



## به‌زرای کشاورزی

دوره ۲۳ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۴۰۰

صفحه‌های ۸۷۰-۸۵۵

DOI: 10.22059/jci.2021.307346.2427

مقاله پژوهشی:

### ارزیابی واکنش‌های رشدی، خصوصیات بیوشیمیایی، ظرفیت تبادلات گازی و عملکرد فتوسیستم II گیاه سیاه‌دانه تحت تیمار نانوذره نقره

سارا بنی ابراهیم<sup>۱</sup>، لیلا پیشکار<sup>۲\*</sup>، علیرضا ایرانبخش<sup>۳</sup>، داریوش طالعی<sup>۴</sup>، گیتی برزین<sup>۲</sup>  
۱. دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.  
۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.  
۳. استاد، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.  
۴. استادیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.  
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۹/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۱۱/۱۹

#### چکیده

به‌منظور بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه دارویی سیاه‌دانه تحت غلظت‌های مختلف نانوذره نقره (صفر، ۲/۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر)، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار در گلخانه دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. صفات رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنتوسیانین، محتوای پرولین، گلاسیسین بتائین، فندهای محلول و نامحلول، ترکیبات فنلی و پارامترهای تبادلات گازی و فلورسانس دستگاه فتوسنتزی در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تیمار نانوذره نقره در غلظت‌های بالا (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) به‌طور معنی‌داری از تولید زیست‌توده و رشد ریشه و ساقه ممانعت کرد و باعث کاهش رنگیزه‌های کلروفیل a و b شد، درحالی‌که تیمار نانوذره نقره محتوای کاروتنوئیدها، پرولین، گلاسیسین بتائین، فندهای محلول، آنتوسیانین و ترکیبات فنلی را نسبت به شاهد افزایش داد. با افزایش غلظت نانوذره نقره، نسبت فتوستت، نسبت تعرق، هدایت روزنه‌ای، ماکسیمم عملکرد کوانتومی فتوسیستم II، ضریب خاموشی فتوشیمیایی و عملکرد کوانتومی مؤثر فتوشیمیایی فتوسیستم II کاهش یافت. بررسی فلورسانس کلروفیل a نشان داد غلظت‌های بالای نانوذره نقره باعث ممانعت انتقال انرژی از کمپلکس دریافت‌کننده نور به مرکز واکنش، تخریب کمپلکس تجزیه‌کننده آب در فتوسیستم II و غیرفعال شدن مرکز واکنش فتوسیستم II شد. نتایج کلی نشان داد که تیمار با نانوذره نقره باعث القای مکانیسم بازدارندگی بر فرایند فتوستت و در نتیجه، تولید زیست‌توده گیاه سیاه‌دانه شد.

**کلیدواژه‌ها:** پرولین، فلورسانس کلروفیل، گلاسیسین بتائین، نانوذره نقره.

### Evaluation of growth, biochemical parameters, gas exchange capacity and photosystem II performance responses in black cumin plants under silver nanoparticles treatment

Sara Baniebrahimi<sup>1</sup>, Leila Pishkar<sup>2\*</sup>, Alireza Iranbakhsh<sup>3</sup>, Daryush Talei<sup>4</sup>, Giti Barzin<sup>2</sup>

1. Ph.D. Candidate, Department of Biology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Biology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran.
3. Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Assistant Professor, Medicinal Plants Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.

Received: December 16, 2020

Accepted: February 7, 2021

#### Abstract

In order to investigate the physiological responses of black cumin seed (*Nigella sativa* L.) under different concentrations of silver nanoparticles (0, 2.5, 5, 10, 20, 40, and 80 mg/L AgNPs), a completely randomized design experiment is conducted with 5 replications in the greenhouse of Shahed University in 2018. In the present study, growth traits, photosynthetic pigments, anthocyanins, proline content, glycine betaine, soluble and insoluble sugars, phenolic compounds and gas exchange, and fluorescence parameters of the photosynthetic apparatus are investigated. The results show that the AgNPs treatments significantly inhibit biomass production and the growth of root and shoot, decreasing the contents of chlorophyll a and b at high concentrations (20, 40 and 80 mg/L), while the AgNPs treatments increase the content of carotenoids, proline, glycine betaine, soluble sugars, anthocyanins, and phenolic compounds, compared to the control. By increasing the concentration of AgNPs, photosynthetic rate, transpiration rate, stomatal conductance, the maximal quantum yield of PSII photochemistry, photochemical quenching coefficient, and effective quantum yield of PSII photochemistry decline. Measurement of fluorescence show strong evidence of inhibitory effects on energy transfer from light harvesting complexes to reaction centers, the deterioration of the PSII water splitting system and the inactivation of PSII reaction centers at high concentrations of AgNPs. In conclusion, the results demonstrate that AgNPs induce an inhibitory mechanism on photosynthetic processes and biomass of black seed plants.

**Keywords:** Chlorophyll fluorescence, glycine betaine, proline, silver nanoparticle.

## ۱. مقدمه

امروزه فناوری نانو باعث عرضه تعداد زیادی از محصولات نانو شده است که نانوذرات نقره یکی از گسترده‌ترین محصولات مصرفی هستند. نانوذرات نقره به‌خاطر فعالیت‌های ضدباکتری و ضدقارچی در صنعت داروسازی مفید هستند و به‌عنوان ترکیبات فعال، در تولید مواد شوینده‌ها نیز استفاده زیادی از آن‌ها می‌شود (Pal et al., 2007). مقدار زیادی از نانوذرات مانند نانوذره نقره می‌تواند جذب سطح ذرات خاک شود و به‌راحتی با جریانات آب سطحی در خاک جابه‌جا شده و در دسترس گیاهان قرار بگیرد. گزارش شده است که غلظت‌های محیطی نانوذرات نقره در آب‌های سطحی می‌تواند به بیش از یک میلی‌گرم در لیتر برسد (Boxall et al., 2007). تحت این شرایط، بسیاری از گیاهان ممکن است تحت سمیت نانوذره نقره قرار بگیرند که می‌تواند باعث اثرات منفی روی فتوسنتز و دیگر فرایندهای متابولیکی مهم مربوط به رشد گیاه شود. مطالعات فراوانی در مورد اثرات سمی نانوذره نقره بر گونه‌ها مختلف گیاهی و جانوری انجام شده است، اما با این‌حال، مکانیسم دقیق سمیت نانوذره نقره بر جنبه‌های مختلف زیستی به‌طور دقیق شناسایی نشده است و نیازمند بررسی بیش‌تر می‌باشد (Ma et al., 2010; Oukarroum et al., 2012).

برخی از مطالعات نشان داده است که نانوذره نقره تأثیر منفی بر فرایند فتوسنتز در موجودات فتوسنتزکننده دارد که می‌تواند باعث کاهش رشد و عملکرد آن‌ها شود (Hatami et al., 2008; Navarro et al., 2016). گزارش شده است که اثرات منفی نانوذره نقره، ۱۰ برابر بیش‌تر از غلظت مشابه فرم یونی نقره می‌باشد که نشان‌دهنده سمیت بالای فرم نانوذرات فلزات سنگین نسبت به فرم یونی آن‌ها می‌باشد (Yang et al., 2019). گزارش شده است که اثرات سمی نانوذره نقره به گونه گیاهی و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانوذره بستگی دارد (Zhang et al., 2013). نانوذره نقره می‌تواند در

اندازه‌های متفاوتی ایجاد شود که ویژگی‌های سمی متفاوتی دارند. در واقع، نانوذرات نقره با اندازه کوچک‌تر، به‌خاطر افزایش در انتقال آن‌ها در سیستم زیستی، سمیت بالاتری نسبت به نانوذرات با اندازه بزرگ‌تر دارند (Zhang et al., 2013; Keet et al., 2019). همبستگی بین سطح سمیت و سطح تماس نانوذرات نقره وجود دارد، به‌طوری‌که نانوذرات نقره با نسبت سطح به حجم بالا (اندازه کوچک‌تر) میان‌کنش فعال قوی‌تری با بخش‌های مختلف سلولی و داخل سلولی برقرار می‌کنند (Lajayera et al., 2017).

در مطالعات قبلی گزارش شده است که نانوذرات نقره با قطر کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر تأثیر منفی بر رشد گیاهان *Allium cepa* و *Arabidopsis thaliana* دارند (Ma et al., 2009; Kumari et al., 2010). مطالعات نشان داده است که نانوذرات نقره با ایجاد یون نقره در داخل سلول باعث تولید انواع رادیکال‌های آزاد می‌شوند که با ایجاد تنش اکسیداتیو از فرایندهای حیاتی گیاه از جمله فتوسنتز و تنفس ممانعت می‌کند (Tripathi et al., 2017). با این‌حال، بررسی مطالعات انجام‌شده نشان داد که دلیل اصلی اثرات سمی نانوذرات نقره مشخص نیست که آیا به‌خاطر ایجاد نقره یونی می‌باشد یا این‌که به‌خاطر ویژگی‌های ذاتی نانوذره نقره می‌باشد. اما گزارش شده است که با افزایش نانوذره نقره در گیاهان، طول ریشه و میزان زیست‌توده گیاهان کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده تشدید سمیت است (Yin et al., 2011).

در مطالعه‌ای گزارش شده است که میان‌کنش نانوذرات با گیاهان اثرات متفاوتی بر جوانه‌زنی، رشد ریشه گیاه دارد که این پاسخ به خصوصیات و غلظت نانوذره و همچنین گونه گیاهی بستگی دارد (Lin & Xing 2007). یکی از اثرات منفی سمیت نانوذرات، اثر بازدارندگی فرایندهای فتوسنتزی است که باعث کاهش رشد گیاه می‌شود (Dewez et al., 2007). تغییر در فعالیت فتوسنتز بر سنتز ATP و

ارزیابی واکنش‌های رشدی، خصوصیات بیوشیمیایی، ظرفیت تبادلات گازی و عملکرد فتوسیستم II گیاه سیاه‌دانه تحت تیمار نانوذره نقره

نانوذره نقره، مقدارهای مشخص نانوذره نقره در آب دو بار تقطیر با استفاده از هموژنایزر اولتراسونیک به مدت ۳۰ دقیقه حل شد. خصوصیات نانوذره نقره با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱. مشخصات نانوذره نقره

نانوذره نقره AgNPs	پهنای نانوذره نقره (nm)	مردودری ذرات (%)	مردودری ذرات (nm)
۲۲-۱۸	کروی	۹۹	

## ۲.۲. کشت گیاه و اعمال تیمار

بذر گیاه سیاه‌دانه رقم پاکوتاه از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. بذور گیاه بعد از استریل شدن، در ظرف‌هایی حاوی پیت‌موس و پرلت استریل جوانه‌دار شدند. بعد از جوانه‌زدن، گیاهچه‌های ۱۰ روزه یک‌دست به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۴ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر حاوی ماسه (۱۰ گیاهچه در هر گلدان) منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و پنج تکرار در گلخانه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد در دمای روز/شب ۱۸/۲۵ درجه سلسیوس، مدت روشنایی ۱۴ ساعت با شدت نور ۴۰۰ وات بر مترمربع و رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد انجام شد. گیاهچه‌ها تا مرحله ۲۵ روزه با فاصله زمانی سه روز در میان با محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند. در مرحله ۲۵ روزه (۱۵ روز بعد از انتقال به گلدان) گیاهچه‌ها با هفت غلظت مختلف نانوذره نقره (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) به مدت چهار هفته به صورت متوالی با فاصله زمانی یک روز در میان تیمار شدند. در این

NADPH تأثیر می‌گذارد که باعث برهم‌زدن واکنش‌های بیوشیمیایی و فرایندهای فیزیولوژیکی و در نهایت کاهش رشد گیاه می‌شود. بنابراین، تغییر رشد سلولی تحت سمیت نانوذرات می‌تواند به‌خاطر تغییر در فعالیت فتوسیستم II باشد که به‌صورت انتشار متفاوت فلورسنس کلروفیل نشان داده می‌شود (Gerst et al., 1994). اندازه‌گیری فلورسانس، به‌عنوان نشانه‌ای از فتوشیمیایی اولیه فتوسیستم II و فعالیت انتقال الکترون، می‌تواند اطلاعات ارزشمندی از تأثیر سمیت نانوذرات بر دستگاه فتوسنتزی و در نتیجه اسیمیلاسیون کربن ایجاد کند. اندازه‌گیری‌های فلورسنس کلروفیل به‌عنوان یک روش غیرتخریبی، سریع و کارآمد برای مطالعه فعالیت فتوسنتز گیاهان تحت تنش‌های محیطی استفاده می‌شود (Salvatori et al., 2014).

گیاه سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella sativa* L. از خانواده آلاله، گیاهی است دولپه، علفی، یکساله و بومی غرب آسیا که در بیش‌تر نواحی اروپا، آسیا و ایران می‌روید. در ایران، این گیاه به‌ویژه در اراک و اصفهان به فراوانی می‌روید و از دانه‌های آن به‌عنوان ادویه استفاده می‌شود. به دلیل داشتن ماده‌ای موسوم به تیموکتون، این گیاه دارای اثر ضدتشنجی است (Matthaus & Ozcan, 2011). در این مطالعه، تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر رشد و زیست‌توده، رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنتوسیانین، ترکیبات اسمولیت، ترکیبات فنولی، پارامترهای تبادل گازی و فلورسانس کلروفیل گیاه سیاه‌دانه مورد بررسی قرار گرفت تا تأثیر سمیت نانوذره نقره بر دستگاه فتوسنتزی و میزان اسیمیلاسیون کربن مورد بررسی قرار گیرد.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲.۱. تهیه و آماده‌سازی نانوذره نقره

از نانوذره نقره شرکت آمریکایی US-NANO برای این پژوهش استفاده شد. به‌منظور تهیه غلظت‌های مختلف

شد. پرولین با قرائت جذب واکنش نین هیدرین در طول موج ۵۲۰ نانومتر طبق روش Bates et al. (1973) محاسبه شد. محتوای گلايسين بتائين برگ مطابق روش Grieve & Grattan (1983) اندازه‌گیری شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۶۵ نانومتر قرائت شد و محتوای گلايسين بتائين بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بیان شد.

محتوای قندهای محلول با استفاده از روش اسید فنل سولفوریک Kochert (1978) و قرائت جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار نشاسته برگ با استفاده از روش McCready et al. (1950) اندازه‌گیری شد و میزان جذب محلول در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده شد.

از روش Pyrzynska & Pękal (2014) برای اندازه‌گیری فلاونوئید استفاده شد. در این روش با آلومینیوم کلرید و روش رنگ‌سنجی میزان فلاونوئید اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ۰/۱ گرم برگ با پنج میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد هموژن شد و سپس بعد از سانتریفیوژ در ۸۰۰۰ دور بر دقیقه به میزان ۲۰ دقیقه یک میلی‌لیتر از محلول رویی با ۴/۴ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شد. در مرحله بعد، ۳۰۰ میکرولیتر سدیم‌نیتريت ۱۰ درصد، ۳۰۰ میکرولیتر آلومینیوم‌کلرید ۵ درصد و ۴ میلی‌لیتر هیدروکسید ۱ نرمال به محلول اضافه و شدت جذب در طول موج ۲۱۰ نانومتر خوانده شد. از کوئرستین برای رسم نمودار استاندارد استفاده شد.

سنجش فنل کل با معرف فولین-سیوکالتو و روش Singleton et al. (1999) انجام شد. ۰/۱ گرم از بافت برگ در دو میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد هموژن شد و در بن ماری در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. بعد از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه، به یک میلی‌لیتر محلول متانولی رویی، ۱/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر معرف فولین اضافه و محلول به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس

مدت گیاهان هر سه روز در میان با محلول غذایی هوگلدن ۱/۲ آبیاری شدند. بعد از چهار هفته، نمونه‌برداری انجام شد و نمونه‌ها در فریزر ۸۰- درجه سلسیوس برای انجام اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی نگهداری شدند. طول ریشه بعد از خارج کردن ریشه از خاک با خط‌کش اندازه‌گیری شد. وزن خشک نمونه‌ها بعد از خشک‌شدن در دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت ثبت شدند.

### ۳.۲. رنگیزه‌های فتوستتزی و آنتوسیانین

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوستتزی، مقدار ۰/۳ گرم برگ تازه توزین و در هاون با سه میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به‌خوبی ساییده و سپس در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (مدل بکمن کولتر، ساخت آلمان) شدند. جذب محلول رویی در طول موج‌های ۴۷۰، ۵۳۷، ۶۴۵، ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin Elmer Lambda25; UV/VS, USA) اندازه‌گیری شد و محتوای رنگیزه‌های فتوستتزی و آنتوسیانین به ترتیب مطابق روش Lichtenthaler (1987) و Gamon & Sims (2002) براساس فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$$\begin{aligned} \text{Chl}_a \text{ (mg/g FW)} &= 12.25 A_{663} - 2.79 A_{645} \times \frac{v}{w \times 1000} \\ \text{Chl}_b \text{ (mg/g FW)} &= 21.5 A_{645} - 5.1 A_{663} \times \frac{v}{w \times 1000} \\ \text{Chl}_{a+b} \text{ (mg/g FW)} &= 7.15 A_{663} - 18.71 A_{645} \times \frac{v}{w \times 1000} \\ C_{x+c} \text{ (mg/g FW)} &= (1000 A_{470} - 1.82 \text{Chl}_a - 85.02 \text{Chl}_b) / 198 \times \frac{v}{w \times 1000} \\ \text{Antho} &= 0.08173 A_{537} - 0.0069 A_{647} - 0.002228 A_{663} \times \frac{v}{w \times 1000} \end{aligned}$$

در این معادلات، A میزان جذب در طول موج‌های موردنظر، v حجم نهایی عصاره در استون ۸۰ درصد، w وزن تر بافت برای عصاره‌گیری برحسب گرم می‌باشد.

### ۴.۲. پرولین، گلايسين بتائين، قندها محلول، نشاسته، فلاونوئید و فنل کل

برای اندازه‌گیری پرولین آزاد از عصاره الکی برگ استفاده

ارزیابی واکنش‌های رشدی، خصوصیات بیوشیمیایی، ظرفیت تبادلات گازی و عملکرد فتوسیستم II گیاه سیاه‌دانه تحت تیمار نانوذره نقره

فرکانس نوری برای اندازه‌گیری  $F_o$  و  $F'_{o}$  هرگز و برای  $F_m$  و  $F'_m$  ۲۰ کیلوهرتز بود. با استفاده از پارامترهای تعیین‌شده در برگ‌های سازگار به تاریکی و روشنایی، پارامترهای دیگر فلورسانس با استفاده از معادلات زیر محاسبه شدند:

$$NPQ = (F_m - F'_m) / F'_m$$
$$qp = (F'_m - F_s) / (F'_m - F'_o)$$
$$\Phi_{PSII} = \Delta F' / F'_m = (F'_m - F_s) / F'_m$$

### ۷.۲. تجزیه آماری

این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه 9.1) و مقایسه میانگین صفات توسط آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد انجام شد و رسم نمودارها با Excel صورت گرفت.

### ۳. نتایج و بحث

#### ۳.۱. صفات مورفولوژی و رنگی‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تیمار غلظت‌های مختلف نانوذره نقره اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر صفات طول ریشه، ارتفاع اندام هوایی و وزن خشک کل گیاه سیاه‌دانه داشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش غلظت نانوذره نقره تا ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش طول ریشه و ارتفاع گیاه نسبت به گیاه شاهد شد که بیش‌ترین میزان افزایش طول ریشه و ارتفاع گیاه تحت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب به میزان ۹/۴ و ۴/۸ درصد مشاهده شد، درحالی‌که افزایش بیش‌تر غلظت نانوذره نقره باعث کاهش طول ریشه و ارتفاع اندام هوایی شد به طوری‌که بیش‌ترین کاهش در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد (جدول ۳). افزایش غلظت نانوذره نقره تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر هم‌چنین باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک کل گیاه نسبت به شاهد شد، اما

نگهداری شد. سپس یک میلی‌لیتر سدیم بی‌کربنات ۱۲ درصد به محلول اضافه شد و پس از دو ساعت قرارگرفتن در دمای اتاق، جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از گالیک اسید برای رسم نمودار استاندارد استفاده شد.

#### ۵.۲. تبادل گازی و راندمان مصرف آب

صفت‌های نسبت فتوستتزر خالص ( $P_n$ )، هدایت روزنه‌ای ( $g_s$ )، غلظت دی‌اکسیدکربن زیر روزنه ( $C_i$ ) و نسبت تعرق ( $E$ ) با دستگاه پرتابل سنجش فلورسانس و تبادل گازی GFS-3000-FL (WALZ, Germany) اندازه‌گیری شد. راندمان مصرف آب (میکرومول دی‌اکسیدکربن بر نانومول آب) طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$P_n/E = (WUE) \text{ راندمان مصرف آب}$$

#### ۶.۲. فلورسانس کلروفیل

پارامترهای فلورسانس کلروفیل از آخرین برگ توسعه یافته با استفاده از فلوریمتر (PAM 2500-Walz Germany) صورت گرفت. بدین منظور، برگ‌ها با استفاده از گیره‌های مخصوص برگ (2030-B, Walz) به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. فلورسانس حداقل ( $F_o$ ) با همه مراکز واکنشی باز فتوسیستم II، توسط نور مدوله‌شده‌ای با شدت پایین ( $0.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) و فلورسانس حداکثر ( $F_m$ ) با تابش پالس اشباع نوری ( $8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) به مدت یک ثانیه در برگ‌های سازگار به تاریکی تعیین شد. در مرحله بعد، نور مرئی سفید رنگ ( $685 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) به صورت متوالی به آن تابیده شد و بعد از آن میزان فلورسانس پایدار ( $F_s$ ) ثبت و دوباره پالس اشباع نوری اعمال و میزان فلورسانس حداکثر ( $F'_m$ ) در برگ‌های سازگار به روشنایی تعیین شد. سپس پرتو نوری مرئی قطع و با تابش نور قرمز دور، فلورسانس حداقل در مرحله روشنایی ( $F'_o$ ) ثبت شد.

نشان داد که بیشترین افزایش تحت غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد که نشان دهنده کاهش بیشترین کلروفیل b نسبت به کلروفیل a می باشد (جدول ۳). برخلاف رنگیزه های کلروفیلی، محتوای کاروتنوئید برگ با افزایش غلظت نانوذره نقره افزایش معنی داری نسبت به شاهد داشت و کمترین و بیشترین میزان کاروتنوئید به ترتیب در شاهد و غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره مشاهده شد (جدول ۳).

محتوای رنگیزه های فتوستتزی یکی از پارامترهای مهمی است که می تواند نشان دهنده میزان فتوستتزی و شرایط رشدی گیاه باشد (Ghorbani et al., 2018b). کاهش محتوای کلروفیل در گیاه سیاه دانه مطابق نتایج به دست آمده توسط Jiang et al. (2012) روی *Spirodela polyrhiza* و Ma et al. (2010) روی گیاه *A. thaliana* و Oukarroum et al. (2012) روی جلبک سبز می باشد. Ma et al. (2010) نشان دادند که کاهش محتوای کلروفیل می تواند حاصل از پراکسیداسیون لیپید غشاهای کلروپلاست ناشی از تنش اکسیداتیو تحت غلظت های بالای نانوذره نقره باشد. بنابراین، کاهش رنگیزه های کلروفیلی تحت تیمار نانوذره نقره می تواند نشان دهنده اثر سمیت نانوذره نقره بر گیاه سیاه دانه باشد. نتایج هم چنین نشان داد که محتوای کاروتنوئید با افزایش غلظت نانوذره نقره افزایش معنی داری یافت که مطابق نتایج به دست آمده Salama & Hediati (2012) روی گیاه لوبیا و ذرت می باشد. Lim et al. (2012) در گزارشی بیان داشتند تحت شرایط تنش زا، بیوستتزی آبسزیک اسید از کاروتنوئیدها از طریق مسیر مولونیک اسید افزایش می یابد، که می تواند باعث افزایش تحمل گیاه به شرایط تنش زا شود. بنابراین، تجمع کاروتنوئیدها در گیاه سیاه دانه تحت سمیت نانوذره نقره می تواند ناشی از القای مسیر مولونیک اسید برای سنتز هورمون آبسزیک اسید باشد.

افزایش بیشترین نانوذره باعث کاهش نسبت به گیاهان شاهد شد و کمترین میزان وزن خشک کل تحت غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر به میزان ۳۶/۱ درصد نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد (جدول ۳).

نانوذرات مانند نانوذره نقره به خاطر ویژگی های فیزیکی و شیمیایی آنها شامل توانایی های کاتالیزوری بالا، نسبت سطح به حجم بالا و همچنین توانایی تبادل الکترون، به طور گسترده در سیستم های کشاورزی مورد استفاده قرار می گیرند. اثر بازدارندگی غلظت های بالا نانوذره نقره در (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم بر لیتر) بر رشد و تولید زیست توده گیاه سیاه دانه مطابق نتایج به دست آمده توسط Thuesombat et al. (2014) روی گیاه برنج و Geisler-Lee et al. (2013) روی گیاه آرابیدوپسیس می باشد. Hsiao et al. (2015) نشان دادند که نانوذره نقره باعث رهاسازی یون نقره و القای سمیت در داخل سلول می شود. در گزارش دیگری، Zuverza-Mena et al. (2016) نشان دادند که یون نقره از طریق کاهش جذب عناصر ماکرو و میکرو باعث کاهش رشد گیاه می شود.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت های مختلف نانوذره نقره بر رنگیزه های فتوستتزی در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که اعمال تیمار بیش از ۵ میلی گرم نانوذره نقره باعث کاهش محتوای کلروفیل a برگ نسبت به شاهد شد و کمترین میزان کلروفیل a تحت غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره ثبت شد (جدول ۳). روند کاهشی در محتوای کلروفیل b و کلروفیل کل با افزایش غلظت نانوذره نقره مشاهده شد و بیشترین کاهش تحت غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر در کلروفیل b و کلروفیل کل به ترتیب به میزان ۶۲/۱ و ۵۲/۳ درصد نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳). نسبت کلروفیل a به b با افزایش غلظت نانوذره نقره افزایش معنی داری نسبت به شاهد

ارزیابی واکنش‌های رشدی، خصوصیات بیوشیمیایی، ظرفیت تبادلات گازی و عملکرد فتوسنتز III گیاه سیاه‌دانه تحت تیمار نانوذره نقره

جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر نانوذره نقره بر صفات مورفولوژیکی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه سیاه‌دانه

منابع تغییر	درجه آزادی	طول ریشه	طول ساقه	وزن خشک کل	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	نسبت کلروفیل a/b	کاروتنوئید
تیمار	۶	۳/۹**	۶۶**	۰/۴**	۰/۱۴**	۰/۰۸**	۰/۴**	۰/۵**	۰/۰۷**
خطا	۱۴	۰/۰۵	۱/۲	۰/۰۰۶	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۴
ضریب تغییرات (%)	۳/۵	۵/۱	۴/۶	۵/۵	۴/۷	۴/۴	۹	۳/۷	

\*\* معنی‌داری در سطح یک درصد.

جدول ۳. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر صفات مورفولوژیکی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه سیاه‌دانه بر اساس

میانگین سه بوته در هر گلدان

تیمار نانوذره نقره (mg/L)	طول ریشه (cm)	طول اندام‌هوایی (cm)	وزن خشک کل (g)	کلروفیل a (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	کلروفیل کل (mg/g FW)	نسبت کلروفیل a/b	کاروتنوئید (mg/g FW)
کنترل (بدون نانوذره)	۷/۳۸ b	۲۴/۴۳ a	۱/۸۳ c	۰/۹۸ b	۰/۵۸ a	۱/۵۵ a	۱/۷۱ c	۰/۳۶۴ d
۲/۵	۷/۳۶ b	۲۴/۷۳ a	۱/۸۴ c	۰/۹۸ b	۰/۶ a	۱/۵۸ a	۱/۶۵ c	۰/۳۸۵ d
	(-۰/۳)	(+۱/۲)	(+۰/۶)	-	(+۳/۵)	(+۱/۹)	(-۳/۵)	(+۵/۸)
۵	۷/۵۴ b	۲۵/۲ a	۲/۰۴ b	۱/۰۸ a	۰/۵۶ a	۱/۶۵ a	۱/۹۲ c	۰/۳۷۵ d
	(+۲/۲)	(+۳/۲)	(+۱۱/۵)	(+۱۰/۲)	(-۳/۵)	(+۶/۵)	(+۱۲/۳)	(+۳)
۱۰	۸/۰۷ a	۲۵/۶ a	۲/۲ a	۰/۹۵ b	۰/۴ b	۱/۳۵ b	۲/۳۶ b	۰/۴۷۹ c
	(+۹/۴)	(+۴/۸)	(+۲۰/۲)	(-۳/۱)	(-۳۱)	(-۱۲/۹)	(+۳۸)	(+۳۱/۶)
۲۰	۶/۸۲ c	۲۱/۸۷ b	۱/۵۷ d	۰/۸۷ c	۰/۳۲ c	۱/۰۸ c	۲/۴۳ ab	۰/۶۰۸ b
	(-۷/۶)	(-۱۰/۵)	(-۱۴/۲)	(-۲۱/۴)	(-۴۴/۸)	(-۳۰/۳)	(+۴۲/۱)	(+۶۷)
۴۰	۵/۳۴ d	۱۶/۶ c	۱/۴ e	۰/۶۲ d	۰/۲۳ d	۰/۸۴ d	۲/۷۴ a	۰/۶۹ a
	(-۲۷/۶)	(-۳۲)	(-۲۳/۵)	(-۳۶/۷)	(-۶۰/۳)	(-۴۵/۸)	(+۶۰/۲)	(+۸۹/۶)
۸۰	۵/۰۹ d	۱۳/۸۷ d	۱/۱۷ f	۰/۵۱ e	۰/۲۲ d	۰/۷۴ e	۲/۳۱ b	۰/۷۱۵ a
	(-۳۱)	(-۴۳/۶)	(-۳۶/۱)	(-۴۸)	(-۶۲/۱)	(-۵۲/۳)	(+۳۵/۱)	(+۹۶/۴)

برای هر صفت در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. اعداد داخل پرانتز بیانگر درصد افزایش (+) و کاهش (-) نسبت به شاهد است.

شد و بیش‌ترین افزایش تحت غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر به میزان ۴۴/۶ درصد نسبت به شاهد ثبت شد، اما افزایش بیش‌تر نانوذره نقره باعث کاهش آنتوسیانین نسبت به غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر شد (شکل ۱). افزایش غلظت نانوذره نقره هم‌چنین باعث روند افزایش در محتوای پرولین و گلايسين بتائين برگ گیاه سیاه‌دانه شد، به‌طوری‌که بیش‌ترین محتوای پرولین و گلايسين بتائين تحت غلظت ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره

### ۳.۲. آنتوسیانین، پرولین، گلايسين بتائين، قندهای محلول و نامحلول

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوذره نقره تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر آنتوسیانین، پرولین، گلايسين بتائين، قندهای محلول و نشاسته داشته است (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش غلظت نانوذره نقره تا غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش آنتوسیانین نسبت به شاهد

سمیت نقره بر آنزیم‌های سنتزکننده آنتوسیانین‌ها باشد. تجمع پرولین آزاد در گیاهان مختلف در پاسخ به تنش‌های محیطی مانند فلزات سنگین و تنش‌های اکسیداتیو گزارش شده است (Gerami *et al.*, 2018). پرولین و گلاسیسین بتائین می‌توانند به‌عنوان یک اسمولیت سازگار، خشتی‌کننده رادیکال‌های آزاد، کلات‌کننده فلزات، ثبات مارکرومولکول‌ها و منبعی از نیتروژن و کربن احیاشده در گیاه عمل کنند (Ben Rejeb *et al.*, 2014). بنابراین، افزایش تجمع پرولین و گلاسیسین بتائین تحت غلظت‌های بالای نانوذره نقره ممکن است به تثبیت ساختارهای داخل سلولی و تغییرات اسمزی در سیتوزول سلول کمک کند. نتایج مشابهی توسط Bano & Khan (2016) از تأثیر نانوذره نقره بر گیاه گوجه‌فرنگی مشاهده شده است. علاوه بر این، کاربرد نانوذره نقره باعث افزایش قندهای محلول و کاهش میزان نشاسته نسبت به شاهد شد که می‌تواند نتیجه القای تنش توسط نانوذره نقره باشد. افزایش قندهای محلول و کاهش میزان نشاسته تحت تیمار نانوذره مطابق نتایج به‌دست‌آمده توسط Rico *et al.* (2013) و Jahani *et al.* (2019) می‌باشد.

### ۳.۳. محتوای فلاونوئید و فنل کل

تجزیه واریانس نشان داد که تیمار نانوذره نقره بر محتوای فلاونوئید و فنل کل در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). محتوای فنل کل روند افزایشی با افزایش غلظت نانوذره نقره نشان داد، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان فنل کل تحت غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره به میزان ۱۰۶ درصد نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۴-A). مقایسه میانگین محتوای فلاونوئید نیز نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره نقره روند افزایشی در محتوای فلاونوئید مشاهده شد و بیش‌ترین میزان فلاونوئید تحت غلظت‌های ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره مشاهده شد (شکل ۴-B).

اندازه‌گیری شد (شکل ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمار نانوذره نقره تا غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر تأثیر معنی‌داری بر قندهای محلول برگ نداشته است، اما افزایش بیش‌تر غلظت نانوذره نقره باعث افزایش معنی‌داری قندهای محلول شد، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان افزایش تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره مشاهده شد (شکل ۳-A). مقایسه میانگین نشاسته نشان داد افزایش غلظت نانوذره نقره (بیش از ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) میزان نشاسته کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد که افزایش بیش‌تر نانوذره نقره باعث کاهش بیش‌تر نشاسته شد، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان کاهش تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر به میزان ۴۱/۲ درصد نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد (شکل ۳-B). تجمع ترکیبات اسمولیت مانند پرولین، گلاسیسین بتائین و قندهای محلول یکی از استراتژی‌های مهم گیاهان برای سازگاری با شرایط استرس‌زا می‌باشد (Ghorbani *et al.*, 2018a). افزایش محتوای آنتوسیانین، پرولین و گلاسیسین بتائین گیاه سیاه‌دانه تحت تیمار نانوذره نقره نشان‌دهنده اثر سمیت و القای شرایط تنش‌زا توسط نانوذره نقره می‌باشد. افزایش آنتوسیانین‌ها تا غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره مشابه نتایج به‌دست‌آمده از تأثیر نانوذره بر گیاه آرابیدوپسیس می‌باشد (Qian *et al.*, 2013). آنتوسیانین فلاونوئیدهایی هستند که در واکنش قرار داشته و در پاسخ گیاهان به تنش‌های مختلف نقش دارند (Guo *et al.*, 2014). آنتوسیانین‌ها می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از سلول‌ها در مقابل تنش اکسیداتیو با خشتی‌سازی انواع اکسیژن فعال محافظت کنند. آنتوسیانین‌ها هم‌چنین به‌عنوان کلات‌کننده فلزات سنگین نیز عمل می‌کنند (Carocho & Ferreira, 2013). با این حال، کاهش محتوای آنتوسیانین در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره می‌تواند ناشی از تأثیر



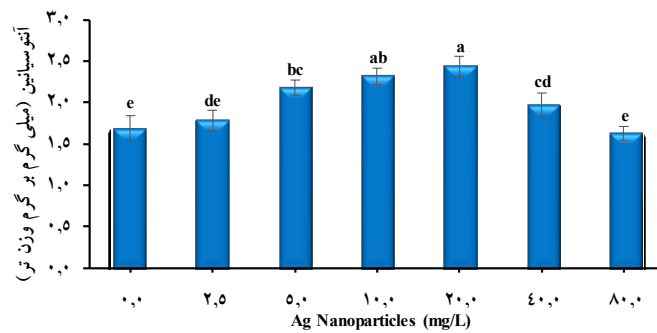
ارزیابی واکنش‌های رشدی، خصوصیات بیوشیمیایی، ظرفیت تبادلات گازی و عملکرد فتوسنتز II گیاه سیاهدانه تحت تیمار نانوذره نقره

جدول ۴. تجزیه واریانس تأثیر نانوذره نقره بر صفات آنتوسیانین، پرولین، گلايسين بتائين، قندهای محلول، نشاسته، فلاونوئید و فنل کل

کل گیاه سیاهدانه

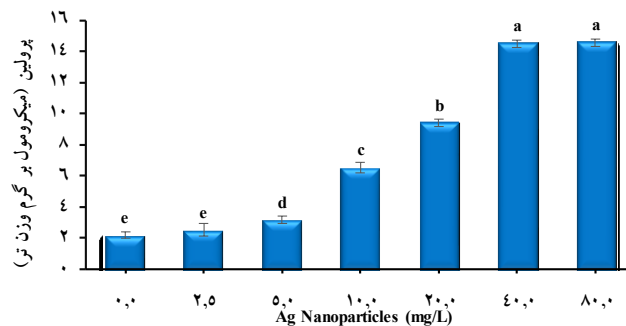
منابع تغییر	درجه آزادی	آنتوسیانین	پرولین	گلايسين بتائين	قندهای محلول	نشاسته	فلاونوئید	فنل کل
تیمار	۶	۰/۳**	۸۷**	۰/۶**	۶۱**	۲۴**	۱۷**	۲۷**
خطا	۱۴	۰/۰۲	۰/۰۹	۰/۰۰۰۸	۰/۲	۰/۱۶	۰/۰۶	۰/۱
ضریب تغییرات (%)	۶	۳/۸	۳/۸	۳/۶	۳/۱	۳/۱	۴/۱	۳/۸

\*\* معنی‌داری در سطح یک درصد.

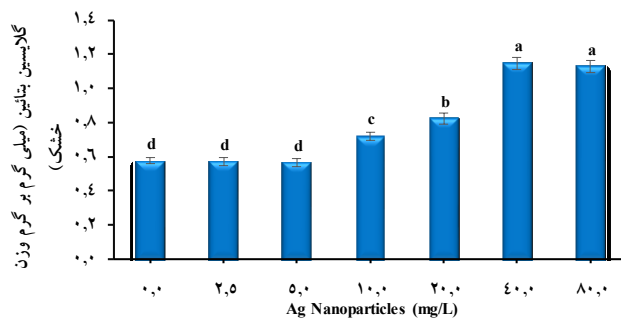


شکل ۱. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر محتوای آنتوسیانین برگ گیاه سیاهدانه.

میانگین‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.



A)

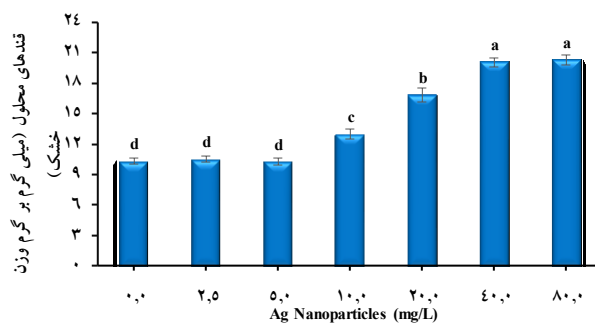


B)

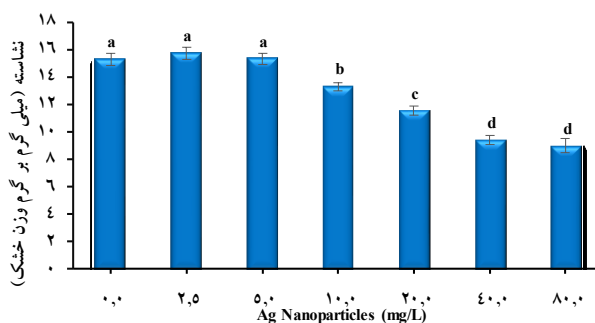
شکل ۲. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر محتوای پرولین (A) و گلايسين بتائين (B) برگ گیاه سیاهدانه.

میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

سارا بنی ابراهیم، لیلا پیشکار، علیرضا ایرانبخش، داریوش طالعی، گیتی برزین

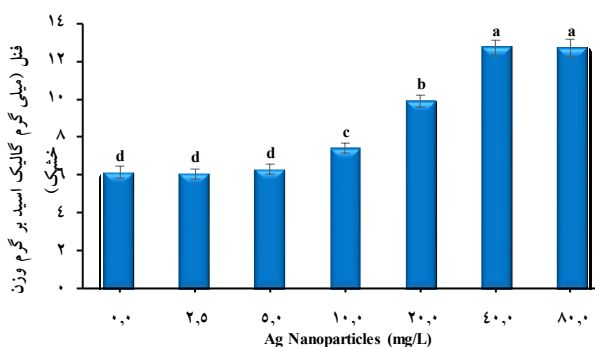


A)

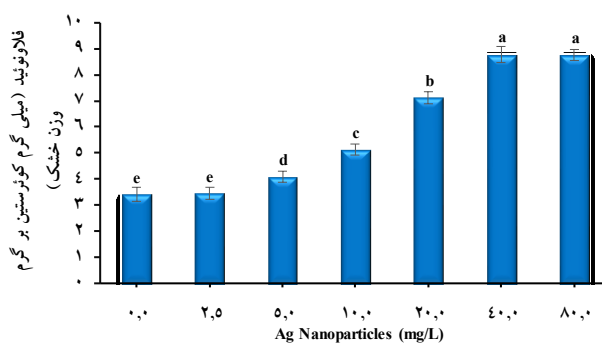


B)

شکل ۳. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر محتوای قندهای محلول (A) و نشاسته (B) برگ گیاه سیاه‌دانه. میانگین‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.



A)



B)

شکل ۴. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر محتوای فنل (A) و فلاونوئید (B) برگ گیاه سیاه‌دانه. میانگین‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

بهرزراعی کشاورزی

دوره ۲۳ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۴۰۰

ارزیابی واکنش‌های رشدی، خصوصیات بیوشیمیایی، ظرفیت تبادلات گازی و عملکرد فتوسیستم II گیاه سیاه‌دانه تحت تیمار نانوذره نقره

نقره نشان‌دهنده تأثیر مثبت این نانوذره بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه سیاه‌دانه می‌باشد.

### ۴.۳. راندمان مصرف آب و تبادل گازی و فلورسانس کلروفیل

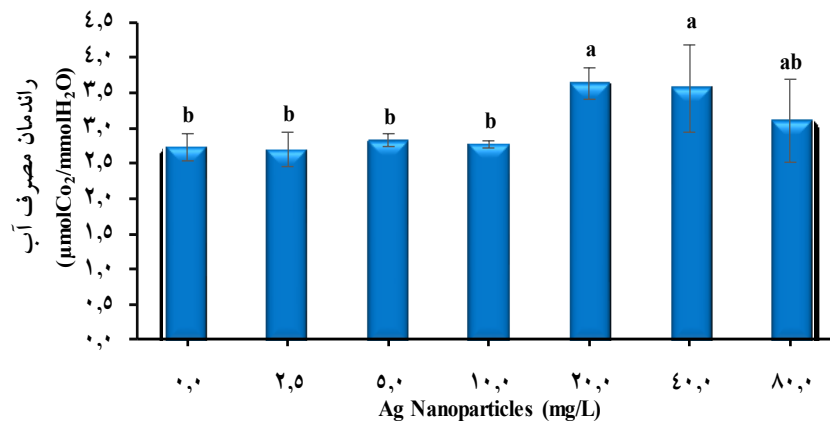
نتایج تجزیه نشان داد که تیمار نانوذره نقره بر راندمان مصرف آب و صفات تبادل گازی برگ گیاه سیاه‌دانه تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد داشته است (جدول ۵). مقایسه میانگین راندمان مصرف آب نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره نقره تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر تأثیر معنی‌داری در راندمان مصرف آب ایجاد نشد، اما افزایش بیش‌تر غلظت نانوذره نقره باعث افزایش معنی‌داری در راندمان مصرف آب شد (شکل ۵).

تجمع ترکیبات فنلی مکانیسم دیگر برای اجتناب از تغییرات القاشده توسط تنش‌های محیطی است. افزایش در ترکیبات فلاونوئید و فنل کل گیاه سیاه‌دانه تحت تیمارهای نانوذره نقره مطابق نتایج به‌دست‌آمده توسط Bagherzadeh Homae & Ehsanpour (2015) و Chung *et al.* (2018) می‌باشد. ترکیبات فنلی گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند که شامل اسیدهای فنل، فلاونوئیدها، آنتوسیانین، تانن و مشتقات آنها می‌باشند. ترکیبات فنلی به‌خاطر گروه هیدروکسیل آزاد در ساختارشان به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان شناخته می‌شوند که فعالیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد از خود نشان می‌دهند (Kowalska *et al.*, 2014). بنابراین، افزایش تجمع فلاونوئید و فنل کل تحت تیمار نانوذره

جدول ۵. تجزیه واریانس تأثیر نانوذره نقره بر صفات تبادلات گازی و فلورسانس کلروفیل گیاه سیاه‌دانه

منابع تغییر	درجه آزادی	gs	pn	E	Ci	راندمان مصرف آب	Fv/Fm	qp	NPQ	$\Phi_{PSII}$
تیمار	۶	۲۱۰۷**	۲۰**	۳/۵**	۴۷۲۵**	۰/۵*	۰/۰۳**	۰/۰۴**	۰/۱۵**	۱/۲**
خطا	۱۴	۷/۴	۰/۱۲	۰/۰۳	۴/۳	۰/۱۳	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۴	۰/۰۲
ضریب تغییرات (%)	۲	۴/۸	۶/۶	۱/۸	۱۱/۷	۳/۲	۲/۶	۲/۴	۲/۴	۲/۴

\*\* و \* معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد.

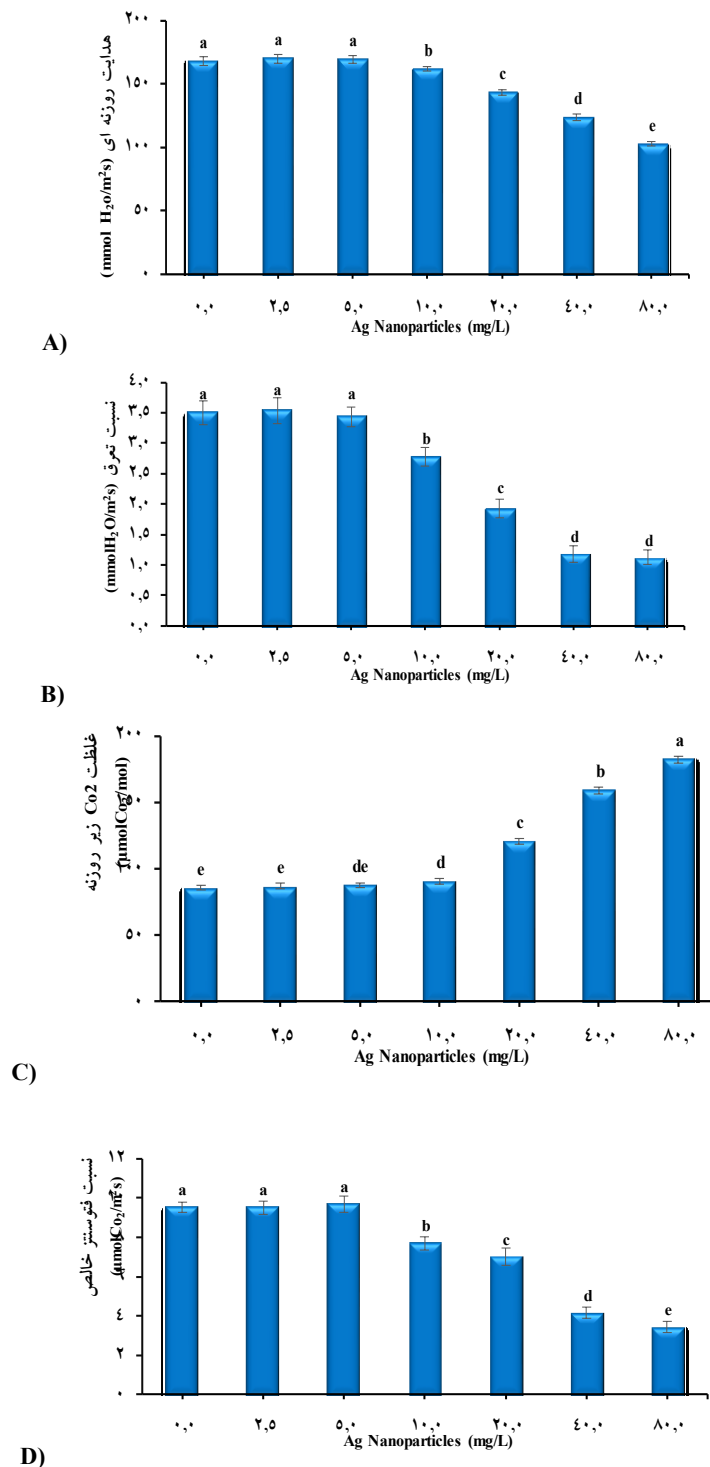


شکل ۵. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر راندمان مصرف آب گیاه سیاه‌دانه

میزان خاموشی غیرفتوشیمیایی تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره مشاهده شد (شکل ۷). فلورسنس کلروفیل و تبادلات گازی برگ اطلاعات مفیدی در مورد مکانیسم‌های فتوستنز گیاه تحت شرایط محیطی مختلف ایجاد می‌کند. در این مطالعه، پارامترهای حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II، ضریب خاموشی فتوشیمیایی و عملکرد کوانتومی مؤثر فتوشیمیایی فتوسیستم II کاهش و خاموشی غیرفتوشیمیایی تحت تیمار نانوذره نقره افزایش یافتند، که نشان‌دهنده آسیب به سیستم فتوشیمیایی می‌باشد. کاهش در حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و ضریب خاموشی فتوشیمیایی نشان‌دهنده تغییرات ایجادشده در ساختمان و عملکرد فرایند فتوستنزی می‌باشد (Vishwakarma et al., 2017)، که می‌تواند باعث کاهش تولید زیست‌توده در گیاه سیاه‌دانه تحت سمیت نانوذره نقره شود. همراه با کاهش در محتوای کلروفیل و پارامترهای فلورسنس در گیاه سیاه‌دانه تحت تیمار نانوذره نقره، پارامترهای نسبت فتوستنز خالص، نسبت تعرق و هدایت روزنه‌ای کاهش یافتند، که پیشنهاد می‌کند کاهش در فتوستنز به‌خاطر کاهش محتوای کلروفیل و آسیب به سیستم فتوشیمیایی می‌باشد. غلظت دی‌اکسیدکربن زیر روزنه تحت تیمار نانوذره نقره افزایش یافت، اگرچه غلظت بالای دی‌اکسیدکربن زیر روزنه می‌تواند برای فتوستنز مفید باشد، اما افزایش تحت شرایط تنش‌زا مانند غلظت بالای نانوذره نقره می‌تواند باعث آسیب به دستگاه فتوستنزی شود. نتایج به‌دست‌آمده از تأثیر تیمار نانوذره بر پارامترهای فلورسنس و تبادلات گازی مطابق نتایج به‌دست‌آمده توسط Vishwakarma et al. (2017)، Dewez et al. (2003) و Rastogi et al. (2019) می‌باشد.

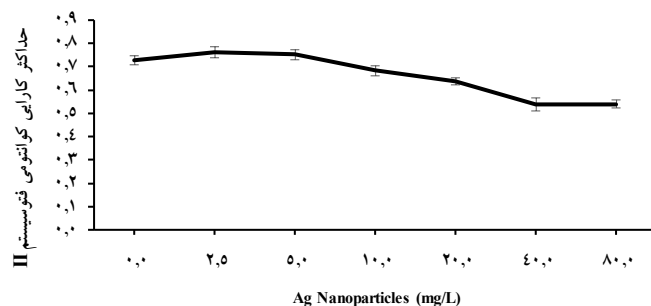
مقایسه میانگین صفات تبادلات گازی هم نشان داد تیمار نانوذره نقره تا غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر تأثیر معنی‌داری بر هدایت روزنه‌ای، نسبت تعرق و نسبت فتوستنز خالص نداشت اما افزایش بیش‌تر غلظت نانوذره نقره باعث کاهش معنی‌داری در هر سه صفت نسبت به شاهد شد به‌طوری‌که کم‌ترین میزان هدایت روزنه‌ای، نسبت تعرق و نسبت فتوستنز خالص تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره مشاهده شد (شکل ۶). نتایج مربوط به غلظت دی‌اکسیدکربن زیر روزنه‌ای نیز نشان داد تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره، تفاوت معنی‌داری در غلظت دی‌اکسیدکربن زیر روزنه‌ای مشاهده نشد، اما افزایش بیش‌تر نانوذره نقره باعث افزایش معنی‌دار آن شد به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان غلظت دی‌اکسیدکربن زیر روزنه‌ای تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره به میزان ۱۱۲ درصد نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۶). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوذره نقره روی صفات فلورسنس کلروفیل شامل حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II، خاموشی غیرفتوشیمیایی، ضریب خاموشی فتوشیمیایی و عملکرد کوانتومی مؤثر تبدیل انرژی فتوشیمیایی فتوسیستم II در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش غلظت نانوذره نقره باعث روند کاهشی در پارامترهای حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II، ضریب خاموشی فتوشیمیایی و عملکرد کوانتومی مؤثر تبدیل انرژی فتوشیمیایی فتوسیستم II نسبت به شاهد شد که بیش‌ترین کاهش در این صفات تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره مشاهده شد (شکل ۷). مقایسه میانگین خاموشی غیرفتوشیمیایی نشان داد با افزایش غلظت نانوذره نقره روند افزایشی نسبت به شاهد نشان داد که بیش‌ترین

ارزیابی واکنش‌های رشدی، خصوصیات بیوشیمیایی، ظرفیت تبادلات گازی و عملکرد فتوسنتز II گیاه سیاهدانه تحت تیمار نانوذره نقره

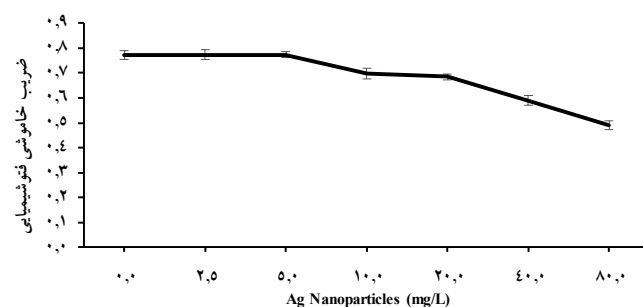


شکل ۶. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر هدایت روزنه‌ای (A)، نسبت تعرق (B)، نسبت فتوسنتز (C) و غلظت دی اکسیدکربن زیر روزنه (D) برگ گیاه سیاهدانه. میانگین‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری بایکدیگر ندارند.

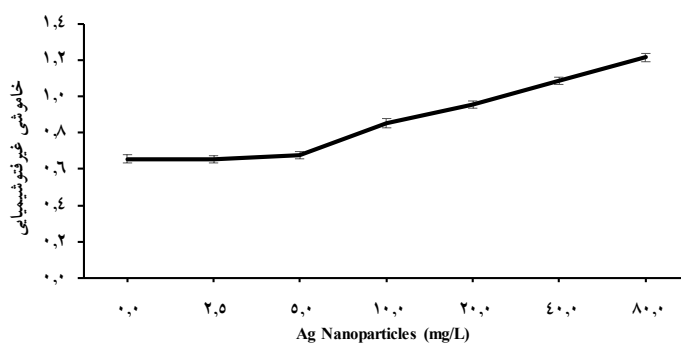
سارا بنی ابراهیم، لیلا پیشکار، علیرضا ایرانبخش، داریوش طالعی، گیتی برزین



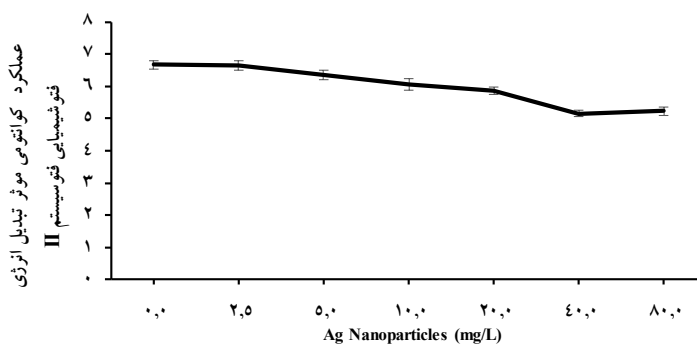
A)



B)



C)



D)

شکل ۷. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (A)، ضریب خاموشی فتوسیستمی (B)، خاموشی غیر فتوسیستمی (C) و عملکرد کوانتومی مؤثر تبدیل انرژی فتوسیستمی فتوسیستم II (D) برگ گیاه سیاهدانه

به زراعی کشاورزی

دوره ۲۳ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۴۰۰

- Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.
- Chung, I. M., Rekha, K., & Rajakumar, G. (2018). M. Elicitation of silver nanoparticles enhanced the secondary metabolites and pharmacological activities in cell suspension cultures of bitter gourd. *Biotechnology*, 8(10), 412.
- Dewez, D., Dautremepuits, C., & Jeandet, P. (2003). Effects of methanol on photosynthetic processes and growth of *Lemnagibba*. *Photochemistry and Photobiology*, 78, 420-424.
- Geisler-Lee, J., Wang, Q., & Yao, Y. (2013). Phytotoxicity, accumulation and transport of silver nanoparticles by *Arabidopsis thaliana*. *Nanotoxicology*, 7(3), 323-337.
- Gerami, M., Ghorbani, A., & Karimi, S. (2018). Role of salicylic acid pretreatment in alleviating cadmium-induced toxicity in *Salvia officinalis* L. *Iranian Journal of Plant Biology*, 10(1), 81-95.
- Ghorbani, A., Razavi, S. M., & Ghasemi Omran, V. O. (2018b). *Piriformosporaindica* inoculation alleviates the adverse effect of NaCl stress on growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence in tomato (*Solanumlycopersicum* L.). *Plant Biology*, 20(4), 729-736.
- Ghorbani, A., Razavi, S. M., & Ghasemi Omran, V. O. (2018a). *Piriformosporaindica* alleviates salinity by boosting redox poise and antioxidative potential of tomato. *Russian Journal of Plant Physiology*, 65(6), 898-907.
- Guo, N., Cheng, F., & Wu, J. (2014). Anthocyanin biosynthetic genes in *Brassica rapa*. *BMC Genomics*, 15(1), 426.
- Hatami, M., Kariman, K., & Ghorbanpour, M. (2016). Engineered nanomaterial-mediated changes in the metabolism of terrestrial plants. *Science of the Total Environment*, 571, 275-291.
- Hediat, M., & 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.
- Hsiao, I. L., Hsieh, Y. K., & Wang, C. F. (2015). Trojan-Horse mechanism in the cellular uptake of silver nanoparticles verified by direct intra- and extracellular silver speciation analysis. *Environmental Science and Technology*, 49(6), 3813-3821.
- Jahani, S., Saadatmand, S., & Mahmoodzadeh, H. (2019). Effect of foliar application of cerium oxide nanoparticles on growth, photosynthetic pigments, electrolyte leakage, compatible osmolytes and antioxidant enzymes activities of *Calendula officinalis* L. *Biologia*, 1-13.

#### ۴. نتیجه‌گیری

نتایج کلی این مطالعه روی تأثیر سطوح نانوذرات نقره بر خصوصیات فیزیولوژیکی و رشد گیاه دارویی سیاه‌دانه نشان داد که نانوذره نقره در غلظت‌های بالا (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) اثرات سمی و تنش‌زا برای گیاه سیاه‌دانه داشت. افزایش غلظت نانوذره نقره باعث کاهش رشد و تولید زیست‌توده گیاه سیاه‌دانه از طریق کاهش محتوای کلروفیل، آسیب به دستگاه فتوسنتزی و همچنین کاهش تبادلات گازی شد. افزایش تجمع ترکیباتی مانند پرولین، گلایسین بتائین، قندهای محلول و ترکیبات فنلی در گیاه سیاه‌دانه تحت غلظت‌های بالای نانوذره نقره نشان‌دهنده القای تنش توسط نانوذره می‌باشد که در سازگاری گیاه تحت شرایط تنش‌زا نقش مفیدی دارند.

#### ۵. تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی به جهت در اختیار گذاشتن گلخانه و تجهیزات آزمایشگاهی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

#### ۶. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

#### ۷. منابع

- Bagherzadeh Homae, M., & Ehsanpour, A. A. (2015). Physiological and biochemical responses of potato (*Solanumtuberosum*) to silver nanoparticles and silver nitrate treatments under in vitro conditions. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20(4), 353-359.
- Ben Rejeb, K., Abdely, C., & Savoure, A. (2014). How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 278-284.
- Boxall, A., Tiede, K., Chaudhry, Q., & Aitken, R. (2007). Current and future predicted exposure to engineered nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 390, 396-409.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, pro-oxidants and related controversy:

- Jiang, H.S., Li, M., & Chang, F.Y. (2012). Physiological analysis of silver nanoparticles and AgNO<sub>3</sub> toxicity to *Spirodela polyrrhiza*. *Environmental Science & Technology*, 31, 1880-1886.
- Ke, M., Qu, Q., & Peijnenburg, W. J. G. M. (2018). Phytotoxic effects of silver nanoparticles and silver ions to *Arabidopsis thaliana* as revealed by analysis of molecular responses and of metabolic pathways. *Science of the Total Environment*, 644, 1070-1079.
- Khan, N., & Bano, A. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria and Ag-Nano particle in the bioremediation of heavy metals and maize growth under municipal wastewater irrigation. *International Journal of Phytoremediation*, 18(3), 211-221.
- Kowalska, I., Pecio, L., & Ciesla, L. (2014). Isolation, chemical characterization, and free radical scavenging activity of phenolics from *Triticumaestivum* L. aerial parts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(46), 11200-8.
- Kumari, M., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2009). Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Science of the Total Environment*, 407(19), 5243-5246.
- Lajayera, B. A., Ghorbanpour, M., & Nikabadi, S. (2017). Heavy metals in contaminated environment: destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145, 377-390.
- Lim, J. H., Park, K. J., & Kim, B. K. (2012). Effect of salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprouts. *Food Chemistry*, 135(3), 1065-1070.
- Lin, D., & Xing, B. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150(2), 243-250.
- Matthaus, B., & Ozcan, M. M. (2011). Fatty acids, tocopherol, and sterol contents of some *Nigella* species seed oil. *Czech Journal of Food Sciences*, 29, 145-150.
- Navarro, E., Piccapietra, F., & Wagner, B. (2008). Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science & Technology*, 42(23), 8959-8964.
- Oukarroum, A., Bras, S., & Perreault, F. (2012). Inhibitory effects of silver nano-particles in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliellatertiolecta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78, 80-85.
- Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 1712-1720.
- Pekal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminum complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7, 1776-1782.
- Qian, H., Peng, X., & Han, X. (2013). Comparison of the toxicity of silver nanoparticles and silver ion on the growth of terrestrial plant model *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Environmental Sciences*, 25(9), 1947-1955.
- Rastogi, A., Zivcak, M., & Tripathi, D. K. (2019). Phytotoxic effect of silver nanoparticles in *Triticumaestivum*: Improper regulation of photosystem I activity as the reason for oxidative damage in the chloroplast. *Photosynthetica*, 57(1), 209-216.
- Rico, C. M., Morales, M. I., & Barrios, A. C. (2013). Effect of cerium oxide nanoparticles on the quality of rice (*Oryzasativa* L.) grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(47), 11278-11285.
- Salvatori, E., Fusaro, L., & Gottardini, E. (2014). Plant stress analysis: application of prompt, delayed chlorophyll fluorescence and 820 nm modulated reflectance. Insights from independent experiments. *Plant Physiology and Biochemistry*, 85, 105-113.
- Sims, D. A., & Gamon, J. A. (2002). Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment*, 81(2-3), 337-354.
- Thuesombat, P., Hannongbua, S., & Akasit, 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., Singh, S., & Singh, V. P. (2017). Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 70-81.
- Vishwakarma, K., Shweta Upadhyay, N., & Singh, J. (2017). Differential phytotoxic impact of plant mediated silver nanoparticles (AgNPs) and silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>) on *Brassica* sp. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1501.
- Yang, Y., Xu, S., & Xu, G. (2019). Effects of ionic strength on physicochemical properties and toxicity of silver nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 647, 1088-1096.
- Yin, L., Cheng, Y., & Espinasse, B. (2011). More than the ions: the effects of silver nanoparticles on *Loliummultiflorum*. *Environmental Science & Technology*, 45(6), 2360-2367.
- Zhang, W., Li, Y., & Niu, J. (2013). Photogeneration of reactive oxygen species on uncoated silver, gold, nickel, and silicon nanoparticles and their antibacterial effects. *Langmuir*, 29(15), 4647-4651.