

تأثیر نانوذرات سبز مس سنتز شده با عصاره آبی آلوئه ورا بر پارامترهای جوانه‌زنی لوبیا چیتی تحت تنش شوری

فاطمه نقوی^۱، سید محمد رضا خوشرو^{۱*}، مریم کاظمی پور^۲ و مهرناز محمودی زرنندی^۱



^۱ ایران، کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان، گروه زیست‌شناسی

^۲ ایران، کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان، گروه شیمی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۵

چکیده

در جهان، شوری یکی از مهمترین عوامل غیرزیستی و محدود کننده جوانه‌زنی بذر و همچنین استقرار و رشد اولیه گیاهچه‌ها است که باعث کاهش قابل توجهی در بهره‌وری محصولات کشاورزی می‌شود. در سال‌های اخیر، نانوذرات مهندسی شده به‌عنوان یک جایگزین امیدوار کننده در مبارزه با عوامل تنش غیرزیستی مانند شوری مطرح شده‌اند. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات نانوذرات سبز مس (با استفاده از عصاره برگ گیاه آلوئه ورا) در کاهش تنش شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاه لوبیا چیتی انجام شد. تیمارها به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور نانوذرات سبز مس در ۴ سطح ۰، ۲۰، ۶۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و شوری (NaCl) در ۴ سطح ۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار در ۳ تکرار در نظر گرفته شدند. نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان دادند که برهم‌کنش تنش شوری و نانو ذرات بر پارامترهای جوانه‌زنی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. تجزیه و تحلیل مؤلفه اصلی به منظور تمایز تیمارهای نانوذرات و شوری بر اساس پارامترهای مورد بررسی انجام شد. خوشه‌بندی نقشه حرارتی برای بررسی و ارتباط بین سطوح شوری و نانوذرات مس با پارامترهای جوانه‌زنی ترسیم شد. یافته‌ها نشان دادند که بکارگیری نانوذرات سبز مس به‌عنوان عوامل کاهش دهنده تنش شوری بر پارامترهای جوانه‌زنی لوبیا چیتی به خوبی موثر می‌باشند. بر اساس مدل خطی عمومی چند متغیره و خوشه‌بندی نقشه حرارتی غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز مس و ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم موثرترین غلظت برای کاهش اثرات شوری بر پارامترهای مورد بررسی داشتند.

واژه‌های کلیدی: آلوئه ورا، تنش شوری، جوانه‌زنی، لوبیا چیتی، نانوذرات سبز

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۳۹۷۶۶۳۵، پست الکترونیکی: khoshroo@iauk.ac.ir

مقدمه

امروزه زیست فناوری نانو به عنوان انقلابی بزرگ، آینده اقتصادی کشورها و جایگاه آن‌ها را در جهان تحت تاثیر جدی قرار داده است. در دهه‌های گذشته، بازارهای جهانی فناوری نانو در بخش‌های مختلف از جمله بخش کشاورزی، به میزان قابل توجهی رشد یافته است. بخش

وسیع‌تری از مردم جهان به دلیل اثرات زیست محیطی با کمبود مواد غذایی روزانه یا کاهش کیفیت فرآورده‌های غذایی مواجه هستند. فناوری نانو، رویکرد علمی نوینی است که قادر به رفع این موانع بوده و انتظار می‌رود که در سال‌های آینده موجب افزایش تولید و بهبود کارایی

کاهش دسترسی به آب، تغییر ذخایر داخلی و همچنین با تاثیر بر تغییر در ساختارهای پروتئینی بذر باعث آسیب جدی به جوانه‌زنی بذر می‌شود [47].

یکی از کاربردهای زیست فناوری نانو در زراعت، به‌کارگیری روش‌هایی است که از طریق آن بتوان زمان جوانه‌زنی بذر را کاهش و درصد جوانه‌زنی آنرا افزایش داد. تحقیقات متعددی در زمینه توانایی نانوذرات در نفوذ به دیواره سلولی گیاهان و ایجاد سیستم توانمند انتقال آب و املاح معدنی انجام شده است. نانوذرات می‌توانند منافذ جدیدی را برای نفوذ آب در پوسته بذر ایجاد کنند و به این ترتیب سرعت جوانه‌زنی را افزایش دهند [59]. تحقیقات در مورد اثرات نانوذرات بر جوانه‌زنی و پارامترهای رشد در گیاهان، نشان داده‌اند که نانوذرات می‌توانند به دیواره سلولی نفوذ کنند. زیرا نفوذ آب و به ویژه املاح معدنی در بذر به سبب ضخامت قابل توجه پوسته بذر، پیچیده و سخت است [27].

پژوهش‌های انجام شده در ارتباط با اثرات مس روی گیاهان نشان داده‌اند که مس به‌عنوان یک عنصر ضروری برای گیاهان، در تعدادی از فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مانند زنجیره انتقال الکترون تنفس (سیتوکروم اکسیداز) و ناقل الکترونی در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتز (پلاستوسیانین) و فتوسنتز نقش دارد و نیز قسمتی از پیش‌ساز و یا کوفاکتور آنزیم‌های مرتبط با چرخه‌های متابولیکی و متفاوت نظیر آمینو اکسیداز، سیتوکروم اکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، و پلی فنل اکسیداز می‌باشد [16, 33, 37]. همچنین مس در عمل فتوسنتز گیاهان و در

گیاهان زراعی شده و پاسخگوی چالش‌های فراروی بخش کشاورزی باشد. در این راستا استفاده از نانوذرات در کشاورزی می‌تواند در بهبود وضعیت غذایی گیاه و انجام اقدامات اصلاحی مورد نیاز جهت رسیدگی به اختلالاتی که سبب کاهش عملکرد گیاه می‌شوند، سودمند و موثر باشد [35, 55].

لوبیا چیتی که به آن لوبیای رومی هم می‌گویند، یکی از انواع لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) و از گیاهان دوپه‌ای می‌باشد و یکی از محبوب‌ترین لوبیاها در ایران، ایتالیا، پرتغال، مکزیک، آمریکا و ترکیه است. لوبیا چیتی منبع خوبی از پروتئین، فیبر، ریز مغذی‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، آهن، پتاسیم، منیزیم، کلسیم، فسفر، و ویتامین‌های B، فولات، تیمین، ریبوفلاوین، و نیاسین است [53]. از آنجا که لوبیا چیتی حاوی فیبر محلول است، باعث کاهش کلسترول خون شده و برای رژیم‌های غذایی کم سدیم مناسب است. به‌علاوه، ترکیبات فیتوشیمیایی از جمله برخی ترکیبات پلی‌فنولیک در لوبیا چیتی بر اختلالات متعددی مانند قند خون، سرطان روده بزرگ، چاقی، و بیماری‌های قلبی عروقی موثرند و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان می‌دهند [19].

رشد و نمو گیاه از جوانه‌زنی بذر شروع می‌شود و به‌دنبال آن خروج گیاهچه از خاک و رشد ریشه ادامه می‌یابد. افزایش غلظت شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی و زمان جوانه‌زنی بذر می‌شود. شوری با تغییر تعادل هورمون‌های گیاهی مانند هورمون‌های اکسین، سیتوکینین، اسید جیبرلیک و اسید سالیسیلیک و افزایش اسید آبسزیک و جاسمونات در بافت گیاه، از طریق

ساخت و عملکرد کلروفیل و رنگدانه‌های گیاهی نقش موثری دارد. کمبود مس در گیاهان منجر به کم شدن میزان قندهای محلول و نشاسته در گیاه و دانه‌ها و در نتیجه باعث کم شدن باروری می‌شود [17]. بکارگیری نانوذرات مس می‌تواند نقش مهم و مفید در رشد، نمو و پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان داشته باشد [4, 5, 14, 20, 24].

استفاده از نانوذرات مس در باغبانی یک استراتژی امیدوارکننده برای ترویج رشد گیاهان بوده است [23]. در مطالعه انجام شده بر روی جو (*Hordeum vulgare* L.)، غلظت پایین نانوذرات مس بر پارامترهای جوانه‌زنی مانند درصد جوانه‌زنی نهایی (FGP)، سرعت جوانه زنی (T₅₀)، یکنواختی جوانه‌زنی (T₁₀₋₉₀) و شاخص بنیه بذرها اثرات تحریک‌کنندگی داشتند [23].

سنتز سبز نانوذرات با توجه به مقرون به صرفه بودن، سادگی اجرا، استفاده از درجه حرارت کمتر و استفاده از مواد غیر سمی نسبت به روش‌های دیگر دارای مزیت هستند. در این روش از ترکیبات زیستی مختلف از قبیل عصاره‌های گیاهی به عنوان عامل کاهنده و پایدار کننده برای نانوذرات استفاده می‌شود [22]. روش‌های مختلفی برای تشکیل نانوذرات مانند فرآیند سل ژل، ته‌نشینی شیمیایی، روش هیدروترمال، مایکروویو و رسوب بخار شیمیایی وجود دارد. روش‌های فوق شامل استفاده از معرف‌های خطرناک برای سنتز نانوذرات هستند. با توجه به کاهش آلودگی زیست محیطی، نیاز فوری به توسعه یک روش سازگار با محیط زیست از سنتز مواد نانو وجود داشت. روش‌های

بیولوژیکی مختلفی برای سنتز نانوذرات با استفاده از میکروارگانیسم‌ها، آنزیم‌ها و گیاهان یا عصاره‌های گیاهی پیشنهاد شده است که جایگزین‌های سازگار با محیط زیست نسبت به روش‌های شیمیایی و فیزیکی هستند. روش‌های سنتز زیستی، راه را برای سنتز سبز نانوذرات هموار کرده‌اند و این روش‌ها ثابت کرده‌اند که به دلیل سینتیک کندتر، روش‌های بهتری هستند و دستکاری و کنترل بهتری بر رشد کریستال و تثبیت آن‌ها ارائه می‌دهند. این امر انگیزه‌ای برای افزایش تحقیقات در مورد مسیرهای سنتز ایجاد کرده است که اجازه کنترل بهتر شکل و اندازه نانوذرات را برای کاربردهای مختلف فناوری نانو می‌دهد [40].

آلوئه ورا (*Aloe vera*) گیاهی همیشگی، گرمسیری، مقاوم در برابر خشکسالی، گوشتی متعلق به خانواده لیلیاسیه (*Liliaceae*) است که در طول تاریخ برای انواع مقاصد دارویی مورد استفاده قرار گرفته است. ارزیابی‌های بیوشیمیایی نشان داده است که مواد فعال زیستی هم در رُز و هم در لایه بیرونی برگ *آلوئه ورا* متمرکز شده‌اند. در تحقیقات متعددی از گیاه *آلوئه ورا* برای سنتز سبز نانوذرات استفاده شده است [36, 40, 50].

در گیاهان تحت تنش شوری میزان و جذب آب توسط گیاه کاهش می‌یابد. غلظت بالای نمک در محلول خاک منجر به افزایش تنش اسمزی می‌شود که جذب آب توسط گیاه را محدود می‌کند و به نوبه خود بر پارامترهای جوانه‌زنی، محتوای نسبی آب بذر و در نهایت آب گیاهچه تأثیر می‌گذارد و در نهایت منجر به کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاه می‌شود. گونه‌های مختلف گیاه پاسخ-

مس جمع‌آوری شده در یک شیشه ساعت خشک شدند. رسوب سیاه باقی مانده جمع‌آوری و برای بررسی ویژگی‌های نانوذرات حاصل آسیاب شد.

بررسی ویژگی‌های نانوذرات سبز اکسید مس

سنتز شده: ویژگی‌های مورفولوژیکی (اندازه)، ساختاری و شیمیایی نانوذرات سبز اکسید مس با استفاده از پراش پرتو ایکس (XRD-Philips X'pert Pro- Netherlands) در طول موج $\lambda=1.5406\text{\AA}$ در محدوده اسکن ۲۰ تا ۸۰ و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (Mira-Czech) در ولتاژ ۲۶ Kv و بزرگنمایی ۴۰ هزار برابر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ویژگی‌های نوری نانوذرات سبز اکسید مس سنتز شده با استفاده از تجزیه و تحلیل اسپکتروسکوپی ماوراء بنفش (UV VIS-JENWAY 6405) در محدوده ۲۰۰-۸۰۰ نانومتر و طیف‌سنجی مادون قرمز انتقالی (FTIR) (IRSpirit FTIR SHIMADZU) در محدوده طیفی ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی‌متر مورد بررسی قرار گرفت.

رشد گیاه و تیمارها: در این بررسی از بذر لوبیا چیتی رقم کوشا (k221193) استفاده شد. تعداد ۳۰۰ بذر (تقریباً هم شکل، هم اندازه و هم وزن) در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۳ دقیقه و اتانول ۷۰ درصد برای ۲ دقیقه گندزدایی و سپس دو بار با آب مقطر دو بار تقطیر استریل آب‌کشی شدند.

طرح آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور شوری و نانوذرات مس (چهار غلظت نمک کلرید سدیم و چهار غلظت نانوذرات مس) با سه تکرار برای

های متفاوت و خاصی را به تنش‌های غیرزیستی نشان می‌دهند [6, 39]. تحقیقات گسترده برای کشف محدودیت‌های تحمل به شوری در طول جوانه‌زنی بذر انجام می‌شود. با توجه به اینکه گیاه لوبیا حساس به شوری است [8, 25, 52] در این مطالعه، تاثیر نانوذرات سبز مس در بهبود و یا کاهش برخی از پارامترهای جوانه‌زنی گیاه لوبیا چیتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

آماده سازی عصاره برگ آلوئه ورا: برای آماده سازی عصاره برگ گیاه آلوئه ورا، ۲۵ گرم برگ را به طور کامل شسته، خشک و ریز خرد شد. مواد ریز خرد شده به مدت ۵ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب غیر یونیزه در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتر جوشانده و سپس تا دمای اتاق سرد شد. محلول حاصل از یک باند استریل برای حذف هر گونه ذرات جامد عبور داده و سپس دوباره از طریق کاغذ صافی واتمن با اندازه منافذ ۰/۲ میکرومتر فیلتر شد. عصاره بدست آمده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای سنتز نانوذرات اکسید مس ذخیره شد.

سنتز سبز نانوذرات اکسید مس: پنجاه میلی‌لیتر محلول آبی ۱۰ میلی‌مولار سولفات مس (۹۹/۹۹ درصد خلوص، مرک) در ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری با هم‌زدن مداوم بر روی همزن مغناطیسی در ۹۸-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به ۵ میلی‌لیتر عصاره آلوئه ورا اضافه شد. تغییر رنگ مخلوط واکنش از آبی به قرمز و سپس به قهوه‌ای تیره با هم‌زدن بعد از مدت ۲۴ ساعت مشاهده شد. سپس محلول در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و بعد از دور ریختن محلول رویی، رسوب جمع‌آوری شد. نانوذرات اکسید

برای جلوگیری از شوک شوری) از هر غلظت مورد نظر نمک آبیاری و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰ درصد، و تاریکی در یک اتاق رشد انکوبه شدند. شمارش تعداد بذرهاى جوانه زده (بر اساس خروج ۲ میلی‌متر ریشه‌چه) به طور روزانه و مرتب تا روز پانزدهم از شروع آزمایش ادامه یافت.

اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیکی جوانه زنی بذر: درصد جذب آب (WUP) بر اساس تغییر وزن قبل و بعد از جذب آب توسط بذر به مدت ۲۰ ساعت بر اساس فرمول زیر محاسبه شد [2].

(۱)

$$\text{Water Uptake Percentage} = WUP = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100$$

که W_1 : وزن اولیه دانه، و W_2 : وزن دانه پس از جذب آب در یک زمان مشخص است.

فاکتورهای فیزیولوژیکی شامل درصد جوانه‌زنی (GP)، شاخص جوانه‌زنی (GI) [60]، میانگین زمان (روز) جوانه‌زنی (MGT) [9]، شاخص بنیه بذر (قدرت جوانه‌زنی) (VI) [13, 42] بر اساس زمان (روز) برای جوانه زدن یک تا ۹۵ درصد بذرها (پارامترهای T_1 ، T_{10} ، T_{25} ، T_{50} و T_{95})، شاخص تحمل به نمک (STI) [11, 21, 26]، میزان نسبی آسیب نمک (RSIR) [30] و درصد محتوای آب بافت (TWC) [10] بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شدند.

$$\text{Germination Percentage} = GP = \frac{n}{N} \times 100 \quad (۲)$$

$$\text{Germination Index} = GI = \frac{\sum (n_i \times T_i)}{N} = \frac{\text{Germination \% of each treatment}}{\text{Germination \% of control}} \quad (۳)$$

$$\text{Mean Time Germinating} = MGT = \sum \left(\frac{n_i}{T_i} \times 100 \right) \quad (۴)$$

هر تیمار انجام شد. جهت بهینه‌سازی تیمارها، ابتدا آزمایش‌های مقدماتی در قالب آزمون جوانه زنی استاندارد (ISTA) انجام شد [12, 29].

تهیه محلول‌های سدیم کلرید و نانوذرات سبز مس: محلول اولیه ۱۰۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید تهیه شد. براساس روش سریال رقت محلول‌های سدیم کلرید با غلظت‌های ۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار از محلول اولیه ساخته و pH محلول‌ها با استفاده از محلول ۰/۰۱ مولار HCl و NaOH بر روی ۷ تنظیم شد. محلول‌های نانوذرات سبز سنتز شده مس با غلظت‌های ۰، ۲۰، ۶۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شد. آب مقطر دوبار تقطیر به‌عنوان کنترل در غلظت صفر مورد استفاده قرار گرفت.

تیمار نانوذرات سبز مس بر جوانه‌زنی بذر لوبیا چیتی تحت تنش شوری: پانزده بذر وزن شده هم وزن به مدت ۴ ساعت در هر غلظت به صورت جداگانه در محلول‌های نانوذرات سبز مس قرار داده شدند. بذرهاى پیش تیمار شده با نانوذرات، در دمای آزمایشگاه در زیر هود لامینار تدریجاً خشک و میزان رطوبت آن‌ها به مقدار اولیه (با کنترل وزن بذرها) رسانده شد. سپس ده بذر از هر پیش تیمار نانوذرات در پتری‌دیش (قطر ۱۵ سانتیمتر) (سه پتری‌دیش برای هر تیمار شوری و کنترل) بر روی سه لایه کاغذ صافی قرار داده و با یک لایه کاغذ صافی پوشانده شدند. پتری‌ها هر روز با ۵ میلی‌لیتر از محلول‌های NaCl به تدریج تا حجم نهایی ۲۰ میلی‌لیتر

که n : تعداد بذرها، N : تعداد کل بذرها
 است، n_i : تعداد بذرها، T_i : تعداد روز پس از شروع آزمایش است.

$$\text{Seed Vigor Index} = VI = GP\% \times \text{Seedling Dry Weight}(\text{Root} + \text{Shoot}) \quad (5)$$

$$\text{Salt Tolerance Index (\%)} = STI = \frac{\text{Seedling Dry Weight}(\text{Root} + \text{Shoot}) \text{ at } S_x T_i}{\text{Seedling Dry Weight}(\text{Root} + \text{Shoot}) \text{ at } S_0 T_i} \times 100 \quad (6)$$

که S_0 نشان دهنده کنترل (غلظت صفر نمک) و S_x غلظت نمک در تیمارهای مختلف نانوذرات مس مورد نظر است.

$$\text{Relative Salt Injury Rate} = RSIR = \frac{\text{Germination \% of control} - \text{Germination \% in NaCl}}{\text{Germination \% of control}} \quad (7)$$

$$\text{Tissue Water Content \%} = TWC = \frac{FW - DW}{FW} \times 100 \quad (8)$$

حرارتی (Heat maps) با استفاده از نرم‌افزار بر خط CIMminer ساخته شد.

که FW : وزن تر کل گیاه (ریشه‌چه و ساقه‌چه) و DW : وزن خشک کل گیاه (ریشه‌چه و ساقه‌چه) است.

نتایج

ویژه‌گی‌های نانوذرات سبز اکسید مس سنتز شده: نتایج حاصل از سنتز و پیشرفت تشکیل نانوذرات سبز مس با احیاء یون‌های آبی مس با استفاده از عصاره برگ *آلوئه ورا* مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱). طیف سنجی UV-Vis بررسی احیاء یون‌های مس و تشکیل نانوذرات در تعلیق‌های آبی مورد استفاده قرار گرفت. طیف سنجی جذبی سوسپانسیون کلونیدی نانوذرات اکسید مس سنتز سبز با استفاده از *آلوئه ورا*، دو قله مشخص در ۲۶۰ تا ۲۶۵ و دیگری با رزونانس ضعیف‌تر در ۶۷۵ تا ۶۸۵ نانومتر که نشان دهنده تشکیل نانوذرات اکسید مس است (شکل ۲الف) را نشان داد. احیاء یون‌های مس و تشکیل نانوذرات

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه داده‌های آزمایش پس از بررسی نرمال بودن، کشیدگی و چولگی آنها به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ غلظت نمک، ۴ غلظت نانوذره مس با ۳ تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS v.26 انجام شد. تجزیه و تحلیل واریانس یکطرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ($P \leq 0.05$) انجام شد. تجزیه و تحلیل واریانس دوطرفه برای بررسی اثر متقابل تیمارها و پارامترهای مورد بررسی همراه با آزمون تعقیبی دانکن انجام گرفت. تجزیه و تحلیل مؤلفه اصلی (PCA) به منظور تمایز تیمارهای نانوذرات و شوری بر اساس پارامترهای مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism v.9.3.1.471 انجام شد. به منظور بررسی نحوه اثر و ارتباط متغیرهای وابسته و مستقل بر اساس تیمارهای نانوذرات سبز مس و شوری، نقشه

پایدار پس از ۳۰ دقیقه از واکنش ایجاد شدند.

تجزیه و تحلیل FTIR (شکل ۲ب) نانوذرات سنتز شده سبز، تشکیل باند در 529 cm^{-1} می‌تواند مربوط به ارتعاشات اکسید مس باشد، که

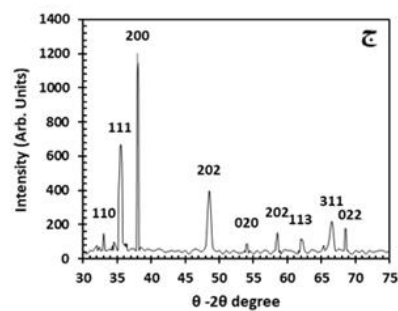
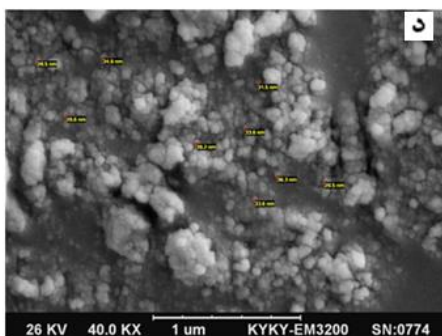
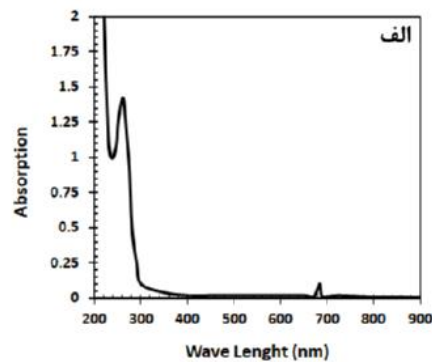
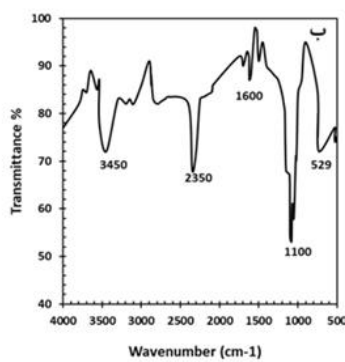
تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانوذرات سنتز شده، مورفولوژی کروی، پراکندگی نسبتاً یکنواخت و همگن با میانگین اندازه ذرات مس حدود ۳۳-۳۵ نانومتر را نشان داد (شکل ۲د).



شکل ۱- مراحل تشکیل نانوذرات مس با استفاده از گیاه آلوئه ورا

تشکیل نانوذرات خالص اکسید مس را تأیید می‌کند [28, 43, 62]. نتایج FTIR وجود مولکول‌های زیستی در عصاره برگ آلوئه ورا مانند اسیدهای آمینه، فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنزیم‌ها را تأیید می‌کند و مسئول ایجاد پوشش و تثبیت نانوذرات اکسید مس هستند [44, 57].

تکنیک XRD برای تعیین و تأیید ساختار کریستال نانوذرات استفاده از تشکیل فاز اکسید مس در نمونه با پراکنش اشعه ایکس تأیید شد. تجزیه XRD مجموعه‌ای از پیک‌های پراش در 2θ را نشان داد (شکل ۲ج). طیف XRD به وضوح ماهیت کریستالی نانوذرات اکسید مس را که از عصاره برگ آلوئه ورا سنتز شده است، مشخص کرد. موقعیت قله‌ها، ساختار مونوکلینیک CuO را نشان داد که توسط مرکز بین‌المللی داده‌های پراش (ICDD) ذرات کوچکتر با اندازه حدود ۱۰۰ نانومتر قابل تأیید است [49, 51].



شکل ۲- الف) طیف UV-Vis، ب) طیف FTIR، ج) الگوی XRD و د) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (بزرگ‌نمایی ۴۰ هزار برابر و ولتاژ ۲۶ هزار ولت) نانوذرات اکسید مس سبز سنتز شده با استفاده از عصاره برگ آلوئه ورا

نتایج کلی نانوذرات مس بر روی پارامترهای

مورد مطالعه تحت تنش شوری: نتایج جدول

تجزیه واریانس یکطرفه نشان داد که اثرات اصلی

نانوذرات مس و شوری در تمامی پارامترهای

اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس یکطرفه برای صفات مورد بررسی

صفات	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	سطح معنی داری
درصد جذب آب Water Uptake %	بین گروهی	۱۵	۰,۶۴۶	۱۸,۷۸۷	<۰,۰۰۱
	درون گروهی	۳۲	۰,۰۳۴		
درصد جوانه زنی Germination %	بین گروهی	۱۵	۴۳۱,۰۶۷	۱۰۰,۹۳۳	<۰,۰۰۱
	درون گروهی	۳۲	۴,۲۷۱		
میانگین زمان جوانه زنی Mean Time Germinating	بین گروهی	۱۵	۳,۶۵۴	۲,۱۰۴	۰,۰۳۸
	درون گروهی	۳۲	۱,۷۳۷		
شاخص جوانه زنی Germination Index	بین گروهی	۱۵	۴۸۷,۸۵۳	۱۰۰,۹۳۳	<۰,۰۰۱
	درون گروهی	۳۲	۴,۸۳۳		
شاخص مقاومت به شوری Salt Tolerance Index	بین گروهی	۱۵	۷۳۵,۵۸۰	۲,۶۳۰	۰,۰۱۱
	درون گروهی	۳۲	۲۷۹,۶۳۶		
میزان نسبی آسیب نمک Relative salt-injury rate	بین گروهی	۱۵	۰,۰۴۹	۱۰۱,۵۷۵	<۰,۰۰۱
	درون گروهی	۳۲	۰,۰۰۰		
شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index	بین گروهی	۱۵	۰,۱۵۱	۲,۵۳۸	۰,۰۱۳
	درون گروهی	۳۲	۰,۰۶۰		
درصد محتوی آب بافت Tissue Water Content %	بین گروهی	۱۵	۰,۰۱۴	۲,۳۳۲	۰,۰۲۲
	درون گروهی	۳۲	۰,۰۰۶		

مقایسه میانگین اثر نانو ذرات مس بر صفات

مورد مطالعه تحت تنش شوری در جدول ۲

نشان داده شده است. افزایش شوری باعث

کاهش درصد جذب آب، درصد جوانه زنی،

میانگین زمان جوانه زنی، شاخص جوانه زنی،

شاخص مقاومت به شوری، شاخص بنیه بذر و

محتوای آب برگ شده است در حالیکه میزان

نسبی آسیب نمک را افزایش داده است.

طرفه بر روی صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود

(جدول ۳). از آنجائیکه تاثیر نانو ذرات مس بر

روی صفات مورد مطالعه تحت تنش تفاوت زیاد

را نشان داد (جدول ۲)، برای مشخص شدن بهتر

اثر نانوذرات مس بر کاهش اثرات تنش شوری بر

روی صفات مورد مطالعه از مدل خطی عمومی

چند متغیره (Multivariate General Linear

Model) استفاده شد (جدول ۴).

همچنین اثر متقابل نانوذرات مس × کلرید سدیم

(شوری) بر اساس تجزیه و تحلیل واریانس دو

جدول ۲ - مقایسه میانگین اثر نانوذرات مس بر صفات مورد مطالعه تحت تنش شوری

درصد محتوی آب	شاخص بنیه بذر	میزان نسبی آسیب نمک	شاخص مقاومت به شوری	شاخص جوانه‌زنی	میانگین زمان جوانه‌زنی (روز)	درصد جوانه‌زنی	درصد جذب آب	غلظت نمک (میلی مولار)	نانوذرات مس (میلی‌گرم در لیتر)
۰,۷۴±۰,۰۱ ^{bc}	۱,۱۷±۰,۰۵ ^e	۰,۰۱±۰,۰۲ ^f	۹۹,۷۳±۱,۴ ^a	۹۹,۶۵±۰,۳۳ ^a	۰,۹۱±۰,۴۱ ^d	۹۴±۰,۳۳ ^a	۱,۳۹±۰,۶۳ ^{bcd}	۰	۰
۰,۸۳±۰,۰۳ ^{ab}	۰,۵۹±۰,۱۵ ^{bcd}	۰,۲۴±۰,۰۲ ^c	۶۶,۶۰±۱,۹۲ ^{cd}	۷۶,۲۴±۱,۰۲ ^a	۱,۸۳±۰,۴۹ ^{bcd}	۷۲±۰,۴۳ ^d	۱,۳۷±۰,۱۳ ^{cde}	۴۰	۰
۰,۷۷±۰,۰۲ ^{ab}	۰,۶۴±۰,۰۵ ^{cde}	۰,۳۹±۰,۰۵ ^d	۷۱,۳۳±۱,۱۱ ^{cd}	۶۰,۹۹±۰,۶۲ ^c	۱,۷۷±۰,۸۳ ^{bcd}	۵۷±۰,۵۸ ^c	۰,۹۱±۰,۰۵ ^{gh}	۸۰	۰
۰,۸۵±۰,۰۲ ^a	۰,۳۴±۰,۱۱ ^{cde}	۰,۴۷±۰,۰۱ ^d	۵۳,۸۷±۱,۱۷ ^{bc}	۵۳,۵۵±۰,۹۸ ^c	۴,۷۱±۰,۳۸ ^e	۵۰±۰,۸۸ ^c	۰,۳۸±۰,۰۲ ⁱ	۱۲۰	۰
۰,۸۵±۰,۰۲ ^{ab}	۰,۵۳±۰,۰۹ ^{bcd}	۰,۲۵±۰,۰۲ ^c	۶۰,۲۷±۱,۹۲ ^{cd}	۷۴,۸۲±۰,۸۷ ^d	۱,۸۶±۰,۶۳ ^{bc}	۷۰±۰,۴۵ ^d	۱,۶۵±۰,۰۷ ^{bc}	۰	۲۰
۰,۸۸±۰,۰۳ ^{ab}	۰,۴۵±۰,۰۹ ^{de}	۰,۲۵±۰,۰۳ ^c	۶۲,۴۰±۱,۰۱ ^{cd}	۷۴,۸۲±۰,۹۹ ^d	۲,۶۰±۰,۷۲ ^{bc}	۷۰±۰,۵۶ ^d	۱,۴۷±۰,۰۷ ^{bcd}	۴۰	۲۰
۰,۷۴±۰,۰۴ ^{ab}	۰,۹۷±۰,۱۵ ^{abcd}	۰,۱۴±۰,۰۱ ^d	۷۱,۰۷±۱,۹۶ ^{abcd}	۸۵,۸۲±۰,۶۶ ^c	۰,۹۹±۰,۵۵ ^d	۸۱±۰,۳۵ ^c	۱,۰۷±۰,۰۷ ^{fgh}	۸۰	۰
۰,۷۷±۰,۰۵ ^{ab}	۰,۵۷±۰,۰۵ ^{bcd}	۰,۳۵±۰,۰۱ ^d	۶۵,۴۰±۱,۰۵ ^{bcd}	۶۵,۵۴±۰,۹۳ ^c	۲,۳۶±۰,۸۵ ^{bc}	۶۱±۰,۹۹ ^c	۰,۷۶±۰,۰۴ ^b	۱۲۰	۰
۰,۷۹±۰,۰۹ ^{ab}	۰,۵۱±۰,۱۲ ^{bcd}	۰,۱۴±۰,۰۳ ^b	۵۰,۴۰±۱,۴۴ ^{abcd}	۸۶,۱۷±۰,۸۵ ^c	۰,۹۸±۰,۳۲ ^d	۸۱±۰,۴۷ ^e	۲,۰۵±۰,۱۴ ^e	۰	۶۰
۰,۷۳±۰,۰۳ ^{bc}	۰,۸۳±۰,۲۱ ^{abc}	۰,۱۵±۰,۰۳ ^d	۷۲,۸۰±۱,۸۵ ^{abcd}	۸۵,۴۶±۰,۸۱ ^c	۱,۳۹±۰,۴۴ ^{bcd}	۸۰±۰,۱۶ ^c	۱,۴۸±۰,۰۷ ^{bcd}	۴۰	۶۰
۰,۹۰±۰,۰۲ ^a	۰,۴۸±۰,۰۹ ^{de}	۰,۱۰±۰,۰۴ ^e	۴۲,۴۰±۱,۳۳ ^d	۹۵,۷۴±۰,۷۳ ^b	۱,۷۹±۰,۲۱ ^{bcd}	۹۰±۰,۵۲ ^b	۱,۲۰±۰,۰۶ ^{efg}	۸۰	۰
۰,۸۴±۰,۰۸ ^c	۰,۵۹±۰,۳۱ ^{ab}	۰,۱۵±۰,۰۲ ^d	۵۸,۶۷±۰,۹۹ ^b	۸۵,۴۶±۰,۷۹ ^c	۲,۳۹±۰,۴۲ ^{bc}	۸۰±۰,۴۶ ^c	۱,۲۷±۰,۰۱ ^{def}	۱۲۰	۰
۰,۷۷±۰,۰۵ ^{ab}	۰,۸۱±۰,۱۳ ^e	۰,۱۶±۰,۰۱ ^a	۸۱,۶۰±۱,۷۴ ^{cd}	۸۴,۴۰±۰,۹۴ ^f	۲,۳۱±۰,۵۹ ^{bc}	۷۹±۰,۶۷ ^f	۲,۳۶±۰,۰۲ ^a	۰	۱۵۰
۰,۷۷±۰,۰۷ ^{ab}	۰,۶۹±۰,۱۱ ^{bcd}	۰,۱۵±۰,۰۲ ^b	۶۶,۰۰±۰,۹۷ ^{cd}	۸۵,۱۱±۰,۹۸ ^e	۲,۶۴±۰,۷۱ ^{bc}	۸۰±۰,۹۱ ^e	۱,۷۳±۰,۱۱ ^b	۴۰	۱۵۰
۰,۶۳±۰,۰۴ ^{ab}	۱,۰۰±۰,۰۸ ^{bcd}	۰,۱۵±۰,۰۱ ^d	۸۲,۷۷±۰,۸۹ ^{cd}	۸۵,۴۶±۰,۹۳ ^c	۲,۴۰±۰,۴۶ ^{bc}	۸۰±۰,۸۷ ^c	۱,۶۱±۰,۰۴ ^{bcd}	۸۰	۱۵۰
۰,۷۹±۰,۰۳ ^{ab}	۰,۷۴±۰,۱۲ ^{abcde}	۰,۳۶±۰,۰۱ ^b	۹۷,۶۰±۱,۳۹ ^{ab}	۶۴,۱۸±۰,۷۲ ^e	۳,۲۱±۰,۳۸ ^{ab}	۶۰±۰,۵۷ ^e	۱,۳۳±۰,۰۳ ^{cde}	۱۲۰	۱۵۰

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

جدول ۳- آزمون‌های اثرات بین نانوذرات مس و نمک بر صفات مورد مطالعه

میانگین مربعات صفات وابسته							درجه آزادی	منابع تغییرات
شاخص جوانه‌زنی	میانگین زمان جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی	درصد جذب آب	شاخص جوانه‌زنی	میانگین زمان جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی		
۰,۰۱۴ ^{ns}	۰,۱ ^{ns}	۰,۰۵۶ ^{**}	۱۴۷۹,۸۴۴ ^{**}	۵۶۹,۰۷۳ ^{**}	۲,۴۱۲ ^{ns}	۵۰۲,۸۳۳ ^{**}	۱,۱۸۴ ^{**}	۳ نانوذرات مس
۰,۰۰۷ ^{**}	۰,۱۲۳ ^{**}	۰,۰۸۴ ^{**}	۱۰۰,۰۲۲ [*]	۸۳۷,۱۰۶ ^{**}	۲,۰۰۱ ^{**}	۷۳۹,۶۶۷ ^{**}	۱,۸۰۸ ^{**}	۳ نمک
۰,۰۱۶ ^{**b}	۰,۱۷۸ ^{**g}	۰,۰۳۵ ^{**f}	۶۹۹,۳۴۴ ^{**e}	۳۴۴,۳۶۱ ^{**d}	۴,۶۱۹ ^{**c}	۳۰۴,۲۷۸ ^{**b}	۰,۰۷۹ ^{**a}	۳ نانوذرات مس × نمک
۰,۱۹۱	۱,۹۰۶	۰,۰۱۵	۸۹۴۸,۳۴۷	۱,۸۱۳	۱,۷۴	۲,۲۷	۰,۰۳	۳۲ خطا
۱۱,۶	۴۳,۷	۵۹,۸	۲۹,۹	۱۶,۱	۶۳,۱	۱۶	۳۴,۹	ضریب تغییرات متمرکز بر میانگین (%)
۵۲,۲ ^b	۵۴,۳ ^e	۹۷,۹ ^f	۵۵,۲ ^e	۹۷,۹ ^d	۴۹,۷ ^c	۹۷,۹ ^b	۸۹,۸ ^a	ضریب تشخیص (%)

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

این مدل سطح معنی‌داری (P-Value) کمتر از ۰/۰۵ شد، مدل میزان معنی‌داری تغییرات را توجیه کرد. در این مدل اثر نانوذرات مس τ_i ، اثر β_j اثر غلظت نمک λ_m ، اثر متقابل نانوذرات مس

در بررسی اثرات متقابل نانوذرات مس و شوری، بر اساس نتایج بدست آمده در جدول ۴، در سطح اطمینان ۹۵٪، مدل $y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \lambda_m$ استخراج شد ($i(\text{Cu-NPs}) = 1, 2, 3, 4; j(\text{NaCl}) = 1, 2, 3, 4; k(\text{Repeat}) = 3, 2, 3$). با توجه به اینکه در

نام و نمک z_m ، σ_{ijk} خطای تصادفی حاصل از تکرار و μ مقدار ثابت است.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه تحت اثر متقابل فاکتورهای نانوذرات مس و نمک بر اساس مدل خطی عمومی چند متغیره

صفات	درجه آزادی	نمک (میلی مولار)	اثرات نمک	نانوذرات مس (میلی گرم بر لیتر)	اثرات نانوذرات مس
درصد جذب آب	۱۲	۰	a	۰	d
	۱۲	۴۰	b	۲۰	c
	۱۲	۸۰	c	۶۰	b
	۱۲	۱۲۰	d	۱۵۰	a
درصد جوانه‌زنی	۱۲	۰	a	۰	d
	۱۲	۴۰	b	۲۰	c
	۱۲	۸۰	b	۶۰	a
	۱۲	۱۲۰	c	۱۵۰	b
میانگین زمان جوانه‌زنی	۱۲	۰	c	۰	a
	۱۲	۴۰	b	۲۰	a
	۱۲	۸۰	ab	۶۰	a
	۱۲	۱۲۰	a	۱۵۰	a
شاخص جوانه‌زنی	۱۲	۰	a	۰	d
	۱۲	۴۰	b	۲۰	c
	۱۲	۸۰	b	۶۰	a
	۱۲	۱۲۰	c	۱۵۰	b
شاخص مقاومت به شوری	۱۲	۰	c	۰	b
	۱۲	۴۰	b	۲۰	bc
	۱۲	۸۰	a	۶۰	c
	۱۲	۱۲۰	a	۱۵۰	a
میزان نسبی آسیب نمک	۱۲	۰	c	۰	a
	۱۲	۴۰	b	۲۰	b
	۱۲	۸۰	b	۶۰	d
	۱۲	۱۲۰	a	۱۵۰	c
شاخص بنیه بذر	۱۲	۰	a	۰	a
	۱۲	۴۰	ab	۲۰	a
	۱۲	۸۰	b	۶۰	a
	۱۲	۱۲۰	c	۱۵۰	a
درصد محتوی نسبی آب بافت	۱۲	۰	a	۰	ab
	۱۲	۴۰	a	۲۰	a
	۱۲	۸۰	b	۶۰	a
	۱۲	۱۲۰	c	۱۵۰	c

میانگین‌های دارای حروف مشترک برای هر صفت در دو فاکتور نانوذرات مس و نمک، اختلاف معنی‌داری با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

مختلف نانوذرات و سطوح مختلف شوری در ۹ گروه مجزا برای پارامترهای مورد بررسی طبقه‌بندی شدند (شکل ۳). با توجه به تیمار شاهد (NaCl 0-CuNPs 0)، تیمارهای NaCl 80-CuNPs 60 و NaCl 120-CuNPs 150 نیز از سایر تیمارها جدا شدند. از طرف دیگر، پارامترهای مورد بررسی در سه گروه (گروه اول درصد جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی، گروه دوم شاخص مقاومت به شوری و گروه سوم میانگین زمان جوانه‌زنی، درصد جذب آب، میزان نسبی آسیب نمک، شاخص بنیه بذر و درصد محتوی آب بافت) قرار گرفتند. گروه اول پارامترها با افزایش شوری، کاهش داشتند و با بکارگیری نانوذرات اثرات شوری کاهش یافته و درصد جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی بهبود یافتند. تاثیر نانوذرات نیز بر بهبود و افزایش شاخص مقاومت به شوری نیز در NaCl 120-CuNPs 150 مشخص شد. سایر پارامترها (گروه سوم) به دلیل شوری به طور معنی‌داری کاهش یافتند اما بیشترین مقادیر این اجزا در هر دو گروه شاهد و تیمار با نانوذرات ثبت شد.

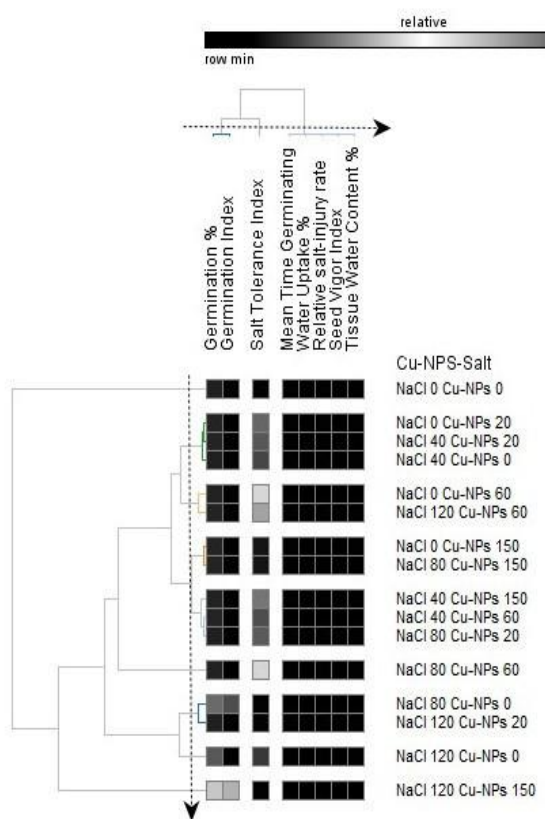
بر اساس این مدل افزایش شوری باعث کاهش درصد جذب آب، درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر و محتوی آب برگ شده است اما استفاده از نانوذرات درصد جذب آب (۱۵۰ میلی‌مولار) (۷۲/۲۸ درصد)، درصد جوانه‌زنی (۶۰ میلی‌مولار) (۳۱/۸ درصد) و شاخص جوانه‌زنی (۶۰ میلی‌مولار) (۲۱/۴۹ درصد) را بطور معنی‌دار ($\alpha=0/05$) افزایش داده است. افزایش شوری باعث افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی شده است. نانوذرات مس بر روی میانگین جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر تاثیر معنی‌دار نشان نداده است. افزایش شوری شاخص مقاومت به شوری را کاهش داده است در حالیکه بکارگیری نانوذرات (۱۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش شاخص مقاومت به شوری (۱۱/۱۶ درصد) شده است. میزان نسبی آسیب نمک با افزایش شوری افزایش و با بکارگیری نانوذرات (۱۵۰ میلی‌مولار) این شاخص به طور معنی‌دار کاهش (۲۵ درصد) نشان داد. نانوذرات مس همانند شوری بر روی محتوی آب بافت اثر کاهشی نشان داده است اما در غلظت ۶۰ میلی‌مولار باعث بهبود محتوی آب بافت در شوری ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر (۱۳/۹۲ درصد) شده است.

خوشه‌بندی نقشه حرارتی و تجزیه و تحلیل

مؤلفه‌های اصلی پارامترهای مورد بررسی:

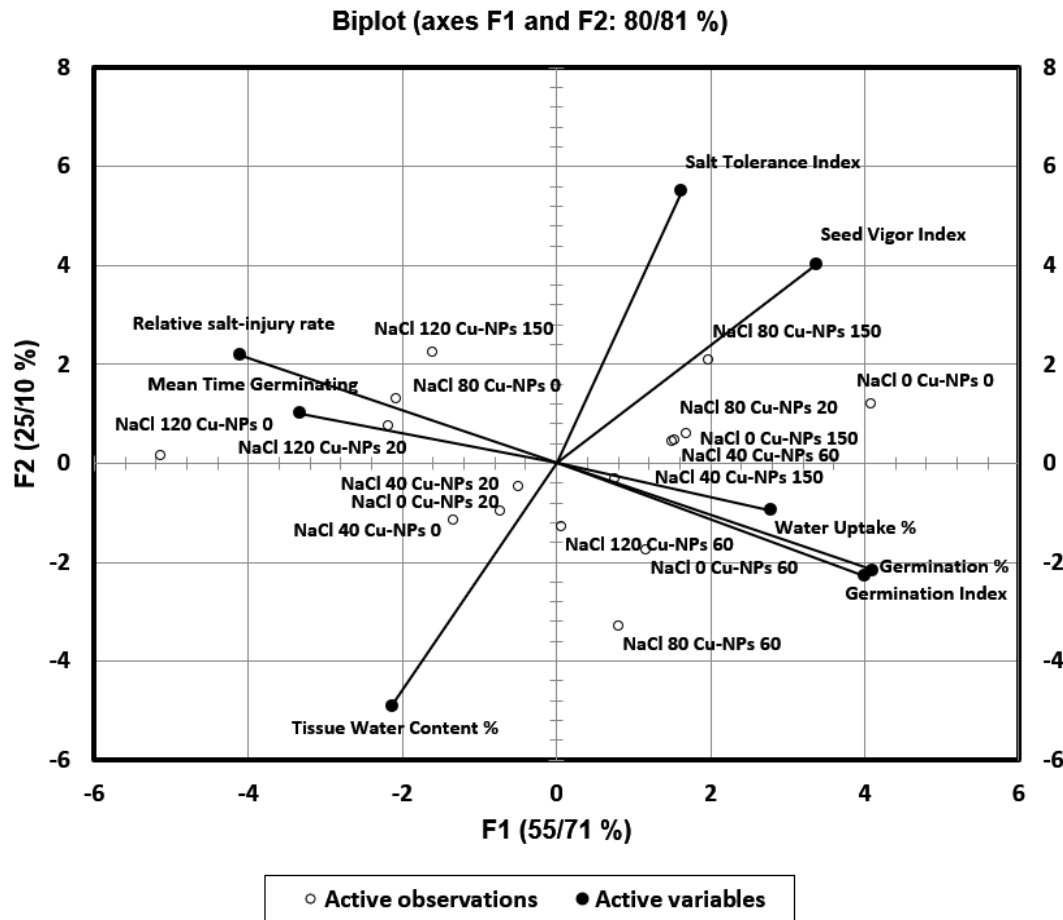
خوشه‌بندی نقشه حرارتی به منظور تجسم، شفاف‌سازی و ارتباط یافته‌ها با گروه‌های آزمایشی بر اساس فاصله اقلیدسی برای ستون (پارامترهای مورد ارزیابی) و ردیف (تیمارها) با روش Average Linkage ساخته شد. با توجه به خوشه‌بندی نقشه حرارتی، تیمارهای ترکیبات

تغییرپذیری داده‌های اصلی را تشکیل می‌دهند. نسبت واریانس از مؤلفه‌ها نشان می‌دهد که پارامترهای ارزیابی شده همراه با تیمارها می‌توانند با تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های مربوطه توضیح داده شوند. اولین مؤلفه اصلی، PC1، که ۵۵/۷۱ درصد از کل تغییرات را به خود اختصاص می‌دهد، همبستگی مثبت معنی‌داری با میزان نسبی آسیب نمک و میانگین زمان جوانه زنی نشان داد. این مؤلفه به عنوان مؤلفه میزان نسبی آسیب نمک و زمان جوانه‌زنی در نظر گرفته شد و بهترین پاسخ مربوط به تیمار NaCl 150-CuNPs 120 بود. در دومین مؤلفه اصلی، PC2، که ۲۵/۱۰ درصد از کل تغییرات را به خود اختصاص می‌دهد، شاخص مقاومت به شوری و شاخص بینه بذر دارای بردارهای ویژه بالاتری هستند که بهترین پاسخ مربوط به NaCl 80-CuNPs 150 بود. از سوی دیگر، در اولین مؤلفه اصلی، محتوی آب بافت قرار گرفته است که بهترین پاسخ مربوط به تیمار NaCl 40-CuNPs 20 بود و در دومین مؤلفه اصلی درصد جذب آب، درصد جوانه زنی و شاخص جوانه قرار گرفتند که بهترین پاسخ مربوط به تیمار NaCl 150-CuNPs 40 بود (شکل ۴).



شکل ۳- خوشه‌بندی نقشه‌های حرارتی مربوط به متغیرهای وابسته و مستقل همراه با تیمارها

برای ارزیابی کامل‌تر اثرات شوری و نانوذرات بر صفات مورد مطالعه، داده‌های بدست آمده از آزمایشات، مورد تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی قرار گرفتند. با توجه به نمرات دو مؤلفه اول و دوم، گروه‌های آزمایشی در یک بای‌پلات مشخص شدند (شکل ۴). دو مؤلفه اصلی با مقادیر ویژه بزرگتر از ۱، ۸۰/۸۱ درصد از



شکل ۴- بای پلات تیمارهای شوری و نانوذرات بر روی پارامترهای مورد بررسی بر اساس نمرات دو مؤلفه اول و دوم

بحث

ایکس (XRD) تشکیل تک فاز اکسید مس با ساختار مونوکلنیک را نشان داد. مطالعه و بررسی طیف جذبی نانوذرات سبز اکسید مس سنتز شده با استفاده از اسپکتروفتومتری (UV-Vis)، وجود فلز مس را در محدوده $\lambda_{max} = 300 \text{ nm}$ در عصاره برگ گیاه آلوئه ورا به خوبی نشان داد. نتایج FTIR وجود پیوند Cu-O و گروه‌های عاملی موجود در عصاره، به عنوان عوامل اکسیداسیون (احیاء کننده) و همچنین پایدار کننده را توجیه می‌کند. از نانوذرات سبز سنتز شده جهت بررسی اثر آن‌ها بر کاهش تنش شوری بر برخی از پارامترهای مرتبط با جوانه‌زنی بذر لوبیا چیتی استفاده شد.

امروزه استفاده از عصاره گیاهان برای سنتز سبز نانو ذرات به خاطر مقرون به صرفه بودن و همچنین سازگار بودن با محیط زیست بیشتر مورد توجه محققین قرار می‌گیرد. در بررسی حاضر، نانوذرات اکسید مس با استفاده از عصاره برگ گیاه آلوئه ورا سنتز شد. تشکیل نانوذرات سبز مس توسط طیف سنجی UV-Visible، پراش اشعه ایکس (XRD)، تبدیل فوریه طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد بررسی و تایید قرار گرفت. تجزیه و تحلیل پراش پودر اشعه

بیوشیمیایی و مولکولی در خصوص استفاده از نانوذرات صورت گرفته است، اما دانش کلی فعلی در مورد مکانیسم‌های عمل در مرحله ابتدایی باقی مانده است [63].

با بررسی تحقیقات انجام شده، مشخص شده است که نانوذرات اکسید مس اثرات مثبتی در جهت افزایش تحمل به شوری در گیاهان زراعی دارند [34, 41, 56]. به همین دلیل، در مطالعه حاضر برهمکنش بین نانوذرات اکسید مس و تنش شوری در گیاه لوبیا چیتی مورد ارزیابی قرار گرفت. لوبیا چیتی، به عنوان یک محصول تجاری عمده، بیشتر در مناطقی کشت می‌شود که با مشکلات شوری مواجه هستند، که باعث کاهش عملکرد و کیفیت می‌شود [7, 52]. با توجه به شرایط ایران و حساسیت ارقام لوبیا به شوری، کاربردهای احتمالی و بالقوه نانوذرات اکسید مس را در کاهش اثرات منفی شوری بر روی برخی پارامترهای جوانه‌زنی بررسی شد.

کیفیت جوانه‌زنی برای ظهور و نمو گیاه مهم است. جوانه‌زنی مناسب و یکنواخت، برای ایجاد مزارع یکدست لازم است. کیفیت جوانه‌زنی بذر با ویژگی‌هایی مانند درصد و شاخص جوانه‌زنی بیان می‌شود [61]. رشد سالم و مناسب نهال‌ها باعث افزایش بهترین جمعیت گیاه به ویژه در شرایط تنش شوری می‌شود. بنابراین، آزمایش جوانه‌زنی می‌تواند ابزار مفیدی برای انتخاب و توسعه ارقام برای کاشت در خاک شور به ویژه در مناطق خشک باشد [3].

در مطالعه حاضر، با توجه به مشاهدات فنوتیپی گیاهان لوبیا چیتی (جدول ۴)، بکارگیری نانوذرات اکسید مس باعث اثرات مثبت و قابل توجهی در گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد

شوری خاک یکی از تهدیدات عمده محصولات در سراسر جهان است، محدود شدن سریع جذب آب و متعاقباً ایجاد تنش اسمزی باعث انباشته شدن یون‌ها در خاک و در نتیجه منجر به تنش یونی می‌شود [31]. در گیاهان تحت تنش شوری میزان و جذب آب توسط گیاه کاهش می‌یابد. غلظت بالای نمک در محلول خاک منجر به افزایش تنش اسمزی می‌شود که جذب آب توسط گیاه را محدود می‌کند و به نوبه خود بر جوانه‌زنی، محتوای آب بذر و در نهایت آب گیاهچه، هدایت روزنه‌ای، رشد برگ (حساسیت و مرگ برگ) و فتوسنتز (کاهش غلظت کلروفیل) تأثیر می‌گذارد و در نهایت منجر به کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاه می‌شود. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد نانوذرات می‌توانند وضعیت آب و کارایی استفاده از آب را در بسیاری از گونه‌های گیاهی بهبود بخشند. علاوه بر این، مطالعات متعددی گزارش داده‌اند که گیاهان تحت تیمار با نانوذرات، هدایت و تعرق روزنه‌ای بالاتر، محتوای آب، و هدایت هیدرولیکی ریشه و کل گیاه را حفظ می‌کنند [15].

در تحقیقات برای اکثر گونه‌های گیاهی به طور کلی، و لوبیا به طور خاص، رشد آهسته و تاخیری در سطوح بالاتر شوری خاک گزارش شده است [7, 52]. به دلیل عدم مقبولیت عمومی از محصولات ترا ریخته در بسیاری از کشورها، استفاده از نانوذرات به عنوان یک ابزار جایگزین بالقوه و عالی برای کاهش آسیب تنش در گیاهان مورد توجه فزاینده‌ای قرار گرفته است و نتایج قابل قبول و واضحی بسته به نوع و میزان مصرف به دست آمده است [18]. اگرچه پیشرفت‌هایی در مورد پاسخ‌های فیزیولوژیکی،

در این مطالعه، کاهش مشاهده شده در درصد محتوی نسبی آب تحت تأثیر شوری و کاربرد نانوذرات، ممکن است به دلیل استراتژی‌های دفاعی گیاه برای کاهش جذب نانوذرات به دنبال مسیرهای انتقال نانوذرات از طریق جریان و انتقال آب باشد [45, 46]. علاوه بر این، برگ‌های در معرض نانوذرات، تنظیم افزایشی برخی از عوامل رونویسی را نشان داده‌اند که نقش مهمی در توسعه زایشی و رویشی گیاهان دارند [54]. در مطالعه حاضر نانوذرات مس (غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر) تا حدودی اثرات منفی شوری (۸۰ میلی‌مولار نمک) بر درصد محتوی نسبی آب در گیاهان تیمار شده را نیز بهبود بخشیده است (جدول ۲) (شکل ۳).

تیمارهای نانوذرات مس با افزایش شوری جذب و حفظ آب را در گیاه لوبیا چیتی بهبود بخشید، و این امر منجر به افزایش جوانه‌زنی بذر نسبت به گروه شاهد شد. به نظر می‌رسد تیمار با نانوذرات با افزایش شوری، اثرات مضر شوری را کاهش می‌دهد (جدول ۲ و ۴). در مطالعه انجام شده بر روی بذر گوجه فرنگی با نانوذرات کربن پس از انکوباسیون ۲ روزه، محتوای آب بذرهای نانوذرات، ۱۹ درصد بیشتر از دانه‌های تیمار نشده گزارش شده است [15]. یافته‌ها نشان می‌دهند که نانوذرات جذب و حفظ آب را افزایش می‌دهند. مکانیسم به طور کامل درک نشده است. شاید نانوذرات منافذ بسیار ریز و کانال‌های نفوذ آب را در لایه‌های بذر ایجاد می‌کنند. فرض بر این است که نانوذرات آکوپورین‌های موجود در پوشش دانه را تنظیم می‌کنند [32].

تنش شوری بر پروتئین‌ها و ژن‌های اندام‌های گیاهی به‌ویژه در ریشه تأثیر می‌گذارد. تنش

و تحت تنش شوری شد. نمک موجود در محیط پتانسیل اسمزی را تا حدی کاهش می‌دهد که جذب آب لازم برای جذب مواد غذایی مورد نیاز برای جوانه‌زنی را به تأخیر می‌اندازد یا مانع از آن می‌شود. نتایج ما با نتایج کایماکانوا [25]، که جوانه‌زنی مستقیماً با مقدار آب جذب شده و تأخیر در جوانه‌زنی با غلظت نمک محیط ارتباط دارد، مطابقت داشت. همراه با افزایش شدت شوری، فشار اسمزی منجر به کاهش جذب آب و مهار تقسیم و تمایز سلولی می‌شود که بر فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی تأثیر منفی می‌گذارد و این باعث تأخیر بیشتر در شروع جوانه‌زنی و به دنبال آن طولانی شدن مدت جوانه‌زنی بذر و در نهایت کاهش پارامتر جوانه زنی می‌شود [1].

بکارگیری نانوذرات مس باعث افزایش درصد، شاخص و میانگین زمان جوانه‌زنی در گیاه لوبیا چیتی شد (جدول ۲ و ۴). در این مطالعه نیز مشخص شد که درصد و شاخص جوانه‌زنی ارتباط نزدیک با درصد جذب آب دارد (شکل ۴). با افزایش شوری که باعث کاهش جذب آب می‌شود، بکارگیری نانوذرات مس باعث بهبود جذب آب و دنبال آن افزایش درصد و شاخص جوانه‌زنی شده است (شکل ۳). در ارتباط با تحمل شوری (نمک)، ممکن است بین تحمل به شوری در مرحله جوانه‌زنی و در مراحل بعدی رشد همبستگی مثبتی وجود نداشته باشد. با این وجود، تحمل بیشتر به شوری در طول جوانه‌زنی با نرخ تنفس کمتر و ذخیره بیشتر مواد تنفسی همراه است. میزان تحمل به نمک گیاهان با نوع نمک و پتانسیل اسمزی محیط متفاوت است [48, 58]. اما مقادیر متناظر همراه با افزایش غلظت نانوذرات افزایش یافت (جدول ۴).

ناشی از نمک، باعث آسیب غشای پلاسمایی می‌شود و بر فعالیت آکوابورین‌ها (تنظیم منفی فعالیت آکوابورین‌های غشای پلاسمایی) و متعاقباً هدایت هیدرولیکی تأثیر می‌گذارد و منجر به آسیب نسبی مرتبط با نمک در هنگام جوانه‌زنی بذر می‌شود (جدول ۲ و ۴). به نظر می‌رسد که کاربرد نانوذرات ممکن است تعادل آب گیاه را در شرایط شوری با تنظیم مثبت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلیدی نیز بهبود بخشد، که باید در تحقیقات آینده بر روی لوبیای چیتی مورد مطالعه قرار گیرد.

نتایج این تحقیق نشان داد که شوری تأثیر کاهنده بر سرعت جوانه‌زنی در لوبیا چیتی داشت که یافته تحقیقات مشابه را تایید می‌کند [47]. اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال شود و یا جذب به آرامی صورت گیرد فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به آرامی انجام خواهند شد و در نتیجه مدت زمان لازم برای خروج ریشه‌چه از بذر افزایش یافته و سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد [25].

قدرت جوانه‌زنی یکی از شاخص‌های بسیار مهم در ارزیابی کیفیت بذر است و نقش تعیین‌کننده‌ای در جوانه‌زنی و سبز شدن یکنواخت تحت شرایط تنش و بدون تنش دارد. به عبارت دیگر بنیه یا قدرت بذر به توان تولید گیاهچه قوی و نرمال در کمترین زمان ممکن گفته می‌شود که این صفت مهمترین عامل مؤثر بر استقرار و سبز شدن و به دنبال آن رشد گیاه است که در نهایت به افزایش عملکرد منجر می‌شود. بنیه بذر تحت تأثیر عوامل محیطی و شرایط نگهداری بذرهای نیز قرار می‌گیرد [47]. در مطالعه حاضر شاخص بنیه بذر همراه با تنش شوری کاهش یافت که این

شوری جذب آب در ریشه را محدود می‌کند و همچنین بر بیان آکوابورین‌ها تأثیر می‌گذارد. تنش شوری (۱۵۰ میلی مولار NaCl) هدایت هیدرولیکی پایینی را در ریشه ایجاد می‌کند. علاوه بر این، ژن‌های مرتبط با پروتئین‌های شوک حرارتی، روبنده‌های انواع اکسیژن فعال و اسمولیت‌ها نیز بیان متفاوتی را تحت تنش نمک نشان می‌دهند که در گیاهان سورگوم تحت تنش شوری مشاهده شد [63].

آکوابورین‌ها پروتئین‌های کانالی که متعلق به ابر خانواده اصلی پروتئین هستند که نقش مهمی در روابط آب گیاهی دارند. نقش اصلی آکوابورین‌ها در گیاهان انتقال آب و دیگر مولکول‌های خنثی کوچک در سراسر غشاهای زیستی سلولی است. گزارش شده است که نانوذرات می‌توانند هدایت هیدرولیک ریشه را از طریق افزایش بیان آکوابورین‌ها، این پروتئین غشاء پلاسمایی را افزایش دهند که ممکن است تا حدودی به افزایش جذب آب و کاهش تنش اکسیداتیو و آسیب غشایی کمک کنند و در نتیجه باعث بهبود و افزایش تحمل به شوری شوند [15]. تحقیق حاضر نیز نشان داد که بکارگیری نانوذرات مس تا حدودی باعث بهبود شاخص مقاومت به شوری در گیاه لوبیا چیتی شده است (جدول ۲ و ۴) (شکل ۴).

این تحقیق همچنین نشان داد که نانوذرات اکسید مس درصد جذب آب را در لوبیا چیتی بهبود داده است (جدول ۴). بررسی‌های انجام شده بر روی کلم بروکلی، تأثیر نانوذرات بر روی افزایش درصد جذب آب تحت تنش نمک نشان داده شده است [15].

مشخص شده است که تنش اکسیداتیو، تنش

روی پارامترهای جوانه‌زنی مور بررسی برای مقابله با شوری تاثیر مثبت داشت، غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز مس بود. از آنجا که جوانه‌زنی مطلوب و رشد سریع گیاهچه باعث استقرار بهتر و کاهش رقابت با دیگر گیاهان می‌شود؛ بنابراین استفاده از نانوذرات مس در گیاه لوبیا چیتی می‌تواند راهکار مناسبی برای تولید این گیاه در شرایط شوری باشد. در عرصه زندگی گیاه به‌ندرت شرایط مطلوب از لحاظ ویژگی‌های مختلف محیطی فراهم است و در نتیجه میزان جوانه‌زنی و سبز شدن واقعی کمتر از میزان پیش‌بینی شده در آزمون‌های جوانه‌زنی است. از اینرو شاخص بنیه بذر به‌طور قوی‌تری می‌تواند میزان جوانه‌زنی بذر در عرصه را نشان دهد. هرچند افزایش شاخص بنیه بذر با حضور نانوذرات مس در سطوح شوری پایین در این گیاه به اثبات رسید ولی برای بررسی سایر مشخصه‌های گیاه لوبیای چیتی نیازمند آزمایش تکمیلی در شرایط مزرعه هستیم. و همچنین نیاز به بررسی اثرات سمی نانوذرات مس در غلظت‌های بالاتر از ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافی ندارند.

سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهید حاج قاسم سلیمانی (واحد کرمان) بخاطر فراهم کردن شرایط آزمایشگاهی، دستگاهی و تجهیزات تشکر می‌شود.

روند مطابق با روند درصد جوانه‌زنی بود و با شاخص مقاومت به شوری در ارتباط است (جدول ۲ و ۴) (شکل ۴). شاخص بنیه بذر در شرایط عدم شوری نسبت به غلظت‌های پائین و بالای نانو ذرات حساسیت نشان داد و در شوری ۸۰ میلی‌مولار در ارتباط با شاخص مقاومت به شوری و در غلظت ۴۰ میلی‌مولار در ارتباط با درصد و شاخص جوانه‌زنی با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات مس بهینه بود (شکل ۳ و ۴). به نظر می‌رسد که تیمار با نانوذرات سبب سازگاری بیشتر گیاه با تنش شوری شده و به دلیل فعالیت بهتر برخی آنزیم‌ها در بذر، قابلیت دسترسی به مواد غذایی در طول جوانه‌زنی در بذرهای تیمار شده آسانتر شده و این بذرها قادر به کامل کردن فرآیند تحمل به تنش شوری می‌گردند [38].

نتیجه‌گیری کلی

از آنجا که شوری یکی از مشکلات رو به گسترش در جهان است و سطح وسیعی از اراضی کشور ما را نیز در بر می‌گیرد، بررسی و ابداع تکنیک‌های فیزیولوژیک برای افزایش پارامترهای کیفیت بذر از جمله جوانه‌زنی جهت تداوم بقا در انواع تنش‌ها به ویژه تنش شوری به عنوان یکی از مهمترین تنش‌های محیطی ضروری است. در شرایط تنش شوری نانوذرات مس در تمام پارامترهای مورد بررسی تأثیر افزایشی و یا بهبود داشت که این نتیجه توانایی نانوذرات مس را در تقلیل اثرات منفی تنش شوری به اثبات رساند. بر اساس تجزیه و تحلیل‌های پیشرفته آماری مانند خوشه بندی نقشه حرارتی بهترین غلظت مشاهده شده که بر

منابع

- 1- Aghamir F, Bahrami H, Malakouti MJ, Eshghi S, Sharifi F (2016). Seed germination and seedling growth of bean (*Phaseolus vulgaris*) as influenced by magnetized saline water. Eurasian Journal of Soil Science (Ejss), 5(1):39-46. <https://doi.org/10.18393/ejss.2016.1.039-046>.
- 2- Akbarimoghaddam H, Galavi M, Ghanbari A, Panjehkeh N (2011). Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars. Trakia journal of Sciences, 9(1):43-50
- 3- Ali MAA, Abdallah MMF, Abo El-Azam NA, Abou El-Yazeid AA (2019). Impact of salinity Seed sprout characterization of five faba bean (*Vicia faba* L.) varieties. Arab Universities Journal of Agricultural Sciences, 27(4):2259-2272. <https://doi.org/10.21608/ajs.2019.15226.1064>.
- 4- Apodaca SA, Medina-Velo IA, Lazarski AC, Flores-Margez JP, Peralta-Videa JR, Gardea-Torresdey JL (2018). Different forms of copper and kinetin impacted element accumulation and macromolecule contents in kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. Sci Total Environ, 636:1534-1540. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.360>.
- 5- Apodaca SA, Tan W, Dominguez OE, Hernandez-Viezcas JA, Peralta-Videa JR, Gardea-Torresdey JL (2017). Physiological and biochemical effects of nanoparticulate copper, bulk copper, copper chloride, and kinetin in kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. Sci Total Environ, 599-600:2085-2094. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.095>.
- 6- Asemeh m, pourakbar L (2022). The effect of silicon and silicon dioxide nanoparticle on growth factors, osmolytes and ionic content of saffron (*Crocus sativus* L.) under salinity stress. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 35(1):31-41
- 7- Bayuelo-Jiménez JS, Jasso-Plata N, Ochoa I (2012). Growth and Physiological Responses of *Phaseolus* Species to Salinity Stress. International Journal of Agronomy, 2012:1-13. <https://doi.org/10.1155/2012/527673>.
- 8- Beltagi M, Ismail M, Mohamed F (2006). Induced Salt Tolerance in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by Gamma Irradiation. Pak J Biol Sci, 9(6):1143-1148. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.1143.1148>.
- 9- Benech-Arnold R, Rodolfo S (2004). Handbook of seed physiology: Applications to agriculture. CRC Press.
- 10- Black M, Pritchard HW (2002). Desiccation and survival in plants drying without dying. New York, CABI.
- 11- Carpiçı E, Celik N, Bayram G (2009). Effects of salt stress on germination of some maize (*Zea mays* L.) cultivars. African Journal of Biotechnology, 8(19):4918-4922
- 12- Don R (2006). International Seed Testing Association (ISTA): handbook on seedling evaluation. 4th ed. International Seed Testing Association (ISTA). Zurich, Switzerland: International Seed Testing Association.
- 13- Elias SG, McDonald MB (2012). Seed Testing: Principles and Practices. Michigan State University Press.
- 14- Essa HL, Abdelfattah MS, Marzouk AS, Shedeed Z, Guirguis HA, El-Sayed MMH (2021). Biogenic copper nanoparticles from *Avicennia marina* leaves: Impact on seed germination, detoxification enzymes, chlorophyll content and uptake by wheat seedlings. PLoS One, 16(4):e0249764. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249764>.
- 15- Etesami H, Fatemi H, Rizwan M (2021). Interactions of nanoparticles and salinity stress at physiological, biochemical and molecular levels in plants: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 225:112769. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112769>.
- 16- Faize M, Burgos L, Faize L, Piqueras A, Nicolas E, Barba-Espin G, et al. (2011). Involvement of cytosolic ascorbate peroxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase for improved tolerance against drought stress. Journal of Experimental Botany, 62(8):2599-2613. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq432>.
- 17- Gao S, Yan R, Cao M, Yang W, Wang S, Chen F (2008). Effects of copper on growth, antioxidant enzymes and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedling. Plant, Soil Environ, 54(3):117-122. <https://doi.org/10.17221/2688-pse>.
- 18- Gohari G, Mohammadi A, Akbari A, Panahirad S, Dadpour MR, Fotopoulos V, et al. (2020). Titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical

- attributes of *Dracocephalum moldavica*. Scientific reports, 10(1):1-14
- 19- Hayat I, Ahmad A, Masud T, Ahmed A, Bashir S (2014). Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. Crit Rev Food Sci Nutr, 54(5):580-592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>.
 - 20- Hernández-Hernández H, Quiterio-Gutiérrez T, Cadenas-Pliego G, Ortega-Ortiz H, Hernández-Fuentes AD, Cabrera de la Fuente M, et al. (2019). Impact of Selenium and Copper Nanoparticles on Yield, Antioxidant System, and Fruit Quality of Tomato Plants. Plants, 8(355):2-17
 - 21- Ibrahim MEH, Zhu X, Zhou G, Nimir NEA (2016). Comparison of germination and seedling characteristics of wheat varieties from China and Sudan under salt stress. Agronomy Journal, 108(1):85-92. <https://doi.org/10.2134/agronj15.0176>.
 - 22- Jadoun S, Arif R, Jangid NK, Meena RK (2020). Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: a review. Environ Chem Lett, 19(1):355-374. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01074-x>.
 - 23- Kadri O, Karmous I, Kharbech O, Arfaoui H, Chaoui A (2022). Cu and CuO Nanoparticles Affected the Germination and the Growth of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Seedling. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 108(3):585-593. [10.1007/s00128-021-03425-y](https://doi.org/10.1007/s00128-021-03425-y).
 - 24- Kasana RC, Panwar NR, Kaul RK, Kumar P (2017). Biosynthesis and effects of copper nanoparticles on plants. Environ Chem Lett, 15(2):233-240. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0615-5>.
 - 25- Kaymakanova M (2009). Effect of salinity on germination and seed physiology in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Biotechnology & Biotechnological Equipment, 23(sup1):326-329
 - 26- Khatun M, Hafiz M, Hasan M, Hakim M, Siddiqui M (2013). Responses of wheat genotypes to salt stress in relation to germination and seedling growth. International journal of Bio-resource and Stress Management, 4(4):635-640
 - 27- Khodakovskaya M, Dervishi E, Mahmood M, Xu Y, Li Z, Watanabe F, et al. (2009). Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. ACS Nano, 3(10):3221-3227. <https://doi.org/10.1021/nn900887m>.
 - 28- Kliche G, Popovic Z (1990). Far-infrared spectroscopic investigations on CuO. Physical Review B, 42(16):10060
 - 29- Kolasinska K, Szyrmer J, Dul S (2000). Relationship between laboratory seed quality tests and field emergence of common bean seed. Crop Science, 40(2):470-475
 - 30- Kouam EB, Ndo SM, Mandou MS, Chotangui AH, Tankou CM (2017). Genotypic variation in tolerance to salinity of common beans cultivated in Western Cameroon as assessed at germination and during early seedling growth. Open Agriculture, 2(1):600-610. <https://doi.org/10.1515/opag-2017-0064>.
 - 31- Lamers J, van der Meer T, Testerink C (2020). How Plants Sense and Respond to Stressful Environments. Plant Physiol, 182(4):1624-1635. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01464>.
 - 32- Li Z, Zhu L, Zhao F, Li J, Zhang X, Kong X, et al. (2022). Plant Salinity Stress Response and Nano-Enabled Plant Salt Tolerance. Front Plant Sci, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.843994>.
 - 33- Liochev SI, Fridovich I (2010). Mechanism of the peroxidase activity of Cu, Zn superoxide dismutase. Free Radic Biol Med, 48(12):1565-1569. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.02.036>.
 - 34- López-Vargas ER, Ortega-Ortiz H, Cadenas-Pliego G, De Alba Romenus K, Cabrera de la Fuente M, Benavides-Mendoza A, et al. (2018). Foliar Application of Copper Nanoparticles Increases the Fruit Quality and the Content of Bioactive Compounds in Tomatoes. Appl Sci, 8(7):1020
 - 35- moaveni p, ojagh SE (2021). The effect of magnesium dioxide nanoparticles on morphological and physiological traits on *Achillea millefolium* L. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 34(4):832-842
 - 36- Naikoo GA, Mustaqeem M, Hassan IU, Awan T, Arshad F, Salim H, et al. (2021). Bioinspired and green synthesis of nanoparticles from plant extracts with antiviral and antimicrobial properties: A critical review. J Saudi Chem Soc, 25(9):1-17. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2021.101304>.
 - 37- Nguyen LT, Ho WF, Yang K-L (2020). Copper-tripeptides (cuzymes) with peroxidase-mimetic activity. Royal Society of Chemistry,

- 10(30):17408-17415.
<https://doi.org/10.1039/d0ra02472d>.
- 38- Nitnavare R, Bhattacharya J, Ghosh S. Nanoparticles for effective management of salinity stress in plants. In: Ghosh S, Thongmee S, Kumar A, editors. *Agricultural Nanobiotechnology*. Woodhead Publishing; 2022. p. 189-216.
- 39- Paes de Melo B, Carpinetti PA, Fraga OT, Rodrigues-Silva PL, Fioresi VS, de Camargos LF, et al. (2022). Abiotic Stresses in Plants and Their Markers: A Practice View of Plant Stress Responses and Programmed Cell Death Mechanisms. *Plants (Basel)*, 11(9).
<https://doi.org/10.3390/plants11091100>.
- 40- Parthasarathy G, Saroja M, Venkatachalam M, Gowthaman P, Evanjelene V (2016). Synthesis of Nano Particles From *Aloe Vera* Extract—Review Paper. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research (IJIR)*, 4(10):1570-1575
- 41- Pérez-Labrada F, López-Vargas ER, Ortega-Ortiz H, Cadenas-Pliego G, Benavides-Mendoza A, Juárez-Maldonado A (2019). Responses of Tomato Plants under Saline Stress to Foliar Application of Copper Nanoparticles. *Plants*, 8(6):151
- 42- Pradeep P (2018). Seed quality parameters (Germination percentage and seedling vigor index) of *rabi* sorghum seeds influenced by rice weevil infestation. *MOJ Toxicology*, 4(6):391-396.
<https://doi.org/10.15406/mojt.2018.04.00135>.
- 43- Ren G, Hu D, Cheng EW, Vargas-Reus MA, Reip P, Allaker RP (2009). Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International journal of antimicrobial agents*, 33(6):587-590
- 44- Sathiyavimal S, Vasantharaj S, Bharathi D, Saravanan M, Manikandan E, Kumar SS, et al. (2018). Biogenesis of copper oxide nanoparticles (CuONPs) using *Sida acuta* and their incorporation over cotton fabrics to prevent the pathogenicity of Gram negative and Gram positive bacteria. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 188:126-134.
[10.1016/j.jphotobiol.2018.09.014](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.09.014).
- 45- Schwab F, Zhai G, Kern M, Turner A, Schnoor JL, Wiesner MR (2016). Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants—Critical review. *Nanotoxicology*, 10(3):257-278.
<https://doi.org/10.3109/17435390.2015.1048326>.
- 46- Schwabe F, Schulin R, Limbach LK, Stark W, Burge D, Nowack B (2013). Influence of two types of organic matter on interaction of CeO₂ nanoparticles with plants in hydroponic culture. *Chemosphere*, 91(4):512-520.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.025>.
- 47- Shahverdi MA, Omid H, Tabatabaei SJ (2017). Effect of nutri-priming on germination indices and physiological characteristics of stevia seedling under salinity stress. *Journal of Seed Science*, 39(4):353-362.
<https://doi.org/10.1590/2317-1545v39n4172539>.
- 48- Shrivastava P, Kumar R (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2):123-131.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>.
- 49- Siddiqui H, Parra MR, Qureshi MS, Malik MM, Haque FZ (2018). Studies of structural, optical, and electrical properties associated with defects in sodium-doped copper oxide (CuO/Na) nanostructures. *Journal of Materials Science*, 53(12):8826-8843.
<https://doi.org/10.1007/s10853-018-2179-6>.
- 50- Singh J, Dutta T, Kim KH, Rawat M, Samddar P, Kumar P (2018). 'Green' synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(84):1-24.
<https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4>.
- 51- Sudha V, Murugadoss G, Thangamuthu R (2021). Structural and morphological tuning of Cu-based metal oxide nanoparticles by a facile chemical method and highly electrochemical sensing of sulphite. *Scientific Reports*, 11(3413):1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82741-z>.
- 52- Taïbi K, Taïbi F, Abderrahim LA, Ennajah A, Belkhdja M, Mulet JM (2016). Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany*, 105:306-312.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.03.011>.
- 53- Torche Y, Blair M, Saida C (2018). Biochemical, physiological and phenological genetic analysis in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under salt stress. *Ann Agric Sci*, 63(2):153-161.
<https://doi.org/10.1016/j.aoas.2018.10.002>.
- 54- Tumburu L, Andersen CP, Rygielwicz PT, Reichman JR (2017). Molecular and

- physiological responses to titanium dioxide and cerium oxide nanoparticles in *Arabidopsis*. *Environ Toxicol Chem*, 36(1):71-82. <https://doi.org/10.1002/etc.3500>.
- 55- Usman M, Farooq M, Wakeel A, Nawaz A, Cheema SA, Rehman HU, et al. (2020). Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities. *Sci Total Environ*, 721:137778. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137778>.
- 56- Van Nguyen D, Nguyen HM, Le NT, Nguyen KH, Nguyen HT, Le HM, et al. (2022). Copper Nanoparticle Application Enhances Plant Growth and Grain Yield in Maize Under Drought Stress Conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41(1):364-375. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10301-w>.
- 57- Vaseghi Z, Nematollahzadeh A, Tavakoli O (2018). Green methods for the synthesis of metal nanoparticles using biogenic reducing agents: a review. *Reviews in Chemical Engineering*, 34(4):529-559. <https://doi.org/10.1515/revce-2017-0005>.
- 58- Volkov V, Beilby MJ (2017). Editorial: Salinity Tolerance in Plants: Mechanisms and Regulation of Ion Transport. *Front Plant Sci*, 8:1795. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01795>.
- 59- Wang Z, Xie X, Zhao J, Liu X, Feng W, White JC, et al. (2012). Xylem- and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *Environmental Science and Technology*, 46(8):4434-4441. <https://doi.org/10.1021/es204212z>.
- 60- Xie C, Liu T, Guo S, Peng J, Li Z (2021). Effects of ultra-dry storage on seed germination and seedling growth of *Handeliondendron bodinieri*. *Silva Fennica*, 55(3):1-21. <https://doi.org/10.14214/sf.10509>.
- 61- Yusefzaee F, Pourakbar L (2017). The Effect of copper Nanoparticles and Copper chloride solution On Germination And solution some morphological and physiological factors *Ocimum basilicum* L. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 30(1):221-231
- 62- Zhang YX, Huang M, Li F, Wen ZQ (2013). Controlled synthesis of hierarchical CuO nanostructures for electrochemical capacitor electrodes. *International Journal of Electrochemical Science*, 8(6):8645-8661
- 63- Zulfqar F, Ashraf M (2021). Nanoparticles potentially mediate salt stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 160:257-268. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.028>.

Effect of green copper nanoparticles synthesized with *Aloe vera* aqueous extract on germination parameters of pinto beans under salinity stress

Naghavi F.¹, Khoshroo M.R.^{1*}, Kazemipour M.² and Mahmoudi Zarandi M.¹

¹ Dept. of Biology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, I.R. of Iran

² Dept. of Chemistry, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, I.R. of Iran

Abstract

In the world, salinity is one of the most important abiotic factors that limit seed germination and the establishment and initial growth of seedlings, which causes a significant decrease in the productivity of agricultural products. In recent years,

engineered nanoparticles have been proposed as a promising alternative in combating abiotic stress factors such as salinity. The present study investigated the effects of copper green nanoparticles (using *Aloe vera* leaf extract) in reducing salinity stress on the germination indicators of pinto beans. The treatments were factorial and in the form of a completely random design with two factors of green copper nanoparticles at four levels of 0, 20, 60 and 150 mg/L and salinity (NaCl) at four levels of 0, 40, 80 and 120 mM was considered in 3 replicates. The analysis of variance showed that the interaction between salinity stress and nanoparticles on germination parameters was significant at the 5% probability level. Principal component analysis was performed to differentiate nanoparticle and salinity treatments based on the investigated parameters. Thermal map clustering was drawn to investigate and relate salinity levels and copper nanoparticles with germination parameters. The findings showed that using green copper nanoparticles as agents for reducing salinity stress effectively affects the germination parameters of pinto beans. Based on a multivariate general linear model and heat map clustering, 60 mg/L green copper nanoparticles and 80 mM sodium chloride were the most effective concentrations for reducing the effects of salinity on the investigated parameters.

Key words: *Aloe Vera*; Germination; Green Nanoparticles; Pinto beans; Salinity; Stress