

اثرات نانوذره نقره بر رشد، ظرفیت تبادلات گازی و عملکرد فتوسیستم II در گیاه خرفه

ضرغام زارع^۱، لیلا پیشکار^{۱*}، علیرضا ایرانبخش^۲ و داریوش طالعی^۳

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

^۲ ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست‌شناسی

^۳ ایران، تهران، دانشگاه شاهد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۰۶



چکیده

با افزایش قابل ملاحظه‌ای در تکنولوژی نانو، احتمال دارد که سیستم‌های زیستی در معرض غلظت‌های بالای نانوذرات (NPs) قرار گیرند. گیاه خرفه یک گیاه علفی یک ساله است که دارای برخی از خواص دارویی مانند ضد باکتری، ضد درد، ترمیم زخم، شل کننده عضلات اسکلتی، ضد التهاب و ضد رادیکال است. در این مطالعه، غلظت‌های مختلف نانوذره نقره (۰، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر رشد و تولید زیتوده، رنگیزه‌های فتوستتزی، محتوای پرولین، ترکیبات فلاونوئید و فنل کل، ظرفیت تبادل گازی و پارامترهای فلورسنس کلروفیل گیاه خرفه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تیمار نانوذره نقره در غلظت‌های بالا (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) به طور معنی‌داری از تولید زیتوده و رشد ریشه و ساقه ممانعت کرد و باعث کاهش محتوای رنگیزه‌های کلروفیل *a* و *b* شد. در حالیکه تیمار نانوذره نقره محتوای پرولین، آنتوسیانین و ترکیبات فنلی را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. با افزایش غلظت نانوذره نقره، نسبت فتوستتزی، نسبت تعرق، هدایت روزنه‌ای، بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II، ضریب خاموشی فتوشیمیایی و عملکرد کوانتومی موثر فتوشیمیایی فتوسیستم II کاهش یافت. بررسی فلورسنس کلروفیل *a* نشان داد که 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 نانوذره نقره باعث القای مکانیسم بازدارندگی بر فرآیند فتوستتزی و در نتیجه، کاهش زیتوده گیاه خرفه شد.

واژه‌های کلیدی: خرفه، نانوذره نقره، تبادلات گازی، فلورسنس کلروفیل، رنگیزه‌های فتوستتزی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۳۴۵۵۹۰۰، پست الکترونیکی: Pishkar@iiu.ac.ir

مقدمه

جایجا شده و در دسترس گیاهان قرار گیرند. گزارش شده است که غلظت‌های محیطی نانوذرات نقره در آب‌های سطحی می‌تواند به بیش از یک میلی‌گرم در لیتر برسد (۴). تحت این شرایط، بسیاری از گیاهان ممکن است در معرض سمیت نانوذره نقره قرار بگیرند که می‌تواند باعث اثرات منفی بر روی فتوستتزی و دیگر فرآیندهای متابولیکی مهم مربوط به رشد گیاه شود. مطالعات فراوانی بر روی اثرات سمی نانوذره نقره بر گونه‌ها مختلف گیاهی و

امروزه فناوری نانو باعث عرضه تعداد زیادی از محصولات نانو شده است که نانوذرات نقره یکی از گسترده‌ترین محصولات مصرفی هستند. نانوذرات نقره به خاطر فعالیت‌های ضدباکتری و ضدقارچی در صنعت داروسازی مفید هستند و به عنوان ترکیبات فعال، در تولید شوینده‌ها نیز استفاده زیادی از آن‌ها می‌شود (۳۹ و ۴۴). مقدار زیادی از نانوذرات مانند نانوذره نقره می‌تواند جذب سطح ذرات خاک شود و به راحتی با جریان‌ات آب سطحی در خاک

که نشان دهنده تشدید سمیت است (۵۷). همچنین 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 (۳۲). یکی از اثرات منفی سمیت نانوذرات، اثرات بازدارندگی فرآیندهای فتوسنتزی است که باعث کاهش رشد گیاه می‌شود (۸). تغییر در فعالیت فتوسنتز بر سنتز ATP و NADPH تاثیر می‌گذارد که باعث برهم زدن واکنش‌های بیوشیمیایی و فرآیندهای فیزیولوژیکی و در نهایت کاهش رشد گیاه می‌شود. بنابراین، تغییر رشد سلولی تحت سمیت نانوذرات می‌تواند بخاطر تغییر در فعالیت فتوسیستم II باشد که به صورت انتشار متفاوت فلورسنس کلروفیل نشان داده می‌شود (۱۰). اندازه‌گیری فلورسنس، به عنوان نشانه‌ای از فتوشیمیایی اولیه فتوسیستم II و فعالیت انتقال الکترون، می‌تواند اطلاعات ارزشمندی از تاثیر سمیت نانوذرات بر دستگاه فتوسنتزی و در نتیجه اسیمیلایون کربن ایجاد کند. اندازه‌گیری‌های فلورسنس کلروفیل به عنوان یک روش غیرتخریبی، سریع و کارآمد برای مطالعه فعالیت فتوسنتز گیاهان تحت تنش‌های محیطی استفاده می‌شود (۴۳).

خره‌ه (*Portulaca oleracea* L.) گیاه دارویی از تیره Portulacaceae است که ساقه‌های بدون کرک، گوشتی، برگ‌ها بدون کرک، فاشقی شکل با حواشی صاف و بدون دم‌برگ، گل‌ها با دو کاسبرگ گوشتی، گلبرگ زرد رنگ و میوه از نوع کپسول است که دارای تعداد زیادی بذر براق سیاه رنگ مایل به قهوه‌ای می‌باشد. گیاهی یک ساله است که ارتفاع آن تا حدود ۴۰ سانتیمتر در مراحل گلدهی می‌رسد. گیاه خره‌ه در سرتاسر نواحی معتدل و گرمسیر دنیا انتشار یافته است (۲۴). گیاه غنی از اسیدهای چرب، پروتئین و ویتامین C، A و E می‌باشد که حدود ۷۰ درصد اسیدهای چرب تشکیل دهنده روغن آن غیراشباع بوده و حدود ۵۰ درصد آن را تنها اسید چرب امگا ۳ تشکیل می‌دهد (۳۵). براساس منابع طب سنتی ایران، گیاه خره‌ه یک

جانوری انجام شده است، اما با اینحال، مکانیسم دقیق سمیت نانوذره نقره بر روی جنبه‌های مختلف زیستی به طور دقیق شناسایی نشده است و نیازمند بررسی بیشتر می‌باشد (۶، ۱۹، ۲۷، ۳۷ و ۵۵).

مطالعات نشان داده است که نانوذره نقره تاثیر منفی بر فرآیند فتوسنتز در موجودات فتوسنتز کننده دارد که می‌تواند باعث کاهش رشد و عملکرد آنها شود (۲۱ و ۳۶). نشان داده شد که اثرات منفی نانوذره نقره ۱۰ برابر بیشتر از غلظت مشابه از فرم یونی نقره می‌باشد که نشان دهنده سمیت بالای فرم نانوذرات فلزات سنگین نسبت به فرم یونی آنها است (۳۳، ۵۰ و ۵۶). اثرات سمی نانوذره نقره به گونه گیاهی و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانوذره بستگی دارد (۵۳). نانوذره نقره می‌تواند در اندازه‌های متفاوتی ایجاد شود که ویژگی‌های سمی متفاوتی دارند. در واقع، نانوذرات نقره با اندازه کوچکتر، به دلیل افزایش انتقال آنها در سیستم زیستی، سمیت بالاتری نسبت به نانوذرات با اندازه بزرگتر دارند (۲۶ و ۵۳). همبستگی بین سطح سمیت و سطح تماس نانوذرات نقره وجود دارد بطوریکه نانوذرات نقره با نسبت سطح به حجم بالا (اندازه کوچکتر) میان‌کنش فعال قوی‌تری با بخش‌های مختلف سلولی و داخل سلولی برقرار می‌کنند (۲۹). گزارش شده است که نانوذرات نقره با قطر کمتر از ۱۰۰ نانومتر تاثیر منفی بر رشد گیاهان *Allium cepa* و *Arabidopsis thaliana* دارند (۲۸ و ۵۵). همچنین 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 فرآیندهای حیاتی گیاه از جمله فتوسنتز و تنفس ممانعت می‌کند (۴۹). با اینحال، بررسی مطالعات انجام شده نشان داد که دلیل اصلی اثرات سمی نانوذرات نقره مشخص نیست که آیا به خاطر ایجاد نقره یونی می‌باشد یا اینکه به خاطر ویژگی‌های ذاتی نانوذره نقره می‌باشد. اما گزارش شده است که با افزایش نانوذره نقره در گیاهان، طول ریشه و میزان زیتوده گیاهان کاهش می‌یابد

مواد و روشها

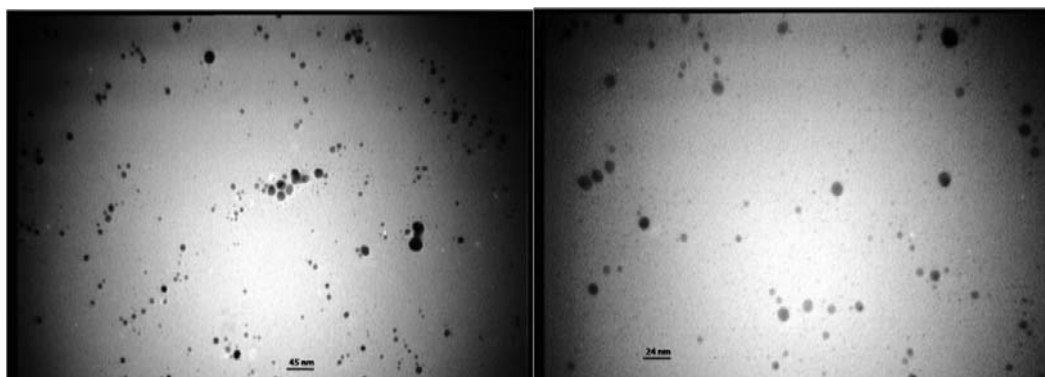
تهیه و آماده‌سازی نانوذره نقره: از نانوذره نقره شرکت آمریکایی US-NANO (شناسه محصول: A-136) برای این تحقیق استفاده شد. به منظور تهیه غلظت‌های مختلف نانوذره نقره، مقدارهای مشخص نانوذره نقره در آب دوبار تقطیر با استفاده از هموژنایزر اولتراسونیک به مدت ۳۰ دقیقه حل شد. خصوصیات نانوذره نقره با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱ و شکل ۱).

گیاه داویی ضد درد، تب‌بر، ضد عفونی کننده، ضد اسکوربوت، ضد سرفه، ضد التهاب، تصفیه کننده خون، ضد سوختگی پوست و کاهش تورم و آبسه‌ها، گزیدگی نیش حشرات و عقرب گزیدگی می‌باشد (۵۸).

در این مطالعه، تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر رشد و زیتوده، رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنتوسیانین، پرولین و ترکیبات فنلی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین پارامترهای تبادل گازی و فلورسنس کلروفیل تحت غلظت‌های مختلف نانوذره نقره مورد ارزیابی قرار گرفت تا تاثیر سمیت نانوذره نقره بر دستگاه فتوسنتزی و میزان اسیمیلایون کربن مورد بررسی قرار گیرد.

جدول ۱- مشخصات نانوذره نقره

نانوذره نقره	نسبت سطح به حجم نانوذره نقره	مورفولوژی ذرات	درصد خلوص	متوسط قطر ذرات
AgNPs	۱۸-۲۲ مترمربع بر گرم	کروی	۹۹ درصد	۵-۳۰ نانومتر



شکل ۱- عکس‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) از نانوذرات نقره

وات بر متر مربع و رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد نگهداری شدند. برای اعمال تیمارها، آزمایشی به صورت طرح کاملا تصادفی با هفت غلظت مختلف نانوذره نقره (۰، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) و پنج تکرار انجام شد و سپس گیاهچه‌های ۱۵ روزه با غلظت‌های مختلف نانوذره نقره به مدت ۴ هفته تیمار شدند. گلدان‌ها هر روز با غلظت‌های مختلف نانوذره نقره و هفته‌ای یک بار با محلول ۱/۲ هوگلدن آبیاری شدند. بعد از ۴ هفته، نمونه برداری انجام شد و نمونه‌ها در فریزر ۸۰- برای انجام اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی نگهداری شدند. وزن خشک

کشت گیاه و اعمال تیمار: بذرهای گیاه خرفه از شرکت کشاورزی بهار (شناسه محصول: dkp-1595672) تهیه شدند. بعد از سترون‌سازی بذرها با هیپوکلریت سدیم (۵ دقیقه) و شستشو با آب مقطر، در ظرف‌هایی حاوی پیت-ماس و پرلیت استرون به نسبت ۳:۱ جوانه‌دار شدند. بعد از جوانه‌زدن، گیاهچه‌های ۱۰ روزه یک‌دست به گلدان‌های پلاستیکی حاوی ماسه (یک گیاهچه در هر گلدان) منتقل شدند. گلدان‌ها در گلخانه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد با شرایط دمای روز / شب ۲۵/۱۸ درجه سانتیگراد، مدت روشنایی ۱۴ ساعت با شدت نور ۴۰۰

رنگیزه‌های فتوستتزی و آنتوسیانین بترتیب مطابق روش لیچنتتالر (۱۹۸۷) و سیمز و گامون (۲۰۰۲) براساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید (۳۰ و ۴۵).

$$\text{Chl}_a \text{ (mg/g FW)} = 12.25 A_{663} - 2.79 A_{645} \times \frac{v}{w \times 1000}$$

$$\text{Chl}_b \text{ (mg/g FW)} = 21.5 A_{645} - 5.1 A_{663} \times \frac{v}{w \times 1000}$$

$$\text{Chl}_{a+b} \text{ (mg/g FW)} = \frac{7.15 A_{663} - 18.71 A_{645} \times \frac{v}{w \times 1000}}$$

$$C_{x+c} \text{ (mg/g FW)} = (1000 A_{470} - 1.82 \text{Chl}_a - 85.02 \text{Chl}_b) / 198 \times \frac{v}{w \times 1000}$$

$$\text{Antho} = 0.08173 A_{537} - 0.0069 A_{647} - 0.002228 A_{663} \times \frac{v}{w \times 1000}$$

برگ در دو میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد یکنواخت شد و در بن ماری در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد 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 سانتیگراد نگهداری شد. سپس یک میلی‌لیتر سدیم بی‌کربنات ۱۲ درصد به محلول اضافه و پس از ۲ ساعت قرار گرفتن در دمای اتاق، جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از گالیک اسید برای رسم نمودار استاندارد استفاده شد.

تبادل گازی و راندمان مصرف آب: صفت‌های نسبت فتوستتزر خالص (P_n)، هدایت روزنه‌ای (gs)، غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه (Ci) و نسبت تعرق (E) با دستگاه قابل حمل سنجش فلورسانس و تبادل گازی -GFS-3000 (WALZ, Germany) FL اندازه‌گیری شد. راندمان مصرف آب طبق فرمول زیر محاسبه شد:

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

فلورسانس کلروفیل: پارامترهای فلورسانس کلروفیل از آخرین برگ توسعه یافته با استفاده از فلوریمتر (PAM 2500-Walz Germany) صورت گرفت. بدین منظور،

نمونه‌ها به ترتیب بعد از خشک شدن در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت ثبت شدند.

رنگیزه‌های فتوستتزی و آنتوسیانین: برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوستتزی، مقدار ۰/۳ گرم برگ تازه توزین و در هاون با سه میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به خوبی ساییده و سپس در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب محلول رویی در طول موج‌های ۴۷۰، ۵۳۷، ۶۴۵، ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری شد و محتوای

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

پرولین، فلاونوئید و فنل کل: برای اندازه‌گیری پرولین آزاد از عصاره الکی برگ استفاده شد. پرولین با قرائت جذب واکنش‌نین‌هیدرین در طول موج ۵۲۰ نانومتر طبق روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) محاسبه شد (۲).

از روش پکال و پیرزینسکا (۲۰۱۴) برای اندازه‌گیری فلاونوئید استفاده شد (۴۰). در این روش با آلومینیوم کلرید و روش رنگ سنجی 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 سدیم نیتريت ۱۰ درصد، ۳۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید 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 سینگ لتون و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد (۴۶). ۰/۱ گرم از بافت

واریانس نشان داد که تیمار غلظت‌های مختلف نانوذره نقره اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر صفات طول ریشه، ارتفاع گیاه و وزن خشک کل گیاه خرفه داشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش غلظت نانوذره نقره (۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) باعث افزایش معنی‌دار طول ریشه نسبت به گیاه شاهد به میزان ۹ درصد شد، در حالیکه افزایش بیشتر غلظت نانوذره نقره باعث کاهش طول ریشه شد، بطوریکه 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 ارتفاع و وزن خشک کل گیاه نسبت به شاهد شد، اما افزایش بیشتر نانوذره باعث کاهش این دو صفت نسبت به گیاهان شاهد شد و کمترین میزان ارتفاع و وزن خشک کل در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب به میزان ۴۰ و ۳۳/۷ درصد نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تیمار غلظت‌های مختلف نانوذره نقره (به جز غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر) باعث کاهش محتوای کلروفیل *a* برگ نسبت به تیمار شاهد شد و کمترین محتوای کلروفیل *a* تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره ثبت گردید (جدول ۳). روند کاهشی در محتوای کلروفیل *b* و کلروفیل کل با افزایش غلظت نانوذره نقره مشاهده شد و بیشترین کاهش تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر در کلروفیل *b* و کلروفیل کل بترتیب به مقدار ۶۱/۵ و ۵۱ درصد نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳).

برگ‌ها با استفاده از گیره‌های مخصوص برگ (Walz 2030-B) به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. فلورسانس حداقل (F_0) با همه مراکز واکنشی باز فتوسیستم II، توسط نور مدوله شده‌ای 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 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'_0) ثبت گردید. فرکانس نوری برای اندازه‌گیری F_0 و F'_0 ۶۰۰ هرتز و برای F_m و F'_m ۲۰ کیلوهرتز بود. با استفاده از پارامترهای تعیین شده در برگ‌های سازگار به تاریکی و روشنایی، پارامترهای دیگر فلورسانس با استفاده از معادلات زیر محاسبه شدند:

$$NPQ = (F_m - F'_m) / F'_m$$

$$qp = (F'_m - F_s) / (F'_m - F'_0)$$

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

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

نتایج

صفات مورفولوژی و رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج تجزیه

جدول ۲- آنالیز واریانس تاثیر نانوذره نقره بر صفات مورفولوژی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، آنتوسیانین، پرولین و ترکیبات فنلی گیاه خرفه

df	طول ریشه	طول اندام هوایی	وزن خشک کل	کلروفیل <i>a</i>	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل کل	کاروتنوئیدها	آنتوسیانین	پرولین	فلاونوئیدها	فنل کل
۶	۳/۵**	۶/۵**	۳/۳۷**	۳/۱۶**	۳/۱۷**	۳/۳۶**	۳/۱۶**	۳/۲**	۳/۱**	۳/۳**	۳/۳**
۱۴	۳/۵	۳/۶۸	۳/۱۰۶	۳/۱۰۲	۳/۱۰۰۵	۳/۱۰۳	۳/۱۰۰۵	۳/۱۰۱	۳/۱۰۷	۳/۱۰۵	۳/۱۰۶
تغییرات	۳/۴	۳/۹	۳/۶	۳/۲	۳/۳	۳/۱	۳/۵	۳/۲	۳/۷	۳/۴	۳

** معنی‌داری در سطح یک درصد

جدول ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر صفات مورفولوژی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنتوسیانین گیاه خرفه

تیمار نانوذره نقره (میلی گرم در لیتر)	طول ریشه (سانتی‌متر)	طول اندام هوایی (سانتی‌متر)	وزن خشک کل (گرم)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر)	آنتوسیانین (میلی گرم بر گرم وزن تر)
کنترل (بدون نانوذره)	۷/۲۳ b	۲۳/۷۷ b	۱/۷۲ c	۱۹/۸۸ ab	۱/۵۶۹ a	۱/۵۵۷ a	۱/۳۵۲ e	۱/۷۱۳ ef
۲/۵	۷/۲۶ b	۲۳/۷۴ b	۱/۷۳ c	۱۹/۷۸ b	۱/۵۹۳ a	۱/۵۷۱ a	۱/۳۵۷ e	۱/۸۱۳ de
	(+۱/۴)	(-۱/۳)	(+۱/۶)	(-۱/۱)	(+۴/۴)	(+۱/۹)	(+۱/۴)	(-۶/۵)
۵	۷/۴۳ b	۲۵/۵۷ a	۱/۹۸ b	۱/۵۷ a	۱/۴۸۵ b	۱/۵۴۲ a	۱/۴۱۳ d	۲/۱۶ bc
	(+۲/۸)	(+۹/۸)	(+۱/۵۱)	(+۶/۹)	(-۱۴/۸)	(-۱)	(+۱۷/۳)	(+۲۱)
۱۰	۷/۸۸ a	۲۶/۷۳ a	۲/۱۴ a	۱۹/۳۱ b	۱/۴۱۶ c	۱/۳۳۸ b	۱/۵۱۶ c	۲/۳۲۳ a
	(+۹)	(+۱۳/۹)	(+۲۴/۴)	(-۵/۹)	(-۲۸/۶)	(-۱۴)	(+۴۶/۶)	(+۳۶/۴)
۲۰	۶/۷۷ c	۲۱/۳ c	۱/۵۳ d	۱۹/۷۸ c	۱/۳۲۷ d	۱/۱۰۶ c	۱/۵۷۸ b	۲/۱۳۷ b
	(-۶/۴)	(-۹/۲)	(-۱۱)	(-۲۱/۳)	(-۴۷/۵)	(-۲۹)	(+۶۴/۲)	(+۲۵/۵)
۴۰	۵/۲۷ d	۱۶/۶ d	۱/۳۵ e	۱۶/۱۸ d	۱/۲۲۷ e	۱/۸۴۴ d	۱/۶۸۳ a	۱/۹۱۳ cd
	(-۳۷/۱)	(-۲۹/۳)	(-۲۱/۵)	(-۳۷/۵)	(-۶۱/۱)	(-۴۵/۸)	(+۹)	(+۱۳/۳)
۸۰	۵/۱۱ d	۱۴/۰۷ e	۱/۱۴ f	۱/۵۴۲ d	۱/۲۱۹ e	۱/۷۶۱ d	۱/۶۹۵ a	۱/۵۶ f
	(-۲۹/۳)	(-۴۱/۱)	(-۳۳/۷)	(-۴۵/۲)	(-۶۱/۵)	(-۵۱/۹)	(+۹۷/۴)	(-۸/۴)

برای هر صفت در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. اعداد داخل پرانتز بیانگر درصد افزایش (+) و کاهش (-) نسبت به شاهد است.

پروپیلین تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره اندازه‌گیری شد (شکل ۲).

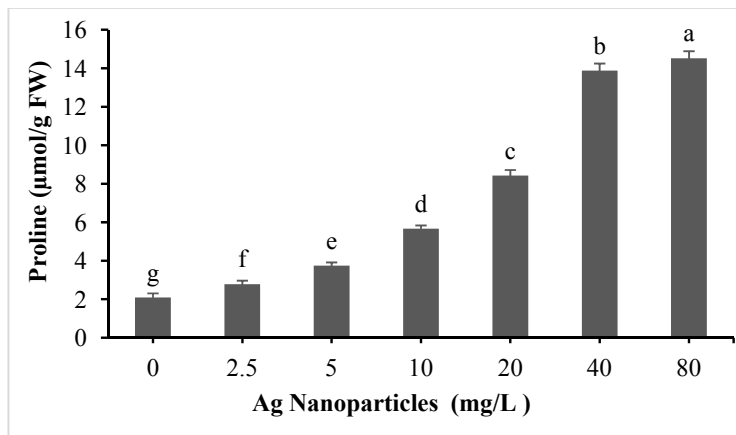
محتوای فلاونوئید و فنل کل: تجزیه واریانس نشان داد که تیمار نانوذره نقره بر محتوای فلاونوئید و فنل کل در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین محتوای فلاونوئید نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره نقره تا غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر روند افزایش در محتوای فلاونوئید مشاهده شد و افزایش بیشتر نانوذره نقره به ۸۰ میلی‌گرم در لیتر با کمی کاهش نسبت به ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر همراه بود (شکل ۳). محتوای فنل کل نیز روند افزایشی با افزایش غلظت نانوذره نقره نشان داد بطوریکه بیشترین مقدار فنل کل تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره به میزان ۱۰۶ درصد نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۴).

راندمان مصرف آب و تبادل گازی: نتایج تجزیه نشان داد که تیمار نانوذره نقره بر راندمان مصرف آب و صفات تبادل گازی برگ گیاه خرفه تاثیر معنی‌داری در سطح یک

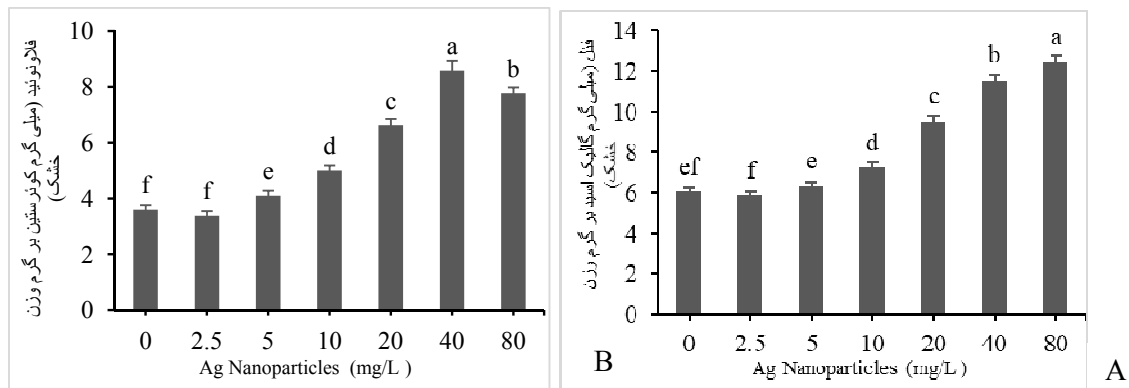
برخلاف رنگیزه‌های کلروفیلی، محتوای کاروتنوئید برگ با افزایش غلظت نانوذره نقره افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت و کمترین و بیشترین محتوای کاروتنوئید بترتیب در تیمار شاهد و غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره مشاهده شد (جدول ۳).

آنتوسیانین و پروپیلین: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوذره نقره تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر محتوای آنتوسیانین و پروپیلین داشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش غلظت نانوذره نقره تا غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش آنتوسیانین نسبت به تیمار شاهد شد و بیشترین افزایش تحت غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر به میزان ۳۶/۴ درصد نسبت به تیمار شاهد ثبت گردید اما افزایش بیشتر نانوذره به غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش آنتوسیانین نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳). افزایش غلظت نانوذره نقره همچنین باعث روند افزایش در محتوای پروپیلین برگ گیاه خرفه شد بطوریکه بیشترین محتوای

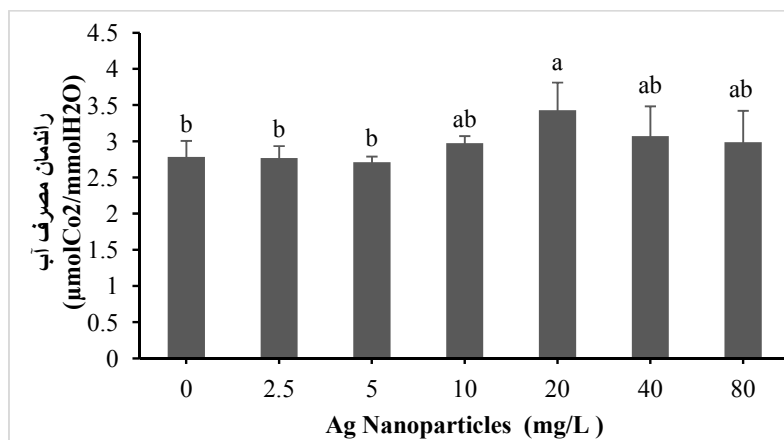
درصد داشته است (جدول ۴).



شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر محتوای پرولین برگ گیاه خرفه. میانگین‌های دارای حروف غیر یکسان بر اساس آزمون LSD نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.



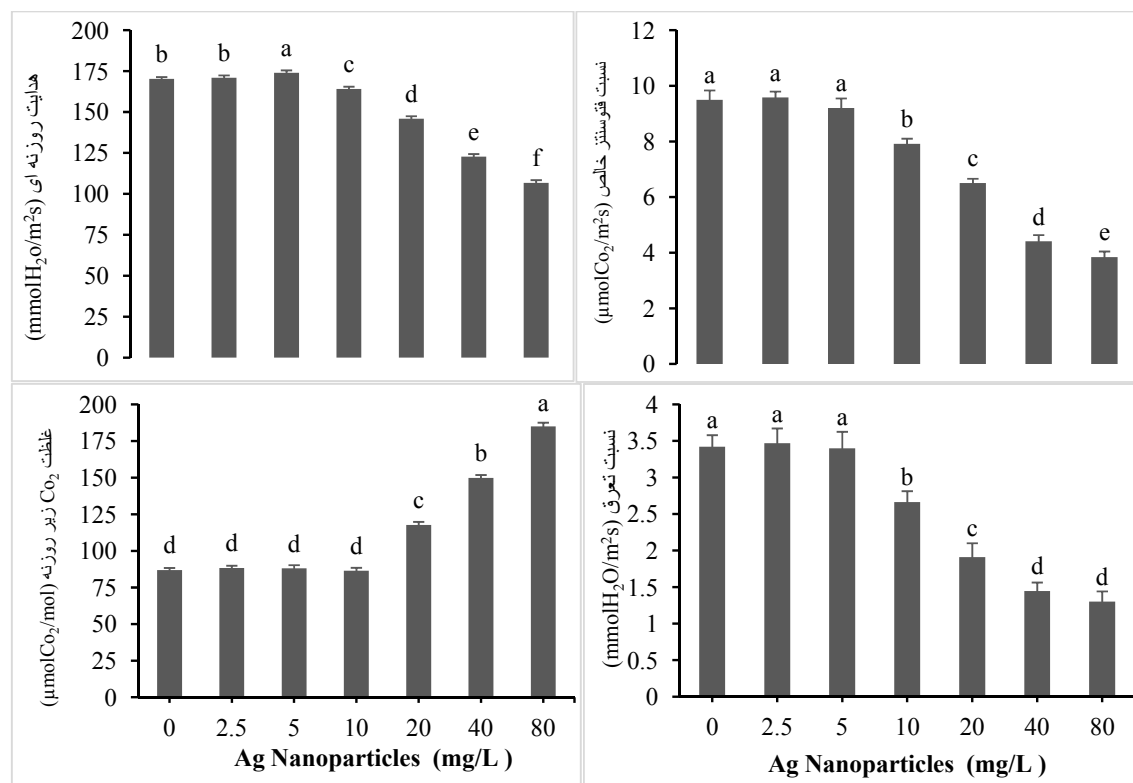
شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر محتوای فلاونوئید (A) و فنل کل (B) برگ گیاه خرفه. میانگین‌های دارای حروف غیر یکسان بر اساس آزمون LSD نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.



شکل ۴- تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر راندمان مصرف آب گیاه خرفه. میانگین‌های دارای حروف غیر یکسان بر اساس آزمون LSD نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

نقره باعث کاهش معنی‌داری در هر سه صفت نسبت به تیمار شاهد شد بطوریکه کمترین میزان هدایت روزنه‌ای، نسبت تعرق و نسبت فتوسنتز خالص در غلظت ۸۰ میلی-گرم بر لیتر نانوذره مشاهده شد (شکل ۵). نتایج مربوط به غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای نیز نشان داد که تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره، تفاوت معنی‌داری در غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای مشاهده نشد اما افزایش بیشتر نانوذره نقره باعث افزایش معنی‌دار آن شد، بطوریکه بیشترین غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای تحت غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره مشاهده شد (شکل ۵).

مقایسه میانگین راندمان مصرف آب نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره نقره تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر تغییر معنی‌داری در راندمان مصرف آب ایجاد نشد اما تحت غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش معنی‌داری در راندمان مصرف آب مشاهده شد که افزایش بیشتر غلظت نانوذره باعث کاهش راندمان مصرف آب نسبت به غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر شد (شکل ۵). نسبت تبدلات گازی فاکتور مهمی است که بر رشد گیاه تحت شرایط مختلف محیطی تاثیر می‌گذارد. مقایسه میانگین صفات تبدلات گازی هم نشان داد که تیمار نانوذره نقره تا غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر تاثیر معنی‌داری بر هدایت روزنه‌ای، نسبت تعرق و نسبت فتوسنتز خالص نداشت اما افزایش بیشتر غلظت نانوذره



شکل ۵- تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر پارامترهای تبدلات گازی برگ گیاه خرفه. میانگین‌های دارای حروف غیر یکسان بر اساس آزمون LSD نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر روی صفات فلورسنس کلروفیل شامل حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II، خاموشی غیرفتوشیمیایی، ضریب خاموشی

فلورسنس کلروفیل: فلورسنس کلروفیل یک ابزار مفید برای ارزیابی تاثیر استرس‌های محیطی بر دستگاه فتوسنتزی بدون تخریب بافت گیاهی می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس

فتوشیمیایی و عملکرد کوانتومی موثر تبدیل انرژی است (جدول ۴).

فتوشیمیایی فتوسیستم II در سطح یک درصد معنی دار بوده

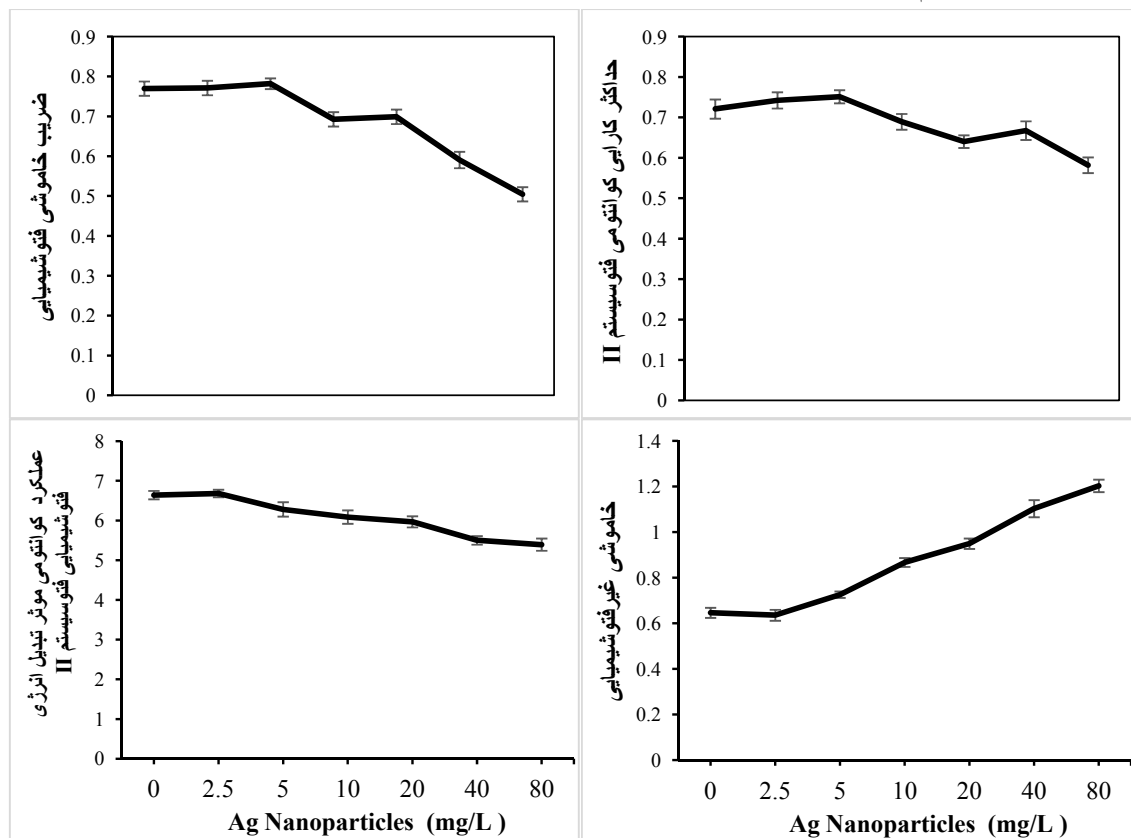
جدول ۴- آنالیز واریانس تاثیر نانوذره نقره بر صفات تبادلات گازی و فلورسانس کلروفیل گیاه خرفه

منابع تغییر	df	هدایت روزنه‌ای	نسبت فتوستز خالص	نسبت تعرق	غلظت CO ₂ زیر روزنه‌ای	راندمان مصرف آب	Fv/Fm	Qp	NPQ	Φ _{PSII}
نانوذره نقره	۶	۲۱۲۲**	۱۷**	۲/۸**	۴۵۷۸**	۰/۱۸ ^{NS}	۰/۰۱**	۰/۰۳**	۰/۱۵**	۰/۷۷**
خطا	۱۴	۲/۲	۰/۰۶	۰/۰۳	۴	۰/۰۹	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۶	۰/۰۲
ضریب تغییرات		۲/۱	۳/۴	۶/۹	۱/۹	۹	۳	۲/۷	۲/۹	۲/۳

** و ^{NS} به ترتیب معنی داری در سطح یک درصد و بدون تاثیر معنی دار

(شکل ۶). مقایسه میانگین خاموشی غیرفتوشیمیایی نشان داد که افزایش غلظت نانوذره نقره باعث روند افزایشی نسبت به تیمار شاهد گردید بطوریکه بیشترین میزان خاموشی غیرفتوشیمیایی تحت غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره مشاهده شد (شکل ۶).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش غلظت نانوذره نقره باعث روند افزایش در پارامترهای حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II، ضریب خاموشی فتوشیمیایی و عملکرد کوانتومی موثر تبدیل انرژی فتوشیمیایی فتوسیستم II نسبت به تیمار شاهد شد که بیشترین میزان این صفات تحت غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره مشاهده شد



شکل ۶- تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگ گیاه خرفه. میانگین‌های دارای حروف غیر یکسان بر اساس آزمون LSD نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

بحث

شرایط تنش‌زا، بیوستز آبسزیک اسید از کاروتنوئیدها از طریق مسیر موالونیک اسید افزایش می‌یابد که می‌تواند باعث افزایش تحمل گیاه به شرایط تنش‌زا شود (۳۱). بنابراین، تجمع کاروتنوئیدها در گیاه خرفه تحت سمیت نانوذره نقره می‌تواند ناشی از القای مسیر موالونیک اسید برای سنتز آبسزیک اسید باشد.

تجمع ترکیبات اسمولیت مانند پرولین یکی از استراتژی‌های مهم گیاهان برای سازگاری با شرایط استرس‌زا می‌باشد (۱۲، ۱۶ و ۱۷). نتایج این تحقیق نشان داد که محتوای آنتوسیانین و پرولین گیاه خرفه تحت تیمار نانوذره نقره افزایش قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد داشتند که نشان دهنده اثر سمیت و القای شرایط تنش‌زا توسط نانوذره نقره می‌باشد. آنتوسیانین‌ها مولکول‌های آنتی‌اکسیدان هستند که از گیاه در مقابل آسیب‌های القا شده توسط تنش اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند (۴۹). افزایش آنتوسیانین تحت تیمار نانوذره نقره مشابه نتایج بدست آمده از تاثیر نانوذره بر گیاه آرابیدوپسیس می‌باشد (۴۲). آنتوسیانین‌ها فلاونوئیدهایی هستند که در واکنش قرار داشته و در پاسخ گیاهان به تنش‌های مختلف نقش دارند (۲۰). آنتوسیانین‌ها می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از سلول‌ها در مقابل تنش اکسیداتیو با خنثی‌سازی انواع اکسیژن فعال محافظت کنند. آنتوسیانین‌ها همچنین به عنوان کلات‌کننده فلزات سنگین نیز عمل می‌کنند (۵). تجمع پرولین آزاد در گیاهان مختلف در پاسخ به تنش‌های محیطی مانند فلزات سنگین و تنش‌های اکسیداتیو گزارش شده است (۵۴). از آنجا که پرولین می‌تواند به عنوان یک اسمولیت سازگار، خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد، کلات‌کننده فلزات، ثبات ماکرومولکول‌ها و منبعی از نیتروژن و کربن احیا شده در گیاه عمل کند (۳ و ۴۸). بنابراین، افزایش تجمع پرولین و آنتوسیانین تحت تیمار نانوذره نقره ممکن است ناشی از تنش اکسیداتیو القا شده توسط نانوذره نقره باشد.

نانوذرات مانند نانوذره نقره به خاطر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آنها از جمله، توانایی‌های کاتالیزوری بالا، نسبت سطح به حجم بالا و همچنین توانایی تبادل الکترون، به طور گسترده در سیستم‌های کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند. نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد نانوذره نقره در غلظت‌های بالا (۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) اثر بازدارنده بر رشد و محتوای زیاده گیاه خرفه داشته است که مطابق نتایج بدست آمده بر روی گیاه برنج (۵۱) و آرابیدوپسیس (۹) می‌باشد. نشان داده شد که نانوذره نقره باعث رهاسازی یون نقره در داخل سلول می‌شود. از آنجا که نقره اثر مهاری بر دریافت اتیلن دارد، می‌توان پیشنهاد کرد که اثرات منفی نانوذره نقره بر رشد گیاه خرفه می‌تواند به خاطر تاثیر منفی یون نقره بر دریافت و مسیر سیگنالینگ هورمون اتیلن باشد.

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی یکی از پارامترهای مهمی است که می‌تواند نشان دهنده میزان فتوسنتز و شرایط رشدی گیاه باشد (۱۸). نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار نانوذره نقره باعث کاهش محتوای کلروفیل در گیاه خرفه شد که غلظت‌های بالا باعث کاهش بیشتر رنگیزه‌های کلروفیلی شد که مطابق نتایج بدست آمده بر روی *Spirodela polyrhiza* (۲۵)، *A. thaliana* (۳۴) و جلبک سبز (۳۸) می‌باشد. ما و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که کاهش محتوای کلروفیل می‌تواند حاصل از پراکسیداسیون لیپید غشاهای کلروپلاست ناشی از تنش اکسیداتیو تحت غلظت‌های بالای نانوذره نقره باشد (۳۴). بنابراین، کاهش رنگیزه‌های کلروفیلی تحت تیمار نانوذره نقره می‌تواند نشان دهنده اثر سمیت نانوذره نقره بر گیاه خرفه باشد. نتایج همچنین نشان داد که محتوای کاروتنوئید با افزایش غلظت نانوذره نقره افزایش معنی‌داری یافت که مطابق نتایج بدست آمده بر روی گیاه لوبیا و ذرت می‌باشد (۲۳). لیم و همکاران (۲۰۱۲) در گزارشی بیان داشتند که تحت

تعرق و هدایت روزنه‌ای کاهش یافتند که پیشنهاد می‌کند کاهش در فتوستتزی به خاطر کاهش محتوای کلروفیل و آسیب به سیستم فتوشیمیایی می‌باشد. غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه در تیمار نانوذره نقره افزایش یافت، اگرچه غلظت بالای دی‌اکسید کربن زیر روزنه می‌تواند برای فتوستتزی مفید باشد، اما افزایش تحت شرایط تنش‌زا مانند غلظت بالای نانوذره نقره می‌تواند باعث آسیب به دستگاه فتوستتزی شود. نتایج بدست آمده از تاثیر تیمار نانوذره بر پارامترهای فلورسنس و تبادلات گازی مطابق نتایج بدست آمده توسط ویشواکارما و همکاران (۲۰۱۷)، دوز و همکاران (۲۰۱۸)، راستوگی و همکاران (۲۰۱۹) می‌باشد (۴۳، ۸ و ۵۳).

نتایج کلی بدست آمده نشان داد که نانوذره نقره در غلظت‌های بالا (۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) اثرات سمی و تنش‌زا برای گیاه خرفه داشت. افزایش غلظت نانوذره نقره باعث کاهش رشد و زیتوده گیاه خرفه از طریق کاهش محتوای کلروفیل، آسیب به دستگاه فتوستتزی و همچنین کاهش تبادلات گازی شد. افزایش تجمع ترکیباتی مانند پرولین و ترکیبات فنلی در گیاه خرفه تحت غلظت‌های بالای نانوذره نقره نشان دهنده القای تنش توسط نانوذره می‌باشد که در سازگاری گیاه با شرایط تنشی نقش مفیدی دارند.

تقدیر و تشکر

هزینه‌های مربوط به اجرای این تحقیق از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر تأمین شده است که بدینوسیله تشکر می‌گردد.

تجمع ترکیبات فنلی مکانیسم دیگر برای اجتناب از تغییرات القا شده توسط تنش‌های محیطی است (۱۱) و (۱۴). نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش غلظت نانوذره نقره باعث افزایش معنی‌دار ترکیبات فلاونوئید و فنل کل گیاه نسبت به تیمار شاهد شد که مطابق نتایج بدست آمده توسط Bagherzadeh Homaei و Ehsanpour (۲۰۱۵) می‌باشد (۱). ترکیبات فنلی گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند که شامل اسیدهای فنل، فلاونوئیدها، آنتوسیانین، تانن و مشتقات آنها می‌باشند. ترکیبات فنلی به خاطر گروه هیدروکسیل آزاد در ساختارشان به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان شناخته می‌شوند که فعالیت خنثی-ساز رادیکال‌های آزاد از خود نشان می‌دهند. بنابراین، افزایش تجمع فلاونوئید و فنل کل تحت تیمار نانوذره نقره نشان دهنده تاثیر مثبت این نانوذره بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه خرفه می‌باشد.

فلورسنس کلروفیل اطلاعات مفیدی در مورد مکانیسم‌های فتوستتزی گیاه تحت شرایط محیطی مختلف ایجاد می‌کند (۲۱ و ۲۳). در این مطالعه، پارامترهای حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II، ضریب خاموشی فتوشیمیایی و عملکرد کوانتومی موثر فتوشیمیایی فتوسیستم II کاهش و خاموشی غیرفتوشیمیایی تحت تیمار نانوذره نقره افزایش یافتند، که نشان دهنده آسیب به سیستم فتوشیمیایی می‌باشد. کاهش در حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و ضریب خاموشی فتوشیمیایی نشان دهنده تغییرات ایجاد شده در ساختمان و عملکرد فرآیند فتوستتزی می‌باشد (۵۳)، که می‌تواند باعث کاهش زیتوده در گیاه خرفه تحت سمیت نانوذره نقره شود. همراه با کاهش در محتوای کلروفیل و پارامترهای فلورسنس در گیاه خرفه تحت تیمار نانوذره نقره، پارامترهای نسبت فتوستتزی خالص، نسبت

منابع

1- Bagherzadeh Homaei, M., and Ehsanpour, A.A., 2015. Physiological and biochemical responses of potato (*Solanum tuberosum*) to silver nanoparticles and silver nitrate treatments

under in vitro conditions. *Indian J. Plant Physiol.*, 20(4), PP: 353-359.

- 2- Bates, L. S., Waldren, R. P., and Teare, I. D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, PP: 205–207.
- 3- Ben Rejeb, K., Abdelly, C., and Savoure, A., 2014. How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiol. Biochem.*, 80, PP: 278–284.
- 4- Boxall, A., Chaudhry, Q., Sinclair, C., Jones, A., Jefferson, B., and Watts, C., 2007. Current and future predicted environmental exposure to engineered nanoparticles, CSL, York, UK.
- 5- Carochi, M., and Ferreira, I. C., 2013. A review on antioxidants, pro-oxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem. Toxicol.*, 51, PP: 15–25.
- 6- Choi, O., Deng, K. K., Kim, N. J., Jr L. R., Surampalli, R. Y., and Hu, Z., 2008. The inhibitory effects of silver nano particles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water Res.*, 42, PP: 3066–3074.
- 7- Dewez, D., Dautremepuits, C., Jeandet, P., Vernet, G., and Popovic, R., 2003. Effects of methanol on photosynthetic processes and growth of *Lemna gibba*. *Photochem. Photobiol.* 78, PP: 420–424.
- 8- Dewez, D., Goltsev, V., Kalaji, H. M., and Oukarroum, A., 2018. Inhibitory effects of silver nanoparticles on photosystem II performance in *Lemna gibba* probed by chlorophyll fluorescence. *Curr. Plant Biol.*, 16, PP: 15–21.
- 9- Geisler-Lee, J., Wang, Q., Yao, Y., Zhang, W., Geisler, M., Li, K., Huang, Y., Chen, Y., Kolmakov, A. and Ma, X., 2013. Phytotoxicity, accumulation and transport of silver nanoparticles by *Arabidopsis thaliana*. *Nanotoxicology*, 7, PP: 323–337.
- 10- Gerst, U., Schönknecht, G., and Heber, U., 1994. ATP and NADPH as the driving force of carbon reduction in leaves in relation to thylakoid energization by light. *Planta*, 193, PP: 421–429.
- 11- Ghasemi-Omran, V. O., Ghorbani, A., and Sajjadi-Otaghsara, S. A., 2021. Melatonin alleviates NaCl-induced damage by regulating ionic homeostasis, antioxidant system, redox homeostasis, and expression of steviol glycosides-related biosynthetic genes in in vitro cultured *Stevia rebaudiana* Bertoni. *In Vitro Cell. Dev. Biol.- Plant*, 57, PP: 319–331.
- 12- Ghorbani, A., Ghasemi Omran, V. O., Razavi, S. M., Pirdashti, H., and Ranjbar, M., 2019. *Piriformospora indica* confers salinity tolerance on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) through amelioration of nutrient accumulation, K⁺/Na⁺ homeostasis and water status. *Plant Cell Rep.*, 38, PP: 1151–1163.
- 13- Ghorbani, A., Razavi, S. M., Ghasemi Omran, V. O., and Pirdashti, H., 2018. *Piriformospora indica* alleviates salinity by boosting redox poise and antioxidative potential of tomato. *Russ. J. Plant Physiol.*, 65, PP: 898–907.
- 14- Ghorbani, A., Razavi, S. M., Ghasemi Omran, V. O., and Pirdashti, H., 2018. *Piriformospora indica* inoculation alleviates the adverse effect of NaCl stress on growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Plant Biol.*, 20, PP: 729–736.
- 15- Ghorbani, A., Razavi, S. M., Ghasemi Omran, V., and Pirdashti, H., 2019. Effects of endophyte fungi symbiosis on some physiological parameters of tomato plants under 10 day long salinity stress. *J. Plant Proc. Func.*, 7(27), PP: 193–208
- 16- Ghorbani, A., Taftah, M., Roudbari, N., Pishkar, L., Zhang, W., and Wu, C., 2020. *Piriformospora indica* augments arsenic tolerance in rice (*Oryza sativa*) by immobilizing arsenic in roots and improving iron translocation to shoots. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 209, 111793.
- 17- Ghorbani, A., Zarinkamar, F., and Fallah, A., 2009. The effect of cold stress on the morphologic and physiologic characters of tow rice varieties in seedling stage. *J. Crop Breed.*, 1, PP: 50–66.
- 18- Ghorbani, A., Zarinkamar, F., and Fallah, A., 2011. Effect of cold stress on the anatomy and morphology of the tolerant and sensitive cultivars of rice during germination. *J. Cell Tissue*, 2(3), PP: 235–244.
- 19- Gubbins, E. J., Batty, L. C., and Jamie, R., 2011. Phytotoxicity of silver nanoparticles to *Lemna minor* L. *Environ. Pollut.*, 159, PP: 1551–1559.
- 20- Guo, N., Cheng, F., Wu, J., Liu, B., Zheng, S., Liang, J., and Wang, X., 2014. Anthocyanin biosynthetic genes in *Brassica rapa*. *BMC Genomics* 15, PP: 426
- 21- Hatami, M., Kariman, K., and Ghorbanpour, M., 2016. Engineered nanomaterial-mediated changes in the metabolism of terrestrial plants. *Sci. Total Environ.*, 571, PP: 275–291.
- 22- Hatier, J.-H. B., and Gould, K. S., 2008. Foliar anthocyanins as modulators of stress signals. *J. Theor. Biol.*, 253(3), PP: 625–627.

- 23- Hediat, M., and Salama, H., 2012. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *Int. Res. J. Biotech.*, 3(10), PP: 190-197.
- 24- Holm, L.G., Plunkett, D. L., Pancho, J. V., and Herberger, J. P., 1977. *The world's worst weeds - distribution and biology*. University Press of Hawaii, Honolulu. 609.
- 25- Jiang, H. S., Li, M., Chang, F. Y., Li, W., and Yin, L. Y., 2012. Physiological analysis of silver nanoparticles and AgNO₃ toxicity to *Spirodela polyrhiza*. *Environ. Sci. Technol.*, 31, PP: 1880–1886.
- 26- Ke, M., Qu, Q., Peijnenburg, W. J. G. M., Li, X., Zhang, M., Zhang, Z., Lu, T., Pan, X., and Qian, H., 2019. Phytotoxic effects of silver nanoparticles and silver ions on *Arabidopsis thaliana* as revealed by analysis of molecular responses and of metabolic pathways. *Sci. Total Environ.*, 644, PP: 1070–1079.
- 27- Kelij, S., and Kazemian Ruhi, M., 2018. Sesame seed germination and anatomical changes influenced by silver nanoparticles. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 30(4), PP: 899-909.
- 28- Kumari, M., Mukherjee, A., and Chandrasekaran, N., 2009. Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Sci. Total Environ.*, 407, PP: 5243–5246.
- 29- Lajayera, B. A., Ghorbanpour, M., and Nikabadi, S. 2017. Heavy metals in contaminated environment: destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 145, PP: 377–390.
- 30- Lichtenthaler, H. K., 1987. Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. *Meth. Enzymol.*, 148, PP: 350-381.
- 31- Lim, J. H., Park, K. J., Kim, B. K., Jeong, J. W., and Kim, H. J., 2012. Effect of salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprout. *Food Chem.*, 135, PP: 1065-1070.
- 32- Lin, D., and Xing, B., 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environ. Pollut.*, 150, PP: 243–250.
- 33- Lubick, N., 2008. Nanosilver toxicity: ions, nanoparticles – or both? *Environ. Sci. Technol.*, 42, PP: 8617.
- 34- Ma, C., Chhikara, S., Xing, B., Musante, C., White, J. C., and Dhankher, O. P., 2013. Physiological and molecular response of *Arabidopsis thaliana* (L.) to nanoparticle cerium and indium oxide exposure. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 1, PP: 768–778.
- 35- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., and Kolmakov, A., 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Sci. Total Environ.*, 408, PP: 3053–3061.
- 36- Masoodi, M. H., Ahmad, B., Mir, S. R., Zargar, B. A., and Tabasum, N., 2011. *Portulaca oleracea* L. A review. *J. Pharm. Res.*, 4(9), PP: 3044-8.
- 37- Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L., and Behra, R., 2008. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ. Sci. Technol.*, 42, PP: 8959–8964.
- 38- Oukarroum, A., Barhoumi, L., Pirastru, L., and Dewez, D., 2013. Silver nanoparticles toxicity effect on growth and cellular viability of the aquatic plant *Lemna gibba*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 32, PP: 902–907.
- 39- Oukarroum, A., Bras, S., Perreault, F., and Popovic, R., 2012. Inhibitory effects of silver nanoparticles in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta*. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 78, PP: 80–85.
- 40- Pal, S., Tak, Y. K., and 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*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, PP: 1712–1720.
- 41- Pękal, A., and Pyrzynska, K., 2014. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Anal. Methods*, 7, PP: 1776-1782.
- 42- Qian, H., Peng, X., Han, X., Ren, J., Sun, L., and Fu, Z., 2013. Comparison of the toxicity of silver nanoparticles and silver ion on the growth of terrestrial plant model *Arabidopsis thaliana*. *J. Environ. Sci.* 25, PP: 1947–1955.
- 43- Rastogi, A., Zivcak, M., Tripathi, D. K., Yadav, S., Kalaji, H. M., 2019. Phytotoxic effect of silver nanoparticles in *Triticum aestivum*: Improper regulation of photosystem I activity as the reason for oxidative damage in the chloroplast. *Photosynthetica*, 57(1), PP: 209-216.

- 44- Salvatori, E., Fusaro, L., Gottardini, E., Pollastrini, M., Goltsev, V., Strasser, R. J., and Bussotti, F., 2014. Plant stress analysis: application of prompt, delayed chlorophyll fluorescence and 820 nm modulated reflectance. Insights from independent experiments. *Plant Physiol. Biochem.*, 85, PP: 105–113.
- 45- Simpson, K., 2003. Using silver to fight microbial attack. *Plast. Add. Comp.*, 5, PP: 32–35.
- 46- Sims, D. A., and Gamon, J. A. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sens. Environ.*, 81, PP: 337-354.
- 47- Singleton, V. L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventos, R. M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Method. Enzymol.*, 299, PP: 152-178.
- 48- Siripornadulsil, S., Traina, S., Verma, D. P. S., and Sayre, R. T., 2002. Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. *Plant Cell*, 14(11), PP: 2837–2847.
- 49- Solfanelli, C., Poggi, A., Loreti, E., Alpi, A., Perata, P., 2006. Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 140, PP: 637–646.
- 50- Tadayon, R., Rahimi, M., and Salari, H., 2016. Evaluation the silver nanoparticles on shelf life of *Citrus Sinensis*. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 29(2), PP: 319-327.
- 51- Thuesombat, P., Hannongbua, S., Akasit, S. and Chadchawan, S., 2014. Effect of silver nanoparticles on rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105) seed germination and seedling growth. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 104, PP: 302–309.
- 52- Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, V. P., Prasad, S. M., Dubey, N. K., and Chauhan, D. K., 2017. Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. *Plant Physiol. Biochem.*, 110, PP: 70–81.
- 53- Vishwakarma, K., Shweta, Upadhyay, N., Singh, J., Liu, S., Singh, V. P., Prasad, S. M., Chauhan, D. K., Tripathi, D. K., and Sharma, S., 2017. Differential phytotoxic impact of plant mediated silver nanoparticles (AgNPs) and silver nitrate (AgNO₃) on *Brassica* sp. *Front. Plant Sci.*, 8, PP: 1501
- 54- Wang, F., Zeng, B., Sun, Z., and Zhu, C., 2009. Relationship between proline and Hg²⁺-induced oxidative stress in a tolerant rice mutant. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 56(4), PP: 723–731.
- 55- Yang, Y., Xu, S., Xu, G., Liu, R., Xu, A., Chen, S., and Wu, L., 2019. Effects of ionic strength on physicochemical properties and toxicity of silver nanoparticles. *Sci. Total Environ.*, 647, PP: 1088–1096.
- 56- Yin, L., Cheng, Y., Espinasse, B., Colman, B. P., Auñan, M., Wiesner, M., Rose, J., Liu, J., and Bernhardt, E. S., (2011). More than the ions: the effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 2360–2367.
- 57- Zargari, A., 1997. *Medicinal Plants*. University Press of Tehran, Tehran. 1010 pp
- 58- Zhang, W., Li, Y., Niu, J., and Chen, Y., 2013. Photogeneration of reactive oxygen species on uncoated silver, gold, nickel, and silicon nanoparticles and their antibacterial effects. *Langmuir*, 29, PP: 4647–4651.

Effects of silver nanoparticles on the growth, gas exchange capacity and photosystem II performance in purslane (*Portulaca oleracea* L.) plants

Zare Z.¹, Pishkar L.^{1*}, Iranbakhsh A.² and Talei D.³

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

² Dept. of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran

³ Medicinal Plants Research Center, Shahed University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

With the dramatic increase in nanotechnologies, it has become probable that biological systems will be exposed to an excess of nanoparticles (NPs). Purslane (*Portulaca oleracea* L.) is an annual grassy plant that has some pharmacological properties such as antibacterial, analgesic, wound healing, skeletal muscle-relaxant, anti-inflammatory and a radical scavenger. In this study, the effect of different concentrations of silver nanoparticles (0, 2.5, 5, 10, 20, 40 and 80 mg/L) on the growth and biomass production, photosynthetic pigments, proline, flavonoid and phenolic compounds, gas exchange capacity and chlorophyll fluorescence parameters were investigated in purslane plants. The results showed that AgNPs treatments significantly inhibited biomass production and the growth of root and shoot, and decreased the content of chlorophylls a and b at high concentrations (20, 40 and 80 mg/L), while, the AgNPs treatments increased the content of carotenoids, anthocyanins and phenolic compounds compared to control treatment. 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 declined. The measurements of Chl a fluorescence showed that strong evidence of inhibitory effects on energy transfer from light-harvesting complexes to reaction centres, the deterioration of the PSII water splitting system and the inactivation of PSII reaction centres at high concentrations of AgNPs. In conclusion, our results demonstrated that AgNPs induced an inhibitory mechanism on photosynthetic processes and biomass of purslane plants.

Key words: Purslane, Silver nanoparticle, Gas exchange, Chlorophyll fluorescence, Photosynthetic pigments