

اثر تیمار نانو نقره بر میزان عناصر موجود در بنه زعفران تحت شرایط شوری

آزاده کریمی جعفری^۱، منیر حسین زاده نمین^{*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۴

چکیده

زعفران (*Crocus sativus L.*) گیاهی از تیره زنبقیان بخش کلاله و بنه آن بخصوص از نظر دارویی و غذایی دارای اهمیت بسیار زیادی می‌باشد. امروزه نانو ذرات نقره با خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی و تاثیر بر گیرنده‌های اتیلن در گیاهان در بسیاری از زمینه‌ها کاربرد دارد. در ایران به دلیل افزایش سطح خاک‌های شور، بررسی عوارض تنش شوری با به کارگیری نانو نقره می‌تواند چشم‌انداز خوبی برای کنترل اثرات تنش شوری بر گیاهان باشد. برای این منظور آزمایشی با استفاده از چهار تیمار شامل: نانو نقره (۴۰ppm)، شوری (۱۰۰ mM NaCl)، تیمار نانو نقره (۴۰ppm) توأم با شوری (۱۰۰ mM NaCl)، شاهد بدون هر گونه تیمار و کنترل (نمونه اولیه قبل از کشت) با دو روش آبیاری و غوطه‌ور طراحی شد و میزان عناصر فسفر، سدیم و پتاسیم در بنه زعفران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، یون فسفر در همه تنش‌ها در مقایسه با شاهد و کنترل (نمونه اولیه قبل از کشت) افزایش یافت که در سطح ($P \leq 0.05$) معنی‌دار بود. میزان غلظت یون سدیم در روش آبیاری و پتاسیم در روش غوطه‌ور در تنش شوری (۰/۷۷ mg/gDW) (۹/۹۶ mg/gDW) افزایش اما در تنش شوری همراه با نانو نقره (۰/۶۷ mg/gDW) (۰/۶۷ mg/gDW) در مقایسه با شاهد (۰/۷۳ mg/gDW) (۸/۰۸ mg/gDW) کاهش معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) یافت. در این پژوهش بکارگیری نانو نقره همراه تنش شوری نشان داد که اثرات تنش شوری با تعدیل عناصری از قبیل سدیم و پتاسیم و افزایش فسفر همراه بوده است.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، تیمار نانو نقره، زعفران مزروعی، غلظت یون‌ها.

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus L.*) گیاهی دارای ارزش ادویه‌ای و دارویی است که بخش کلاله‌های خشک شده آن به عنوان زعفران شناخته شده است (Eslami et al., 2016). زعفران به مقدار زیادی در مناطق خشک و نیمه خشک از قبیل استان‌های خراسان و فارس در ایران تولید می‌شود و به دلیل نیاز آبی کم و درآمد زیاد آن توجه زیادی را در کشاورزی به همراه داشته است (Yarami et al., 2016).

۱-دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)

*نویسنده مسئول : monirhosseinzade@yahoo.com

شوری یکی از مهم‌ترین چالش‌های زیست محیطی است که مانع بهره‌وری گیاهان به ویژه در آب و هوای خشک و نیمه خشک می‌شود (Acosta-Motos *et al.*, 2017). شوری خاک یک مشکل جهانی است که تقریباً ۲۰٪ از زمین‌های کشاورزی و محصولات را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Negrao *et al.*, 2017). شوری سبب ایجاد عدم توازن بین عناصر غذایی گیاه می‌شود و بر جنبه‌های فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهان تاثیر می‌گذارد و به طور قابل توجهی باعث کاهش عملکرد آنها می‌شود (معصومی و رونقی، ۱۳۹۰). غلظت بالای نمک بر جوانه زنی بذر تاثیر می‌گذارد و باعث کمبود آب، عدم تعادل یونی، سمیت یونی و استرس اسمزی، تخریب غشا، کاهش جذب CO_2 برای بسته شدن روزنه‌های هوایی، کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیک و افزایش سطح پراکسیداسیون لیپید می‌شود (khan & Panda, 2008).

گیاهانی که شوری را تحمل می‌کنند، سازوکارهای زیادی را در برابر افزایش شوری، از جمله تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، اجرا می‌کنند و با ایجاد مکانیسم‌های مقاومتی مختلف می‌توانند محتوای نمک خود را در آب تنظیم کنند. این مکانیسم‌ها شامل تغییر در مورفولوژی، آناتومی، روابط آب، فتوسنتز، مشخصات هورمونی، توزیع یون‌های سمی و سازگاری بیوشیمیایی (مانند پاسخ متابولیسم آنتی اکسیدانی) می‌باشند (Acosta-Motos *et al.*, 2017).

تنش شوری اثرات منفی را بر تولیدات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک وارد می‌کند و می‌تواند اثرات اسمزی و یونی بر گیاهان تحمیل کند (Yarami *et al.*, 2016). اثرات مضر تنش شوری بر روی رشد گیاه و عملکرد آن عمدتاً بواسطه دو عامل استرس اسمزی و سمیت یونی می‌باشد (Horie *et al.*, 2010). سدیم و کلر می‌توانند در گیاه سمیت ایجاد نمایند و سبب ایجاد عدم تعادل یونی در گیاه شوند (معصومی و رونقی، ۱۳۹۰). گیاهان برای کسب تحمل بیشتر در شرایط استرس زا، اقدام به برقراری همئوستازی یونی می‌کنند که ناقلین یونی تعیین کننده نهایی آن هستند (Zhu, 2001).

بسیاری از گیاهان زراعی حساسیت قابل ملاحظه‌ای نسبت به شرایط شور دارند که این موضوع به علت تجمع یون سدیم در داخل سلول و تاثیر آن بر اختلال در تعادل یونی و تنظیم اسمزی، تاثیر بر فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها و متابولیسم سلول و نیز ایجاد سمیت بازدارنده است. فراوانی سدیم در خاک باعث لطمه به جذب پتاسیم توسط گیاه می‌شود. در مجموع، پایین بودن غلظت سدیم سیتوزولی و عدم تعادل نسبت یون (K^+/Na^+) پتاسیم به سدیم، یکی از مهمترین جنبه‌های تحمل به شوری شناخته می‌شود (آذری و همکاران، ۱۳۹۳).

افزایش جذب یون Na^+ و کاهش یون K^+ در اغلب گونه‌های در معرض تنش شوری تعادل یونی را مختل می‌کند (khan & Panda, 2008). بیشتر گیاهان در غلظت شوری بالاتر از ۱۰۰ میلی مولار نسبت به محلول خاک نمی‌توانند رشد کنند (Estefan *et al.*, 2013). تحمل نمک در گیاهان اغلب با جلوگیری از انباشتن Na^+ و نگهداری نسبت بالا K^+/Na^+ در ساقه‌ها ارتباط دارند. میزان انباشت سدیم در ساقه‌های گیاهان به واسطه جذب خالص Na^+ در ریشه‌ها و انتقال آن از ریشه‌ها به ساقه‌ها تعیین می‌شود (Estefan *et al.*, 2013).

پتاسیم در فرآیندهای مهم سلولی مانند تثبیت سنتز پروتئین، فعال‌سازی آنزیم‌ها، خنثی‌سازی بارهای منفی روی پروتئین‌ها و بسیاری موارد دیگر شرکت می‌کند. علاوه بر وظایف فوق، پتاسیم در گیاهان، نقش مهمی در فرآیندهای اسمزی شرکت کننده در فشار تورگر سلولی، طول عمر سلول، انتقال در سلول‌های فتوسنتزی، حفظ هومیوستاز pH سیتوزول و تنظیم پتانسیل غشاء همراه با نیروی محرکه پروتون، بازی می‌کند (Sharma et al., 2013).

نقش فسفر در ساختارهای ماکرومولکولی در اسیدهای نوکلئیک مثل DNA مشاهده شده است که ناقل اطلاعات ژنتیکی و RNA هستند. فسفات پل بین واحدهای ریبونوکلوئید با ماکرومولکول‌ها را تشکیل می‌دهد (Villiers, 2007).

اگر چه فسفات در غلظت کم در سلول‌های گیاهی وجود دارد، فسفات‌های پر انرژی و استرهای فسفات در متابولیسم‌های سلولی شرکت می‌کنند. ATP یکی از ترکیبات بسیار مهم است که گروه‌های فسفات توسط باندهای پیرو فسفات متصل می‌شود (Villiers, 2007).

فسفات در رشد و متابولیسم گیاهان نقش دارد بنابراین در بیشتر واکنش‌های متابولیسمی مانند تقسیم سلولی، بیان ژن، تنفس و فتوسنتز کاهش به همراه دارد (Villiers, 2007).

نانو، ذرات اتمی یا مولکولی یک بعدی با حداقل بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که برخی خواص فیزیکی و شیمیایی آن‌ها در مقایسه با مواد مشابه ولی فاقد ساختار نانویی متفاوت است (Salama, 2012). در ذرات نانو نقره به علت داشتن سطح تماس بیشتر در ارتباط با فضای بیرونی که ناشی از اندازه کوچک آن‌ها است، میزان چسبندگی به سطح سلول افزایش می‌یابد که منجر به افزایش کارایی آن‌ها می‌شود (Seif Sahandi et al., 2011).

کریشناراج و همکاران (۲۰۱۲) اثر بیولوژیکی نانوذرات سنتز شده را در رشد و متابولیسم *Bacopa monnieri* مطالعه کردند و مشخص شد که نانوذرات اثر معنی‌داری در جوانه زدن بذر از قبیل (*Boswellia ovalifoliolata*)، سنتز پروتئین و کربوهیدرات داشتند و نیز باعث کاهش محتوای فنل کل و فعالیت‌های کاتالاز و پراکسیداز گردید (Savithamma et al., 2012). نانو نقره پارامترهای رشد (طول ساقه و طول ریشه، سطح برگ) و صفات بیوشیمیایی (محتوای کلروفیل، کربوهیدرات، پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی) در گیاهان لوبیا و ذرت معمولی را افزایش دادند (Sharma et al., 2012; Salama, 2012).

همچنین، نانو نقره باعث مهار آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) در ریشه نهال‌های آراییدوپسیس، کاهش بیان آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلیک اسید سنتاز (ACC سنتاز) ۷ و آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلیک اسید اکسیداز (ACC اکسیداز) ۲ می‌شود. نشان دادند که نانو نقره به عنوان سرکوب کننده ادراک اتیلن توسط گیرنده‌ها عمل کند و می‌تواند در متابولیسم اتیلن و کلروفیل با سرکوب آنزیم کلروفیلاز دخالت کند (Siddiqui et al., 2015; Nejat-zadeh-Barandozi et al., 2014; Seif Sahandi et al., 2011).

کاتیون‌های نقره از طریق کانال‌های سدیم و مس وارد سلول شده و می‌توانند از طریق ناقلین یونی غشاء در آرگانسیم‌ها انباشته شوند (Winkelmann *et al.*, 2015).

خاک یک سیستم بسیار پیچیده است و تحت تاثیر نانو نقره خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن مانند pH، EC، بافت و محتوای مواد آلی می‌تواند تغییر کند و از طرفی نانو ذرات نقره بر میکروارگانسیم‌های درون خاک از طریق واکنش با غشا سلولی اثر می‌گذارد (Pallavi *et al.*, 2016). سیلین و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که کاربرد نانو ذرات نقره در خاک باعث افزایش زیست توده گیاه ذرت و همچنین باعث افزایش تشکیل گره‌های تثبیت کننده نیتروژن در لوبیای چشم بلبلی می‌شود.

در گیاه آویشن (Thymus) نانو ذرات نقره درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و طول ریشه را در شوری ۲۰۰ میلی مولار افزایش داد ولی در شوری ۱۰۰ میلی مولار باعث افزایش قدرت نامیه بذر و افزایش طول ساقه در مقایسه با شاهد شد. از طرفی مشاهده گردید تیمار با نانو نقره عوارض ناشی از تنش‌های خفیف و ملایم شوری را حذف می‌کند (Ghavam, 2018).

به گزارش محامد و همکاران (۲۰۱۷) در مراحل اولیه رویش بذر در گیاهان گندم حضور نانو ذرات نقره، به ویژه در ۲ تا ۵ میلی مولار، اثر منفی تنش شوری را کاهش داد. در واقع نانو ذرات نقره تحمل نمک را در گندم افزایش داد و می‌توان از آن به عنوان یک استراتژی برای محصولات زراعی در خاک‌های شور استفاده کرد.

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 اندام‌ها می‌شود. Soroshzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش دادند در شرایط غرقابی، محلول پاشی نانو نقره (۵۰ یا ۱۰۰ ppm) باعث افزایش در ارتفاع بوته و تعداد بنه‌ها ی زعفران می‌شود. بنابراین برخی از اثرات تنش غرقابی بر رشد زعفران ممکن است توسط نانو نقره تعدیل شود. Rezvani و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش دادند که غلظت ۴۰ ppm می‌تواند احتمال تنش غرقابی را در زعفران کاهش دهد.

هدف از انجام این پژوهش بررسی اثرات نانو نقره بر روی تغییرات جذب یون‌ها در تنش شوری بر روی گیاه زعفران بود تا اثرات تعدیل کنندگی شوری توسط تیمار با نانونقره را بررسی کنیم.

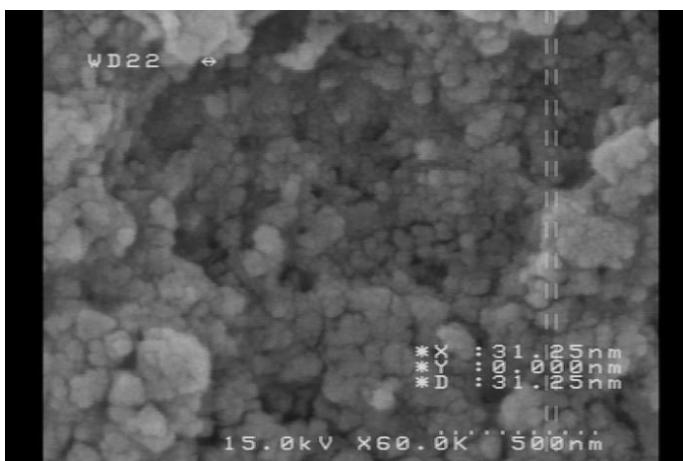
مواد و روش‌ها

تهیه نمونه

بنه‌های زعفران در شهریور ماه (مرحله خواب بنه) از مزارع قائن تهیه گردید و به آزمایشگاه آورده شد.

تهیه نانو نقره

نانونقره استوک در غلظت ۱۰۰۰ ppm از شرکت پیام آوران نانو فناوری فردانگر تهیه گردید. نانو نقره از نوع کلئیدی و در ابعاد ۲۰ تا ۳۰ نانومتر بود (شکل ۱). با استفاده از آب دو بار تقطیر غلظت ۴۰ ppm از آن تهیه شد.



شکل ۱: تصویر اسکن میکروسکوپ الکترونی (SEM) از ذرات نانو نقره (گرفته شده در شرکت پیام آوران نانو فناوری فردانگر).

تیمار تنش شوری و نانو نقره به طریقه آبیاری

تعدادی گلدان با ظرفیت ۳ کیلو گرم با خاک لومی- شنی تهیه شدند. در هر گلدان چهار عدد بنه در عمق ۱۵ سانتی متری از سطح خاک کاشته شدند. برای هر تیمار و شاهد تعداد ۱۰ تکرار در نظر گرفته شد و همه آن‌ها در دانشگاه الزهرا تحت شرایط محیطی بهینه کنترل شده از قبیل نور و دما (۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی گراد در روز و ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی گراد در شب) قرار داده شدند. مقداری از بنه‌ها برای انجام آزمایشات بیوشیمیایی (به عنوان نمونه کنترل) کاشته نشده و در آزمایشگاه نگهداری شدند. گلدان‌های کشت داده شده به چهار دسته، شاهد (آبیاری با آب معمولی)، تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl، تیمار نانو نقره ۴۰ ppm و تیمار توام شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl و نانو نقره ۴۰ ppm تقسیم شدند. تیمارها یک ماه بعد از کاشت زعفران‌ها همراه با آبیاری گلدان‌ها و در دو مرحله به فاصله زمانی یک ماه اعمال شدند. پس از گذشت سه ماه نمونه‌ها برداشت شدند.

تیمار تنش شوری و نانو نقره به طریقه غوطه‌ور

گلدان‌ها در این روش نیز به چهار دسته‌ی شاهد، تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl، تیمار نانونقره ۴۰ ppm، تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl توام با نانو نقره ۴۰ ppm تقسیم شدند. تعدادی از بنه‌ها که تحت تیمار نانو نقره باید قرار می‌گرفتند در قبل از کاشت به مدت ۹۰ دقیقه در نانو نقره ۴۰ ppm غوطه‌ور گردیدند و سپس در گلدان‌های مشابه کاشته شدند. تیمار دوم یک ماه بعد اعمال شد که برای اعمال تیمار نانو نقره ۴۰ ppm با استفاده از سرنگ مقدار ۱۰ ml نانو نقره ۴۰ ppm به اطراف بنه‌ها تزریق شد (به دلیل اینکه خروج بنه‌ها از خاک و غوطه‌ور کردن آن‌ها در نانو نقره مقدور نبود). تیمارهای شوری نیز در دو نوبت به فاصله یک ماه به گلدان‌ها داده شد. متأسفانه در بین گلدان‌های تیمار داده شده به روش غوطه‌ور بنه‌هایی که تنها با نانو

نقره تیمار داده شده بودند به دلایلی از بین رفتند و برای انجام آزمایشات قابل استفاده نبودند اما بنه‌های شاهد، تیمار شوری و نانو نقره همراه با شوری قابل برداشت و آزمایش بودند. از پژوهش‌های رضوان و همکاران (۲۰۱۲) به عنوان منبع برای اعمال تیمارها استفاده شد.

سنجش عناصر در بافت گیاهی

هضم اسیدی

۱ گرم از بنه خشک زعفران همراه با ۱۰ ml نیتریک اسید غلیظ ۶۵ درصد و ۵ ml پرکلریدریک اسید ۷۰ درصد بر روی گرمکن با درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از اتمام هضم با آب مقطر به حجم ۵۰ ml رسانده شد. در نهایت توسط کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. از محلول بدست آمده برای سنجش فسفر، سدیم و پتاسیم استفاده شد (Richards, 1954).

سنجش مقدار فسفر در بنه‌های زعفران تیمار شده

برای تعیین مقادیر فسفر در نمونه‌ها ۵ ml از محلول هضم شده گیاهی با ۵ ml معرف بارتن مخلوط گردید تا رنگ زرد حاصل شود سپس به حجم ۵۰ ml رسانیده و ورتکس گردید. بعد از ۳۰ دقیقه استراحت رنگ زرد واناد-مولیبدو فسفریک ظاهر شد که نشانگر کامل شدن واکنش است. سپس جذب محلول‌ها در ۴۳۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتری (cecil مدل CE1021) خوانده شد. سپس با استفاده از نمودار استاندارد که در غلظت‌های ۰ تا ۵۰ $\mu\text{g}/\text{mL}$ فسفات منو پتاسیم تهیه شده بود، مقدار فسفر در یک گرم محاسبه و درصد آن در بنه زعفران تعیین گردید (Hanson, 1950).

سنجش مقدار سدیم و پتاسیم در بنه‌های زعفران تیمار شده

برای تعیین مقادیر سدیم و پتاسیم نمونه‌ها در محلول هضم اسیدی از دستگاه فلیم فتومتر (JENWAY مدل PFP7) با تنظیمات بین صفر (آب مقطر) و صد (غلیظ ترین محلول) استفاده شد و محاسبات با استفاده از نمودار استاندارد سدیم و پتاسیم که در غلظت‌های ۰ تا ۵۰ $\mu\text{g}/\text{mL}$ تهیه شده بود، بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک انجام گرفت (Richards, 1954).

سنجش مقدار نقره در بنه‌های تیمار شده

مقادیر نقره محلول‌های حاصل از هضم اسیدی نمونه‌ها توسط دستگاه جذب الکتروترمال (مدل contra 700) در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه تهران آنالیز گردید.

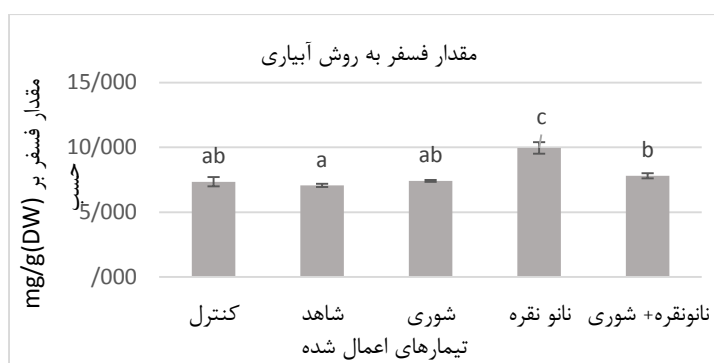
آنالیزهای آماری

آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار صورت پذیرفت. از نرم افزارهای SPSS (Version 19) و Excel 2013 برای تجزیه و تحلیل نتایج استفاده گردید و برای آنالیزهای آماری از ANOVA و آزمون Duncan استفاده شد.

نتایج

سنجش فسفر

روش آبیاری: مقدار فسفر در بنه‌های کنترل (۷/۳۴ mg/gDW)، شاهد (۷/۰۶ mg/gDW)، شوری (۷/۴۱ mg/gDW)، تیمار با نانو نقره ۴۰ ppm (۹/۹۵ mg/gDW) و تیمار نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری (۷/۸۰ mg/gDW) نشان داد فسفر هر سه تیمار نسبت به شاهد افزایش یافت که در تیمار با نانو نقره ۴۰ ppm و تیمار نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری در سطح (P≤0.05) معنی‌دار بود (شکل ۱).



شکل ۱: نمودار تغییرات مقدار فسفر در بنه‌های تیمار داده شده در شوری (NaCl ۱۰۰mM)، نانو نقره ۴۰ ppm و نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری (NaCl ۱۰۰mM)

روش غوطه‌ور: مقدار فسفر در بنه‌های کنترل (۷/۳۴ mg/gDW)، شاهد (۱۳/۷۶ mg/gDW)، تنش شوری

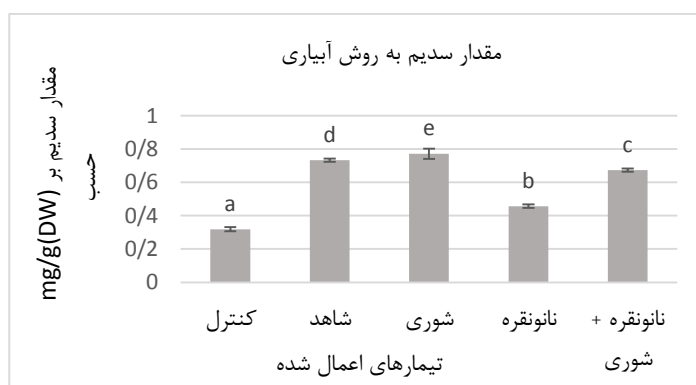
(۱۴/۰۵ mg/gDW) و تیمار نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری (۱۲/۶۳ mg/gDW) بدست آمد (شکل ۲).



شکل ۲: نمودار تغییرات مقدار فسفر در بنه‌های تیمار داده شده در شوری (NaCl ۱۰۰mM) و نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری (NaCl ۱۰۰mM).

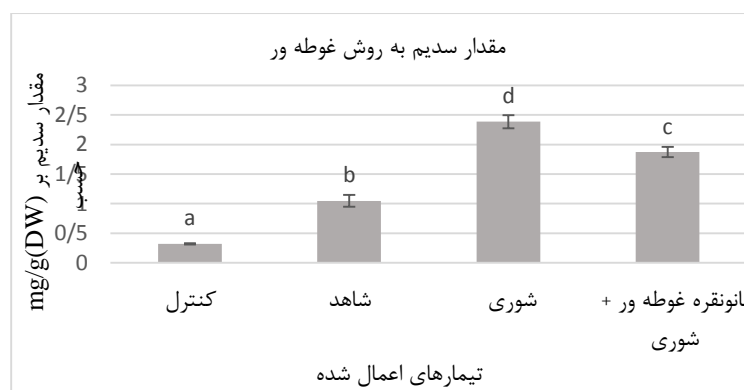
سنجش سدیم

روش آبیاری: مقدار سدیم در بنه‌های کنترل ($0/31 \text{ mg/gDW}$)، شاهد ($0/73 \text{ mg/gDW}$)، شوری ($0/77 \text{ mg/gDW}$)، نانو نقره 40 ppm ($0/45 \text{ mg/gDW}$) و شوری همراه نانو نقره 40 ppm به روش آبیاری ($0/67 \text{ mg/gDW}$) بدست آمد. مقدار سدیم در نمونه شاهد نسبت به کنترل افزایش معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) یافت. غلظت یون سدیم در نمونه شوری نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) داشت و در تیمار نانو نقره همراه با شوری و تیمار نانو نقره به تنهایی نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری ($P \leq 0.05$) یافتند (شکل ۳).



شکل ۳: نمودار تغییرات مقدار سدیم در بنه‌های تیمار داده شده در شوری (100 mM NaCl)، نانو نقره 40 ppm و نانو نقره 40 ppm همراه با شوری (100 mM NaCl).

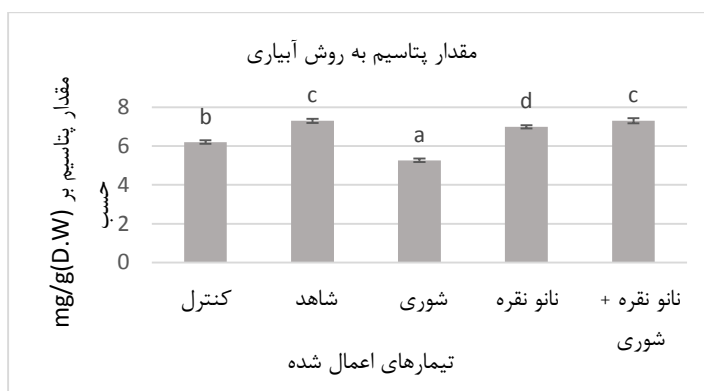
روش غوطه‌ور: مقدار سدیم در بنه‌های کنترل ($0/31 \text{ mg/gDW}$)، شاهد ($1/47 \text{ mg/gDW}$)، شوری ($2/38 \text{ mg/gDW}$)، نانو نقره 40 ppm به روش غوطه‌ور همراه با شوری ($1/87 \text{ mg/gDW}$) بدست آمد. نمونه شاهد نسبت به کنترل افزایش معنی‌داری ($P \leq 0.05$) یافت. نمونه شوری و نمونه تیمار شوری همراه با نانو نقره نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری ($P \leq 0.05$) یافت (شکل ۴).



شکل ۴: نمودار تغییرات مقدار سدیم در بنه‌های تیمار داده شده در شوری (100 mM NaCl) و نانو نقره 40 ppm همراه با شوری (100 mM NaCl).

سنجش پتاسیم

روش آبیاری: مقدار پتاسیم در بنه‌های کنترل (۶/۲۰ mg/gDW)، شاهد (۷/۳۰ mg/gDW)، شوری (۷/۳۰ mg/g DW)، تیمار با نانو نقره ۴۰ ppm (۶/۹۹ mg/gDW) و تیمار نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری (۷/۳۰ mg/gDW) بدست آمد. مقدار پتاسیم در نمونه‌های تیمار با شوری و تیمار با نانو نقره کاهش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) یافت. مقدار پتاسیم در نمونه کنترل نسبت به شاهد کمتر شد که در سطح ($P \leq 0.05$) معنی‌دار بود (شکل ۵).



شکل ۵: نمودار تغییرات مقدار پتاسیم در بنه‌های تیمار داده شده در شوری (۱۰۰mM NaCl)، نانو نقره ۴۰ ppm و نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری (۱۰۰mM NaCl).

روش غوطه‌ور: مقدار سدیم در بنه‌های کنترل (۶/۲۰ mg/gDW)، شاهد (۸/۰۸ mg/gDW)، شوری (۷/۳۰ mg/gDW)، نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری (۷/۶۱ mg/gDW) بدست آمد که در نمونه شوری نسبت به شاهد افزایش و در تیمار با نانو نقره همراه با شوری کاهش مشاهده شد که در سطح ($P \leq 0.05$) معنی‌دار بود (شکل ۶).



شکل ۶: نمودار تغییرات مقدار پتاسیم در بنه‌های تیمار داده شده در شوری (۱۰۰mM NaCl) و نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری (۱۰۰mM NaCl).

بررسی مقادیر عنصر نقره در بنه‌های تیمار شده

مقدار نقره مشاهده شده در تمام نمونه‌ها کمتر از ۵ ppb بود، در واقع می‌توان نتیجه گرفت نانو نقره درونی بر اساس استانداردها در حد آلودگی نبود و در حد مجاز می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱: مقدار یون نقره در بنه‌های تیمار داده شده به روش آبیاری.

نمونه‌ها	مقدار نقره	Ag(ppb)
	شاهد	<۵
	شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl	<۵
	نانو نقره ۴۰ ppm	<۵
	نانو نقره ۴۰ ppm همراه با شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl	<۵

بحث

روش آبیاری: میزان فسفر در تیمار شوری، نانو نقره ۴۰ ppm و تیمار شوری همراه با نانو نقره ۴۰ ppm افزایش یافت که در سطح ($P \leq 0.05$) معنی‌دار بود. نتایج مطابق با یافته‌های طالعی و همکاران (۲۰۱۲) بود که نشان داد فسفر در گیاهان ذرت تحت شرایط نمک افزایش می‌یابد. نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر نشان داد هر دو تیمار شوری و نانو نقره باعث افزایش مقادیر فسفر شدند.

فسفر به عنوان یک جزء ضروری نوکلئیک اسیدها، قندهای فسفریله شده، فسفولیپیدها و پروتئین‌ها می‌باشد که تمام فرایندهای زندگی را کنترل می‌کند و به عنوان ناقل‌های انرژی برای بسیاری از واکنش‌های زیستی عمل می‌کند (Reddy, 2006). مظلومی و رونقی (۱۳۹۱) گزارش دادند فسفر نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها دارد و نیاز به فسفر کافی در محیط شور، مربوط به نقش این عنصر در تنظیم تجمع و یا کدبندی یون‌ها در داخل سلول است.

میزان سدیم در تیمار شوری افزایش و در تیمار نانو نقره ۴۰ ppm و تیمار شوری همراه با نانو نقره ۴۰ ppm کاهش یافت که در سطح ($P \leq 0.05$) معنی‌دار بود. کاتیون‌های نقره از طریق کانال‌های سدیم و مس وارد سلول می‌شوند در نتیجه ایجاد رقابت با یون‌های سدیم باعث کاهش غلظت سدیم در سلول می‌گردد (Winkelmann et al., 2015).

مؤمن پور و همکاران (۱۳۹۳) اعلام کردند با افزایش غلظت شوری، مقدار سدیم در برگ و ریشه در رقم‌های بادام افزایش یافت. در پژوهش حاضر نیز مقدار سدیم در بنه‌ها افزایش یافت. در شوری بالا، کنترل هموستازی شامل خروج سدیم از سیتوپلاسم با حفظ غلظت پتاسیم است (Diédhiou, 2006).

میزان پتاسیم در تیمار شوری و در تیمار نانو نقره ۴۰ ppm کاهش یافت و در تیمار شوری همراه با نانو نقره ۴۰ ppm

نسبت به شاهد تغییری مشاهده نشد. اثرات تعدیل کنندگی توسط نانو نقره، در تنش شوری همراه با نانو نقره مشاهده شد.

میزان یون نقره اندازه گیری شده در بافت‌های تمامی بنه‌ها در این پژوهش دارای غلظت بسیار اندک و در حد کمتر از

۵ ppb بود. سیف سهندی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که غلظت یون نقره در گیاه *Borago officinalis* L. تحت تیمار نانو

نقره و نیترات نقره نسبت به گیاه شاهد افزایش یافته است.

روش غوطه‌ور: میزان فسفر در این روش در تنش شوری افزایش یافت ولی معنی‌دار نبود، در تنش شوری همراه با

تیمار نانو نقره کاهش مشاهده شد که در سطح ($P \leq 0.05$) معنی‌دار بود.

در پژوهش اخیر میزان فسفر در تنش شوری همراه با نانو نقره نسبت به شوری کاهش یافت که بیانگر این می‌تواند

باشد که نانو نقره میزان نیاز به فسفر را تا حدی کاهش داده است. گیاه وقتی در شرایط شوری قرار می‌گیرد میزان جذب فسفر

را افزایش می‌دهد تا بتواند فرایندهای زیستی خود را از جمله فتوسنتز انجام دهد و رشد آن کاهش نیابد (Villiers, 2007). در

نتیجه نانو نقره در این پژوهش اثرات مخرب ناشی از تنش شوری را کاهش داده است. کریمی و همکاران در سال ۱۳۹۵ گزارش

دادند که نانو نقره همراه با تنش شوری در بسیاری از سنجش‌ها از قبیل میزان وزن خشک بنه دختری، طول ریشه‌ها و محتوای

کارتونوئیدها باعث کاهش شدت اثر منفی شوری بر گیاه می‌شود و نقش تعدیل کنندگی دارد.

میزان سدیم در تنش شوری و تیمار شوری همراه با نانو نقره ۴۰ ppm افزایش معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) نسبت

به شاهد یافت. میزان پتاسیم نیز در تنش شوری افزایش و در تیمار شوری همراه با نانو نقره ۴۰ ppm کاهش معنی‌داری نسبت

به شاهد در سطح ($P \leq 0.05$) یافت.

کریمی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش دادند که میزان غلظت پرولین در تنش شوری و نانو نقره افزایش می‌یابد. افزایش

پرولین در گیاه نشان دهنده آن است که گیاه برای حفظ تعادل اسمزی به جای اینکه غلظت پتاسیم را افزایش دهد متوسل به

افزایش پرولین شده است.

تغییرات غلظت یون‌ها در بنه زعفران در آزمایشات نقی زاده و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که غلظت پتاسیم تحت تأثیر

شوری قرار نگرفته است اما غلظت سدیم با اعمال شوری ۶ دسی زیمنس بر متر شروع به افزایش می‌کند. از طرف دیگر نسبت

یون‌های سدیم به پتاسیم هم با افزایش شوری به شدت زیاد شد. این موضوع می‌تواند باعث بروز اثرات سمیت یونی در زعفران

شده و عملکرد گیاه را با مشکل مواجه کند. اگرچه پتاسیم می‌تواند در تنظیم اسمزی برخی گیاهان نقش داشته باشد، اما در

سطوح شوری انتخاب شده، این عنصر نقشی در تنظیم اسمزی زعفران نداشت (Naghizadeh, 2014). در پژوهش حاضر نیز

غلظت سدیم در تیمار شوری افزایش یافت و مطابقت با گزارش فوق داشت که با بکار گیری نانو نقره در تنش شوری اثرات مضر

سدیم کاسته شد.

نتیجه گیری

بر طبق نتایج بدست آمده تیمار شوری در گیاه زعفران در غلظت ۱۰۰ میلی مولار NaCl باعث ایجاد تنش گردید، در نتیجه گیاه برای مقابله با این تنش و حفظ بقای خود تغییراتی را در مکانیسم‌های حیاتی خود ایجاد کرد. به دلیل تجمع یون‌های سدیم و کاهش فشار اسمزی با افزایش غلظت پتاسیم باعث افزایش فشار اسمزی و حفظ تعادل یونی شد، همچنین به دلیل اینکه در تنش شوری میزان رشد کاهش می‌یابد گیاه با افزایش میزان فسفر میزان رشد خود را افزایش داد. از سوی دیگر نانو نقره همراه با تنش شوری باعث تعدیل شدت اثر منفی شوری بر گیاه گردید. نانو نقره باعث کنترل ورود سدیم به سلول شد و در نتیجه سلول نیازی به افزایش عنصر پتاسیم جهت افزایش فشار اسمزی خود نداشت. اگر غلظت نانو نقره بیش از حد شود اثرات سمی را در گیاهان ایجاد می‌کند و می‌تواند تغییرات متفاوتی در ترکیبات گیاه ایجاد نماید.

منابع

آرمان آذری، سید علی محمد مدرس ثانوی، حسین عسکری، فائزه قناتی، امیرمحمد ناجی و بهرام علیزاده (۱۳۹۱) اثر تنش شوری بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دو گونه کلزا و شلغم روغنی (*Brassica napus* and *B. rapa*). مجله علوم زراعی ایران جلد چهاردهم، شماره ۲.

کریمی جعفری، آزاده، حسین زاده نمین، منیر (۱۳۹۵) اثر شوری و نانو نقره بر پارامترهای رشد و خصوصیات بیوشیمیایی بنه زعفران تیمار شده در شرایط غوطه‌ور. دوره بیست و نهم، شماره ۳، صفحه ۱۵۹ الی ۱۷۴.

مظلومی، فرهاد و رونقی، عبدالمجید (۱۳۹۱) اثر شوری و فسفر بر رشد و ترکیب شیمیایی دو رقم اسفناج. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، سال سوم، شماره نهم.

مؤمن پور، علی، بخشی، داود، ایمانی، علی و رضایی، حامد (۱۳۹۳) اثر تنش شوری بر خصوصیات رشدی و غلظت عناصر غذایی در رقم‌های بادام، شاهرود ۱۲، 'تونو' و ژنوتیپ '۱۶ - ۱' پیوندشده روی پایه GF677. به زراعی کشاورزی. ۱۷(۱): ۱۹۷-

۲۱۶

Acosta-Motos, Jose Ramón, Ortuño, Maria Fernanda, Bernal-Vicente, Agustina, Diaz-Vivancos, Pedro, Sanchez-Blanco, Maria Jesus and Hernandez, Jose Antonio (2017). Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy*, 7: 18.

Diédhiou Calliste Jérémie (2006). Mechanisms of Salt Tolerance: Sodium, Chloride and Potassium Homeostasis in two Rice Lines with Different Tolerance to Salinity Stress. Thesis Submitted to obtain Dr. rer. nat. at the Faculty of Biology University of Bielefeld, Bielefeld, Germany, 132 Pp.

Estefan, G., Sommer, R. and Ryan, J. (2013). *Methods of Soil, Plant, and Water Analysis: A manual for the West Asia and North Africa region* George. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), 243 Pp, Beirut.

Eslami M., Bayat M., Mozaffari Nejad A., Sabokbar A., Anvar A. (2016). Effect of polymer/nanosilver composite packaging on long-term microbiological status of Iranian saffron (*Crocus sativus* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences* 23: 341–347.

- Ghavam, Mansureh (2018). Effect of Silver Nanoparticles on Seed Germination and Seedling Growth in *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak under Salinity Stress. *Journal of Rangeland Science*, 8(1): 93-100.
- Hanson, WC. (1950). The photometric determination of phosphorus in fertilizers using the phosphovanadomolybdate complex. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1(6): 172-173.
- Horie, Tomoaki, Hauser, Felix and Schroeder Julian I. (2010). HKT transporter-mediated salinity resistance mechanisms in *Arabidopsis* and monocot crop plants. *Trends Plant Science*, 14(12): 660-668.
- Kan, M.H. and Panda S.K. (2008). Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiol Plant*, 30: 81-89.
- Krishnaraj C, Jagan EG, Ramachandran R, Abirami SM, Mohan N, Kalaichelvan PT (2012). Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. *Plant growth metabolism. Process Biochem*, 47(4): 51-658.
- Mohamed, Abdel Kareem S.H., Qayyum, Muhammad Farooq, Abdel-Hadi, Ahmed Mustafa, Rehman, Rabia Abdur, Ali, Shafaqat and Rizwan, Muhammad (2017). Interactive effect of salinity and silver nanoparticles on photosynthetic and biochemical parameters of wheat. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 21-40.
- Naghizadeh, Mahdi, Gholami Shabestari, Mahmood and Shamsaddin Saied, Mohadeseh (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.
- Negrao, S., Schmoekel S. M. and Tester, M. (2017). Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany*, 119: 1-11.
- Nejatzadeh-Barandozi, F., Darvishzadeh, F., Aminkhani, A. (2014). Effect of nano silver and silver nitrate on seed yield of (*Ocimum basilicum* L.). *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 4:11.
- Pallavi, Mehta, C. M., Srivastava, R., Arora, S., Sharma, A. K. (2016). Impact assessment of silver nanoparticles on plant growth and soil bacterial diversity. *3 Biotech*, 6(254): 1-10.
- Rajaei, S.M., Niknam, V., Seyedi, S.M., Ebrahimzadeh, H. and Razavi, K. (2009). Contractile roots are the most sensitive organ in *Crocus sativus* to salt stress. *Biology Plantarum* 53 (3): 523-529.
- Reddy, K.J., Madhava Rao, K.V., Raghavendra, A.S. (2006). *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer, pp 187-217.
- 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.
- Richards, L. A. (1954). *Diagnosis and improvement of saline and alkali soil*. Agriculture hand book, United States department of agriculture, 160 Pp. Washington.
- Salama H.,(2012). Effects of silver nanoparticles in some crop plants, Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *International Research Journal of Biotechnology*, 3(10): 190-197.
- Savithamma N, Ankanna S, Bhumi G (2012). Effect of nanoparticles on seed germination and seedling growth of *Boswellia ovalifoliolata* an endemic and endangered medicinal tree taxon. *Nano Vision*, 2:61-68.
- Seif Sahandi M., Sorooshzadeh, A., Rezazadeh, H. S. and Naghdibadi H. A (2011). Effect of nano silver and silver nitrate on seed yield of borage. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(5): 706-710.
- Sharma P, Bhatt D, Zaidi MG, Saradhi PP, Khanna PK, Arora S (2012). Silver nanoparticle mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *Appl Biochem Biotechnol*, 167: 2225-2233.
- Sharma, Tripti, Dreyer, Ingo and Riedelsberger, Janin (2013). The role of K⁺ channels in uptake and redistribution of potassium in the model plant *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Science*, 4: 224.
- Siddiqui M., Al-Wahaibi M., Firoz M. and Al-Khaishany M., (2015). *Role of Nanoparticles in Plants*. Springer International Publishing Switzerland, *Nanotechnology and Plant Sciences*, 19-35.

- Sillen WM, Thijs S, Abbamondi GR, Janssen J, Weyens N, White JC, Vangronsveld J (2015). Effects of silver nanoparticles on soil microorganisms and maize biomass are linked in the rhizosphere. *Soil Biol Biochem*, 91: 14-22
- Sorooshzadeh, Ali, Hazrati, Saeid, Oraki, Hussein, Govahi, Mostafa, Ramazani, Ahmad (2012). Foliar application of nano-silver influence growth of saffron under flooding stress. *NANOCON*, the International Conference on Nanotechnology. Brno, Czech Republic, 1-4.
- Talei, Daryush, Kadir, Mihdzar Abdul, Yusop, Mohd Khanif, Valdiani, Alireza and Abdullah, Mohd Puad (2012). Salinity effects on macro and micronutrients uptake in medicinal plant King of Bitters (*Andrographis paniculata* Nees.). *POJ*, 5(3): 271-278.
- Villiers, c., (2007). The effect of Phosphorus on the growth, plant mineral content and essential oil composition of Buchu (*Agathosma betulina*). Thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of master of agricultural science at Stellenbosch university. Study leader: prof. G.A. Agenbag. Co-study leader: Dr. P. Langenhoven, 108 Pp.
- Winkelmann, K. and Palmer, A. (2015) Phytotoxicity of Silver Nitrate and Silver Nanoparticles on *Elodea canadensis* Leonard Bernas. Engineering & science student design showcase at Florida Institute of Technology.
- Yarami, N., Sepaskhah, A.R. (2016) Effect of irrigation water salinity, manure application and planting method on soil ions variation and ions uptake by saffron (*Crocus sativus* L.). *International Journal of Plant Production* 10 (2): 197-219.
- Zhu, J. K. (2001) Plant salt tolerance. *TRENDS in Plant Science* 6(2): 66-71.

The effect of nano silver on elements of saffron corms under salinity condition

A.karimi jafari¹, m. hoseinzadeh namin*¹

Received:
Accepted:

Abstract

Saffron (*Crocus sativus* L.) is a member of Iridaceae family, which especially its stigma and corm are important in medicine and food. Today, silver nanoparticles with antimicrobial and antifungal properties are used in many fields and also affect on ethylene receptors in plants. In Iran, due to increasing saline soils, the study on reducing effects of salinity stress by using nanosilver in plants can be used to control the effects of salinity stress in plants. For this purpose, the experiment was carried out using four treatments: nano silver (40 ppm), salinity (100 mM NaCl), nano silver (40 ppm) whit salinity (100 mM NaCl), control without any treatment and primary corm, with two applied methods of irrigation and soaking. The amount of phosphorous, sodium and potassium ions of treated corms were investigated. Results showed that phosphorous ion compared to control and primary corm increased in all stresses, which was significant at level ($P \leq 0.05$). The concentration of sodium in irrigation method and potassium in soaking method increased in salt stress (0.77 mg / gDW)(9.9 mg / gDW), but using salinity stress with nano silver (0.67 mg / gDW)(7.61 mg / gDW) showed a significant decrease in the levels of two mentioned ions ($P \leq 0.05$) compared to control(0.73 mg / gDW)(8.08 mg / gDW). In this study, the use of nanosilver particles under salt condition showed that the effects of salinity have been influenced as phosphorous ion increased and amount of sodium and potassium ions modified.

Keywords: Agricultural saffron, Concentration of ions, Nano silver treatment, Salinity stress.

1- University of Alzahra, Faculty of biology

*(Corresponding author. E-mail: monirhosseinzade@yahoo.com)