

اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره، اسیدهیومیک و تنش خشکی بر جوانه‌زنی بذر و برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک دانهرست کینوا رقم Titicaca

معصومه عامریان^{۱*}، محمود خرمی‌وفا^۲ و برکت الله ربانی^۳

۱. استادیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
 ۲. دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
 ۳. دانشجوی دکتری، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
- (تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۲)

چکیده

تنش‌های محیطی به‌ویژه خشکی، از مهم‌ترین عوامل کاهش رشد در مراحل رشد و نمو گیاه خصوصاً مرحله جوانه‌زنی گیاه می‌باشد. در نتیجه در این پژوهش اثر نانوذرات نقره و اسیدهیومیک بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک دانهرست کینوا تحت تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی گروه مهندسی تولید و ژنتیک دانشگاه رازی در سال ۱۴۰۰ اجرا گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل سه سطح نانوذره نقره (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره)، سه سطح اسیدهیومیک (صفر، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و سه سطح تنش خشکی (صفر، ۶- و ۱۲- بار) بود. طبق نتایج به‌دست آمده، اثر متقابل بین نانوذرات نقره و اسیدهیومیک منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی بذر، قدرت بذر، طول گیاهچه، ساقچه و ریشه‌چه دانهرست کینوا گردیده است. تحت شرایط تنش خشکی بیشترین میزان شاخص طولی بینه‌ی بذر و سرعت جوانه‌زنی بذر در بالاترین سطح نانوذره نقره و اسیدهیومیک مشاهده گردید که نشان‌دهنده‌ی تأثیر مثبت نانوذرات نقره و اسیدهیومیک بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص طولی بینه‌ی بذر کینوا است. برخلاف نانوذرات نقره و اسیدهیومیک تنش خشکی منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی و خصوصیات رشدی دانهرست کینوا شد. کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنش خشکی سبب کاهش فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی بذر می‌شود. نانوذرات می‌توانند به دیواره سلولی نفوذ کنند و منافذ جدیدی را برای نفوذ آب در پوسته بذر ایجاد کنند و به این ترتیب سرعت جوانه‌زنی را افزایش دهند. با افزایش غلظت نانوذرات نقره و اسیدهیومیک میزان پرولین، قندهای محلول، قند کل، فلاونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش خشکی افزایش نشان داد که بیانگر نقش مثبت نانوذرات نقره و اسیدهیومیک برای افزایش تحمل به خشکی در گیاه کینوا است. در نتیجه کاربرد اسیدهیومیک در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر همراه با ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره برای بهبود جوانه‌زنی و رشد دانهرست کینوا تحت شرایط تنش خشکی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: درصد جوانه‌زنی، پلی‌اتیلن گلیکول، پرولین، آنزیم کاتالاز، میکروسکوپ الکترونی

Effect of Different Levels of Silver Nanoparticles, Humic Acid and Drought Stress on Seed Germination and Some Morphophysiological Characteristics of Quinoa Seedlings of Titicaca Cultivar

M. Amerian^{1*}, M. Khorami Vafa² and B.A. Rabani³

1. Assistant Professor, Plant Production and Genetics Department, Faculty of Science and Agriculture Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran
2. Associate Professor, Plant Production and Genetics Department, Faculty of Science and Agriculture Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran
3. Ph.D student, Plant Production and Genetics Department, Faculty of Science and Agriculture Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran

(Received: Apr. 09, 2022 – Accepted: Aug. 13, 2022)

Abstract

Environmental stresses, especially drought, are one of the most important factors in reducing growth in plant growth and development stages, especially the germination stage of the plant. As a result, in this study, the effect of silver nanoparticles and humic acid on some morphological characteristics of quinoa seedlings under drought stress was investigated. The experiment was performed as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications in Physiology Laboratory Department of Production Engineering and Plant Genetics, Razi University in 2021. The experiment consisted of three levels of silver nanoparticles (0, 10 and 20 mg L⁻¹ AgNPs), three levels of humic acid (0, 100 and 300 mg L⁻¹) and three levels of drought stress (0, -6 and -12 bar). In this study, Titicaca cultivar was used. According to the results, the interaction between AgNPs and humic acid led to an increase in germination percentage, seed germination rate, seed vigor length index, seedling length, stem and root of quinoa seedlings. Under drought stress conditions highest amount of seed vigor length index and seed germination rate were observed in the highest level of AgNPs and humic acid, which indicates the positive effect of AgNPs and humic acid on germination percentage, germination rate and quinoa seed vigor. According to the obtained results, drought stress led to a decrease in germination percentage and growth characteristics of quinoa seeds. AgNPs and humic acid had a positive effect on germination and growth characteristics of quinoa seedlings under drought stress conditions compared to control treatment. Decreased water uptake by seed under drought stress reduces the physiological and metabolic processes of the seed. Nanoparticles can penetrate the cell wall and create new pores for water to penetrate the seed coat, thus increasing germination rate. With increasing the concentration of AgNPs and humic acid, the amount of proline, soluble sugars, total phenol, flavonoids and catalase activity under drought stress increased, indicating the positive role of AgNPs and humic acid to increase drought tolerance in quinoa. Therefore, the use of humic acid at a concentration of 300 mg L⁻¹ along with 20 mg L⁻¹ AgNPs is recommended to improve germination and seed growth of quinoa under drought stress conditions.

Keywords: Proline, Enzyme catalase, Germination percentage, Polyethylene glycol, Electron microscope

* Email: masoomehamerian@yahoo.com

مقدمه

کینوا (*Chenopodium quinoa*) از تیره‌ی Amaranthaceae و زیر خانواده‌ی Chenopodiaceae، گیاهی یک‌ساله است که معمولاً به منظور محصول دانه‌ای کشت می‌شود ولی از برگ‌های جوان آن به عنوان سبزی تازه و یا پخته نیز استفاده می‌شود (Shi and Gu, 2020). در ایران کشت کینوا به دلیل افزایش علاقه، توسعه بازار و پژوهش‌ها گسترش یافته است. کینوا به دلیل داشتن پروتئین گیاهی با کیفیت بالا کاندیدای امیدوارکننده برای افزایش تولید مواد غذایی در جهان است. این گیاه بومی کوه‌های آند در بولیوی، شیلی و پرو است و به طور گسترده‌ای پذیرفته شده و مهم‌ترین تولیدکنندگان این گیاه بولیوی، پرو و اکوادور هستند. به دلیل تحمل به تنش‌های غیرزیستی کینوا یکی از با ارزش‌ترین و مغذی‌ترین محصولات غذایی در حال حاضر شناخته شده است (Dashab and Omid, 2021).

تنش‌های غیرزنده یکی از دلایل اصلی از بین رفتن گیاه است که عملکرد گیاه را بیش از ۵۰٪ در سراسر جهان کاهش می‌دهد. در میان بسیاری از مهم‌ترین محصولات، کینوا برای رشد در شرایط خشک و شور مناسب است (Manaa et al., 2021). در مناطق خشک و نیمه‌خشک، تنش‌های غیرزنده مانند تنش خشکی و شوری به دلیل رطوبت ناکافی لازم برای جوانه‌زنی در لایه‌های سطح خاک، در صد و سرعت جوانه‌زنی را به طور مؤثری کاهش می‌دهد. سرانجام، این امر منجر به استقرار ضعیف گیاهچه در این مناطق می‌شود (Yañez-Yazlle et al., 2021). تجمع بیش از حد انواع اکسیژن فعال در شرایط تنش خشکی منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود که با آسیب به اندامک‌های داخل سلول همراه است. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز، آسکوربات پراکسیداز و...) و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی (گلوتاتیون، ...) به طور مؤثری تجمع

انواع فعال اکسیژن را کاهش می‌دهند. علاوه بر این تجمع اسمولیت‌های سازگار در شرایط تنش خشکی از آسیب‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند. قندهای محلول، پرولین و پروتئین‌ها رایج‌ترین اسمولیت‌هایی هستند که در سطح سلولی با کاهش نفوذپذیری غشا، تعادل آب گیاهان را تحت تنش خشکی حفظ می‌کنند (Altaf et al., 2022). در گونه‌های شیرین بیان (*licorice*) تنش خشکی منجر به کاهش خصوصیات رشدی شده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش نشان داد (Hun et al., 2022). اصلاح محصولات برای تحمل به خشکی همیشه با چالش‌هایی روبرو بوده است (Karimi Afshar et al., 2021). بنابراین، نیاز مستمر به توسعه روش‌های جدید برای کاهش اثرات مضر این تنش‌ها بر گیاهان وجود دارد. اسیدهیومیک به عنوان یک اسید آلی حاصل از هوموس و دیگر منابع طبیعی بدون اثرات مخرب زیست‌محیطی برای بهبود رشد و عملکرد گیاهان به ویژه در شرایط تنش‌های محیطی مؤثر می‌باشد (Arslan et al., 2021). اسیدهیومیک به دلیل داشتن اثرات هورمونی و با تأثیر بر متابولیسم‌های گیاه و با کلات کردن (پوشش دار کردن عناصر غذایی با مواد آلی) عناصر غذایی و افزایش جذب آن‌ها رشد گیاه را تحریک می‌کند و منجر به افزایش مقاومت گیاهان به تنش خشکی به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌شود. در شرایط تنش خشکی اسیدهیومیک رشد ریشه را تحریک کرده و جذب آب افزایش می‌یابد (Chen et al., 2021). اسید هیومیک با تنظیم اسمزی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش رشد دانه‌رست‌های ارزن (*Setaria italica*) تحت شرایط تنش خشکی شده است (Shen et al., 2022). در سال‌های اخیر، فناوری نانو مورد توجه پژوهشگران در زمینه‌های مختلف قرار گرفته است (Nejatzadeh, 2021). نانوذرات به دلیل اندازه کوچکی دارند دارای ویژگی‌های متفاوتی نسبت به نمونه‌های بالک خود هستند (Nejatzadeh, 2021). نانوذرات حلالیت، سطح و واکنش پذیری بیشتری دارند (Nejatzadeh, 2021).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه کینوا تحت شرایط تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی در سال ۱۴۰۰ اجرا گردید. آزمایش شامل سه سطح نانوذره نقره (برند ARMINANO) (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات نقره)، سه سطح اسیدهیومیک (برند پلنت چویس) (صفر، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر) و سه سطح تنش خشکی (صفر، ۶- و ۱۲- بار) بود. در این پژوهش از رقم Titicaca استفاده شد که از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. زمان بذرگیری کینوا سال قبل بوده است یعنی سال ۱۳۹۹ و منشا رقم Titicaca دانمارک می‌باشد. برای هر واحد آزمایشی (پتری دیش)، ۲۵ عدد بذر یکنواخت انتخاب گردیده و ضدعفونی شدند. ابتدا بذرهای جهت ضدعفونی در الکل ۷۰ درصد به مدت ۵ دقیقه و بعد از آن در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت یک دقیقه قرار داده شده و در آخر با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس بذرهای داخل پتری دیش‌های به قطر ۹ سانتی‌متر حاوی یک عدد کاغذ واتمن شماره یک گذاشته شد و هر پتری به عنوان یک تکرار از تیمارهای مورد آزمایش در نظر گرفته شد. در هر یک از پتری‌ها با توجه به آزمایش مورد نظر به میزان ۶ سی‌سی از محلول تیمارها شامل نانوذره نقره، اسیدهیومیک و پلی اتیلن گلاکول ۶۰۰۰ اضافه شد. به طوری که بذرهای محلول غوطه‌ور نبوده و سپس پتری دیش‌ها در ژرمناتور به مدت ۱۴ روز با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۰ درصد قرار داده شد (Gholami et al., 2022). جهت ارزیابی اثر تیمارهای آزمایشی روزانه (هر ۲۴ ساعت) تعداد بذرهای جوانه‌زده به صورت جمععی شمارش شد. معیار جوانه بذر خروج ریشه‌چه به طول تقریبی سه میلی‌متر بود. در پایان روز ۱۴ اندازه‌گیری صفات درصد جوانه‌زنی، میانگین جوانه‌زنی روزانه،

نانوذرات در غلظت‌های خاص به دلیل تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن ممکن است اثرات سمی زیادی روی گیاهان داشته باشند (Banan et al., 2020). بنابراین، در گیاهان مطالعات بیشتری در سطح سلولی و مولکولی برای تعیین اثرات منفی و مثبت نانوذرات در شرایط تنش لازم است (Banan et al., 2020). طبق پژوهش‌های انجام شده، دانه‌رست‌ها پاسخ‌های فیزیولوژیکی متفاوتی به نانوذرات در حین جوانه‌زنی نشان می‌دهند و نیز واکنش ریشه‌چه و ساقه‌چه به نانوذرات متفاوت است و نیز نانوذرات اثرات منفی و مثبتی بر جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست دارند (Nejatzadeh, 2021). نانوذرات نقره (AgNPs) یکی از پرکاربردترین نانوذرات است که به طور فزاینده‌ای به دلیل خواص ضد میکروبی آن استفاده می‌شود. چراکه نانوذرات نقره ممکن است با مهار انتخابی قارچ‌ها و باکتری‌های مضر روی بذرهای کاربردهای قابل توجهی در کشاورزی و باغبانی داشته باشند و می‌توانند به عنوان منبع جایگزینی برای کود باشند که ممکن است کشاورزی پایدار را بهبود بخشد (Parveen and Rao, 2015). بنابراین، بذرهای تیمار شده با نانو را می‌توان برای کاهش اثرات زیست‌محیطی قارچ کش‌های شیمیایی و کاهش هزینه‌های تولید کشاورزی مورد استفاده قرار داد (Parveen and Rao, 2015). در کلم چینی (*Chinese cabbage*) نانوذرات نقره منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی و رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه شدند (Zhou et al., 2022). لذا با توجه به اهمیت بالای کینوا در امنیت غذایی و نیز تأثیر نانوذرات نقره و اسیدهیومیک بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه تحت شرایط تنش، به خصوص تنش خشکی و نیز وسعت روبه افزایش اراضی خشک این پژوهش با هدف بررسی اثر نانوذرات نقره و اسیدهیومیک بر جوانه‌زنی بذر و برخی خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دانه‌رست کینوا تحت شرایط تنش خشکی انجام شده است که در صورت مؤثر بودن در مزرعه پیشنهاد شود.

باشد سرعت جوانه‌زنی بالاتر می‌باشد. این شاخص عکس میانگین جوانه‌زنی روزانه می‌باشد (Pagter *et al.*, 2009).

$$\text{CVG} = 1 / \text{MTG} \quad \text{رابطه ۵}$$

CVG: ضریب سرعت جوانه‌زنی شاخص مشخصه سرعت و شتاب جوانه‌زنی بذرها می‌باشد این شاخص عکس میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی می‌باشد (Ranal and Santana, 2006).

$$\text{SVI} = \quad \text{رابطه ۶}$$

درصد جوانه‌زنی نهایی × (میانگین طول ساقه‌چه + میانگین طول ریشه‌چه)

SVI: شاخص طولی بنیه‌ی بذر می‌باشد که بیان‌کننده میزان جوانه‌زنی بذور و کیفیت گیاهچه‌های تولیدی به صورت هم‌زمان است (Abdul-Baki and Anderson, 1973).

برای اندازه‌گیری پرولین، نیم گرم از بافت تازه گیاهچه داخل هاون قرار داده و پس از کوبیدن ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ اضافه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ ۶۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. دو میلی‌لیتر از عصاره رویی نمونه‌ها جدا شد و به آن‌ها ۲ میلی‌لیتر اسید نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار داده شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها ۴ میلی‌لیتر تولوئن به آن‌ها اضافه گردید و به مدت ۲۰ ثانیه در دستگاه ورتکس بهم زده شدند (Bates, 1973). برای سنجش قندهای محلول ابتدا به ۰/۵ گرم از بافت تازه گیاهچه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه گردید و در داخل هاون به طور کامل سائیده شد. سپس به ۰/۱ از عصاره الکی ۳ میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از سرد شدن نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (Irigoyen *et al.*, 1992).

میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی، شاخص سرعت جوانه‌زنی، سرعت ضریب جوانه و شاخص طولی بنیه‌ی بذر و نیز صفات فیزیولوژیکی شامل پرولین، قندهای محلول، فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنیزم کاتالاز اندازه‌گیری شد و در پایان آزمایش صفات طول گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه و نیز وزن تر و خشک گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه به وسیله ترازوی دیجیتالی (JMicoVision) با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند. جهت اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. شاخص طولی بنیه‌ی بذر از مجموع طول ریشه‌چه و ساقه‌چه ضرب در درصد جوانه‌زنی محاسبه شد. با توجه به رابطه‌های ذیل سایر صفات اندازه‌گیری و محاسبه شدند.

$$\text{GP} = \text{GN} / \text{NT} \times 100 \quad \text{رابطه ۱}$$

GP درصد جوانه‌زنی، GN تعداد بذرها و جوانه‌زده و NT تعداد کل بذرها بود (Liopa-Tsakalidi *et al.*, 2012).

$$\text{MTG} = \sum (n_i d_i) / n_i \quad \text{رابطه ۲}$$

MTG: میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی، d_i تعداد روز پس از کاشت، n_i تعداد بذور جوانه‌زده در روز d_i و $\sum n_i$ کل تعداد بذور جوانه‌زده می‌باشد (Ranal and Santana, 2006).

$$\text{MDG} = \quad \text{رابطه ۳}$$

Germination percentage / The length of the test period

MDG: میانگین جوانه‌زنی روزانه شاخص از سرعت جوانه‌زنی روزانه می‌باشد (Hunter *et al.*, 1984).

$$\text{DGS} = 1 / \text{MDG} \quad \text{رابطه ۴}$$

DGS: سرعت جوانه‌زنی روزانه شاخص بیان‌کننده مدت زمان لازم برای جوانه‌زنی تک بذر است و هر چه کمتر

آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی دانشگاه صنعتی شاهرود منتقل شدند. نمونه‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی اثر میدانی (FESEM) (Zeiss) کشور آلمان مدل HV-300 (Sigma) مشاهده و عکس برداری با بزرگنمایی‌های مختلف صورت گرفت.

تجزیه آماری

داده‌های به دست آمده توسط نرم افزار آماری (۹/۱) SAS تجزیه شدند و مقایسه میانگین تیمارها بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد محاسبه شد.

نتایج

طبق نتایج تجزیه واریانس، نانوذرات نقره اثر معنی داری بر درصد جوانه زنی و شاخص های جوانه زنی نداشتند (جدول ۱). اسیدهیومیک اثر معنی داری در سطح احتمال پنج درصد بر درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، ضریب سرعت جوانه زنی، میانگین جوانه زنی روزانه و میانگین زمان لازم جوانه زنی به جزء شاخص طولی بنیه‌ی بذر داشت. تنش خشکی اثر معنی داری بر درصد جوانه زنی بذر، میانگین زمان جوانه زنی (سطح احتمال یک درصد)، سرعت جوانه زنی، ضریب سرعت جوانه زنی و میانگین جوانه زنی روزانه (سطح احتمال پنج درصد) نشان داد. اثر متقابل بین نانوذرات نقره × اسیدهیومیک و نیز اسیدهیومیک × تنش خشکی اثر معنی داری (در سطح احتمال یک درصد) بر درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، میانگین زمان لازم جوانه زنی و شاخص طولی بنیه‌ی بذر داشتند (جدول ۱). نانوذرات نقره × تنش خشکی اثر معنی داری در سطح احتمال پنج درصد بر درصد جوانه زنی و شاخص های جوانه زنی به جزء شاخص طولی بنیه‌ی بذر نشان دادند. اثر متقابل بین نانوذرات نقره × اسیدهیومیک × تنش خشکی بر درصد جوانه زنی و شاخص های جوانه زنی معنی دار نبود (جدول ۱).

برای اندازه گیری فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده ۲ میلی لیتر کربنات سدیم (۲ درصد)، ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین-سیوکالچو (۵۰ درصد) اضافه شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر قرائت شد (Meda et al., 2005). میزان فنل کل بر اساس میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاهچه گزارش گردید. برای اندازه گیری فلاونوئید گیاهچه ابتدا ۰/۱ گرم نمونه گیاهچه با ۳ میلی لیتر محلول متانول اسیدی در هاون ساییده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی نمونه‌ها جدا و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند و پس از سرد شدن نمونه‌ها میزان جذب آن‌ها توسط اسپکتروفتومتر در ۳ طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر قرائت گردید (Krizek et al., 1993).

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز ۰/۱ گرم نمونه گیاهچه در ۳ میلی لیتر بافر استخراج (فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار با پی اچ ۷/۸، ۰/۱ مولار EDTA و ۰/۱ مولار PVP) روی یخ همگن شدند. نمونه‌های به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی گراد در دور ۱۴۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. مایع رویی نمونه‌ها برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز (میلی مول بر گرم بر دقیقه) با روش اسپکترومتری و بر اساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر و در مدت ۳۰ ثانیه اندازه گیری شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با پی اچ ۷ حاوی آب اکسیژنه ۳۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با افزودن H_2O_2 شروع و کاهش جذب در مدت ۶۰ ثانیه قرائت شد. ضریب خاموشی برای کاتالاز ۰/۰۳۹۴ میلی مول بر سانتی متر بود (Aebi et al., 1984).

مطالعات میکروسکوپی

در پایان آزمایش نمونه‌های خشک شده‌ی ریشه‌چه به

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره، اسیدهیومیک، تنش خشکی و اثر متقابل بین سه فاکتور بر درصد جوانه‌زنی و شاخصه‌های جوانه‌زنی بذر کینوا

Table 1- Results of analysis of variance of the effect of different levels of AgNPs, humic acid, drought stress and the interaction between three factors on germination percentage and germination characteristics of quinoa seeds

میانگین مربعات Means of Square							
منبع پراکنش S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	ضریب سرعت جوانه‌زنی Germination rate coefficient	میانگین زمان لازم جوانه‌زنی Mean germination time required	میانگین جوانه‌زنی روزانه Mean daily germination	شاخص طولی بنه‌ی بذر Seed vigor length index
نانوذرات نقره AgNPs	2	187.45 ^{ns}	0.00067 ^{ns}	0.0161 ^{ns}	3.82 ^{ns}	0.14 ^{ns}	20922363.56*
اسیدهیومیک Humic acid	2	273.97*	0.00089*	0.0216*	5.59*	0.21*	148.92 ^{ns}
تنش خشکی Drought stress	2	365.23**	0.0011*	0.0238*	7.45**	0.28*	1896192.05 ^{ns}
نانوذرات نقره × اسیدهیومیک AgNPs × Humic acid	4	72.19**	0.00016**	0.0044 ^{ns}	1.47**	0.05 ^{ns}	1710341.17**
نانوذرات نقره × تنش خشکی AgNPs × Drought stress	4	95.01**	0.00029**	0.0075**	1.94**	0.07**	1876781.64 ^{ns}
اسیدهیومیک × تنش خشکی Humic acid × Drought stress	4	96.19**	0.00032**	0.0068 ^{ns}	1.96**	0.07 ^{ns}	1983331.23**
نانوذرات نقره × اسیدهیومیک × تنش خشکی AgNPs × Humic Acid × Drought Stress	8	31.30 ^{ns}	0.00004 ^{ns}	0.0014 ^{ns}	0.64 ^{ns}	0.02 ^{ns}	1221132.54 ^{ns}
اشتباه آزمایشی Error	54	72.69	0.00025	0.0057	1.48	0.05	1434106.1
ضریب تغییرات C.V	-	12.89	14.56	13.82	12.89	12.86	17.83

ns, * و **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد

ns, * and **: non- significant, significant at the 5% and 1% level of probability, respectively

خشکی و نانوذرات نقره × اسیدهیومیک × تنش خشکی بر صفات مورد بررسی معنی دار نبود (جدول ۲). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، اثر متقابل بین نانوذرات نقره × اسیدهیومیک تأثیر مثبتی بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی و شاخص طولی بنه‌ی بذر کینوا داشتند و کم‌ترین میزان درصد جوانه‌زنی (۵۹/۵۰٪)، سرعت جوانه‌زنی (۸/۵۰) و شاخص طولی بنه‌ی بذر (۱۹۱۷/۴) در تیمار شاهد مشاهده گردید.

با توجه به نتایج تجزیه واریانس نانوذرات نقره اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر صفات مرفولوژیک مورد بررسی داشت (جدول ۲). اسیدهیومیک و تنش خشکی اثر معنی‌داری بر صفات مورد بررسی نشان ندادند (جدول ۲). اثر متقابل بین نانوذرات نقره × اسیدهیومیک و نیز نانوذرات نقره × تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری بر صفات مرفولوژیک مورد بررسی داشتند. اثر متقابل بین اسیدهیومیک × تنش

میانگین زمان لازم جوانه‌زنی افزایش نشان داد. بیش‌ترین میزان درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های جوانه‌زنی در تیمار بدون تنش همراه با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره مشاهده شد (جدول ۵). در هر سه سطح نانوذرات نقره تفاوت نامحسوسی بین سطوح بالای تنش خشکی از نظر صفات مورد بررسی مشاهده گردید.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها نانوذرات نقره اثر مثبت بر صفات مورفولوژیکی دانه‌رست کینوا داشت و با افزایش سطح تنش خشکی این صفات کاهش نشان دادند (جدول ۶). تفاوت معنی‌داری بین میزان وزن تر دانه‌رست در تیمار شاهد با بیش‌ترین سطوح نانوذرات نقره و تنش خشکی مشاهده شد. در حالی‌که تفاوت معنی‌داری بین سایر سطوح از نظر صفات مورد بررسی مشاهده نشد.

گرچه در هر سه سطح نانوذرات نقره تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف اسیدهیومیک از نظر صفات مورد بررسی مشاهده نشد (جدول ۳).

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، سطوح مختلف نانوذرات نقره و اسیدهیومیک میزان خصوصیات مورفولوژیکی را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. طبق نتایج به‌دست آمده در هر سه سطح نانوذرات نقره با افزایش میزان اسیدهیومیک تفاوت معنی‌داری در صفات مورد آنالیز مشاهده نشد (جدول ۴).

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها نانوذرات نقره برخلاف تنش خشکی تأثیر مثبتی بر درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های جوانه‌زنی کینوا داشت. در هر سه سطح نانوذرات نقره با افزایش تنش خشکی درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص طولی بذر کاهش و

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره، اسیدهیومیک، تنش خشکی و اثر متقابل بین سه فاکتور بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی دانه‌رست کینوا

Table 2-Results of analysis of variance of the effect of different levels of AgNPs, humic acid, drought stress and the interaction between three factors on some morphological characteristics of quinoa seedlings

منبع پراکنش S.O.V	df	میانگین مربعات Means of Square									
		وزن تر گیاهچه Seedling fresh weight	وزن تر ساقه‌چه Shoot fresh weight	وزن تر ریشه‌چه Root fresh weight	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Shoot dry weight	وزن خشک ریشه‌چه Root dry weight	طول گیاهچه Seedling length	طول ساقه‌چه Shoot length	طول ریشه‌چه Root length	
نانوذرات نقره AgNPs	2	335.66**	148.13**	55.26**	0.62**	0.13**	0.103**	5630.49**	617.94**	2780.91**	
اسیدهیومیک Humic acid	2	10.59 ^{ns}	23.99 ^{ns}	2.91 ^{ns}	0.019 ^{ns}	0.021 ^{ns}	0.005 ^{ns}	177.92 ^{ns}	99.97 ^{ns}	146.74 ^{ns}	
تنش خشکی Drought stress	2	6.32 ^{ns}	30.88 ^{ns}	1.63 ^{ns}	0.012 ^{ns}	0.027 ^{ns}	0.003 ^{ns}	105.93 ^{ns}	128.79 ^{ns}	82.44 ^{ns}	
نانوذرات نقره×اسیدهیومیک AgNPs ×Humic acid	4	27.51**	119.23*	1.02**	0.050**	0.055**	0.001**	461.31**	248.60**	51.24**	
نانوذرات نقره×تنش خشکی AgNPs ×Drought stress	4	27.43**	73.42**	1.86**	0.051**	0.033**	0.003**	459.50**	153.25**	93.93**	
اسیدهیومیک×تنش خشکی Humic acid×Drought stress	4	29.33 ^{ns}	79.31 ^{ns}	1.99 ^{ns}	0.054 ^{ns}	0.035 ^{ns}	0.003 ^{ns}	492.44 ^{ns}	165.48 ^{ns}	100.82 ^{ns}	
نانوذرات نقره×اسیدهیومیک×تنش خشکی AgNPs ×Humic acid×Drought stress	8	20.00 ^{ns}	88.55 ^{ns}	3.69 ^{ns}	0.037 ^{ns}	0.020 ^{ns}	0.006 ^{ns}	335.45 ^{ns}	92.39 ^{ns}	185.64 ^{ns}	
اشتباه آزمایشی Error	54	16.46	11.09	2.42	0.030	0.020	0.004	276.12	92.63	121.76	
ضریب تغییرات C.V	-	14.55	15.86	10.71	14.61	15.84	10.50	14.55	15.86	10.70	

ns, * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد

ns, * and **: non- significant, significant at the 5% and 1% level of probability, respectively

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره و اسیدهیومیک بر برخی ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر کینوا

Table 3- Comparison of the mean effect of different levels of AgNPs and humic acid on some germination characteristics of quinoa seeds

نانوذرات نقره (میلی‌گرم بر لیتر) AgNPs (mgL ⁻¹)	اسیدهیومیک (میلی‌گرم بر لیتر) Humic acid (mgL ⁻¹)	درصد جوانه‌زنی Germination percentage (%)	میانگین زمان جوانه‌زنی (روز) Mean germination time (Day)	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (seed day ⁻¹)	شاخص طولی بینه‌ی بذر (-) Seed vigor length index (-)
0	0	59.5 ^c	10.09 ^a	0.101 ^c	1917.4 ^c
	100	60.4 ^{bc}	10.03 ^a	0.103 ^{bc}	1986.4 ^c
	300	64.4 ^{bc}	9.96 ^{ab}	0.103 ^{bc}	2631.9 ^{bc}
10	0	64.8 ^{bc}	9.65 ^{abc}	0.107 ^{bc}	3037.7 ^{bc}
	100	67.5 ^{bc}	9.65 ^{abc}	0.108 ^{bc}	3410.1 ^b
	300	67.5 ^{bc}	9.27 ^{abc}	0.110 ^{bc}	3688.5 ^b
20	0	69.7 ^b	9.20 ^{abc}	0.114 ^{bc}	3831.7 ^b
	100	70.6 ^a	8.63 ^{bc}	0.118 ^b	3891.2 ^b
	300	70.2 ^a	8.50 ^c	0.122 ^a	4091.1 ^a

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیرمشابه اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵٪ نشان می‌دهد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)
In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range tests

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره و اسیدهیومیک بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی دانه‌رست کینوا

Table 4 - Comparison of the mean effect of different levels of AgNPs and humic acid on some morphological characteristics of quinoa seedlings

نانوذرات نقره (میلی‌گرم بر لیتر) AgNPs (mg L ⁻¹)	اسیدهیومیک (میلی‌گرم بر لیتر) Humic acid (mg L ⁻¹)	وزن تر گیاهچه (میلی‌گرم) Seedling fresh weight (mg)	وزن تر ساقچه (میلی‌گرم) Shoot fresh weight (mg)	وزن تر ریشه‌چه (میلی‌گرم) Root fresh (mg)	وزن خشک گیاهچه (میلی‌گرم) Seedling dry (mg)	وزن خشک ساقچه (میلی‌گرم) Shoot dry weight (mg)	وزن خشک ریشه‌چه (میلی‌گرم) Root dry weight (mg)	طول گیاهچه (میلی‌تر) Seedling length (mm)	طول ساقچه (میلی‌تر) Shoot length (mm)	طول ریشه‌چه (میلی‌تر) Root length (mm)
0	0	6.84 ^c	4.56 ^c	2.09 ^d	0.29 ^d	0.19 ^c	0.090 ^d	13.20 ^c	14.83 ^d	28.04 ^c
	100	7.54 ^c	4.70 ^c	2.44 ^d	0.32 ^d	0.20 ^c	0.104 ^d	13.57 ^c	17.32 ^d	30.90 ^c
	300	9.4 ^{bc}	6.46 ^{bc}	2.67 ^d	0.40 ^{cd}	0.27 ^{bc}	0.113 ^d	18.67 ^{bc}	18.98 ^d	38.58 ^{bc}
10	0	10.45 ^{bc}	6.76 ^{bc}	3.40 ^{cd}	0.45 ^{bcd}	0.29 ^{bc}	0.145 ^{cd}	19.55 ^{bc}	24.14 ^{cd}	42.81 ^{bc}
	100	12.88 ^{ab}	6.78 ^{bc}	3.62 ^{bcd}	0.55 ^{abc}	0.29 ^{bc}	0.155 ^{bcd}	19.59 ^{bc}	25.72 ^{bcd}	52.76 ^{ab}
	300	13.32 ^{ab}	7.56 ^{abc}	4.35 ^{abc}	0.57 ^{abc}	0.32 ^{abc}	0.187 ^{abc}	21.84 ^{abc}	30.91 ^{abc}	54.55 ^{ab}
20	0	13.82 ^{ab}	8.68 ^{ab}	4.93 ^{abc}	0.59 ^{ab}	0.37 ^{ab}	0.211 ^{abc}	25.09 ^{ab}	34.99 ^{abc}	56.63 ^{ab}
	100	14.90 ^a	9.13 ^{ab}	5.06 ^{ab}	0.64 ^a	0.39 ^{ab}	0.218 ^{ab}	26.38 ^{ab}	35.93 ^{ab}	61.03 ^a
	300	16.48 ^a	10.70 ^a	5.79 ^a	0.70 ^a	0.45 ^a	0.248 ^a	30.90 ^a	41.09 ^a	67.48 ^a

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیرمشابه اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵٪ نشان می‌دهد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)
In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range tests

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره و تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر کینوا

Table 5- Comparison of the mean effect of different levels of AgNPs and drought stress on some germination characteristics of quinoa seeds

نانوذرات نقره (میلی گرم بر لیتر) AgNPs (mg L ⁻¹)	تنش خشکی (بار) Drought stress (bar)	درصد جوانه‌زنی (%) Germination percentage (%)	میانگین زمان جوانه‌زنی (روز) Mean germination time (Day)	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (seed day ⁻¹)	شاخص طولی بیه‌ی بذر (-) Seed vigor length index (-)
0	0	68.00 ^{ab}	9.14 ^{bc}	0.113 ^{abc}	3930.6 ^{ab}
	-6	66.22 ^{abc}	9.71 ^b	0.106 ^{bc}	2824.1 ^{bcd}
	-12	57.77 ^c	10.34 ^a	0.098 ^c	1864.2 ^d
10	0	70.66 ^a	8.76 ^{bc}	0.118 ^{ab}	4055.2 ^{ab}
	-6	66.66 ^{abc}	9.52 ^{abc}	0.108 ^{bc}	3393.8 ^{abc}
	-12	61.33 ^{bc}	10.09 ^a	0.103 ^{bc}	2090.9 ^d
20	0	72.44 ^a	8.25 ^c	0.125 ^a	4162.3 ^a
	-6	68.00 ^{ab}	9.46 ^{abc}	0.108 ^{bc}	3584.4 ^{abc}
	-12	64.00 ^{bc}	9.71 ^{ab}	0.105 ^{bc}	2580.7 ^{cd}

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵٪ نشان می‌دهد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)
In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range tests

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره و تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی بذر کینوا

Table 6- Comparison of the mean effect of different levels of AgNPs and drought stress on some morphological characteristics of quinoa seeds

نانوذرات نقره میلی گرم بر لیتر) AgNPs (mg L ⁻¹)	تنش خشکی (بار) Drought stress (bar)	وزن تر گیاهچه (میلی گرم) Seedling fresh weight (mg)	وزن تر ساقه‌چه (میلی گرم) Shoot fresh weight (mg)	وزن تر ریشه‌چه (میلی گرم) Root fresh (mg)	وزن خشک گیاهچه (میلی گرم) Seedling dry (mg)	وزن خشک ساقه‌چه (میلی گرم) Shoot dry weight (mg)	وزن خشک ریشه‌چه (میلی گرم) Root dry weight (mg)	طول گیاهچه (میلی تر) Seedling length (mm)	طول ساقه‌چه (میلی تر) Shoot length (mm)	طول ریشه‌چه (میلی تر) Root Length (mm)
0	0	14.85 ^b	8.84 ^a	5.03 ^a	0.64 ^a	0.37 ^a	0.216 ^a	25.54 ^a	35.68 ^a	60.81 ^a
	-6	10.43 ^{bcd}	6.52 ^{ab}	3.31 ^{bc}	0.44 ^{bcd}	0.27 ^{ab}	0.141 ^{bc}	18.84 ^{ab}	23.51 ^{bc}	42.71 ^{bcd}
	-12	7.37 ^d	4.67 ^b	2.31 ^c	0.31 ^d	0.20 ^b	0.097 ^c	13.51 ^b	16.44 ^c	30.18 ^d
10	0	15.14 ^a	9.11 ^a	5.30 ^a	0.65 ^a	0.39 ^a	0.227 ^a	26.33 ^a	37.65 ^a	62.01 ^a
	-6	11.89 ^{abc}	6.63 ^{ab}	3.43 ^{bc}	0.51 ^{abc}	0.28 ^{ab}	0.147 ^{bc}	19.16 ^{ab}	24.36 ^{bc}	48.69 ^{abc}
	-12	7.43 ^d	4.85 ^b	2.35 ^c	0.32 ^d	0.20 ^b	0.100 ^c	14.01 ^b	16.67 ^c	30.46 ^d
20	0	14.94 ^a	9.66 ^a	5.45 ^a	0.67 ^a	0.41 ^a	0.234 ^a	27.90 ^a	38.69 ^a	64.23 ^a
	-6	13.87 ^{ab}	8.71 ^a	4.63 ^{ab}	0.59 ^{ab}	0.37 ^a	0.200 ^{ab}	25.17 ^a	32.90 ^{ab}	56.81 ^{ab}
	-12	9.00 ^{cd}	6.35 ^{ab}	2.54 ^c	0.38 ^{cd}	0.27 ^{ab}	0.110 ^c	18.34 ^{ab}	18.02 ^c	36.87 ^{cd}

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵٪ نشان می‌دهد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)
In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range tests

طبق نتایج به دست آمده، با افزایش سطح اسیدهیومیک درصد جوانه زنی، میانگین جوانه زنی و سرعت جوانه زنی بهبود نشان داد. در هر سه سطح اسیدهیومیک با افزایش سطح تنش خشکی میزان صفات

فوق کاهش یافت. با آن که اسیدهیومیک تأثیر مثبت بر میزان جوانه زنی داشت اما تفاوت معنی داری بین سطوح اسیدهیومیک مشاهده نشد (جدول ۷).

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف اسیدهیومیک و تنش خشکی بر برخی ویژگی های جوانه زنی بذر کینوا

Table 7- Comparison of the mean effect of different levels of humic acid and drought stress on some germination characteristics of quinoa seeds

اسیدهیومیک (میلی گرم بر لیتر) Humic acid (mg L ⁻¹)	تنش خشکی (بار) Drought stress (bar)	درصد جوانه زنی (%) Germination percentage (%)	میانگین زمان جوانه زنی (روز) Mean germination time (Day)	سرعت جوانه زنی (بذر در روز) Germination rate (seed day ⁻¹)
0	0	67.11 ^{bc}	9.07 ^{bc}	0.114 ^a
	-6	64.00 ^{bc}	9.39 ^{bc}	0.108 ^{abc}
	-12	60.88 ^c	10.73 ^a	0.095 ^c
100	0	72.44 ^{ab}	8.76 ^c	0.117 ^a
	-6	64.88 ^{bc}	9.27 ^{bc}	0.112 ^{ab}
	-12	61.33 ^c	10.34 ^{ab}	.097 ^{bc}
300	0	75.11 ^a	8.69 ^c	0.121 ^a
	-6	65.77 ^{bc}	9.14 ^{bc}	0.114 ^a
	-12	63.55 ^{bc}	9.58 ^{abc}	0.107 ^{abc}

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی دار و حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار را در سطح احتمال ۵٪ نشان می دهد (آزمون چند دامنه ای دانکن)

In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range tests

۸. طبق نتایج اثر متقابل بین نانوذرات نقره و تنش خشکی و اسیدهیومیک و تنش خشکی در سطح یک درصد اثر معنی داری بر میزان پرولین، قند محلول، فنل کل، فلونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز داشتند. اثر متقابل بین سه فاکتور اثر معنی داری بر صفات مورد بررسی نشان ندادند (جدول ۸).

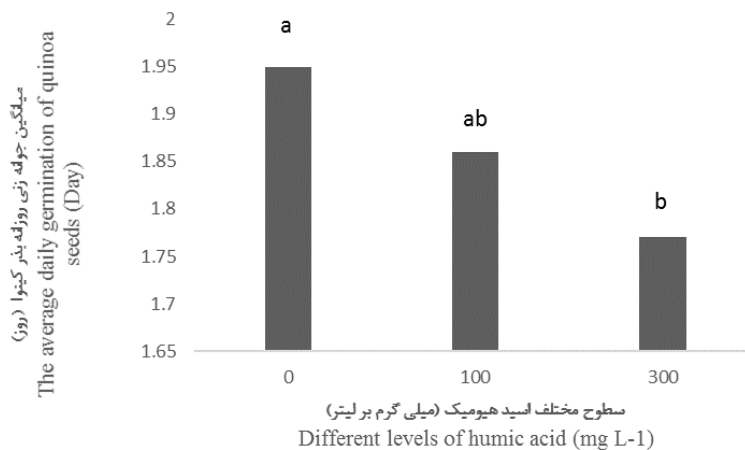
طبق نتایج مقایسه میانگین ها (جدول ۹)، در هر سه سطح نانوذرات نقره با افزایش غلظت اسیدهیومیک میزان پرولین، قند محلول، فنل کل، فلونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش نشان داد. بیشترین میزان پرولین، قند کل و فنل کل در تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره همراه با ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک بود که تفاوت معنی داری با تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره همراه با

بر اساس نتایج مقایسه میانگین ها، اسیدهیومیک تأثیر مثبتی بر میانگین جوانه زنی روزانه داشت. بیشترین و کمترین میزان میانگین جوانه زنی روزانه به ترتیب در سطوح صفر و ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک مشاهده شد (شکل ۱). در حالی که با افزایش غلظت تنش خشکی میانگین جوانه زنی روزانه بذر کینوا افزایش نشان داد (شکل ۲).

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۸)، نانوذرات نقره، اسیدهیومیک و تنش خشکی اثر معنی داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان پرولین، قند محلول، فنل کل، فلونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز داشت. اثر متقابل بین نانوذرات نقره و اسیدهیومیک اثر معنی داری (در سطح احتمال پنج درصد) بر صفات ذکر شده داشتند (جدول

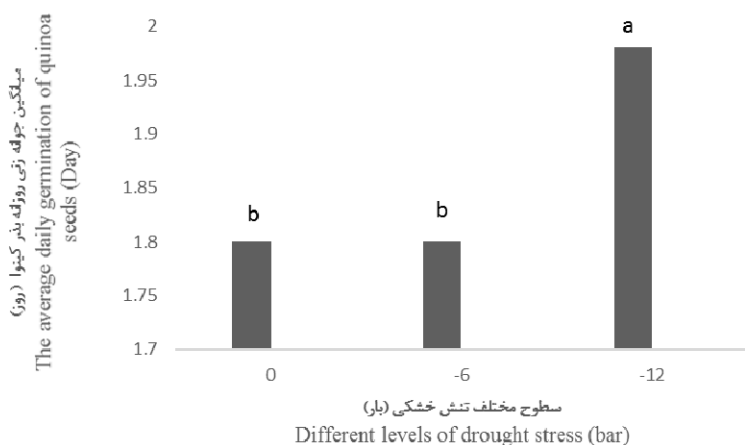
فلاونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش نشان داد. بیشترین و کمترین میزان فلاونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب در تیمارهای ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره همراه با ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک و شاهد مشاهده شد (جدول ۹).

۱۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک نداشت. کمترین میزان پرولین در تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۹). نانوذرات نقره و اسیدهیومیک اثر مثبتی بر میزان فلاونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز داشتند و در هر سه غلظت نانوذرات نقره با افزایش غلظت اسیدهیومیک میزان



شکل ۱- اثر سطوح مختلف اسیدهیومیک بر میانگین جوانه زنی روزانه‌ی بذر کینوا

Figure 1- Effect of different levels of humic acid on the average daily germination of quinoa seeds



شکل ۲- اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر میانگین جوانه زنی روزانه‌ی بذر کینوا

Figure 2- Effect of different levels of drought stress on the average daily germination of quinoa seeds

جدول ۸- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره، اسیدهیومیک، تنش خشکی و اثر متقابل بین سه فاکتور بر برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی دانه‌رست کینوا

Table 8- Results of analysis of variance the effect of different levels of AgNPs, humic acid, drought stress and the interaction between three factors on some physiological characteristics of quinoa seedlings

منبع پراکنش S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Means of Square				
		پرولین Proline	قند کل Total sugar	فنل کل Total phenol	فلاونوئید Flavonoids	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity
نانوذرات نقره AgNPs	2	0.757*	20.846 ^{ns}	13.288*	695.41**	190.93*
اسیدهیومیک Humic acid	2	0.089**	3.040**	1.293**	47.245**	15.037**
تنش خشکی Drought stress	2	0.015**	0.301**	0.166**	15.091**	3.550**
نانوذرات نقره×اسیدهیومیک AgNPs ×Humic acid	4	0.035*	0.067*	0.276*	1.795*	0.526*
نانوذرات نقره×تنش خشکی NanoAg ×Drought stress	4	0.003**	0.218**	0.005**	0.417**	0.067**
اسیدهیومیک×تنش خشکی humic acid×Drought stress	4	0.0003**	0.081**	0.001**	0.127**	0.046**
نانوذرات نقره×اسیدهیومیک×تنش خشکی AgNPs ×Humic acid×Drought stress	8	0.0004 ^{ns}	0.043 ^{ns}	0.012 ^{ns}	0.141 ^{ns}	0.031 ^{ns}
اشتباه آزمایشی Error	54	0.138	8.281	3.827	236.991	60.983
ضریب تغییرات C.V	-	9.78	6.890	3.219	5.358	6.36

ns, * و **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد

ns, * and **: non- significant, significant at the 5% and 1% level of probability, respectively

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره و اسیدهیومیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی دانه‌رست کینوا

Table 9 - Comparison of the mean effect of different levels of AgNPs and humic acid on some physiological properties of quinoa seedlings

نانوذرات نقره (میلی‌گرم بر لیتر) AgNPs (mg L ⁻¹)	اسیدهیومیک (میلی‌گرم بر لیتر) Humic acid (mg L ⁻¹)	پرولین (نانومول بر میلی‌گرم وزن تر) Proline (nM /mg Fw)	قند کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Total sugar (mg/g Fw)	فنل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) Total phenol (mg/g Dw)	فلاونوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) Flavonoids (mg/g Dw)	فعالیت آنزیم کاتالاز (میلی‌مول بر گرم دقیقه) Catalase enzyme activity (mM/g min)
0	0	0.578 ^h	3.437 ^e	4.051 ^e	22.889 ⁱ	9.411 ⁱ
	100	0.608 ^g	3.740 ^f	4.204 ^d	24.356 ^h	10.30 ^g
	300	0.638 ^f	4.236 ^d	4.588 ^d	25.894 ^g	11.11 ^h
10	0	0.683 ^d	4.277 ^d	4.985 ^{cd}	28.533 ^f	12.48 ^g
	100	0.698 ^{cd}	4.514 ^{cd}	5.00 ^c	29.178 ^e	12.90 ^f
	300	0.711 ^c	4.972 ^c	5.00 ^c	30.187 ^d	13.43 ^d
20	0	0.807 ^b	5.293 ^b	5.297 ^b	32.833 ^e	14.66 ^c
	100	0.925 ^{ab}	5.579 ^{ab}	5.755 ^{ab}	34.640 ^b	15.61 ^b
	300	1.06 ^a	5.801 ^a	6.00 ^a	36.111 ^a	16.50 ^a

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی دار و حروف غیرمشابه اختلاف معنی دار را در سطح احتمال ۵٪ نشان می‌دهد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range tests

بیشترین و کمترین میزان فلاونوئید به ترتیب در تیمارهای ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره همراه با تنش ۱۲- بار و شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره همراه با تنش ۱۲- بار بود که تفاوت معنی داری بین سطوح مختلف تنش خشکی در تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات نقره مشاهده نشد. کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد بود (جدول ۱۰).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱۰)، نانوذرات نقره تأثیر مثبتی بر میزان پرولین، قند کل، فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش خشکی داشتند. بیشترین میزان پرولین، قند کل، فنل کل و فلاونوئید در تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره همراه با تنش ۱۲- بار بود که تفاوت معنی داری با تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره نقره همراه با نش ۶- بار نداشت. با توجه به نتایج به دست آمده تفاوت محسوسی بین سطوح تنش خشکی در سه سطح نانوذرات نقره مشاهده شد.

جدول ۱۰- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره و تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی دانه‌ریز کینوا

Table 10 - Comparison of the mean effect of different levels of AgNPs and drought stress on some physiological characteristics of quinoa seedlings

نانوذرات نقره (میلی گرم بر لیتر) AgNPs (mg L ⁻¹)	تنش خشکی (بار) Drought stress (bar)	پرولین (نانومول بر میلی گرم وزن تر) Proline (nM /mg Fw)	قند کل (میلی گرم بر گرم وزن تر) Total sugar (mg/g Fw)	فنل کل (میلی گرم بر گرم وزن خشکی) Total phenol (mg/ g Dw)	فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن خشکی) Flavonoids (mg/g Dw)	فعالیت آنزیم کاتالاز (میلی مول بر گرم دقیقه) Catalase enzyme activity (mM/g min)
0	0	0.598 ⁱ	23.11 ⁱ	4.206 ^{cd}	3.667 ^f	9.01 ^d
	-6	0.606 ^{dc}	24.26 ^k	4.271 ^{cd}	3.840 ^c	10.31 ^c
	-12	0.621 ^d	25.06 ^g	4.366 ^c	3.904 ^c	10.60 ^c
10	0	28.30 ^f	4.920 ^{bc}	4.374 ^d	0.681 ^{cd}	12.44 ^{bc}
	-6	29.25 ^c	5.032 ^b	4.526 ^{cd}	0.702 ^c	13.04 ^b
	-12	30.34 ^d	5.044 ^b	4.863 ^c	0.710 ^{bc}	13.33 ^b
20	0	33.95 ^c	5.588 ^{ab}	5.484 ^b	0.885 ^b	15.28 ^{ab}
	-6	34.40 ^b	5.692 ^{ab}	5.579 ^{ab}	0.936 ^{ab}	15.62 ^a
	-12	35.22 ^a	5.772 ^a	5.610 ^a	0.976 ^a	15.86 ^a

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی دار و حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار را در سطح احتمال ۵٪ نشان می‌دهد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range tests

همراه با تنش ۶- بار نداشت. کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد بود (جدول ۱۱). بیشترین میزان قند کل در تیمار ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک همراه با تنش ۱۲- بار مشاهده شد که تفاوت معنی داری بین سطوح مختلف تنش خشکی در تیمار صفر میلی گرم بر

طبق نتایج به دست آمده (جدول ۱۱)، اسیدهیومیک تأثیر مثبتی در میزان پرولین تحت شرایط تنش خشکی داشت و بیشترین میزان پرولین در تیمار ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک همراه با تنش ۱۲- بار بود که تفاوت معنی داری با تیمار ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک

۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک همراه با تنش ۶- بار نداشت که در سطح ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک تفاوت معنی داری بین سطوح مختلف تنش خشکی مشاهده نشد. بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب در تیمارهای ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک همراه با تنش ۱۲- بار و شاهد مشاهده شد (جدول ۹).

لیتر اسیدهیومیک نبود. بیشترین میزان فنل کل در تیمار ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک همراه با تنش ۱۲- بار بود که تفاوت معنی داری بین سطوح مختلف تنش خشکی در تیمار ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک مشاهده نشد. با توجه به نتایج به دست آمده بیشترین میزان فلاونوئید در تیمار ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک همراه با تنش ۱۲- بار بود که تفاوت معنی داری با تیمار

جدول ۱۱- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف اسیدهیومیک و تنش خشکی بر برخی از ویژگی های فیزیولوژیکی دانه رست کینوا

Table 11 - Comparison of the mean effect of different levels of humic acid and drought stress on some physiological characteristics of quinoa seedlings

اسیدهیومیک (میلی گرم بر لیتر) Humic acid (mg L ⁻¹)	تنش خشکی (بار) Drought stress (bar)	پروترین (نانومول بر میلی گرم وزن تر) Proline (nM /mg Fw)	قند کل (میلی گرم بر گرم وزن تر) Total sugar (mg/g Fw)	فنل کل (میلی گرم بر گرم وزن خشکی) Total phenol (mg/g Dw)	فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن خشکی) Flavonoids (mg/g Dw)	فعالیت آنزیم کاتالاز (میلی مول بر گرم دقیقه) Catalase enzyme activity (mM/g min)
0	0	0.668 ^f	4.216 ^d	4.676 ^c	27.233 ^d	11.711 ^f
	-6	0.695 ^c	4.266 ^d	4.788 ^{bc}	28.100 ^{cd}	12.289 ^c
	-12	0.705 ^{cd}	4.473 ^{cd}	4.842 ^b	28.689 ^{cd}	12.567 ^c
100	0	0.715 ^{cd}	4.524 ^c	4.898 ^b	28.922 ^c	12.578 ^c
	-6	0.747 ^c	4.621 ^{bc}	4.996 ^b	29.344 ^b	13.00 ^d
	-12	0.770 ^{bc}	4.739 ^{bc}	5.071 ^{ab}	30.344 ^b	13.233 ^{cd}
300	0	0.781 ^b	4.931 ^b	5.140 ^{ab}	30.144 ^{ab}	13.356 ^c
	-6	0.802 ^{ab}	4.989 ^b	5.211 ^a	30.570 ^{ab}	13.689 ^b
	-12	0.832 ^a	5.089 ^a	5.270 ^a	31.478 ^a	14.00 ^a

در هر ترکیب تیماری حروف مشابه عدم اختلاف معنی دار و حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار را در سطح احتمال ۵٪ نشان می دهد (آزمون چند دامنه ای دانکن)

In each column means that common letters are significantly different at the 5% level are Duncan's multiple range tests

محیطی و آلاینده ها بر گیاهان به شمار می روند (Bayramzadeh et al., 2018). با توجه به نتایج به دست آمده تنش خشکی منجر به کاهش درصد جوانه زنی و خصوصیات رشدی دانه رست کینوا شد (جدول های ۵ و ۶) و میانگین زمان جوانه زنی را افزایش داد (جدول ۵). کاهش جوانه زنی تحت تنش خشکی در گیاه ذرت

بحث

جوانه زنی یکی از مراحل حساس در چرخه رشدی گیاهان به حساب می آید. آزمون های جوانه زنی به دلیل آسانی، حساسیت و کم هزینه بودن، یکی از سریع ترین و پرکاربردترین آزمون ها در بررسی تأثیر تنش های

(Achillea millefolium) (Bayat et al., 2021) درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های جوانه‌زنی را بهبود بخشید. میانگین زمان جوانه‌زنی شاخصی از سرعت جوانه‌زنی است و پایین بودن میانگین زمان جوانه‌زنی نشان‌دهنده‌ی جوانه‌زنی سریع بذر است (جدول‌های ۳ و ۵). افزایش وزن تر گیاهچه می‌تواند به دلیل طویل شدن سلول و افزایش کارایی جذب آب توسط کاربرد اسیدهیومیک باشد (Azadbakht et al., 2018).

در سال‌های اخیر پژوهش‌های متعددی انجام شده است و اثر نانوذرات بر جوانه‌زنی و رشد گیاه به‌منظور کاربرد آن در تولید محصولات کشاورزی مورد بررسی قرار گرفته است. نکته کلیدی در این پژوهش‌ها، نفوذ نانوذرات به درون بذر و افزایش جوانه‌زنی است. نانوذرات می‌توانند به دیواره سلولی نفوذ کنند و نفوذ در بذر به سبب ضخامت قابل توجه پوسته بذر پیچیده و سخت است. نانوذرات می‌توانند منافذ جدیدی را برای نفوذ آب در پوسته بذر ایجاد کنند و به این ترتیب سرعت جوانه‌زنی را افزایش دهند. هم‌چنین نانوذرات می‌توانند کانال‌های آب موجود در پوسته بذر را تنظیم کنند. نانوذرات اثرات مثبت و منفی بر رشد گیاهان دارند و تأثیر آن‌ها به ترکیب، غلظت، اندازه و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و نیز به گونه‌های گیاه بستگی دارد و از گیاهی به گیاه دیگر متفاوت است. نانوذرات اثر مثبتی بر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه دارند در این زمینه اندازه‌ی نانوذره و مرحله‌ی رشدی گیاه حائز اهمیت است (Nguyen et al., 2021). در لویسا (*Phaseolus vulgaris*) نانوذرات نقره درصد جوانه‌زنی و خصوصیات رشدی دانه‌رست را افزایش دادند (Savassa et al., 2021). نانوذرات نقره درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، وزن گیاهچه و طول گیاهچه را در گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) افزایش داده است (Nejatzadeh, 2021). در نتیجه می‌توان گفت در کینوا نانوذرات نقره با تأثیر بر منافذ پوسته‌ی بذر و با افزایش جذب آب درصد و سرعت جوانه‌زنی را بهبود بخشیده

(*Zea mays*) (Li et al., 2021) و کلزا (*Brassica napus*) (Gad et al., 2021) نیز گزارش شده است. با توجه به نتایج سایر محققین احتمالاً کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنش خشکی سبب کاهش فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی بذر می‌شود که مواد مورد نیاز برای جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست دچار اختلال می‌شود. همین موضوع موجب افزایش مدت زمان لازم برای خروج ریشه‌چه از بذر شده و سرعت جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد. شاخص طولی بنیه‌ی بذر از ویژگی‌های مهم در سنجش کیفیت بذر است که نقش مهمی در جوانه‌زنی و سبز شدن یکنواخت گیاهچه دارد. شاخص طولی بنیه‌ی بذر تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد که بر عملکرد گیاه تأثیرگذار است در گیاه کینوا تنش خشکی منجر به کاهش شاخص طولی بنیه‌ی بذر شده است (جدول ۵). تحت شرایط تنش خشکی، در گیاه پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) کاهش درصد جوانه‌زنی و افزایش میزان پرولین، پروتئین محلول، قند محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد (Bai et al., 2020). طبق نتایج به‌دست آمده، تنش خشکی با افزایش میزان پرولین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم کاتالاز همراه بود (جدول ۱۱).

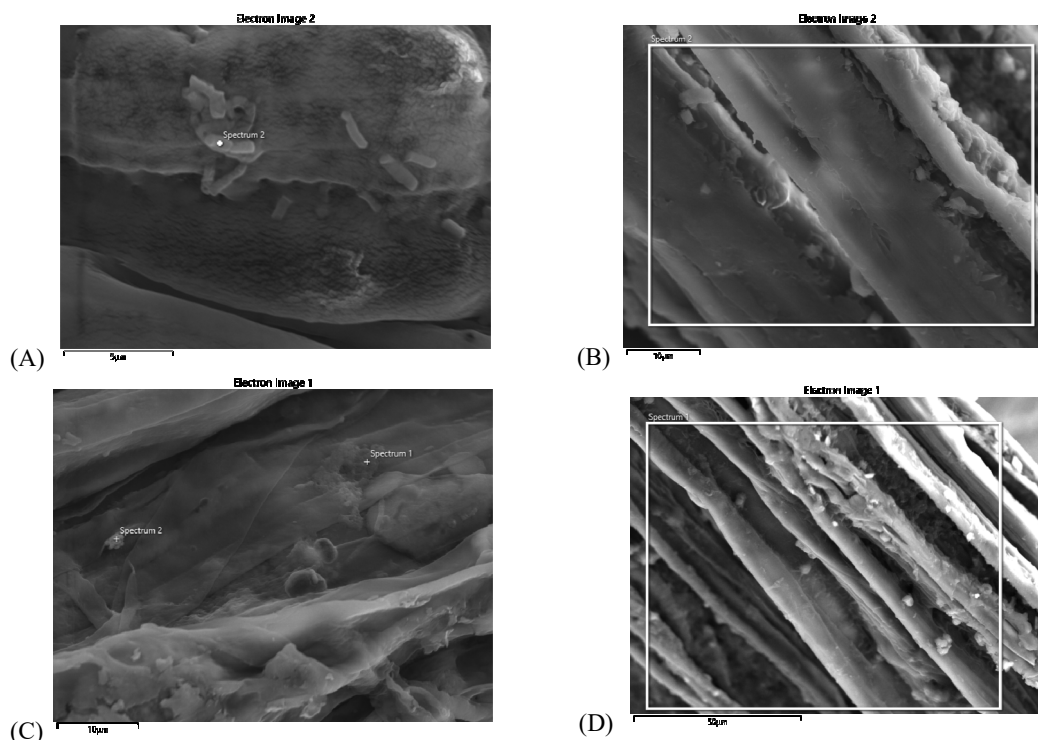
اسیدهیومیک به دلیل داشتن وزن مولکولی پایین نه تنها سریع جذب بذر می‌شود بلکه جذب سایر عناصر غذایی را مانند نیتروژن و فسفر را نیز افزایش می‌دهد که منجر به تحریک جوانه‌زنی بذر می‌گردد. مکانیسم عمل اسیدهیومیک بر جوانه‌زنی بذر شامل اثر مستقیم (تولید و عمل هورمون‌های گیاهی به‌ویژه اسید جیبرلیک) و اثر غیرمستقیم (بهبود جذب عناصر غذایی) است. اسیدهیومیک به دلیل داشتن اثرات شبه‌هورمونی می‌تواند حجم ریشه را افزایش دهد که جذب مواد غذایی افزایش یافته و رشد گیاهچه افزایش یابد (Ebrahimi and Miri Karbasak, 2016). اسیدهیومیک در ذرت (Yigider et al., 2021)، کلم سفید چینی (*Brassica chinensis*) (Chen et al., 2022) و بومادران

قندهای محلول با حفظ تورژسانس سلول‌های گیاه از تخریب پروتئین‌ها جلوگیری کرده و از غشای سلولی محافظت می‌کنند (Sales et al., 2022). افزایش میزان پرولین و قندهای محلول در سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) (Bayati et al., 2022) و گوجه‌فرونگی (*Solanum lycopersicum*) (Altaf et al., 2022) نیز گزارش شده است. در خیار (*Cucumis sativus*) محلول‌پاشی برگی نانواکسید روی (ZnO NPs) (۲۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) تحت شرایط تنش خشکی با افزایش میزان پرولین، فنل کل و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همراه بود (Ghani et al., 2022). نانوذرات سیلیس در گندم (*Triticum aestivum*) و تحت شرایط تنش خشکی منجر به افزایش طول ساقه‌چه، ریشه‌چه، میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز شده است (Akhtar and Ilyas, 2022).

ساده‌ترین راه برای تعیین موقعیت نانوذرات در بافت گیاه استفاده از میکروسکوپ است. سطح ویژه بالا در نانوذرات عملکرد سطحی و قدرت چسبندگی آن‌ها را بیشتر می‌کند. حضور و چسبندگی نانوذرات نقره در ریشه‌چه کینوا توسط میکروسکوپ الکترونی تأیید شد (شکل ۳) ولی ورود و نفوذ نانوذرات به داخل بذر به‌واسطه مشاهده تغییرات در صفات جوانه‌زنی و همچنین صفات رشدی دانه‌رست کینوا قابل تأیید است. بی‌شک با ورود نانوذرات به داخل بذر، ضمن افزایش نفوذپذیری، مسیر ورود آب و اکسیژن فراهم شده لذا تغییرات جوانه‌زنی قابل انتظار است. علاوه بر این نانوذرات می‌توانند با تغییرات هورمونی در رشد گیاهچه به‌خصوص ریشه تأثیر مثبتی بر سرعت جوانه‌زنی داشته باشند (Fathi et al., 2017). فرض بر این است که نانوذرات ابتدا به سطح ریشه چسبیده و سپس از طریق بافت‌های مختلف در حین انتقال آب و مواد معدنی به ساقه و برگ می‌رسند (Rao and Shekhawat, 2016).

است. دلیل اصلی فعال‌سازی جوانه‌زنی به‌وسیله نانوذرات به نقش آن‌ها در فرآیند جذب آب به داخل جنین بذر مرتبط است. به‌عبارت دیگر، این ذرات ریز جذب آب به داخل بذر را تسهیل می‌کنند. تحت تنش خشکی، نانوذرات نقره منجر به جوانه‌زنی مطلوب و رشد و استقرار سریع آویشن باغی و دناپی شد (Ghavam, 2019). جوانه‌زنی مطلوب و رشد سریع گیاهچه، باعث استقرار بهتر گیاه و کاهش رقابت با گیاهان دیگر می‌شود که تحت شرایط تنش خشکی اسیدهیومیک و نانوذرات نقره تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی و شاخص‌های جوانه‌زنی داشتند (جدول‌های ۶ و ۷). طبق نتایج به‌دست آمده نانوذرات اثرات مفیدی در جوانه‌زنی بذر و خصوصیات موفولوژیکی دانه‌رست‌های گیاهان دارویی تحت شرایط تنش داشته‌اند (Abbasi Khalaki et al., 2021). در گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor*) اسیدهیومیک تأثیر مثبتی بر خصوصیات رشدی گیاه تحت شرایط تنش شوری داشت (Adam et al., 2022).

در شرایط تنش گیاه رشد خود را متوقف می‌کند در حالی که به‌منظور فراهم کردن بیشتر آب، تجمع مواد محلول سازگار را در سلول‌ها افزایش می‌دهد که به این فرایند تنظیم اسمزی گفته می‌شود و شامل تجمع پلی‌اول‌ها، قندها، اسیدهای آمینه از جمله پرولین می‌باشد (Shaltout et al., 2022). طبق نتایج به‌دست آمده میزان پرولین تحت تنش خشکی افزایش نشان داد (جدول‌های ۱۰ و ۱۱) که می‌تواند به‌دلیل نقش پرولین در تنظیم اسمزی باشد، تحت شرایط تنش خشکی گیاهان بخش اعظم منابع نیتروژن و کربن خود را صرف سنتز تنظیم‌کننده‌های اسمزی مانند پرولین می‌کنند که فشار تورژسانس سلول‌های خود را حفظ کنند (Altaf et al., 2022). تحت شرایط تنش پرولین گیاه را در برابر صدمات رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. تجمع قندهای محلول در شرایط تنش خشکی یکی دیگر از سازوکارهای سازگاری گیاه است. که با تغییر بیان بسیاری از ژن‌های متابولیکی همراه است.



شکل ۳- تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ الکترونی از ریشه چه کینوا. A: تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات نقره. B: تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات نقره + ۱۲- بار تنش خشکی. C: تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات نقره + ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک + ۱۲- بار تنش خشکی. D: تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات نقره + ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک + ۱۲- بار تنش خشکی.

Figure 3- Electron microscopic images of quinoa root. A: Treatment of 20 mg L⁻¹ Nano-Ag. B: Treatment of 20 mg L⁻¹ Nano-Ag + -12 drought stress. C: 20 mg L⁻¹ Nano-Ag treatment + 300 mg L⁻¹ humic acid D: treatment 20 mg L⁻¹ Nano-Ag + 300 mg L⁻¹ humic acid + -12 drought stress.

سلولی نفوذ کنند و منافذ جدیدی را برای نفوذ آب در پوسته بذر ایجاد کنند و به این ترتیب سرعت جوانه زنی را افزایش دهند. با افزایش غلظت نانوذرات نقره و اسیدهیومیک میزان پرولین، قندهای محلول، فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش خشکی افزایش نشان داد که بیان گر نقش مثبت نانوذرات نقره و اسیدهیومیک برای افزایش تحمل به خشکی در گیاه کینوا است. با توجه به این که یکی از شاخص های مقاومت به خشکی داشتن طول ریشه چه بیشتر است، نانوذرات نقره و اسیدهیومیک تحت شرایط تنش خشکی میزان طول ریشه چه ی کینوا را نسبت به شاهد افزایش دادند. اسیدهیومیک و نانوذرات نقره با افزایش در سرعت

نتیجه گیری کلی

طبق به نتایج به دست آمده تنش خشکی برخلاف نانوذرات نقره و اسیدهیومیک تأثیر منفی بر درصد جوانه زنی، شاخص های جوانه زنی بذر و خصوصیات مورفولوژیکی دانه رست کینوا داشت. اثر متقابل بین نانوذرات نقره و اسیدهیومیک تحت شرایط تنش خشکی منجر به افزایش درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی بذر، قدرت بذر، طول گیاهچه، ساقه چه و ریشه چه دانه رست کینوا گردید. کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنش خشکی سبب کاهش فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی بذر می شود. نانوذرات می توانند به دیواره

قابل تأیید است. در نتیجه کاربرد اسیدهیومیک در غلظت ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر همراه با ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات نقره برای بهبود جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست کینوا تحت شرایط تنش خشکی توصیه می‌شود.

جذب آب و افزایش حجم ریشه اثر مثبتی بر جوانه‌زنی و تداوم حیات دانه‌رست داشتند. حضور و نفوذ نانوذرات به داخل بذر به وسیله‌ی تصاویر میکروسکوپ الکترونی و نیز تغییرات مشاهده شده در صفات رشدی دانه‌رست کینوا

Reference

منابع

- Abbasi Khalaki, M., M. Moameri, B. Asgari Lajayer, and T. Astatkie. 2021.** Influence of nano-priming on seed germination and plant growth of forage and medicinal plants. *Plant Growth Regul.* 93(1): 13–28.
- Abdul-Baki, A.A, and J.D, Anderson. 1973.** Vigor Determination in Soybean Seed by Multiple Criteria. *Crop Sci.* 13(6): 630-633.
- Adam Y.A.A., M.E.H. Ibrahim, G. Zhou, G. Zhu, A.M.I. Elsidig, M.S.E. Suliman, S.B.M. Elradi, and E.G.I. Salah. 2022.** Interactive Impacts of Soil Salinity and Jasmonic Acid and Humic Acid on Growth Parameters, Forage Yield and Photosynthesis Parameters of Sorghum Plants. *S. Afr. J. Bot.* 146(1): 293-303.
- Aebi, H. 1984.** Catalase in vitro. *Meth. Enzymol.* 105(1): 121-126.
- Akhtar, N., and N. Ilyas. 2022.** Role of nanosilicab to boost the activities of metabolites in *Triticum aestivum* facing drought stress. *Plant and Soil.* Doi: 10.1007/s11104-021-05285-1.
- Altaf, M.A., R. Shahid, M.X. Ren, S. Naz, M.M. Altaf, L.U. Khan, R.K. Tiwari, M.K. Lal, M.A. Shahid, R. Kumar, M.A. Nawaz, M.S. Jahan, B.L. Jan, and P. Ahmad. 2022.** Melatonin Improves Drought Stress Tolerance of Tomato by Modulating Plant Growth, Root Architecture, Photosynthesis, and Antioxidant Defense System. *Antioxidants.* 11(2): 1-16.
- Arslan, E. G., Agar, and M. Aydin. 2021.** Humic Acid as a Biostimulant in Improving Drought Tolerance in Wheat: The Expression Patterns of Drought-Related Genes. *Plant Mol. Biol. Rep.* 39(10): 508–519.
- Azadbakht, F., M. Amini Dehagh, and Kh. Ahmadi. 2018.** Effect of Humic Acid and Folic Acid on Seed Germination Properties of *Echinacea Purpurea* under Salt Stress Conditions. *Iran. J. Seed Res.* 8(28): 33-43.
- Bai, Y., S. Xiao, Z. Zhang, Y. Zhang, H. Sun, K. Zhang, X. Wang, Z. Bai, C. Li, and L. Liu. 2020.** Melatonin improves the germination rate of cotton seeds under drought stress by opening pores in the seed coat. *Peer J.* 8(1): 1-29.
- Banan, A., M.R. Kalbassi, M. Bahmani, E. Sotoudeh, S.A. Johari, M.A. Jonathan, and A.S. Kolok. 2020.** Salinity modulates biochemical and histopathological changes caused by silver nanoparticles in juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27(10): 10671–10678.
- Bates, L.S., R.P. Waldern, and I.D. Teave. 1973.** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 39(1): 205-207.
- Bayat, H., F. Shafie, M.A. Aminifard, and S. Daghighi. 2021.** Comparative effects of humic and fulvic acids as biostimulants on growth, antioxidant activity and nutrient content of yarrow (*Achillea millefolium* L.). *Sci. Hortic.* 279(1): 1-12.
- Bayati, P., H. Karimjojeni, J. Razmjoo, M. Pucci, G. Abate, T.C. Baldwin, and A. Mastinu. 2022.** Physiological, Biochemical, and Agronomic Trait Responses of *Nigella sativa* Genotypes to Water Stress. *Sci. Hortic.* 8(3): 1-18.
- Bayramzadeh, V., E. Mortazavi, M.H. Davoodi, Sh. Kheiri, and S.Kh. Hossein Ashrafi. 2018.** The durability of negative effects of silver nanoparticles on seed germination and growth characteristics of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in soil. *Iranian J. Forest Poplar Res.* 26(1): 1-11. (In Persian)

- Chen, D., Zw. Meng, and Yp. Chen. 2021.** Effect of humic acid on seedling growth and trace metal accumulation of pak choi (*Brassica chinensis* L.) cultivated on molybdenum slag-spiked soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28(5): 6122–6131.
- Chen, Q., Z. Qua, G. Ma, W. Wang, J. Daia, M. Zhanga, Z. Weib, and Z. Liua. 2022.** Humic acid modulates growth, photosynthesis, and hormone and osmolytes system of maize under drought conditions. *Agric. Water Manag.* 263. Doi: 10.1016/j.agwat.2021.107447.
- Dashab, S., and H. Omid. 2021.** Effects of hydro- and bio-priming on some physiological and biochemical characteristics of quinoa (*Chenopodium quinoa*) seedlings under drought stress. *Iran. J. Plant Physiol.* 11(3): 3659-3670.
- Ebrahimi, M., and E. Miri Karbasak. 2016.** Investigation effect of humic acid on germination, seedling growth and Photosynthesis pigments of medicinal plant Isabgol (*Plantago ovata* Forssk). *Iran. J. Seed Res.* 3(3): 35-46.
- Fathi, Z., R.A. Khavari Nejad, H. Mahmoodzadeh, and T. Nejad Satari. 2017.** Investigating of a wide Range of concentrations of multi-walled carbon nanotubes on germination and growth of castor seeds (*Ricinus communis* L.). *J. Plant Prod. Sci.* 57(3): 228-236.
- Gad, M., H. Chao, H. Li, W. Zhao, G. Lu, and M. Li. 2021.** QTL Mapping for Seed Germination Response to Drought Stress in *Brassica napus*. *Front. Plant Sci.* 11(1): 1-10.
- Ghani, M.I., S. Saleem, S.A. Rather, M.S. Rehmani, S. Alamri, V.D. Rajput, H.M. Kalaji, N. Saleem, T.A. Sial, and M. Liu. 2022.** Foliar application of zinc oxide nanoparticles: An effective strategy to mitigate drought stress in cucumber seedling by modulating antioxidant defense system and osmolytes accumulation. *Chemosphere.* 289(1): 1-12.
- Ghavam. M. 2019.** Effect of silver nanoparticles on tolerance to drought stress in *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. in germination and early growth stages. *Environ. Stresses Crop Sci.* 12(2): 555-556. (In Persian, with English Abstract)
- Gholami, Sh., M, Amini Dehaghi, and A.R, Rezazadeh. 2022.** Effect of different concentrations of selenium on germination characteristics and proline content of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd) under drought stress. *Environ. Stresses Crop Sci.* 14(4): 1029-1040. (In Persian, with English Abstract)
- Han, Y., Z. Hou, X. Zhang, K. Yan, Z. Liang, and Q He. 2022.** Important changes in germination, seedling tolerance, and active components content due to drought stress on three licorice (*Glycyrrhiza*) species. *Ind. Crops Prod.* 175(1): 1-11.
- Hunter, E.A., C.A. Glasbey, and R.E.L. Naylor. 1984.** The analysis of data from germination tests. *J. Agric. Sci.* 102(1): 207-213.
- Irigoyen, J.J., D.W. Emerich, and M. Sanchez-Diaz. 1992.** Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiol. Plant.* 84(1): 55-60.
- Karimi Afshar, A., A. Baghizadeh, and Gh. Mohammadi-Nejad. 2021.** Screening of Iranian Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Ecotypes under Normal Moisture and Drought Conditions using Tolerance Indices. *J. Ethno-Pharmaceutical Prod.* 2(1):17-22.
- Krizek, D.T., G.F. Kramer, A. Upadhyaya, and R.M. Mirecki. 1993.** UV-B response of cucumber seedlings grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. *Physiol. Plant.* 88(2): 350-358.
- Li, H., H. Yue, J. Xie, J. Bu, L. Li, X. Xin, Y. Zhao, H. Zhang, L. Yang, J. Wang, and X. Jiang. 2021.** Transcriptomic profiling of the high-vigour maize (*Zea mays* L.) hybrid variety response to cold and drought stresses during seed germination. *Sci. Rep.* 11(1): 1-17.
- Liopa-Tsakalidi, A., G. Kaspiris, G. Salahas, and P. Barouchas. 2012.** Effect of salicylic acid (SA) and gibberellic acid (GA₃) pre-soaking on seed germination of stevia (*Stevia rebaudiana*) under salt stress. *J. Med. Plant Res.* 6(3): 416-423.
- Manaa, A., R. Goussi, W. Derbali, S. Cantamess, J. Essemin, and R. Barbato. 2021.** Photosynthetic performance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) after exposure to a gradual drought stress followed by a recovery period. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 1862(5): 1-13.

- Meda, A., C.E. Lamien, M. Romito, J. Millogo, and O.G. Nacoulma. 2005.** Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. *Food Chem.* 91(3): 571-577.
- Nejatzadeh, F. 2021.** Effect of silver nanoparticles on salt tolerance of *Satureja hortensis* l. during in vitro and *in vivo* germination tests. *Heliyon.* 7(2): 1-11.
- Nejatzadeh, F. 2021.** Effect of silver nanoparticles on salt tolerance of *Satureja hortensis* l. during in vitro and in vivo germination tests. *Heliyon.* 7(2): 1-11.
- Nguyen, D.T.C., H.T.N. Le, T.T. Nguyen, T.T.T. Nguyen, L.G. Bach, T.D. Nguyen, and T.V. Tran. 2021.** Multifunctional ZnO nanoparticles bio-fabricated from *Canna indica* L. flowers for seed germination, adsorption, and photocatalytic degradation of organic dyes. *J. Hazard. Mater.* 420(1): 1-16.
- Pagter, M., C. Bragato, M. Malagoli, and H.J. Brix. 2009.** Osmotic and ionic effects of NaCl and Na₂SO₄ salinity on *Phragmites australis*. *Aquat. Bot.* 90(1): 43-51.
- Parveen, A., and S. Rao. 2015.** Effect of Nanosilver on Seed Germination and Seedling Growth in *Pennisetum glaucum*. *J. Clust. Sci.* 26(3): 693-701.
- Ranal, M.A, and D.G. Santana. 2006.** How and Why to Measure the Germination Process? *Rev. Bras. Bot.* 29(1): 1-11.
- Rao, S., and G.S. Shekhawat. 2016.** Phytotoxicity and oxidative stress perspective of two selected nanoparticles in *Brassica juncea*. *3 Biotech.* 6(2): 1-12. DoI: 10.1007/s13205-016-0550-3.
- Sales, E., E. Cañizares, C. Pereira, M.A. Pérez-Oliver, S.G. Nebauer, I. Pavlović, O. Novák, J. Segura, and I. Arrillaga. 2022.** Changing Temperature Conditions during Somatic Embryo Maturation Result in *Pinus pinaster* Plants with Altered Response to Heat Stress. *Int. J. Mol. Sci.* 23(3): 1-16.
- Savassa, S.M., H. Castillo-Michel, A.E. Pradas Del Real, J. Reyes-Herrera, J.P.R. Marques, and H.W.P. Carvalho. 2021.** Ag nanoparticles enhancing *Phaseolus vulgaris* seedling development: understanding nanoparticle migration and chemical transformation across the seed coat. *Environ. Sci. Nano.* 8(7): 493-501.
- Shaltout, K., M. Motawee, D. Ahmed, and M. EL- Etreby. 2022.** Effect of Foliar Spray with K and Mn on the Growth of *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. Under Different Drought Levels. *J. Bas. Environ.Sci.* 9(1): 1-11
- Shen, J., MJ. Guo, Y.G. Wang, X.Y. Yuan, Y.Y. Wen, X.E. Song, S.Q. Dong, and P.Y. Guo. 2020.** Humic acid improves the physiological and photosynthetic characteristics of millet seedlings under drought stress. *Plant Signal Behav.* 15(8): 1-13.
- Shi, P., and M. GU. 2020.** Transcriptome analysis and differential gene expression profiling of two contrasting quinoa genotypes in response salt stress. *BMC Plant Biol.* 20(1): 1-15.
- Yañez-Yazlle, M.F., N. Romano-Armada, M.M. Acrechede, V.B. Rajal, and V.P. Irazusta. 2021.** Halotolerant bacteria isolated from extreme environments induce seed germination and growth of chia (*Salvia hispanica* L.) and quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under saline stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 218(1): 1-11.
- Yigider, E., M. Taspinar, M. Aydin, and G. Agar. 2021.** Humic acid effects on retrotransposon polymorphisms caused by zinc and iron in the maize (*Zea mays* L.) genome. *Cereal Res. Commun.* 49(2): 193-198.
- Zhou, X., X. Jia, Zh. Zhang, K. Chen, L. Wang, H. Chen, Z. Yang, Ch. Li, and L. Zhao. 2022.** AgNPs seed priming accelerated germination speed and altered nutritional profile of *Chinese cabbage* AXiaoding. *Sci. Total Environ.* 808(1): 1-16.