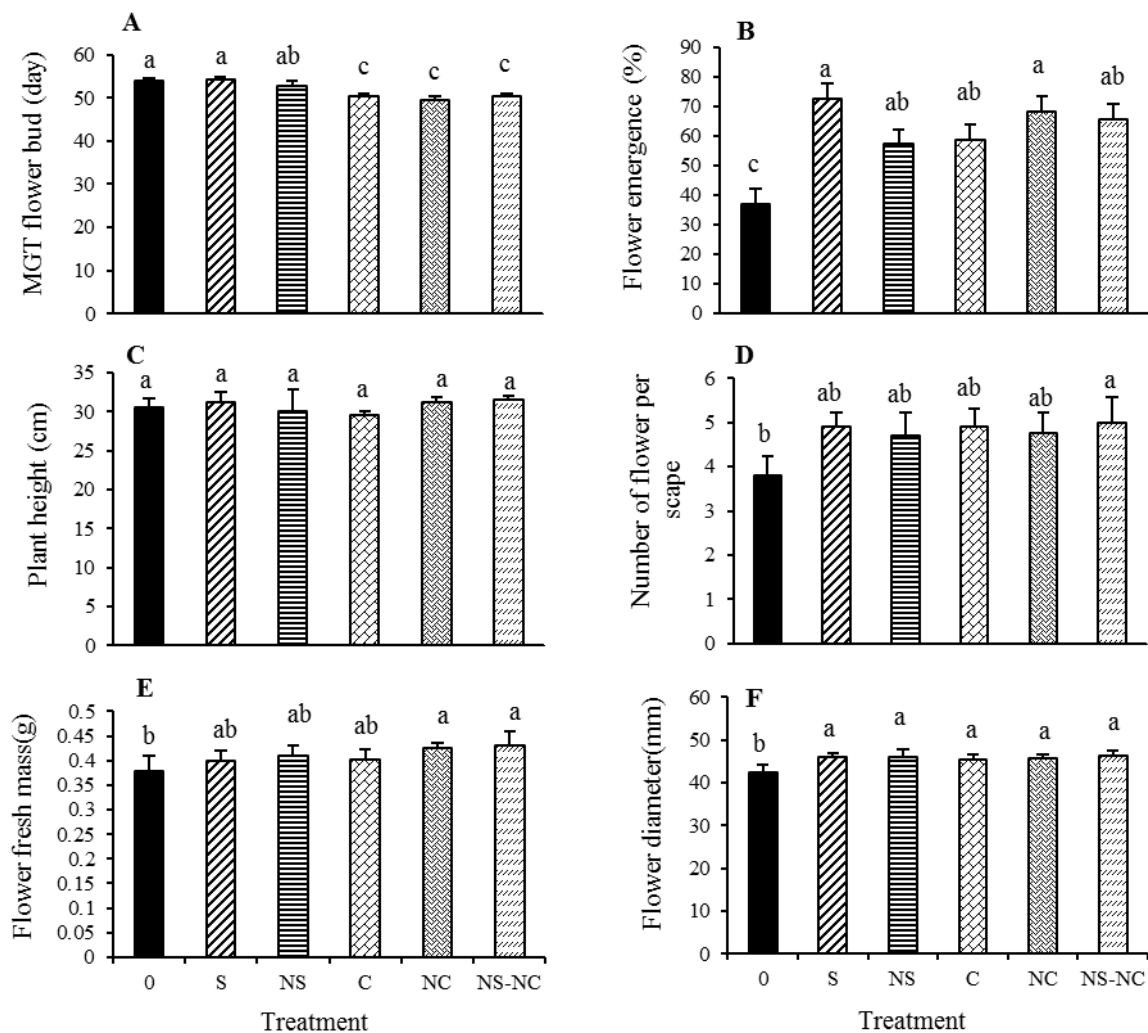
### نتایج

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که جوانه‌زنی پیازهای نرگس تحت تأثیر تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم به صورت ۱۰۰٪ بود و تفاوت معنی داری نسبت به شاهد نشان نداد. سرعت ظهور اندام گل‌دهنده تحت تأثیر تیمارهای کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم افزایش یافت به طوری که میانگین زمان ظهور اندام گلدهی کاهش معنی داری در مقایسه با گیاهان شاهد نشان داد (شکل ۱-۱). بالاترین سرعت ظهور اندام گل‌دهنده در تیمار نانوکیتوزان مشاهده شد و میانگین زمان ظهور اندام گلدهی حدود ۹ درصد کمتر گیاهان شاهد بود. تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و

اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی لیتر معرف نین‌هیدرین مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد داخل بن‌ماری حرارت داده شدند. سپس جهت توقف واکنش نمونه‌ها بلافاصله به ظرف محتوی آب و یخ منتقل شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، ۴ میلی لیتر تولوئن به آن‌ها اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت مخلوط گردید. این عمل موجب دو فازه شدن محتویات لوله شد (فاز تولوئن رنگی حاوی پرولین در بالا و فاز آبی شفاف در پایین). در نهایت جذب بخش رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از پرولین خالص در محدوده غلظت صفر تا ۱۰۰ میکرومولار استفاده شد (Bates et al., 1973).

**سنجش آنتوسیانین کل:** به منظور سنجش مقدار آنتوسیانین‌ها، یک گرم بافت تر (برگ و گلبرگ سفید گل نرگس) توسط ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱ میلی لیتر) به خوبی ساییده شد. عصاره‌های حاصل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و به عصاره‌های حاصل ۱۰۰ میکرولیتر کلروفرم جهت حذف کلروفیل اضافه شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شدند و با استفاده از ضریب خاموشی  $33000 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  محاسبه شدند (Wagner, 1979).

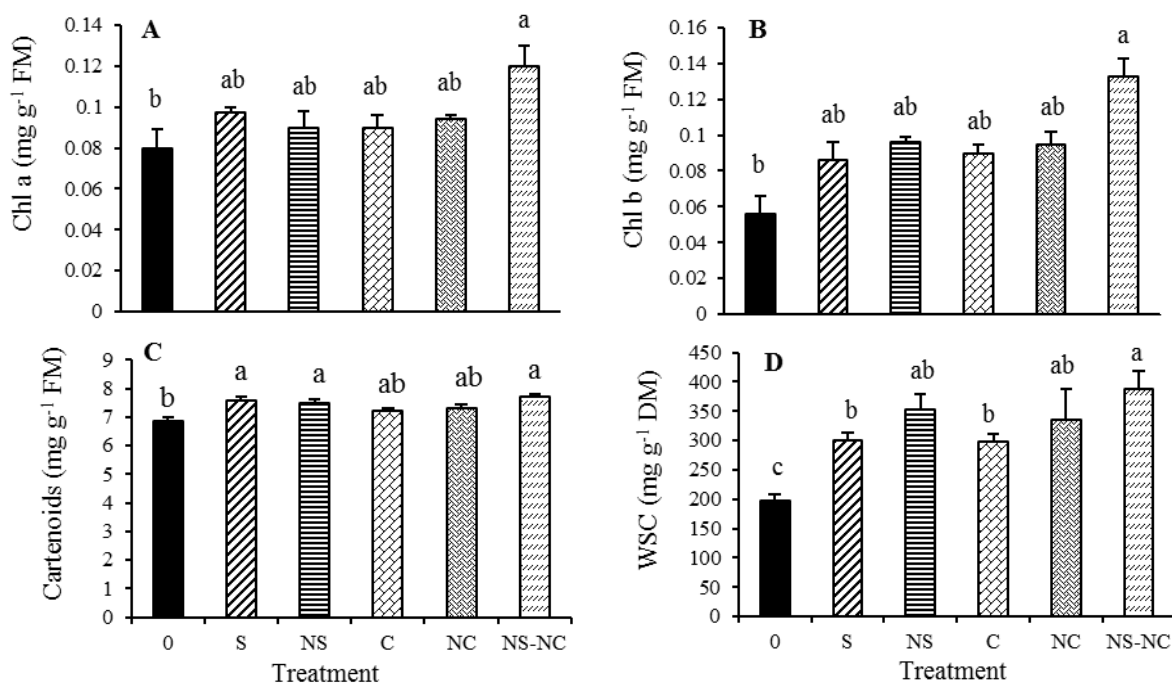
**سنجش فنل‌ها:** میزان فنل‌ها با استفاده از معرف فولین اندازه‌گیری شد (Singleton and Rossi, 1965). ۱۰۰ میلی گرم از بافت تر (برگ و گلبرگ سفید گل نرگس) توسط ۵ میلی لیتر اتانول ۹۵٪ ساییده شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری گردید. سپس نمونه‌ها با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس، ۱ میلی لیتر از عصاره با ۱/۵ میلی لیتر اتانول ۹۵٪، ۵ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین ۵۰٪ ترکیب شد. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد و میزان فنل نمونه‌ها براساس



شکل ۱- میانگین زمان ظهور اندام گل‌دهنده (A)، درصد گلدهی (B)، ارتفاع گیاه (C)، تعداد گل به ازای ساقه گل‌دهنده (D)، وزن تر گل (E) و قطر گل (F) نرگس تحت تأثیر تیمارهای آب مقطر (0)، سیلیسیم (S)، نانوسیلیسیم (NS)، کیتوزان (C)، نانوکیتوزان (NC) و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم (NS-NC). ستون‌هایی با حروف کوچک یکسان در  $P < 0.05$  تفاوت معنی‌داری ندارند.

ساقه گل‌دهنده) و میانگین بیشترین تعداد گل در تیمار نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم (تقریباً پنج گل به ازای هر ساقه گل‌دهنده) مشاهده گردید. تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم بر روی وزن تر گل تأثیر مثبت داشتند و تفاوت مشاهده شده نسبت به گیاهان شاهد معنی‌دار بود (شکل E-1). بالاترین افزایش وزن تر گل در تیمار نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم و ۱۴٪ بیشتر از شاهد مشاهده گردید. قطر گل در پاسخ به تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم در سطح معنی‌داری بزرگتر از گیاهان شاهد بود، درحالی‌که قطر

نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم در سطح معنی‌داری درصد گلدهی را افزایش دادند (شکل B-1). درصد گلدهی در تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم به ترتیب ۳۸٪، ۲۶٪، ۲۸٪، ۳۶٪ و ۳۴٪ بیشتر از گیاهان شاهد بود. ارتفاع گیاه نرگس تحت تأثیر تیمارهای مختلف تقریباً یکسان بود و تفاوت معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد (شکل C-1). تعداد گل به ازای هر شاخه گل‌دهنده تحت تأثیر تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم افزایش یافت (شکل D-1). میانگین کمترین تعداد گل در گیاهان شاهد (تقریباً سه گل به ازای هر



شکل ۲- میزان کلروفیل a (A)، میزان کلروفیل b (B)، کاروتنوئیدها (C) و میزان کربوهیدرات‌های محلول (D) گل نرگس تحت تأثیر تیمارهای آب مقطر (0)، سیلیسیم (S)، نانوسیلیسیم (NS)، کیتوزان (C)، نانوکیتوزان (NC) و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم (NS-NC). ستون‌هایی با حروف کوچک یکسان در  $P < 0.05$  تفاوت معنی‌داری ندارند.

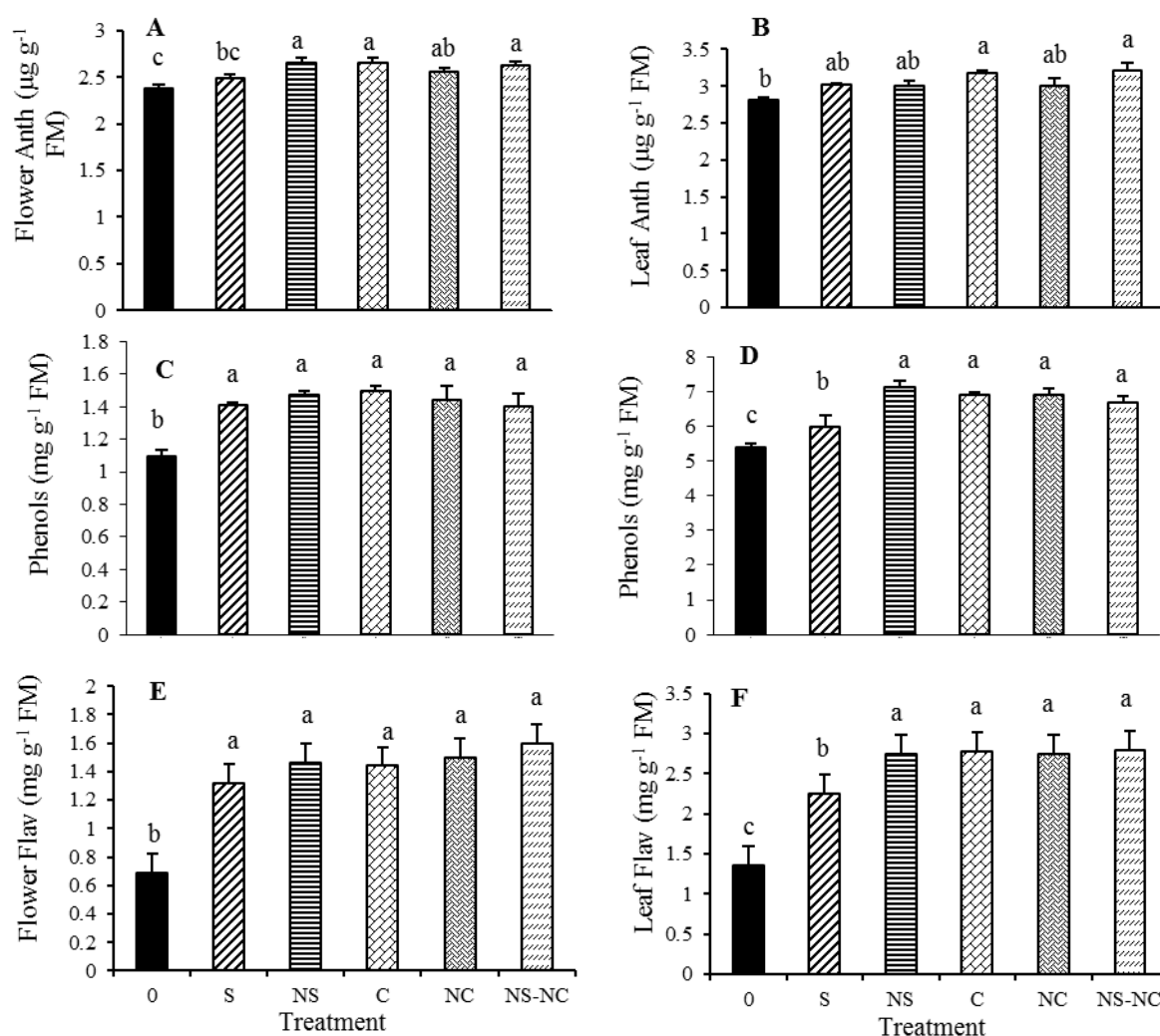
بیشتر از گیاهان شاهد بود.

میزان آنتوسیانین‌های گلبرگ‌ها در پاسخ به تیمارهای نانوسیلیسیم، کیتوزان و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم به میزان ۱۱٪، ۱۱٪ و ۱۰٪، به ترتیب، بیشتر از گیاهان شاهد بود، درحالی‌که تغییرات معنی‌داری در پاسخ به سایر تیمارها ملاحظه نشد (شکل ۳-A). تیمارهای کیتوزان و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم میزان آنتوسیانین‌های برگ‌ها را حدود ۱۱٪ و ۱۲٪، به ترتیب، در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش دادند، درحالی‌که در سایر تیمارها تغییرات معنی‌دار نبود (شکل ۳-B). فنل‌ها در گلبرگ‌ها و برگ‌ها در پاسخ به محلول‌پاشی گیاهان با سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم در سطح معنی‌داری افزایش یافتند (شکل ۳-C و D). بیشترین میزان افزایش فنل‌ها در گلبرگ‌ها و برگ‌ها به ترتیب در تیمارهای کیتوزان (۲۷٪) و نانوسیلیسیم (۲۴٪) بدست آمد. میزان فلاونوئیدها در برگ‌ها و گلبرگ‌های تیمار شده با سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-

گل تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف نشان نداد (شکل ۱-F). قطر گل در تیمارهای مختلف تقریباً ۷ الی ۸ درصد بیشتر از گیاهان شاهد بود.

میزان کلروفیل‌ها در پاسخ به تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان و نانوکیتوزان تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد نشان ندادند، درحالی‌که تیمار نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم سبب افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل‌های a و b به میزان ۳۳٪ و ۵۸٪ به ترتیب بیشتر از گیاهان شاهد شد (شکل ۲-A و B). تیمارهای کیتوزان و نانوکیتوزان سبب ایجاد تغییر معنی‌داری در میزان کاروتنوئیدها نشدند، درحالی‌که تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم میزان کاروتنوئیدها را به ترتیب ۱۰٪، ۱۰٪ و ۱۱٪ در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش دادند (شکل ۲-C). میزان قندهای محلول (WSC) در پاسخ به تیمارهای مختلف در سطح معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۲-D). بالاترین مقدار قندهای محلول در گیاهان تیمار شده با نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم ملاحظه شد که تقریباً ۴۹٪



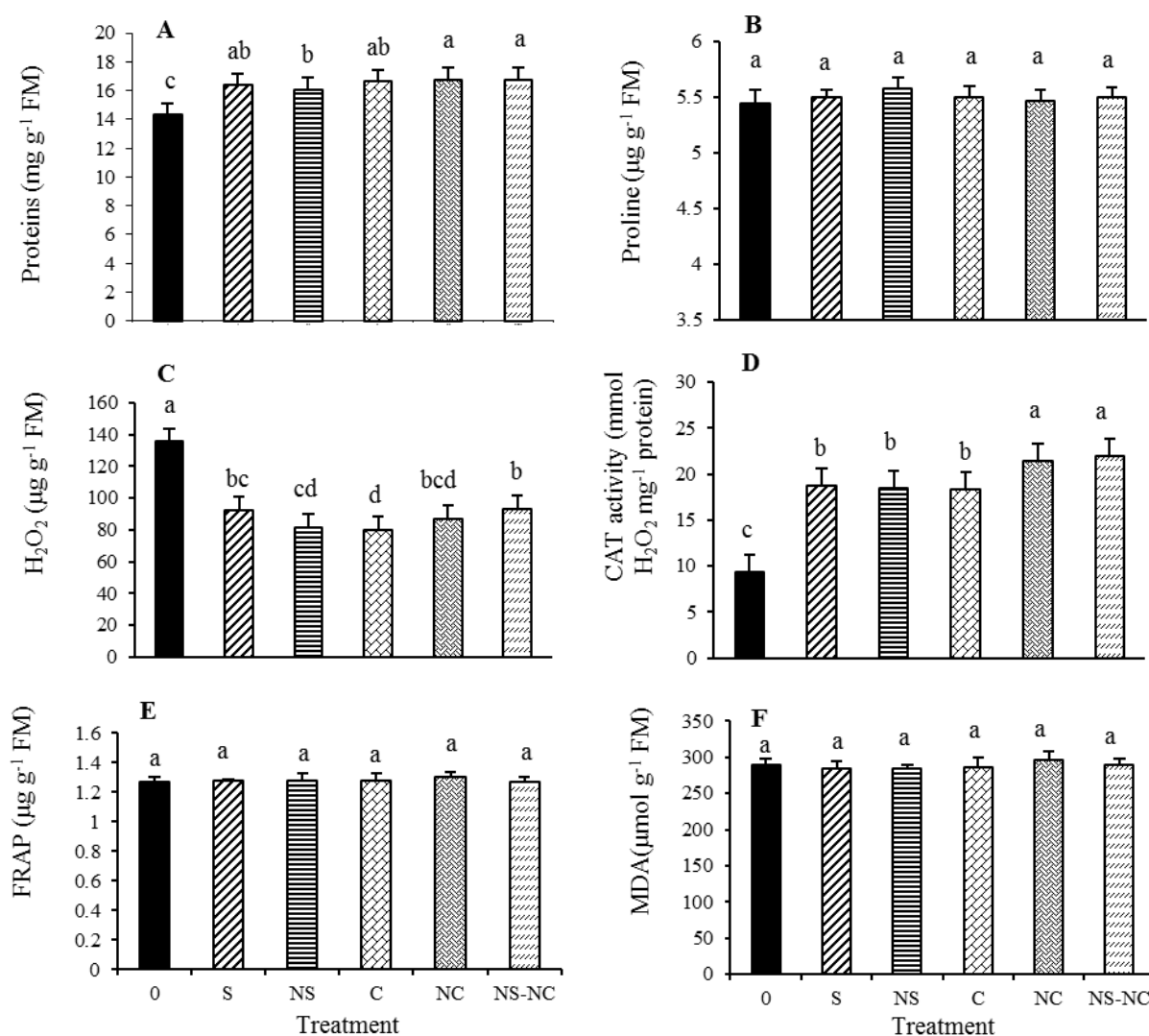


شکل ۳- آنتوسیانین گلبرگ (A)، آنتوسیانین برگ (B)، فنل گلبرگ (C)، فنل برگ (D)، فلاونوئید گلبرگ (E) و فلاونوئید برگ (F) نرگس تحت تأثیر تیمارهای کنترل (0)، سیلیسیم (S)، نانوسیلیسیم (NS)، کیتوزان (C)، نانوکیتوزان (NC) و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم (NS-NC). ستون‌هایی با حروف کوچک یکسان در  $P < 0.05$  تفاوت معنی‌داری ندارند.

ملاحظه‌شده نسبت به گیاهان شاهد معنی‌دار نبود (شکل B-۴). تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم سبب کاهش معنی‌دار میزان آب‌اکسیژنه در برگ‌های گیاه نرگس شدند (شکل C-۴). کمترین میزان آب‌اکسیژنه در تیمار کیتوزان و ۴۱٪ کمتر از گیاهان شاهد بود. همزمان با کاهش میزان تجمع آب‌اکسیژنه در گیاهان تیمار شده افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز ملاحظه گردید (شکل D-۴). بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم و به میزان ۴۲٪ بیشتر از گیاهان شاهد بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل براساس روش FRAP بررسی

نانوسیلیسیم افزایش معنی‌داری نشان دادند (شکل E-۳ و F). بیشترین میزان فلاونوئیدها در برگ‌ها و گلبرگ‌ها در پاسخ به تیمار نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم و به میزان ۵۱٪ و ۵۷٪، به‌ترتیب، در مقایسه با گیاهان شاهد به‌دست آمد.

تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم میزان پروتئین‌های محلول برگ‌ها را در سطح معنی‌داری افزایش دادند. بیشترین مقدار پروتئین‌ها در گیاهان محلول‌پاشی شده با نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم و به میزان ۱۴٪ بالاتر از گیاهان شاهد ملاحظه گردید (شکل A-۴). میزان پروتئین در تیمارهای مختلف تقریباً یکسان بود و تغییرات



شکل ۳- پروتئین‌ها (A)، پرولین (B)، آب‌اکسیژنه (C)، فعالیت آنزیم کاتالاز (D)، فعالیت آنتی‌اکسیدانت کل (E) و مالون دی‌آلدئید (F) نرگس تحت تأثیر تیمارهای کنترل (0)، سیلیسیم (S)، نانوسیلیسیم (NS)، کیتوزان (C)، نانوکیتوزان (NC) و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم (NS-NC). ستون‌هایی با حروف کوچک یکسان در  $P < 0.05$  تفاوت معنی‌داری ندارند.

لذا محققان به دنبال یافتن راهکارهایی جهت استفاده از ترکیبات طبیعی و دوستدار طبیعت هستند (Sharma *et al.*, 2023). سیلیسیم به‌عنوان دومین عنصر طبیعی فراوان در پوسته زمین و بیوپلیمر طبیعی کیتوزان برگرفته شده از پوست سخت‌پوستان دریایی، گزینه‌های مناسبی هستند که امروزه توجه بسیاری از محققان فعال در عرصه زیست‌شناسی را به‌خود جلب کرده‌اند (Sharma *et al.*, 2023; Hajihashemi and Kazemi, 2022). نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر نیز حاکی از اثرات مثبت این مولکول‌ها بر عملکرد گل نرگس است. از آنجایی که کاهش

گردید در پاسخ به تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد نشان نداد (شکل E-۴). اثر تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم بر پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و میزان مالون دی‌آلدئید در گیاهان تحت تیمار معنی‌دار نبود (شکل F-۴).

#### بحث

گسترش روزافزون استفاده از کودهای شیمیایی جهت افزایش گلدهی در گیاهان، آثار مخرب زیست‌محیطی برجای می‌گذارد،

برگ *Gerbera jamesonii* گردید (Mirabbasi et al., 2013)، که در راستای نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر است. کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه کمکی نقش‌های مهم دیگری چون حفاظت از غشاهای تیلاکوئیدی را بر عهده دارند و از فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها جلوگیری می‌کنند (Lawlor and Cornic, 2002). بنابراین افزایش کاروتنوئیدها در گل نرگس تحت تیمارهای ذکرشده در بهبود عملکرد سیستم فتوسنتزی دخیل است. فرآورده‌های فتوسنتزی مانند کربوهیدرات‌ها عامل نفوذ آب و توسعه سلول‌ها هستند و با افزایش میزان کربوهیدرات‌ها و به دنبال آن جذب آب، سلول‌ها با افزایش فشار تورژسانس توسعه می‌یابند که موجب افزایش وزن تر گلبرگ‌ها می‌گردد (Ichimura et al., 1999). تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم با افزایش مقدار قندها موجب افزایش توسعه سلولی، وزن تر و قطر گل‌ها می‌شوند که به‌نظر می‌رسد این مورد توسط گزارش‌های قبلی، بر اساس نقش کیتوزان (Uthairatanakij et al., 2007; Mondal et al., 2016) و سیلیس (Gou et al., 2020; Guerriero et al., 2016) پشتیبانی می‌شود. سیلیس با افزایش پلی ساکاریدهای دیواره سلولی و افزایش استحکام دیواره موجب محافظت در مقابل عوامل تنش‌زا می‌گردد (Guerrero et al., 2016; Christian et al., 2022).

فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها جزء متابولیت‌های ثانویه با خواص آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های غیرفتوسنتزی مسئول ایجاد رنگ‌های قرمز، صورتی، بنفش و آبی در بخش‌های مختلف گیاه به‌ویژه گل‌ها هستند (Mohamed et al., 2016; Akhtar et al., 2010). در این پژوهش میزان آنتوسیانین‌ها، فنل‌ها و فلاونوئیدها گلبرگ‌ها و برگ‌ها تحت تأثیر تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم افزایش یافتند. مطالعات مختلف نشان داده است که ساخت و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به‌وسیله برهمکنش پیچیده بین عوامل درونی (ژنتیکی و فنولوژی) و مراحل رشد (عوامل محیطی شامل فاکتورهای زیستی و

سایز مولکول‌ها در نفوذپذیری از طریق غشای سلولی و متعاقباً افزایش عملکرد درون سلولی آنها نقش دارد، استفاده از ترکیبات نانو در کودهای زیستی جایگاه ویژه‌ای را در صنعت کشاورزی پیدا کرده است (Sharma et al., 2023). براساس نتایج به‌دست آمده، محلول‌پاشی گیاهان با سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم اثرات مثبتی بر شاخص‌های مورفولوژیکی گل نرگس از قبیل افزایش طول ساقه گل‌دهنده، درصد گلدهی، تعداد گل در ساقه گل‌دهنده، اندازه و وزن تر گل و کاهش میانگین زمان ظهور اندام گل‌دهنده داشتند. گزارشات مشابهی مبنی بر تأثیر مثبت تیمار کیتوزان بر شاخص‌های رشد گیاه از قبیل طول ساقه گل‌دهنده، تعداد، عرض و طول برگ‌ها و همچنین تعداد گل‌ها در هر بوته *Gerbera jamesonii* ارائه شده است (Wanichpongpan et al., 2001). سیلیسیم با افزایش کشش سلولی و گسترش دیواره‌های اولیه سلولی باعث بهبود رشد گیاهان می‌شود (Vaculik et al., 2009). نانوذرات سیلیسیم باعث بهبود جوانه‌زنی بذر، افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر، وزن تر و وزن خشک دانه‌رست در گیاه گوجه‌فرنگی شده است (Siddiqui and Al-Wahaibi, 2014). براساس گزارشات کرمانی و مرادی (۲۰۲۱) استفاده از نانوسیلیسیم موجب افزایش تعداد و قطر گل، طول ساقه گل‌دهنده و میزان کلروفیل در گیاه زعفران شد که همسو با نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر است.

میزان کلروفیل‌های *a* و *b* و کاروتنوئیدها در پاسخ به تیمارهای مختلف سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان-نانوسیلیسیم افزایش یافتند. علیرغم اینکه سیلیسیم جزء عناصر ضروری برای گیاهان به‌شمار نمی‌رود، در برخی از واکنش‌های متابولیک نظیر جلوگیری از تجزیه کلروفیل‌ها نقش مهمی بازی می‌کند (Shen et al., 2010). همچنین سیلیسیم در تحریک ساخت کلروفیل و حفظ بالانس آب گیاه مؤثر است که همه این عوامل باعث افزایش کارایی فتوسنتز می‌شود (Silva et al., 2012). استفاده از سیلیسیم و نانوسیلیسیم موجب افزایش مقدار کلروفیل‌ها در

غیرزیستی) تنظیم می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل‌ها در گیاهان به طور عمده به علت ویژگی‌های کاهش اکسایشی در ساختار شیمیایی آنها است، که در ختنی کردن رادیکال‌های آزاد، احاطه کردن فلزات انتقالی و فرونشاندن مولکول‌های اکسیژن یکتایی و سه‌گانه از طریق تغییرات مکان یا پراکسیداسیون آنها نقش مهمی دارند (Baâtour et al., 2012). کیتوزان در مسیر علامت‌دهی بیوستز ترکیبات فنلی درگیر است که موجب افزایش ترکیبات فنلی می‌شود (Bautista-Banos et al., 2006). فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های موجود در گلبرگ و برگ به‌عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند (Epstein, 1994). همچنین فلاونوئیدها، به دلیل داشتن نقش آنتی‌اکسیدانی، به‌طور مستقیم با وارد شدن در واکنش‌های احیایی و یا به‌طور غیرمستقیم به‌وسیله کلات کردن آهن، مانع تنش اکسیداتیو می‌شوند (Popova et al., 1997).

در گیاهان نرگس تیمار شده با ترکیبات مذکور، افزایش رنگیزه‌های فتوستتزی و کربوهیدرات‌ها مشاهده گردید که می‌تواند به دلیل افزایش رنگیزه‌های غیرفتوستتزی و کاروتنوئیدها با خواص آنتی‌اکسیدانی باشد. در همین راستا، میزان آب‌اکسیژنه در گیاهان تیمار شده با سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم کاهش معنی‌داری نشان داد که توأم با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز بود. آنزیم کاتالاز با خاصیت آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در حذف آزاد آب‌اکسیژنه در گیاهان و محافظت ساختارهای سلولی در برابر رادیکال‌ها آزاد اکسیژن دارد (Liu and Liao, 2022). مطالعات بر روی تیماردهی گیاه گندم توسط سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم حاکی از نقش تیمارها مذکور در فعال‌سازی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی و افزایش مقاومت به تنش شوری بود (Hajhashemi and Kazemi, 2022).

جهت جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی ضروری است (Ghalamboran et al., 2022). مالون دی‌آلدئید به‌عنوان

نشانگر زیستی برای آسیب به لیپیدهای غشا است و رابطه مثبتی بین غلظت مالون دی‌آلدئید و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی وجود دارد (Mohamed et al., 2016). در پژوهش حاضر غلظت مالون دی‌آلدئید تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفت که حاکی از عدم سمیت تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم و عدم ایجاد تنش در گیاه نرگس است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل که به‌صورت FRAP نشان داده می‌شود تغییری نکرد که همسو با نتایج بدست آمده بر روی *Camelina sativa* بود که در پاسخ به تیمار سیلیسیم بدون شوری تفاوت معنی‌داری در میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی FRAP مشاهده نشد (فانی و حاجی‌هاشمی، ۲۰۲۳). تجمع آب‌اکسیژنه در گیاهان سبب آسیب به بیومولکول‌های اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، لیپیدهای غشایی و سیستم‌های فتوستتزی می‌شود (Sies, 2017). در گیاهان نرگس تیمار شده با سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم همزمان با کاهش میزان تجمع آب‌اکسیژنه میزان پروتئین‌ها افزایش یافت. علیرغم افزایش میزان پروتئین‌ها، در تیمارهای مختلف میزان پروتئین تغییری نداشت. بیوستز و تجمع اسیدآمینو پرولین در پاسخ به شرایط تنش افزایش می‌یابد (Silveira et al., 2021)، عدم تغییر در میزان پرولین در گیاهان نرگس تحت تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم به دلیل عدم وجود تنش است.

### نتیجه‌گیری

استفاده از مولکول‌های زیستی از قبیل سیلیس و کیتوزان، راهکار مؤثری جهت بهبود رشدونمو گیاهان بدون آسیب به محیط زیست است. بررسی تأثیر تیمارهای سیلیسیم، نانوسیلیسیم، کیتوزان، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان- نانوسیلیسیم بر روی رشد، فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نرگس نشان داد که تیمارهای فوق بدون ایجاد تنش موجب بهبود شرایط عملکرد آن شدند. مناسب‌ترین تیمار جهت افزایش رشد و گلدهی گل نرگس تیمار نانوکیتوزان-

نانوسیلیسیم بود. لذا می‌توان استفاده از این کود برگری را برای افزایش گلدهی در گیاه نرگس پیشنهاد نمود.

## منابع

- فانی، ابراهیم، و حاجی‌هاشمی، شکوفه (۱۴۰۲). بررسی اثر محلول‌پاشی سیلیس و تنش شوری بر برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه روغنی کاملین (*Camelina sativa*). *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۱۸(۶۹)، ۱۴۹-۱۵۹. <https://doi.org/10.30495/iper.2022.1954207.1780>
- کرمانی، منصوره، و امیر مرادی، شهرام (۱۴۰۰). اثر غلظت و تعداد دفعات محلول‌پاشی سیلیس بر خصوصیات کمی و کیفی زعفران. *زراعت و فناوری زعفران*، ۹(۴)، ۳۲۳-۳۴۱. <https://civilica.com/doc/1394224>
- Abdelaal, K. A., Mazrou, Y. S., & Hafez, Y. M. (2020). Silicon foliar application mitigates salt stress in sweet pepper plants by enhancing water status, photosynthesis, antioxidant enzyme activity and fruit yield. *Plants*, 9 (6), 733. <https://doi.org/10.3390/plants9060733>
- Abdel-Haliem, M. E., Hegazy, H. S., Hassan, N. S., & Naguib, D. M. (2017). Effect of silica ions and nano silica on rice plants under salinity stress. *Ecological Engineering*, 99, 282-289. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.060>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126. doi: 10.1016/s0076-6879(84)05016-3
- Akhtar, T. A., Lees, H. A., Lampi, M. A., Enstone, D., Brain, R. A., & Greenberg, B. M. (2010). Photosynthetic redox imbalance influences flavonoid biosynthesis in *Lemna gibba*. *Plant, Cell and Environment*, 33(7), 1205-1219. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02140.x>
- Aqaei, P., Weisany, W., Diyanat, M., Razmi, J., & Struik, P. C. (2020). Response of maize (*Zea mays* L.) to potassium nano-silica application under drought stress. *Journal of Plant Nutrition*, 43(9), 1205-1216. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1727508>
- Baatour, O., Tarchoun, I., Nasri, N., Kaddour, R., Harrathi, J., Drawi, E., Mouhiba, M., Nasri-Ayachi, B., Marzouk, B., & Lachaal, M. (2012). Effect of growth stages on phenolics content and antioxidant activities of shoots in sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) varieties under salt stress. *African Journal of Biotechnology*, 11(99), 16486-16493. DOI: 10.5897/AJB12.1722
- Babel, S., & Kurniawan, T. A. (2003). Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a Review. *Journal of Hazardous Materials*, 97(1-3), 219-243. [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(02\)00263-7](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(02)00263-7)
- Bates, L., Waldren, R., & Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bautista-Banos, S., Hernandez-Lauzardo, A. N., Velazquez-Del Valle, M. G., Hernandez-Lopez, M., Barka, E. A., Bosquez-Molina, E., & Wilson, C. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 25(2), 108-118. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.03.010>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. doi:[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182.
- Choudhary, R. C., Kumaraswamy, R., Kumari, S., Pal, A., Raliya, R., Biswas, P., & Saharan, V. (2017). Synthesis, characterization, and application of chitosan nanomaterials loaded with zinc and copper for plant growth and protection. *Nanotechnology*, 227-247. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-4573-8\\_10](https://doi.org/10.1007/978-981-10-4573-8_10)
- Chouhan, D., & Mandal, P. (2020). Applications of chitosan and chitosan based metallic nanoparticles in agrosociences-A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 1554-1569. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.035>
- Christian, M. M., Shimelis, H., Laing, M. D., Tsilo, T. J., & Mathew, I. (2022). Breeding for silicon-use efficiency, protein content and drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.): A review. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B- Soil & Plant Science*, 72(1), 17-29. <https://doi.org/10.1080/09064710.2021.1984564>
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., & Debevere, J. (2004). Chitosan: Antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21(6), 703-714. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.02.008>
- Dobson, H. E., Arroyo, J., Bergstrom, G., & Groth, I. (1997). Interspecific variation in floral fragrances within the genus *Narcissus* (Amaryllidaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 25(8), 685-706. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(97\)00059-8](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(97)00059-8)

- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Epstein, E. (1994). The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(1), 11-17. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.1.11>
- Ghalamboran, M. R., Bernard, F., & Abdollahi, M. (2020). Lifespan of cut flowers of gerbera under thyme essence and salicylic acid effects. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 33 (3), 377-391. <https://doi.org/10.1007/s00332738.1399.33.3.5.9>
- Gou, T., Yang, L., Hu, W., Chen, X., Zhu, Y., Guo, J., & Gong, H. (2020). Silicon improves the growth of cucumber under excess nitrate stress by enhancing nitrogen assimilation and chlorophyll synthesis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 152, 53-61. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.04.031>
- Greger, M., & Landberg, T. (2019). Silicon reduces cadmium and arsenic levels in field-grown crops. *Silicon*, 11, 2371-2375. <https://doi.org/10.1007/s12633-015-9338-z>
- Guerrero, G., Hausman, J. F., & Legay, S. (2016). Silicon and the plant extracellular matrix. *Frontiers in Plant Science*, 7, 463. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00463>
- Gul, F., & Tahir, I. (2013). An effective protocol for improving vase life and postharvest performance of cut *Narcissus tazetta* flowers. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 12(1), 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2012.06.001>
- Hajihashemi, S., & Jahantigh, O. (2023). Nitric oxide effect on growth, physiological and biochemical processes, flowering, and postharvest performance of *Narcissus tazetta*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42, 892-907. doi:10.1007/s00344-022-10596-3
- Hajihashemi, S., & Kazemi, S. (2022). The potential of foliar application of nano-chitosan-encapsulated nano-silicon donor in amelioration the adverse effect of salinity in the wheat plant. *BMC Plant Biology*, 22 (1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03531-x>
- Hajihashemi, S., Mbarki, S., Skalicky, M., Noedoost, F., Raeisi, M., & Brestic, M. (2020a). Effect of wastewater irrigation on photosynthesis, growth, and anatomical features of two wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Water*, 12 (2), 607. <https://doi.org/10.3390/w12020607>
- Hajihashemi, S., Skalicky, M., Brestic, M., & Pavla, V. (2020b). Cross-talk between nitric oxide, hydrogen peroxide and calcium in salt-stressed *Chenopodium quinoa* Willd. At seed germination stage. *Plant Physiology and Biochemistry*, 154, 657-664. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.07.022>
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125 (1), 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Hurtado, A. C., Chiconato, D. A., de Mello Prado, R., Junior, G., Gratao, P. L., Felisberto, G., Vicedo, D. O., & Dos Santos, D. M. M. (2020). Different methods of silicon application attenuate salt stress in sorghum and sunflower by modifying the antioxidative defense mechanism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203, 110964. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110964>
- Ichimura, K., Kojima, K., & Goto, R. (1999). Effects of temperature, 8-hydroxyquinoline sulphate and sucrose on the vase life of cut rose flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 15(1), 33-40. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00063-5](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00063-5)
- Karimian, A. A. (2015). Medicinal aromatic pasture and rare herbs of kalmand bahadoran and Mount Bafgh Yazd. *Journal of Environment studies*, 37, 77-88.
- Keller, C., Guntzer, F., Barboni, D., Labreuche, J., Meunier, J. D. (2012). Impact of agriculture on the Si biogeochemical cycle: input from phytolith studies. *Comptes Rendus Geoscience*, 344, 739-746.
- Kumaraswamy, R., Saharan, V., Kumari, S., Choudhary, R. C., Pal, A., Sharma, S. S., Rakshit, S., Raliya, R., & Biswas, P. (2021). Chitosan-silicon nanofertilizer to enhance plant growth and yield in maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 159, 53-66. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.054>
- Labrana, J., Machocho, A. K., Kricsfalussy, V., Brun, R., Codina, C., Viladomat, F., & Bastida, J. (2002). Alkaloids from *Narcissus angustifolius* subsp. *transcarpathicus* (Amaryllidaceae). *Phytochemistry*, 60(8), 847-852. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(02\)00154-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(02)00154-1)
- Lawlor, D. W. & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, 25 (2), 275-294. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x>
- Liang, Y., Chen, Q., Liu, Q., Zhang, W., & 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(10), 1157-1164. doi:<https://doi.org/10.1078/0176-1617-01065>
- Liang, Y., Sun, W., Zhu, Y. G., & Christie, P. (2007). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: A review. *Environmental Pollution*, 147 (2), 422-428. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.06.008>
- Liu, C. & Liao, W. (2022). Potassium signaling in plant abiotic responses: Crosstalk with calcium and reactive

- oxygen species/reactive nitrogen species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 173, 110-121. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.01.016>
- Liu, C., Li, F., Luo, C., Liu, X., Wang, S., Liu, T., & Li, X. (2009). Foliar application of two silica sols reduced cadmium accumulation in rice grains. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2-3), 1466-1472. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.04.116>
- Malerba, M., & Cerana, R. (2018). Recent advances of chitosan applications in plants. *Polymers*, 10(2), 118. <https://doi.org/10.3390%2Fpolym10020118>
- Mirabbasi, N., Nikbakht, A., Etemadi, N., & Sabzalian, M. (2013). Effect of different concentrations of potassium silicate, nano-silicon and calcium chloride on concentration of potassium, calcium and magnesium, chlorophyll content and number of florets of *Asiatic lily* cv. 'Brunello'. *Journal of Soil and Plant Interactions-Isfahan University of Technology*, 4(2), 41-50. [http://ejgcst.iut.ac.ir/browse.php?a\\_code=A-10-231-1&sid=1&slc\\_lang=en](http://ejgcst.iut.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-231-1&sid=1&slc_lang=en)
- Mohamed, H. I., Latif, H. H., & Hanafy, R. S. (2016). Influence of nitric oxide application on some biochemical aspects, endogenous hormones, minerals and phenolic compounds of *Vicia faba* plant grown under arsenic stress. *Gesunde Pflanzen*, 68 (2), 99-107. <https://doi.org/10.1007/s10343-016-0363-7>
- Mondal, M., Puteh, A. B., & Dafader, N. C. (2016). Foliar application of chitosan improved morphophysiological attributes and yield in summer tomato (*Solanum lycopersicum*). *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 53(2), 339-344. <http://dx.doi.org/10.21162/PAKJAS/16.2011>
- Niu, J., Liu, C., Huang, M., Liu, K., & Yan, D. (2021). Effects of foliar fertilization: A review of current status and future perspectives. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(1), 104-118. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00346-3>
- Popova, L., Pancheva, T., & Uzunova, A. (1997). Salicylic acid: Properties, biosynthesis and physiological role. *Bulg Journal Plant Physiology*, 23(1-2), 85-93.
- Rana, R. A., Siddiqui, M., Skalicky, M., Brestic, M., Hossain, A., Kayesh, E., Popov, M., Hejnak, V., Gupta, D. R., & Mahmud, N. U. (2021). Prospects of nanotechnology in improving the productivity and quality of horticultural crops. *Horticulturae*, 7(10), 332. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100332>
- Rizwan, M., Ali, S., Ibrahim, M., Farid, M., Adrees, M., Bharwana, S. A., Zia-ur-Rehman, M., Qayyum, M. F., & Abbas, F. (2015). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of drought and salt stress in plants: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(20), 15416-15431. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5305-x>
- Romero-Aranda, M. R., Jurado, O., & Cuartero, J. (2006). Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. *Journal of Plant Physiology*, 163(8), 847-855. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.05.010>
- Roohizadeh, G., Majd, A., & Arbabian, S. (2015). The effect of sodium silicate and silica nanoparticles on seed germination and growth in the *Vicia faba* L. *Tropical Plant Research Journal*, 2 (2), 85-89.
- Ruiz-Ramon, F., Aguila, D. J., Egea-Cortines, M., & Weiss, J. (2014). Optimization of fragrance extraction: Daytime and flower age affect scent emission in simple and double narcissi. *Industrial Crops and Products*, 52, 671-678. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.034>
- Sharma, B., Tiwari, S., Kumawat, K. C., & Cardinale, M. (2023). Nano-biofertilizers as bio-emerging strategies for sustainable agriculture development: Potentiality and their limitations. *Science of The Total Environment*, 860, 160476. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160476>
- Sheikhalipour, M., Esmailpour, B., Behnamian, M., Gohari, G., Giglou, M. T., Vachova, P., Rastogi, A., Brestic, M., & Skalicky, M. (2021). Chitosan-selenium nanoparticle (Cs-Se NP) foliar spray alleviates salt stress in bitter melon. *Nanomaterials*, 11(3), 684. <https://doi.org/10.3390/nano11030684>
- Shen, X., Zhou, Y., Duan, L., Li, Z., Eneji, A. E., & Li, J. (2010). Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. *Journal of Plant Physiology*, 167(15), 1248-1252. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.04.011>
- Siddiqui, M. H., & Al-Whaibi, M. H. (2014). Role of nano-SiO<sub>2</sub> in germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* seeds Mill.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(1), 13-17. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.04.005>
- Sies, H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biology*, 11, 613-619. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>
- Silva, O., Lobato, A., Avila, F., Costa, R., Neto, C. O., Santos Filho, B., Martins Filho, A., Lemos, R., Pinho, J., & Medeiros, M. (2012). Silicon-induced increase in chlorophyll is modulated by the leaf water potential in two water-deficient tomato cultivars. *Plant, Soil and Environment*, 58 (11), 481-486. <https://doi.org/10.17221/213/2012-PSE>
- Silveira, N. M., Ribeiro, R. V., de Moraes, S. F., de Souza, S. C., da Silva, S. F., Seabra, A. B., Hancock, J. T., & Machado, E. C. (2021). Leaf arginine spraying improves leaf gas exchange under water deficit and root antioxidant responses during the recovery period. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 315-326. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.02.036>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. DOI: 10.5344/ajev.1965.16.3.144

- Slezak, K. A., Mazur, J., Jezdinsky, A., & Kapczynska, A. (2020). Bulb size interacts with lifting term in determining the quality of *Narcissus Poeticus* L. propagation material. *Agronomy*, *10*(7), 975. <https://doi.org/10.3390/agronomy10070975>
- Szollosi, R., & Varga, I. S. (2002). Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method). *Acta Biologica Szegediensis*, *46*(3-4), 125-127.
- Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, V. P., Prasad, S. M., Dubey, N. K., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.026>
- Uthairatanakij, A., Teixeira, da Silva, J., & Obsuwan, K. (2007). Chitosan for improving orchid production and quality. *Orchid Science and Biotechnology*, *1*(1), 1-5.
- Vaculik, M., Lux, A., Luxova, M., Tanimoto, E., & Lichtscheidl, I. (2009). Silicon mitigates cadmium inhibitory effects in young maize plants. *Environmental and Experimental Botany*, *67*(1), 52-58. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.012>
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, *151*(1), 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- Verma, S. K., Das, A. K., Gantait, S., Panwar, Y., Kumar, V., & Brestic, M. (2021). Green synthesis of carbon-based nanomaterials and their applications in various sectors: A topical review. *Carbon Letters*, 1-29. <https://doi.org/10.1007/s42823-021-00294-7>
- Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, *64* (1), 88-93. <https://doi.org/10.1104/pp.64.1.88>
- Wang, S., Wang, F., & Gao, S. (2015). Foliar application with nano-silicon alleviates Cd toxicity in rice seedlings. *Environmental Science and Pollution Research*, *22* (4), 2837-2845. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3525-0>
- Wanichpongpan, P., Suriyachan, K., & Chandkrachang, S. (2001). Effects of chitosan on the growth of Gerbera flower plant (*Gerbera jamesonii*). In: Chitin and Chitosan in Life Science (Eds. Uragami, T., Kurita, K., and Fukamizo, T.) Pp. 198-201. Yamaguchi.
- Wellburn, A., & Lichtenthaler, H. (1984). Formulae and program to determine total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. In: Advances in Photosynthesis Research. Pp 9-12. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-6368-4\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-017-6368-4_3)



## Investigating the morphological and physiological characteristics of *Narcissus tazetta* L. in response to the foliar application of nano-molecules of chitosan and silicon

Omolbanin Jahantigh\* and Shokoofeh Hajhashemi

Plant Biology Department, Faculty of Science, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Khuzestan, Iran

(Received: 2023/07/30, Accepted: 2023/10/16)

### Abstract

Narcissus, with a unique fragrance, is one of the most beautiful and oldest ornamental plants in Iran and all over the world. Considering the development of nanotechnology applications in various sciences and the increasing role of nanotechnology in the field of plant breeding, the present study was designed to investigate the effect of nano compounds on the morphological and physiological characteristics of narcissus in field cultivation in Behbahan city. In the present study, the effect of foliar spraying of plants with distilled water (control), silicon, nanosilicon, chitosan, nanochitosan and nanochitosan-nanosilicon on the performance of narcissus was studied in the form of a randomized complete block design. The 14-day-old plants were sprayed once every five days for a month. The results showed that the silicon, nanosilicon, chitosan, nanochitosan and nanochitosan-nanosilicon treatments improved the morphological characteristics of the plants by an average of 32% flowering percentage, 9% rate of flowering, 8% flower diameter, 9% flower fresh weight and 26% the number of flowers per flowering stem compared to control plants. According to the physiological aspect, an increase was achieved in the chlorophylls a and b, carotenoids, water soluble carbohydrates and proteins contents, and catalase activity in the leaves of plants under silicon, nanosilicon, chitosan, nanochitosan and nanochitosan-nanosilicon treatments, while the hydrogen peroxide content decreased. The most effective treatment was nanochitosan-nanosilicon, which increased chlorophyll a (33%), chlorophyll b (58%), carotenoids (11%), soluble sugars (49%), proteins (14%), and catalase enzyme activity (42%), compared to control plants. Foliar spraying of plants had no effect on the amount of malondialdehyde, total antioxidant activity based on the FRAP method, and the proline content. Silicon, nanosilicon, chitosan, nanochitosan and nanochitosan-nanosilicon treatments increased the amounts of phenols, flavonoids and anthocyanins in the petals and leaves of plants. An increase of 22 and 20% phenol, 57 and 52% flavonoids, and 10 and 13% anthocyanins was observed in petals and leaves, respectively, under nanochitosan-nanosilica treatment. Based on the reduction of hydrogen peroxide and the absence of peroxidation of membrane lipids, it can be concluded that the treatments improved the growth and flowering process of narcissus due to an improvement in the physiological performance of plants without causing stress, and the most effective treatment was foliar spraying with nanochitosan-nanosilicon.

**Keywords:** Antioxidants, Flowering process, Membrane lipids peroxidation, Morphological characteristics, non-photosynthetic pigments, Photosynthetic pigments

Corresponding author, Email: jahantigh@bkatu.ac.ir