

بررسی کاربرد نانوذره اکسید روی بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دو رقم از شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) تحت تنش شوری

زهرا نوح پیشه^۱، حمزه امیری^{۱*}، عبدالناصر محمدی غلامی^۱ و سعید فرهادی^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ^۲ گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۵/۱۱)

چکیده

تنش شوری یکی از عوامل محیطی محدودکننده رشد و نمو گیاهان است و دارای تأثیرات منفی متعددی بر پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان است. بنابراین، ترکیبات مختلفی در زمینه کاهش اثرات زیان‌آور این تنش مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در این میان نانوذرات فلزی دارای تأثیرات منفی و مثبت بر گونه‌های گیاهی مختلف هستند. این مطالعه با هدف بررسی برهمکنش غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی و سدیم کلرید بر تغییرات مورفولوژیکی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای پروتئین و برخی آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی در دو رقم اردستانی و مشهدی شنبلیله انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، سه سطح نانوذره (صفر، ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و چهار سطح سدیم کلرید (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌مولار) انجام شد. نتایج نشان داد که تنش شوری موجب کاهش معنی‌دار در وزن تر اندام هوایی و ریشه و درصد محتوای نسبی آب ریشه در غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید در هر دو رقم گردید. بالاترین وزن تر اندام هوایی در رقم مشهدی در برهمکنش غلظت ۷۵ میلی‌مولار سدیم کلرید و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره مشاهده شد. به طور کلی تیمار با نانوذره موجب بهبود وزن تر و خشک گیاه در هر دو رقم شد. در رقم اردستانی بیشترین میزان فنل در برهمکنش غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره و غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید و بالاترین میزان فلاونوئید در اثر متقابل غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره و غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید مشاهده شد. بیشترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در هر دو رقم در برهمکنش غلظت ۷۵ میلی‌مولار سدیم کلرید و غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره مشاهده شد. افزایش غلظت نانوذره نیز موجب افزایش معنی‌دار کاروتنوئید در هر دو رقم گردید. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس میزان IC₅₀ در رقم مشهدی و در برهمکنش غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید و غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره مشاهده شد. نتایج این بررسی نشان داد که در گیاهان تحت تنش شوری کاربرد نانوذرات روی سبب بهبود شرایط رشدی گیاه شده است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدانت غیرآنزیمی، پارامترهای مورفولوژیکی، تنش شوری، رنگیزه‌های فتوسنتزی، نانوذره اکسید روی

مقدمه

به‌طور گسترده‌ای در کشورهای مدیترانه‌ای، اروپای جنوبی، هند و چین رشد می‌کند. این گیاه به‌عنوان داروی گیاهی در درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها از قبیل دیابت جهت کاهش

شنبلیله یک جنس از خانواده Fabaceae و یک محصول مهم مورد کشت در مناطق نیمه‌خشک جهان است. جنس مذکور

* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: Amiri.h@lu.ac.ir

سطح گلوکز خون کاربرد دارد. دانه‌های شنبلیله و برگ‌های آن غنی از مواد معدنی، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها، اما دارای لیپید اندکی هستند (Pasandi Pour et al., 2014).

براساس مطالعات پیشین، شنبلیله گیاهی است که دارای حساسیت نسبی به تنش شوری است و این تنش بر گرهک‌زایی و سایر پارامترهای گیاه اثر منفی دارد و موجب آسیب‌های اکسیداتیو در گیاه می‌شود. تنش شوری مشکل عمده در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان است. غلظت‌های بالای سدیم کلرید موجب ایجاد سمیت یونی و اسمزی و عدم تعادل مواد غذایی می‌شود و باعث افت در رشد و تولید مثل و در نهایت مرگ سلولی می‌گردد. به‌منظور مقابله با تنش شوری، گیاهان عکس‌العمل‌های متفاوتی نشان می‌دهند و توسط مکانیسم‌های مختلف مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و فتوسنتزی تطابق پیدا می‌کنند. غلظت بالای سدیم کلرید، معمولاً منجر به کاهش نسبت پتاسیم/سدیم و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای پلاسمایی می‌شود. نشت غشایی موجب کمبود پتاسیم و بسته‌شدن روزنه و در نتیجه کاهش فتوسنتز می‌گردد. در گیاهانی که در طولانی‌مدت در معرض محیط شور قرار می‌گیرند، تحمل شوری معمولاً همراه با کاهش زیست‌توده ماست (Lee et al., 2013).

در این میان نانوذرات دارای اثرات مثبت و منفی بر گونه‌های گیاهی مختلف هستند و موجب طیف وسیعی از تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی با توجه به ویژگی‌های نانوذرات و گونه گیاهی می‌شوند نانوذرات که هم از طریق ریشه و هم اندام هوایی جذب گیاه می‌شوند از یک طرف به‌علت اندازه کوچک، ویژگی ظاهری و نسبت سطح به حجم بیشتر، رشد و تولید محصول را افزایش می‌دهند و از سوی دیگر حفاظت را در مقابل انواع تنش‌های غیرزیستی فراهم می‌کنند (Khan et al., 2016). درجه سودمندی نانوذرات توسط ساختار شیمیایی، اندازه، سطح پوشش، واکنش‌پذیری، گونه گیاهی و مهم‌تر از همه غلظت مورد استفاده تعیین می‌شود (Siddiqui et al., 2015). نانوذرات می‌توانند فعالیت‌های مهم گیاهی را که شامل رویش و نمو دانه، ایجاد

گیاهک، رشد ریشه و اندام هوایی و فتوسنتز می‌شود کنترل کنند. به‌علاوه، ذرات نانو در مکانیسم دفاع گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو درگیر هستند. کاربرد برگی عناصر میکرو و ماکرو در مقیاس نانو به‌عنوان یک روش مؤثر جهت افزایش تحمل به شوری در گیاهان گزارش شده است و عنوان شده است که اثرات زیان‌آور تنش شوری را تخفیف می‌دهد که به‌علت افزایش جذب مواد غذایی توسط برگ یا ریشه در نتیجه بهبود رشد ریشه است (Soliman et al., 2015). کاربرد برگی اکسید روی و اکسید آهن در شکل نانو در گیاهان مختلف، اثرات زیان‌آور تنش شوری را تخفیف داده است. براساس مطالعات، کاربرد نانوذره روی ممکن است اثرات زیان‌آور سدیم کلرید را به‌وسیله ممانعت از جذب سدیم یا کلر و انتقال آنها کاهش دهد. براساس برخی گزارشات نانوذرات موجب به‌راه‌انداختن جریان کلسیم یا مولکول‌های سیگنال در سیتوزول می‌شوند که توسط پروتئین‌های اتصال به کلسیم یا سایر پروتئین‌های ویژه نانوذرات دریافت می‌شوند و بیان ژن و تحمل گیاه به تنش را افزایش می‌دهند (Khan et al., 2016). در مقابل، خصوصیات دیگر نانوذرات، آنها را زیان‌آور می‌سازد و موجب الفا تنش اکسیداتیو، سمیت سلولی، پاسخ‌های ژنوتوکسیک، آسیب در فعالیت‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، افت میزان مواد غذایی به‌طور کلی کاهش در رویش دانه، رشد و نمو گیاهان می‌گردند. اثرات سمی نانوذرات بر گیاهان به اندازه ذرات، غلظت، ساختار و ویژگی شیمیایی جایگاه استقرار آنها بستگی دارد (Khan et al., 2016). در این تحقیق میزان تاثیر غلظت‌های مختلف شوری بر پاسخ‌های مورفولوژیکی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانت دو رقم از گیاه شنبلیله مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین با توجه به اینکه در مطالعات پیشین نانوذرات دارای اثرات مثبت و منفی براساس غلظت، گونه گیاهی و شرایط رشد گیاه بوده‌اند تحقیق مورد نظر به‌منظور بررسی تأثیر مثبت یا منفی غلظت‌های مختلف نانوذرات بر گیاه شنبلیله و اینکه آیا نانوذرات قادر به تخفیف اثرات زیان‌آور شوری هستند یا نه انجام شده است و پاسخ‌های دو رقم مختلف مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

کاشت و تیمار گیاهان: بذره‌های دو رقم از گیاه سنبليله (اردستانی و مشهدی) از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان خریداری شدند. بذره‌های سنبليله پس از طی مراحل ضدعفونی شدن، به صورت هیدروپونیک با استفاده از محلول غذایی هوگلند کاشته شدند. سپس، گیاهان کاشته شده در شرایط گلخانه‌ای با دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد در روز، ۱۵ درجه سانتی‌گراد در شب و دوره نوری ۱۶ ساعته قرار گرفتند. در مرحله چهار برگی، تیمار گیاهان آغاز گردید. از چهار سطح سدیم کلرید (صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌مولار) و سه سطح نانوذره اکسید روی (ZnO) (صفر، ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به صورت اسپری برگی استفاده شد.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد (طول، وزن تر، وزن خشک) و محتوای نسبی آب (RWC): بعد از پایان دوره تیمار، گیاهان از محیط کشت خارج شدند و نمونه تازه اندام هوایی و ریشه جهت سنجش‌ها مورد استفاده قرار گرفت. پارامترهای مورفولوژیکی شامل طول، وزن تر و خشک و محتوای نسبی آب اندام هوایی و ریشه گیاهان در گروه‌های تیماری مختلف، مورد اندازه‌گیری قرار داده شد.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید: جهت سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۷۸) استفاده شد. شدت جذب در طول موج‌های ۶۴۷، ۶۶۳ و ۶۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل T80+ خوانده شد. غلظت رنگیزه‌های مذکور با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید (Lee et al., 2013):

$$\text{Chla (mg.L}^{-1}\text{)} = (12.25\text{A}663 - 2.7\text{A}647)$$

$$\text{Chlb (mg.L}^{-1}\text{)} = (21.21\text{A}647 - 5.1\text{A}663)$$

$$\text{ChlT} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

$$\text{Car (mg.L}^{-1}\text{)} = (1000\text{A}470 - 1.8\text{Chla} - 85.2\text{Chlb}) / 198$$

سنجش محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل: جهت

استخراج عصاره مورد نظر، ۰/۴ گرم بافت تر گیاه در هاون چینی محتوی ۱۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی ساییده شد. سپس ۱۳ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده به منظور سنجش فنل و فلاونوئید به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. همچنین برای سنجش آنتوسیانین کل، ۲ میلی‌لیتر از عصاره هر

نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سنجش محتوای فنل کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالو انجام شد و با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه و بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر ارائه گردید (Plessi et al., 2007). به منظور سنجش محتوای فلاونوئید کل از روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید استفاده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانده شد. محتوای فلاونوئید کل با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیان گردید (Chang et al., 2002). جهت اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل از روش wagner (۱۹۷۹) استفاده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. محتوای آنتوسیانین کل با استفاده از ضریب خاموشی آن معادل $33000 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ محاسبه و بر حسب نانوگرم بر گرم وزن تر گزارش گردید (Hatamian and Salehi, 2017).

سنجش آنتی‌اکسیدانت کل: در این سنجش، ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره با یک میلی‌لیتر از محلول متانول محتوی رادیکال‌های DPPH (۰/۰۴ درصد حجمی) مخلوط شد. بعد از مدت زمان ۳۰ دقیقه، جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از میکروپلیت ریدر (Bio Tek, U.S.A) خوانده شد. میزان بازدارندگی رادیکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{I\%} = (\text{A}_{\text{blank}} - \text{A}_{\text{sample}} / \text{A}_{\text{blank}}) \times 100$$

IC50 نشان‌دهنده غلظتی از عصاره است که موجب ۵۰ درصد بازدارندگی رادیکال آزاد می‌شود (Tepe et al., 2006).

اندازه‌گیری محتوای پروتئین: جهت استخراج پروتئین، مقدار یک گرم از بافت تر اندام هوایی با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات (KH₂PO₄/K₂HPO₄) ۰/۱ مولار در PH=8 حاوی EDTA (تریپلکس II) ۲ میلی‌مولار، بتامرکاپتو اتانول ۱/۴ میلی‌مولار و پلی‌وینیل پیرولیدین (PVP) ۱٪ هموزن شد. روشناور، به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد در ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. سپس جهت سنجش پروتئین مورد استفاده قرار گرفت. جهت تخمین مقدار پروتئین از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد و غلظت پروتئین با منحنی استاندارد محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه

گردید.

نتایج

در پژوهش حاضر، تنش شوری موجب کاهش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) در وزن تر اندام هوایی و ریشه در غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید در هر دو رقم اردستانی (جدول ۱) و مشهدی (جدول ۲) شد. همچنین بالاترین وزن تر اندام هوایی در رقم اردستانی (جدول ۱) در غلظت ۷۵ میلی‌مولار سدیم کلرید و در رقم مشهدی (جدول ۲) در برهمکنش سدیم کلرید ۷۵ میلی‌مولار و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسید روی مشاهده شد. اثر متقابل نانوذره اکسید روی و شوری سدیم کلرید بر وزن خشک نشان داد که در رقم اردستانی، بالاترین وزن خشک اندام هوایی مربوط به برهمکنش غلظت ۷۵ میلی‌مولار سدیم کلرید و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسید روی ($P \leq 0/05$) و بیشترین وزن خشک ریشه در برهمکنش غلظت پایین شوری و غلظت بالای نانوذره ($P \leq 0/05$) است (جدول ۱). غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید در رقم اردستانی موجب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) در طول اندام هوایی شد (جدول ۱). اما در رقم مشهدی، روند مذکور برعکس است (جدول ۲). برهمکنش غلظت بالای شوری و نانوذره موجب کاهش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) طول اندام هوایی و ریشه در رقم اردستانی شد و کمترین طول ریشه و اندام هوایی در رقم مذکور مربوط به برهمکنش غلظت بالای نانوذره و حداکثر غلظت شوری ($P \leq 0/05$) است. در پژوهش حاضر، غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید موجب کاهش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) در درصد محتوای نسبی آب ریشه و اندام هوایی در هر دو رقم اردستانی (جدول ۱) و مشهدی (جدول ۲) گردید. پایین‌ترین میزان پارامتر مذکور در اندام هوایی هر دو رقم مربوط به برهمکنش غلظت بالای شوری و غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره است.

بیشترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a ، کلروفیل b و کلروفیل کل) در برهمکنش غلظت ۷۵ میلی‌مولار سدیم کلرید و غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (ppm) نانوذره اکسید روی

($P \leq 0/05$) در هر دو رقم مشاهده شد. غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید موجب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) کلروفیل a ، کلروفیل b و کلروفیل کل در هر دو رقم گردید. اما غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره موجب کاهش معنی‌دار کلروفیل a ($P \leq 0/05$) در هر دو رقم نسبت به گروه شاهد شد. غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم نانوذره نیز محتوی کلروفیل b را به‌صورت معنی‌دار ($P \leq 0/05$) در هر دو رقم افزایش داد. علاوه بر این، غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره در برهمکنش با غلظت بالای شوری، رنگیزه‌های کلروفیل a ، کلروفیل b و کلروفیل کل را به‌صورت معنی‌دار ($P \leq 0/05$) در هر دو رقم افزایش داد (شکل ۱).

افزایش غلظت نانوذره، موجب افزایش معنی‌دار میزان کاروتنوئید نسبت به گروه شاهد در هر دو رقم شنبلیله ($P \leq 0/05$) شد. افزایش غلظت سدیم کلرید در رقم مشهدی، میزان کاروتنوئید را به‌صورت معنی‌دار ($P \leq 0/05$) نسبت به گروه شاهد افزایش داد. در رقم اردستانی نیز افزایش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) کاروتنوئید در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید مشاهده شد (شکل ۲). در پژوهش حاضر با توجه به شکل ۲، میزان تنش شوری تغییرات معنی‌داری ($P \leq 0/05$) در محتوای پروتئین در رقم اردستانی ایجاد نکرد، اما در رقم مشهدی، غلظت ۷۵ میلی‌مولار سدیم کلرید موجب کاهش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) پروتئین نسبت به گروه شاهد گردید و افزایش غلظت شوری، پروتئین را به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) افزایش داد. در رقم اردستانی، بالاترین مقدار پروتئین در برهمکنش غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید و نانوذره اکسید روی در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. در رقم مشهدی، برهمکنش نانوذره با شوری در تیمارهای ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید موجب کاهش معنی‌دار پروتئین ($P \leq 0/05$) گردید. همچنین در این رقم، هر یک از دو غلظت ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره در شرایط نرمال به‌ترتیب موجب افزایش و کاهش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) پروتئین نسبت به گروه شاهد شدند (شکل ۲).

با توجه به شکل، تنش شوری تأثیر معنی‌داری بر میزان

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های اثر نانوذره اکسید روی و شوری بر پارامترهای مورفولوژیکی در رقم اردستانی گیاه شبلیله

شوری (mM)	نانوذره (ppm)	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	طول اندام هوایی	محتوای آب اندام هوایی
	۰	$1/03 \pm 0/01^{gh}$	$0/10 \pm 0/00^{bc}$	$2/07 \pm 0/05^{b-d}$	$90/4 \pm 1/4^a$
صفر	۱۰۰۰	$1/32 \pm 0/09^{c-e}$	$0/13 \pm 0/01^{a-c}$	$1/66 \pm 0/14^{cd}$	$90/5 \pm 0/4^a$
	۳۰۰۰	$1/37 \pm 0/01^{cd}$	$0/15 \pm 0/00^{ab}$	$1/05 \pm 0/05^{ef}$	$89/6 \pm 0/03^a$
	۰	$1/71 \pm 0/04^a$	$0/15 \pm 0/01^a$	$2/53 \pm 0/46^b$	$90/2 \pm 0/05^a$
۷۵	۱۰۰۰	$1/53 \pm 0/02^b$	$0/13 \pm 0/01^a$	$1/69 \pm 0/01^{cd}$	$89/8 \pm 0/11^a$
	۳۰۰۰	$1/45 \pm 0/09^{bc}$	$0/13 \pm 0/03^{a-c}$	$1/55 \pm 0/1^{de}$	$90/4 \pm 0/10^a$
	۰	$1/2 \pm 0/05^{fg}$	$0/17 \pm 0/00^a$	$2/15 \pm 0/05^{bc}$	$90/2 \pm 0/06^a$
۱۵۰	۱۰۰۰	$1/2 \pm 0/02^{ef}$	$0/16 \pm 0/00^{ab}$	$1/98 \pm 0/22^{cd}$	$89/7 \pm 0/04^a$
	۳۰۰۰	$0/98 \pm 0/06^h$	$0/16 \pm 0/00^a$	$1/73 \pm 0/05^{cd}$	$88/4 \pm 1/16^a$
	۰	$0/36 \pm 0/02^i$	$0/08 \pm 0/00^c$	$3/88 \pm 0/3^a$	$72/5 \pm 2/4^b$
۲۲۵	۱۰۰۰	$1/27 \pm 0/02^{d-f}$	$0/14 \pm 0/02^{ab}$	$1/08 \pm 0/08^{ef}$	$88/4 \pm 0/07^a$
	۳۰۰۰	$0/31 \pm 0/05^i$	$0/14 \pm 0/01^{ab}$	$0/71 \pm 0/01^f$	$65/2 \pm 1/58^c$

حروف لاتین غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P \leq 0/05$).

ادامه جدول ۱-

شوری (mM)	نانوذره (ppm)	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	طول ریشه	محتوای آب ریشه
	۰	$0/82 \pm 0/11^a$	$0/06 \pm 0/0^{cd}$	$1/09 \pm 0/3^{cd}$	$93/1 \pm 0/5^a$
صفر	۱۰۰۰	$1/08 \pm 0/34^a$	$0/13 \pm 0/02^a$	$11/8 \pm 0/0^{a-d}$	$89/5 \pm 0/2^{a-d}$
	۳۰۰۰	$1/02 \pm 0/04^a$	$0/09 \pm 0/0^{a-c}$	$10/8 \pm 1/5^{cd}$	$90/7 \pm 0/6^{a-c}$
	۰	$1/08 \pm 0/02^a$	$0/09 \pm 0/02^{a-c}$	$12/8 \pm 0/4^{a-c}$	$92/1 \pm 0/8^{ab}$
۷۵	۱۰۰۰	$0/95 \pm 0/04^a$	$0/10 \pm 0/002^{a-c}$	$13/8 \pm 0/9^a$	$89/5 \pm 0/1^{a-d}$
	۳۰۰۰	$1/11 \pm 0/03^a$	$0/10 \pm 0/007^{a-c}$	$11/6 \pm 0/8^{b-d}$	$91/4 \pm 0/3^{a-c}$
	۰	$0/67 \pm 0/04^{ab}$	$0/09 \pm 0/002^{a-c}$	$12/8 \pm 0/4^{a-c}$	$85/9 \pm 0/5^d$
۱۵۰	۱۰۰۰	$0/78 \pm 0/01^{ab}$	$0/06 \pm 0/005^{cd}$	$13/7 \pm 0/8^{ab}$	$91/4 \pm 4^{a-c}$
	۳۰۰۰	$1/03 \pm 0/36^a$	$0/12 \pm 0/03^{ab}$	$10/0 \pm 0/8^{de}$	$88/1 \pm 0/2^{b-d}$
	۰	$0/33 \pm 0/05^b$	$0/04 \pm 0/005^d$	$11/7 \pm 0/7^{a-d}$	$90/2 \pm 0/7^{a-d}$
۲۲۵	۱۰۰۰	$0/69 \pm 0/08^{ab}$	$0/08 \pm 0/01^{b-d}$	$12/7 \pm 0/4^{a-c}$	$88/2 \pm 1/0^{b-d}$
	۳۰۰۰	$0/86 \pm 0/04^a$	$0/06 \pm 0/01^{cd}$	$8/2 \pm 0/4^e$	$87/1 \pm 2/5^{cd}$

حروف لاتین غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P \leq 0/05$).فلانویید رقم اردستانی نداشت، اما در رقم مشهدی، موجب کاهش معنی‌دار میزان فلانویید ($P \leq 0/05$) گردید. بالاترین

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثر نانوذره اکسید روی و شوری بر پارامترهای مورفولوژیکی در رقم مشهدی گیاه سنبليله

شوری (mM)	نانوذره (ppm)	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	طول اندام هوایی	محتوای آب اندام هوایی
	۰	$1/85 \pm 0/09^{ab}$	$0/21 \pm 0/00^{ab}$	$18/16 \pm 0/81^a$	$89/5 \pm 0/19^a$
صفر	۱۰۰۰	$1/82 \pm 0/45^{ab}$	$0/18 \pm 0/02^{bc}$	$17/04 \pm 0/19^{ab}$	$88/9 \pm 0/03^a$
	۳۰۰۰	$1/71 \pm 0/09^{ab}$	$0/15 \pm 0/00^{de}$	$14/8 \pm 1/5^{cd}$	$90/9 \pm 0/41^a$
	۰	$1/99 \pm 0/14^a$	$0/19 \pm 0/00^{bc}$	$15/6 \pm 0/11^{bc}$	$90/2 \pm 0/07^a$
۷۵	۱۰۰۰	$2/17 \pm 0/13^a$	$0/23 \pm 0/00^a$	$16/9 \pm 0/28^{ab}$	$88/8 \pm 1/08^a$
	۳۰۰۰	$2/06 \pm 0/32^a$	$0/13 \pm 0/03^{de}$	$15/6 \pm 0/42^{bc}$	$92/9 \pm 0/40^a$
	۰	$1/65 \pm 0/17^{ab}$	$0/20 \pm 0/00^{ab}$	$14/05 \pm 1/3^{cd}$	$88/5 \pm 2/80^a$
	۱۰۰۰	$1/93 \pm 0/02^{ab}$	$0/20 \pm 0/02^{ab}$	$18/51 \pm 0/21^a$	$89/3 \pm 0/10^a$
۱۵۰	۳۰۰۰	$1/78 \pm 0/04^{ab}$	$0/16 \pm 0/00^{c-e}$	$12/92 \pm 0/07^d$	$91/6 \pm 0/36^a$
	۰	$0/35 \pm 0/09^c$	$0/12 \pm 0/00^e$	$9/8 \pm 0/6^f$	$71/1 \pm 18/6^b$
۲۲۵	۱۰۰۰	$0/46 \pm 0/14^c$	$0/16 \pm 0/02^{cd}$	$11/76 \pm 0/21^{ef}$	$69/7 \pm 0/01^b$
	۳۰۰۰	$1/4 \pm 0/11^b$	$0/14 \pm 0/01^{de}$	$11/7 \pm 0/38^{ef}$	$91/9 \pm 2/11^a$

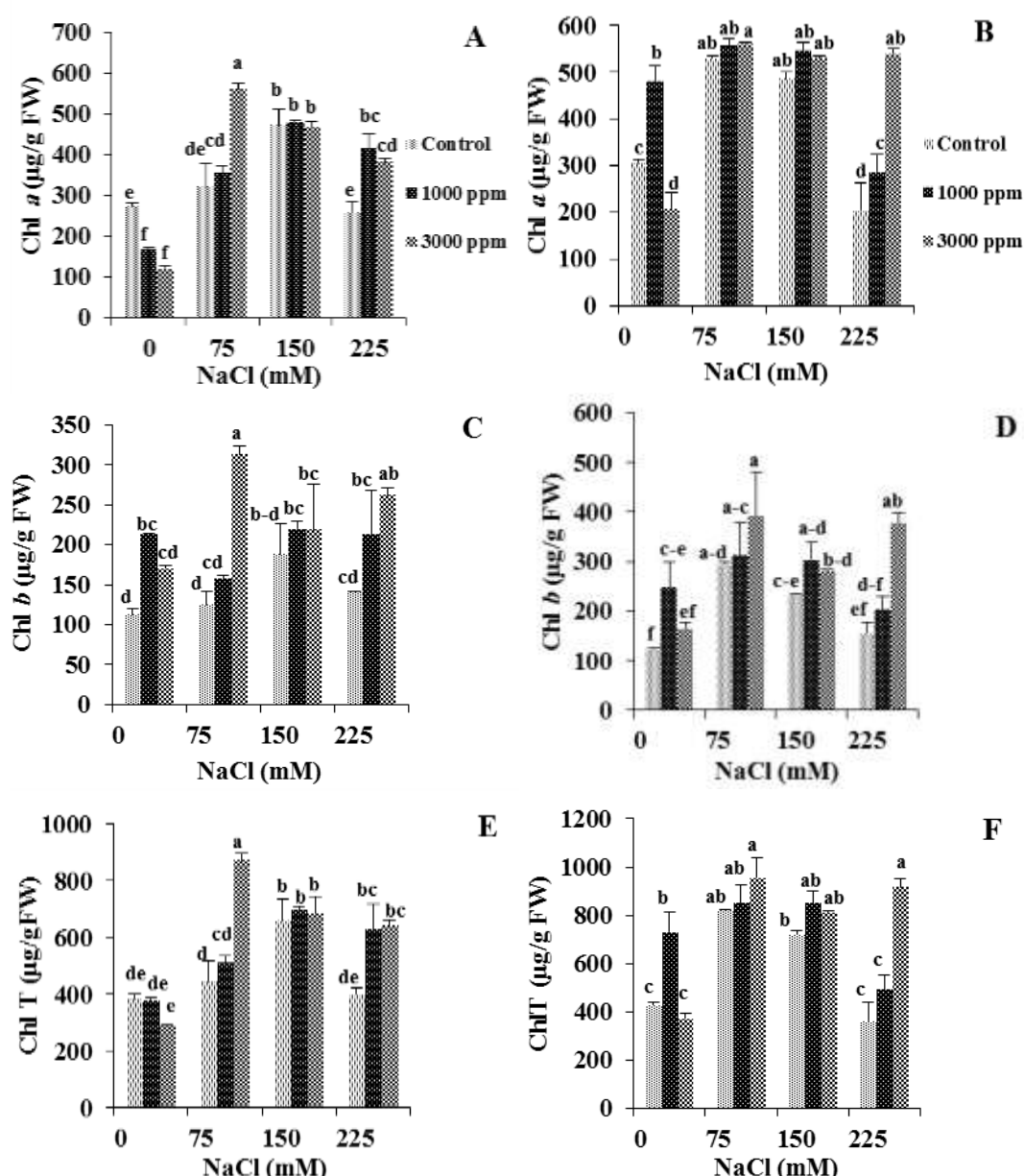
حروف لاتین غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P \leq 0/05$).

ادامه جدول ۲-

شوری (mM)	نانوذره (ppm)	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	طول ریشه	محتوای آب ریشه
	۰	$0/90 \pm 0/04^{de}$	$0/04 \pm 0/00^{cd}$	$12/5 \pm 0/3^{bc}$	$92/9 \pm 0/5^a$
صفر	۱۰۰۰	$1/17 \pm 0/05^{bc}$	$0/12 \pm 0/00^a$	$10/8 \pm 0/4^{de}$	$89/7 \pm 0/4^{de}$
	۳۰۰۰	$0/84 \pm 0/01^e$	$0/09 \pm 0/00^{a-c}$	$10/7 \pm 0/08^e$	$91/0 \pm 0/3^{cd}$
	۰	$1/05 \pm 0/00^{c-e}$	$0/09 \pm 0/00^{a-c}$	$11/6 \pm 0/00^{c-e}$	$91/5 \pm 0/5^{a-c}$
۷۵	۱۰۰۰	$1/17 \pm 0/24^{bc}$	$0/08 \pm 0/00^{a-c}$	$12/5 \pm 0/3^{bc}$	$92/7 \pm 0/5^{ab}$
	۳۰۰۰	$1/47 \pm 0/02^a$	$0/17 \pm 0/00^{a-c}$	$15/3 \pm 0/09^a$	$88/8 \pm 0/3^{ef}$
	۰	$0/95 \pm 0/03^{c-e}$	$0/09 \pm 0/00^{a-c}$	$11/7 \pm 0/4^{cd}$	$90/6 \pm 0/2^{cd}$
	۱۰۰۰	$1/12 \pm 0/05^{cd}$	$0/11 \pm 0/00^{cd}$	$13/0 \pm 0/01^b$	$90/6 \pm 0/6^{cd}$
۱۵۰	۳۰۰۰	$1/4 \pm 0/05^{ab}$	$0/14 \pm 0/00^{ab}$	$11/0 \pm 0/2^{de}$	$90/2 \pm 0/1^{de}$
	۰	$0/52 \pm 0/05^f$	$0/05 \pm 0/00^d$	$10/9 \pm 0/3^{de}$	$91/2 \pm 0/1^{b-c}$
۲۲۵	۱۰۰۰	$0/46 \pm 0/05^f$	$0/04 \pm 0/00^{b-d}$	$11/5 \pm 0/5^{c-e}$	$91/7 \pm 1/1^{a-c}$
	۳۰۰۰	$1/06 \pm 0/07^{c-e}$	$0/13 \pm 0/00^{cd}$	$11/6 \pm 0/6^{c-e}$	$88/1 \pm 0/3^f$

حروف لاتین غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P \leq 0/05$).

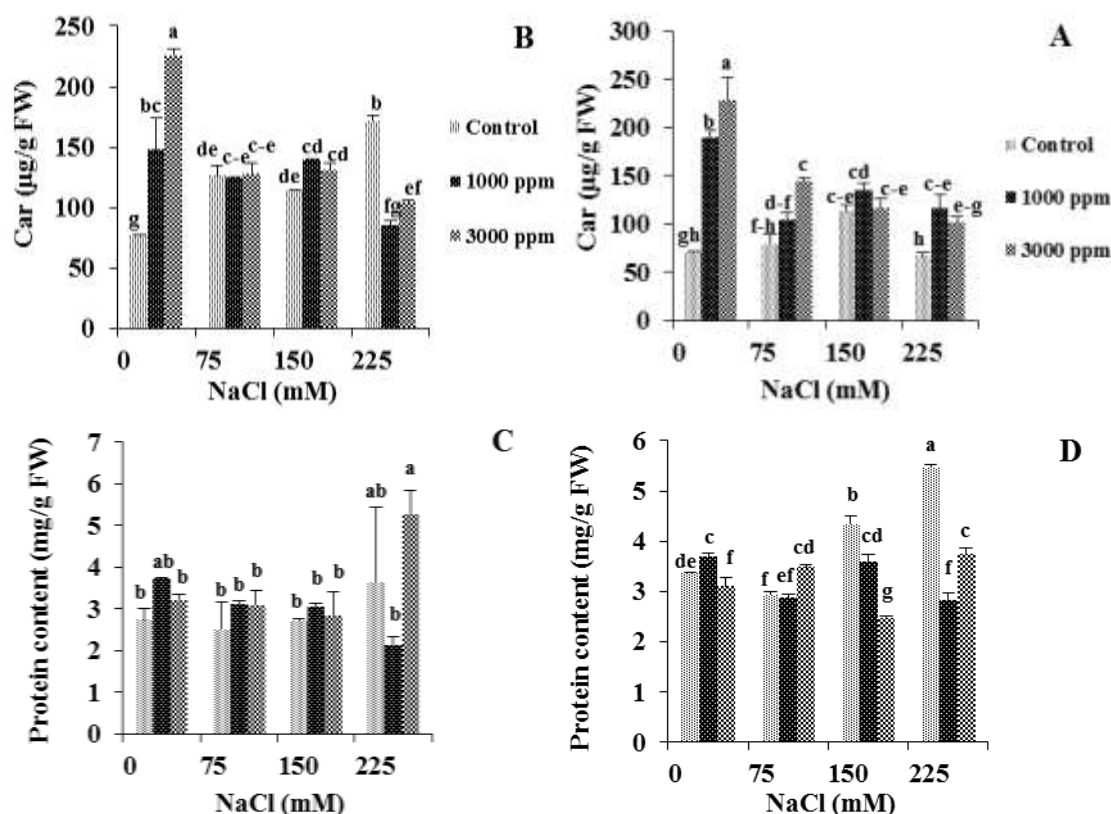
میزان فلاونوئید در رقم اردستانی در برهمکنش غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید و غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر



شکل ۱- اثر متقابل نانوذره اکسید روی و شوری سدیم کلرید بر میزان رنگیزه فتوسنتزی [۱- کلروفیل a (میکروگرم/گرم وزن تر) در رقم اردستانی (A)، رقم مشهدی (B)، ۲- کلروفیل b (میکروگرم/گرم وزن تر) در رقم اردستانی (C)، رقم مشهدی (D) و ۳- کلروفیل کل (میکروگرم/گرم وزن تر) در رقم اردستانی (E)، رقم مشهدی (F)] گیاه شنبلیله. میانگین داده‌ها حاصل از سه تکرار و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون توکی است ($P \leq 0.05$).

معنی‌داری ($P \leq 0.05$) در رقم مشهدی افزایش داد. غلظت ۷۵ میلی‌مولار سدیم کلرید موجب کاهش معنی‌دار فنل ($P \leq 0.05$) در هر دو رقم شد. اما غلظت بالای شوری میزان فنل را به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) در رقم مشهدی افزایش داد. در غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار شوری، تیمار با غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر

نانوذره مشاهده شد. در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید، محلول‌پاشی با غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره موجب افزایش معنی‌دار فلاونوئید ($P \leq 0.05$) در رقم مشهدی گردید. همچنین در غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید، تیمار با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره میزان فلاونوئید را به‌طور



شکل ۲- اثر متقابل نانوذره اکسید روی و شوری کلرید سدیم بر میزان [۱- کاروتنوئید (میکروگرم/گرم وزن تر در رقم اردستانی (A)، رقم مشهدی (B) و میزان پروتئین کل (میلی گرم/گرم وزن تر) در رقم اردستانی (C)، رقم مشهدی (D)] گیاه شنبليله. میانگین داده‌ها حاصل از سه تکرار و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون توکی می‌باشد ($P \leq 0.05$).

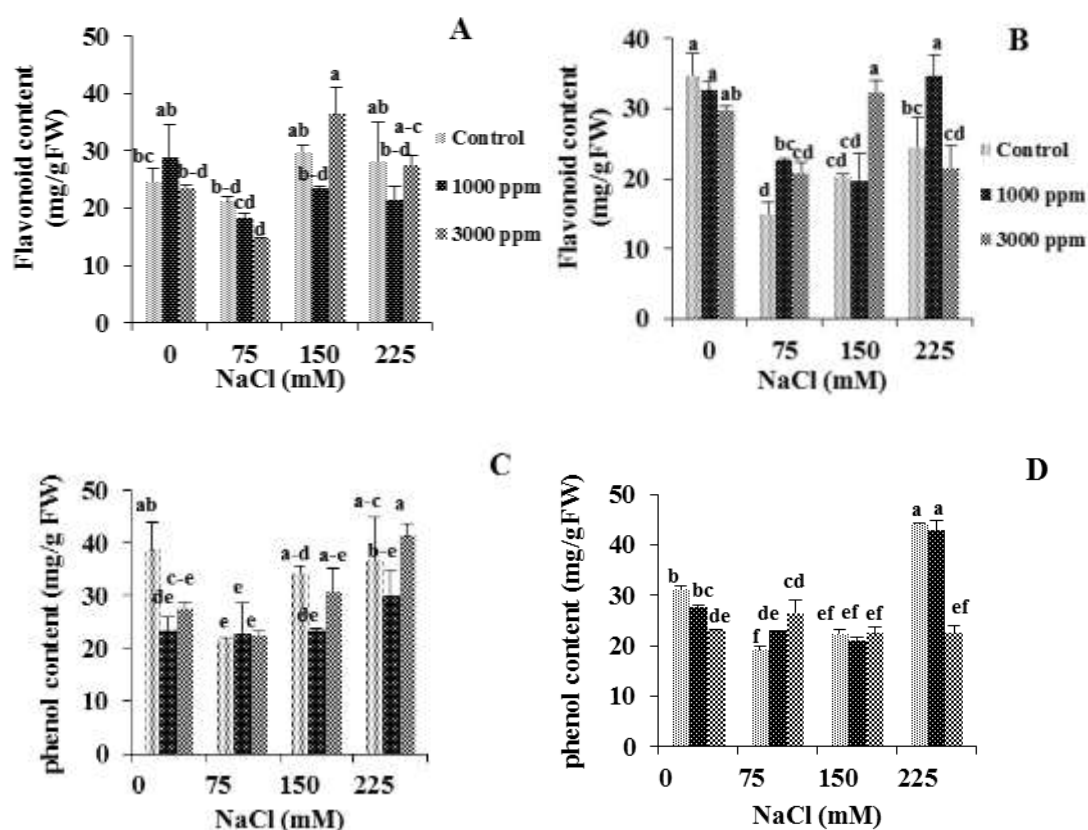
اردستانی، پایین‌ترین میزان IC_{50} و بنابراین بالاترین فعالیت مهار DPPH مربوط به اثر متقابل غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید و غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره است. در رقم مشهدی، بالاترین فعالیت مهار DPPH مربوط به برهمکنش غلظت ۷۵ میلی‌مولار سدیم کلرید و بالاترین غلظت نانوذره است. به‌علاوه در رقم مشهدی در گیاهانی که تحت تنش شوری بالا بودند، محلول‌پاشی با غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره موجب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) فعالیت مهار DPPH شد (شکل ۴) و (جدول ۳ و ۴).

بحث

در پژوهش حاضر، غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید در رقم مشهدی موجب کاهش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) در طول اندام هوایی شد. همچنین، تنش شوری موجب کاهش معنی‌دار

نانوذره موجب کاهش معنی‌دار فنل در رقم مشهدی گردید. بیشترین میزان فنل در رقم اردستانی در برهمکنش غلظت بالای شوری و غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره مشاهده شد (شکل ۳).

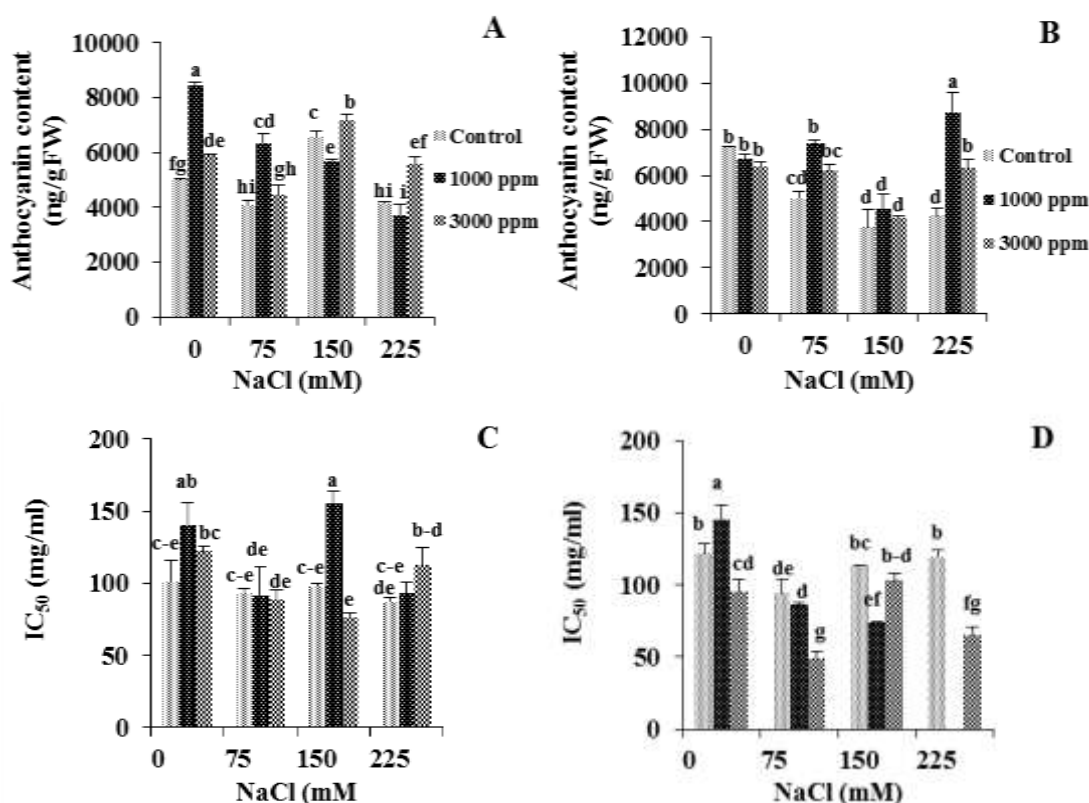
با توجه به شکل ۴ نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که در اثر تنش شوری در رقم مشهدی کاهش معنی‌دار آنتوسیانین ($P \leq 0.05$) مشاهده شد. بیشترین میزان آنتوسیانین در رقم اردستانی مربوط به تیمار شاهد شوری و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره و در رقم مشهدی در برهمکنش غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره و غلظت بالای شوری است. در رقم اردستانی، غلظت ۷۵ میلی‌مولار سدیم کلرید موجب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) فعالیت مهار DPPH شد. در سایر غلظت‌های سدیم کلرید، تنش شوری تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بر فعالیت مهار DPPH نداشت. همچنین، در رقم



شکل ۳- اثر متقابل نانوذره اکسید روی و شوری سدیم کلرید بر میزان [۱- فلاونوئید (میلی گرم/گرم وزن تر در رقم اردستانی (A)، رقم مشهدی (B) و میزان فنل کل (میلی گرم/گرم وزن تر) در رقم اردستانی (C)، رقم مشهدی (D)] گیاه شنبلیله. میانگین داده‌ها حاصل از سه تکرار و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون توکی است ($P \leq 0.05$).

باشد که موجب افزایش سرعت جذب و انتقال آنها می‌شود (Torabian et al., 2015). در پژوهش حاضر تیمار با نانوذره اکسید روی در رقم مشهدی شنبلیله در معرض غلظت پایین شوری موجب افزایش معنی‌دار طول ریشه شد. بنابراین، کاربرد برگی روی ممکن است یک راه‌حل برای غلبه بر محدودیت ریشه‌ای ایجادشده توسط تنش شوری باشد (Soliman et al., 2015). طی مطالعات قبلی، تیمارهای اسپری برگی نانوذره روی در خیار، آفتابگردان و گندم غلظت سدیم را کاهش، در مقابل، طول و وزن خشک اندام هوایی، مساحت برگی و غلظت روی و آهن و در نتیجه تحمل به شوری را افزایش داده است (Torabian et al., 2015). نانوذرات اکسید روی افزایش قابل توجه در زیست‌توده، رشد ریشه و اندام هوایی، سنتز کلروفیل و تحمل به تنش غیرزیستی در گوجه‌فرنگی، ماش،

($P \leq 0.05$) در وزن تر اندام هوایی و ریشه و درصد محتوای نسبی آب ریشه در غلظت ۲۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید در هر دو رقم اردستانی و مشهدی گردید. تنش شوری، موجب رنگ پریدگی، کاهش در ارتفاع و وزن خشک اندام هوایی و ریشه در خردل چینی، شنبلیله و کلزا گردیده است. اثرات منفی سدیم کلرید بر رشد و بیوماس گیاه ممکن است به‌علت تنش اسمزی و کاهش جذب عناصر ضروری باشد (Ahmad et al., 2017). کاهش در غلظت روی در برگ‌های خیار تحت تنش شوری مشاهده گردیده است (Torabian et al., 2015). اگر چه عنصر روی در غلظت‌های نسبتاً کم مورد نیاز است، اما نقش عمده در رشد و نمو گیاهان دارد (Soliman et al., 2015). یکی از دلایل سودمندی بیشتر نانوذرات در مقایسه با فرم معمولی عناصر ممکن است به‌علت اندازه کوچک ذرات



شکل ۴- اثر متقابل نانوذره اکسید روی و شوری سدیم کلرید بر میزان [۱- آنتوسیانین (نانوگرم/گرم وزن تر در رقم اردستانی (A)، رقم مشهدی (B) و IC₅₀ (میلی گرم/میلی لیتر) در رقم اردستانی (C)، رقم مشهدی (D)] گیاه شنبلیله. میانگین داده‌ها حاصل از سه تکرار و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون توکی است ($P \leq 0.05$).

نانوذرات بسیار حائز اهمیت است، زیرا غلظت‌های بالای نانوذرات می‌تواند به بافت گیاهی آسیب وارد کند (Torabian *et al.*, 2015). در پژوهش حاضر، در رقم اردستانی شنبلیله، کمترین طول ریشه و اندام هوایی در برهمکنش غلظت ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید روی و حداکثر غلظت شوری مشاهده شد. سمیت نانوذرات اکسید روی احتمالاً به علت تجزیه نانوذره به یون روی و همچنین اثر وابسته به ذره است (Ma *et al.*, 2013). اگر چه توافق عمومی در مورد مکانیسم دقیق سمیت القاشده نانوذرات وجود ندارد، به طور کلی پذیرفته شده است که این نوع از سمیت معمولاً با وساطت ROS است (Ma *et al.*, 2013). تشکیل ROS، موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، از هم گسیختگی غشا، نشت یون پتاسیم و افت وضعیت آبی گیاه می‌شود و کاهش در بیوماس گیاهی و کلروزیز برگ‌ها را به دنبال دارد (Ma *et al.*, 2013). اثرات

نخود، گوار و خردل ایجاد کرده است (Siddiqui *et al.*, 2015; Zuverza-Mena *et al.*, 2016). تأثیر مثبت غلظت پایین سایر نانوذرات از قبیل دی اکسید سریوم، طلا، نقره، سیلیس، دی اکسید تیتانیوم بر رشد و تولیدمثل و بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی در گوجه فرنگی، سویا، اسفناج و خردل چینی گزارش شده است (Ma *et al.*, 2013; Rao and Shekawat, 2014).

اثرات مثبت کاربرد روی ممکن است به تأثیر مطلوب این عنصر بر متابولیسم و تأثیر تحریک‌کنندگی بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیمی نسبت داده شود که به نوبه خود رشد گیاهان را بهبود می‌بخشد. براساس مطالعات قبلی، اسپری برگ‌ها با سولفات روی و تیمار گیاهچه با سولفات روی در ذرت منجر به تخفیف در تنش شوری می‌شود (Ashraf *et al.*, 2014; Soliman *et al.*, 2015). انتخاب غلظت مناسب

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس مربوط به اثرات متقابل تنش شوری و اکسید روی بر پارامترهای مورفولوژیکی اندام هوایی و ریشه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنتوسیانین، فنل، فلاونوئید، IC50 و پروتئین در رقم اردستانی گیاه شنبلیله. اعداد بیانگر F value هستند.

تیمار	وزن تر اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	طول اندام هوایی	طول ریشه
شوری	۵۶۶/۶۱**	۱۲/۵۹**	۷/۹۵**	۹/۶**	۶/۸۸**	۱۱/۵۹**
نانوذره	۱۴۳/۵۵**	۹/۷۶**	۳/۹۱**	۱۳/۸**	۱۸/۶۴**	۴۵/۷۸**
شوری × نانوذره	۱۰۸/۲۴**	۲/۳۰ ^{ns}	۹/۴۹**	۸/۵۹**	۴۱/۲۶**	۴/۱۶**
تیمار	درصد آب اندام هوایی	درصد آب ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
شوری	۴۵۶/۴۰**	۸/۴۵**	۲۱۵/۲۵**	۵/۰۲**	۸۵/۴۶**	۶۸/۱۷**
نانوذره	۱۱۱/۵۰**	۱/۱۵ ^{ns}	۱۲/۴۶**	۴۲/۲۲**	۳۲/۲۱**	۱۲۷/۰۴
شوری × نانوذره	۹۷/۶۲**	۶/۴۴**	۴۲/۷۱**	۹/۴۲**	۲۴/۵۴**	۳۱/۷۵**
تیمار	پروتئین	فلاونوئید	فنل	آنتوسیانین	IC50	
شوری	۳/۷۱*	۲۱/۲۰**	۲۰/۳۶**	۲۴۰/۹۱**	۱۵/۶۹**	
نانوذره	۵/۰۱*	۲/۹۲	۱۴/۱۶**	۹۹/۸۹**	۲۰/۸**	
شوری × نانوذره	۶/۶۲**	۶/۱۴**	۴/۳۴**	۱۲۴/۰۹**	۱۴/۸۱**	

* نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد، ** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد و ^{ns} نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن است.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس مربوط به اثرات متقابل تنش شوری و اکسید روی بر پارامترهای مورفولوژیکی اندام هوایی و ریشه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنتوسیانین، فنل، فلاونوئید، IC50 و پروتئین در رقم مشهدی گیاه شنبلیله. اعداد بیانگر F value هستند.

تیمار	وزن تر اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	طول اندام هوایی	طول ریشه
شوری	۸۶/۳۶**	۸۰/۷۶**	۲۹/۰۴**	۶۰/۶۰**	۱۲۰/۵۶**	۵۳/۲۵**
نانوذره	۶/۳۷**	۵۱/۹۹**	۵۴/۱۸**	۱۹۲/۸۳**	۳۵/۶۰**	۴/۴۹
شوری × نانوذره	۸/۰۸**	۱۸/۳۲**	۱۱/۸۲**	۳۶/۱۹**	۱۶/۷۱**	۴۷/۲۷**
تیمار	درصد آب اندام هوایی	درصد آب ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
شوری	۱۱/۵۳**	۷/۰۳**	۱۷۲/۹۸**	۲۹/۴۶**	۹۹/۹۵**	۲۰/۴۶**
نانوذره	۷/۰۹**	۵۵/۵۴**	۳۹/۷۹**	۲۶/۰۱**	۴۲/۱۲**	۳۲/۷۰**
شوری × نانوذره	۳/۰۱*	۱۹/۵۶**	۶۱/۰۴**	۸/۷۰**	۳۴/۲۵**	۸۷/۸۱**
تیمار	پروتئین	فلاونوئید	فنل	آنتوسیانین	IC50	
شوری	۱۹۷/۲۲**	۴۳/۵۳**	۲۵۸/۳۷**	۶۴/۷۷**	۱۵۶/۰۶**	
نانوذره	۳۱/۳۹**	۷/۷۰**	۷۲/۹۰**	۴۹/۹۳**	۱۳۰/۰۲**	
شوری × نانوذره	۱۷۹/۲۳**	۱۷/۴۹**	۹۰/۴۲**	۱۸/۳۲**	۹۴/۱۰**	

* نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد، ** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد و ^{ns} نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن است.

مخرب نانوذرات اکسید روی در سویا، لوبیای گرگی، تره‌تیزک (Ma et al., 2013; Rao and) آبی و تلخه گزارش شده است

زمینی، گوآر، ارزن، نخود سبز، سوبابل و پنبه افزایش داده است. برهمکنش نانوذرات اکسید سیلیکون و کروم موجب افزایش سطوح رنگدانه‌ها در نخودفرنگی گردیده است (Venkatachalam et al., 2016b).

در پژوهش حاضر، بالاترین میزان فلاونوئید در رقم اردستانی در برهمکنش غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید و غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره مشاهده شد. پاسخ‌های آنتی‌اکسیداتیو در مقابل ROS به نوع نانوذره فلزی، گونه گیاهی و شرایط تیمار بستگی دارد. افزایش در محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها و فلاونوئید کارایی خوردنگی ROS و سپس تحمل *Brassica junca* را به شوری بهبود بخشیده است (Ahmad et al., 2017). در مطالعه حاضر، بیشترین میزان فنل در جمعیت اردستانی، در برهمکنش غلظت بالای شوری و غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره مشاهده شد. پرایمینگ دانه خردل با نانوذرات اکسید روی، به میزان زیادی رشد گیاهان در معرض تنش را تحریک کرده است که همراه با افزایش سطوح رنگدانه‌های فتوسنتزی و محتوای فنل است (Shukla et al., 2018). در مطالعه حاضر نشان داده شد که در جمعیت اردستانی، پایین‌ترین میزان IC_{50} و بنابراین بالاترین فعالیت مهار DPPH مربوط به اثر متقابل غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید و غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره است. کاربرد برگی نانوذرات اکسید روی و اکسید آهن به‌طور معنی‌داری آنتی‌اکسیدان‌های غیرآزمیمی را در گیاهچه‌های *Moringa* افزایش داده است (Soliman et al., 2015). در رقم مشهدی در گیاهانی که تحت تنش شوری بالا بودند، محلول‌پاشی با غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره موجب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) فعالیت مهار DPPH گردید. دانه‌های خردل پرایم‌شده با نانوذرات اکسید روی، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های غیرآزمیمی بالا در مقایسه با گیاهان تحت تنش شوری داشته‌اند. احتمالاً روی در بیوسنتز آنتی‌اکسیدان‌های آزمیمی و غیرآزمیمی نقش دارد. (Ahmad et al., 2017). نانوذرات نقره، رشد گیاهچه‌های *Brassica juncea* را به‌واسطه بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی آنها بهبود

(Shekawat, 2014). تیمار با غلظت‌های بالای نانوذرات اکسید روی موجب کاهش طول ریشه و بیوماس تربچه، خردل، نخود سبز، کدو، کاهو، ذرت، گندم، خیار و پیاز و همچنین کاهش فعالیت فتوسنتزی تاتوره شده است (Demiral and Turkan, 2005; Zuverza-Mena et al., 2016). تیمار با نانوذرات اکسید مس، اکسید روی و دی‌اکسید تیتانیوم موجب القا تنش اکسیداتیو، کاهش سطوح اکسین، کاهش رشد و کلروزیز برگ‌ی و درنتیجه کاهش وزن تر و خشک گندم و خردل چینی و ذرت گردیده است (Dimpkpa et al., 2012; Rao and Shekawat, 2014).

کلروفیل و کاروتنوئید از اجزا اصلی دستگاه فتوسنتزی گیاه هستند (Taibi et al., 2016). افزایش در محتوای کلروفیل و کاروتنوئید می‌تواند به‌عنوان شاخص تنش شوری شناخته شود و عنوان شده است که تنش شوری ملایم، تولید کلروفیل و کاروتنوئید را به‌منظور حفظ عملکرد مناسب سیستم فتوسنتزی افزایش می‌دهد. در حقیقت، نقش مفید کاروتنوئیدها به‌علت توانایی آن در اتصال به فتوسیستم I و II در زیر واحدهای مرکز واکنش است و در جذب انرژی نورانی اضافی استفاده شده در انتقال الکترون فتوسنتزی عمل می‌کنند. در پژوهش حاضر، ذخیره کاروتنوئیدها در اندام هوایی با افزایش غلظت شوری در جمعیت مشهدی گیاه شبلیله ممکن است ناشی از مسیر موالونیک اسید جهت تولید آبسزیک اسید باشد. در مقابل، کاهش القاشده توسط شوری در محتوای کاروتنوئیدها در لوبیا، ذرت و گندم مشاهده شده است و درنتیجه حفاظت توسط کاروتنوئیدها یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های تحمل به تنش شوری در گیاهان مذکور نبوده است (Taibi et al., 2016). غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم نانوذره اکسید روی، کلروفیل *b* را به‌صورت معنی‌دار ($P \leq 0.05$) در هر دو رقم افزایش داد. روی در برگ‌ها جهت سنتز کلروفیل مورد نیاز است. اما یون روی اضافی با اتصال به پروتئین‌ها موجب جابجایی سایر یون‌های فلزی از قبیل آهن از جایگاه اتصالی خودشان می‌شود (Pasandi pour et al., 2014). نانوذرات اکسید روی، سطح رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئید) را در بادام

بخشیده است (Sharma et al., 2012).

در مطالعه حاضر، غلظت ۲۲۵ میلی مولار سدیم کلرید، میزان فنل را به طور معنی داری ($P \leq 0.05$) در رقم مشهدی افزایش داد. Hirt و Apel در سال ۲۰۰۴ علت افزایش محتوای فنلی در گیاهان تحت تنش را چنین بیان نمودند که گروه های هیدروکسیل آزاد متصل به حلقه آروماتیک به وسیله جاروبگری رادیکال ها و سایر سازوکارها از قبیل فروکشی اکسیژن یکتایی و باندشدن یون های سمی، آسیب های اکسیداتیو ناشی از یون ها را کم کرده و به این ترتیب ساختارهای سیتوپلاسمی و کلروپلاستی را از اثر منفی شوری محافظت می کنند (افشار محمدیان و همکاران، ۱۳۹۴). ذخیره ترکیبات فنلی در گیاهان توسط تنش شوری ممکن است به گونه گیاهی بستگی داشته باشد. ترکیبات فنلی در کلم بروکلی و کاهو در پاسخ به تیمار شوری ذخیره نشده اند، در صورتی که تیمار سدیم کلرید محتوای فنل را در ذرت و فلفل قرمز و *Brugiera parviflora* افزایش داده است. (علت افزایش ترکیبات فنلی، افزایش فعالیت و میزان آنزیم بیوستزکننده فنل ها یعنی فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL) است (Lim et al., 2012; Parida and Das, 2004). در مقابل، تنش شوری موجب کاهش قابل توجه در محتوای فنل در مریم گلی گردیده است (Valifard et al., 2016).

فلاونوئیدهای آنتوسیانینی از مهم ترین ترکیبات آنتی اکسیدانی هستند. در این پژوهش کاهش معنی دار آنتوسیانین در اثر تنش شوری در رقم مشهدی مشاهده شد. کاهش در غلظت آنتوسیانین در تیمار با شوری در گیاه اسطوخودوس، شاهدانه و تربچه نیز گزارش شده است که در این گیاهان احتمالاً سنتز آنتوسیانین به دلیل دهیدراته شدن آنزیم ها مختل گردیده است (روحانی و همکاران، ۱۳۹۴؛ Valizadeh-Kamran et al., 2019). کاهش آنتوسیانین ها به هنگام تنش شوری ممکن است با گشودن پنجره در رسیدن مقادیر بیشتری از پرتوهای فعال فتوسنتزی به سلول های مزوفیل مؤثر باشد، زیرا بخش اعظم آنتوسیانین ها در لایه های سطحی مزوفیل و اپیدرم برگ ها انباشته می شوند (چاپارزاده و زرنندی میاندوآب، ۱۳۹۰). در

تحقیق حاضر، بیشترین میزان آنتوسیانین در رقم اردستانی مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذره و در رقم مشهدی در برهمکنش غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذره و غلظت بالای شوری است. نانوذرات نقره، بیشترین سطوح ذخیره آنتوسیانین را در گیاهچه های آراییدوپسیس القا کرده اند (Khan et al., 2016).

یکی از مکانیسم های مهم متأثرشده توسط تنش شوری در گیاهان، سنتز پروتئین است. شوری موجب تغییرات در بیان ژن و الگوی پروتئین در طی مراحل نمو گیاه می شود و محتوای پروتئین محلول، یک شاخص مهم در ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی گیاهان است. غلظت پایین شوری، سنتز پروتئین را در مراحل اولیه نمو ذرت، شبلیله و گوجه فرنگی القا کرده است، اما افزایش غلظت شوری منجر به کاهش در محتوای پروتئین در گیاهان مذکور شده است. کاهش در محتوای پروتئین به علت افزایش در فعالیت آنزیم پروتئاز و پراکسیداسیون پروتئین ها تحت تأثیر گونه های اکسیژن واکنش پذیر است (Pasandi pour et al., 2014). در مقابل، افزایش در محتوای پروتئین در آراییدوپسیس تالیانا، خردل و کولتیوار برنج متحمل به شوری در غلظت های بالای شوری گزارش شده است که در توافق با افزایش معنی دار پروتئین در غلظت های بالای شوری در رقم مشهدی شبلیله در پژوهش حاضر است. براساس گزارشات، تنش شوری قادر است میزان پروتئین های محلول را در لگوم ها براساس درجه تحمل به تنش شوری افزایش یا کاهش دهد (Pasandi pour et al., 2014; Siddiqui et al., 2015). عنصر روی به عنوان پایدارکننده پروتئین ها، غشاها و پروتئین های متصل شونده به DNA و جز ساختاری آنزیم ها است (Shukla et al., 2018; Soliman et al., 2015). حضور نانوذرات در سلول های گیاهی مشابه رفتار یون های فلزی با گروه های سولفیدریل و کربوکسیل بوده و در نتیجه، محتوای پروتئین را تحت تأثیر قرار می دهد (Shukla et al., 2016a; Venkatachalam et al., 2018). کاربرد روی، آسیب ایجادشده توسط تنش شوری را به میزان قابل ملاحظه ای به علت اثرات مثبت عنصر روی بر بهبود جذب و

آهن در جایگاه‌های اتصالی می‌شود و در نتیجه سمیت ایجاد می‌کند (Pasandi pour et al., 2014)

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق به‌طور کلی نشان‌دهنده پاسخ‌های متفاوت شبلیله به تنش شوری در غلظت‌های مختلف سدیم کلرید است که به نوع رقم نیز بستگی دارد. در این مطالعه، حضور نانوذره روی در اغلب موارد اثرات منفی تنش شوری بر ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه شبلیله را تعدیل نموده است که این موضوع به نوع رقم و غلظت نانوذره بستگی کامل دارد. ارزیابی کلی این تحقیق نشان‌دهنده این است که رقم اردستانی دارای مقاومت بیشتری نسبت به تنش شوری و سمیت غلظت بالای نانوذرات است و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره دارای تأثیر بیشتری بر مقاومت به تنش شوری در هر دو رقم است.

کده‌بندی عناصر تغذیه‌ای مهم، افزایش تولید اکسین و در نتیجه فعال‌کردن تقسیم و توسعه سلولی، حفظ تمامیت غشا، ذخیره فسفولیپیدها، بهبود سنتز پروتئین، جاروب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و محدودکردن جذب سدیم و کلر کاهش می‌دهد (Ahmad et al., 2017). نانوذرات اکسید روی سبب بهبود عمده در سنتز پروتئین در گوار می‌شود (Siddiqui et al., 2015). تیمار با نانوذرات اکسید روی موجب کاهش پروتئین کل در یونجه می‌شود، اما کاهش مذکور از نظر آماری معنی‌دار نیست. در پژوهش دیگری، تیمارهای یونی کاهش معنی‌دار در محتوای پروتئین در تیمار با کلرید روی در یونجه ایجاد کرده است (Bandyopadhyay et al., 2015). در مطالعه حاضر، در اثر متقابل نانوذره اکسید روی و غلظت‌های بالای شوری در رقم مشهدی، کاهش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) در محتوای پروتئین کل مشاهده شد. احتمالاً یون روی اضافی هنگامی که به پروتئین‌ها متصل می‌شود، جانشین سایر یون‌های فلزی از قبیل

منابع

- افشار محمدیان، م.، ابراهیمی نوکنده، س. و جمال امید، م. (۱۳۹۴) اثر سطوح مختلف شوری بر برخی آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی سه رقم بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.). فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی ۲۴: ۷۵-۵۱.
- چاپارزاده، ن. و زرنندی میاندوآب، ل. (۱۳۹۰) اثر شوری بر محتوای رنگدانه‌ها و رشد دو رقم گیاه کلزا (*Brassica napus*). زیست شناسی گیاهی ۹: ۲۶-۱۳.
- روحانی، س. ن.، سید حسین نعمتی، س. ن.، محمد مقدم، م. و اردکانیان، و. (۱۳۹۵) اثر تنش شوری بر خصوصیات فیزیولوژیک و چگونگی جذب عناصر سدیم و پتاسیم در اندام هوایی و غده سه رقم تربچه. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۲۷: ۱۷۸-۱۶۹.
- Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., Egamberdieva, D., Bhardwaj, R. and Ashraf, M. (2017) Zinc application mitigates the adverse effects of NaCl stress on mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern and Coss] through modulating compatible organic solutes, antioxidant enzymes, and flavonoid content. *Journal of Plant Interactions* 12: 429-437.
- Ashraf, M. Y., Iqbal, N., Ashraf, M. and Akhter, J. (2014) Modulation of physiological and biochemical metabolites in salt stressed rice by foliar application of zinc. *Journal of Plant Nutrition* 37: 447-457.
- Bandyopadhyay, S., Plascencia-Villa, G., Mukherjee, A., Rico, C. M., Jose-Yacaman, M., Peralta-Videa, J. R. and Gardea-Torresdey, J. L. (2015) Comparative phytotoxicity of ZnO NPs, bulk ZnO, and ionic zinc onto the alfalfa plants symbiotically associated with in soil. *Science of the Total Environment* 516: 60-69.
- 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: 248-254.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10: 178-182.
- Demiral, T. and Turkan, I. (2005) Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 53: 247-257.
- Dimpkpa, C. O., McLean, J. E., Latta, D. E., Manangon, E., Britt, D. W., Johnson, W. P., Boyanov, M. I. and Anderson, A. J. (2012) CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. *Journal of Nanoparticle Research* 14: 1-15.

- Hatamian, M. and Salehi, H. (2017) Physiological characteristics of two rose cultivars (*Rosa hybrida* L.) under different levels of shading in greenhouse conditions. *Journal of Ornamental Plants* 7: 147-155.
- Khan, M. N., Mobin, M., Abbas, Z. K., AlMutairi, K. A. and Siddiqui, Z. H. (2016) Role of nanomaterials in plants under challenging environments. *Plant Physiology and Biochemistry* 110: 194-209.
- Lee, M. H., Cho, E. J., Wi, S. G., Bae, H., Kim, J. E., Cho, J. Y., Lee, S., Kim, J. H. and Chung, B. Y. (2013) Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 70: 325-335.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Lim, J. H., Park, K. J., Kim, B. K., Jeong, J. W. and Kim, H. J. (2012) Effect of salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprout. *Food Chemistry* 135: 1065-1070.
- Ma, H., Williams, P. L. and Diamond, S. A. (2013) Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles. A review. *Environmental Pollution* 172: 76-85.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2004) Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Pasandi Pour, A., Farahbakhsh, H. and Saffari, M. (2014) Response of fenugreek to short-term salinity stress in relation to lipid peroxidation, antioxidant activity and protein content. *Ethno-Pharmaceutical Products* 1: 45-52.
- Plessi, M., Bertelli, D. and Albasini, A. (2007) Distribution of metals and phenolic compounds as a criterion to evaluate variety of berries and related jams. *Food Chemistry* 100: 419-427.
- Rao, S. and Shekhawat, G. S. (2014) Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2: 105-114.
- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K. and Arora, S. (2012) Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 167: 2225-2233.
- Shukla, P. K., Shukla, S., Rajoriya, P. and Misra, P. (2018) Enhancing crop productivity in saline environment using nanobiotechnology. Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2: 289-302.
- Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Firoz, M. and Al-Khaishany, M. Y. (2015) Role of nanoparticles in plants. In: *Nanotechnology and Plant Sciences: Nanoparticles and their Impact on Plants*. (eds. Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H. and Firoz, M.) Pp. 19-35. Springer International Publishing, Switzerland.
- Soliman, A. S., EL-feky, S. A. and Darwish, E. (2015) Alleviation of salt stress on *Moringa peregrina* using foliar application of nanofertilizers. *Journal of Horticulture and Forestry* 7: 36-47.
- Taibi, K., Taibi, F., Abderrahim, L. A., Ennajah, A., Belkhodja, M. and Mulet, J. M. (2016) Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany* 105: 306-312.
- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A. and Sokmen, A. (2006) Screening of the antioxidant potentials of six salvia species from Turkey. *Food Chemistry* 95: 200-204.
- Torabian, S., Zahedi, M. and Khoshgoftar, A. H. (2015) Effects of foliar spray of two kinds of zinc oxide on the growth and ion concentration of sunflower cultivars under salt stress. *Journal of Plant Nutrition* 39: 172-180.
- Valifard, M., Mohsenzadeh, S. and Kholdebarin, B. (2016) Salinity effects on phenolic content and antioxidant activity of *Salvia macrosiphon*. *Iranian Journal of Science and Technology* 41: 295-300.
- Valizadeh-Kamran, R., Mehrabani, L. V. and Pessarakli, M. (2019) Effects of foliar application of methanol on some physiological characteristics of *Lavandula stoechas* L. under NaCl salinity conditions. *Journal of Plant Nutrition* 42: 1-9.
- Venkatachalam, P., Jayaraj, M., Manikandan, R., Geethaa, N., Reneb, E. R., Sharma, N. C. and Sahi, S. V. (2016a) Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) alleviate heavy metal-induced toxicity in *Leucaena leucocephala* seedlings: A physiochemical analysis. *Plant Physiology and Biochemistry* 110: 59-69.
- Venkatachalam, P., Priyanka, N., Manikandan, K., Ganeshbabu, I., Indiraarulsely, P., Geethaa, N., Muralikrishna, K., Bhattacharyab, R. C., Tiwari, M., Sharma, N. and Sahi, S. V. (2016b) Enhanced plant growth promoting role of phycocomolecules coated zinc oxide nanoparticles with P supplementation in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry* 110: 118-127.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Zuverza-Mena, N., Martinez-Fernandez, D., Du, W., Hernandez-Viezcas, J. A., Bonilla-Bird, N., Lopez-Moreno, M. L., Komarek, M., Peralta-Videa, J. R. and Gardea-Torresdey, J. L. (2016) Exposure of engineered nanomaterials to plants: Insights into the physiological and biochemical responses. A review. *Plant Physiology and Biochemistry* 110: 236-264.

An investigation of the application of ZnO nanoparticle on morphological and physiological parameters of two cultivars of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) under salinity stress

Zahra Noohpisheh¹, Hamzeh Amiri^{1*}, Abdelnaser Mohammadi gholami¹, Saeed Farhadi²

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Lorestan University, Khorram abad, Iran

² Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran

(Received: 18/05/2019, Accepted: 20/08/2019)

Abstract

Salinity stress is one of the environmental factors that limits plant growth and development and has negative effects on morphological and physiological parameters of plants. Therefore, various compounds have been used to reduce the harmful effects of this stress. According to previous studies, metal nanoparticles have both negative and positive effects on different plant species. The aim of this study was to investigate interaction effects of different concentrations of ZnO nanoparticle and NaCl on morphological parameters, photosynthetic pigments and protein content in Ardestanian and Mashhadian cultivar of Fenugreek. Factorial experiment was performed in a completely randomized design with three replications and three levels of ZnO nanoparticle (0, 1000 and 3000 ppm) and four levels of NaCl (0, 75, 150 and 225 mM) were used. The results showed that salinity stress significantly decreased shoot and root fresh weight, as well as the percentage of relative root water content at 225 mM NaCl in both cultivars. The highest fresh weight of shoot in Mashhadian cultivar was observed in the interaction of 75 mM NaCl and 1000 ppm of ZnO nanoparticle. In general, ZnO nanoparticles improved fresh and dry weight in both cultivars. In Ardestanian cultivar, the highest amount of phenol was observed in the concentration of 3000 ppm of nanoparticle and 225 mM NaCl, also, the highest flavonoid content was observed in the interaction of 3000 ppm of nanoparticle and 150 mM NaCl. The highest photosynthetic pigments were observed at interaction of 75 mM NaCl and 3000 ppm of nanoparticle in two cultivars. Also, Increasing the concentration of nanoparticle led to a significant increase in carotenoids in both cultivars. The most antioxidant activity based on IC₅₀ was in Mashhadian cultivar and in the interaction of 225 mM NaCl and 3000 ppm of nanoparticle. The results of this study showed that the application of ZnO nanoparticle under salt stress improved plant growth.

Keywords: Morphological parameters, Nonenzymatic antioxidants, Photosynthetic pigments, Salinity stress, ZnO nanoparticle