



<https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en>
IRANIAN JOURNAL OF PLANT BIOLOGY
E-ISSN: 2322-2204
Vol. 14, Issue, No. 1, Spring 2022
Document Type: Research Paper
Received: 21/10/2022 Accepted: 28/01/2023

Study of some physiological and biochemical parameters of Okra plant (*Abelmoschus esculentus* L.) under salt stress in the presence of chitosan nanoparticles

Kazhal Yousefi¹, Rashid Jamei^{*1}, Reza Darvishzadeh²

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

² Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

In this study, the effects of chitosan nanoparticles at two levels of 0.2 and 0.4 g/L under salinity stress conditions (at two levels of 75 and 150 mM) on biochemical and physiological indicators of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) were studied. The experiment was conducted as a two-factor factorial based on a completely randomized design in four replications. The results of variance analysis of the data showed that the effect of chitosan nanoparticles on fresh weight, dry weight, length, malondialdehyde, soluble sugar, starch, total phenol content, and DPPH inhibition percentage in aerial and root parts, chlorophylls, carotenoid, flavonoid, and anthocyanin content in the aerial part was significant at $p < 1\%$. Comparison of average data showed that at 150 mM salinity in the aerial and root parts, fresh weight 1.46 and 1.31, dry weight 1.5 and 1.4, and length 1.27 and 1.52 times showed the most significant decrease compared to the control. Also, chlorophyll a 1.8, b 1.2, and carotenoid 1.6 times in the aerial part, starch 1.8 and 3.6, IC50 inhibition percentage 1.61 and 4.4 times in the aerial and root parts showed the most significant decrease in salinity of 150 mM compared to the control. Treatment with nanoparticles of 0.2 and 0.4 g/L increased chlorophyll a (1.38 and 1.39), b (1.19 and 1.18), carotenoid (1.3 and 4.1) in leaves, and flavonoid (1.7 and 1.5) and anthocyanin (1.3 and 1.5) times in aerial part and increase of soluble sugar (1.6 and 1.8; 1.6 and 1.5), total phenol (1.11 and 1.16; 1.19 and 1.3) times, respectively in shoots and roots and reduction of malondialdehyde (1.6, 1.8, 1.7, 2.8), and starch concentration (1.38, 1.43, 1.9 and 2.4) and IC50 inhibition percentage (1.13, 1.32, 1.14 and 1.75) times were in aerial and root parts. Chitosan nanoparticles at two levels of 0.2 and 0.4 g per liter improved the negative effects of salinity, and in general, chitosan nanoparticles at a concentration of 0.4 g/L showed better performance in improving both levels of salinity.

*Corresponding author: r.jamei@urmia.ac.ir



2322- 2204/ © 2023

This is an open access article under the CC-BY-NC-ND 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

DOI. 10.22108/IJPB.2023.135348.1301

Introduction

One of the main problems in arid and semi-arid areas is soil salinity, which reduces the growth and productivity of crops (Sheikhalipour *et al.*, 2021). Chitosan is a defense stimulant, but its use is extremely limited due to the lack of solubility in water environments. Nanoparticles have many applications in agriculture and industry due to their properties of high permeability, solubility, biodegradability, non-toxicity, and affordability. Chitosan nanoparticles are unique due to their high ratio of surface-to-volume, size-dependent quality, and optical properties (Sathiyabama and Manikandan, 2016). In maize (*Zea mays*) (Oliveira *et al.*, 2016) and thistle (*Silybum marianum*) (Mosavikia *et al.*, 2020), the use of chitosan nanoparticles in increasing salinity tolerance has also been studied. The Okra plant belongs to the Malvaceae family and will experience a yield decrease of up to 50% with an increase in soil salinity (Salehi Salmi and Daneshvar, 2016). Due to the increasing population and the daily food needs of the people, the use of plant growth regulators and nanotechnology for cultivation in maximum areas will be efficient strategies for improving plant resistance to adverse environmental conditions, especially the salinity of soils during the plant growth period. In the present study, an attempt has been made to investigate the biochemical and physiological indicators of the Okra plant under salt stress and the effect of chitosan nanoparticles on mitigating the negative effects of salinity stress.

Materials and Methods

In this research, green Okra seeds of the Clemson Spineless variety with registration number: GB-34265 were prepared by Pakan Seed Company of Isfahan. The treatment was done with 0.2 and 0.4 grams per liter of chitosan nanoparticles as foliar spraying. Salt stress was applied at the levels of 75 and 150 mM along with Hoagland's solution. Different growth and biochemical parameters were measured after taking the samples of the control and treatment groups. The parameters were the length of the aerial part and the root, the dry weight (after 72 hours of drying in the oven), chlorophyll and carotenoid content (Lichtenthaler, 1987), the amount of total flavonoid (Chang *et al.*, 2002), total phenol (Marinova *et al.*, 2005), anthocyanin (Fulcki and Francis, 1968), the percentage of radical collection (2, 2-diphenyl 1-picrylhydrazyl DPPH) (Burits and Bucar, 2000), the amount of soluble sugars (by the phenol sulfuric acid method), starch (Magne *et al.*, 2006), and malondialdehyde (Heath and Packer, 1968). To minimize the experimental errors, sampling was done for each treatment in 4 replicates and three plants in each replicate. The experiment was conducted as a two-factor factorial based on a completely randomized design in four replications. SAS 9.4 software was used for statistical data analysis.

Results and discussion

Comparison of means showed that urban and industrial wastewater treatments caused The results of variance analysis of the data showed that the effect of Chitosan nanoparticles on wet and dry weight, length, the content of Malondialdehyde, Soluble sugar, Starch, total Phenol, and percentage of DPPH inhibition in aerial and root parts, Chlorophylls, Carotenoid, Flavonoid, and Anthocyanin in the aerial part was significant at the probability level of 1%. The comparison of the average data showed that in the salinity of 150 mM in the aerial and root parts, fresh weight was 1.46 and 1.31, dry weight was 1.5 and 1.4, and length was 1.27 and 1.52 times, respectively. Also, Chlorophyll a (1.8), b (1.2), and Carotenoid 1.6 times in the aerial part, Starch 1.8 and 3.6 times, and IC50

inhibition percentage 1.61 and 4.4 times in the aerial part and roots in salinity 150 mM showed the largest decrease compared to the control. Treatment with nanoparticles 0.2 and 0.4 g/liter increased Chlorophyll a (1.38 and 1.39), b (1.19 and 1.18), and Carotenoid 1.3 and 1.4 times in leaves, and Flavonoid 1.7 and 1.5 and Anthocyanin 3 times 1.1 and 5.1 times in the aerial part, and it also increases the dissolved Sugar 1.6, 1.8, 1.6 and 1.5, total Phenol 1.11 and 1.16, 1.19 and 1.3 times in the aerial parts and roots, respectively. And reducing the content of Malondialdehyde 1.6, 1.8, 1.7, 2.8, Starch 1.43, 1.38, 1.4, 2.9 and IC50 inhibition percentage (1.32, 1.13, 1.14, 1.75) was equal in the aerial and root parts.

Conclusion

Foliar spraying or soil application of particles with a diameter of less than 100 nanometers has created a promising perspective in the agricultural sector and environmental stress management. Foliar spraying of chitosan nanoparticles on the Okra plant can play a vital role in inhibiting oxidative stress caused by salt. In the present study, chitosan nanoparticles increased the content of chlorophyll a, b, carotenoids, anthocyanins, phenol, and flavonoid and decreased the amount of malondialdehyde, which maintained membrane function and increased tolerance against salt stress. Chitosan nanoparticles at two levels of 0.2 and 0.4 g per liter improved the adverse effects of salinity. Overall, chitosan nanoparticles at a concentration of 0.4 g per liter showed a better performance in improving plant tolerance under both levels of salinity. Chitosan nanoparticles can be introduced as a suitable candidate for mitigating the adverse effects of salinity stress on plants, which can be attributed to the presence of its amine and hydroxyl groups, which are easily accessible in chemical reactions, leading to the improvement of the salt stress and an increase in the productivity of crops.

Keywords: Photosynthetic pigments, Growth indicators, Antioxidant activity, Sugar, Malondialdehyde

مطالعه برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه بامیه (*Abelmoschus esculentus* L.) تحت تنش شوری در حضور نانوذره کیتوزان

کژال یوسفی^۱، رشید جمعی^{۱*}، رضا درویش‌زاده^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده

در این مطالعه تأثیرات نانوذرات کیتوزان در دو سطح ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر در شرایط تنش شوری (در دو سطح ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) بر شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژی گیاه بامیه (*Abelmoschus esculentus* L.) مطالعه شد. آزمایش به صورت فاکتوریل دو عاملی بر پایه طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر نانوذرات کیتوزان بر وزن تر و خشک، طول بخش هوایی و ریشه، محتوای مالون‌دی‌آلدئید، قند محلول، نشاسته، فنل کل و درصد مهار DPPH در بخش هوایی و ریشه، کلروفیل‌ها، کاروتنوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین در بخش هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در بخش هوایی و ریشه به ترتیب وزن تر ۱/۴۶ و ۱/۳۱، وزن خشک ۱/۵ و ۱/۴ و طول ۱/۲۷ و ۱/۵۲ برابر بیشترین کاهش را نسبت به شاهد نشان دادند. همچنین، کلروفیل a ۱/۸، کلروفیل b ۱/۲ و کاروتنوئید ۱/۶ برابر در بخش هوایی، نشاسته ۱/۸ و ۳/۶، و درصد مهار IC50 ۱/۶۱ و ۴/۴ برابر در بخش هوایی و ریشه در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بیشترین کاهش را نسبت به شاهد نشان دادند. تیمار با نانوذره ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر به ترتیب باعث افزایش کلروفیل a ۱/۳۸ و ۱/۳۹، کلروفیل b ۱/۱۹ و ۱/۱۸ و کاروتنوئید ۱/۳ و ۱/۴ برابر در برگ، و فلاونوئید ۱/۵ و ۱/۷ و آنتوسیانین ۱/۳ و ۱/۵ برابر در بخش هوایی و موجب افزایش قند محلول ۱/۶ و ۱/۸ برابر در بخش هوایی، ۱/۶ و ۱/۵ برابر در ریشه، فنل کل ۱/۱۱ و ۱/۱۶ برابر در بخش هوایی، ۱/۱۹ و ۱/۳ برابر در ریشه، و کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید ۱/۸ و ۱/۶ برابری در بخش هوایی، ۱/۷ و ۲/۸ برابر در ریشه، نشاسته ۱/۴۳ و ۱/۳۸ برابر در بخش هوایی، ۲/۴ و ۱/۹ برابر در ریشه و درصد مهار IC50 ۱/۱۳ و ۱/۳۲ برابر در بخش هوایی، ۱/۱۴ و ۱/۷۵ برابر در ریشه شد. نانوذرات کیتوزان در دو سطح ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر باعث بهبود تأثیرات منفی شوری شد و به‌طور کلی نانوذره کیتوزان در غلظت ۰/۴ گرم بر لیتر عملکرد بهتری را در بهبود هر دو سطح شوری نشان داد.

واژه‌های کلیدی: رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص‌های رشد، فعالیت پاداکسندگی، قند، مالون‌دی‌آلدئید

مقدمه

از ریشه به بخش هوایی، کاهش رشد ریشه، تخریب رنگدانه‌های برگ مانند کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود، که بر سیستم فتوسنتزی مؤثر است. گونه‌های فعال اکسیژن ROS، باعث ایجاد تنش اکسیداتیو، و به دنبال آن آسیب به پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند و با تولید مالون‌دی‌آلدئید اضافی باعث غیرفعال کردن آنزیم‌های پاد اکسنده، و در نهایت موجب ایجاد مرگ سلولی گیاه تحت تنش شوری می‌شوند.

محتوای نمک زیاد می‌تواند بر روی فرایندهایی مانند فتوسنتز، متابولیسم لیپیدها و سنتز پروتئین‌ها تأثیر داشته باشد (Zayed et al., 2017). میزان نمک بالای خاک یکی از مشکلات عمده در مناطق نیمه خشک و خشک محسوب و باعث ایجاد اختلال در وضعیت تغذیه گیاهان می‌شود و رشد و بهره‌وری محصولات زراعی را کاهش می‌دهد. افزایش نمک در خاک موجب کاهش انتقال مواد مغذی

* نگارنده مسؤل: نشانی پست الکترونیک: r.jamei@urmia.ac.ir، شماره تماس: ۰۹۱۴۱۴۶۴۳۵۷



کاربردهای آن محدود شده است. راهکارهای زیادی برای افزایش حلالیت آن استفاده شده است، ترکیبات کلات نانوکیتوزان، نسبت به ترکیبات آلی و معدنی، برای بهبود حلالیت و فعالیت زیست‌تخریبی آن مناسب هستند. نانوذرات به دلیل خواص زیست تخریب پذیری، حلالیت، نفوذپذیری بالا، عدم سمیت برای انسان و مقرون به صرفه بودن در سراسر جهان کاربردهای مختلفی دارند، از جمله اینکه برای کشاورزی و صنعت استفاده می‌شوند و بسیار عالی‌تر از مواد با اندازه بزرگ عمل می‌کنند. فعالیت بهبود یافته آن‌ها به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، کیفیت‌های وابسته به اندازه و ویژگی نوری منحصر به فرد است. نانوذرات کیتوزان به‌عنوان یک محرک مؤثر دفاعی گیاه عمل می‌کنند و در مقایسه با کیتوزان طبیعی، تأثیر تعدیل‌کننده ایمنی بهتری را نشان می‌دهند (Sathiyabama and Manikandan, 2016). در مطالعات قبلی کاربرد نانوذرات کیتوزان در افزایش تحمل به شوری در گیاه ذرت (*Zea mays*)، (Oliveira et al., 2016) و خارمریم (*Silybum marianum*)، (Mosavikia et al., 2020) گزارش شده است. گیاه بامیه به خانواده Malvaceae تعلق دارد و منشأ اصلی این گیاه گرمادوست، آفریقا است و از آنجا به خاورمیانه گسترش یافته و در آب و هوای مناطق جنوب ایران و خاک‌های شنی تا لومی متوسط با زهکشی مناسب رشد خوبی دارد. در سالهای اخیر سطح زیر کشت بامیه در شرق خوزستان افزایش پیدا کرده است. برای دستیابی به عملکرد مطلوب گیاه بامیه، آب کافی در دوره رشد آن باید فراهم شود. یکی از حساس‌ترین مراحل زندگی گیاهان زراعی، مرحله جوانه‌زنی بذر است (Eskandari and Alizadeh Amraei, 2017) که باعث ایجاد کاهش پتانسیل آب و کاهش جذب مواد مغذی می‌شود و بر رشد و عملکرد گیاه نقش نامطلوبی را ایفا می‌کند (Iqbal et al., 2020). این گیاه منبع مهم و ارزان قیمتی از کربوهیدرات‌ها، موادمعدنی، ویتامین‌ها (A، B و C)، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه است (Kargar Khorrami et al., 2013). این محصول در سرتاسر جهان از لحاظ ارزش غذایی و دارویی اهمیت دارد، از روغن آن به عنوان

در هنگام تنش شوری، گیاهان از ترکیبات غیرآنزیمی مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها، آسکوربات، کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها، گلوکاتایون و آلفاتوکوفرول برای حذف ROS استفاده می‌کنند (Sheikhalipour et al., 2021). در شرایط تنش، بافت‌های گیاهی ممکن است پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌های مؤثر در تنظیم اسمزی سلول‌های گیاهی را انباشته کنند. در بسیاری از گونه‌های گیاهی، تنش شوری می‌تواند با تغییر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی کلروفیل و کاروتنوئید، بازده فتوسنتز را تحت تأثیر قرار دهد. کاروتنوئیدهای موجود در کلروپلاست‌ها، با از بین بردن ROS، نقش مهمی در حفاظت از سیستم فتوسنتزی در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی دارند. فلاونوئیدها با فعالیت پاداکسندگی با حذف ROS نقش مهمی در محافظت از تنش بازی می‌کنند (sen et al., 2020)

کیتوزان (Cs) توسط استیل‌زدایی از کیتین طبیعی که جزء ساختاری در اسکلت بیرونی سخت پوستان است، استخراج می‌شود و حاوی مولکول‌های دی-گلوکز آمین و ان-استیل-دی-گلوکز آمین است که در یک پلیمر خطی با پیوند بتا (۱-۴) قرار دارند (Zayed et al., 2017). کیتوزان به دلیل دارا بودن گروه‌های آمین و هیدروکسیل رفتار هسته دوست از خود نشان می‌دهد و در واکنش‌های مختلف شیمیایی شرکت می‌کند و در کشاورزی دامنه کاربرد وسیعی دارد. استفاده از کیتوزان در غلظت مناسب می‌تواند تأثیرات مضر تنش شوری را کاهش، و رشد و عملکرد گیاه را افزایش دهد که در مطالعات قبلی روی گیاهان گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*)، (Ullah et al., 2020) برنج (*Oryza sativa*)، (Balusamy et al., 2022) آفتابگردان (*Helianthus annuus*)، (Golkar et al., 2019) و لوبیا (*Phaseolus vulgaris*)، (Sen and Mandal, 2016) گزارش شده است.

کیتوزان به عنوان محرک دفاعی گیاه شناخته شده است و در واکنش‌های دفاعی مانند تغییرات در نفوذپذیری غشا، تولید ROS، آنزیم‌های دخیل در دفاع، لیگنینه کردن و شارش یونی درگیر است، ولی به دلیل حل نشدن کیتوزان در محیط‌های آبی بسیاری از

قرار داده شدند. رشد دانه رست‌ها در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد و در تاریکی انجام شد. پس از گذشت سه روز دانه رست‌های با شرایط یکسان به گلدان‌هایی با ارتفاع ۱۹ cm و قطر دهانه ۲۲ cm حاوی پرلیت در اتاق کشت، با شرایط شدت نور ۱۵۰ (میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه)، دمای بیشینه و کمینه به ترتیب ۲۷ و ۲۰ درجه سانتیگراد، رطوبت ۶۰-۸۰ درصد (Temperature Humidity Meter UNI-T A12T)، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. برای آبیاری از محلول هوگلند و آب مقطر استفاده شد. نانوذره کیتوزان با قطر ۵۰ نانومتر از شرکت نانوسان مشهد (Iranian Nanomaterials Pioneers Company, Mashhad, Iran) تهیه شد (شکل ۱). پس از استقرار گیاه بامیه و گذشت ۲۱ روز در شرایط محیطی یکنواخت، زمانیکه گیاهچه به مرحله سه برگ حقیقی رسید، به طور تصادفی برای هر تیمار ۴ گلدان و هر گلدان سه گیاه در نظر گرفته شد. تیمار با دو سطح ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر نانوذره کیتوزان بصورت محلول پاشی در صبح اول وقت به صورت یک روز در میان انجام شد. هر گیاه با ۳ میلی‌لیتر محلول نانوکیتوزان اسپری شد. ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار نانوکیتوزان، تنش شوری در سطوح ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار همراه با محلول هوگلند اعمال شد. تنش شوری هر روز صبح به صورت آبیاری به گیاه داده شد و هر سه روز یکبار آبیاری با آب مقطر انجام شد. پس از گذشت ۱۴ روز از اعمال تنش شوری، برداشت گیاهان با تفکیک گروه‌های شاهد و تیمار انجام شد.

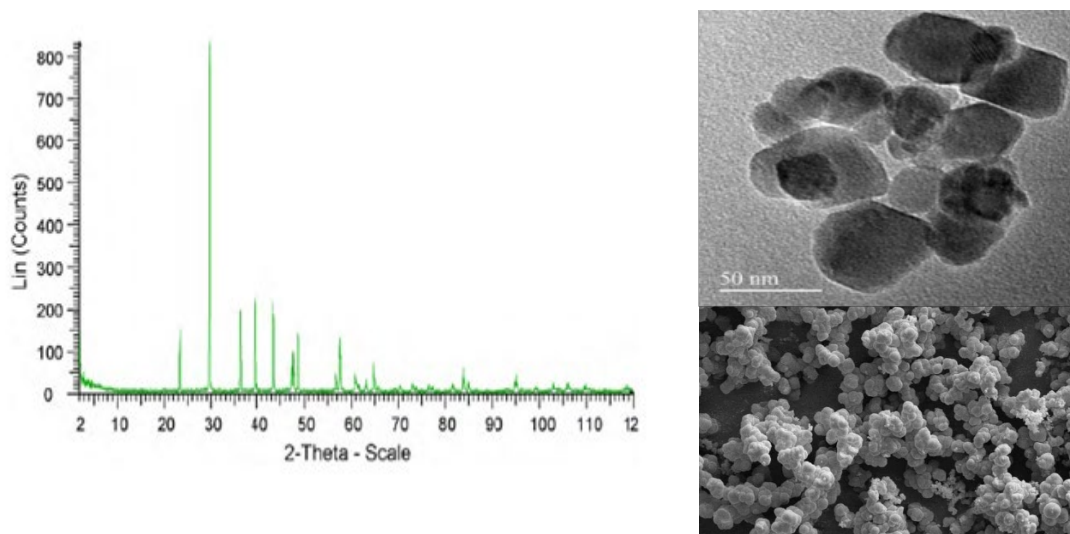
اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی پس از برداشت نمونه‌های گروه شاهد و تیمار، با استفاده از خطکش طول بخش هوایی و ریشه هرکدام از نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. نمونه‌های ریشه و بخش هوایی، با آب مقطر شست و شو و با کاغذ صافی خشک و وزن تر آن‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در آون با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد و اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌ها انجام شد.

سوخت زیستی، از موسیلاژ آن در دارو و صنعت و از برگ و جوانه‌های آن به عنوان غذا استفاده می‌شود. در ایران از این گیاه به عنوان غذا (خورشت بامیه) و در درمان کاهش چربی خون، سم زدایی کبد استفاده می‌شود. همچنین، به دلیل اینکه منبع غنی از فولات است برای جلوگیری از زایمان زودرس، مصرف آن به زنان باردار توصیه می‌شود. فیبر موجود در بامیه نیز در رفع یبوست و کاهش وزن مفید است.

در خاک‌های شور، درصد جوانه زنی، طول ریشه و ساقه، ارتفاع گیاه و میزان فتوسنتز و هدایت روزنه ای در گیاه بامیه کاهش و میزان سدیم و کلر با افزایش شوری، افزایش پیدا می‌کند و میزان پتاسیم در برگ و ریشه کاهش می‌یابد. با افزایش میزان شوری در خاک یا آب مورد استفاه برای آبیاری، این گیاه کاهش درصد عملکرد تا ۵۰ درصد را تجربه خواهد کرد (Salehi Salmi and Daneshvar, 2016). با افزایش روز افزون جمعیت و افزایش نیاز غذایی مردم ضروری است که کشت و کار در حداکثر اراضی از جمله خاک‌های شور با روش‌های گوناگون اصلاحی برای تولید و یا ایجاد مقاومت بیشتر در دوره رشد گیاه توسط هورمون‌ها یا استفاده از فناوری نانو انجام شود. در مطالعه‌ی حاضر، سعی شده است که نحوه‌ی تأثیر تنش شوری از طریق مطالعه‌ی برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه بامیه بررسی و تأثیر نانوذرات کیتوزان بر کاهش تأثیرات منفی تنش شوری بررسی شود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، بذرهای بامیه سبز رقم استاندارد کلمسون بدون خار (Clemson Spineless) با شماره ثبت: GB-34265 توسط شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذرهای با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد (w/v) ضدعفونی و سپس کاملاً با آب مقطر شست‌وشو داده شدند. بذرهای به مدت ۱۲ ساعت برای طی کردن دوره آماس در آب مقطر، و سپس به مدت ۷۲ ساعت بر روی کاغذ صافی مرطوب در پتری‌های با قطر ۱۵ سانتیمتر



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی و طیف XRD از نانوذره کیتوزان
Figure 1: Electron microscope image and XRD spectrum of chitosan nanoparticle

پس از ۵ دقیقه ۲/۵ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷ درصد اضافه و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد از غلظت‌های معلوم گالیک اسید برای تعیین میزان فنل کل تهیه شد. (معادله خط منحنی استاندارد $Y=0.001X + 0.0031$ (Marinova et al., 2005)

تعیین میزان فلاونوئید کل بر مبنای رنگ سنجی آلومینیوم با روش Chang و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد. ۰/۱ گرم وزن خشک بخش هوایی به همراه آب دیونیزه در هاون سانتریفوژ و سپس در ۵۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. به نیم میلی‌لیتر از محلول رویی، ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۴۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه (۲۵-۲۷ درجه سانتیگراد) انکوبه و سپس جذب هر یک از نمونه‌ها در ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. برای تعیین محتوای فلاونوئید کل، منحنی استاندارد از غلظت‌های معلوم کوئرستین تهیه شد (معادله خط منحنی استاندارد $Y=0.0158X + 0.0198$). برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین، ۰/۱ گرم بافت خشک بخش هوایی در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی، حاوی ۹۹ درصد متانول و ۱ درصد اسید کلریدریک توسط هاون چینی

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید، ۰/۱ گرم بافت برگ گیاه (دومین برگ جوان) در استون هشتاد درصد (v/v) توسط هاون چینی سائیده و پس از صاف کردن، میزان جذب آن در طول موج‌های ۶۴۵، ۴۷۰ و ۶۶۵ توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV/Vis (Agilent 8453,US) خوانده شد. از استون ۸۰ درصد به‌عنوان شاهد استفاده شد. غلظت رنگیزه‌های گیاهی با اعمال حجم و وزن توسط رابطه‌های زیر محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987).

رابطه ۱:

$$\text{Chl.a} = (12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8})$$

رابطه ۲:

$$\text{Chl.b} = (21.21A_{646.8} - 5.1A_{663.3})$$

رابطه ۳:

$$\text{C}_{x+c} = 1000A_{470} - 1.82C_a - 85.02C_b / 198$$

برای سنجش میزان فنل کل میزان ۰/۵ گرم وزن خشک بخش هوایی و ریشه به همراه ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (v/v) در هاون چینی سائیده و در دمای ۴ درجه سانتیگراد و ۱۰۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. به یک میلی‌لیتر از عصاره استخراجی یک میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتنو (رقیق شده با ۹ میلی‌لیتر آب مقطر) اضافه، و مخلوط شد.

ساعت انکوبه شدند و پس از ایجاد رنگ نهایی شدت جذب آن‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های معلوم گلوکز تهیه شد (معادله خط منحنی استاندارد $Y = 0.008X + 0.0180$). (Dubios *et al.*, 1956).

رسوب حاصل از بقایای بافتی حاصل از استخراج قند محلول در مخلوط دی متیل سولفوکسید/اسید کلریدریک ۸ نرمال (۴:۱ v/v) حل و در ۱۲۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره گیاهی، ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف یدین (زرد رنگ) اضافه و پس از ۱۵ دقیقه انکوباسیون، جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. برای تهیه معرف یدین-HCl، ۰/۰۶ گرم از یدور پتاسیم و ۰/۰۳ گرم از ید در ۱۰۰ میلی‌لیتر HCl ۰/۵ نرمال حل شد. برای تهیه محلول‌های استاندارد، از غلظت‌های مشخص نشاسته (صفر تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) استفاده شد (Magne *et al.*, 2006).

به‌منظور اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید، ۰/۲ گرم از بافت تر بخش هوایی و ریشه در ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد (v/v) سائیده و سپس عصاره‌ها در ۵۰۰۰g به مدت ده دقیقه سانتریفوژ شدند. به هر یک میلی‌لیتر از محلول فاز بالایی حاصل از سانتریفوژ نمونه‌ها، ۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد و تیوباربیئوریک اسید ۰/۵ درصد اضافه شد. سپس در حمام آب گرم ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شدند و پس از کاهش دما، به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰g سانتریفوژ شدند. جذب محلول‌های حاصل، در طول موج ۵۳۲ نانومتر و جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده و از این میزان کسر شد. برای محاسبه غلظت مالون‌دی‌آلدئید از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ میلی‌مول بر ثانیه و رابطه ۵ استفاده شد (Heath and Packer, 1968).

رابطه ۵:

$$MDA(\mu\text{mol/gFw}) = [A_{532} - A_{600}/155] \times 1000$$

به‌منظور کاهش خطا، نمونه‌برداری برای هر تیمار در ۴ تکرار و سه گیاه در هر تکرار

سائیده شد. عصاره حاصل در ۶۰۰۰g به مدت ده دقیقه سانتریفوژ و محلول رویی به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه (۲۵-۲۷ درجه سانتیگراد) در تاریکی قرار داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. از ضریب خاموشی معادل ۱۵۰ میلی‌مول بر ثانیه برای محاسبه غلظت آنتوسیانین استفاده شد (Fulcki and Francis, 1968).

برای سنجش درصد جمع‌آوری رادیکال (۲-، ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)، ۰/۱ گرم بافت تر بخش هوایی و ریشه با ۱ میلی‌لیتر متانول در هاون چینی سائیده شد و دو میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH ۰/۰۰۴ درصد (w/v) با ۲۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی مخلوط و جذب مخلوط پس از ۱۵ دقیقه انکوباسیون در تاریکی و دمای اتاق در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه درصد فعالیت جاروب کنندگی عصاره‌ها از رابطه ۴ استفاده شد، که در آن A_{Sample} جذب کنترل و A_{Blank} میزان جذب نوری عصاره‌ها را نشان می‌دهد (Burits and Bucar, 2000). برای مقایسه فعالیت عصاره‌ها از مفهوم IC50 استفاده شد. غلظتی از عصاره‌ها که باعث ۵۰ درصد مهار کنندگی است به عنوان IC50 استفاده شد. در این مطالعه از پاداکسنده سنتزی بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

رابطه ۴:

$$I\% = [(A_{\text{Blank}} - A_{\text{Sample}}) / A_{\text{Blank}}] * 100$$

برای سنجش میزان قندهای محلول از روش فنل سولفوریک اسید استفاده شد، که اساس آن هیدرولیز اسیدی قندهای محلول است و کمپلکس رنگی از ترکیب فورفورال با فنل ایجاد می‌شود. ۰/۵ گرم بافت تر بخش هوایی و ریشه به همراه ۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه توسط هاون چینی به خوبی سائیده و توسط کاغذ صافی صاف شد. بر روی یک میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به همراه یک میلی‌لیتر فنل ۵ درصد (w/v) اضافه شد. در مرحله‌ی پس ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد (v/v) اضافه شد. در دمای آزمایشگاه لوله‌های آزمایش به مدت یک

وزن خشک و ۱/۱۸ و ۱/۲۳ برابری طول در بخش هوایی، و نیز موجب کاهش به ترتیب ۱/۲۶ و ۱/۳۱ برابری وزن تر، ۱/۱۶ و ۱/۴ برابری وزن خشک و ۱/۳۳ و ۱/۵۲ برابری طول ریشه نسبت به شاهد شد. تیمار نانوذره کیتوزان در سطح ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر به ترتیب موجب افزایش در وزن تر (۱/۰۶ و ۱/۱۰ برابر)، وزن خشک (۱/۱۲ و ۱/۲۲ برابر) و کاهش طول (۱/۱ و ۱/۱ برابر) در بخش هوایی، و افزایش ۱/۱۷ و ۱/۲۳ برابری وزن تر، ۱/۲۱ و ۱/۲۸ برابری وزن خشک، و کاهش ۱ و ۱/۰۵ برابری طول در ریشه نسبت به شاهد شد.

انجام و آزمایش به صورت فاکتوریل دو عاملی بر پایه طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. برای آنالیز داده‌های آماری از نرم‌افزار SAS 9.4 استفاده شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس و برش دهی تأثیر متقابل تیمارهای شوری بر شاخص‌های رشدی گیاه بامیه در حضور نانوذره کیتوزان در جدول ۱ آمده است. بررسی نتایج حاصل از تأثیر نانوذره کیتوزان در دو سطح ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر و تنش شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار نشان داد که تنش شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب موجب کاهش ۱/۲۷ و ۱/۴۶ برابری وزن تر، ۱/۲ و ۱/۵ برابری

جدول ۱: جدول تجزیه واریانس و برش دهی تأثیر متقابل تأثیر سطوح شوری بر روی شاخص‌های رشدی گیاه بامیه در حضور نانوذره کیتوزان

Table 1: Variance analysis table and cross section of the interaction effect of salinity levels on the growth traits of Okra plant in the presence of chitosan nanoparticles

اندام هوایی			ریشه			df	منابع تغییرات
وزن تر	وزن خشک	طول	وزن تر	وزن خشک	طول		
۱۰/۹۰**	۰/۸۲**	۲۵/۷۹**	۰/۳۶**	۰/۰۰۵**	۶۴/۰۱**	۲	تنش شوری
۲/۸۷**	۰/۲۳**	۱/۶۳**	۰/۲۰**	۰/۰۰۳**	۳**	۲	نانوکیتوزان
۰/۱۲**	۰/۰۰۸**	۳/۵۰**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۳/۱۶**	۴	شوری * نانوکیتوزان
۰/۰۸	۰/۰۰۱	۰/۰۱۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۴	۰/۰۲	۱۸	اشتباه آزمایشی
برش دهی تأثیر متقابل (شوری * نانوکیتوزان)							
اندام هوایی			ریشه			df	منابع تغییرات
وزن تر	وزن خشک	طول	وزن تر	وزن خشک	طول		
۰/۵۰**	۰/۱۱**	۵/۸۱**	۰/۰۸۱**	۰/۰۰۱**	۳/۵۴**	۲	شوری (سطح ۰) * نانوکیتوزان
۱/۰۹**	۰/۰۳**	۲**	۰/۰۸**	۰/۰۰۱**	۱/۳۲**	۲	شوری (سطح ۷۵ میلی‌مولار) * نانوکیتوزان
۱/۵۲**	۰/۰۹**	۰/۸۳**	۰/۰۳**	۰/۰۰۰۸**	۴/۴۴**	۲	شوری (سطح ۱۵۰ میلی‌مولار) * نانوکیتوزان

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد است.

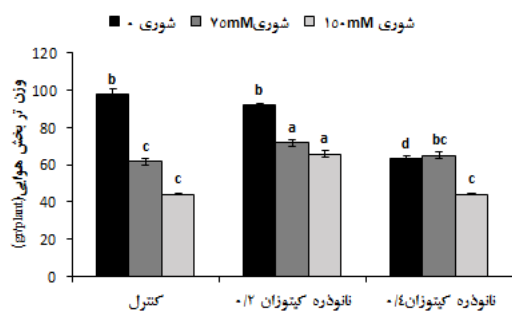
۱۵۰ و موجب افزایش ۱/۱۹ و ۱/۲۳ برابری وزن تر، ۱/۱۵ و ۱/۲۳ برابری وزن خشک و ۱/۰۳ و ۱/۰۷ برابری طول در بخش هوایی، و وزن تر (۱/۳ و ۱/۲ برابر)، وزن خشک (۱/۳ و ۱/۳ برابر) و طول (۱/۰۸ و ۱/۱ برابر) در ریشه نسبت به شوری هم سطح شد (جدول ۱ و شکل ۲). نتایج تجزیه واریانس و برش دهی تأثیر متقابل سطوح شوری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه بامیه در حضور

تیمار همزمان نانوذره کیتوزان ۰/۲ گرم برلیتر با شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب موجب افزایش در وزن تر (۱/۰۹ و ۱/۲۱ برابر)، وزن خشک (۱/۰۸ و ۱/۲۴ برابر) و طول (۱/۰۱ و ۱/۰۳ برابر) در بخش هوایی، و وزن تر (۱/۲۱ و ۱/۱۶ برابر)، وزن خشک (۱/۱ و ۱/۲ برابر) و طول (۱ و ۱/۰۷ برابر) نسبت به شوری هم سطح در ریشه شد. کاربرد نانوذره ۰/۴ گرم برلیتر همزمان با شوری ۷۵

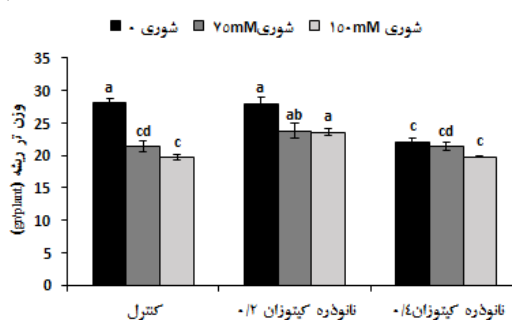
تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. تیمار با نانوذره کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر افزایش ۱/۳۸ و ۱/۳۹ برای کلروفیل a، و ۱/۱۹ و ۱/۱۸ برای کلروفیل b و ۱/۳۱ و ۱/۴ برای کاروتنوئید نسبت به گروه شاهد را در پی داشت.

نانوذره کیتوزان در جدول ۲ آمده است. بررسی نتایج حاصل از تأثیر نانوذره کیتوزان در دو سطح ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر و تنش شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار بر محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید نشان داد که تنش شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار به‌ترتیب موجب کاهش کلروفیل a (۱/۵ و ۱/۸ برابر)، کلروفیل b (۱ و ۱/۲ برابر) و کاروتنوئید (۱/۲ و ۱/۴ برابر) شد. کاهش کلروفیل‌ها و کاروتنوئید در

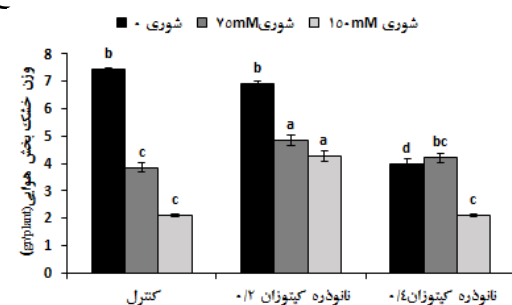
الف



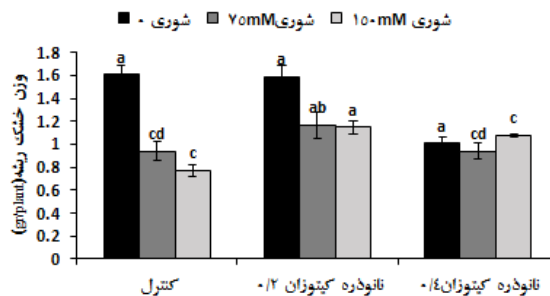
ب



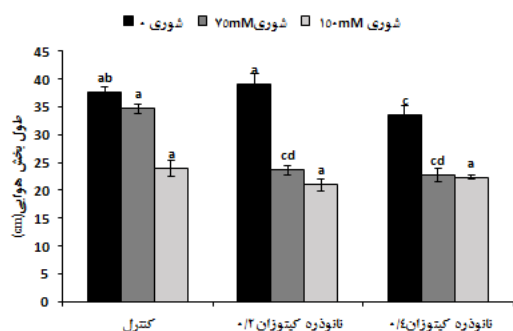
ج



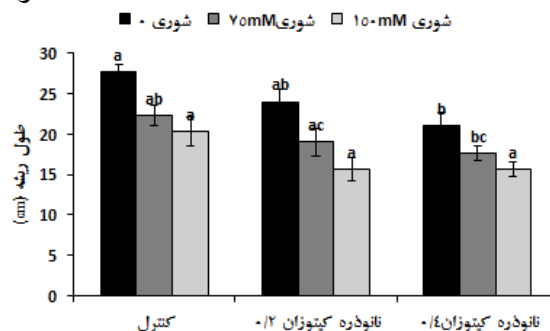
د



ه



و



شکل ۲: نمودار وزن تر بخش هوایی (الف)، وزن تر ریشه (ب)، وزن خشک بخش هوایی (ج)، وزن خشک ریشه (د)، طول بخش هوایی (ه) و طول ریشه (و) در محلول پاشی نانوذره کیتوزان در دو غلظت ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر در حضور شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ با آزمون دانکن است.

Figure 2: The graph of wet weight of aerial part and root (a, b), dry weight of aerial part and root (c, d) and length of aerial part and root (e, f) in foliar spraying of chitosan nanoparticles in two concentrations of 0.2 and 0.4 gram per liter in the presence of 75 and 150 mM salinity. Values are mean of 4 replicates \pm SE. Identical letters indicate no significant

difference at the $p < 0.05$ level using Duncan's test.

جدول ۲: جدول تجزیه واریانس و برش دهی تأثیر متقابل تأثیر سطوح شوری بر شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه بامیه در حضور نانوذره کیتوزان

Table 2: Variance analysis table and cross section of the interaction effect of salinity levels on the physiological and biochemical parameters of okra plant in the presence of chitosan nanoparticles

اندام هوایی				ریشه	df	منابع تغییرات
ا	b	کاروتنوئید	مالون‌دی آلدئید	مالون‌دی آلدئید		
کلروفیل	کلروفیل	د	آلدئید	نئید		
۴۵۹۵/۷۳**	۱۲۶/۲۶**	۳۳۴/۷۰**	۱۶۵/۳۲**	۷۱/۵۸**	۲	تنش شوری
۹۷۶۶/۹۴**	۱۶۲/۷۱**	۳۲۴/۰۳**	۹۶۸/۲۱**	۱۴۸/۵۳**	۲	نانوکیتوزان
۳۳۹/۷۶**	۹/۱۳**	۱۵/۴۵**	۶۵/۳۳**	۲۰/۵۹**	۴	شوری* نانوکیتوزان
۲/۶۷	۰/۴۹	۰/۳۱	۰/۳۶	۰/۱۳	۱۸	اشتباه آزمایشی
برش دهی تأثیر متقابل (شوری * نانوکیتوزان)						
اندام هوایی				ریشه	df	منابع تغییرات
ا	b	کاروتنوئید	مالون‌دی آلدئید	مالون‌دی آلدئید		
کلروفیل	کلروفیل	د	آلدئید	نئید		
۲۰۷۹/۳۱**	۵۹/۴۷**	۱۴۱/۱۵**	۹۳/۱۰**	۱۲/۶۴**	۲	شوری (سطح ۰) * نانوکیتوزان
۳۵۵۶/۲۹**	۳۰/۲۱**	۹۵/۱۹**	۳۴۴/۴۸**	۲۹/۷۸**	۲	شوری (سطح ۷۵ میلی مولار) *
۴۸۱۰/۸۷**	۹۱/۳۰**	۱۱۸/۶۰**	۶۶۱/۳۰**	۱۴۷/۲۹**	۲	شوری (سطح ۱۵۰ میلی مولار) *

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد است.

به ترتیب موجب کاهش ۱/۸ و ۱/۶ برابری در بخش هوایی و ۲/۸ و ۱/۷ برابری در ریشه نسبت به گروه شاهد شد. تیمار همزمان نانوذره کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر در هر دو سطح شوری در مقایسه با سطوح شوری هم سطح به ترتیب موجب کاهش ۲/۵ و ۴/۱۲ برابری محتوای مالون‌دی‌آلدئید در ریشه و ۲/۲۸ و ۲/۶۹ برابری در بخش هوایی شد. تیمار همزمان نانوذره ۰/۴ گرم بر لیتر با شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب کاهش ۲ و ۲/۵ برابری محتوای مالون‌دی‌آلدئید در ریشه و ۲/۲ و ۲/۴ برابری در بخش هوایی، در مقایسه با شوری‌های هم سطح را به دنبال داشت (جدول ۲ و شکل ۴).

جدول تجزیه واریانس و برش‌دهی تأثیر متقابل آنتوسیانین، فلاونوئید و فنل کل در بخش هوایی و فنل کل در ریشه در جدول ۳ آمده است. نتایج حاصل از بررسی محتوای فنل کل در بخش هوایی و ریشه گیاه بامیه تحت تنش شوری و تیمار نانوذرات کیتوزان نشان داد که تنش شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار موجب

تیمار همزمان نانوذره کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر با شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب موجب افزایش کلروفیل a (۱/۸ و ۲/۲۶ برابر)، کلروفیل b (۱/۱۵ و ۱/۳۲ برابر) و کاروتنوئید (۱/۴ و ۱/۶۸ برابر) نسبت به تیمارهای شوری هم سطح شد. میزان افزایش در هر دو سطح شوری نسبت به شوری‌های هم سطح معنی‌دار است. تیمار نانوذره کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر در هر دو سطح شوری موجب افزایش کلروفیل a (۱/۷ و ۱/۶۸ برابر)، کلروفیل b (۱/۱ و ۱/۱۳ برابر) و کاروتنوئید (۱/۴ و ۱/۴ برابر) نسبت به شوری‌های هم سطح شد (جدول ۲ و شکل ۳).

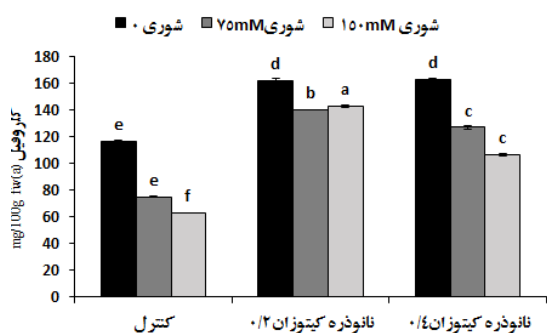
نتایج تجزیه واریانس و برش‌دهی تأثیر متقابل سطوح شوری بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید در بخش هوایی و ریشه در حضور نانوذره کیتوزان در جدول ۲ آمده است. تنش شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار موجب افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید به ترتیب (۱/۴ و ۱/۸) در بخش هوایی و (۱/۵ و ۲/۸) برابری در ریشه شد. تیمار نانوذره کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر

و ۱/۱ برابر افزایش را در مقایسه با شوری هم سطح نشان داد.

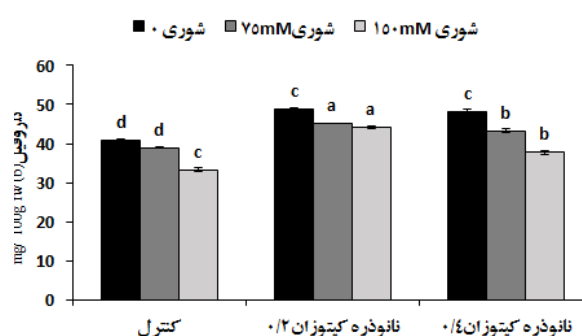
تیمار نانوذره ۰/۲ با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار موجب کاهش ۱/۰۳ برابری در بخش هوایی و ۱/۰۱ برابری در ریشه نسبت به شوری هم سطح شد. نانوذره ۰/۴ گرم بر لیتر با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار با افزایش ۱/۰۶ برابری در بخش هوایی و کاهش ۱ برابری در ریشه به

افزایش محتوای فنل کل به ترتیب ۱ و ۱/۳ برابری در بخش هوایی و ۱/۲ و ۱/۴ برابری در ریشه نسبت به گروه شاهد شد. کاربرد نانوذرات ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر موجب افزایش محتوای فنل کل به ترتیب در بخش هوایی (۱/۱۱ و ۱/۱۶ برابر) و ریشه (۱/۱ و ۱/۳ برابر) در مقایسه با گروه شاهد شد. تیمار نانوذره ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر همزمان با شوری ۷۵ میلی‌مولار در بخش هوایی به ترتیب ۱/۰۸ و ۱/۱۲ برابر و در ریشه ۱/۰۶

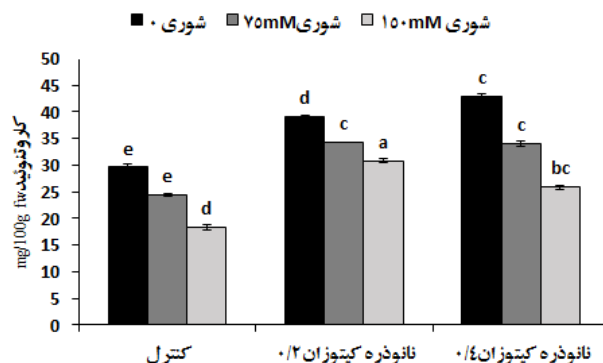
الف



ب



ج

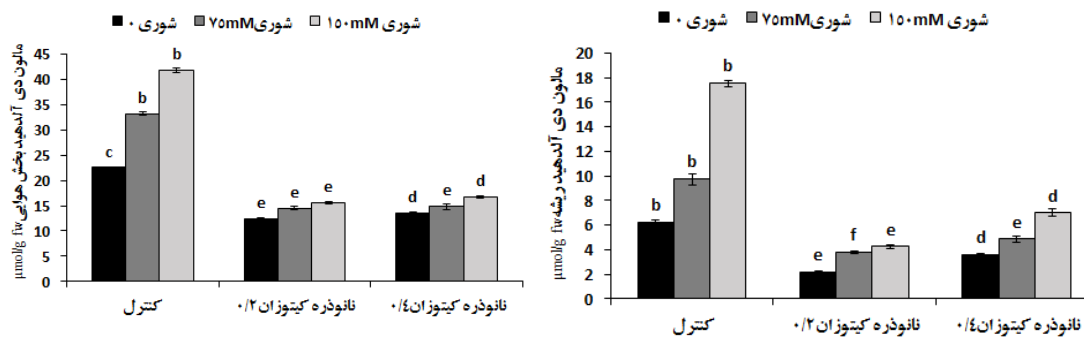


شکل ۳: نمودار کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب) و کاروتنوئید (ج) در برگ گیاه بامیه در محلول پاشی نانوذره کیتوزان در دو غلظت ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر در حضور شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ با آزمون دانکن است.

Figure 3: The graph of chlorophyll a (a), b (b) and carotenoid (c) in the leaves of okra plant in the foliar application of chitosan nanoparticles in two concentrations of 0.2 and 0.4 g per liter in the presence of 75 and 150 mM salinity. Values are mean of 4 replicates \pm SE. The same letters indicate no significant difference at the $p < 0.05$ level using Duncan's test.

الف

ب



شکل ۴: نمودار محتوای مالون‌دی‌آلدئید در بخش هوایی (الف) و ریشه (ب) گیاه بامیه در محلول پاشی نانوذره کیتوزان در دو غلظت ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر در حضور شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ با آزمون دانکن است.

Figure 4: The diagram of malondialdehyde in the aerial part(a) and root(b) of okra plant in chitosan nanoparticle foliar spraying at two concentrations of 0.2 and 0.4 g per liter in the presence of 75 and 150 mM salinity. Values are mean of 4 replicates \pm SE. The same letters indicate no significant difference at the $p < 0.05$ level using Duncan's test.

جدول ۳: جدول تجزیه واریانس و برش دهی تأثیر متقابل تأثیر سطوح شوری بر پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه بامیه در حضور نانوذره کیتوزان

Table 3: Variance analysis and cross-section table of interaction effect of salinity levels on physiological and biochemical parameters of okra plant in the presence of chitosan nanoparticles

اندام هوایی			ریشه	df	منابع تغییرات
انتوسیانین	فنل کل	فلاونوئید	فنل کل		
۴۴/۳۹**	۲۹۷/۶۱**	۰/۰۳۷**	۸۱/۵۲**	۲	تنش شوری
۱۲۳/۶۹**	۶۳/۹۱**	۰/۰۴**	۱۶/۷۲**	۲	نانوکیتوزان
۴/۴۴**	۸/۶۸**	۰/۰۰۱*	۶/۸۳**	۴	شوری* نانوکیتوزان
۰/۳۶۹	۰/۶۲	۰/۰۰۳	۰/۳۹	۱۸	اشتباه آزمایشی
برش دهی تأثیر متقابل (شوری * نانوکیتوزان)					
اندام هوایی			ریشه	df	منابع تغییرات
انتوسیانین	فنل کل	فلاونوئید	فنل کل		
۶۸/۹۱**	۳۶/۱۸**	۰/۰۲۲**	۲۴/۷۵**	۲	شوری (سطح ۰) * نانوکیتوزان
۲۷/۹۸**	۲۳/۰۴**	۰/۰۱۲**	۵/۴۷**	۲	شوری (سطح ۷۵ میلی مولار) * نانوکیتوزان
۳۵/۶۷**	۲۲/۰۷**	۰/۰۰۸**	۰/۱۹۱ ^{ns}	۲	شوری (سطح ۱۵۰ میلی مولار) * نانوکیتوزان

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد است.

در گیاهان تحت تنش نمکی با افزایش میزان شوری در مقایسه با نمونه‌های شاهد، به طور معنی‌داری افزایش یافته است. تنش شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب موجب افزایش

به سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار همراه بود (جدول ۳ و شکل ۵). نتایج حاصل از سنجش محتوای فلاونوئید کل در این تحقیق، نشان داد که میزان فلاونوئید کل

به گروه شاهد شد. تیمار همزمان نانوذره ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر با شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب کاهش ۱/۰۴ و ۱/۱۶ برابری در بخش هوایی و ۱/۲۵ و ۱/۴۵ برابری در ریشه را نسبت به شوری هم سطح به‌دنبال داشت. کاربرد همزمان شوری ۱۵۰ میلی‌مولار با نانوذره ۰/۲ گرم بر لیتر افزایش ۱/۱۲ برابری را در بخش هوایی و ۱/۵ برابری را در ریشه نسبت به شوری هم سطح نشان داد. کاربرد نانوذره کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در بخش هوایی با کاهش ۱/۱۳ برابری و در ریشه با افزایش ۱/۱۵ برابری درصد مهار IC50 نسبت به شوری هم سطح همراه بود. کمترین میزان IC50 به نمونه شوری ۱۵۰ میلی‌مولار همزمان با نانوذره کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر مربوط بود که در بخش هوایی و ریشه به ترتیب ۲/۲۷ و ۶/۵ برابر کمتر نسبت به نمونه کنترل مثبت BHA، و بیشترین میزان IC50 به نمونه شاهد (شوری صفر) و پس از آن نانوذره کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر در بخش هوایی و ریشه به ترتیب ۱/۳۶ و ۲/۳۹ برابر کمتر نسبت به نمونه کنترل مثبت BHA مربوط بود (جدول ۴ و شکل ۶).

نتایج مطالعه‌ی حاضر، در مورد بررسی میزان قندهای محلول نشان داد که در تیمار شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار غلظت قندهای محلول در بخش هوایی و ریشه گیاه بامیه افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد شوری نشان داد، میزان افزایش به‌ترتیب در بخش هوایی ۱/۵ و ۱/۸ برابر و ریشه ۱/۲ و ۱/۵ برابر بود. تیمار نانوذره ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر موجب افزایش محتوای قند محلول به ترتیب ۱/۷ و ۱/۸ برابری در بخش هوایی و ۱/۶۲ و ۱/۵ برابری در ریشه نسبت به نمونه شاهد شد. تیمار همزمان هرکدام از نانوذره ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر با شوری ۷۵ میلی‌مولار نیز به‌ترتیب موجب افزایش محتوای قند محلول در بخش هوایی (۱/۳ و ۱/۲ برابر) و ریشه (۱/۴ و ۱/۳ برابر) نسبت به سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار شد. کاربرد همزمان تیمار نانوذره ۰/۲ با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به‌ترتیب در بخش هوایی موجب ۱/۱۲ و در

۱/۴۵ و ۱/۷۵ برابری میزان فلاونوئید کل در بخش هوایی شد. تیمار با نانوذرات ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر در بخش هوایی به ترتیب با افزایش ۱/۵ و ۱/۷ برابری نسبت به نمونه شاهد همراه بود و تیمار گیاه با نانوذره کیتوزان در هر دو سطح موجب افزایش معنی‌دار در غلظت فلاونوئید کل نسبت به شاهد شد. تیمار همزمان نانوذرات ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر با شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب افزایش ۲ و ۱/۹ برابری را نسبت به تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار نشان داد. در کاربرد شوری ۱۵۰ میلی‌مولار همزمان با نانوذره ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر به ترتیب افزایش ۱/۲۲ و ۱/۲۴ برابری در مقایسه با شوری هم سطح مشاهده شد (جدول ۳ و شکل ۵).

آنالیز داده‌های آماری نشان داد که محتوای آنتوسیانین بخش هوایی با کاربرد نانوذرات کیتوزان در دو سطح ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر در مقایسه با نمونه شاهد به ترتیب ۱/۳ و ۱/۵ برابر افزایش را نشان داد که این میزان افزایش در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. میزان آنتوسیانین در تنش شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب ۱/۲ و ۱/۴ برابر نسبت به گروه شاهد (شوری صفر) افزایش نشان داد. تیمار همزمان نانوذره ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر با شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب باعث افزایش ۱/۱ و ۱/۲ برابری نسبت به شوری هم سطح شد و همچنین، تیمار نانوذرات با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نیز به ترتیب با افزایش ۱ و ۱/۳ برابری نسبت به شوری هم سطح همراه بود (جدول ۳ و شکل ۵).

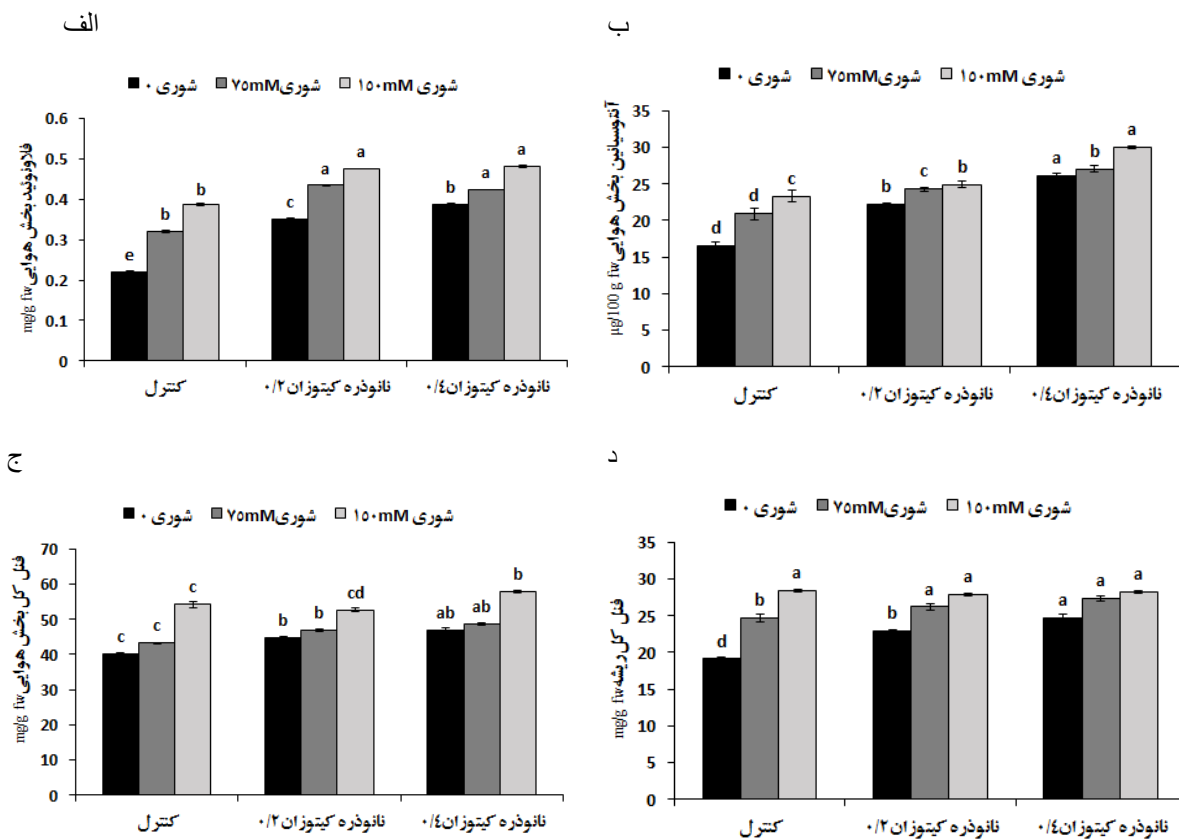
در بررسی درصد مهار IC50 از BHA (0.98 ± 0.004) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. نتایج نشان داد که تنش شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب کاهش ۱/۱۵ و ۱/۶۷ برابری در بخش هوایی و ۱/۶۵ و ۴/۴ برابری در ریشه را نسبت به شاهد نشان داد. تیمار نانوذره کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر به‌ترتیب باعث کاهش ۱/۱۳ و ۱/۳ برابری در بخش هوایی و ۱/۴۱ و ۱/۸۷ برابری در ریشه نسبت

محتوای نشاسته در بخش هوایی (۱/۳ و ۱/۴) برابر) و ریشه (۲/۴ و ۱/۹) برابر) نسبت به گروه شاهد را در پی داشت.

تنش شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار نیز به ترتیب باعث کاهش معنی‌دار ۱/۲۷ و ۱/۸ برابری محتوای نشاسته در بخش هوایی و ۲/۷ و ۳/۶ برابری در ریشه نسبت به گروه شاهد شد.

ریشه ۱/۳ برابر افزایش نسبت به شوری هم سطح شد. کاربرد همزمان نانوذره ۰/۴ گرم بر لیتر با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نیز در بخش هوایی کاهش یک برابری و در ریشه افزایش ۱/۱۲ برابری را نسبت به تیمار شوری هم سطح نشان داد (جدول ۴ و شکل ۶).

در بررسی آنالیز داده‌های غلظت نشاسته گیاه بامیه در تیمار با نانوذرات کیتوزان (۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر)، کاهش معنی‌داری در



شکل ۵: نمودار فلاونوئید (الف) و انتوسیانین (ب) در بخش هوایی و فنل کل در بخش هوایی (ج) و ریشه (د) گیاه بامیه در محلول پاشی نانوذره کیتوزان در دو غلظت ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر در حضور شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ با آزمون دانکن است.

Figure 5: The diagram of flavonoid (a) and anthocyanin (b) in aerial part and total phenol in aerial part (c) and root (d) of okra plant in chitosan nanoparticle foliar spraying at two concentrations of 0.2 and 0.4 g per liter in the presence of 75 and 150 mM salinity. Values are mean of 4 replicates \pm SE. The same letters indicate no significant difference at the $p < 0.05$ level using Duncan's test.

جدول ۴: جدول تجزیه واریانس و برش دهی تأثیر متقابل تأثیر سطوح شوری بر پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه بامیه در حضور نانوذره کیتوزان

Table 4: Variance analysis and cross-section table of interaction effect of salinity levels on physiological and biochemical parameters of Okra plant in the presence of chitosan nanoparticles

اندام هوایی			ریشه			df	منابع تغییرات
فندمحلول	نشاسته	IC50	فندمحلول	نشاسته	IC50		
۱۲۸/۳۰**	۴/۱۲**	۰/۱۲۸**	۴۸/۰۵**	۱/۰۵**	۰/۱۷**	۲	تنش شوری
۱۴۸/۱۹**	۸/۷۳**	۰/۰۳۵**	۱۰۸/۸۳**	۱/۴۲**	۰/۰۳**	۲	نانوکیروزان
۴۹/۹۵**	۵/۹۷**	۰/۰۰۵**	۳/۱۸**	۳/۴۲**	۰/۰۱۵**	۴	شوری* نانوکیروزان
۰/۲۸۹	۰/۰۰۸	۰/۰۰۹	۰/۲۴۸	۰/۰۰۲	۰/۰۰۸	۱۸	اشتباه آزمایشی
برش دهی تأثیر متقابل (شوری* نانوکیروزان)							
اندام هوایی			ریشه			df	منابع تغییرات
فندمحلول	نشاسته	IC50	فندمحلول	نشاسته	IC50		
۱۸۲/۴۱**	۰/۹۴**	۰/۰۲**	۴۷/۷۱**	۱/۷۲**	۰/۰۴**	۲	شوری (سطح ۰)* نانوکیروزان
۳۸/۱۰**	۶/۴۹**	۰/۰۱**	۳۹/۲۶**	۱/۳۸**	۰/۰۰۳**	۲	شوری (سطح ۷۵ میلی مولار)* نانوکیروزان
۲۷/۵۹**	۱۳/۲۴**	۰/۰۰۷**	۲۸/۲۳**	۵/۱۹**	۰/۰۰۹**	۲	شوری (سطح ۱۵۰ میلی مولار)* نانوکیروزان

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی داری و معنی داری در سطح احتمال یک و پنج درصد است.

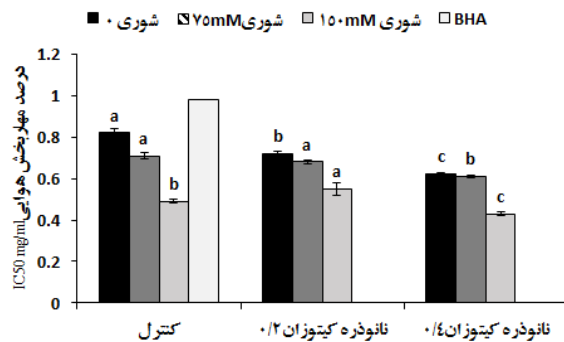
و تنفس که در تولید انرژی گیاه مؤثر هستند، می‌دانند. در مطالعه‌ای که تأثیر نانوذره کیتوزان (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) را بر شاخص‌های رشد گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در شرایط تنش شوری با غلظت انتخابی ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بررسی کرده است، مشخص شد که شوری باعث کاهش جوانمیزی و رشد نهال شد و تیمار با نانوذره کیتوزان در تمام سطوح شاخص‌های رشد را بهبود بخشید و بالاترین میزان افزایش رشد در تیمار ۰/۳ درصد مشاهده شد (Zayed et al., 2017). نانوذرات کیتوزان نقش بالقوه‌ای را در بهبود تأثیرات منفی تنش‌های غیر زیستی به ویژه تنش شوری ایفا می‌کنند. یکی از فاکتورهای ضروری برای تعیین کارایی فتوسنتز، تعیین محتوای کلروفیل و کاروتنوئید است. در مطالعه‌ی حاضر، تأثیر نامطلوب شوری بر میزان کلروفیل برگ به وضوح مشهود بود. در مطالعه‌ای که Saha و همکاران (۲۰۱۰) در برگ گیاه ماش سبز (*Vigna radiata* L.) تیمار شده با کلرید سدیم ۵۰ میلی‌مولار انجام داده‌اند، دریافتند که تنش نمک باعث کاهش

در رابطه با محتوای نشاسته، تیمار همزمان نانوذره کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر با شوری ۷۵ میلی‌مولار به ترتیب افزایش ۱/۹ و ۱ برابری در بخش هوایی و ۲/۴ و ۱/۸ برابری در ریشه نسبت به شوری هم سطح را نشان داد. کاربرد شوری ۱۵۰ میلی‌مولار با هر یک از نانوذرات نیز به ترتیب در بخش هوایی ۳/۲۸ و ۲/۳ برابری و در ریشه ۴/۳ و ۴/۴ برابری افزایش غلظت نشاسته نسبت به گروه تیمار هم سطح را در پی داشت (جدول ۴ و شکل ۶).

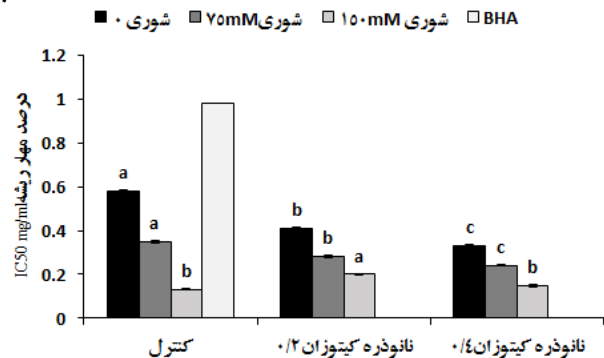
بحث

تنش غیر زیستی شوری، که با سمیت یونی و تنش اسمزی نیز همراه است، باعث کمبود مواد غذایی در گیاه و بر سازوکارهای متعدد بیوشیمیایی و فیزیولوژیک دخیل در رشد و نمو گیاه تأثیرگذار است. بر طبق نتایج حاصل از این تحقیق تولید زیست توده و میزان شاخص‌های رشد در گیاه بامیه در تأثیر تنش شوری کاهش یافت که با یافته‌های پیشین در گیاه بامیه (*Abelmoschus esculentus*)، (Kargar Khorrami et al., 2020) و بونجه (*Medicago sativa*)، (Wang et al., 2009) در تطابق است. پژوهش‌های یاد شده علت اصلی کاهش میزان رشد را ایجاد اختلال در فتوسنتز

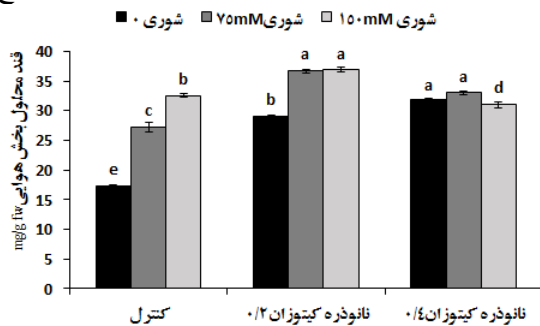
الف



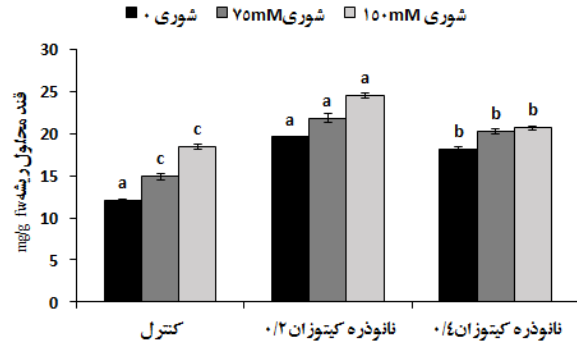
ب



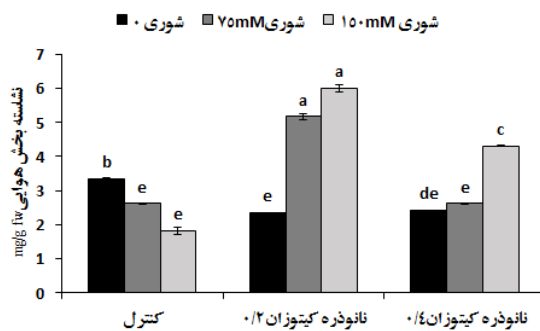
ج



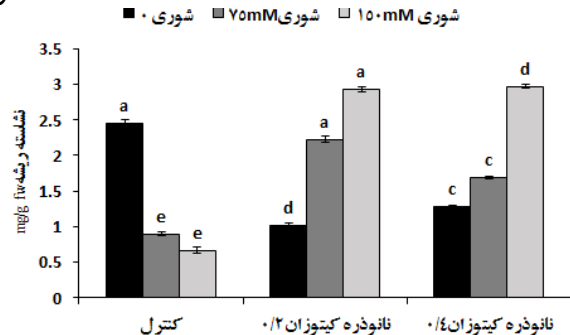
د



ه



و



شکل ۶: نمودار درصد مهار IC50 بخش هوایی (الف) و ریشه (ب)، قند محلول بخش هوایی (ج) و ریشه (د) و نشاسته در بخش هوایی (ه) و ریشه (و) گیاه بامیه در محلول پاشی نانوذره کیتوزان در دو غلظت ۰/۲ و ۰/۴ گرم برلیتر در حضور شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ با آزمون دانکن است.

Figure 6: IC50 inhibition percentage diagram of aerial part (a) and root (b), soluble sugar in aerial part (c) and root (d) and starch in aerial part (e) and root (f) of okra plant in chitosan nanoparticle foliar spraying at two concentrations of 0.2 and 0.4 g/liter in the presence of 75 and 150 mM salinity. Values are mean of 4 replicates \pm SE. Identical letters indicate no significant difference at the $p < 0.05$ level using Duncan's test.

کروپلاست‌ها مربوط هست که در فرایند تخریب کلروفیل‌ها نقش دارد، که با نتایج مطالعه حاضر، همخوانی داشت. در مطالعه‌ای که Sen و همکاران (۲۰۲۰) در نهال‌های ماش تحت تنش شوری (۲، ۴، و ۸ دسی زیمنس) با

تدریجی کلروفیل و کاهش شدت فلئورسانس کلروفیل و کاهش رنگدانه‌های جانبی دیگر مانند کاروتنوئید هم دیده می‌شود، که احتمالاً این کاهش در غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی به فعالیت کلروفیل‌ها و یا اختلال در ساختار

مسیرهای پیچیده‌ای را دنبال می‌کند (Robbins and Bean, 2004). آنتوسیانین‌ها به‌عنوان زیرگروهی از فلاونوئیدها، حاوی پاداکسنده، ضد ویروس، ضد باکتری، ضد سرطان و ضد التهاب و بهبود خواص بینایی هستند و گیاهان آن را به‌عنوان سازوکار محافظتی در شرایط تنش شوری تولید می‌کنند. تغییرات آنتوسیانین با برانگیختگی مسیر شیکمیک اسید و تأثیرات تنظیم‌کنندگان رشد ایجاد می‌شود (Falcone Ferreyra et al., 2012). در مطالعه‌ای که به‌منظور تعیین محتوای آنتوسیانین سیانیدین-۳-گلوکوزید و فعالیت پاداکسندگی ارقام برنج تحت تنش شوری (۶۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) انجام شده است، نتایج نشان داد که آنتوسیانین به‌عنوان تعدیل‌کننده تنش شوری است و نقش مهمی در جلوگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش نمکی در برگ‌های تقریباً همه واریته‌های برنج به جز BC2F7#62-56 (مقاوم به شوری) ایفا کرده است و با نتایج مطالعه حاضر، همخوانی داشت (Daiponmak et al., 2010).

در مطالعه‌ی حاضر، به‌منظور بیان تأثیر مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با روش DPPH از مفهوم IC50 استفاده شد. مقدار IC50 بدست آمده در تیمارها از نمونه کنترل مثبت کمتر بود و هرچه مقدار IC50 کمتر باشد قدرت بازداری عصاره بیشتر است. به‌طور کلی مقدار IC50 با فعالیت ضد رادیکالی عصاره رابطه‌ی عکس دارد. کمترین میزان IC50 در تیمار همزمان نانوذره کیتوزان ۰/۴ گرم برلیتر با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد که نشان دهنده قدرت پاداکسندگی بیشتر نمونه نسبت به نمونه کنترل مثبت بود. در مطالعه‌ای که بر روی گیاهی از تیره گل‌داران بنام کتان‌کش (*Camelina sativa*) تحت تأثیر نانوذرات روی در غلظت‌های (۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) و تنش شوری در غلظت‌های (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) انجام شد، مشخص شد که تنش شوری به‌طور قابل توجهی ترکیبات فنلی کل، آنتوسیانین، کاروتنوئید و درصد مهار رادیکال DPPH در بخش هوایی و ریشه را افزایش داد و در تطابق با نتایج مطالعه حاضر بود. محلول‌پاشی نانوذرات روی تأثیر معنی‌داری بر میزان فلاونوئید در گیاه کتان‌کش

حضور الیستورهای مانند نانوذرات کیتوزان و کیتوزان انجام داده اند، کاهش محتوای کلروفیل برگ با افزایش شوری را مشاهده کردند و نانوذره کیتوزان به رشد بهتر، افزایش محتوای کلروفیل و متابولیسم نهال ماش منجر شد، و نتیجه گرفتند که نانوذره کیتوزان می‌تواند بر تأثیر نامطلوب تنش نمک در نهال‌های ماش غلبه کند و به فعال شدن سازوکارهای دفاعی آن‌ها برای محافظت بهتر در برابر تنش شوری عمل کند و با نتایج پژوهش حاضر، همخوانی داشت. در مطالعه‌ای، گل پرپوش (*Catharanthus roseus*) که تحت تنش ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم همزمان با محلول پاشی ۱ درصد نانوذره کیتوزان بود، رشد گیاه به‌طور قابل توجهی تحت شرایط تنش شوری مختل شد. با این حال، تیمار نانو ذره کیتوزان به طور قابل توجهی این تأثیر را معکوس کرد. به‌طور کلی، نانوذرات کیتوزان کاهش کلروفیل برگ را به تأخیر انداختند و با نتایج پژوهش حاضر، در تطابق بود (Hassan et al., 2021). نتایج مطالعه تأثیر سطوح مختلف شوری (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بر گیاه اسفرزه (*Plantago ovata*) نشان داد که با افزایش شوری رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش می‌یابند (Hatami et al., 2021).

فلاونوئیدها از طریق مسیر فنیل پروپانویید سنتز و فنیل آلانین را به ۴-کومارونیل-CoA تبدیل می‌کنند که در نهایت وارد مسیر بیوسنتز فلاونوئید می‌شود. فلاونوئیدها متابولیت‌های ثانوی هستند و به طور گسترده در گیاهان توزیع شده‌اند. گیاهان با حفظ هموستازی بین مواد شیمیایی گیاهی مانند پلی‌فنل‌ها و ROSها با تنش شوری سازگار می‌شوند. در تنش شوری بالاتر میزان فنل‌ها و فلاونوئید بالاتر است. با افزایش تجمع پلی‌فنل‌ها، از بین بردن رادیکال‌های آزاد و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، موجب کاهش آسیب اکسیداتیو به گیاه می‌شود (Sakamoto and Suzuki, 2019). افزایش فنل‌ها را می‌توان به این واقعیت نسبت داد که سنتز فنولیک‌ها نسبت به فلاونوئیدها پاسخ اولیه در تنش است و بیوسنتز فلاونوئیدها در مقایسه با ترکیبات فنلی که به‌عنوان پیش‌ساز برای بیوسنتز فلاونوئیدها هم هستند،

شرایط تنش شوری بود که ممکن است به دلیل کاهش سنتز نشاسته و یا تجزیه نشاسته به قند محلول برای تنظیم اسمزی باشد. زمانی که تنش شوری و یا خشکی به گیاه وارد می‌شود گیاه سعی می‌کند، فشار اسمزی خود را تنظیم کند تا از خشک شدن سلول‌ها جلوگیری و چروک سلولی خود را حفظ کند. برای حفظ فشار اسمزی، گیاهان سازوکار مناسبی به نام تنظیم اسمزی دارند که با واسطه‌ی اسمولیت‌ها، یعنی آمین‌ها، قندهای محلول (قندهای محلول در تنظیم اسمزی نقش محوری دارند)، پرولین، گلیسین بتائین و غیره انجام می‌شود. این ترکیبات به حفظ تورگوری در گیاهان تحت تنش کمک می‌کنند (Dianat et al., 2016). در مطالعه‌ی روی گیاه دارویی بابونه گاو چشم (*Tanacetum parthenium* L) تحت تنش شوری (۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار) نیز مشاهده شده است که میزان قند محلول با افزایش شوری افزایش، و میزان نشاسته با افزایش غلظت نمک کاهش می‌یابد، که با نتایج پژوهش حاضر، همخوانی داشت (Mallahi et al., 2018). نشاسته یک هموپلیمر گلوکز است که به صورت گرانول‌های جدا از هم در پلاستیدها رسوب می‌کند. این کربوهیدرات اصلی ذخیره سازی در گیاهان است و تا ۹۰ درصد وزن خشک اندام‌های گیاهی را تشکیل می‌دهد. به علت اینکه منبع ۵۰ درصد کالری مصرف شده توسط جمعیت انسانی بوده است، همیشه در تحقیقات مورد توجه قرار گرفته است. اخیراً نشان داده شده است که محرک‌های اصلی بهره‌وری گیاهی، مخزن‌های نشاسته‌ای سنتز شده در بافت‌های فتوسنتزی منبع و یا مخزن‌های غیر ذخیره‌ای است. هر گرانول نشاسته از میلیون‌ها مونومر گلوکز پلیمریزه شده تشکیل شده است. نشاسته امکان ذخیره طولانی مدت تعداد بیشتری از مولکول‌های گلوکز در واحد فضا بدون هیچ گونه اختلال شیمیایی یا اسمزی در سلول را فراهم می‌کند. اگرچه در داخل گرانول پلیمریزه شده است، اما در صورت نیاز می‌توان به سرعت به این مولکول‌های گلوکز برای جلوگیری از گرسنگی دسترسی پیدا کرد (Dong and Beckles, 2019).

نشان نداد اما باعث افزایش ظرفیت مهار رادیکال DPPH در بخش هوایی و ریشه شد (Hezaveh et al., 2020). در مطالعه‌ی تأثیر کیتوزان (۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و هورمون سالیسیلیک اسید (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر روی گیاه گلرنگ تحت تنش شوری (۱/۵ درصد (w/v) کلرید سدیم) بررسی و نشان داده شد که محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول کل، آنتوسیانین و فعالیت پاداکسندگی (با روش ۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH))، به‌طور قابل توجهی تحت تنش شوری افزایش یافت و با نتایج مطالعه حاضر، همخوانی داشت (Golkar et al., 2019). در مطالعه‌ی که به‌منظور ارزیابی تأثیر نانو تیتانیوم اکسید در غلظت‌های (۴۰، ۶۰ و ۸۰ ppm) بر گیاه ذرت تحت تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار انجام شد، نشان داد که تیمار با نانوذره تیتانیوم اکسید غلظت ۶۰ ppm موجب افزایش قابل توجهی در محتوای فنل کل و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید در بافت برگ شد و با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (Shah et al., 2021). در مطالعه حاضر، تحت تنش شوری به‌طور قابل توجهی میزان فلاونوئیدها و فنل کل افزایش یافت، نتایج مشابهی در برخی از شورزیست‌ها مانند گیاه مسواک (*Salvadora persica*) بود که در شرایط تنش افزایش ترکیبات فنلی کل، کربوهیدرات‌های محلول و درصد مهار DPPH را نسبت به شاهد نشان داد و با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (Sharma and Ramawat, 2013). سازگاری کارآمد برای تنش شوری می‌تواند افزایش فعالسازی پاداکسندوها و حذف ROSها باشد. DPPH به‌طور گسترده معرف مفیدی برای ارزیابی مهار رادیکال‌های آزاد ترکیبات فنلی است (Akkol et al., 2008). تأثیر مهار رادیکال DPPH معیاری برای فعالیت پاداکسندگی غیرآنزیمی است. فعالسازی بیشتر سازوکارهای مهار رادیکال DPPH در گیاهان پنبه (Xie et al., 2008) و گلرنگ (Salem et al., 2014) تحت تنش شوری گزارش شده است. کربوهیدرات‌ها ترکیبات مهمی هستند که در این تحقیق بررسی شدند، کاهش محتوای نشاسته همزمان با افزایش سطح قند محلول در

سلولی آسیب می‌رساند که در نهایت باعث مرگ سلولی می‌شود و تولید مالون‌دی‌آلدئید که محصول اسیدهای چرب غیر اشباع غشایی است به واسطه وجود تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد (Ali et al., 2014). در گیاهان تیمار شده با نانوذره‌ی کیتوزان، عملکرد غشا بهتر حفظ می‌شود و احتمالاً در تایید نتایج Xie و همکاران (۲۰۰۱) این نانوذره‌ها به عنوان پاداکسنده عمل می‌کنند. در گیاه *Catharanthus roseus* کاربرد نانوذره کیتوزان موجب کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید و در نتیجه حفظ یکپارچگی غشا شده است که با نتیجه کسب شده در این مطالعه همخوانی داشت (Hassan et al., 2021). فعالیت پاداکسندگی کیتوزان عمدتاً به دلیل گروه آمینه هیدروکسیله آن است که آن را به یک پاک کننده موثر ROSها تبدیل می‌کند.

در مطالعه‌ی انجام شده بر روی گیاه کتان (*Linum usitatissimum*) تحت تنش شوری در غلظت‌های ۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار، نتایج نشان داد که محتوای فنل‌کل و فلاونوئید در تنش شوری افزایش یافت، درصد مهار رادیکال DPPH و محتوای مالون‌دی‌آلدئید هم در حضور نمک افزایش را نشان داد، که تأییدی بر نتایج به‌دست آمده در این مطالعه است (Amraee and Abdollahi, 2019). در تحقیقی که بر روی گندم و ذرت تحت شوری با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار و تیمار کیتوزان در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد انجام شده است، داده‌ها نشان داد که تنش شوری باعث پراکسیداسیون لیپیدی و تجمع مالون‌دی‌آلدئید در بخش هوایی و ریشه شد درحالی‌که در حضور کیتوزان کاهش یافت که با نتایج پژوهش حاضر، تطابق دارد (Peykani and Sepehr, 2018).

نتیجه‌گیری

نانوذرات کیتوزان را می‌توان به‌صورت محلول‌پاشی و کاربرد بر روی خاک استفاده کرد. فناوری نانو (ذراتی با قطر کمتر از ۱۰۰ نانومتر)، در بخش کشاورزی و مدیریت تنش‌های محیطی یک چشم انداز امید را ایجاد کرده است. محلول‌پاشی نانوذرات کیتوزان بر گیاه بامیه می‌تواند نقش اصلی در مهار تنش

از آنجایی‌که نشاسته به عنوان یک ذخیره کربن و انرژی در بسیاری از گیاهان تکامل یافته است، منطقی به نظر می‌رسد که در طول دوره های تنش محیطی، زمانی که جذب کربوهیدرات‌ها به خطر می‌افتد، متابولیسم نشاسته می‌تواند در برابر تأثیرات نامطلوب کاهش کربن ناشی از تنش، محافظت کند (Krasavina et al., 2014). تنظیم متابولیسم نشاسته ناشی از القای تنش می‌تواند موجب افزایش قند سلولی شود یا اینکه موجب تجمع بیشتر نشاسته شود. زمانی‌که گیاه تحت تنش محیطی است، قند تجمع می‌یابد و غلظت‌های بالای قند به دلیل محافظت اسمزی قند مفید است. تبدیل نشاسته به قند ممکن است برای ترویج تجمع قند به قند تسریع شود و کمبود قند را به تأخیر اندازد، اما سیستم‌های بازخورد ممکن است باعث افزایش جریان قند به سمت نشاسته شوند تا وقوع "آسیب قند" را به تعویق بیندازند. تخریب نشاسته ناشی از تنش، شارش کربن را از مخزن هگزور فسفات افزایش می‌دهد. تبدیل بخشی از قندها به نشاسته می‌تواند اختلالات فیزیولوژیک قندهای اضافی در برگ منبع را به حداقل برساند (Dong and Beckles, 2019).

در مطالعه‌ای که تأثیر تنش شوری در غلظت‌های (۱۵۰، ۱۰۰، ۵۰، ۰ میلی‌مولار) بر برگ و ریشه دو رقم پسته (*Pistacia vera* L) انجام شد، مشخص شد که شوری باعث کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش قند محلول در برگ و ریشه شده است، که با نتایج مطالعه حاضر، همخوانی داشت (Rahneshan et al., 2018). نتایج پژوهشی که نهال برنج را تحت شوری ۲۰۰ میلی‌مولار بررسی کرده بود نشان داد که میزان قند محلول بخش هوایی به طور معنی‌داری افزایش، و محتوای نشاسته ریشه کاهش پیدا کرد و با نتایج مطالعه کنونی در تطابق است (Amirjani, 2011).

افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید در پاسخ به تنش‌های محیطی یک پاسخ رایج است و محتوای مالون‌دی‌آلدئید بالاتر نشان دهنده پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای سلولی است و ناپایداری اندامک‌های سلولی را نشان می‌دهد (Sehgal et al., 2018). تولید بیش از حد ROSها در شرایط تنش، به ماکرومولکول‌های

وجود گروه‌های آمین و هیدروکسیل آن نسبت داد که به راحتی در واکنش‌های شیمیایی در دسترس است و باعث بهبود تنش نمکی و افزایش بهره‌وری محصولات زراعی می‌شوند.

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند که از خانم دکتر ندا فرناد، و معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه به‌خاطر حمایت‌های مالی این پژوهش، تشکر و قدردانی نمایند.

References

- Akkol, E. K., Goger, F., Kosar, M. and Baser, K. H. C. (2008) Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chemistry* 108(3): 942-949.
- Ali, E. F., Bazaid, S. A. and Hassan, F. A. S. (2014) Salinity tolerance of *Taif roses* by gibberellic acid (GA3). *International Journal of Science and Research* 3(11): 184-192.
- Amirjani, M. R. (2011) Effect of salinity stress on growth, sugar content, pigments and enzyme activity of rice. *International Journal of Botany* 7(1): 73-81.
- Amraee, L. and Abdollahi, B. (2019) Effects of NaCl on some physiological and biochemical responses in two cultivars of *L. usitatissimum*. *Journal of Plant Process and Function* 7(28): 25-34.
- Balusamy, S. R., Rahimi, S., Sukweenadhi, J., Sunderraj, S., Shanmugam, R., Thangavelu, L., Mijakovic, I. and Perumalsamy, H. (2022) Chitosan, chitosan nanoparticles and modified chitosan biomaterials, a potential tool to combat salinity stress in
- اکسیداتیو ناشی از تنش نمکی داشته باشد. در مطالعه حاضر، تیمار نانوذرات کیتوزان محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، آنتوسیانین‌ها، فنل و فلاونوئید را افزایش داد و موجب کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید شد که باعث حفظ عملکرد غشا و افزایش تحمل در برابر تنش شوری شد. نانوذرات کیتوزان را می‌توان به‌عنوان نامزد مناسبی برای تخفیف تأثیرات نامطلوب تنش شوری بر گیاهان معرفی کرد که می‌توان این خاصیت را به plants. *Carbohydrate Polymers* 284:119-189.
- Burits, M. and Bucar, F. (2000) Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14(5): 323-328.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10(3): 178-182.
- Daiponmak, W., Theerakulpisut, P., Thanonkao, P., Vanavichit, A. and Prathepha, P. (2010) Changes of anthocyanin cyanidin-3-glucoside content and antioxidant activity in *Thai rice* varieties under salinity stress. *Science Asia* 36: 286-291.
- Dianat, M., Saharkhiz, M. J. and Tavassolian, I. (2016) Salicylic acid mitigates drought stress in *Lippia citriodora* L.: Effects on biochemical traits and essential oil yield. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 8: 286-293.
- Dong, S. and Beckles, D. M. (2019) Dynamic changes in the starch-sugar interconversion within plant source and sink tissues promote a better abiotic stress response. *Journal of Plant Physiology* 234: 80-93.

- Dubios, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Roberts, P. A. and Smit, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- Eskandari, H. and Alizadeh Amraei, A. (2017) Evaluation of the effect of drought on germination, growth, and fruit yield of okra (*Abelmoschus esculentus*). *Water Research in Agriculture* 31(3): 377-388 (in Persian).
- Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S. P. and Casati, P. (2012) Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science* 3: (222):1-15.
- Fulcki, T. and Francis, F. J. (1968) Quantitative method for anthocyanins extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *Journal of Food Science* 33: 72-77.
- Golkar, P., Taghizadeh, M. and Yousefian, Z. (2019) The effects of chitosan and salicylic acid on elicitation of secondary metabolites and antioxidant activity of safflower under *in vitro* salinity stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 137(3): 575-585.
- Hassan, F. A. S., Ali, E., Gaber, A., Fetouh, M. I. and Mazrou, R. (2021) Chitosan nanoparticles effectively combat salinity stress by enhancing antioxidant activity and alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* (L.). *Plant Physiology and Biochemistry* 162: 291-300.
- Hatami, E., Einali, A., Raissi, A. and Piri, H. (2021) Pretreatment of psyllium (*Plantago ovata*) seeds with salicylic acid and physiological and biochemical responses of seedlings to salinity stress. *Iranian Journal of Plant Biology* 13(3): 21-42 (in Persian).
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125(1): 189-198.
- Hezaveh, T. A., Rahmani, F., Alipour, H. and Pourakbar, L. (2020) Effects of foliar application of ZnO nanoparticles on secondary metabolite and micro-elements of camelina (*Camelina sativa* L.) under salinity stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 16(4): 54-69.
- Iqbal, S., Parveen, N., Bahadur, S., Ahmad, T., Shuaib, M., Nizamani, M. M., Urooj, Z. and Rubab, S. (2020) Paclobutrazol mediated changes in growth and physio-biochemical traits of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) grown under drought stress. *Gene Reports* 21: 1-9.
- Kargar Khorrami, S., Jamei, R. and Hosseini Sarghin, S. (2013) Changes in physiological anatomical and parameters of okra (*Hibiscus esculentus* L.) under different ultraviolet radiation. *Iranian Journal of Plant Biology* 5(16):13-26 (in Persian).
- Kargar Khorrami, S., Jamei, R., Darvishzadeh, R. and Hosseini Sarghin, S. (2020) Effect of salinity stress on hormones of auxin, gibberellin, physiological, morphological and anatomical characteristics of *Hibiscus esculentus* L. *Iranian Journal of*

- Plant Biology 11(4):67-82 (in Persian).
- Krasavina, M. S., Burmistrova, N. A. and Raldugina, G. N. (2014) The role of carbohydrates in plant resistance to abiotic stresses. In emerging technologies and management of crop stress tolerance. Academic Press, Biological Techniques 1: 229-270.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In methods in enzymology. Academic Press 148: 350-382.
- Magne, C., Saladin, G. and Clement, C. (2006) Transient effect of the herbicide flazasulfuron on carbohydrate physiology in *Vitis vinifera* L. Chemosphere 62(4): 650-657.
- Mallahi, T., Saharkhiz, M. J. and Javanmardi, J. (2018) Salicylic acid changes morphophysiological attributes of feverfew (*Tanacetum parthenium* L.) under salinity stress. Acta Ecologica Sinica 38(5): 351-355.
- Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M. (2005) Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy 40: 255-260.
- Mosavikia, A. A., Mosavi, S. G., Seghatoleslami, M. and Baradaran, R. (2020) Chitosan nanoparticle and pyridoxine seed priming improves tolerance to salinity in milk thistle seedling. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 48(1): 221-233.
- Oliveira, H. C., Gomes, B. C., Pelegrino, M. T. and Seabra, A. B. (2016) Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. Nitric Oxide 61: 10-19.
- Peykani, L. S. and Sepehr, M. F. (2018) Effect of chitosan on antioxidant enzyme activity, proline, and malondialdehyde content in *Triticum aestivum* L. and *Zea maize* L. under salt stress condition. Iranian Journal of Plant Physiology 9: 2661-2670.
- Rahnesan, Z., Nasibi, F., and Moghadam, A. A. (2018) Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. Journal of Plant Interactions 13(1): 73-82.
- Robbins, R. J. and Bean, S. R. (2004) Development of a quantitative high-performance liquid chromatography–photodiode array detection measurement system for phenolic acids. Journal of Chromatography A 1038(2): 97-105.
- Saha, P., Chatterjee, P. and Biswas, A. K. (2010) NaCl pretreatment alleviates salt stress by enhancement of antioxidant defense system and osmolyte accumulation in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). Indian Journal of Experimental Biology 48(6): 593-600.
- Sakamoto, M. and Suzuki, T. (2019) Methyl jasmonate and salinity increase anthocyanin accumulation in radish sprouts. Horticulturae 5(3): 62-75.
- Salehi Salmi, M. R. and Daneshvar, M. H. (2016) Biochemical study of

- vegetative and reproductive Growth of two okra cultivars under salinity stress. *Journal of Vegetables Sciences* 2(1): 13-24 (in Persian).
- Salem, N., Msaada, K., Dhifi, W., Limam, F. and Marzouk, B. (2014) Effect of salinity on plant growth and biological activities of *Carthamus tinctorius* L. extracts at two flowering stages. *Acta Physiologiae Plantarum* 36(2): 433-445.
- Sathiyabama, M. and Manikandan, A. (2016) Chitosan nanoparticle induced defense responses in finger millet plants against blast disease caused by *Pyricularia grisea* (Cke.) Sacc. *Carbohydrate polymers* 154: 241-246.
- Sehgal, A., Sita, K., Siddique, K. H., Kumar, R., Bhogireddy, S., Varshney, R. K., Hanumantha Rao, B., Nair, R. M., Prasad, P. V. and Nayyar, H. (2018) Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. *Frontiers in Plant Science* 9: 1-19.
- Sen, S. K. and Mandal, P. (2016) Solid matrix priming with chitosan enhances seed germination and seedling invigoration in mung bean under salinity stress. *Journal of Central European Agriculture* 17 (3): 749-762.
- Sen, S. K., Chouhan, D., Das, D., Ghosh, R. and Mandal, P. (2020) Improvisation of salinity stress response in mung bean through solid matrix priming with normal and nano-sized chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* 145: 108-123.
- Shah, T., Latif, S., Saeed, F., Ali, I., Ullah, S., Alsahli, A. A., Jan, S. and Ahmad, P. (2021) Seed priming with titanium dioxide nanoparticles enhances seed vigor, leaf water status, and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. *Journal of King Saud University-Science* 33(1): 1-8.
- Sharma, V. and Ramawat, K. G. (2013) Salinity-induced modulation of growth and antioxidant activity in the callus cultures of miswak (*Salvadora persica*). *Biotechnology* 3(1): 11-17.
- Sheikhalipour, M., Esmailpour, B., Behnamian, M., Gohari, G., Giglou, M. T., Vachova, P., Rastogi, A., Brestic, M. and Skalicky, M. (2021) Chitosan-selenium nanoparticle (Cs-Se NP) foliar spray alleviates salt stress in bitter melon. *Nanomaterials* 11(3): 684-706.
- Ullah, N., Basit, A., Ahmad, I., Ullah, I., Shah, S. T., Mohamed, H. I. and Javed, S. (2020) Mitigation the adverse effect of salinity stress on the performance of the tomato crop by exogenous application of chitosan. *Bulletin of the National Research Centre* 44(1): 1-11.
- Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y., Deng, X. P. and Kwak, S. S. (2009) Analysis of antioxidant enzymes activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47(7): 570-577.
- Xie, W., Xu, P., and Liu, Q. (2001) Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. *Bioorganic and Medicinal*

Chemistry Letters 11(13): 1699-1701.

Xie, Z., Duan, L., Tian, X., Wang, B., Eneji, A. E. and Li, Z. (2008) Coronatine alleviates salinity stress in cotton by improving the antioxidative defense system and radical-scavenging activity. *Journal of Plant Physiology* 165(4): 375-384.

Zayed, M. M., Elkafafi, S. H., Zedan, A. M. and Dawoud, S. F. (2017) Effect of nano chitosan on growth, physiological and biochemical parameters of *Phaseolus vulgaris* under salt stress. *Journal of Plant Production* 8(5): 577-585.