نشریه فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۵، شماره ۷۴، مهر و آبان ۱۴۰۵ صفحه: ۱۷۱-۱۸۶
https://doi.org/10.22034/jispp.15.74.171

مقاله پژوهشی

کاربرد برگی سالیسیلیک اسید و نانوذرات کیتوزان بر رشد، ویژگی‌های فیزیولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه شیرتیغک وحشی (*Sonchus arvensis* L.)

سودا ترکمان[۱]، احسان محسنی‌فرد[۱*]، بابک عبدالهی مندولکانی[۲]، افشین توکلی[۱] و رسول حیدرنژاد گیگلو[۳]

[۱] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۲] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[۳] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

چکیده

گیاه دارویی شیرتیغک وحشی به دلیل دارابودن ترکیبات ارزشمند مورد توجه است. پژوهش حاضر در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان، به‌منظور بررسی اثرات نانوکیتوزان (صفر، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر) و سالیسیلیک اسید (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) بر کلروژنیک اسید، کوئرستین، گالیک اسید و روتین در گیاه شیرتیغک انجام شد. پس از انتقال و استقرار کامل گیاهان در گلدان‌ها، تیمار برگی با نانوکیتوزان و اسید سالیسیلیک هر ۱۰ روز یک‌بار در سه مرحله انجام شد. دو هفته بعد از آخرین محلول‌پاشی شاخص‌هایی مانند کلروژنیک اسید، روتین؛ گالیک اسید، کوئرستین، رنگیزه‌های فتوسنتزی و صفات مورفولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کاربرد نانوکیتوزان به‌طور معنی‌داری تمامی صفات رشدی و بخشی از شاخص‌های فیزیولوژیک را بهبود بخشید. بیشترین ارتفاع بوته (۸۷/۶۶ سانتی‌متر) در تیمار نانوکیتوزان ۶۰ میلی‌گرم در لیتر ثبت شد. همچنین نتایج نشان داد بیشترین میزان کلروژنیک اسید (۰/۸۱ میلی‌گرم در گرم) در گیاهان تیمارشده با نانوکیتوزان در غلظت ۶۰ میلی‌گرم در لیتر همراه با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد. تحلیل همبستگی پیرسون و نقشه حرارتی نشان داد بین شاخص‌های رشدی (ارتفاع بوته، فاصله میان‌گره، سطح برگ و تعداد شاخه) با وزن تر و خشک همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد. در مقابل، همبستگی منفی میان ارتفاع بوته و فاصله میان‌گره با میزان کلروژنیک اسید، کوئرستین، گالیک اسید و روتین مشاهده شد؛ به این معنا که افزایش رشد رویشی شدید می‌تواند با کاهش نسبی متابولیت‌های ثانویه همراه باشد. همچنین همبستگی مثبت میان روتین، کلروژنیک اسید و گالیک اسید و همبستگی منفی روتین با کوئرستین بیانگر پیچیدگی مسیرهای بیوسنتزی فنلی است.

واژه‌های کلیدی: اسپکتروفتومتر، روتین، کلروژنیک اسید، کوئرستین، گالیک اسید

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۸/۲۹، بازنگری: ۱۴۰۴/۱۲/۰۳، پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۲۴، اولین انتشار: ۱۴۰۵/۰۸/۰۸

* نویسنده مسئول، رایانامه: mohsenifard.ehsan@znu.ac.ir

حق انتشار این مستند، متعلق به انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران است. ۱۴۰۳ ©

این مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط بر استناد صحیح به مقاله و با رعایت شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است:
Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]

مقدمه

شیر تیغک وحشی (*Sonchos arvensis* L.)، یک گیاه دارویی از خانواده Asteraceae است (Rafi *et al*., 2021). این گیاه اثرات دارویی مختلفی از جمله آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضدباکتری، کاهش فشارخون، ضدافزایش اسید اوریک خون، ضدسرطان و ضدمالاریا دارد (Thasa, 2021; Wahyuni *et al*., 2020). این اثرات به دلیل وجود اسیدهای کلروژنیک و شیکوریک، فلاونوئیدهایی مانند (کاتچین، کوئرستین، کامفرول، هیپروزید و ۷-O-گلوکوزید) و آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، ساپونین‌ها و تانن‌ها در این گیاه است (Tandi *et al*., 2020). ویژگی‌های ضدسرطانی این گیاه احتمالاً به دلیل وجود گالیک اسید، کاتچین، کلروژنیک اسید و شیکوریک اسید است (Schimites *et al*., 2020).

فناوری نانو در سال‌های اخیر به‌عنوان رویکردی نوین در کشاورزی، در زمینه‌هایی نظیر نانوکودها، نانوآفت‌کش‌ها، نانوحسگرها و نانوبیوتکنولوژی با هدف افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی، بهبود عملکرد و کیفیت محصولات و توسعه کشاورزی پایدار مورد توجه قرار گرفته است (Shang *et al*., 2019). نانوذرات با ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر به دلیل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی منحصربه‌فرد، به‌عنوان محرک‌های زیستی جدید شناخته می‌شوند که قادرند در شرایط تنش، تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی را در گیاهان القا کنند (Cele, 2020; Seleiman *et al*., 2020; Li *et al*., 2017). همچنین، شواهد پژوهشی نشان می‌دهد که نانوذرات می‌توانند تنش ناشی از فلزات سنگین را کاهش داده و رشد گیاه را بهبود بخشند (Faizan *et al*., 2020).

نانوذرات به‌عنوان ابزارهای نوین در کشاورزی، با بهبود رشدونمو گیاهان و افزایش کارایی فیزیولوژیکی آن‌ها، نقش مهمی در کاهش اثرات تنش‌های غیرزیستی ایفا می‌کنند و می‌توانند جایگزینی پایدار برای نهاده‌های شیمیایی باشند (Mishra *et al*., 2017; Mishra and Singh, 2016). مطالعات نشان داده‌اند که نانوذرات از طریق تنظیم گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و تغییر در متابولیسم رنگ‌دانه‌ها، پروتئین‌ها و فتوسیستم‌ها، موجب بهبود فتوسنتز و رشد گیاه می‌شوند (Tayyab *et al*., 2016).

کیتوزان به‌عنوان یک پلی‌ساکارید زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر و دوستدار محیط‌زیست، اثرات مثبتی بر فرآیندهای رشدی و فیزیولوژیکی گیاه از جمله افزایش محتوای کلروفیل، بهبود جذب عناصر غذایی و ارتقای سلامت گیاه دارد (Albuquerque *et al*., 2021). این ترکیب کاربردهای گسترده‌ای در سیستم‌های انتقال محرک‌های رشد، کودها، مواد ژنتیکی، آفت‌کش‌ها و علف‌کش‌ها نشان داده است (Albuquerque *et al*., 2021; Mujtaba *et al*., 2020; Azimi *et al*., 2021). نانوذرات مبتنی بر کیتوزان با تقویت پاسخ‌های دفاعی گیاه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، نقش مؤثری در افزایش تحمل گیاه به تنش‌ها ایفا می‌کنند (Chandra *et al*., 2015; Li *et al*., 2016; Manikandan and Sathiyabama, 2015). اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک ترکیب فنلی تنظیم‌کننده رشد، در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه از جمله رشد، فتوسنتز و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش کلیدی دارد (Gorni and Pacheco, 2016; Karami Chame *et al*., 2016). این ترکیب با افزایش سنتز رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، تحریک فعالیت فتوسنتزی، تجمع اسمولیت‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر SOD، CAT و POD، موجب بهبود پایداری غشا و افزایش تحمل گیاه به شرایط تنش می‌شود (Tanou *et al*., 2017; Belkadhi *et al*., 2015; Zafar *et al*., 2021). همچنین، اسید سالیسیلیک با تنظیم تبادل گاز، محتوای آب نسبی، جذب یون‌ها و تجمع ترکیباتی مانند پرولین و فنول‌ها، مقاومت گیاه را در برابر تنش‌های اکسیداتیو و اسمزی افزایش می‌دهد (Per *et al*., 2017).

فتوسنتز فرآیند اصلی ذخیره انرژی خورشیدی در زمین است که به‌عنوان پایه و اساس منابع غذایی و انرژی ما عمل می‌کند. درک منشأ و تکامل آن بسیار مهم است، زیرا ممکن است ناکارآمدی‌ها را آشکار کند و منجر به بهبود کاربردهای کشاورزی و انرژی شود (Björn and Govindjee, 2009;

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]

Blankenship, 2002). اخیراً، اندازه‌گیری‌های فلورسانس کلروفیل *a* در زمینه‌های مختلف فیزیولوژی گیاه مورد توجه قرار گرفته‌اند. این تکنیک به دلیل توانایی‌اش در ارائه بینش‌های دقیق در مورد وضعیت فتوسیستم II (PSII) با هزینه نسبتاً کم، مورد توجه قرار گرفته است و به درک ما از فتوسنتز، پاسخ‌های گیاه به تغییرات محیطی، تنوع ژنتیکی و تنوع اکولوژیکی کمک قابل‌توجهی می‌کند (Baker, 2008). محتوای کلروفیل و شدت فتوسنتز در برگ‌های تحت تنش به دلیل تخریب اجزای پروتئین و لیپید غشای تیلاکوئید کاهش می‌یابد (Hu *et al*., 2006). فتوسیستم II اولین بخش از دستگاه فتوسنتزی است که به تنش‌ها پاسخ می‌دهد (Baker, 1991; Hasanuzzaman *et al*., 2013). فتوسیستم II به دلیل وجود کمپلکس تجزیه‌کننده آب نسبت به فتوسیستم I حساس‌تر به تنش‌های محیطی است (Apostolova *et al*., 2006). شدت فلورسانس کلروفیل شاخصی برای ارزیابی سلامت سیستم فتوسنتزی و میزان مقاومت گیاه در برابر تنش است (Zlatev, 2009). پارامتر Fv/Fm بیانگر بازده کوانتومی فتوسیستم II بوده و مقدار ۰/۸۳ نشان‌دهنده شرایط بدون تنش است (Maxwell and Johnson, 2000). تغییرات فلورسانس ناشی از مهار انتقال الکترون در فتوسیستم II و اختلال در جریان انرژی می‌تواند وضعیت ساختار و عملکرد دستگاه فتوسنتزی را مشخص کند (Rombola *et al*., 2005; Brestic and Zivcak, 2013; Gebeyehu *et al*., 2010).

در بسیاری از پژوهش‌های کشاورزی و گیاه‌پزشکی، به‌ویژه در مطالعات اولیه روی گیاهان دارویی، شرایط گلخانه‌ای به‌عنوان ابزار مهمی برای بررسی اثر تیمارها با حداقل تغییرات محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد، زیرا محیط کنترل‌شده گلخانه اجازه می‌دهد تا پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاهان به عوامل خاص به‌طور دقیق‌تر تعیین شود و اثر متغیرهای محیطی پیچیده کاهش یابد (Nooriyan *et al*., 2025). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تحقیقات گلخانه‌ای می‌توانند به‌عنوان نقطه شروعی علمی برای بهینه‌سازی روش‌های کشت و تعیین پارامترهای مهم قبل از انتقال به مزرعه یا مرتع استفاده شوند، به‌گونه‌ای که نتایج حاصل از این مطالعات پایه محکمی برای طراحی آزمایش‌های در مقیاس باز فراهم می‌آورند و به کاهش ناکامی‌های عملی در مزرعه کمک می‌کنند (Nooriyan *et al*., 2025). با این حال، تعمیم مستقیم نتایج گلخانه‌ای به شرایط طبیعی نیازمند آزمایش‌های تکمیلی در مزرعه است، زیرا عوامل محیطی مانند تغییرات اقلیمی، رقابت‌های زیستی و ویژگی‌های خاک می‌توانند پاسخ گیاه را در شرایط باز تغییر دهند (Yari *et al*., 2025). بنابراین، مطالعات گلخانه‌ای به‌عنوان گامی ضروری در زنجیره پژوهشی برای بهبود عملکرد و کاربرد عملی در تولید گیاهان دارویی شناخته می‌شوند، درحالی‌که تعمیم یافته‌های آن‌ها به مزرعه مستلزم ارزیابی‌های تکمیلی در مقیاس باز است.

با توجه به اهمیت روزافزون استفاده از ترکیبات زیست‌محرک و فناوری نانو در بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاهان دارویی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی، این پژوهش با هدف بررسی اثر سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد و القاکننده پاسخ‌های دفاعی و نانوذرات کیتوزان به‌عنوان یک پلیمر زیست‌سازگار با خاصیت الیسیتوری بر شاخص‌های رشد، ویژگی‌های فیزیولوژیکی، پارامترهای فلورسانس کلروفیل و محتوای متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی شیرتیغک وحشی انجام شد. سالیسیلیک اسید و نانوکیتوزان اگر چه از دو گروه شیمیایی متفاوت هستند، اما هر دو از طریق فعال‌سازی مسیرهای دفاعی، بهبود کارایی فتوسنتزی و تحریک سنتز متابولیت‌های ثانویه نقش مؤثری در ارتقای عملکرد گیاهان دارویی ایفا می‌کنند. از این‌رو، بررسی اثرات منفرد و توأم این دو ترکیب می‌تواند درک بهتری از تعامل آن‌ها در تنظیم پاسخ‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه فراهم آورد. با وجود گزارش‌های متعدد درباره اثرات این ترکیبات در گیاهان مختلف، تاکنون مطالعه جامعی در خصوص اثر هم‌زمان سالیسیلیک اسید و نانوکیتوزان بر این گیاه انجام نشده است. بنابراین، این پژوهش با هدف ارزیابی پتانسیل این گیاه در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه انجام شد و می‌تواند زمینه‌ساز توسعه کاربردهای دارویی و کشاورزی آن باشد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه: پژوهش حاضر در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام گرفت. بذرهای گیاه شیرتیغک وحشی از شرکت تخصصی و دانش بنیان گیاهان دارویی زرین گیاه ارومیه تهیه و سپس در مخلوطی ۱:۱ از پیت‌ماس و پرلیت در سینی‌های کشت کاشته شدند و تا زمان جوانه‌زنی در گلخانه نگهداری شدند. نشاها تا مرحله سه تا چهار برگی تحت شرایط کنترل‌شده (دما روز/شب ۱۸/۲۵ درجه سلسیوس؛ رطوبت نسبی ٦۰–۷۰٪) رشد کردند. پس از تولید نشاهای سالم، آن‌ها به گلدان‌های جداگانه حاوی مخلوطی از ۱۵٪ خاک شنی، ۱۵٪ کود حیوانی و ۷۰٪ خاک مزرعه منتقل شدند و در هر تکرار پنج بوته سالم در گلدان‌های جداگانه نگهداری شد. پس از استقرار نشاها در گلدان‌ها، این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت.

دو هفته پس از انتقال و استقرار کامل گیاهان در گلدان‌ها، تیمار برگی به صورت محلول‌پاشی با نانوکیتوزان و اسید سالیسیلیک سه مرحله (۱۰ روز فاصله بین هر مرحله از محلول‌پاشی) انجام شد. غلظت تیمارها شامل اسید سالیسیلیک (SA) در غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار (Khatooni *et al.*, 2022) و نانوکیتوزان در غلظت صفر، ٦۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر (Behboudi *et al.*, 2018) بودند. گیاهان شاهد فقط با آب‌مقطر محلول‌پاشی شدند. دو هفته بعد از آخرین محلول‌پاشی نمونه‌های برگی از گیاهان تیمارشده و شاهد برای تجزیه‌وتحلیل جمع‌آوری گردید. در انتهای آزمایش صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد شاخه، فاصله میانگره با کولیس دیجیتالی و سطح برگ با دستگاه سطح‌سنج اندازه‌گیری شد. عملکرد با اندازه‌گیری وزن تر و خشک برگ‌های برداشت‌شده تعیین شد. برای سنجش وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ٤٥ درجه سلسیوس در آون خشک و سپس توزین شدند.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای استخراج رنگیزه‌ها، ۱۰۰ میلی‌گرم بافت تازه برگ به‌خوبی آسیاب و در ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ همگن شد. سوسپانسیون حاصل با سرعت ٦۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع رویی جمع‌آوری گردید. جذب محلول در طول‌موج‌های ٤۷۰، ٦٤٥ و ٦٦۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/Vis Lambda 25 ، Perkin Elmer، آمریکا) اندازه‌گیری شد. براساس این مقادیر، غلظت کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها به میلی‌گرم در لیتر به ازای هر گرم بافت تازه طبق روش Arnon (۱۹٤۹) محاسبه شد.

کربوهیدرات کل (TC): مقدار کربوهیدرات کل با روش فنل اسید سولفوریک (Irigoyen *et al.*, 1992) تعیین شد. به‌طور خلاصه، ۰/۱ گرم بافت خشک گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ استخراج و به مدت یک هفته در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد و روزانه هم زده شد. پس از این مدت، ۱ میلی‌لیتر از مایع رویی با ۲ میلی‌لیتر آب‌مقطر رقیق و سپس ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ٤۸٪ اضافه گردید. مخلوط ورتکس شده، ۲۰ دقیقه در حمام آب ٦٥ درجه سلسیوس انکوبه و سپس به دمای محیط رسانده شد. جذب در طول‌موج ٤۸٥ نانومتر اندازه‌گیری شد و گلوکز به‌عنوان استاندارد به کار رفت. نتایج برحسب میلی‌گرم کربوهیدرات در هر گرم وزن خشک (DW) بیان شد.

عصاره‌گیری از گیاهان شیرتیغک برای اندازه‌گیری کلروژنیک اسید، روتین گالیک اسید و کوئرستین: برای تجزیه و تحلیل متابولیت‌های ثانویه، نمونه‌ها در دمای ٤٥ درجه سلسیوس خشک و گیاهان خشک‌شده آسیاب و پودر شدند. ۵۰ میلی‌گرم پودر توزین‌شده با ۵ میلی‌لیتر محلول متانول (گرید HPLC، سیگما آلدریچ، آلمان) (متانول: ddH_2O، 60:40 (v/v)) در لوله‌های آزمایش ۱۰ میلی‌لیتر مخلوط شد. مخلوط به مدت ٤٥ دقیقه در حمام آب اولتراسونیک شد و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (این فرآیند دو بار تکرار شد). درحالی‌که محلول‌های رویی به فلاسک‌ها منتقل شدند. سپس، محلول رویی جمع‌آوری‌شده در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]

جدول ۱- معادله رگرسیون خطی برای گالیک اسید، روتین، کلروژنیک اسید و کوئرستین براساس بیشتر میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (n=4)

ماده	طول‌موج (نانومتر)	معادله رگرسیون خطی
گالیک اسید	۲۲۰	y = 1.505x + 0.9212
روتین	۲۶۰	y = 0.2386x + 0.2034
کلروژنیک اسید	۳۲۵	y = 3.3466x + 0.53
کوئرستین	۳۸۰	y = 0.8699x + 0.8044

دمای ٤٥ درجه سلسیوس در خلاء تبخیر شدند تا عصاره‌های خشک به دست آید. به عصاره خشک، ٤٠٠ میکرولیتر متانول اضافه و با ورتکس کاملاً حل شد. عصاره‌ها با استفاده از فیلتر سر سرنگی (۰/٤٥ میکرومتر) فیلتر شد. سپس نمونه‌های حاصل برای تجزیه و تحلیل در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند (Jakabova *et al*., 2012).

اندازه‌گیری میزان کوئرستین، گالیک اسید، کلروژنیک اسید و روتین با استفاده از روش اسپکتوفتومتری: محلول‌های حاوی کوئرستین و اسید گالیک، کلروژنیک اسید و روتین به‌صورت جداگانه در پنج غلظت (به ترتیب ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ٤ میلی‌گرم) در پنج فلاسک حجمی (۱۰۰ میلی‌لیتر) تهیه شد. با استفاده از غلظت محلول استاندارد کوئرستین و اسید گالیک، کلروژنیک اسید و روتین به‌عنوان و جذب به‌عنوان مختصات y، رگرسیون نمودار خطی ساخته شد و منحنی‌های استاندارد کالیبراسیون برای هر چهار ماده به‌صورت جدول ۱ تهیه شد. محلول ذخیره استاندارد براساس بیشترین میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر مشخص شد، به‌طوری‌که طول‌موج ۳۸۰ نانومتر برای کوئرستین و طول‌موج ۲۲۰ نانومتر برای گالیک اسید، طول‌موج ۳۲۵ نانومتر برای کلروژنیک اسید و طول‌موج ۲٦۰ نانومتر برای روتین بیشترین میزان جذب را نشان می‌داد (Mardare *et al*., 2022; Heydarnajad Giglou *et al*., 2025).

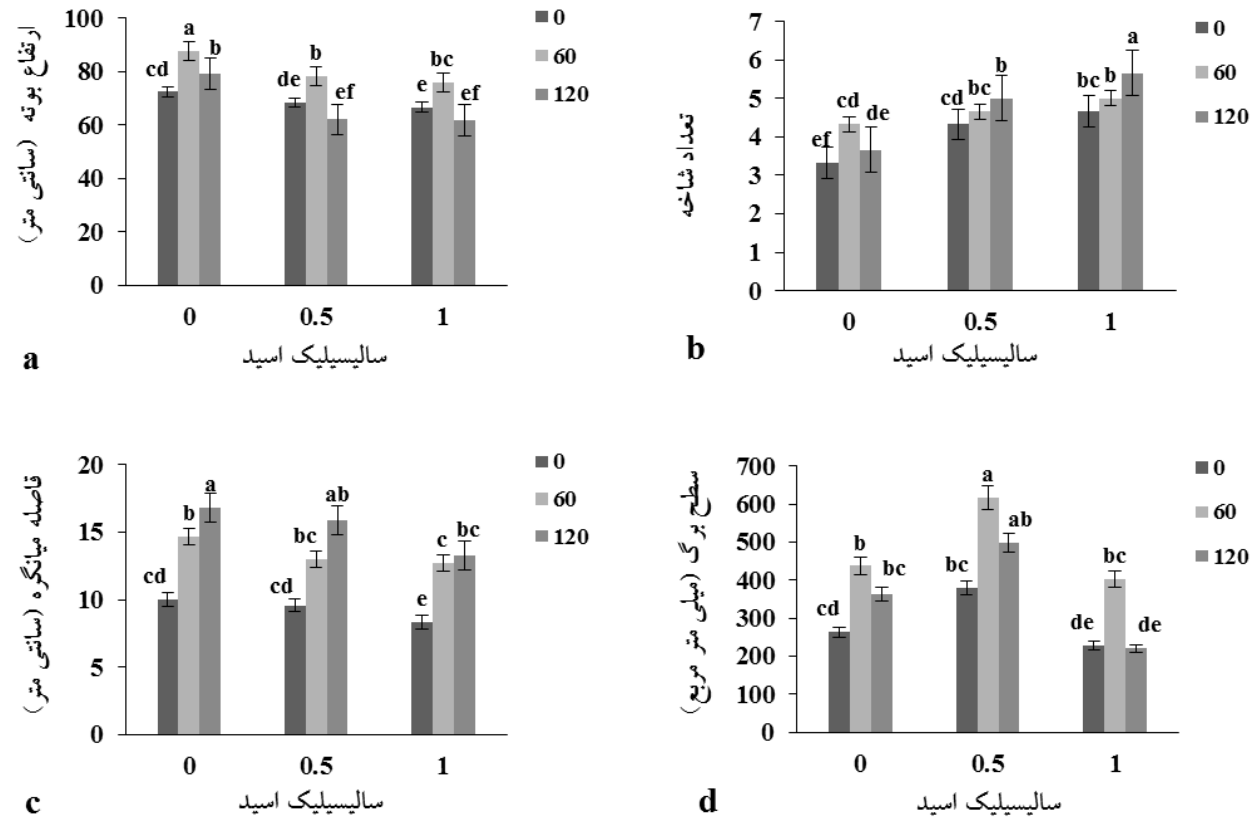
داده‌های به‌دست‌آمده با نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه و تحلیل شد و برای ترسیم نمودارها از Excel استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ انجام گرفت. همچنین همبستگی بین صفات با استفاده از روش پیرسون مورد آنالیز قرار گرفت و در انتها نتایج حاصل از آنالیز همبستگی بین صفات براساس نرم‌افزار آنلاین heat map (biit.cs.ut.ee/clustvis/) رسم شد.

نتایج

صفات مورفولوژیک: نتایج حاصل از اثرات نانوکیتوزان و سالیسیلیک اسید بر صفات مورفولوژیک، بیانگر تأثیر معنی‌دار این دو تیمار بر این صفات بود. به‌طوری‌که نتایج نشان داد افزایش غلظت سالیسیلیک ارتفاع بوته (شکل 1a) و فاصله میانگره (شکل 1c) را کاهش داده و در مقابل تعداد شاخه (شکل 1b) را افزایش داده است. همچنین نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوذره کیتوزان تأثیر مثبتی بر میزان ارتفاع بوته، تعداد شاخه، سطح برگ داشته و سبب افزایش این شاخص‌ها در گیاه شیرتیغک وحشی شده است. به‌طوری‌که بیشترین میزان ارتفاع بوته (۸۷/٦٦ سانتی‌متر) در گیاهان تیمار شده با نانو کیتوزان در غلظت ٦۰ میلی‌گرم در لیتر در شرایط عدم استفاده از سالیسیلیک اسید مشاهده شد؛ که این میزان ۱۷/٤٥ درصد بیشتر از گیاهان شاهد بود (شکل 1a). بیشترین تعداد شاخه (۵/٦٦ عدد) در گیاهان تیمارشده با کیتوزان در غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر همراه با سالیسلیک اسید در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل 1b).

میزان فاصله میانگره تحت تأثیر نانوکیتوزان و سالیسلیک اسید تغییرات قابل‌توجهی داشت، به‌طوری‌که میزان فاصله میانگره با افزایش غلظت سالیسلیک اسید روندی کاهشی داشت. این در حالی بود که افزایش غلظت نانوکیتوزان در شرایط عدم استفاده از سالیسلیک اسید سبب افزایش فاصله

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]



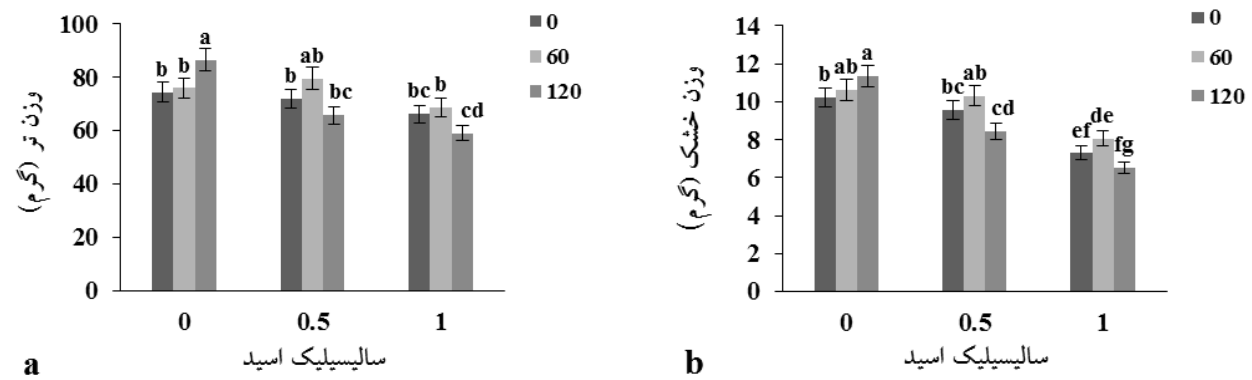
شکل ۱- تغییرات ارتفاع بوته (a)، تعداد شاخه (b)، فاصله میانگره (c) و سطح برگ (d) در گیاهان شیرتیغک وحشی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسلیک اسید و نانوکیتوزان. ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

میانگره شده و در غلظت‌های بالای سالیسلیک اسید از کاهش فاصله میانگره جلوگیری کرده است (شکل 1c)، از این‌رو بیشترین میزان فاصله میانگره در گیاهان تیمارشده با نانوکیتوزان در غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد و کمترین میزان این شاخص در گیاهان تیمارشده با سالیسلیک اسید در غلظت ۱ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل 1c). در بررسی اثرات نانو کیتوزان و سالیسیلیک اسید بر میزان سطح برگ (۵۱۶/۶۷ میلی‌متر مربع) بیشترین میزان سطح برگ در گیاهان تیمارشده با کیتوزان در غلظت ۶۰ میلی‌گرم در لیتر همراه با سالیسلیک اسید در غلظت ۰/۵ درصد مشاهده شد (شکل 1d).

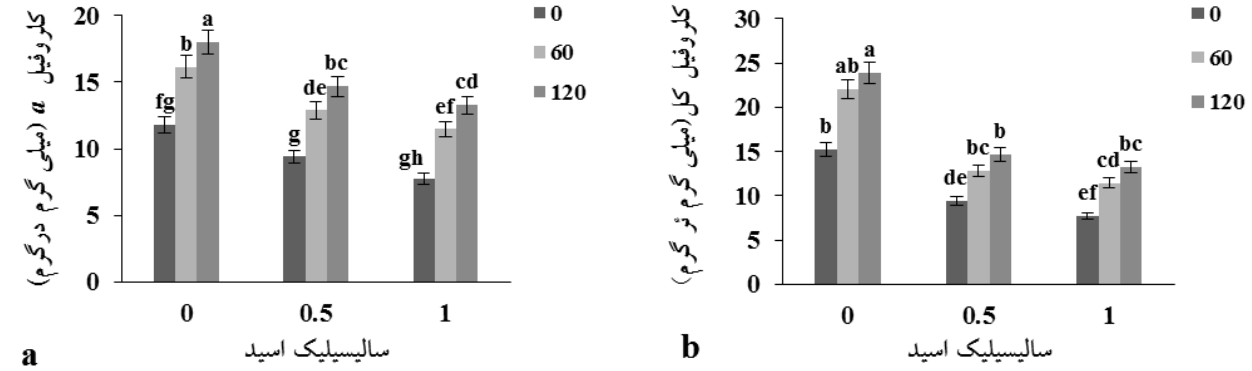
وزن تر و خشک: در بررسی اثرات سالیسلیک اسید و نانوکیتوزان بر میزان وزن تر خشک در گیاهان شیرتیغک مشاهده شد که افزایش غلظت سالیسلیک اسید سبب کاهش میزان وزن تر و خشک در بوته‌های این گیاه شد. این در حالی بود که نانوکیتوزان سبب افزایش این دو صفت نسبت به گیاهان شاهد و تیمارشده با سالیسیلیک اسید شد. بیشترین میزان وزن تر (شکل 2a) و خشک (شکل 2b) در گیاهان تیمار شده با نانوکیتوزان در غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. که این میزان برای وزن تر و خشک به ترتیب ۱۴ و ۹/۹۴ درصد بیشتر از گیاهان شاهد بود.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر سالیسیلک اسید قرار گرفت به‌طوری‌که افزایش غلظت سالیسلیک اسید میزان کلروفیل *a* (شکل 1a)، کلروفیل *b* (شکل 2a) و کلروفیل کل (شکل 1b) را کاهش داد. استفاده از نانوکیتوزان در غلظت‌های بالاتر سالیسیلیک اسید از کاهش میزان کلروفیل a و کلروفیل کل جلوگیری کرد و در شرایط عدم استفاده از سالیسلیک اسید میزان این دو شاخص را

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]



شکل ۲- تغییرات وزن تر (a) و خشک (b) در گیاهان شیرتیغک وحشی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسلیک اسید و نانوکیتوزان. ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.



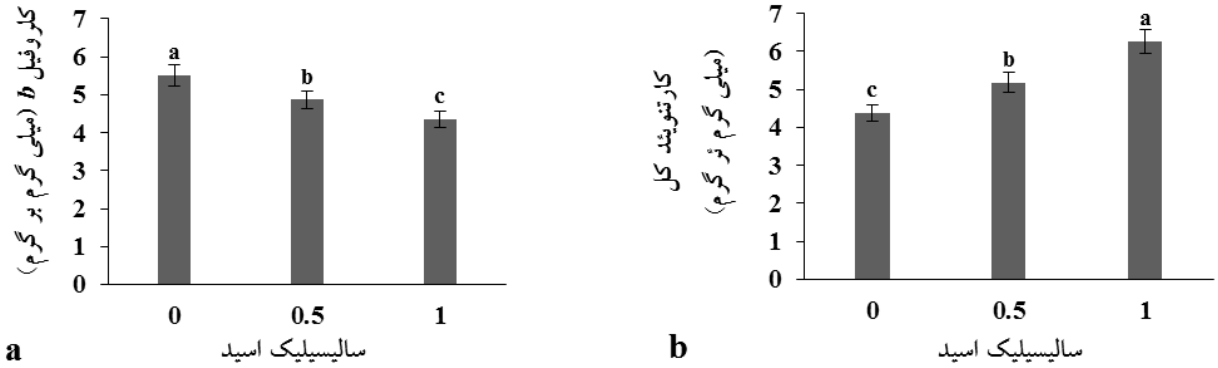
شکل ۳- تغییرات کلروفیل *a* (a) و کلروفیل کل (b) در گیاهان شیرتیغک وحشی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسلیک اسید و نانوکیتوزان. ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

افزایش داد. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل *a* (شکل ۳a) و کلروفیل کل (شکل ۳b) در گیاهان تیمارشده با نانوکیتوزان در غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم مشاهده شد. که این میزان به ترتیب ۳٤/۷۳ و ۳٦/۰۲ درصد بیشتر از میزان به‌دست‌آمده در گیاهان شاهد بود (شکل ۳). در بررسی اثرات سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل *b* و کارتنوئید کل مشخص شد که افزایش غلظت سالیسلیک اسید میزان کارتنوئید را نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد (شکل ٤b). بیشترین میزان کلروفیل *b* (شکل ٤a) در گیاهان شاهد و بیشترین میزان کارتنوئید (شکل ٤b) در گیاهان تیمارشده با سالیسلیک اسید در غلظت ۱ میلی‌مولار مشاهده شد.

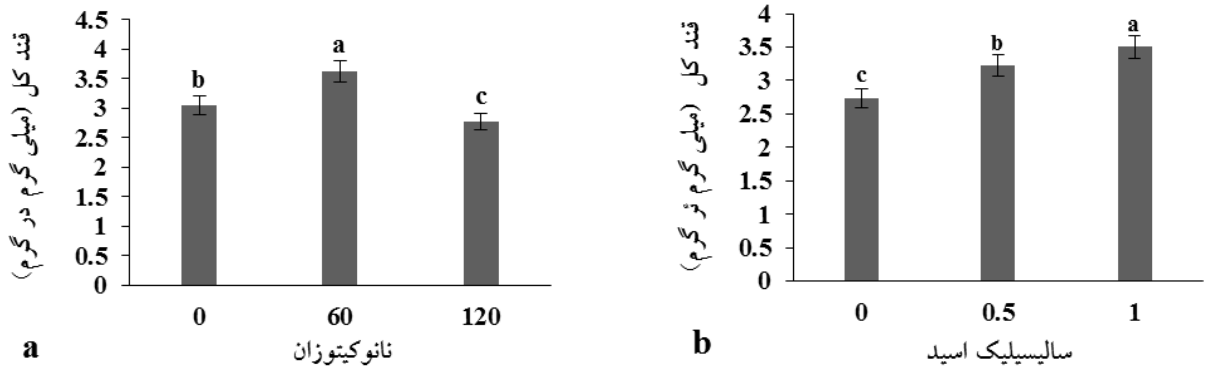
قند محلول: در بررسی اثرات نانوکیتوزان بر میزان قند محلول در گیاهان مورد مطالعه، مشخص شد که نانوذره کیتوزان در غلظت ٦۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش ۱۳/۹۹ درصدی قند محلول نسبت به گیاهان شاهد شدند (شکل ۵a). همچنین در بررسی اثرات سالیسیلیک اسید بر میزان قند کل بیشترین میزان این شاخص در گیاهان تیمارشده با سالیسلیک اسید در غلظت ۱ میلی‌مولار مشاهده شد که ۲۱/۸۲ درصد بیشتر از گیاهان شاهد بود (شکل ۵b).

کلروژنیک اسید: میزان کلروژنیک اسید با کاربرد و افزایش غلظت کیتوزان روندی افزایشی داشت. این در حالی بود که غلظت متوسط سالیسیلیک اسید (۰/۵ میلی‌مولار) تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای در افزایش آن داشت. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین میزان کلروژنیک اسید (۰/۸۱ میلی‌گرم در گرم) در گیاهان تیمارشده با نانوکیتوزان در غلظت ٦۰ میلی‌گرم در لیتر همراه با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]



شکل ٤- تغییرات کلروفیل *b* (a) و کارتنوئید (b) در گیاهان شیرتیغک وحشی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید. ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند.



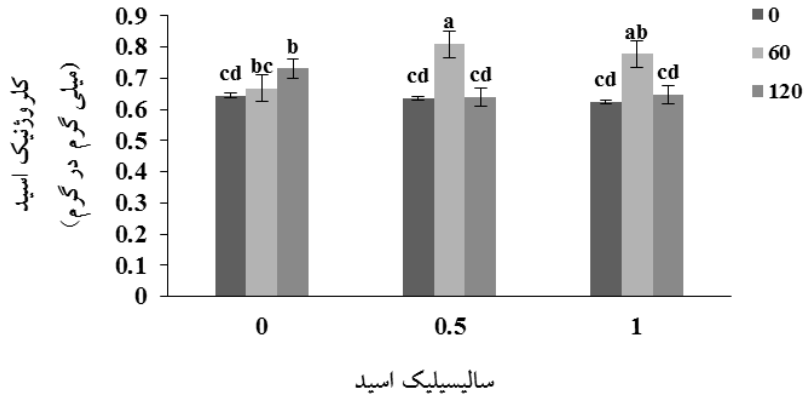
شکل ٥- اثرات نانوکیتوزان (a) و سالیسیلیک اسید (b) بر میزان قند کل در گیاهان شیرتیغک وحشی. ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

که این میزان ۲۰/۳۹ درصد بیشتر از کلروژنیک اسید مشاهده‌شده در گیاهان شاهد بود (شکل ٦).

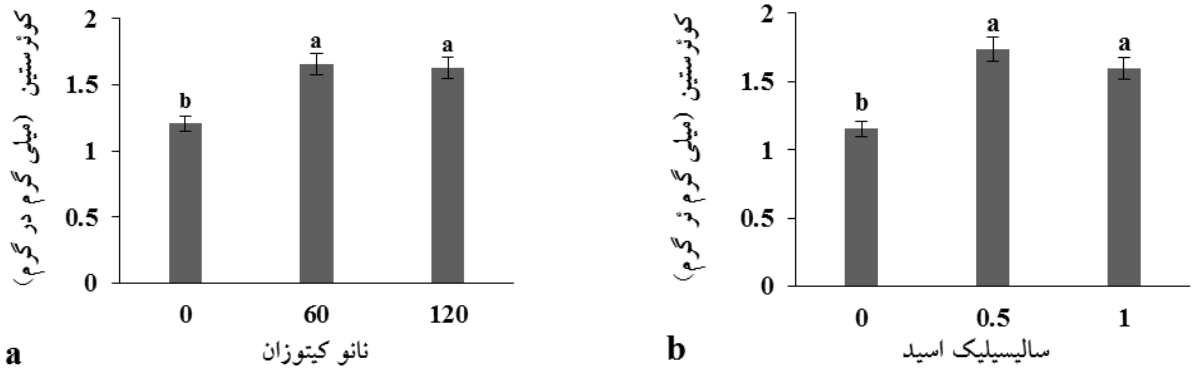
کوئرستین: محتوای کوئرستین در گیاهان تحت تیمار با افزایش میزان نانوذره کیتوزان (شکل 7a) و سالسیلیک اسید (شکل 7b) تا غلظت متوسط (٦٠ میلی‌گرم برای نانوکیتوزان و ۰/٥ میلی‌مولار برای سالیسیلیک اسید) روند افزایشی داشت. به‌طوری‌که تحت تأثیر نانوکیتوزان بیشترین میزان محتوای کوئرستین (به ترتیب ۱/٦٥ و ۱/٦۲ میلی‌گرم در گرم) در غلظت ٦٠ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد که به ترتیب ۲۷/۰۸ و ۲٥/۷٥ درصد بیشتر از نمونه‌های شاهد بود (شکل 7a). همچنین نتایج نشان داد تحت تأثیر سالیسلیک اسید بیشترین میزان محتوای کوئرستین (۱/۷٥ و ۱/٥۹ میلی‌گرم در گرم) به ترتیب در گیاهان تیمارشده با غلظت ۰/٥ و ۱ میلی‌مولار مشاهده شد که ۳۳/٦۲ و ۲۷/٥٦ درصد بیشتر از میزان کوئرستین به‌دست‌آمده در نمونه‌های شاهد بود (شکل 7b).

گالیک اسید: محتوای گالیک اسید در گیاهان تحت تیمار با افزایش میزان نانوذره کیتوزان روند افزایشی داشت. به‌طوری‌که بیشترین میزان محتوای گالیک اسید (۱/۷ و ۱/٦٥ میلی‌گرم در گرم) تحت تیمار نانوذره کیتوزان در غلظت ۱۲۰ و ٦٠ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد که به ترتیب ۱۱/۰٦ و ۸/٥۲ درصد بیشتر از میزان گالیک اسید به دست آمده در گیاهان شاهد بود (شکل 8a). همچنین نتایج نشان داد با وجود نبود اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید و گیاهان شاهد در میزان گالیک اسید، میزان این شاخص در گیاهان تیمارشده با سالیسیلیک اسید در غلظت ۰/٥ میلی‌مولار

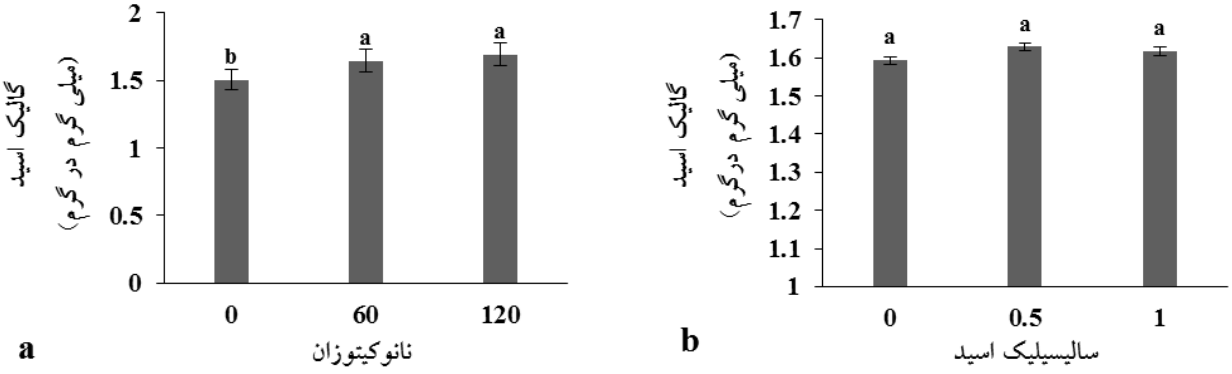
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]



شکل ٦- تغییرات کلروژنیک اسید در گیاهان شیرتیغک وحشی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسلیک اسید و نانوکیتوزان. ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.



شکل ۷- اثرات نانوکیتوزان (a) و سالیسیلیک اسید (b) بر میزان کوئرستین در گیاهان شیرتیغک وحشی. ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

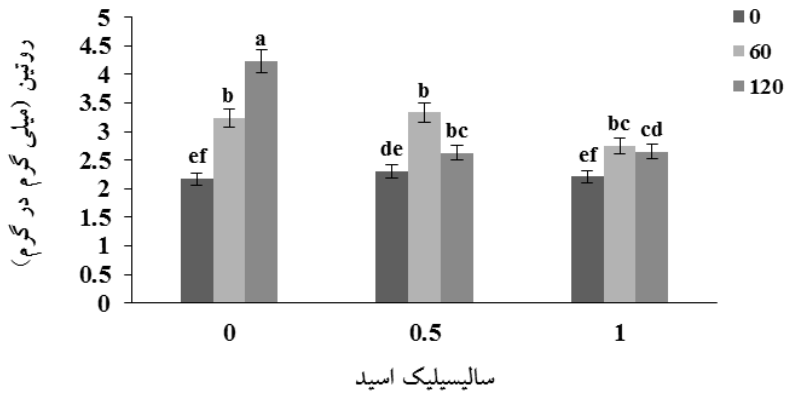


شکل ۸- اثرات نانوکیتوزان (a) و سالیسیلیک اسید (b) بر میزان گالیک اسید در گیاهان شیرتیغک وحشی. ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

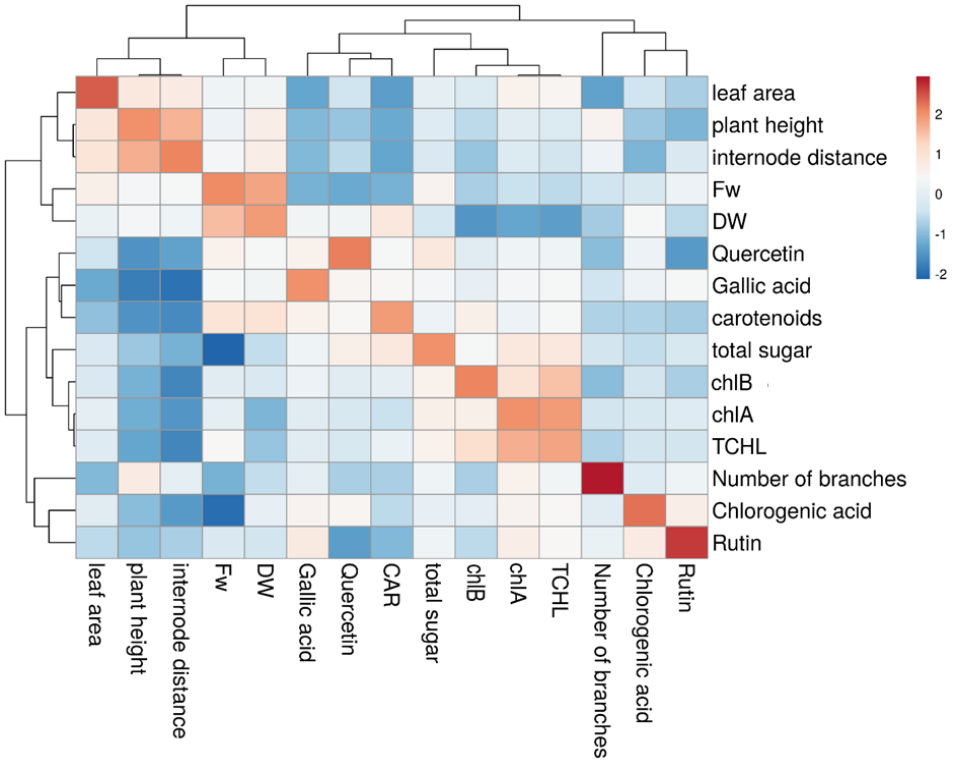
در لیتر ۲/۱۱ درصد بیشتر از گیاهان شاهد بود (شکل 8b).

روتین: بررسی برهمکنش نانوکیتوزان و سالیسیلیک بر میزان روتین در این گیاهان نشان‌دهنده تغییرات قابل‌ملاحظه‌ای در میزان این شاخص بود. بیشترین افزایش در میزان ماده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]



شکل ۹- تغییرات ماده روتین در گیاهان شیرتیغک وحشی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسلیک اسید و نانوکیتوزان. ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.



شکل ۱۰- بررسی همبستگی بین صفات با استفاده از Heatmap

روتین در شیرتیغک وحشی در شرایط استفاده از نانوکیتوزان و در زمان عدم استفاده سالیسیلیک اسید مشاهده شد. از این‌رو بیشترین میزان روتین (٤/٢٣ میلی‌گرم در گرم) در گیاهان تیمار شده با نانوکیتوزان در غلظت نانوکیتوزان مشاهده شد که این میزان ٤٨/٦٩ درصد بیشتر از میزان به‌دست‌آمده در گیاهان شاهد بود (شکل ۹).

بررسی همبستگی بین صفات با استفاده روش نقشه حرارتی: برای بررسی همبستگی بین صفات بعد از آنالیز همبستگی به روش پیرسون، نتایج با روش نقشه حرارتی (Heatmap) نشان داده شده است. طی بررسی همبستگی بین صفات مورفولوژیک و عملکرد با یکدیگر مشاهده شد که یک همبستگی مثبت بین ارتفاع بوته، فاصله میانگره، سطح برگ و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]

تعداد شاخه با میزان وزن تر و خشک وجود دارد. همچنین در بررسی همبستگی بین صفات مورفولوژیک با متابولیت‌های مورد بررسی مشاهده شد که بین ارتفاع بوته و فاصله میانگره با میزان کلروژنیک اسید، کوئرستین، گالیک اسید و روتین همبستگی منفی وجود داشت به‌طوری‌که افزایش در فاصله میانگره و به دنبال آن افزایش ارتفاع بوته و میزان وزن تر سبب کاهش میزان متابولیت‌های ذکر شده است (شکل ۱۰). همچنین نتایج حاصل نشان داد که در بین متابولیت‌های ثانویه مورد بررسی همبستگی مثبتی بین روتین، کلروژنیک اسید و گالیک اسید وجود داشت این در حالی بود که همبستگی بین روتین و کوئرستین منفی بود (شکل ۱۰).

بحث

شیر تیغک وحشی به‌عنوان یک گونه دارویی با طیف وسیعی از ترکیبات فنلی، جایگاه ویژه‌ای در صنایع داروسازی و مکمل‌های غذایی دارد. افزایش محتوای کلروژنیک اسید، کوئرستین و گالیک اسید که در این مطالعه مشاهده شد، از اهمیت درمانی بالایی برخوردار است؛ زیرا این متابولیت‌ها فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی شناخته‌شده‌ای دارند. در بازار جهانی گیاهان دارویی، پایداری و افزایش این ترکیبات نه‌تنها کیفیت دارویی بلکه ارزش اقتصادی محصول را بهبود می‌دهد. به‌ویژه کلروژنیک اسید که به‌عنوان مهارکننده مسیرهای گلوکونئوژنز شناخته شده است، در صنایع مکمل‌های کاهنده قند خون کاربرد گسترده دارد (Tandi *et al*., 2020).

نتایج حاضر به‌روشنی نشان داد که نانوکیتوزان و اسید سالیسیلیک هر دو بر صفات مورفولوژیک، رنگیزه‌های فتوسنتزی و تجمع متابولیت‌های ثانویه این گیاه اثر معنی‌دار دارند. افزایش ارتفاع بوته، تعداد شاخه و سطح برگ در تیمارهای حاوی نانوکیتوزان به‌ویژه در غلظت‌های ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر بیانگر نقش این نانوذره در تحریک تقسیم و طویل شدن سلولی است؛ موضوعی که با گزارش‌های قبلی در لوبیا (Hasaneen *et al*., 2016) و ماش (Mondal *et al*., 2011) همخوانی دارد. این بهبود رشد ممکن است ناشی از افزایش جذب آب و عناصر غذایی، تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و بهبود انتقال فیتوهورمون‌ها باشد که در مطالعات (Dzung *et al*., 2011) و (Zayed *et al*., 2017) نیز مطرح شده است. تحت تأثیر نانوکیتوزان (در غلظت‌های متوسط) ممکن است ناشی از افزایش جذب آب و عناصر غذایی، تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و بهبود انتقال فیتوهورمون‌ها باشد که در مطالعات(Dzung *et al*., 2011) و (Zayed *et al*., 2017) نیز مطرح شده است. کاهش وزن تر و خشک گیاه در بالاترین غلظت نانوکیتوزان (۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر) را می‌توان به اثرات بازدارنده وابسته به غلظت این بیوپلیمر نسبت داد. اگر چه نانوکیتوزان در غلظت‌های پایین به‌عنوان یک بیواستیمولانت موجب تحریک رشد و افزایش فعالیت‌های متابولیکی گیاه می‌شود، اما افزایش بیش از حد غلظت آن می‌تواند منجر به بروز تنش فیزیولوژیکی و اختلال در هم‌ایستایی سلولی گردد (Pichyangkura and Chadchawan, 2015). گزارش شده است که دوزهای بالای کینوزان و نانوکیتوزان با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، تغییر نفوذپذیری غشای سلولی و هدایت منابع انرژی گیاه به سمت مسیرهای دفاعی، باعث کاهش تجمع بیومس می‌شوند (Hadwiger, 2013; Malerba and Cerana, 2016). این پاسخ دوگانه نشان‌دهنده رفتار هورمسیس نانوکیتوزان در سیستم‌های گیاهی است که پیش‌تر نیز گزارش شده است (Malerba and Cerana, 2016).

کاهش ارتفاع بوته و فاصله میانگره در تیمارهای غنی از سالیسیلیک اسید در کنار افزایش تعداد شاخه‌ها نشان می‌دهد که این ترکیب می‌تواند مسیرهای هورمونی نظیر اکسین و سیتوکینین را تعدیل کرده و رشد جانبی را تقویت کند. نتایج حاضر با یافته‌های (Popova *et al*., 2003) و (Faizan *et al*., 2020) که نقش سالیسیلیک اسید را در تغییر مورفولوژی برگ و بهبود کارایی فتوسنتزی گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. کاهش وزن تر و خشک در غلظت‌های بالای سالیسیلیک اسید نیز می‌تواند ناشی از اثرات بازدارنده در متابولیسم اولیه و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]

محدودشدن جذب آب باشد که پیش‌تر توسط (Golkar *et al.*, 2019) نیز مشاهده شده است. سالیسیلیک اسید دارای عملکردهای متعددی مانند هورمونی در گیاه دارد از جمله اثرات آن شامل تحریک رشد و پاسخ‌های دفاعی تحت استرس‌های زنده و غیرزنده محیط، القای تحمل آفات و بیماری‌ها و باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Gorni *et al.*, 2016). اسید سالیسیلیک از طریق بهبود سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، تجمع اسمولیت و هموستاز یونی باعث افزایش تحمل استرس فلزات سنگین در گیاهان می‌شود (Sharma *et al.*, 2020).

تحقیقات قبلی نیز افزایش فنول کل را در تیمار سالیسیلیک اسید گزارش نموده‌اند (Mendoza *et al.*, 2018; Manivannan *et al.*, 2016). افزایش ترکیبات فنولی با القای فعالیت ویژه آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز و تیروزین آمونیالیاز که آنزیم‌های کلیدی در تولید این ترکیبات هستند توسط تیمار اسید سالیسیلیک ایجاد می‌شود (Ganapathy *et al.*, 2016). در گزارش‌های دیگر، همبستگی مثبت بین فعالیت این آنزیم‌ها و ترکیبات فنولی اثبات گردیده است و ارتباط بین فعالیت این آنزیم‌ها، سالیسیلیک اسید و فنول بیان‌کننده تأثیر تنظیمی سالیسیلیک اسید در سنتز فنول‌ها است (Manivannan *et al.*, 2016; Anusha *et al.*, 2016).

افزایش معنی‌دار کلروفیل a و کل در تیمار نانوکیتوزان و در مقابل کاهش این رنگیزه‌ها تحت تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت‌های بالا، نشان‌دهنده دو مسیر متفاوت اثرگذاری است. نانوکیتوزان با افزایش پایداری غشای تیلاکوئید و تحریک سنتز کلروفیل موجب حفظ ظرفیت فتوسنتزی می‌شود، درحالی‌که سالیسیلیک اسید در غلظت‌های بالا احتمالاً به‌واسطه افزایش گونه‌های فعال اکسیژن موجب تخریب جزئی کلروفیل می‌گردد. الگوی مشاهده‌شده در متابولیت‌های ثانویه (کلروژنیک اسید، کوئرستین، گالیک اسید و روتین) نشان می‌دهد که هم نانوکیتوزان و هم سالیسیلیک اسید مسیر فنیل‌پروپانوئید را فعال می‌کنند، اما نقطه اوج هر ترکیب متفاوت است. بیشترین افزایش کلروژنیک اسید در تیمار ترکیبی نانوکیتوزان ۶۰ میلی‌گرم در لیتر و سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی این دو عامل در تحریک آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) است. این نتیجه با گزارش‌های (Khattab *et al.*, 2022) مبنی بر افزایش فعالیت PAL و CHS تحت تأثیر سالیسیلیک اسید و همچنین مطالعات (Cho *et al.*, 2008) درباره القای متابولیت‌های فنلی توسط کیتوزان هم‌راستا است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که نانوکیتوزان و سالیسیلیک اسید تأثیر معنی‌داری بر برخی صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی این گیاه دارویی دارند. نانوکیتوزان موجب بهبود شاخص‌های رشدی و افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای نسبی ترکیبات فنلی شد. سالیسیلیک اسید در غلظت پایین (۰/۵ میلی‌مولار) اثرات مثبتی بر رشد و متابولیت‌های ثانویه داشت، درحالی‌که در غلظت‌های بالاتر موجب کاهش رشد گردید. بیشترین اثر مطلوب در تیمار توأم نانوکیتوزان (۶۰ میلی‌گرم بر لیتر) و سالیسیلیک اسید (۰/۵ میلی‌مولار) مشاهده شد. با توجه به روش سنجش به‌کاررفته، نتایج متابولیت‌های ثانویه به‌صورت نسبی تفسیر می‌شوند و برای تعیین دقیق و اختصاصی این ترکیبات، استفاده از HPLC پیشنهاد می‌شود. در مجموع، نانوکیتوزان به‌ویژه در غلظت‌های متوسط و همراه با سالیسیلیک اسید در غلظت پایین می‌تواند به‌عنوان یک زیست‌محرک مؤثر در بهبود رشد و متابولیسم شیرتیغک وحشی مطرح شود.

منابع

Albuquerque, B. R., Heleno, S. A., Oliveira, M. B. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2021). Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. *Food and function, 12*(1), 14-29. https://doi.org/10.1039/D0FO02324H

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]

Anusha, T. S., Joseph, M. V., & Elyas, K. K. (2016). Callus induction and elicitation of total phenolics in callus cell suspension culture of *Celastrus paniculatus–willd,* an endangered medicinal plant in India. *Pharmacognosy Journal*, *8*(5), 230-236. DOI: 10.5530/pj.2016.5.10

Apostolova, E. L., Dobrikova, A. G., Ivanova, P. I., Petkanchin, I. B., & Taneva, S. G. (2006). Relationship between the organization of the PSII supercomplex and the functions of the photosynthetic apparatus. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *83*(2), 114-122. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2005.12.012

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology, 24*(1), 1. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1

Azimi, F., Oraei, M., Gohari, G., Panahirad, S., & Farmarzi, A. (2021). Chitosan-selenium nanoparticles (Cs–Se NPs) modulate the photosynthesis parameters, antioxidant enzymes activities and essential oils in *Dracocephalum moldavica* L. under cadmium toxicity stress. *Plant Physiology and Biochemistry, 167*, 257-268. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.08.013

Baker, N. R. (1991). A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiologia Plantarum, 81*(4), 563-570. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb05101.x

Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology, 59*, 89-113. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759

Behboudi, F., Tahmasebi Sarvestani, Z., Kassaee, M. Z., Modares Sanavi, S. A. M., Sorooshzadeh, A., & Ahmadi, S. B. (2018). Evaluation of chitosan nanoparticles effects on yield and yield components of barley (*Hordeum vulgare* L.) under late season drought stress. *Journal of Water and Environmental Nanotechnology*, *3*(1), 22-39. DOI: 10.22090/jwent.2018.01.003

Bjorn, L. O, & Govindjee, (2009). The evolution of photosynthesis and chloroplasts. *Current Science*, 1466-1474 . https://www.jstor.org/stable/24104775

Blankenship, R. E. (2002). Molecular Mechanisms of Photosynthesis. Blackwell Science Ltd.

Brestic, M, & Zivcak, M. (2013). Molecular Stress Physiology of Plants. Springer. https://doi.org/10.1007/978-81-322-0807-5_4

Cele, T. (2020). Engineered Nanomaterials-Health and Safety. Intech Open. doi: 10.5772/intechopen.90771

Chandra, S., Chakraborty, N., Dasgupta, A., Sarkar, J., Panda, K., & Acharya, K. (2015). Chitosan nanoparticles: A positive modulator of innate immune responses in plants. *Scientific Reports*, *5*(1), 15195. https://dx.doi.org/10.1038/srep15195

Cho, M., No, H., & Prinyawiwatkul, W. (2008). Chitosan treatments affect growth and selected quality of *sunflower* sprouts. *Journal of Food Science, 73*(1), S70-S77. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00607.x

Dzung, N. A., Khanh, V. T. P., & Dzung, T. T. (2011). Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. *Carbohydrate Polymers, 84*(2), 751-755. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.066

Faizan, M., Faraz, A., & Hayat, S. (2020). Effective use of zinc oxide nanoparticles through root dipping on the performance of growth, quality, photosynthesis and antioxidant system in tomato. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 29*(3), 553-56. https://doi.org/10.1007/s13562-019-00525-z

Ganapathy, G., Keerthi, D., Nair, R. A., & Pillai, P. (2016). Correlatin of phenylalanine ammonia lyase (PAL) and tyrosine ammonia lyase (TAL) activities to phenolics and curcuminoid content in ginger and its wild congener, Zingiber zerumbet following *Pythium myriotylum* infection. European *Journal of Plant Pathology*, *145*(4), 777-785. DOI:10.1007/s10658-016-0865-2

Gebeyehu, S., Wiese, H., & Schubert, S. (2010). Effects of drought stress on seed sink strength and leaf protein patterns of common bean genotypes. *African Crop Science Journal*, *18*(2). https://doi.org/10.4314/acsj.v18i2.65799

Golkar, P., Taghizadeh, M., & Yousefian, Z. (2019) .The effects of chitosan and salicylic acid on elicitation of secondary metabolites and antioxidant activity of safflower under in vitro salinity stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 137*(3), 575-585 . https://doi.org/10.1007/s11240-019-01592-9

Gorni, P. H, & Pacheco, A. C. (2016). Growth promotion and elicitor activity of salicylic acid in *Achillea millefolium* L. *African Journal of Biotechnoligy, 15*, 657-665. https://doi.org/10.5897/AJB2016.15320

Hadwiger, L. A. (2013). Multiple effects of chitosan on plant systems: Solid science or hype. *Plant Science*, *208*, 42-49. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.03.007

Hasaneen, M., Abdel-aziz, H. M. M., & Omer, A. M. (2016). Effect of foliar application of engineered nanomaterials: Carbon nanotubes NPK and chitosan nanoparticles NPK fertilizer on the growth of *French bean* plant. *Biochemistry and Biotechnology Research, 4*(4), 68-76.

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., & Fujita, M. (2013). Extreme temperature responses, oxidative stress and abiotic stress. *Plant Responses and Applications in Agriculture*, 169. http://dx.doi.org/10.5772/54833

Heydarnajad Giglou, R., Torabi Giglou, M., Estaji, A., & Moradian, H. (2025). LED Lights and glycine promote biomass, leaf color changes, and secondary metabolites accumulation in *Hyoscyamus niger* L. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *12*(2), 569-582. https://doi.org/10.22059/ijhst.2024.373479.796

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]

Hu, W. H., Zhou, Y. H., Du, Y. S., Xia, X. J., & Yu, J. Q. (2006). Differential response of photosynthesis in greenhouse-and field-ecotypes of tomato to long-term chilling under low light. *Journal of Plant Physiology, 163*(12), 1238-1246. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.10.006

Irigoyen, J., Einerich, D., & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum, 84*(1), 55-60. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x

Jakabova, S., Vincze, L., Farkas, A., Kilar, F., Boros, B., & Felinger, A. (2012). Determination of tropane alkaloids atropine and scopolamine by liquid chromatography–mass spectrometry in plant organs of *Datura species*. *Journal of Chromatography A*, *1232*, 295-301. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.02.036

Karami Chame, S., Khalil-Tahmasbi, B., ShahMahmoodi, P., Abdollahi, A., Fathi, A., Seyed Mousavi, S., Hossein Abadi, M., Ghoreishi, S., & Bahamin, S. (2016). Effects of salinity stress, salicylic acid and Pseudomonas on the physiological characteristics and yield of seed beans (*Phaseolus vulgaris*). *Scientia Agricola*, *14*(2), 234-238.

Khatooni, M., Karimmojeni, H., Zali, A. G., & Tseng, T. M. (2022). Salicylic acid enhances tolerance of *Valeriana officinalis* L. to bentazon herbicide. *Industrial Crops and Products*, *177*, 114495. https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114495

Khattab, S., Yap, Y. K., & El Sherif, F. (2022). Salicylic acid foliar spray enhanced *Silybum marianum* growth and yield, as well as its chemical constituents and Chalcone Synthase gene activity. *Horticulturae, 8*(6), 556. https://doi.org/10.3390/horticulturae8060556

Li, H., Fu, Y., Sun, H., Zhang, Y., & Lan, X. (2017). Transcriptomic analyses reveal biosynthetic genes related to rosmarinic acid in *Dracocephalum tanguticum*. *Scientific Reports*, *7*(1), 74. https://doi.org/10.1038/s41598-017-00078-y

Li, J., Hu, J., Ma, C., Wang, Y., Wu, C., Huang, J., & Xing, B. (2016). Uptake, translocation and physiological effects of magnetic iron oxide (γ-Fe_2O_3) nanoparticles in corn (*Zea mays* L.). *Chemosphere*, *159*, 326-334.

Malerba, M, & Cerana, R. (2016). Chitosan effects on plant systems. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(7), 996. https://doi.org/10.3390/ijms17070996

Manikandan, A, & Sathiyabama, M. (2015). Green synthesis of copper-chitosan nanoparticles and study of its antibacterial activity. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology, 6*(1), 1. DOI: 10.4172/2157-7439.1000251

Manivannan, A., Soundararajan, P., Park, Y., & Jeong, B. (2016). Chemical elicitor-induced modulation of antioxidant metabolism and enhancement of secondary metabolite accumulation in cell suspension cultures of *Scrophularia kakudensis* Franch. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(3), 399. DOI: 10.3390/ijms17030399

Mardare, G., Lazar, L., & Malutan, T. (2022). Potential application of invasive plant species *Datura innoxia* for the scopolamine extracts of the plant organs and analysis using UV–VIS Spectrophotometry. *Forests*, *13*(10), 1555. https://doi.org/ 10.3390/f13101555

Maxwell, K, & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, *51*(345), 659-668. https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659

Mendoza, D., Cuaspud, O., Arias, J. P., Ruiz, O., & Arias, M. (2018). Effect of salicylic acid and methyl jasmonate in the production of phenolic compounds in plant cell suspension cultures of *Thevetia peruviana*. *Biotechnology Reports*, *19*, e00273. https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.e00273

Mishra, S, & Singh, H. (2016). Preparation of Biomediated Metal Nanoparticles. Indian Patent Filed 201611003248.

Mishra, S., Keswani, C., Abhilash, P., Fraceto, L. F., & Singh, H. B. (2017). Integrated approach of agri-nanotechnology: Challenges and future trends. *Frontiers in Plant Science, 8*, 471. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00471

Mondal, A., Basu, R., Das, S., & Nandy, P. (2011). Beneficial role of carbon nanotubes on *mustard* plant growth: An agricultural prospect. *Journal of Nanoparticle Research, 13*(10), 4519-4528. https://doi.org/10.1007/s11051-011-0406-z

Mujtaba, M., Khawar, K. M., Camara, M. C., Carvalho, L. B., Fraceto, L. F., Morsi, R. E., & Ullah, H. (2020). Chitosan-based delivery systems for plants: A brief overview of recent advances and future directions. *International journal of Biological Macromolecules, 154*, 683-697. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.128

Nooriyan, S., Dehghani Bidgoli, R., & Tunc, Y. (2025). Enhancing medicinal plant yield through optimization in greenhouses and controlled environments: A review. *Greenhouse Plant Production Journal*, 1-20. https://doi.org/10.61882/gppj.2.2.1

Per, T. S., Fatma, M., Asgher, M., Javied, S., & Khan, N. A. (2017). Salicylic Acid: A Multifaceted Hormone. Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6068-7_11

Pichyangkura, R, & Chadchawan, S. (2015). Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulturae*, *196*, 49-65. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.031

Popova, L., Ananieva, E., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V., & Stoinova, Z. (2003). Salicylic acid-and methyl jasmonate-induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology, 29*(3-4), 133-152.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]

Rafi, M., Rismayani, W., Sugiarti, R. M., Syafitri, U. D., Wahyuni, W. T., & Rohaeti, E. (2021). FTIR-based fingerprinting combined with chemometrics for discrimination of *Sonchus arvensis* leaf extracts and correlation with their antioxidant activity. *Indonesian Journal of Pharmacy/Majalah Farmasi Indonesia, 32*(2). DOI: 10.22146/ijp.755

Rombola, A. D., Gogorcena, Y., Larbi, A., Morales, F., Baldi, E., Marangoni, B., Tagliavini, M., & Abadia, J. (2005). Iron deficiency-induced changes in carbon fixation and leaf elemental composition of beet (*Beta vulgaris*) plants. *Plant and Soil*, *271*(1), 39-45. https://doi.org/10.1007/s11104-004-2001-x

Schimites, P., Segat, H., Teixeira, L., Martins, L., Mangini, L., Baccin, P., & Soares, A. (2020). Gallic acid prevents ketamine-induced oxidative damages in brain regions and liver of rats. *Neuroscience letters, 714*, 134560. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134560

Seleiman, M. F., Almutairi, K. F., Alotaibi, M., Shami, A., Alhammad, B. A., & Battaglia, M. L. (2020). Nano-fertilization as an emerging fertilization technique: Why can modern agriculture benefit from its use?. *Plants*, *10*(1), 2. https://doi.org/10.3390/plants10010002

Shang, Y., Hasan, M. K., Ahammed, G. J., Li, M., Yin, H., & Zhou, J. (2019). Applications of nanotechnology in plant growth and crop protection: A review. *Molecules*, *24*(14), 2558. https://doi.org/10.3390/molecules24142558

Sharma, A., Sidhu, G. P., Araniti, F., Bali, A. S., Shahzad, B., Tripathi, D. K., Brestic, M., Skalicky, M, & Landi, M. (2020). The role of salicylic acid in plants exposed to heavy metals. *Molecules,* 25, 540. https://www.mdpi.com/1420-3049/25/3/540

Tandi, J., Sutrisna, I. N. E., Pratiwi, M., & Handayani, T. W. (2020). Potential test of nephropathy *Sonchus arvensis* L. leaves on male rats (*Rattus norvegicus)* diabetes mellitus. *Pharmacognosy Journal, 12*(5). http://dx.doi.org/10.5530/pj.2020.12.158

Tanou, G., Ziogas, V., & Molassiotis, A. (2017). Foliar nutrition, biostimulants and prime-like dynamics in fruit tree physiology: New insights on an old topic .*Frontiers in Plant Science*, *8*, 75. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00075

Tayyab, Q. M., Almas, M. H., Jilani, G., & Razzaq, A. (2016). Nanoparticles and plant growth dynamics: A review. *Journal of Applied Agriculture and Biotechnology, 1*(2), 14-22.

Thasa, M. W. (2021). An overview of the traditional uses, phytochemicals, and pharmacological activities of tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine (IJPSM), 6*(6), 34-41. https://doi.org/10.47760/IJPSM.2021.V06I06.004

Wahyuni, D. K., Purnobasuki, H., Kuncoro, E. P., & Ekasari, W. (2020). Callus induction of *Sonchus arvensis* L. and its antiplasmodial activity. *African Journal of Infectious Diseases, 14*(1), 1-7. https://doi.org/10.21010/ajid.v14i1.1

Yari, P., Alirezalu, A., & Khalili, S. (2025). A comparative study of chemical composition, phenolic compound profile and antioxidant activity of wild grown, field and greenhouse cultivated Physalis (*P. alkekengi* and *P. peruviana*). *Food Production, Processing and Nutrition*, *7*(1), 19. https://doi.org/10.1186/s43014-024-00287-9

Zafar, Z., Rasheed, F., Atif, R. M., Maqsood, M., & Gailing, O. (2021). Salicylic acid-induced morpho-physiological and biochemical changes triggered water deficit tolerance in *Syzygium cumini* L. saplings. *Forests*, *12*(4), 491. https://doi.org/10.3390/f12040491

Zayed, M., Elkafafi, S., Zedan, A. M., & Dawoud, S. F. (2017). Effect of nano chitosan on growth, physiological and biochemical parameters of *Phaseolus vulgaris* under salt stress. *Journal of Plant Production, 8*(5), 577-585. https://doi.org/10.21608/jpp.2017.40468

Zlatev, Z. (2009). Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence of young wheat plants. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, *23*(sup1), 438-441. https://doi.org/10.1080/13102818.2009.10818458

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]

Effects of foliar application of salicylic acid and chitosan nanoparticles on growth, physiological characteristics, and secondary metabolites in *Sonchus arvensis* L.

Sevda Torkaman[1], Ehsan Mohsenifard[1*], Babak Abdollahi Mandoulakani[2], Afshin Tavakoli[1], Rasoul Heydarnajad Giglou[3]

[1] Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[2] Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[3] Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Abstract

The medicinal plant *Sonchus arvensis* is recognized for its valuable compounds. This study evaluated the effects of foliar application of nano-chitosan (0, 60, and 120 mg L^{-1}) and salicylic acid (0, 0.5, and 1 mM) on the content of chlorogenic acid, quercetin, gallic acid, and rutin in *S. arvensis*. Following the transplantation and full establishment of seedlings, treatments were applied every 10 days in three stages. Parameters were assessed two weeks after the final foliar application. The results demonstrated that nano-chitosan application significantly enhanced all measured growth traits and several physiological indices. The highest plant height (87.66 cm) was achieved with the 60 mg L^{-1} nano-chitosan treatment. Furthermore, the maximum chlorogenic acid content (0.81 mg g^{-1}) was recorded in plants treated with a combination of 60 mg L^{-1} nano-chitosan and 0.5 mM salicylic acid. Pearson correlation analysis, supported by a heatmap, revealed significant positive correlations between growth indices (plant height, internode distance, leaf area, and branch number) and both fresh and dry weight. Conversely, plant height and internode distance showed negative correlations with the concentrations of chlorogenic acid, quercetin, gallic acid, and rutin, suggesting that vigorous vegetative growth may coincide with a relative reduction in secondary metabolites. Additionally, the observed positive correlations among rutin, chlorogenic acid, and gallic acid, alongside the negative correlation between rutin and quercetin, highlight the complexity of the underlying phenolic biosynthetic pathways.

Keywords: Chlorogenic acid, Gallic acid, Quercetin, Rutin, Spectrophotometer

Received: Nov. 20, 2025; Revised: Feb. 22, 2026; Accepted: May. 14, 2026; Published Online: Oct. 30, 2026
*Corresponding Author: mohsenifard.ehsan@znu.ac.ir

Copyright © 2025 Iranian Society of Plant Physiology, Published by Isfahan University of Technology press. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.171]