

تاثیر تیمار نانو ذرات نقره بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گلرنگ

عارفه محمدی سنجانی^۱، منیر حسین زاده نمین^{۲*}، منا صراحی نوبر^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۱۶

چکیده

نانو ذرات نقره در زمینه‌های مختلف از جمله در صنعت، پزشکی، بیوتکنولوژی و کشاورزی به‌طور وسیعی به‌کار گرفته می‌شوند. از این رو ورود این مواد به محیط‌زیست به‌عنوان مواد زائد امری اجتناب‌ناپذیر است که می‌تواند اثرات منفی بر محیط زیست و از جمله بر گیاهان داشته باشد. در این مطالعه تاثیر دو غلظت ۵ و ۷ پی‌پی‌ام نانو ذرات نقره بر گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) در شرایط در شیشه مورد بررسی قرار گرفت. وجود نانوذرات نقره درصد جوانه زنی بذرها را از حدود ۷۰ درصد در نمونه شاهد تا ۹۰ درصد در نمونه‌های تحت تیمار نانونقره افزایش داد. همچنین میزان زی‌توده‌ی خشک گیاه در نمونه‌های تحت تیمار ۵ به میزان ۱۲ درصد افزایش و در تیمار ۷ پی‌پی‌ام نانو نقره به مقدار ۲۵ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد که این مسئله نشان می‌دهد سطح آستانه سمیت نانونقره در سطحی بین دو غلظت مورد استفاده در این تحقیق می‌باشد. افزایش ضخامت لایه‌ی اپیدرم و همچنین افزایش طول تارهای کشنده و حذف سلول‌های اسکلرانشیمی در ریشه‌های تحت تیمار نانو ذرات نقره در مطالعات آناتومیکی گیاه گلرنگ مشاهده شد. نتایج همچنین حاکی از کاهش قابل توجه محتوای پروتئین در ریشه و القای MDA و پروتئین در اندام هوایی تحت تیمار با نانو ذرات نقره می‌باشد که می‌تواند نشانه‌ای از القای استرس اکسیداتیو در اندام هوایی این گیاه تحت تیمار باشد. علاوه بر این نانو ذرات نقره باعث القای محتوای کلروفیل *a*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاه گلرنگ شده است.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، پروتئین، کاروتنوئید، کلروفیل، گلرنگ، نانوذرات نقره

مقدمه

ذراتی با اندازه‌ای بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر به عنوان نانوذرات طبقه‌بندی می‌شوند. نانو ذرات از یک‌سو به دلیل پتانسیل بالقوه‌ای که در تقویت رشد گیاهان و همچنین حفاظت از آنها بازی می‌کنند؛ توجه بسیاری را به خود جلب کرده‌اند (Nair et al., 2012; Khot et al., 2010). از سوی دیگر استفاده‌ی گسترده از نانوذرات در صنایع مختلف ورود آنها را به منابع آبی کشاورزی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: (Monirhosseinzade@yahoo.com)

۳- استادیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

ناگزیر کرده است و اثرات منفی آنها بر تولید انواع مختلف محصولات کشاورزی نیز ممکن است اتفاق بیافتد. نانوذرات نقره که دارای خاصیت ضد میکروبی هستند، یکی از رایج‌ترین نانوذرات مورد استفاده در مطالعات زیست‌شناسی می‌باشند. مطالعات نشان داده است؛ تیمار نانو ذرات نقره در دانه‌های برنج آلوده با عامل بیماری زای *Gibberella fujicuroi* منجر به کاهش قابل ملاحظه‌ی علائم بیماری شده است (Jo et al., 2015). همچنین القای رشد و وضعیت آنتی اکسیدانی گیاهچه های *Brassica juncea* L تحت این تیمار گزارش شده است (Sharma et al., 2012). از سوی دیگر مهار رشد گیاه، کاهش سرعت جوانه‌زنی بذر، افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی و ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو در بسیاری از گیاهان هنگام در معرض قرار گرفتن با نانوذرات نقره گزارش شده است (Lee et al., 2012; Patlolla et al., 2012; Oukarroum et al., 2013; Cui et al., 2014).

در کشاورزی، از طریق اسپری کردن نانوذرات نقره در گیاهانی از قبیل مرکبات، غلات و درختان زیتون افزایش جوانه‌زنی دانه، افزایش پارامترهای رشد (مانند افزایش حجم زی‌توده، طول شدن ریشه‌ها و افزایش اندازه‌ی برگ)، ایجاد میوه‌های بزرگتر و مقاومت در برابر بیماری‌ها مشاهده شده است (Pulit et al., 2011). Gruyer و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که نانوذرات نقره می‌توانند اثر مثبت یا منفی روی افزایش طول ریشه داشته باشند. آنها گزارش کردند که طول ریشه در جو افزایش و در کاهو مهار شده است. در پژوهشی که توسط Homaee و Ehsanpour در سال (۲۰۱۵) انجام شده است نشان داده شد که میزان کلروفیل به صورت معنی‌داری در غلظت‌های پایین نانوذرات نقره افزایش و در سطح بالاتر این تیمار کاهش داشته است. پژوهشگران با بررسی اثر نانو ذرات نقره بر رشد گیاه *Bacopa monnieri* در شرایط کشت هیدروپونیک دریافتند که تیمار نانوذرات نقره تاثیر قابل توجهی بر جوانه زنی، القای سنتز پروتئین، کربوهیدرات، کاهش محتویات فنل کل و فعالیت کاتالاز و پراکسیداز نشان می‌دهد (Krishnaraj et al., 2012). نانوذرات نقره مشخصات رشدی گیاه (طول ساقه و ریشه و سطح برگ) و محتویات کلروفیل، کربوهیدرات و پروتئین را در گیاهان خردل برگی، لوبیا و ذرت افزایش داده است (Salama, 2012; Sharma et al., 2012).

گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) گیاه یک‌ساله علفی و یکی از گونه‌های زراعی تیره کاسنی (Asteraceae) است (Foruzn, 1999). این گیاه به منظور تولید روغن و رنگ خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرد و دارای خواص دارویی زیادی شامل خاصیت مسهلی، مسکن، معرق، ضد التهاب، تحلیل برنده تومور، قاعده‌آور، محرک جنسی و موثر در فعالیت‌های تولیدمثلی می‌باشد (مروتی و همکاران، ۱۳۸۹).

در تحقیق حاضر اثر تیمار نانو ذرات نقره بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی، تشریحی و فیزیولوژیکی گیاه گلرنگ بررسی شد؛ تا ضمن مطالعه‌ی اثرات آن بر نمو گیاه، درک بهتری از پاسخ گیاه به حضور این ترکیبات در محیط طبیعی به عنوان عامل تنش به‌دست آید و پتانسیل استفاده از آن به عنوان بهبود دهنده‌ی رشد بررسی شود.

مواد و روش‌ها

تهیه بذر و محیط کشت گیاه گلرنگ

بذر گیاه گلرنگ (رقم محلی اصفهان) از شهرستان فرمیه استان مرکزی تهیه شد و به آزمایشگاه انتقال یافت. بذرها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول کلرید جیوه ۰/۱٪ غوطه‌ور و سپس با آب مقطر سترون ۳ بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه شستشو شدند. کلیه مراحل در زیر هود لامینار انجام شد (Talat et al., 2009). محیط کشت جامد MS (Murashige and Skoog, 1962) با دو غلظت ۵ppm و ۷ppm نانو ذرات نقره با مشخصات اندازه ذرات ۲۰ تا ۳۰ نانومتر (شرکت پیام آوران نانو فناوری فردانگر) و شاهد بدون نانو ذرات تهیه گردید. برای هر تیمار ۲۰ پتری دیش و در هر پتری دیش ۵ بذر استفاده شد. پتری دیش‌ها در اتاق کشت و فتوپریود ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی و دمای $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ نگهداری شدند. تیمار با نانونقره در دو نوبت و به فاصله یک ماه با عمل واکشت انجام شد. دانه‌رست‌ها بعد از ۶۰ روز برداشت شدند و برای اندازه‌گیری پارامترهای رشد و نیز آنالیزهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی آناتومی

نمونه‌ها ابتدا در مخلوط آب، گلیسرین و الکل اتانول ۹۶٪ با نسبت‌های برابر تثبیت شدند. سپس با روش دستی و به کمک تیغ از ساقه و ریشه مقطع عرضی تهیه شد. نمونه‌ها برای رنگ آمیزی به ترتیب ۶۰ دقیقه در آب ژاول، یک دقیقه در آب اسید ۴٪، یک دقیقه در سبز متیل و در خاتمه ۶۰ دقیقه در داخل کارمن زاجی قرار گرفتند؛ در فاصله‌ی هر مرحله مقاطع تهیه شده با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از پایان رنگ آمیزی، نمونه‌ها با میکروسکوپ (Olympus BX51) بررسی شدند سپس بهترین نمونه انتخاب و با دوربین Olympus DP12 عکس برداری شد. کلیه‌ی اندازه‌گیری‌ها با استفاده از نرم افزار Image tools (version 3) انجام شد.

مطالعه‌ی محتوای پروتئین

برای استخراج پروتئین، یک گرم از بافت تر گیاه با استفاده از بافر فسفات ۰/۱ مولار با $\text{pH}=7.2$ محتوی ۱ میلی مولار EDTA در دمای ۴ درجه سلیسیوس در هاون سرد، ساییده و هموژنیزه شد. در خاتمه محلول هموژنیزه شده با استفاده از میکروسانتریفیوژ (spectrafuge مدل ۲۴) در دمای ۴ درجه سلیسیوس در 12236 g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس روشناور حاصل بعد از تعیین حجم، برای تعیین محتوای پروتئین مورد استفاده قرار گرفت. محتوای پروتئین کل به روش برادفورد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل CE1021 در طول موج ۵۹۵ نانومتر تعیین مقدار گردید (Bradford, 1976).

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها و سنجش پرولین آزاد

به منظور سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء بر اساس میزان مالون دی آلدئید (MDA) تولیدشده، از روش Heath & Packer (۱۹۶۸) استفاده شد. بدین منظور مقدار ۰/۳ گرم بافت تر توسط ۵ میلی لیتر TCA (تری کلرواستیک اسید) ۰/۱ درصد استخراج شد. سپس عصاره‌ی به‌دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. در مرحله بعدی به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل از سانتریفوژ مقدار ۱ میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد TCA حاوی ۰/۵ درصد تیو باریتوریک اسید اضافه شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس حمام آب گرم قرار داده شد و نمونه‌ها به سرعت سرد گردید. بعد از این مراحل مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط و ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. در نهایت جذب محلول رویی حاصل از سانتریفوژ در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار مالون دی آلدئید (با ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی‌مول بر سانتی متر) براساس نانومول در گرم وزن تر محاسبه گردید

برای سنجش پرولین آزاد، مقدار ۰/۱ گرم از نمونه‌ی خشک تا یکنواخت شدن کامل با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ درون هاون به مدت ۵ دقیقه ساییده شد؛ سپس با ۳۵۰۰ rpm سانتریفوژ و حجم روشن‌آور تعیین گردید. ۲ میلی‌لیتر از روشن‌آور حاصل، ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال در لوله آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب جوش (دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد) قرار گرفت؛ پس از طی این زمان برای رسیدن محلول به دمای محیط بلافاصله به حمام یخ انتقال یافت و واکنش در این مرحله پایان یافت. سپس به هر لوله میزان ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه ورتکس شد؛ سپس جذب فاز فوقانی توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل E80K در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. (Bates *et al.*, 1973).

سنجش میزان رنگی‌های فتوسنتزی و تغییرات فلورسانس کلروفیل

برای سنجش میزان رنگی‌های فتوسنتزی ۰/۲ گرم بافت تر برگ با کمک ۴ml استون ۸۰٪ ساییده شد و پس از سانتریفوژ، جذب روشن‌آور در طول موج‌های ۶۶۳/۲ nm، ۶۴۶/۸ nm و ۴۷۰ nm با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری (مدل CE1021) خوانده شد. میزان رنگی‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر برحسب mg/g وزن تر محاسبه شد (Lichthenthale, 1987).

$$\text{Chl a} = (12/25 A_{663/2} - 2/79 A_{666/8})$$

$$\text{Chl b} = (12/21 A_{666/8} - 5/1 A_{663/2})$$

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

$$C_{x+c} = (1000 A_{470} - 1/8 \text{Chl a} - 85/0.2 \text{Chl b})/198$$

Chl T = کلروفیل کل، C = کاروتنوئید، x = گزانتوفیل، c = کاروتن

اندازه‌گیری تغییرات فلورسانس کلروفیل به کمک دستگاه PAM 2500 انجام شد. داده‌های حاصل برای محاسبه میزان فلورسانس کلروفیل استفاده شد.

سنجش عناصر

یک گرم ماده خشک از هر تیمار با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ (۶۵٪) و ۵ میلی‌لیتر پرکلریک اسید ۷۰٪ هضم اسیدی شدند سپس محلول حاصل با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و با کمک کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد (Richard, 1954). برای سنجش عناصر سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم فتومتر JENWAY مدل PFP7 و عنصر فسفر از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل LE80K استفاده شد.

آنالیز آماری

تمام آزمایش‌ها با ۳ بار تکرار، به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای آنالیزهای آماری از نرم افزار SPSS (Version 18) استفاده گردید. برای تعیین اختلاف معنی‌دار بین آنها، آنالیزها از طریق واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون Duncan در سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار Graphpad Prism (ویرایش ۸) رسم گردید.

نتایج

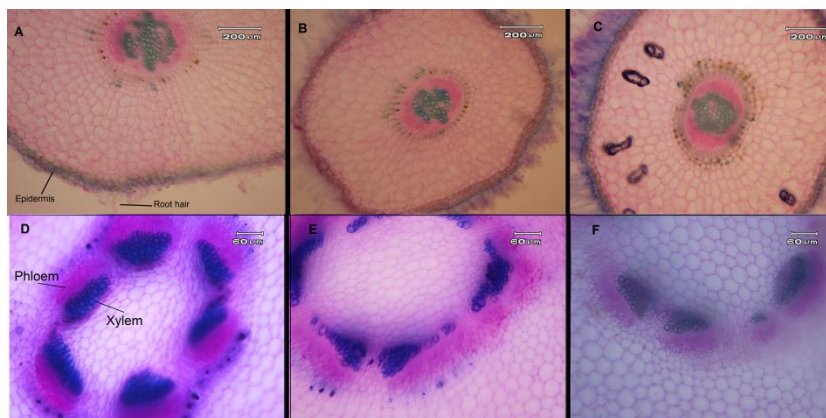
بررسی تغییرات مورفولوژیک و تشریحی

وجود نانوذرات نقره در محیط کشت درصد جوانه زنی بذر را از حدود ۷۰ درصد در نمونه شاهد تا ۸۷ و ۹۰ درصد در نمونه‌های تحت تیمار ۵ و ۷ پی‌پی‌ام افزایش داد. همچنین میزان زی‌توده‌ی خشک گیاه در نمونه‌های تحت تیمار ۵ پی‌پی‌ام به میزان ۱۲ درصد افزایش و در تیمار ۷ پی‌پی‌ام نانو نقره به مقدار ۲۵ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد (محمدی و حسین زاده، ۱۳۹۳). بررسی‌های ریخت‌شناسی وضعیت تارهای کشنده مشخص کرد که طول تار کشنده در دو غلظت ۵ و ۷ ppm نانونقره نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشتند. همچنین ضخامت اپیدرم در غلظت ۵ پی‌پی‌ام افزایش غیر معنی‌دار ولی در غلظت ۷ پی‌پی‌ام نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۱).

جدول ۱: تغییرات آناتومیکی ریشه گیاه گلرنگ تحت تیمار با نانو نقره. اعداد میانگین سه بار تکرار هستند. حروف غیر مشابه بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند ($p \leq 0.05$).

عناصر/تیمار	شاهد	۵ پی پی ام	۷ پی پی ام
طول تار کشنده (μm)	581.05 ± 26.45 a	42.11 ± 10.11 b	58.14 ± 3.18 c
ضخامت اپیدرم ریشه (μm)	109.11 ± 47.24 a	114.63 ± 26.26 a	113.11 ± 54.31 b

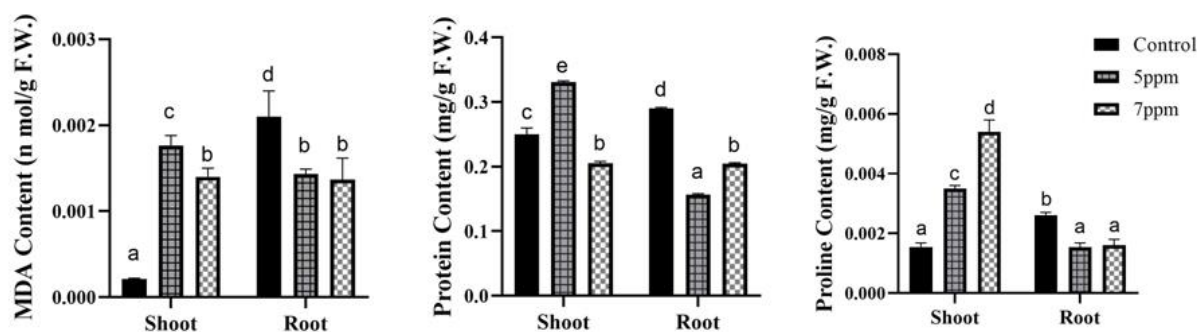
همراه با افزایش غلظت نانونقره ضخامت ناحیه گزیلمی ساقه به صورت معنی‌داری کاهش نشان داد. همچنین لایه‌ی اسکلرانسیم در غلظت ۵ پی‌پی‌ام نانونقره نسبت به شاهد به طور معنی‌داری کاهش نشان داد و این لایه در غلظت ۷ ppm نانونقره به کلی آسیب دید و اثری از آن در برش‌گیری‌های عرضی مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۱: نمایش مقطع عرضی ریشه (بالا) و ساقه (پایین) گیاه گلرنگ: (A و D) شاهد، (B و E) نمونه‌ی رویش یافته در غلظت ۵ ppm نانونقره و (C و F) نمونه‌ی رویش یافته در غلظت ۷ ppm نانونقره

بررسی تغییرات بیوشیمیایی

بررسی میزان MDA در غلظت‌های به کار رفته نانو نقره نشان داد میزان پراکسیداسیون لیپید در ریشه نسبت به شاهد کاهش و در اندام هوایی به طرز معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۲). محتوای پروتئین در اندام هوایی گیاه گلرنگ در غلظت ppm



۵ نانونقره نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری افزایش و در غلظت ۷ ppm نانونقره نسبت به شاهد کاهش یافت. همچنین مقادیر پروتئین در ریشه در هر دو غلظت نانونقره نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری کاهش نشان داد (شکل ۲). میزان پرولین نیز در اندام هوایی گیاه در غلظت‌های ۵ و ۷ پی‌پی‌ام نانونقره در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد در حالی که این روند در ارتباط با ریشه کاهشی بود (شکل ۲).

شکل ۲: تغییرات محتوای MDA، پروتئین و اسید آمینه‌ی پرولین در گیاه گلرنگ در اندام هوایی و ریشه تحت تیمار با نانو نقره در دو غلظت ۵ و ۷ ppm. اعداد میانگین سه‌بار تکرار هستند. ستون‌هایی با حروف غیر مشابه بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($p \leq 0.05$).

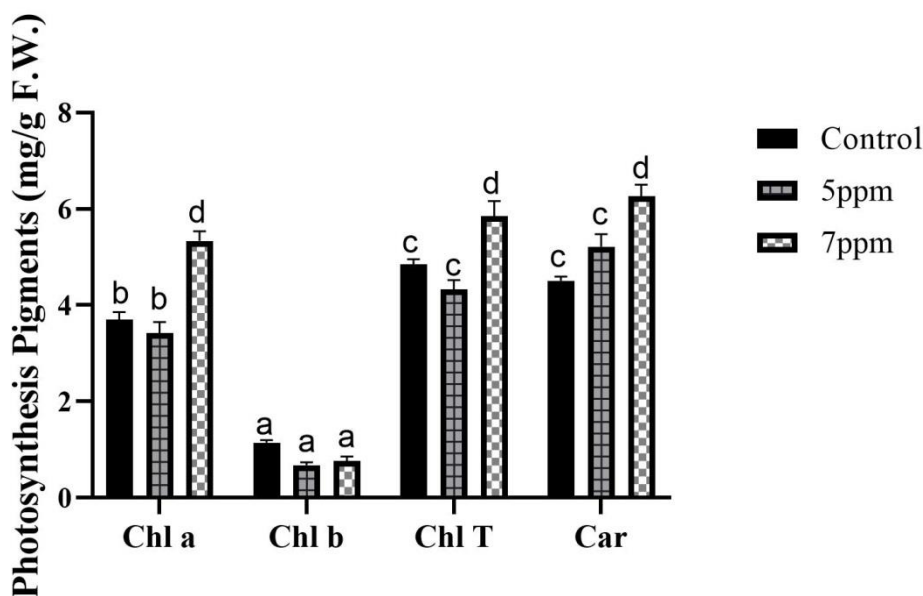
محتوای سدیم و فسفر تحت تیمار ۵ پی پی ام نانو نقره کاهش معنی داری نشان داد در حالی که محتوای این عناصر در غلظت ۷ پی پی ام نانو نقره به صورت غیر معنی داری افزایش یافت. نتایج همچنین نشان داد تیمار با نانو نقره در هر دو غلظت میزان عنصر پتاسیم را به صورت معنی داری کاهش داده است (جدول ۲).

جدول ۲: مقدار عناصر (mg/g D.W.) در اندام هوایی نمونه های شاهد و تحت تیمار ۵ و ۷ ppm نانو نقره. اعداد میانگین سه بار تکرار هستند. حروف غیر مشابه بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند ($p \leq 0.05$).

عنصر/تیمار	شاهد	۵ پی پی ام	۷ پی پی ام
سدیم	b $132 \pm 2/47 \pm 0/$	a $0/48 \pm 0/02$	b $2/80 \pm 0/10$
پتاسیم	c $2/37 \pm 0/015$	a $1/27 \pm 0/02$	b $1/82 \pm 0/03$
فسفر	b $0/61 \pm 0/02$	a $0/12 \pm 0/001$	b $0/70 \pm 0/01$

بررسی اثر نانو نقره بر فتوسنتز

به منظور بررسی اثر تیمار نانوذره ی نقره بر رنگیزه های فتوسنتزی، محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در اندام هوایی گیاه مورد سنجش قرار گرفت. مقدار کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید تحت تیمار با نانو ذرات نقره با غلظت ۷ پی پی ام نسبت به شاهد روند افزایشی نشان داد؛ در حالی که غلظت ۵ پی پی ام نانو نقره منجر به کاهش غیر معنی دار در محتوای این ترکیبات گردید. محتوای کلروفیل b تحت تیمار با نانو نقره تغییر معنی داری نشان نداد (شکل ۳).



شکل ۳: تغییرات محتوای رنگیزه های فتوسنتزی در گیاه گلرنگ در اندام هوایی و ریشه ی تیمار با نانو نقره در دو غلظت ۵ و ۷ ppm. اعداد میانگین سه بار تکرار هستند. ستون هایی با حروف غیر مشابه بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند ($p \leq 0.05$).

مقادیر Fo و Fm در تیمارهای ۵ و ۷ پی‌پی‌ام نانونقره نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش نشان داد. در حالی که Fv/Fm در هر دو غلظت نسبت به شاهد تغییر معنی‌داری نشان نداد (جدول ۳).

جدول ۳: فلورسانس کلروفیل در نمونه‌های شاهد و تحت تیمار ۵ و ۷ ppm نانو نقره. اعداد میانگین سه بار تکرار هستند. حروف غیر مشابه بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند ($p \leq 0.05$).

پارامترهای فتوسنتزی/ تیمار	شاهد	۵ پی پی ام	۷ پی پی ام
Fo	0/19±0/02 a	0/42±0/015 b	0/52±0/02 c
Fm	0/38±0/03 a	1/39±0/03 b	1/68±0/03 c
Fv/Fm	0/74±0/017 a	0/69±0/014 a	0/69±0/0018 a

بحث

با در نظر گرفتن مقدار وزن خشک به عنوان فاکتور نهایی تاثیرگذاری نانوذرات نقره بر گیاه، می‌توان این جمع‌بندی را مطرح کرد که نانوذره نقره در غلظت ۵ پی‌پی‌ام اثر مثبت و در غلظت ۷ پی‌پی‌ام اثر منفی بر رشد گیاه داشته است، اما تعیین سطح آستانه سمیت نیازمند مطالعه بیشتر است. مطالعات پیشین نیز در گیاهان مختلف که در آنها گیاهان تحت تاثیر تیمارهای زیر ۱۰ پی‌پی‌ام نانونقره قرار داده شدند، اثرات منفی و مثبت بر رشد گزارش شده است که این موضوع بسته به غلظت تیمار و گونه‌ی گیاه پاسخ متفاوتی داده است (جدول ۴).

جدول ۴: اثر مثبت (+) و منفی (-) غلظت‌های ≤ 10 ppm نانو ذرات نقره بر فاکتورهای مختلف در گیاهان مختلف

منبع	کلروفیل	تنش اکسایشی	پروکلین	محتوای پروتئین	تنش اکسایشی	MDA	القای رشد ریشه	بیوماس	جوانه زنی
Al-Huqail <i>et al.</i> , 2018	-		+	-			-	-	
Vishwakarma <i>et al.</i> , 2017		+			+				
Abd-Alla <i>et al.</i> , 2016								-	
Homaee and Ehsanpour 2016		+			+				
Zou <i>et al.</i> , 2016	-	+		-	+	+			
Nair and Chung 2014, Kaveh <i>et al.</i> , 2013, Wang <i>et al.</i> , 2013					+	+	+	+	
Nair and Chung 2014b, Thuesombat <i>et al.</i> , 2014	-		+			+		-	-
Jasim <i>et al.</i> , 2017						+	+	+	+

یعد از قرار گرفتن گیاهان در معرض نانو ذرات نقره تغییراتی در مورفولوژی گیاهان در معرض گزارش شده است . Krizkova و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده کردند با افزایش مقدار نقره، چوب پنبه ای شدن اپیدرم در گیاه آفتابگردان افزایش می یابد. افزایش ضخامت اپیدرم که توسط برخی محققان تحت تیمار با فلزات سنگین گزارش شده است می تواند به علت تلاش گیاه در جلوگیری از جذب بیشتر فلزات سنگین باشد (Melo et al., 2007). چنانچه در مطالعه ای که توسط AI-Saadi و همکاران (۲۰۱۳) بر گیاه پتاژتون تحت تیمار با نقره در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر صورت گرفت نشان داده شده است که ضخامت لایه های اپیدرمی تحت تیمار افزایش یافته است. همچنین علت افزایش تعداد و طول تارهای کشنده ممکن است در ارتباط با نقش آنها در جذب آب و املاح باشد. با توجه به اینکه گیاه برای مقابله با تنش به مواد بیشتری نیاز دارد، این کار را با افزایش تارهای کشنده انجام می دهد.

یکی از سازوکارهای اصلی سمیت سلولی توسط نانوذرات نقره، تولید انواع فعال اکسیژن (ROS) است که منجر به تنش اکسیداتیو در سلول های گیاهی می شود (Tripathi et al., 2017, Nair et al., 2010). لیپیدها و پروتئین ها در شرایط تنش زا به علت وجود انواع فعال اکسیژن در معرض تخریب قرار دارند (Prasad, 1996). در این تحقیق افزایش محتوای مالون دی آلدئید در اندام هوایی تحت تیمار نانو نقره نشان از پراکسیداسیون لیپیدها تحت تنش اکسایشی حاصل از ذرات نانو نقره دارد (Parveen et al., 2014). گزارش های پیرامون القای تنش اکسایشی و افزایش محتوای مالون دی آلدئید در گیاهان مختلف وجود دارد که در جدول ۴ ذکر شده و در تطابق با یافته های پژوهش حاضر است.

پروتئین ها محصولات نهایی مسیرهای اطلاعاتی سلول هستند که در پاسخ به نیازهای سلول در شرایط مختلف ساخته می شوند و در صورت نیاز تخریب می گردند و یا میزان بیان آنها تغییر می یابد. در مطالعه ای که توسط رضوی زاده (۱۳۹۸) بر گیاه گوجه فرنگی تحت تیمار نانو نقره انجام گرفت، نشان داده شد که پروتئین کل محلول گیاه با افزایش غلظت نانو ذره در اندام هوایی افزایش و در ریشه نسبت به شاهد کاهش نشان داد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد (جدول ۴). کاهش محتوای پروتئین تحت تنش فلزات سنگین ممکن است به علت افزایش فعالیت پروتئاز (Palma et al., 2002)، تغییرات عملکردی و ساختاری ناشی از دناتورده شدن و قطعه قطعه شدن پروتئین ها و فعل و انفعال با باقیمانده های تیول پروتئین (John et al., 2009) باشد. همچنین افزایش محتوای پروتئین تحت تنش فلزات سنگین ممکن است در ارتباط با تحریک سنتز پروتئین های تنش (Mishra et al., 2006, Verma et al., 2003) باشد.

به منظور جلوگیری از اثرات مخرب ناشی از ROS ها، مجموعه ای از مکانیسم های دفاعی پادااکسایشی در سلول های گیاهی فعال می شوند (Rico et al., 2015). اسمولیت های سازگار از جمله پرولین به عنوان سیستم پادااکسایشی غیر آنزیمی نقش مهمی در جاروب کردن انواع فعال اکسیژن بر عهده دارند (Chen & Murata, 2002). پرولین همچنین در تنظیم اسمزی،

بازسازی ساختار کلروفیل، حفاظت از آنزیم‌ها در برابر دنا توره شدن، پایدار کردن ماکرومولکول‌ها و اندامک‌ها دارای نقش می‌باشد (Rastgoo *et al.*, 2011). در تحقیق حاضر افزایش معنی‌دار مقدار پرولین در برگ گیاه گلرنگ تحت تیمار با نانو نقره مشاهده شد که با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (جدول ۴).

آنالیز فلورسانس کلروفیل یکی از تکنیک‌های مورد استفاده در بررسی فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی گیاه است (Maxwell *et al.*, 2000).

در حقیقت مقدار فلورسانس کلروفیل، سالم بودن غشای تیلاکوئیدی و کارایی نسبی انتقال الکترون را از فتوسیستم II به فتوسیستم I نشان می‌دهد. نسبت Fv/Fm نشان دهنده‌ی هرگونه آسیب به فتوسیستم II می‌باشد. فلورسانس کلروفیل به طور مستقیم به فعالیت کلروفیل در مرکز واکنش فتوسیستم‌ها ارتباط دارد و وجود هرگونه آشفتنگی، منجر به کاهش حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم در شرایط سازگار با تاریکی (Fv/Fm) می‌گردد. شاخص Fv/Fm میزان تولید کوانتومی ذاتی PSII را اندازه‌گیری می‌کند و به همین ترتیب باید برای تولید حداکثر کوانتومی با مبادله‌ی گاز فتوسنتز ارتباط داشته باشد و در صورت بروز تنش سبب کاهش کارایی انتقال الکترون می‌شود (Tezara *et al.*, 2002). در تحقیق حاضر مقدار Fo و Fm با افزایش غلظت نانونقره، افزایش داشته است. هر عاملی که باعث اختلال در کارایی زنجیره انتقال الکترون گردد، می‌تواند فلورسانس کلروفیل را تشدید نماید (اسدی نسب، ۱۳۹۰)، بنابراین مشخص می‌شود که نانونقره تا حدی در کارایی زنجیره‌ی انتقال الکترون اختلال ایجاد کرده است. همچنین تیمار با نانو نقره نسبت Fv/Fm را به طور غیر معنی‌داری کاهش داده است. Jowkar و همکاران (۲۰۱۳) تغییرات فلورسانس کلروفیل را در گل‌های رز بررسی کردند و نشان دادند که در گل‌های رز با افزایش غلظت نانونقره کاهش نسبت Fv/Fm مشاهده شد.

اتیلن در افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز موثر است (Nejatzadeh *et al.*, 2014). در نتیجه با افزایش غلظت نانونقره و به عنوان بازدارنده اتیلن، انتظار می‌رود مقدار کلروفیل افزایش یابد (Reid *et al.*, 1980) که چنین حالتی نیز در این تحقیق مشاهده گردید. از سوی دیگر کاهش در مقدار کلروفیل ممکن است به دلیل اثرگذاری فلز سنگین نقره بر فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی کلروفیل و جایگزین شدن آن به جای Mg در ساختار کلروفیل رخ دهد (Rastgoo *et al.*, 2011). افزایش محتوای کاروتنوئید می‌تواند در حفاظت از سلول در برابر تنش فلزات سنگین (در اینجا نقره) نقش داشته باشد. کاروتنوئیدها به عنوان رنگیزه آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی می‌تواند کلروفیل را در برابر ROS تحت تنش محافظت کند (Rastgoo *et al.*, 2011). نتایج به‌دست آمده نشان داد غلظت ۷ ppm توانست با افزایش میزان کاروتنوئیدها تا حدودی کلروفیل a را که در مراکز واکنش فتوسیستم‌ها است حفظ کند تا بتواند به فتوسنتز خود ادامه دهد. Jowkar و همکاران (۲۰۱۳) افزایش معنی‌دار کلروفیل را در تمام نمونه‌های تحت تیمار نانونقره مشاهده کردند. اثرات منفی نانوذرات نقره بر میزان کلروفیل پیشتر گزارش شده است (جدول ۴). اما در مواردی نیز اثر القایی نانوذره‌ی نقره بر تولید کلروفیل اعلام شده است؛ در پژوهشی که توسط Homae و Ehsanpour

در سال ۲۰۱۵ انجام شده است نشان داده است که میزان کلروفیل به طور معنی داری در غلظت‌های پایین نانو ذرات نقره افزایش و در سطوح بالاتر این تیمار کاهش داشته است. بنابراین در گیاهان مختلف بسته به غلظت تیمار پاسخ‌های متفاوتی مشاهده شده است.

نانو ذرات نقره در فضای بین سلولی گیاه تجمع پیدا می‌کنند. به نظر می‌رسد نقره از میان پلاسمالما از طریق بخش شناسایی کننده کاتیون جذب می‌شود. (Koontz et al., 1980). پتاسیم، از عناصر معدنی پرمصرف است که در داخل گیاه به صورت K^+ حضور دارد و در تنظیم اسمزی سلول‌های گیاهی نقش مهمی بازی می‌کند. پتاسیم در فعال‌سازی بسیاری از آنزیم‌های تنفسی و فتوسنتزی نقش دارد. فسفر در ذخیره انرژی و یکپارچگی ساختمانی اهمیت دارد و به صورت فسفات جزء لازمی از ترکیبات مهم سلول‌های گیاهی از جمله حدواسط‌های قند-فسفات تنفس و فتوسنتز می‌باشد و فسفولیپیدهای غشایی را به وجود می‌آورد. همچنین فسفر جزئی از نوکلئوتیدهای مصرف شده در متابولیسم انرژی (مثل ATP) و سنتز DNA و RNA می‌باشد (کریمی مریدانی، ۱۳۹۲).

Bhatti و همکاران (۲۰۱۳) محتوای سدیم و پتاسیم را در ریشه و ساقه‌ی گندم تحت تنش فلزات سنگین (Pb) سنجیدند؛ در هر دو اندام، محتوای سدیم و پتاسیم کاهش نشان داد زیرا فلزات سنگین تغییرات بیوشیمیایی و ساختاری در گیاه ایجاد می‌کنند. Karimi و همکاران (۲۰۱۳) مقدار عناصر فسفر و پتاسیم و سدیم را تحت تنش فلزات سنگین در ساقه‌ی لوبیا بررسی کردند. آنها با افزایش غلظت کادمیوم و نیکل، کاهش فسفر را مشاهده کردند؛ همچنین مقدار پتاسیم در برابر فلز نیکل، افزایش و با افزایش غلظت سرب، کاهش نشان داد. غلظت سدیم در تنش کادمیوم، سرب و نیکل نسبت به شاهد افزایش نشان داد. آنها همچنین ریشه‌ی لوبیا را بررسی کردند فسفر در تیمار با نیکل در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد زیرا فلزات سنگین با اثر سمیت خود در جذب مواد مغذی و رشد گیاه موثرند.

نتیجه‌گیری

تیمار نانوذره‌ی نقره در غلظت‌های ۵ و ۷ پی پی ام می‌تواند در افزایش میزان جوانه زنی بذرهای گیاه گلرنگ به کار گرفته شود. غلظت ۵ پی پی ام نانوذره اثر تحریکی بر رشد گیاه گلرنگ دارد ولی اثرات سمی غلظت ۷ پی پی ام بر رشد گیاه مشهود است. بطور کلی به نظر می‌رسد اثرات منفی نانوذره‌ی نقره بر رشد گیاه گلرنگ از طریق ایجاد تنش اکسایشی، اختلال در جذب مواد مغذی و تا حدی اثر بر فتوسنتز ایجاد می‌شود. گیاه گلرنگ نیز با افزایش تعداد لایه‌های اپیدرمی در ریشه به منظور ممانعت در جذب این فلز سنگین، القای تولید پرولین و کارتنوئید برای مقابله با تنش اکسایشی ایجاد شده و نیز تغییر در مقدار سایر پروتئین‌ها به حضور نانوذره واکنش نشان می‌دهد.

منابع

- اسدی نسب، نفیسه، حسیبی، پیمان، روشنفکر، حبیب‌الله، مسکریاشی، موسی (۱۳۹۳). « اثر تنش شوری بر رشد، فتوسنتز، تبدلات گازی و فلئورسانس کلروفیل در ارقام چغندر (*Beta vulgaris*) در مرحله گیاهچه ای تحت شرایط کنترل شده». نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. شماره ۴، جلد ۱۲، ص ۶۲۱-۶۳۱.
- رضوی زاده، رویا (۱۳۹۸). « اثر نانو ذرات نقره بر ظرفیت آنتی‌اکسیدان و الگوی پروتئین محلول کل در گیاهچه‌های گوجه در شرایط این ویترو». مجله زیست‌شناسی کاربردی. شماره ۳، دوره ۳۳، ص ۲۲-۳۸.
- کریمی مریدانی، محمد (۱۳۹۲). « نقش فسفر در حاصلخیزی خاک شالیزار ». فصلنامه نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی، سال یازدهم، شماره چهارم.
- مروتی، عفت. سحری، محمدعلی. برزگر، محسن (۱۳۸۹). « خواص فیزیکیوشیمیایی بذر و روغن گلرنگ ارقام/ لاین های ایرانی به عنوان منبع غنی از امگا ۶». فصلنامه گیاهان دارویی، سال نهم، دوره چهارم، شماره مسلسل سی و ششم
- محمدی سنجانی، عارفه، حسین زاده نمین، منیر (۱۳۹۳). « تاثیر نانو نقره کلوئیدی بر خواص آناتومی گلرنگ». کنگره ملی زیست‌شناسی و علوم طبیعی ایران.
- Abd-Alla, M.H., Nafady, N.A., Khalaf, D.M. (2016). "Assessment of silver nanoparticles contamination on faba bean-Rhizobium leguminosarum bv. viciae-Glomus aggregatum symbiosis: implications for induction of autophagy process in root nodule ". Agriculture, Ecosystems & Environment, 218:163-177.
- Al-Huqail, A.A., Hatata, M.M., Al-Huqail, A.A., Ibrahim, M.M. (2018). "Preparation, characterization of silver phyto nanoparticles and their impact on growth potential of Lupinus termis L. seedlings". Saudi Journal of Biological Sciences", 25:313-319.
- Al-Saadi, S., Al-Asaadi, W., Al-Waheeb, A. (2013). "The effect of some heavy metals accumulation on physiological and anatomical characteristic of some Potamogeton L plant". Journal of Ecology and Environmental Sciences", 4:100-108.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I. (1973). "Rapid determination of free proline for water-stress studies". Plant and soil, 39:205-207.
- Bhatti, K. et al. (2013). "Effect of heavy metal Lead (Pb) stress of different concentration on wheat (*Triticum aestivum* L.) ". Middle East Journal of Scientific Research, 14:148-154.
- 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.
- Chen, T.H., Murata, N. (2002). "Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes". Current Opinion in Plant Biology, 5:250-257.
- Cui, Z. et al. (2014). Susceptibility of opportunistic Burkholderia glumae to copper surfaces following wet or dry surface contact. Molecules, 19:9975-9985.
- Gruyer, N., Dorais, M., Bastien, C., Dassylva, N. (2013). "Triffault-Bouchet G Interaction between silver nanoparticles and plant growth". In: International Symposium on New Technologies for Environment Control, Energy-Saving and Crop Production in Greenhouse and Plant, 1037, pp 795-800.
- Heath, R.L., Packer, L. (1968). "Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation". Archives of Biochemistry and Biophysics, 125:189-198.

- Homaei, M.B., Ehsanpour, A.A. (2015). "Physiological and biochemical responses of potato (*Solanum tuberosum*) to silver nanoparticles and silver nitrate treatments under in vitro conditions". *Indian Journal of Plant Physiology*, 20:353-359.
- Jasim, B., Thomas, R., Mathew, J., Radhakrishnan, E. (2017). "Plant growth and diosgenin enhancement effect of silver nanoparticles in Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) ". *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25:443-447.
- Jo, Y-K, Cromwell, W., Jeong, H-K., Thorkelson, J., Roh, J-H., Shin, D-B. (2015). "Use of silver nanoparticles for managing *Gibberella fujikuroi* on rice seedlings". *Crop Protection*, 74:65-69.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S. (2009). "Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L". *Archives of Agronomy and Soil Science*. 55:395-405.
- Jowkar, M.M., Khalighi, A., Kafi, M., Hassanzadeh, N. (2013). "Nano silver application impact as vase solution biocide on postharvest microbial and physiological properties of 'Cherry Brandy'rose". *Journal Food Agricultur and Environment*, 11:1045-1050.
- Karimi, R., Solhi, S., Salehi, M., Solhi, M., Mollahosaini, H. (2013). "Effects of Cd, Pb and Ni on growth and macronutrient contents of *Vicia faba* L. and *Brassica arvensis* L". *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4:739-744.
- Kaveh, R., Li, Y-S., Ranjbar, S., Tehrani, R., Brueck, C.L., Van Aken, B. (2013). "Changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression in response to silver nanoparticles and silver ions". *Environmental Science & Technology*, 47:10637-10644
- Khot, L.R., Sankaran, S., Maja, J.M., Ehsani, R., Schuster, E.W. (2012). "Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection": a review *Crop protection*, 35:64-70.
- Koontz, H.V., Berle, K.L. (1980). "Silver uptake, distribution, and effect on calcium, phosphorus, and sulfur uptake". *Plant Physiology*, 65:336-339.
- Krishnaraj, C., Jagan, E., Ramachandran, R., Abirami, S., Mohan, N., Kalaichelvan, P. (2012). "Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst". *Plant Growth Metabolism Process Biochemistry*, 47:651-658.
- Krizkova, S. et al. (2008). "Multi-instrumental analysis of tissues of sunflower plants treated with silver (I) ions—plants as bioindicators of environmental pollution". *Sensors*, 8:445-463
- Lee, J.H., Mun, J., Park, J.D., Yu, I.J. (2012). "A health surveillance case study on workers who manufacture silver nanomaterials". *Nanotoxicology*, 6:667-669.
- Lichthenthale, H. (1987). "Chlorophylls end carotenoids: Pigments of photosynthetic bio membranes *Methods in Enzimilogy*". Academic Press, San Diego, 148:350-382.
- Maxwell, K., Johnson, G.N. (2000). "Chlorophyll fluorescence—a practical guide". *Journal of Experimental Botany*, 51:659-668.
- Melo, H., Castro, E., Soares, A., Melo, L., Alves, J. (2007). "Anatomical and physiological alterations in *Setaria anceps* Stapf ex Massey and *Paspalum paniculatum* L. under water deficit conditions". *Hoehnea*, 34:145-153
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R., Kumar, R., Seth, C., Gupta, D. (2006). "Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation". *Chemosphere*, 65:1027-1039.

- Murashige, T., Skoog, F. (1962). "A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures". *Physiologia plantarum*, 15:473-497.
- Nair, P.M.G., Chung, I.M. (2014a). "Assessment of silver nanoparticle-induced physiological and molecular changes in *Arabidopsis thaliana*". *Environmental Science and Pollution Research*, 21:8858-8869.
- Nair, P.M.G., Chung, I.M. (2014b). "Physiological and molecular level effects of silver nanoparticles exposure in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings". *Chemosphere*, 112:105-113.
- Nair, R., Varghese, S.H., Nair, B.G., Maekawa, T., Yoshida, Y., Kumar, D.S. (2010). "Nanoparticulate material delivery to plants". *Plant Science*, 179:154-163.
- 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.
- Oukarroum, A., Barhoumi, L., Pirastru, L., Dewez, D. (2013). "Silver nanoparticle toxicity effect on growth and cellular viability of the aquatic plant *Lemna gibba*". *Environmental toxicology and chemistry*, 32:902-907.
- Palma, J.M., Sandalio, L.M., Corpas, F.J., Romero-Puertas, M.C., McCarthy, I., Luis, A. (2002). "Plant proteases, protein degradation, and oxidative stress: role of peroxisomes". *Plant Physiology and Biochemistry*, 40:521-530.
- Parveen, A., Rao, S. (2015). "Effect of nanosilver on seed germination and seedling growth in *Pennisetum glaucum*". *Journal of Cluster Science*, 26:693-701.
- Patlolla, A.K., Berry, A., May, L., Tchounwou, P.B. (2012). "Genotoxicity of silver nanoparticles in *Vicia faba*: a pilot study on the environmental monitoring of nanoparticles". *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9:1649-1662.
- Pulit, J., Banach, M., Kowalski, Z. (2011). "Nanosilver-making difficult decisions". *Ecological Chemistry Engineering*, 1:185-196.
- Rastgoo, L., Alemzadeh, A. (2011). "Biochemical responses of Gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress". *Australian Journal of Crop Science*, 5:375.
- Reid, M.S., Paul, J., Farhoomand, M., Kofranek, A., Staby, G. (1980). "Pulse treatments with the silver thiosulfate complex extend the vase life of cut carnations". *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 105:25-27.
- Rico, C., Peralta-Videa, J., Gardea-Torresdey, J. (2015). "Chemistry, biochemistry of nanoparticles, and their role in antioxidant defense system in plants". In: *Nanotechnology and Plant Sciences*. Springer, pp 1-17
- Salama, H.M. (2012). "Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.) ". *International Research Journal of Biotechnology*, 3:190-197.
- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M., Saradhi, P.P., Khanna, P., Arora, S. (2012). "Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167:2225-2233.
- Talat, K., Anwar, S. (2009). "Somatic embryogenesis and plantlet regeneration in safflower (*Carthamus tinctorius* L) ". *Biotechnology Advances*, 9:28-31.
- Tezara, W., Mitchell, V., Driscoll, S., Lawlor, D. (2002). "Effects of water deficit and its interaction with CO₂ supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower". *Journal of Experimental Botany*, 53:1781-1791.

- Thuesombat, P., Hannongbua, S., Akasit, S., Chadchawan, S. (2014). "Effect of silver nanoparticles on rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105) seed germination and seedling growth". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104:302-309.
- Tripathi, D.K. et al. (2017). "Uptake, accumulation and toxicity of silver nanoparticle in autotrophic plants, and heterotrophic microbes: a concentric". *Frontiers in microbiology*, 8:7
- Verma, S., Dubey, R. (2003). "Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants". *Plant Science*, 164:645-655.
- Vishwakarma, K. et al. (2017). "Differential phytotoxic impact of plant mediated silver nanoparticles (AgNPs) and silver nitrate (AgNO₃) on Brassica sp". *Frontiers in Plant Science*, 8:1501.
- Wang, J. et al. (2013). "Phytostimulation of poplars and Arabidopsis exposed to silver nanoparticles and Ag⁺ at sublethal concentrations". *Environmental science & technology*, 47:5442-5449.
- Zou, X., Li, P., Huang, Q., Zhang, H. (2016). "The different response mechanisms of *Wolffia globosa*: light-induced silver nanoparticle toxicity". *Aquatic Toxicology*, 176:97-105.

The effect of silver nanoparticles treatment on some physiological and biochemical responses of safflower

A. Mohammadi Sanjani¹, M. Hosseinzadeh Namin^{2*}, M. Sorahinobar³

Received:2020.4.18

Accepted:2020.9.6

Abstract

Silver nanoparticles are widely used in industry, medicine, biotechnology and agriculture. As a consequence, these nanoparticles are reaching the environment as waste products, which might have a negative impact on the environment, especially on plants. In this study, the effects of two concentrations (5 and 7 ppm) of silver nanoparticles on safflower (*Carthamus tinctorius*) were investigated in vitro. Increased germination rate of plants from 70% (in non treated control) up to 90% (in 7 ppm nanosilver treated seeds) was observed. 5% higher dry weight biomass in 5 ppm nanosilver treated plants and 12% lower biomass in 7% treated ones compared to their non-treated controls confirmed that the toxicity threshold level is between these two concentrations. Increased thickness of epidermis layer and root hairs length as well as deletion of scleranchima cells in roots under silver nanoparticle treatment was observed in anatomical study of safflower. The results also showed a remarkable decrease in proline content in root while induction of MDA and proline contents were observed in shoot under nanosilver treatment which can be an indicator for induction of oxidative stress in shoot. Moreover, nanosilver causes induction of chlorophyll a, total chlorophyll and carotenoid content in safflower.

Keywords: Carotenoid, Chlorophyll, Oxidative stress, Proline, Safflower, Silver nanoparticles

1-Master Student of Plant Physiology, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Al-Zahra University, Tehran, Iran

2-Associate Professor, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Al-Zahra University, Tehran, Iran

*(Corresponding Author: Monirhosseinzade@yahoo.com)

3-Assistant Professor, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Al-Zahra University, Tehran, Iran