

## اثر شوری و نانو نقره بر پارامترهای رشد و خصوصیات بیوشیمیایی بنه زعفران تیمار شده در شرایط غوطه ور

آزاده کریمی جعفری<sup>۱</sup>، منیر حسین زاده نمین<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۷

تاریخ تصویب: ۹۴/۱۲/۱۱

### چکیده

زعفران (*Crocus sativus*) گیاهی است از تیره زنبقیان که از نظر دارویی و غذایی با ارزش می باشد. تنش شوری یکی از عوامل محدود کننده رشد زعفران می باشد. نانو نقره اثرات زیادی دارد در گیرنده های اتیلن گیاهان، فعالیت کلروفیلانز و DNA دارد، همچنین باعث کاهش اثرات تنش در گیاهان می شود. اثرات نانو نقره با غلظت ۴۰ ppm و تنش شوری ۱۰۰ mM NaCl بر روی ویژگی های فیزیولوژی و بیوشیمیایی بنه زعفران در مقایسه با شاهد (آب مقطر) تحت شرایط گلخانه ای مطالعه شد. نتایج نشان داد تعداد ریشه های افشان و میزان پرولین در تنش شوری

۱ کارشناس ارشد، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)

۲ استادیار، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س) (نویسنده مسئول monirhosseinzade@yahoo.com)

همراه با نانو نقره و تنش شوری بدون نانو نقره افزایش می یابد ولی میزان قندهای محلول کاهش معنی داری در حد ( $P \leq 0.05$ ) نسبت به شاهد داشت. طول ریشه افشان و میزان کارتنوئیدها در تیمار نانو نقره همراه با شوری کاهش ولی وزن خشک بنه دختری افزایش معنی داری در حد ( $P \leq 0.05$ ) نسبت به شاهد یافت. نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر نشان می دهد نانو نقره مقاومت گیاه در مقابل تنش شوری را افزایش می دهد.

**واژه های کلیدی:** زعفران، نانو نقره، شوری، پرولین، قندهای محلول.

#### مقدمه

یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده رشد گیاهان زراعی محسوب می شود و به عنوان مشکل بزرگ کشاورزی امروزه در منابع گزارش شده است (Rajaei et al., 2009). کشاورزان استان خراسان به طور عمده از آب شیرین برای آبیاری زعفران استفاده می کنند، اما به تازگی خشکسالی، کمبود آب و گسترش کشت زعفران در سرزمین های شور باعث استفاده از منابع آب شور برای آبیاری زعفران شده است (Avarseji et al., 2013).

به دلیل خسارت شدید تنش شوری بر رشد و نمو گیاهان، تلاش قابل توجهی در بررسی فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برای کمک در جهت سازگاری گیاهان به تنش انجام شده است. برخی از این فرایندها شامل تنظیمات اسمزی توسط تجمع مواد محلول سازگار مانند پرولین و یا ساکارید های محلول، افزایش سنتز آنتی اکسیدانها جهت جاروب کردن

زعفران (*Crocus sativus L.*) گیاهی از تیره زنبقیان (Iridaceae) است که بوسیله بنه (corm) تکثیر می گردد. کاشت زعفران در ایران قدمتی ۳۵۰۰ ساله دارد (Saxena, 2010). کلالة های خشک شده گل زعفران ادویه بسیار گران قیمت به شمار می رود که از دیرباز به خاطر بو، رنگ، طعم و ویژگی های درمانی بسیار حائز اهمیت بوده است. زعفران علاوه بر استفاده بصورت ادویه، امروزه در زمینه پزشکی به عنوان آنتی اکسیدان، ضد سرطان، آرام بخش و درمان افسردگی مورد استفاده قرار می گیرد (Khare, 2004; Bhargava, 2011).

بنه بخشی از زعفران است که در خاک مستقر می باشد بنابراین کلیه تغییراتی که در خاک رخ می دهد می تواند بر عملکرد و ساختار آن تاثیر بگذارد. شوری خاک

شوری کاهش و مقاومت روزنه ای افزایش می یابد. یکی از اثرات شوری در گیاه کاهش فعالیت فتوسنتزی می باشد که ناشی از کاهش محتوای کلروفیل، کاهش جذب CO<sub>2</sub> و ظرفیت فتوسنتزی است (جوادی پور و همکاران، ۱۳۹۲).

بررسی رنگیزه ها در گیاه ذرت تیمار شده نشان می دهد که کاهش مقدار کلروفیل a در طی تیمار شوری دلیل عمده کاهش ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II بوده است. مقدار کلروفیل a در مراکز واکنش، یکی از عوامل تعیین کننده کارایی عملی یا ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II است (Oxborough, 2004).

فلورسانس کلروفیل به عنوان یک معیار سنجش برای اندازه گیری تأثیر تنش های محیطی پیشنهاد شده است (Moffatt et al., 1990). مقدار فلورسانس کلروفیل، سالم بودن غشای تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I را نشان می دهد. وقتی ملکول های کینون در وضعیت کاملاً اکسیده شده هستند سیستم دارای کمترین فلورسانس (F<sub>0</sub>) است که بتدریج با افزایش احیا شدن این مولکول، فلورسانس افزایش می یابد. این روند تا احیای کامل مولکول های کینون ادامه پیدا می کند. در چنین حالتی مرکز فتوسیستم II در حالت احیای کامل بوده دارای بیشترین فلورسانس (F<sub>m</sub>) است (ممنوعی و همکاران، ۱۳۸۹). کارایی

گونه های فعال اکسیژن (ROS) و تغییرات در مکانیسم تنظیمی برای انتقال یون است (Rajaei et al., 2009). در شرایط تنش ترکیباتی اسمزی ساخته می شوند که در حفظ فعالیت سوخت و ساز بافت ها نقش دارد. این پاسخ در نهایت منجر به ترمیم، هموستازی سلولی، سم زدایی و بقا تحت تنش خواهد شد (Rajaei et al., 2009).

گیاهان وقتی در شرایط تنش از جمله تنش شوری قرار می گیرد گونه های اکسیژن واکنشگر (نظیر سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و هیدروکسیل) تولید می کند که این گونه های اکسیژن واکنشگر باعث تخریب کلروفیل و پراکسیداسیون لیپید های غشاء می شوند (Mittler, 2002). پراکسیداسیون لیپید ها منجر به تولید مالون دآلدئید (MDA) می شود که محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید می باشد (Yasar et al., 2007). مالون دآلدئید تولید شده می تواند به آنزیم ها و غشاء های گیاهی آسیب رساند، باعث افزایش نشت الکتروولیت ها شود و به همین سبب به عنوان یک شاخص زیستی برای تخمین میزان آسیب دیدگی غشاء تحت تنش در نظر گرفته می شود (Zhou and Leul, 1999; Miller et al., 2010).

فتوسنتز تعیین کننده اصلی رشد و عملکرد گیاهان است و توانایی حفظ آن در شرایط تنش های محیطی برای حفظ ثبات عملکرد مهم است. کل محتوای کلروفیل تحت تیمار

با استفاده از محلول پاشی نانو ذرات نقره بر روی زعفران می توان اثرات نامطلوب تنش غرقابی بر رشد را کاهش داد (So-rooshzadeh et al., 2012).

رجائی و همکاران (۲۰۰۹) بر روی تنش شوری در گیاه زعفران کار کردند و گزارش دادند که شوری باعث کاهش رشد و افزایش محتوای پرولین و یون سدیم در تمامی اندام ها می شود. محتوای پروتئین کل در بنه ها و ریشه های انقباضی افزایش اما در ریشه های فیبری کاهش می یابد. در سال ۲۰۱۲ Soroshzadeh و همکاران گزارش دادند در شرایط غرقابی، محلول پاشی نانو نقره (۵۰ ppm یا ۱۰۰) باعث افزایش در ارتفاع بوته و تعداد بنه های زعفران می شود. بنابراین برخی از اثرات تنش غرقابی بر رشد زعفران ممکن است توسط نانو نقره تعدیل شود.

### مواد و روش ها

تهیه نمونه: بنه های زعفران در شهریور ماه (مرحله خواب بنه) از قائن تهیه گردید و به آزمایشگاه آورده شد.

تیمار با نانو نقره به طریقه غوطه ور: گلدان ها به چهار دسته ی شاهد، تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl، تیمار نانو نقره ۴۰ ppm و تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl توام با نانو نقره ۴۰ ppm تقسیم شدند. بنه های مربوط به تیمار نانو نقره ۴۰ ppm و تیمار شوری ۱۰۰

فتوشیمیایی فتوسیستم II به صورت نسبت  $(Fv/Fm)$  نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس ماکزیمم) بیان می-شود. معمولا نسبت  $Fv / Fm$ ، به عنوان حداکثر عملکرد کوانتومی برای فتوسنتز اولیه یا حداکثر انتقال الکترون در فتوسیستم II شناخته شده است. بنابراین، تنش های محیطی با تأثیر بر فتوسیستم II باعث کاهش این نسبت می شوند (Latrach et al., 1995)(Ma et al., 2014).

از ترکیبات اسمزی، قند ها تا ۵۰٪ به پتانسیل اسمزی کل در شرایط تنش کمک می کنند (Ashraf and Harris, 2004). در زعفران، تعداد گلها که تعیین کننده عملکرد گیاه است، تحت تأثیر اندازه بنه هایی است که در سال قبل بوجود آمده اند. تعداد و وزن بنه ها و میزان ذخیره قند در آنها متاثر از میزان فعالیت فتوسنتزی برگ ها در سال قبل در بنه است. بنابر این هر عاملی که میزان فتوسنتز را کاهش دهد ذخائر قند در بنه ها را نیز کاهش خواهد داد و بر گلدهی در سال بعد اثر منفی خواهد گذاشت (Gholami et al., 2005). به تازگی، نانوذرات نقره در کشاورزی در گسترش نگهداری از برگ مارچوبه (از ۲ تا ۲۱ روز) و افزایش آسکوربات، کلروفیل، و درصد فیبر برگ و کاهش ریزش دانه در گل گاوزبان استفاده شده است. اثر اتیلن را می توان با استفاده از برخی از ترکیبات مانند یونهای نقره سرکوب کرد. همچنین

روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) ۲/۰ گرم از برگهای تر گیاه در هاون چینی محتوی استن ۸۰ درصد سائیده شد و سپس با استن ۸۰ درصد به حجم ۸ ml رسانده شد. به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتزیفیوژ (Fixette II) گردید و سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موجهای ۸/۶۴۶، ۲/۶۶۳ nm و ۴۷۰ خوانده شد. مقدار رنگیزه ها بر اساس فرمول های زیر محاسبه گردید:

$$\text{Chl a} = (12/25A_{663/2} - 2/79A_{646/8})(v/1000w)$$

$$\text{Chl b} = (12/21A_{646/8} - 5/1A_{663/2})(v/1000w)$$

$$\text{Chl T} = \text{chl a} + \text{chl b}$$

$$C = (1000A_{770} - 1/8chl a - 85/0.2chl b)/198$$

اندازه گیری فلورسانس کلروفیل: برای اندازه گیری پارامتر های Fo ، Fm و Fv/Fm گیره های دستگاه اندازه گیری فلورسانس (PAM ۲۵۰۰ کلروفیل) به برگ های گیاهان تیمار شده وصل شد و پارامتر های نمایش داده شده بر روی سیستم یادداشت گردید (Maxwell, 2000).

**سنجش پراکسیداسیون لیپید:**

بافت تر (۱ rg) در ۵ml محلول تری کلرو استیک اسید ۰/۱٪ (TCA) ساییده و با دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتزیفیوژ (spectrafuge مدل D۲۴) شد. ۱ ml محلول روشنآور با ۴ ml تری کلرواستیک اسید (T-) ۲۰٪ (CA) که حاوی ۵/۰٪ تیوباربیتوریک اسید (TBA) است مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ °C حمام آب گرم

میلی مولار NaCl توام با نانو نقره ppm ۴۰ قبل از کشت به مدت ۹۰ دقیقه در نانو نقره ppm ۴۰ غوطه ور گردیدند و سپس در گلدانها کاشته شدند. برای اعمال تنش شوری از NaCl در غلظت ۱۰۰ میلی مولار استفاده شد و همراه با آبیاری به گلدان ها داده شد. یک ماه بعد، تیمار دوم با استفاده از سرنگ ۱۰ ml نانو نقره ppm ۴۰ به اطراف بنه های قبلی تیمار نانو نقره ppm ۴۰ و تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl توام با نانو نقره ppm ۴۰ تزریق شد و تیمار شوری نیز همراه با آبیاری به گلدان ها داده شد.

اندازه گیری پارامتر های رشد: تعداد و طول ریشه و برگ و نیز تعداد و وزن خشک بنه های دختری اندازه گیری شد. سنجش پرولین: میزان پرولین بر طبق (Bates et al, ۱۹۷۳) انجام شد. به اختصار ۵/۰ gr ماده تر نمونه را با ۱۰ سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ ساییده و با دور ۳۵۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتزیفیوژ (Fixette II) گردید. ۲ ml از روشنآور با ۲ ml محلول نین هیدرین و ۲ ml استیک اسید گلاسیال مخلوط شد. به مدت یک ساعت لوله ها در بن ماری با دمای ۱۰۰ °C قرار داده شد و سپس به حمام یخ انتقال یافت. به مخلوط ۴ ml تولوئن اضافه و وردتکس شد. جذب محلول روشنآور در ۵۲۰ nm خوانده شد.

سنجش رنگیزه های فتوسنتزی: بر طبق

۱ ml فنل ۵٪ و ۵ml سولفوریک اسید غلیظ جذب آنها در طول موج ۴۸۵nm بعد از ۳۰ دقیقه خوانده شد (Dubois, 1956).  
آنالیز آماری: برای آنالیزهای آماری از نرم افزار SPSS (Version 19) استفاده گردید. این آنالیزها از طریق ANOVA یک طرفه و آزمون Duncan در سطح ( $P \leq 0.05$ ) انجام شد.

### نتایج

بعد از گذشت سه ماه از اولین تیمار، بنه های تیمار دیده همراه با برگها برداشت شدند و جهت انجام آزمایشات مربوطه به آزمایشگاه منتقل شدند. در بنه های تیمار با نانو نقره پس از برداشت، آفت مشاهده شد. بنه ها دچار کپک و خمیری شکل شده بودند و احتمال اینکه آلودگی قارچ ریزوکتونیا باشند بود. در نتیجه از آنها برای انجام آزمایشات استفاده نشد.

### بررسی پارامترهای رشد

میانگین تعداد و طول برگ: میانگین تعداد و طول برگ به ترتیب در تنش شوری ۱۰۰ mM (عدد ۹/۱۲<sup>a</sup> و ۱۶/۸۵<sup>a</sup>cm) و تیمار با نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری ۱۰۰ mM (عدد ۸/۷۵<sup>a</sup> و ۱۶/۲<sup>a</sup>cm) نسبت به شاهد (عدد ۹/۳۹<sup>a</sup> و ۱۷/۸۲<sup>a</sup>cm) کاهش معنی داری نشان نداد (جدول ۱).  
میزان طول ریشه افشان: در تنش شوری (۴/۲۲<sup>a</sup>cm) و در تیمار نانو نقره ppm

قرار گرفت و سپس بلافاصله به یخ انتقال یافت تا به دمای محیط برسد. سپس با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جذب روشناور در ۵۳۲ nm اندازه گرفته شد. جذب بقیه رنگیزه های غیراختصاصی در ۶۰۰ nm خوانده شد و بر طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Heath and Packer, 1968).

$$A = \epsilon cl \quad A = OD_{532} - OD_{600}$$

ضریب خاموشی  $\epsilon = 155 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ، قطر کوت  $l = 1 \text{ cm}$ ، غلظت MDA بر حسب میکرومول در گرم وزن تر (c).

استخراج قند های محلول: بیافت خشک (gr) (۰۵/۰) را با ۰/۵ ml اتانول ۸۰٪ به مدت ۵۰ ثانیه ورتکس و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۷۰۰۰ rpm سانتریفیوژ (spectrafuge مدل D۲۴) گردید. روشناورهای حاصل به شیشه ساعت منتقل شد. این عمل چهار بار تکرار شد. پس از تبخیر شدن اتانول شیشه ساعت ها به رسوب حاصل طی مراحل سولفات روی ۵٪ و هیدروکسید باریم ۳/۰ N اضافه گردید و با دور rpm ۳۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و روشناور ها برای انجام آزمایشات بعدی جمع آوری شد. (Dubois, 1956).

سنجش قند های محلول: ۰/۵ ml از عصاره های بدست آمده مرحله قبل با ۱/۵ ml آب مقطر مخلوط شد و بعد از اضافه کردن

۴۰ به همراه شوری ( $3/37^b$  cm) میزان طول ریشه افشان نسبت به شاهد ( $4/83^a$  cm) کاهش یافت که در تیمار اخیر معنی دار بود. تعداد ریشه های انقباضی: تعداد ریشه های انقباضی در تنش شوری ( $4^b$ ) و در تیمار نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری ( $3^b$ ) افزایش معنی داری در سطح ( $P \leq 0.05$ ) نسبت به شاهد ( $1^a$ ) داشت (جدول ۱). تعداد بانه های دختر: تعداد بانه ها در تنش شوری ( $4/87^a$ ) و تیمار با نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری ( $4/95^a$ ) نسبت به شاهد ( $4/79^a$ ) افزایش مشاهده شد که معنی دار نبود (جدول ۱).

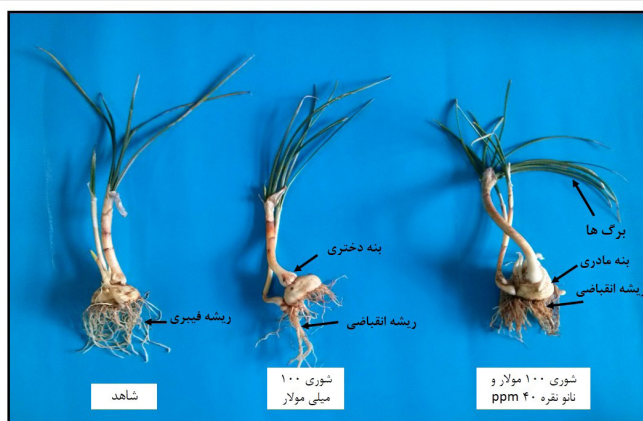
وزن خشک بانه دختر: وزن خشک بانه دختر در تیمار با نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری ( $2/29^c$  g) نسبت به شاهد ( $2/21^a$  g) افزایش یافت که در سطح ( $P \leq 0.05$ ) معنی دار بود (جدول ۱).

جدول ۱: تاثیر غلظت های مختلف نانونقره و NaCl بر میانگین طول برگ و ریشه، تعداد برگ های سبز، بانه دختر، ریشه های انقباضی و وزن خشک بانه دختر

پارامترهای رشد	طول برگ (سانتی متر)	طول ریشه (سانتی متر)	تعداد برگ های سبز	تعداد ریشه های انقباضی	وزن خشک بانه های دختر (گرم)	تعداد بانه های دختر
شاهد	$\pm 5/11^a 0.5/0.6$	$\pm 1/4^a 3.8/1.3$	$\pm 3/9^a 2.9/3.7$	$\pm 1^a$	$2.21 \pm 0.1$	$\pm 1/4^a 4.7/7.9$
تیمار $NaCl$ mM ۱۰۰	$\pm 5/11^a 1.6^a/0.4$	$\pm 1/4^a 2.1/2.2$	$\pm 3/9^a 1.8/1.2$	$\pm 1^b$	$2^b 1.3 \pm 0.09$	$\pm 1/4^a 5.1/1.7$
تیمار $NaCl$ mM ۱۰۰ و نانونقره ۴۰ ppm	$\pm 4/16^a 5.4/2.0$	$\pm 1/3^b 0.3/3.7$	$\pm 4/1^a 4.1/7.5$	$\pm 3^b 1$	$2.629 \pm 0.5$	$\pm 1/4^a 4.2/9.5$

• حروف مشابه به معنای عدم اختلاف معنی دار و حروف متفاوت به معنای اختلاف معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد.





شکل ۱: مورفولوژی گیاه زعفران دو ماهه در نمونه های شاهد، تیمار شوری  $100 \text{ mM NaCl}$ ، نانو نقره  $40 \text{ ppm}$  همراه با شوری  $100 \text{ mM NaCl}$  (به ترتیب از چپ به راست).

### فلورسانس کلروفیل: در تیمار با شوری

$100 \text{ mM}$  و تیمار با نانو نقره  $40 \text{ ppm}$  مقادیر  $(Fv/Fm)$  افزایش اندکی مشاهده همراه با شوری  $100 \text{ mM NaCl}$  در شد که معنی دار نبود (جدول ۲).

### جدول ۲: مقایسه مقادیر پارامترهای $f_v/f_m$ ، $f_o$ و $f_m$ در برگ های تیمار داده شده

پارامترهای فلورسانس کلروفیل	$F_o$	$F_m$	$f_v/f_m$
نمونه ها			
شاهد	$0.073$	$0.191$	$0.557$
تیمار $100 \text{ mM NaCl}$	$0.129$	$0.435$	$0.685$
تیمار $100 \text{ mM NaCl}$ و نانو نقره $40 \text{ ppm}$	$0.083$	$0.265$	$0.623$

• حروف مشابه به معنای عدم اختلاف معنی دار و حروف متفاوت به معنای اختلاف معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد.

محتوای پروکلین: محتوای پروکلین در تنش شوری ( $0.0086^a \text{ mg/g(FW)}$ ) و تیمار با نانو نقره  $40 \text{ ppm}$  همراه با شوری ( $0.0104^a \text{ mg/g(FW)}$ ) نسبت به شاهد ( $0.0083^a \text{ mg/g(FW)}$ ) افزایش مشاهده شد. افزایش در تیمار نانو نقره همراه با شوری نسبت به شاهد اختلاف در سطح  $(P \leq 0.05)$  معنی دار بود (شکل ۲، الف). رنگیزه های فتوسنتزی: میزان کلروفیل  $b$  در تنش شوری ( $1.92^a \text{ mg/g(FW)}$ ) و در تیمار شوری با نانو نقره  $40 \text{ ppm}$  ( $4.62^a \text{ mg/g(FW)}$ ) نسبت به شاهد ( $0.6^a \text{ mg/g(FW)}$ ) افزایش یافتند که معنی دار نبودند. کلروفیل  $a$  در تنش شوری ( $25/52^a$ )



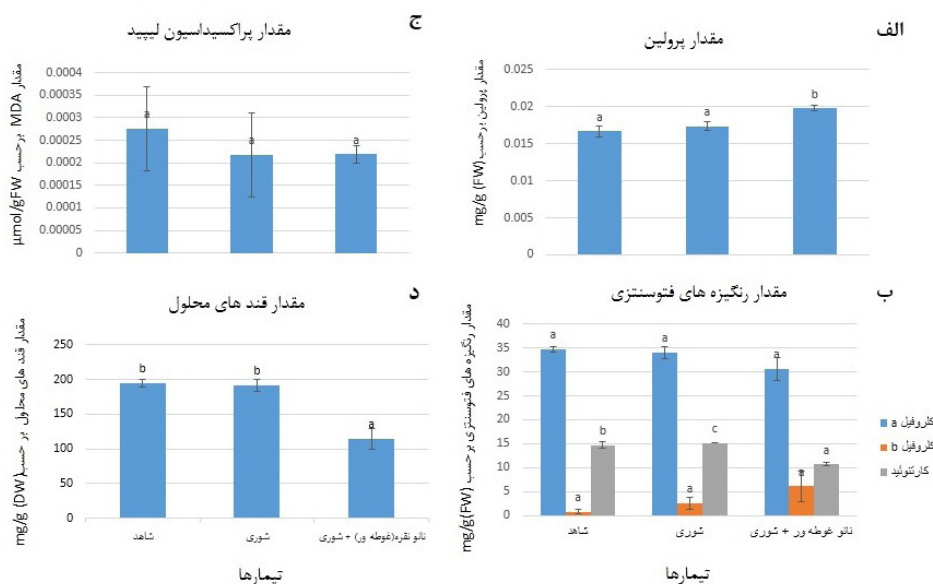
( $0.000217^a \mu\text{mol/g(FW)}$ ) و تیمار با نانو نقره ( $0.000219^a \mu\text{mol/g(FW)}$ ) همراه با شوری ( $0.000275^a \mu\text{mol/g(FW)}$ ) نسبت به شاهد ( $0.000275^a \mu\text{mol/g(FW)}$ ) کمی کاهش داشت که معنی دار نبودند (شکل ۲. ج).

**قندها:** میزان قند های محلول در تنش شوری ( $191/3^b \text{ mg/g(DW)}$ ) و در تیمار با نانو نقره همراه با شوری ( $114/2^a \text{ mg/g(DW)}$ ) نسبت به شاهد ( $195/1^b \text{ mg/g(DW)}$ ) کاهش یافت و در سطح ( $P \leq 0.05$ ) معنی دار بود (شکل ۲. د).

( $\text{mg/g(FW)}$ ) و در تیمار شوری با نانو نقره ( $22/94^a \text{ mg/g(FW)}$ ) نسبت به شاهد ( $26/05^a \text{ mg/g(FW)}$ ) کاهش یافت که معنی دار نبود. میزان کارتنوئیدها در تنش شوری ( $15/8^c \text{ mg/g(FW)}$ ) افزایش و در تنش نانو نقره همراه با شوری ( $8/18^a \text{ mg/g(FW)}$ ) نسبت به شاهد ( $12/04^b \text{ mg/g(FW)}$ ) کاهش یافت که در سطح ( $P \leq 0.05$ ) معنی دار بودند (شکل ۲. ب).

### پراکسیداسیون لیپیدها (MDA):

میزان مالون دآلدئید در تنش شوری



شکل ۲: نمودار تغییرات الف: پروتئین، ب: مقدار رنگیزه های فتوسنتزی، ج: MDA و د: قند های محلول در بنه های تیمار داده شده در شوری ( $100 \text{ mM NaCl}$ ) و نانو نقره  $40 \text{ ppm}$  همراه با شوری ( $100 \text{ mM NaCl}$ )

**بحث**

پارامتر های رشد: نتایج Naghizadeh و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد با افزایش تنش شوری، تعداد برگ، وزن خشک بنه و اندام هوایی گیاه زعفران به طور معنی داری کاهش می یابد که نتایج حاضر را تایید می کند. بر طبق گزارشات Rezvani و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند طول برگ های زعفران در تیمار با نانو نقره ۴۰ ppm کاهش یافت ولی در تیمار با نانو نقره ۸۰، ۴۰ ppm و ۱۲۰ همراه با تنش غرقابی افزایش مشاهده شد که نتایج کسب شده با نتایج تیمار ۴۰ ppm آزمایش حاضر مطابقت داشت.

در سال ۲۰۱۳ Attar و همکاران گزارش دادند که با افزایش غلظت NaCl و KCl از میزان طول ریشه های افشان در بنه های زعفران کاسته می شود. در نتایج حاضر نیز کاهش در طول ریشه های افشان در تنش شوری مشاهده شد. Rezvani و همکاران (۲۰۱۲) اظهار داشتند که طول ریشه های افشان در غلظت های ۸۰ ppm و ۱۲۰ نانو نقره به همراه تنش غرقابی و نانو نقره به تنهایی کاهش یافت که نتایج حاصل را تایید می کند. در آزمایش حاضر افزایش در تعداد ریشه های انقباضی مشاهده شد.

در گزارشات Sorooshzadeh و همکاران (۲۰۱۲) تعداد بنه های دختری زعفران

تحت تیمار ۵۰ ppm و ۱۰۰ نانو نقره همراه با تنش غرقابی افزایش یافتند. Naghiza-deh و همکاران (۲۰۱۴) گزارش دادند که با افزایش غلظت شوری وزن خشک بنه ها دختری کاهش می یابد که مطابق با نتایج حاضر بود.

پاسخ حاصل از وساطت نیترات نقره با اتیلن، پلی آمین ها و مسیرهای وابسته به کلسیم درگیر می شود و نقش مهمی در تنظیم مورفوزنز از جمله تولید ریشه بازی می کند (Rezvani, 2012). می توان نتیجه گرفت که نانو نقره نیز با اثر گذاشتن بر این مسیرها باعث افزایش تعداد ریشه های افشان می شود. کاربرد نانو نقره ۵۰ ppm و NaCl 100 mM، اثرات منفی تنش غرقابی را در ارتفاع گیاه زعفران و تعداد بنه ها جبران می کند (Sorooshza-Hoff- et al., 2012). همچنین Maas و Hoff (1977) بیان داشتند کاهش پتانسیل تورژسانس در تنش شوری مهم ترین عامل بازدارندگی رشد گیاهان است. در نتیجه طول و تعداد برگ و طول ریشه ها کاهش می یابد.

محتوای رنگیزه های فتوسنتزی: بر طبق گزارشات Hassani و Omid Beigi (2001) تنش شوری میزان کلروفیل های a، b و کل را در گیاه زعفران کاهش می دهد. در آزمایش حاضر کاهش در میزان کلروفیل b با نتایج فوق مطابقت داشت. در سال ۱۹۸۰ Purvis گزارش داد که اتیلن باعث افزایش فعالیت

در (Latrach et al., 2014) می شود II در II پژوهش حاضر کارایی فتوسیستم تنش شوری و تیمار نانو نقره همراه با شوری افزایش اندکی یافت که معنی دار نبود که بیان گر این است تنش اعمال شده به مقدار کافی شدید نبوده تا کارایی را کاهش یابد II فتوسیستم

پراکسیداسیون لیپیدها: گزارش کردند با افزایش غلظت NaCl میزان مالون د آلدئید که از اکسایش چربی ها بدست می آید، افزایش می یابد (Yasar et al., 2008). این نتایج مغایر با آزمایشات حاضر بود. تیمار گیاهان با نانو نقره مکانیسم تبادل الکترونی سلولی را نشان می دهد که از نشت الکترون جلوگیری و تولید ROS و سطح MDA را کاهش می دهد (Lu et al., 2002).

پرولین: گزارش شده است که با افزایش تنش شوری پرولین در گیاه زعفران افزایش می یابد (Miller et al., 2010) که نتایج حاصل مطلب فوق را تایید کرد. پرولین می تواند از گلوتامات که پیشرو اولیه در سلول های تحت تنش اسمزی است، سنتز شود دو آنزیم پرولین کربوکسیلیک اسید سینتتاز و پرولین کربوکسیلیک اسید ردوکتاز در این مسیر بیوسنتز مشارکت دارند که در زمان تنش شوری رونویسی از ژن های این دو آنزیم افزایش یافته و باعث افزایش پرولین می شود (Sairam and Tyagi, 2004). در تیمار نانو نقره همراه با شوری پرولین نسبت به شاهد

آنزیم کلروفیلانز و تخریب غشاء داخلی کلروپلاست می شود، در حالی که نیترات نقره ۱۰۰ ppm باعث کاهش تولید اتیلن و کاهش تخریب کلروفیل در میوه calamon-din می شود. نانو نقره با تاثیری که بر روی رسپتور اتیلن می گذارد می تواند از تخریب کلروفیل جلوگیری کند در نتیجه میزان آن افزایش می یابد. در آزمایش حاضر این افزایش در کلروفیل a دیده شد. Percival (۲۰۰۳) فلورسانس کلروفیل: نتایج نشان داد فلورسانس کلروفیل برگ گیاه در پاسخ به (*Medicago sativa L.*) یونجه افزایش شوری تحت تاثیر قرار گرفته و کاهش می یابد که این  $Fv/Fm$  نسبت پاسخ احتمالاً با آسیب کلروفیل در ارتباط است. در مشاهدات معصومی و همکاران (۲۰۱۲) این نسبت نیز در گیاه کوشیا کاهش داشت که با نتایج آزمایش حاضر مغایر است. فلورسانس کلروفیل بیان گر فرایندهای اولیه فتوسنتز می باشد که در کلروپلاست انجام می شود. کاهش کارایی در دو وضعیت رخ ( $Fv/Fm$ ) II فتوسیستم می دهد: اول زمانی که برگ ها به طور ناگهانی در معرض نور شدید قرار گیرند صدمه می زند II که به مرکز فتوسیستم و دوم وقتی که در معرض محدودیت آبی (Mohammad et al., 1996) واقع شوند تنش شوری با محدودیتی که در انتقال آب ایجاد می کند و با کاهش حداکثر عملکرد کوآنتومی باعث کاهش کارایی فتوسیستم

افزایش یافت، تجمع پرولین تصور می شود که ناشی از فعال سازی بیوسنتز و غیر فعال کردن مسیرهای تخریب آن در طول تنش باشد که در پی پاسخ گیاه به تنش، اسمولیت ها تولید می شود (Abraham et al., 2003).

قندها: نتایج Naghizadeh و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که ذخیره قند در بانه های زعفران تحت تنش شوری کاهش یافت که می تواند به علت کاهش سطح فتوسنتز کننده و یا کاهش ظرفیت فتوسنتزی گیاه باشد. در آزمایشات حاضر نیز کاهش در سطح ( $P \leq 0.05$ ) مشاهده شد. محتوی قند ها در برگ و ریشه گیاه *Bacopa monnieri* تحت تیمار با نانو نقره نسبت به گیاهان کنترل بیشتر بودند (Krishnaraj et al., 2012). در حالی که در آزمایش حاضر میزان قندها در تیمار نانو نقره همراه با شوری کاهش یافتند.

**نتیجه گیری**

بر طبق نتایج بدست آمده نانو نقره در گیاهان همانند تنش شوری باعث ایجاد تنش می شود، در نتیجه گیاه برای مقابله با این تنش و حفظ بقای خود تغییراتی را در مکانیسم های حیاتی خود ایجاد می کند. تنش شوری و یا تنش حاصل از نانو نقره باعث افزایش سطح قند ها و محتوی پرولین آزاد می شود. اگر غلظت نانو نقره بیش از حد شود اثرات سمی را در گیاهان ایجاد می کند. نانو نقره همراه با تنش شوری در بسیاری از سنجش ها باعث کاهش شدت اثر منفی شوری بر گیاه می شود و نقش تعدیل کنندگی دارد که در مواردی از قبیل میزان وزن خشک بانه دختری، طول ریشه ها و کارتنوئید ها این تاثیرات مشاهده شدند. در واقع یون نقره در گیاهان تیمار شده با نانو نقره با درگیر کردن مسیر های سنتز اتیلن و پلی آمین ها نقش مهمی را در مورفوزنز بازی می کند.

## منابع

- جوادی پور، زهرا، موحدی دهنوی، محسن و بلوچی، حمیدرضا (۱۳۹۲): "ارزیابی پارامترهای فتوسنتزی، محتوا و فلورسانس کلروفیل برگ ارقام گلرنگ تحت تنش شوری" مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی جلد ششم، شماره دوم، ۳۵-۵۶.
- معصومی، علی، کافی، محمد، نباتی، جعفر، خزاعی، حمید رضا، داوری، کامران، مهرجردی، محمد زارع (۱۳۹۰): "اثر تنش خشکی بر وضعیت آبی و نشأت الکتروولت برگ، فتوسنتز و فلورسانس کلروفیل در مراحل مختلف رشدی دو توده کوشیا (*Kochia scoparia*) در شرایط شور" نشریه پژوهشهای زراعی ایران، جلد ۱۰، شماره ۳، ۴۷۶-۴۸۴.

- ممنوعی، ابراهیم، سید شریفی، رئوف (۱۳۸۹). "بررسی اثر کمبود آب بر شاخص های فلورسانس کلروفیل و میزان پرولین در شش ژنوتیپ جو و رابطه آن با دمای آسمانه (Canopy) و عملکرد". زیست شناسی گیاهی، سال دوم، شماره پنجم، صفحه ۶۵-۵۱.
- Abraham, E., Rigo', G., Sze'kely, G., Nagy, R., Koncz, C., Szabados, L.(2003) Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in Arabidopsis Plant Molecular Biology 51: 363-372.
- Ashraf, M., Harris, P.J.C. (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants Plant Science 166: 3-16.
- Attar, Farnoosh, Hosseini, Fakhri Sadat, Heidarzadeh, Marjan (2013). Effects of Salinity on Growth and Antioxidant Enzyme Activity of *Crocus sativus* L. Corms. International conference on environment crisis and its solutions. 13-14 Feb, Kish island-iran, scientific and research branch, Khuzestan, Islamic azad university.
- Avarseji, Z., Kafi, M., Sabet Teimouri, M., Orooji, K. (2013). Investigation of Salinity Stress and Potassium Levels on Morphophysiological Characteristics of saffron. Journal of Plant Nutrition. 36:299-310.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies" Plant and Soil 39(1): 205-207.
- Bhargava, V. K. (2011) "Medicinal uses and pharmacological properties of *Crocus sativus* Linn (saffron)" International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 3: 3.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances Anal Chemistry 28(3): 350-356.
- Gholami touran poshti, M., maghsoudi moud, A., manoochehri kalantari, k.(2005) Salt stress effect on the photosynthetic capacity of three Iranian saffron (*Crocus Sativus* L.) clones The 4th National Biotechnology congress Islamic Republic of Iran, Kerman.
- Hassani, A., and Omid beigi, R. (2001) Effects of water stress on some morpho-

- logical, physiological and metabolic basil" *Journal of Agricultural Knowledge* 12(3): 59-47.
- Heath, R.L. and Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125(1): 189–198.
- Khare, C. P. (2004). *Encyclopedia of Indian medicinal plants* Germany 165–66.
- Krishnaraj, C., Jagan, E.G., Ramachandran, R., Abirami, S.M., Mohan, N., Kalaichelvan, P.T. (2012). Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism. *Process Biochemistry* 47, 651–658.
- Latrach L., Farissi, M., Mouradi, M., Makoudi, B., Bouizgaren, A., Ghoulam, C. (2014) Growth and nodulation of alfalfa-rhizobia symbiosis under salinity: electrolyte leakage, stomatal conductance, and chlorophyll fluorescence *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 38: 320-326.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology* 148C:350-382.
- Lu C.M., Zhang C.Y., Wen J.Q., Wu G.R.(2002) Research on the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism. *Soybean Science* 21: 68-171.
- Ma, B. L., Morison, M. J. and Videng, H. D. (1995). Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Science* 35: 1411-1414.
- Maxwell, K. and Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345): 659-668.
- Miller,G., Suzuki,N., Ciftci-Yilma,S. and Mittler,R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses *Plant Cell Environ* 33, pp. 453–467.
- Mittler R, (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Moffatt, J., Sears, M. R. G., Paulsen, G. (1990). Wheat height temperature tolerance during reproductive growth. I: Evaluation by chlorophyll fluorescence



Crop Science 881-885.

- Mohammad, J., Naziri, M., Nazir, A., Shah, D., Jamal, H.(1996). Wheat yield component as affected by low water stress at different growth stage. Sarhad Journal Agriculture 12:19-26.
- Naghizadeh, M., Gholami Shabestari, M., Shamsaddin Saied, M. (2014). The study of some physiological responses of three Iranian saffron (*Crocus sativus L.*) landraces to salinity stress. Saffron Agronomy & Technology 2(3): 127-136.
- Oxborough, K. (2004). Imaging of chlorophyll a uorescence: theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. Journal of Experimental Botany 55(400).
- Percival G., and Henderson A. (2003). An assessment of the freezing tolerance of urban trees using chlorophyll fluorescence. Journal Horticultural Science Biotechnology 78: 225-260.
- Plessner, O., Negbi, M., Ziv, M., Basker, D. (1989). Effects of temperature on the flowering of saffron crocus (*Crocus sativus L.*): induction of hysteranthy. Israel journal of botany 38: 1-7.
- Purvis, A.C. (1980). Sequence of Chloroplast Degreening in Calamondin Fruit as Influenced by Ethylene and AgNO<sub>3</sub>. Plant Physiol 66:624-627.
- Rajaei, S.M., Niknam, V., Seyedi, S.M., Ebrahimzadeh, H., Razavi, K. (2009). Contractile roots are the most sensitive organ in *Crocus sativus* to salt stress. Biology Plantarum 53 (3): 523-529.
- Rezvani, N., Sorooshzadeh, A., Farhadi, N. (2012). Effect of Nano-Silver on Growth of Saffron in Flooding Stress. World Academy of Science Engineering and Technology 6(1): 11-16.
- Sairam, R. K., and Tyagi, A. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current science 86(3): 407-421
- Saxena, R. B. (2010). Botany, Taxonomy and Cytology of *Crocus sativus* series 31(3): 374-381
- Sorooshzadeh, A., Hazrati, S., Oraki, H., Govahi, M., Ramazani, A. (2012). Foliar application of nano-silver influens growth of saffron under flooding



stress.

- Yasar, F., Ellialtioglu, S. and Yildiz, K. (2008). Effect of Salt Stress on Antioxidant Defense Systems, Lipid Peroxidation, and Chlorophyll Content in Green Bean. *Russian Journal of Plant Physiology* 55(6): 782–786.
- Zhou, W., Leul, M. (1999). Uniconazole-induced tolerance of rape plants to heat stress in relation to changes in hormonal levels, enzyme activities and lipid peroxidation. *Plant Growth Regulation* 27 (2): 99.