



## Effects of calcium nano-particle on some physiologic and biochemical characteristics of *Ocimum basilicum* L. under salinity stress

Mahyar Gerami<sup>1\*</sup>, Davood Akbari Nodehi<sup>2</sup>, Mohadeseh Amiri<sup>3</sup> and Emad Darvakh<sup>4</sup>

1\*- Corresponding author, Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran, E-mail: mahyar.gerami@yahoo.com

2- Islamic Azad University of Qaemshahr Branch, Qaemshahr, Iran

3- Department of Rangeland Science, Faculty of Natural Resources, Esfahan University of Technology, Esfahan, Iran; Department of Agricultural Sciences, Technical and Vocational University, Tehran, Iran

4- Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran

Received: August 2023

Revised: December 2023

Accepted: February 2024

### Abstract

**Background and objectives:** Nowadays, due to the revelation of the harmful effects of chemical drugs for most users, the desire to use medicinal plants has increased significantly. Basil (*Ocimum basilicum* L.) is one of the most important medicinal plants of great interest in various pharmaceutical industries due to its valuable and vital secondary metabolites, such as essential oil. However, salinity is considered a major constraint for its productivity. Soil and irrigation water salinity is a major constraint for crop production. In salinity-rich soils, the osmotic pressure increases, and the plant must burn more vital energy to absorb water. Increasing the salinity tolerance of plants for sustainable food production, especially in arid and semi-arid regions, can reduce the need for irrigation and, thus, production costs. Since using calcium nanoparticles increases nutrient utilization efficiency, reducing soil toxicity, minimizing the adverse effects of over-fertilization and reducing the frequency of fertilizer application, the present study investigates the effect of calcium nanoparticles on physiologic and biochemical properties of basil medicinal plant under salinity stress.

**Materials and Methods:** The plants were treated with calcium nanoparticles in five levels by spraying with concentrations of 0, 0.25, 0.5, 1 and 1.5 g/l and salt concentrations of 0.75 and 150 mM along with Hoagland solution in a completely randomized design in a greenhouse environment with three replications. Some growth characteristics such as height, number of leaves, leaf area, fresh and dry weight, amount of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid content of the plant were measured. Some biochemical characteristics such as flavonoid, soluble sugar, anthocyanin content and antioxidant enzymes such as catalase and peroxidase were also measured. The least significant difference (LSD) test was used to compare the means in SAS software.

**Results:** The results of ANOVA showed a significant effect of calcium nanoparticles on most morphological traits. Also, different salinity levels alone significantly affected the studied traits ( $p < 0.01$ ). Following the reduction of the osmotic potential of the soil solution due to salinity stress, water absorption decreases and as a result of stomata closing, the photosynthesis and respiration decrease. The mean comparison of the simple effect of calcium nanoparticles on chlorophyll pigments showed that with increasing the nanoparticle level, chlorophyll content increased, and as a result, photosynthesis improved. The simple effect of different salinity levels on some traits (phenol, soluble sugar, peroxidase enzyme and anthocyanin) showed that increasing the salinity level caused an increase in these traits. So, at the concentration of 150 mM salinity, phenol content with 8.02 mg of gallic acid per g of dry weight showed the highest amount compared to the control sample of 10.5 mg. Also, the soluble sugar content was the highest at this salinity concentration, with 139.9 mg/g dry weight, compared to the control, with 110.9 mg/g dry weight. The interaction effect of calcium nanoparticles and salinity on basil's morphological



characteristics and carotenoid content was insignificant. However, it was significant in the chlorophyll content, the amount of flavonoids and catalase ( $p<0.01$ ). In fact, with nano fertilizers, the plant can absorb more nutrients, and while reducing the leaching of elements, the yield of the product increases.

**Conclusion:** The results of this study suggest that the physiological and biochemical characteristics of Basil were affected by salinity stress, and the interaction of nano calcium with salinity stress reduced the effects of salinity stress. Therefore, spraying the nano-fertilizer in an appropriate concentration is suggested to improve the yield of basil in salinity stress conditions.

**Keywords:** Medicinal plant, nanofertilizer, osmotic potential, tolerance to salinity.

## اثر محلول پاشی نانو ذره کلسیم بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) تحت تنش شوری

مهیار گرامی<sup>۱\*</sup>، داوود اکبری نودهی<sup>۲</sup>، محدثه امیری<sup>۳</sup> و عماد درواخ<sup>۵</sup>

۱- نویسنده مسئول، دانشیار، مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری، ایران، پست الکترونیک: mahyar.gerami@yahoo.com

۲- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر، قائم شهر، ایران

۳- دانش آموخته دکترا، گروه علوم مرتع، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران؛ گروه علوم کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران

۵- دانش آموخته کارشناسی ارشد تولید و بهره‌برداری گیاهان دارویی و معطر، مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری، ایران

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۲

تاریخ اصلاح نهایی: آذر ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۲

### چکیده

سابقه و هدف: امروزه به دلیل آشکار شدن اثرهای سوء مصرف داروهای شیمیایی برای بیشتر مصرف‌کنندگان، تمایل به مصرف گیاهان دارویی افزایش قابل ملاحظه‌ای یافته است. ریحان (*Ocimum basilicum L.*) یکی از مهمترین گیاهان دارویی است که به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه با ارزش و مهمی مانند اسانس‌ها در صنایع مختلف داروسازی بسیار مورد توجه است، اما شوری خطری جدی برای تولید آن محسوب می‌شود. شوری آب و خاک از مهمترین عوامل محدود کننده در تولید محصول هستند. با افزایش شوری خاک، فشار اسمزی افزایش یافته و گیاه برای جذب مقدار معینی آب، باید انرژی حیاتی بیشتری مصرف کند. افزایش تحمل به شوری گیاهان برای تولید غذای پایدار به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک ضروری است و می‌تواند نیاز آبخویی و هزینه‌های تولید را کاهش دهد. از آنجایی‌که استفاده از نانوذرات کلسیم سبب افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی، کاهش سمیت خاک، به حداقل رساندن اثرهای منفی ناشی از مصرف بیش از حد کود و کاهش تعداد دفعات کاربرد کود می‌گردد، این مطالعه به بررسی اثر نانوذره کلسیم بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ریحان تحت شرایط تنش شوری پرداخت.

مواد و روش‌ها: تیمار نانوذره کلسیم در پنج سطح به صورت محلول پاشی با غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم بر لیتر و تیمار شوری با غلظت‌های ۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به همراه محلول هوگلند در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در محیط گلخانه به گیاهان داده شد. برخی خصوصیات رشدی مانند ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک گیاه اندازه‌گیری شدند. برخی خصوصیات بیوشیمیایی مانند فلاونوئید، قند محلول، مقدار آنتوسیانین، میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز، مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و مقدار کاروتنوئید نیز اندازه‌گیری گردیدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در نرم‌افزار SAS استفاده شد.

نتایج: نتایج آنالیز واریانس اثر کلسیم بر بیشتر صفات مورفولوژیک معنی‌دار بود. سطوح مختلف شوری نیز به تنهایی اثر معنی‌داری بر صفات مورد مطالعه داشت ( $p < 0.1$ ). طبق مقایسه میانگین اثر ساده کلسیم بر رنگیزه‌های کلروفیلی، با افزایش سطح کلسیم، رنگیزه‌های کلروفیلی افزایش و فتوسنتز بهبود یافت. اثر ساده سطوح مختلف شوری بر روی برخی صفات (فنل، قند محلول، آنزیم پراکسیداز و آنتوسیانین) نشان داد که افزایش سطح شوری سبب افزایش مقدار صفات مورد مطالعه گردید، به گونه‌ای که در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری مقدار فنل با ۸/۰۲ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک نسبت به نمونه شاهد (۵/۱۰ میلی‌گرم) بیشترین مقدار را نشان داد. همچنین در این غلظت شوری، مقدار قند محلول با ۱۳۹/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نسبت به نمونه شاهد با ۱۱۰/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بیشترین مقدار را داشت. اثر متقابل کلسیم و شوری تنها بر محتوای کلروفیلی، مقدار فلاونوئیدها و کاتالاز معنی‌دار بود ( $p < 0.1$ ).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر این مطلب بود که صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه ریحان تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفتند و کلسیم در برهم‌کنش با تنش شوری سبب کاهش اثرهای مخرب تنش شوری شد. بنابراین، برای بهبود عملکرد گیاه ریحان در شرایط تنش شوری، محلول‌پاشی نانوکود کلسیم در غلظت‌های مطلوب پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: گیاه دارویی، نانوکود، پتانسیل اسمزی، تحمل به شوری.

## مقدمه

شوری از عوامل مهم کاهش عملکرد، رشد و کیفیت بسیاری از محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان به‌شمار می‌رود و اثرهای زیانباری بر تولید دارد. کره زمین یک سیاره شور است و بیشتر آب آن محتوی حدود ۳۰ گرم بر لیتر کلرید سدیم (NaCl) می‌باشد. این آب‌های شور اراضی کشاورزی را تحت تأثیر قرار داده و توسعه کشت محصولات کشاورزی را تهدید می‌کنند (Bandehagh et al., 2018). نزدیک به ۲۵ میلیون هکتار از اراضی کشور، با پدیده شوری مواجه‌اند و کیفیت آب آبیاری آنها نیز در گروه آب‌های شور و تا حدودی شور طبقه‌بندی می‌شود (Tazikeh et al., 2013).

گیاهان زراعی تا حد آستانه‌ای می‌توانند در برابر شوری مقاومت کنند و پس از آن با افزایش شوری، عملکردشان به صورت خطی کاهش می‌یابد (Amiri et al., 2020). شوری بالا و افزایش غلظت عناصر معدنی خاک، جذب برخی عناصر غذایی را دچار اختلال می‌کند و تأثیر بارزی نیز بر درصد جوانه‌زنی بذر، استقرار گیاه، رشد نهال و تولید محصول دارد. در خاک‌های شور، ترکیب اصلی نمک، کلرید سدیم است. حضور یون‌های نمک به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک در محیط ریشه، مانع از جذب آب توسط گیاه و ایجاد نوعی خشکی فیزیولوژیک یا تنش کمبود آب می‌گردد. یون سدیم ( $\text{Na}^+$ ) از عناصر ضروری برای رشد گیاه نیست و در صورت حضور بیش از حد، به‌عنوان یک عنصر سمی عمل کرده و برای جذب یون پتاسیم ( $\text{K}^+$ ) مزاحمت ایجاد می‌کند. همچنین، اثرهای سمی یون‌های نمک سبب به تأخیر افتادن فرایندهای اولیه جوانه‌زنی شده و حتی در سطوح بالا، با القاء تنش شوری در گیاه به دلیل کاهش پایداری غشاء به تخریب

هومئوستازی سلول، به تدریج به توقف رشد و حتی مرگ گیاه منجر می‌شود (Amirjani, 2011; Saadatian et al., 2012). در مرحله جوانه‌زنی بذر، شوری سبب آسیب دیدن غشاء سلولی به‌ویژه غشاء سیتوپلاسمی و افزایش تراوایی آن به دلیل جایگزینی یون کلسیم ( $\text{Ca}^{2+}$ ) به‌وسیله یون سدیم می‌شود که به‌دنبال آن تلفات یون پتاسیم افزایش می‌یابد (Tazikeh et al., 2013). هر گیاهی که در این مرحله از زندگی مقاومت بیشتری نشان دهد، شانس بیشتری برای بقا و تولیدمثل خواهد داشت. افزایش تحمل به شوری می‌تواند نیاز آبتجویی و هزینه‌های تولید را کاهش دهد (Dashti et al., 2011). در مورد برخی گیاهان مانند ریحان (*Ocimum basilicum* L.)، افزایش مقاومت به شوری ضروری به‌نظر می‌رسد. ریحان گیاهی معطر، دارویی و ادویه‌ای متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است که به‌عنوان سبزی در رژیم غذایی نیز استفاده می‌شود. اندام مورد استفاده این گیاه علفی یک‌ساله، برگ، بذر و سرشاخه‌های گلدار آن است. این گیاه به دلیل وجود مقدار زیادی اسانس در اندام‌های رویشی و نیز ترکیبات ثانویه متنوع در اسانس آن، حائز اهمیت بسیاری می‌باشد. اسانس ریحان، خواص ضدویروسی، ضدباکتریایی، ضدانگلی و ضدقارچی دارد و یک آنتی‌اکسیدان قوی به‌شمار می‌رود. همچنین، گونه‌های مختلف جنس ریحان به دلیل دارا بودن پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها سابقه استفاده طولانی به‌عنوان گیاهان دارویی دارند (Al-Snafi, 2021; Kheshti et al., 2022). به‌نظر می‌رسد یکی از راهکارهای مناسب برای کاهش یا تعدیل اثر شوری بر عملکرد، استفاده از فناوری نانو و محلول‌پاشی با عناصر ریزمغذی باشد. استفاده از نانوکودها سبب کاهش سمیت خاک و آلودگی‌های زیست‌محیطی، افزایش کارایی

همکاران (۲۰۱۶) تأثیر نانوکلات آهن را بر رشد گیاه ریحان و Ghahremani و همکاران (۲۰۱۴) اثر نانوکودهای فسفر، پتاسیم و ازت در غلظت‌های بالا را بر افزایش کلروفیل کل در گیاه ریحان بررسی کردند.

در این راستا، هدف این پژوهش بررسی اثر محلول‌پاشی نانوذره کلسیم بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش شوری می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی مؤسسه آموزش عالی سنا بر روی گیاه ریحان انجام شد. ابتدا بذره‌های شناسنامه‌دار این گیاه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و در خزانه نشاء گردید. سپس یک گیاهچه چهار برگگی در هر گلدان حاوی پیت‌ماس و پرلیت مستقر شد. نیاز تغذیه‌ای آنها از طریق محلول هوگلند تأمین شد. گلدان‌ها به مدت ۱۶ ساعت در نور (۱۰۰۰۰-۸۰۰۰ لوکس نور) و ۸ ساعت در تاریکی با رطوبت نسبی ۶۰٪ و میانگین دمای  $25 \pm 5$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح شوری (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و ۵ سطح نانوذره کلسیم (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ گرم در لیتر) بودند. ده روز پس از استقرار گیاهان، به مدت سه هفته، تیمار نانوذره کلسیم به صورت کربنات کلسیم با اندازه ۴۵-۱۰ نانومتر در غلظت‌های مختلف به صورت محلول‌پاشی به گیاهان داده شد. به منظور اعمال تنش شوری، غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار از نمک کلرید سدیم به محلول هوگلند اضافه و در سه نوبت، هفته‌ای یک‌بار پس از تیماردهی نانوذره کلسیم اعمال شد. گلدان‌های حاوی گیاه پس از تیماردهی در شکل ۱ نشان داده شده‌اند. پس از پایان مراحل ذکر شده، برخی خصوصیات رشدی مانند ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک، مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل و مقدار کاروتنوئید گیاه اندازه‌گیری شد. برخی خصوصیات بیوشیمیایی مانند فلاونوئید، قند محلول، مقدار آنتوسیانین و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز نیز اندازه‌گیری گردید.

عناصر غذایی و کارایی مصرف کود می‌گردد که دلیل آن رهایش تدریجی، ثبات و تأثیرگذاری بالا، انحلال‌پذیری مناسب، غلظت مؤثر، جذب و انتقال آسان آنها نسبت به سایر کودها می‌باشد (Abdel-Hakim *et al.*, 2023). کلسیم یک عنصر ضروری برای گیاهان است که مهم‌ترین نقش آن، استحکام دیواره سلولی، حفظ انسجام و پایداری غشاء، کنترل تبادلات و انتخاب‌پذیری یون‌هاست (Thor, 2019). همچنین در متابولیسم گیاه و کمیّت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه مؤثر است (Badihi *et al.*, 2021). عنصر کلسیم به دلیل کارکرد ویژه خود در گیاهان و از طریق تداخل با عناصر دیگر مانند سدیم، اهمیت بسیار زیادی در کنترل تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش شوری دارد (Kafi *et al.*, 2013). سطوح بالای کلسیم سبب کاهش نفوذ سدیم به غشاء پلاسمایی گیاه و سبب کاهش تجمع سدیم از طریق انتقال غیرفعال و کاهش سمیت خاک می‌گردد (Witte *et al.*, 2019).

کلسیم به‌عنوان یک پیام‌رسان ثانویه در مسیر انتقال پیام در سلول ایفای نقش می‌کند. نقش پیام‌رسانی کلسیم، پاسخ به تنش‌های ناشی از عوامل فیزیولوژیک و غیرفیزیولوژیک و کمک به جذب سایر عناصر غذایی در گیاهان است (Jahani *et al.*, 2014). در محلول خاک‌های شور حفظ غلظت کلسیم به میزان کافی عامل مهمی در کنترل شدت سمیت یون‌های ویژه، به‌خصوص در محصولات است که به آسیب کلر و سدیم حساس هستند. کلسیم در مکان‌های پیوندی غشاء به آسانی جایگزین سایر کاتیون‌ها می‌شود. این موضوع ممکن است با کاهش فراهمی کلسیم به‌طور جدی آسیب ببیند. به عبارت دیگر، افزایش غلظت کلسیم از این جانمایی جلوگیری می‌کند (Mazloomi *et al.*, 2011).

در بررسی تأثیر تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیک، میزان اسانس و انباشت یونی در گیاه ریحان توسط Archangi و Khodambashi (۲۰۱۴) و شبیه‌سازی پاسخ گیاه ریحان به شوری آب آبیاری توسط Sarai Tabrizi و همکاران (۲۰۱۵) نشان داده شد که گیاه ریحان به‌شدت به تنش شوری حساس است و تحت این تنش در رشد گیاه نیز اختلال ایجاد می‌گردد. Kalteh و همکاران (۲۰۱۴) اثر نانوذرات سیلیس، Gholami و



شکل ۱- اثر نانو ذره کلسیم (a) و نانو ذره کلسیم × شوری (b) بر گیاه ریحان

**Figure 1. Effects of calcium nanoparticle (a) and calcium nanoparticle × salinity (b) on basil**

Ca<sub>0</sub>, Ca<sub>1</sub>, Ca<sub>2</sub>, Ca<sub>3</sub> (calcium nanoparticle), and Ca<sub>4</sub>: 0, 0.25, 0.5, 1, and 1.5 g.l<sup>-1</sup>, respectively; S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, and S<sub>2</sub> (salinity levels): 0, 75, and 150 mM, respectively.

اندازه گیری صفات بیوشیمیایی

اندازه گیری میزان قند محلول

برای سنجش میزان قند محلول، ۰/۱ گرم بافت خشک گیاه با ۵ میلی مولار اتانول ۸۰٪ در آون چینی خرد و به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری قرار داده شد. سپس، عصاره الکلی حاوی قند محلول جدا شد و قسمت پایینی همراه با ۵ میلی مولار اتانول ۸۰٪ دوباره برای تکرار عصاره گیری به حمام آب جوش منتقل گردید. عمل استخراج با اتانول ۴ مرتبه تکرار شد. پس از استخراج به منظور تبخیر الکل، عصاره بدست آمده در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. برای حذف کلروفیل عصاره حاصل به نسبت ۱:۵ با کلروفرم مخلوط و بعد از ورتکس به مدت ۵ دقیقه به حال سکون رها شد. قسمت بالایی عصاره بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. قسمت شفاف بالایی جدا و برای اندازه گیری قند محلول استفاده گردید. اندازه گیری قند به وسیله آنترون و طبق روش McCready و همکاران (۱۹۵۰) انجام شد. ۳ میلی لیتر محلول آنترون به ۲۰۰ میکرو لیتر عصاره اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از سرد شدن نمونه ها میزان جذب آنها در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه گیری و میزان قند بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک بیان شد.

تهیه محلول غذایی هوگلند برای تأمین نیاز تغذیه ای گیاهان

محلول غذایی هوگلند (Hoagland & Arnon, 1950) ترکیبی از ۰/۵ میلی مولار پتاسیم هیدروژن فسفات (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), ۲/۵ میلی مولار پتاسیم نترات (KNO<sub>3</sub>), ۲/۵ میلی مولار کلسیم نترات (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), ۱ میلی مولار منیزیم سولفات (MgSO<sub>4</sub>), ۲۳ میکرو مولار اسید بوریک (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), ۵ میکرو مولار منگنز کلرید (MnCl<sub>2</sub>), ۰/۴ میکرو مولار سولفات روی (ZnSO<sub>4</sub>), ۰/۲ میکرو مولار سولفات مس (CuSO<sub>4</sub>) و ۰/۰۷ میکرو مولار اسید مولیبدیک (H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>) بود.

اندازه گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ

برای اندازه گیری میزان کلروفیل از روش آرنون (Arnon, 1949) استفاده شد. بدین ترتیب که ۰/۵ گرم از هر نمونه برگ در ۵ میلی لیتر استون ۸۰٪ هموژن گردید و پس از انجام سانتریفوژ با دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه مایع رویی را برداشته و حجم آن به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس میزان جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu uv 180) در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و میزان جذب کاروتنوئید در طول موج ۴۸۰ نانومتر تعیین گردید.



## سنجش آنتوسیانین کل

به منظور سنجش میزان آنتوسیانین کل، مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاه ریحان با ۴ میلی لیتر متانول اسیدی (شامل متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۱:۹۹) در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس، به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. پس از برداشت قسمت رویی، جذب محلول‌ها در طول موج‌های ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از محلول متانول اسیدی به عنوان شاهد استفاده گردید. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$A = A_{530} - (0.25 \times A_{657})$$

در رابطه ذکر شده؛ A، جذب محلول و اندیس‌ها نشانگر طول موج‌هایی هستند که جذب در آنها اندازه‌گیری شد (Mita *et al.*, 1997).

## سنجش مقدار فلاونوئید کل

از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئیدها استفاده شد (Chang *et al.*, 2002). برای تهیه عصاره متانولی گیاه، ۱۰۰ گرم از اندام‌های هوایی خشک شده گیاه در ۱ لیتر متانول خیسانده شد و به وسیله سوکسله در دمای حدود ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت عصاره‌گیری شد. هر یک از عصاره‌های متانولی گیاه (۵ ml / ۰/۵ ml) از  $1:10 \text{ g.ml}^{-1}$  به صورت جداگانه با  $1/5$  میلی لیتر متانول،  $0/1$  میلی لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰٪ متانول)،  $0/1$  میلی لیتر استات پتاسیم (۱M) و  $2/8$  میلی لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. جذب هر ترکیب واکنشی در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با محلول‌های کوئرستین (Quercetin, Sigma Chemical) (Co) متانولی در غلظت‌های  $1000-250 \mu\text{g.ml}^{-1}$  تهیه شد، سپس رابطه خط  $y = bx + a$  برحسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک بدست آمد.

## سنجش مقدار فنل کل

مقدار ترکیبات فنل کل با معرف فولین - سیوکالتیو تعیین شد. برای سنجش مقدار فنل‌های کل، حدود ۱ گرم از برگ‌های خشک پودر شده گیاه در ۱۰ میلی لیتر متانول به مدت ۲ دقیقه ساییده شد و محلول حاصل پس از عبور از کاغذ صافی، سانتریفوژ گردید. به نیم میلی لیتر از عصاره رقیق شده، ۵ میلی لیتر فولین رقیق شده (۱:۱۰) رقیق شده با آب مقطر) و بعد ۴ میلی لیتر  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  آبی (۱M) اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه باقی ماندند و جذب آنها در ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های مختلفی ( $1500-0 \text{ mg.l}^{-1}$ ) از اسیدگالیک در متانول تهیه و بعد مانند روش سنجش میزان فلاونوئیدهای کل، با استفاده از رابطه خط و جذب‌های قرائت شده از نمونه‌ها، میزان غلظت بدست آمد.

## سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

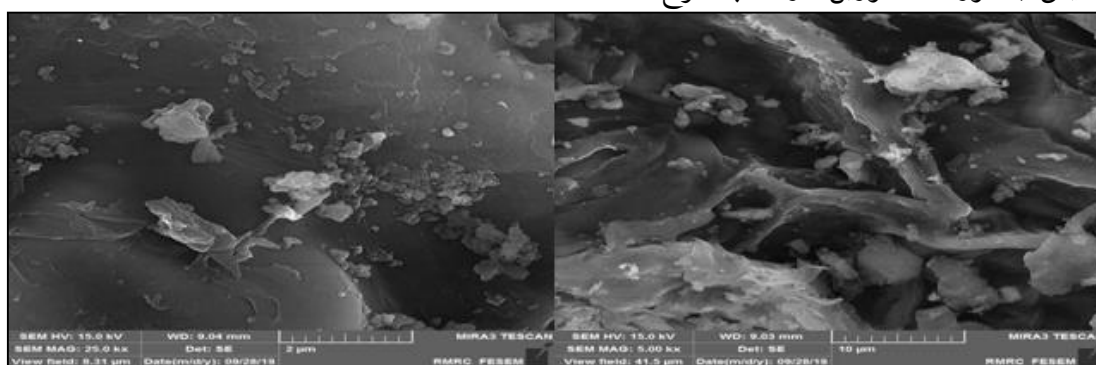
## سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)

برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش In و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. به این ترتیب که ۴۹۰ میکرولیتر بافر پروکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ۲۲۵ میلی مولار و ۴۹۰ میکرولیتر محلول بافر گاپاکول ۴۵ میلی مولار با هم مخلوط گردیدند و به آن ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد. این موارد در کووت ۱ میلی لیتری با هم مخلوط شدند و تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر در ۱ دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. در محلول بلانک به جای عصاره آنزیمی، بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با اسیدیتته خنثی استفاده گردید. فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون بیر-لامبرت و ضریب خاموشی محصول کاتالیز گاپاکول پراکسیداز ( $26/6 \mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )، در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه برحسب  $\Delta\text{Abs}/\text{min}$  ترسیم و در نهایت برحسب واحد زیمایه‌ای در میکروگرم پروتئین ( $\text{Unit } \mu\text{g}^{-1} \text{ protein}$ ) گزارش شد.

تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS استفاده شد. همچنین برای مقایسه میانگین داده‌ها از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) محافظت شده، استفاده گردید. ترسیم نمودارها نیز در نرم‌افزار Excel انجام شد.

### نتایج

آنالیزهای میکروسکوپ الکترونی SEM نشان دادند که نانوذرات کلسیم به شکل کروی بوده و اندازه‌های میانگین آنها حدود ۸۰-۴۰ نانومتر بودند (شکل ۲).



شکل ۲- تصویری از نانوذره کلسیم روی برگ گیاه ریحان توسط میکروسکوپ الکترونی

Figure 2. Scanning electron microscope (SEM) image of calcium nanoparticle on basil leaf

این صفات داشت که این روند کاهشی معنی‌دار نبود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر ساده سطوح مختلف کلسیم بر ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک اندام هوایی گیاه ریحان نشان داد که در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر، بیشترین مقادیر این صفات دیده شد (شکل ۳). نتایج آنالیز واریانس اثر نانوذره کلسیم بر مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه ریحان تحت تنش شوری نشان داد که استفاده از کلسیم بر محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی معنی‌دار بود. سطوح مختلف شوری نیز اثر معنی‌داری بر این صفات داشتند. اثر متقابل کلسیم و شوری بر محتوای کلروفیلی معنی‌دار ( $p < 0/01$ )، ولی در مورد کاروتنوئیدها معنی‌دار نبود (جدول ۳).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با pH برابر ۶/۸ در ۱۰ میلی‌مولار  $H_2O_2$  و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی حل و جذب آن قرائت شد. تجزیه  $H_2O_2$  با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام و میزان فعالیت آنزیم به صورت  $\Delta Abs \cdot \min^{-1} \cdot \mu g^{-1} \text{ protein}$  بیان شد (Cacmak & Horst, 1991).

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً

نتایج آنالیز واریانس اثر کلسیم بر برخی صفات مورفولوژیک گیاه ریحان تحت تنش شوری نتایج آنالیز واریانس اثر کلسیم بر برخی از صفات مورفولوژیک (ارتفاع ساقه، تعداد برگ، طول ریشه، سطح برگ، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی) گیاه ریحان تحت تنش شوری نشان داد که کلسیم اثر معنی‌داری بر کلیه صفات مورد مطالعه بجز تعداد برگ داشت. همچنین سطوح مختلف شوری به تنهایی اثر معنی‌داری بر صفات مورد مطالعه داشت ( $p < 0/01$ )، اما اثرهای متقابل کلسیم و شوری بر صفات مورفولوژیک گیاه ریحان معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف شوری بر برخی از صفات مورفولوژیک (تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک اندام هوایی) گیاه ریحان حکایت از روند کاهشی در



جدول ۱- تجزیه واریانس اثر نانوذره کلسیم بر برخی صفات مورفولوژیک گیاه ریحان تحت تنش شوری

**Table 1. ANOVA of calcium nanoparticle effects on some morphological traits of basil under salinity stress**

Treatment	d.f.	Plant height	Number of leaves	Root length	Leaf area	Aerial parts fresh weight	Aerial parts dry weight
Calcium nanoparticle (C)	4	10.1**	0.31 <sup>ns</sup>	3.4*	877.9**	0.137**	0.028**
Salinity (S)	2	62.47**	27.02**	13.4**	5424.1**	0.628**	0.073**
C × S	8	1.683 <sup>ns</sup>	2.24 <sup>ns</sup>	2.6 <sup>ns</sup>	256.2 <sup>ns</sup>	0.029 <sup>ns</sup>	0.006 <sup>ns</sup>
Experimental error	30	1.38	1.07	1.9	19.37	0.043	0.008
C.V. (%)		3.609	10.632	5.734	1.025	9.414	8.062

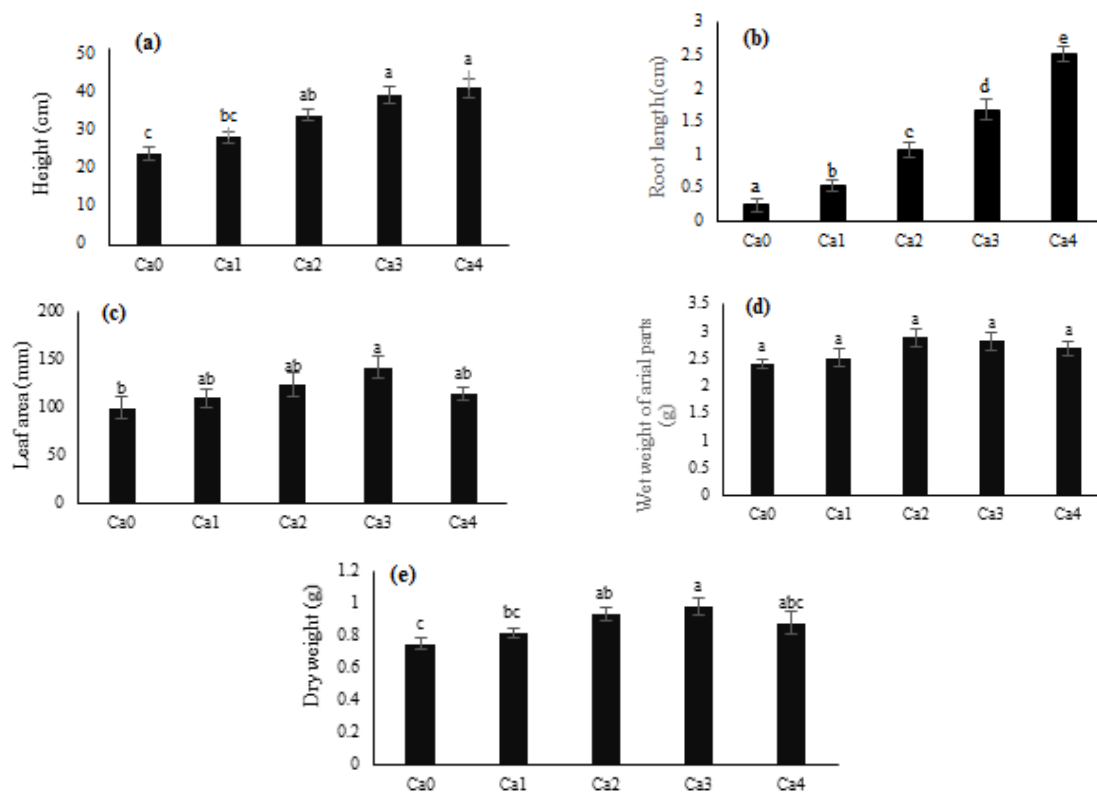
<sup>ns</sup>, \*, and \*\*: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر شوری بر برخی صفات مورفولوژیک گیاه ریحان تحت تنش شوری

**Table 2. Means comparison of salinity effects on some morphological traits of basil under salinity stress**

Treatment	Plant height (cm)	Number of leaves	Root length (cm)	Leaf area (mm <sup>2</sup> )	Aerial parts fresh weight (g)	Aerial parts dry weight (g)
S0	15.27 ± 0.72 <sup>a</sup>	9.33 ± 0.70 <sup>a</sup>	12.33 ± 0.31 <sup>a</sup>	100.11 ± 10.80 <sup>a</sup>	2.40 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.79 ± 0.04 <sup>a</sup>
S1	11.43 ± 0.54 <sup>b</sup>	8.67 ± 0.73 <sup>b</sup>	10.67 ± 0.33 <sup>b</sup>	83.09 ± 5.37 <sup>b</sup>	2.21 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.71 ± 0.08 <sup>b</sup>
S2	11.23 ± 0.69 <sup>b</sup>	8.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	9.67 ± 0.67 <sup>c</sup>	74.05 ± 4.66 <sup>b</sup>	2.22 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.73 ± 0.06 <sup>b</sup>

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test). S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, and S<sub>2</sub>: 0, 75, and 150 mM, respectively.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر ساده نانوذره کلسیم بر (a) ارتفاع گیاه، (b) طول ریشه، (c) سطح برگ، (d) وزن تر و (e) وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه ریحان

**Figure 3. Means comparison of calcium nanoparticle simple effects on (a) plant height, (b) root length, (c) leaf area, (d) aerial parts fresh, and (e) dry weight of basil**

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

Ca<sub>0</sub>, Ca<sub>1</sub>, Ca<sub>2</sub>, Ca<sub>3</sub>, and Ca<sub>4</sub>: 0, 0.25, 0.5, 1, and 1.5 g.l<sup>-1</sup>, respectively.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر نانو ذره کلسیم بر رنگی‌های فتوسنتزی گیاه ریحان تحت تنش شوری

**Table 3. ANOVA of calcium nanoparticle effects on photosynthetic pigments of basil under salinity stress**

Treatment	d.f.	Chlorophyll <i>a</i>	Chlorophyll <i>b</i>	Total chlorophyll	Carotenoids
Calcium nanoparticle (C)	4	0.002**	0.023**	0.030**	0.003**
Salinity (S)	2	0.007**	0.043**	0.074**	0.001*
C × S	8	0.004**	0.014**	0.026**	0.0002 <sup>ns</sup>
Experimental error	30	0.001	0.003	0.004	0.000
C.V. (%)		3.257	2.302	1.105	2.379

<sup>ns</sup>, \*, and \*\*: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively.

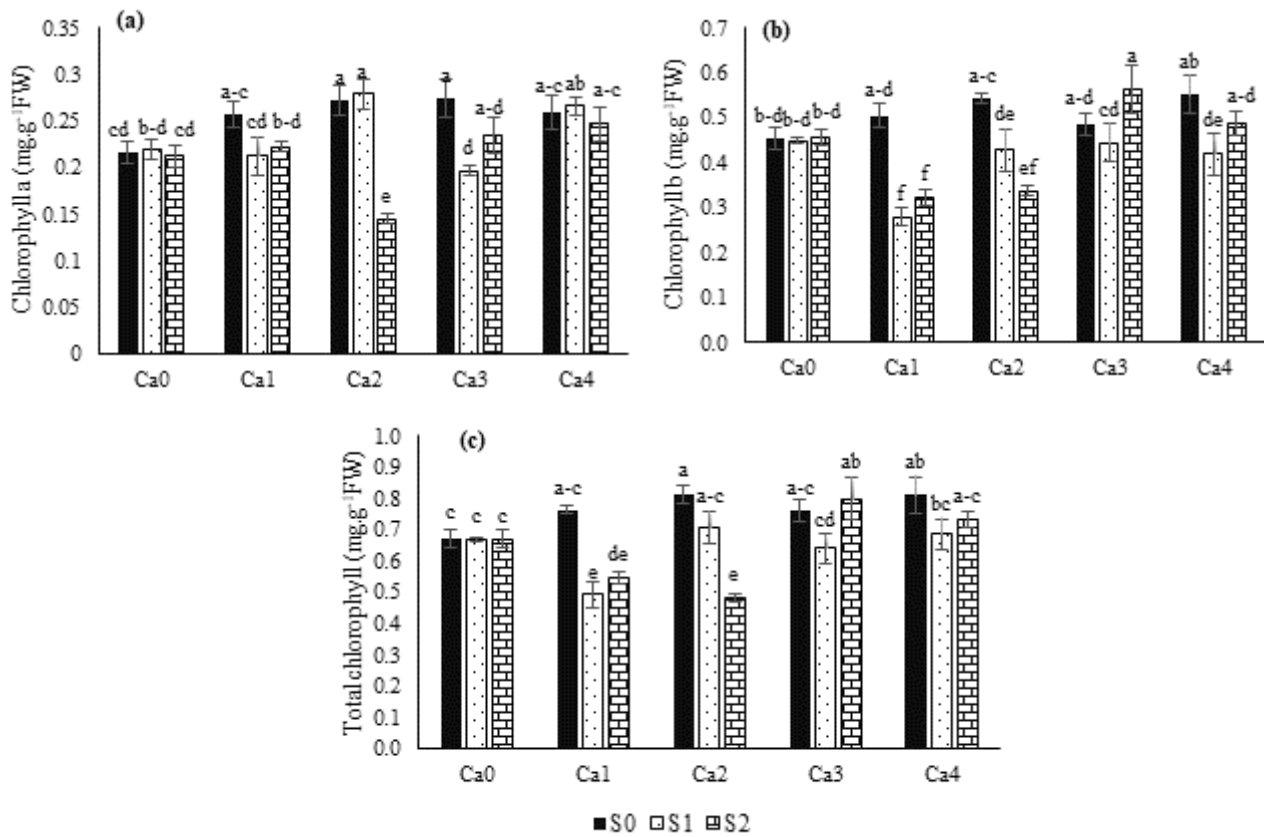
داشت. اثر متقابل کلسیم و شوری بر مقدار کاتالاز نیز حکایت از این داشت که در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری، با افزایش سطوح کلسیم روند افزایشی معنی‌داری در این صفت مشاهده گردید (شکل ۵).

مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف شوری بر مقادیر فنل و قند محلول و آنزیم پراکسیداز و آنتوسیانین گیاه ریحان نشان داد که افزایش سطح شوری، بر صفات مورد مطالعه روند افزایشی داشت، به گونه‌ای که در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری، مقدار فنل با ۸/۰۲ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک، نسبت به نمونه شاهد (۵/۱۰ میلی‌گرم) بیشترین مقدار را داشت. همچنین در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری، قند محلول با ۱۳۹/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و نسبت به نمونه شاهد با ۱۱۰/۹ میلی‌گرم وزن خشک بیشترین مقدار را داشت. مقایسه میانگین اثر ساده سطوح مختلف کلسیم بر مقدار فنل، قند محلول، پراکسیداز و آنتوسیانین نشان داد که افزایش سطح کلسیم بر مقدار این صفات روند افزایشی داشت، به گونه‌ای که غلظت ۱ گرم بر لیتر آن بیشترین مقدار را در صفات مورد مطالعه به خود اختصاص داد (جدول ۵).

مقایسه میانگین اثر متقابل کلسیم و شوری بر گیاه ریحان نشان داد که در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری و در سطوح ۰/۵ و ۱/۵ گرم بر لیتر کلسیم، بیشترین میزان کلروفیل *a* بدست آمد. همچنین اثر متقابل کلسیم و شوری بر کلروفیل *b* و کلروفیل کل گیاه ریحان حکایت از آن داشت که روند منظمی در مقدار این صفات وجود نداشت، به گونه‌ای که در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری، استفاده از غلظت ۱ گرم بر لیتر کلسیم بیشترین مقدار کلروفیل کل را نشان داد (شکل ۴).

نتایج آنالیز واریانس اثر ساده کلسیم بر برخی از صفات بیوشیمیایی (فلاونوئید، فنل کل، قند محلول و آنتوسیانین) و برخی از صفات آنزیمی‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) در شرایط تنش شوری نشان داد که محلول‌پاشی نانو ذره کلسیم توانست اثر معنی‌داری بر کلیه صفات بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی داشته باشد. استفاده از سطوح مختلف شوری نیز اثر معنی‌داری بر صفات مورد مطالعه (بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی) داشت ( $p < 0.01$ ). اثر متقابل کلسیم و شوری بر صفات مقدار فلاونوئیدها در سطح ۵٪ و کاتالاز در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۴).

مقایسه میانگین اثر متقابل کلسیم و شوری بر گیاه ریحان نشان داد که در سطوح ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار شوری با افزایش سطوح کلسیم، محتوای فلاونوئید کل روند افزایشی



شکل ۴- اثر متقابل نانوذره کلسیم × شوری بر مقدار (a) کلروفیل *a* (b) کلروفیل *b* و (c) کلروفیل کل در گیاه ریحان

**Figure 4. Interaction of calcium nanoparticle × salinity on content of (a) chlorophyll *a*, (b) chlorophyll *b*, and (c) total chlorophyll in basil**

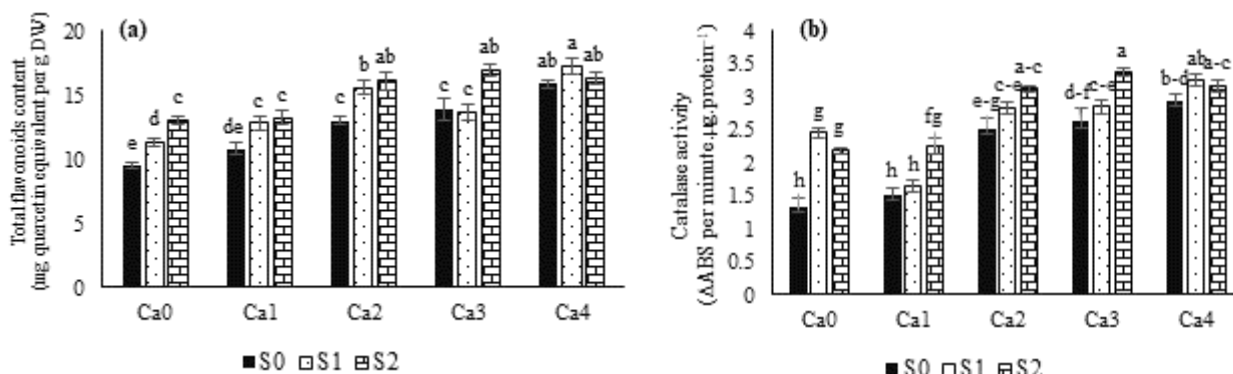
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test). Ca<sub>0</sub>, Ca<sub>1</sub>, Ca<sub>2</sub>, Ca<sub>3</sub>, and Ca<sub>4</sub>: 0, 0.25, 0.5, 1, and 1.5 g.l<sup>-1</sup>, respectively; S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, and S<sub>2</sub>: 0, 75, and 150 mM, respectively.

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر نانوذره کلسیم بر برخی صفات بیوشیمیایی گیاه ریحان تحت تنش شوری

**Table 4. ANOVA of calcium nanoparticle effects on some biochemical traits of basil under salinity stress**

Treatment	d.f.	Flavonoids	Total phenolic content	Soluble sugars	Anthocyanins	Catalase	Peroxidase
Calcium nanoparticle (C)	4	40.443**	44.771**	3880.141**	0.003**	3.195**	0.852**
Salinity (S)	2	24.085**	58.242**	3887.356**	0.006**	1.532**	1.890**
C × S	8	2.516*	0.817 <sup>ns</sup>	91.937 <sup>ns</sup>	0.007 <sup>ns</sup>	0.185**	0.208 <sup>ns</sup>
Experimental error	30	0.814	0.866	76.707	0.001	0.036	0.172
C.V. (%)		8.522	6.642	3.638	12.037	10.843	10.795

<sup>ns</sup>, \*, and \*\*: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل نانوذره کلسیم × شوری بر میزان (a) فلاونوئید کل و (b) فعالیت کاتالاز در گیاه ریحان

**Figure 5. Means comparison of calcium nanoparticle × salinity interaction on (a) total flavonoids content and (b) catalase activity in basil**

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).  
Ca<sub>0</sub>, Ca<sub>1</sub>, Ca<sub>2</sub>, Ca<sub>3</sub>, and Ca<sub>4</sub>: 0, 0.25, 0.5, 1, and 1.5 g.l<sup>-1</sup>, respectively; S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, and S<sub>2</sub>: 0, 75, and 150 mM, respectively.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر شوری و نانوذره کلسیم بر برخی صفات بیوشیمیایی گیاه ریحان

**Table 5. Means comparison of salinity and calcium nanoparticle effects on some biochemical traits of basil**

Treatment	Phenol (mg GA.g <sup>-1</sup> DW)	Soluble sugars (mg.g <sup>-1</sup> DW)	Peroxidase (ΔABS.min <sup>-1</sup> .µg.protein <sup>-1</sup> )	Anthocyanins (mg.g <sup>-1</sup> FW)
S0	5.10 ± 0.39 <sup>b</sup>	110.91 ± 3.32 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.005 <sup>b</sup>	6.77 ± 0.17 <sup>b</sup>
S1	6.99 ± 0.32 <sup>a</sup>	121.48 ± 3.56 <sup>b</sup>	0.19 ± 0.006 <sup>a</sup>	6.91 ± 0.11 <sup>b</sup>
S2	8.02 ± 0.51 <sup>a</sup>	139.90 ± 2.22 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.004 <sup>a</sup>	7.94 ± 0.21 <sup>a</sup>
Ca0	5.10 ± 0.39 <sup>b</sup>	110.90 ± 3.32 <sup>b</sup>	6.77 ± 0.17 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.005 <sup>c</sup>
Ca1	5.77 ± 0.45 <sup>b</sup>	115.31 ± 2.73 <sup>b</sup>	7.16 ± 0.27 <sup>ab</sup>	0.18 ± 0.003 <sup>bc</sup>
Ca2	6.28 ± 0.49 <sup>b</sup>	125.81 ± 4.18 <sup>b</sup>	7.52 ± 0.35 <sup>ab</sup>	0.19 ± 0.008 <sup>ab</sup>
Ca3	9.17 ± 0.62 <sup>a</sup>	154.62 ± 5.65 <sup>a</sup>	7.93 ± 0.25 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.012 <sup>ab</sup>
Ca4	9.13 ± 0.51 <sup>a</sup>	152.44 ± 6.36 <sup>a</sup>	7.27 ± 0.11 <sup>ab</sup>	0.20 ± 0.005 <sup>a</sup>

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).  
Ca<sub>0</sub>, Ca<sub>1</sub>, Ca<sub>2</sub>, Ca<sub>3</sub>, and Ca<sub>4</sub>: 0, 0.25, 0.5, 1, and 1.5 g.l<sup>-1</sup>, respectively; S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, and S<sub>2</sub>: 0, 75, and 150 mM, respectively.

(Kaltah *et al.*, 2014). در مطالعه Farhadi و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش شد که شوری سبب کاهش وزن تر و وزن خشک اندام هوایی در گیاه شنبليله گردید که با یافته‌های این پژوهش، همسو بود. مطالعه Gerami و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که شوری سبب کاهش محتوای کلروفیلی در گیاه استویا گردید. کاهش مقادیر رنگیزه‌های کلروفیلی می‌تواند به علت تخریب غشاء و صدمه به زنجیره انتقال الکترون در فتوسنتزها باشد. گیاهان به دلیل برخی تغییرات در ساختار مورفولوژیکی، فرایندهای سلولی و آناتومیکی به تنش شوری

## بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که شوری سبب کاهش شاخص‌های رشدی شامل ارتفاع، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک اندام هوایی گردید. به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک در اثر تنش شوری، جذب آب کاهش یافته، در نتیجه روزنه‌ها بسته شده و میزان تنفس و فتوسنتز کاهش می‌یابد (Norouzi Haroni & Pilevar, 2019). از سویی، شوری انرژی لازم برای حفظ شرایط طبیعی سلول را افزایش می‌دهد و انرژی کمتری برای حمایت از رشد گیاه باقی می‌ماند

۲۰۱۹). گزارش Marzvan و همکاران (۲۰۲۱) مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه ذرت تحت تنش شوری با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد. بررسی سطوح مختلف شوری بر گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) نشان داد که با افزایش شوری، محتوای نسبی آب برگ کاهش می‌یابد (Lotfollahi et al., 2015). قندهای محلول با محافظت اسمزی در تنظیم اسمزی سلول نقش مهمی ایفاء می‌کنند و در پاسخ به تنش‌های محیطی انباشته می‌شوند. تنش شوری، مقدار قند محلول در گیاه ریحان را افزایش داد. طبق گزارش Pouri و همکاران (۲۰۱۷) نیز تنش شوری سبب افزایش مقدار قند در گیاه زیتون شد. دلیل اصلی تجمع قندهای محلول در شرایط تنش شوری احتمالاً این است که با تجزیه قندهای نامحلول (نشاسته)، قندهای محلول ایجاد می‌شوند تا ضمن حفظ پتانسیل اسمزی، خطر پسابدگی کاهش یابد. کاهش مصرف قند به دنبال کاهش فتوسنتز تحت تنش شوری نیز می‌تواند دلیل دیگری برای افزایش غلظت قندهای محلول در سلول باشد (Aghaei et al., 2020). براساس نتایج، مشخص شد که میزان ترکیبات فنل و فلاونوئید، با افزایش شوری افزایش یافت. Pouri و همکاران (۲۰۱۷) و Mirvakili و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند که تنش شوری سبب افزایش مقادیر فنل و فلاونوئید در گیاه می‌شود. میزان تولید متابولیت‌های ثانویه فنل و فلاونوئید و تجمع آنها در سلول‌های گیاه تحت شرایط تنش‌زای محیطی افزایش می‌یابد تا با جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و کاهش آسیب‌های اکسیداتیوی، ساختارهای سلولی را از اثرهای منفی شوری محافظت کنند. در واقع، این ترکیبات سبب افزایش پایداری دیواره سلولی شده و سدی فیزیکی در برابر تنش شوری ایجاد می‌کنند (Firoozeh et al., 2019).

در این پژوهش، نانوذره کلسیم توانست اثرهای مخرب تنش شوری را کاهش دهد. به گونه‌ای که بیشترین مقاومت در برابر تنش در محلول‌پاشی ۱ گرم در لیتر کلسیم مشاهده شد. شاخص‌های رشد رویشی با افزایش تنش شوری کاهش

پاسخ می‌دهند (Mirvakili et al., 2018). یکی از عوامل مهم و تأثیرگذار در ظرفیت فتوسنتزی گیاه، کاهش غلظت کلروفیل می‌باشد و تنش شوری سبب کاهش فتوسنتز و تشدید صدمات ناشی از تنش می‌گردد. بنابراین افت صفات رویشی را می‌توان به کمبود مواد فتوسنتزی مورد نیاز برای تأمین رشد نسبت داد (Chehregani Rad et al., 2016). تنش شوری سبب افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مانند آبسزیک اسید و اتیلن می‌شود که تحریک‌کننده آنزیم کلروفیل‌لاز هستند و به این ترتیب ماکرومولکول‌ها و کلروفیل‌ها تحت تأثیر این آنزیم تجزیه می‌شوند (Mahlooji, 2022). نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که تنش شوری، سبب کاهش محتوای کلروفیل شد اما مقادیر کاروتنوئید و آنتوسیانین افزایش یافت. در مطالعه Arvin (۲۰۱۵) پیرامون اثر غلظت‌های مختلف شوری بر مقدار آنتوسیانین در گیاه دارویی مرزه نیز مشخص شد که تنش شوری سبب افزایش مقدار آنتوسیانین می‌گردد. گیاهان در مقابله با تنش‌های محیطی علاوه بر سیستم دفاعی آنزیمی، یک سیستم دفاعی غیرآنزیمی مانند آنتوسیانین‌ها دارند. آنتوسیانین‌ها سبب تسهیل ورود یون‌های سمی سدیم و کلر به واکوئل سلول‌ها و جمع‌آوری آنها از سایر بخش‌ها می‌شوند. از سویی، افزایش غلظت نمک با تأثیر بر آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز و متلاشی کردن غشاءهای فتوسنتزی، حساسیت به سطوح بالای نور را افزایش می‌دهد، از این رو تولید رنگیزه‌های محافظ نور مانند آنتوسیانین می‌تواند موجب حفاظت در برابر آسیب اکسیداتیو القاء شده با نور شود، این دلیل دیگری برای افزایش تدریجی محتوای آنتوسیانین برگ‌ها همزمان با افزایش سطح شوری است (Arvin, 2015). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز سبب حذف و غیرفعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند. براساس تحقیقات انجام شده، تنش شوری، رادیکال سوپراکسید ( $O_2^-$ ) درون سلول را به پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) تبدیل می‌کند، به دنبال این موضوع، فعالیت چرخه کلونین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز متوقف شده و از اثرهای منفی ایجاد هیدروژن پراکسید در فرایند قندسازی در کلروپلاست جلوگیری می‌شود (Gerami et al.,

از نانوکودهای کلسیم و پتاسیم در غلظت‌های بالا موجب افزایش کلروفیل کل در گیاه ریحان و بهبود فتوسنتز در گیاه شد. Peyvandi و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند افزایش غلظت نانوکودها سبب افزایش محتوای کلروفیل a, b و کلروفیل کل در گیاه ریحان در مقایسه با شاهد شد. افزایش کلروفیل سبب بهبود فتوسنتز و افزایش میزان کربوهیدرات در گیاه شده و وزن تر و متعاقباً وزن خشک گیاه افزایش می‌یابد. کلسیم در تشکیل پروتئین میتوکندری تأثیر مثبت دارد، از سویی، کلسیم از تجزیه کلروفیل و پروتئین‌ها جلوگیری کرده و از این طریق سبب افزایش رشد و افزایش وزن خشک گل‌آذین و ساقه‌های گل‌دهنده می‌شود (Mirzaee, Esgandian et al., 2020). Kalteh و همکاران (۲۰۱۴) نیز به این نتیجه رسیدند که وزن تر و خشک و محتوای کلروفیل گیاه ریحان با استفاده از نانوذرات سیلیکون به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند.

به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که سطوح مختلف نانوکود کلسیم بر برخی صفات مورفولوژیک (ارتفاع ساقه، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک) نسبت به شاهد روند مطلوبی داشتند. همچنین، بکارگیری سطوح بالای نانوذره کلسیم (غلظت ۱ و ۱/۵ گرم بر لیتر) توانست اثرهای مخرب تنش شوری را تعدیل کند. به‌گونه‌ای که در بررسی اثرهای برهم‌کنش، تیمار  $NCa_3S_2$  (غلظت ۱ گرم بر لیتر نانوذره کلسیم و ۱۵۰ میلی‌مولار شوری) به‌عنوان تیمار برتر معرفی می‌گردد.

## References

- Abdel-Hakim, S.G., Shehata, A.S.A., Moghannem, S.A., Qadri, M., El-Ghany, M.F.A., Abdeldaym, E.A. and Darwish, O.S., 2023. Nanoparticulate fertilizers increase nutrient absorption efficiency and agro-physiological properties of Lettuce plant. *Agronomy*, 13(3): 691-810.
- Aghaei, F., Seyed sharifi, R. and Narimani, H., 2020. Effects of uniconazole, mycorhyza and psedumonas on antioxidant enzymes cctivity and some compatible osmolites of wheat (*Triticum aestivum* L.) under soil salinity conditions. *Iranian Journal of Plant Biology*, 12(3): 87-104.
- Al-Snafi, A.E., 2021. Chemical constituents and pharmacological effects of *Ocimum basilicum*- A

یافتند. تنش شوری موجب به‌هم‌خوردن تعادل تغذیه‌ای در گیاه می‌شود، ولی با تکمیل عناصر غذایی از طریق خاک یا محلول‌پاشی می‌توان وضعیت رشد را در این شرایط تا حدودی بهبود بخشید (Jafari et al., 2021). Azizi و همکاران (۲۰۱۷) و Carmona و همکاران (۲۰۲۲) نیز دریافتند که با استفاده از نانوکودها، زمان و سرعت رهاسازی عناصر با نیاز غذایی گیاه مطابق و هماهنگ می‌شود. بنابراین، گیاه قادر به جذب بیشترین مقدار مواد غذایی بوده و ضمن کاهش آبهویی عناصر، عملکرد محصول نیز افزایش می‌یابد. این نتیجه با نتایج تحقیقات Ghahremani و همکاران (۲۰۱۴) و نیز Badihi و همکاران (۲۰۲۱) که محلول‌پاشی کلسیم در بهبود شاخص‌های رشدی گیاه ریحان و گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.) را مؤثر می‌دانستند، مطابقت دارد. محققان دلیل این نتایج را بهبود فتوسنتز و جذب عناصر غذایی توسط گیاه بیان کردند (Soori et al., 2019). غلظت‌های بالای نمک، کمپلکس‌های پروتئین رنگیزه را بی‌ثبات کرده و فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز و تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) را تحریک می‌کند. تمام این پاسخ‌ها موجب کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شوند (Jafari et al., 2021). کلسیم یک ماده غذایی مورد نیاز در رشد و توسعه گیاه و سنتز کلروفیل می‌باشد. نقش کلسیم در افزایش میزان کلروفیل را می‌توان به تأثیر آن در تجمع مولکول‌های آپوپروتئین کلروفیل در کمپلکس کلروفیل آنتن نسبت داد (Shams et al., 2009). پژوهش Ghahremani و همکاران (۲۰۱۴) و Salehi و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که استفاده

- review. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 13: 2997-3013.
- Amiri, H., Banakar, M.H., Ranjbar, G.H. and Sarafraz Ardakani, M.R., 2020. Determination of salt tolerance threshold and effects of using saline water on grain yield and yield components of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.). *Iranian Journal of Plant Process and Function*, 9(39): 289-310.
- Amirjani, M.R., 2011. Effect of salt stress on different protochlorophyllide forms of wheat (*Triticum aestivum*). *Iranian Journal of Cell and Tissue*, 2(2): 135-145.
- Archangi, A. and Khodambashi, M., 2014. Effects of salinity stress on morphological characteristics, essential oil content and ion accumulation in basil



- (*Ocimum basilicum*) plant under hydroponic conditions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 5(17): 125-138.
- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15.
  - Arvin, P., 2015. Effect of gibberellin on some morphological traits, photosynthetic pigments content and proline in savory (*Satureja hortensis* L.) under salinity stress conditions. Iranian Journal of Crop Production Research, 7(2): 89-104.
  - Azizi, E., Mirbolook, A. and Behdad, A., 2017. The effect of different concentrations of nano-molybdenum and calcium fertilizers on growth parameters and nodulation of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Iranian Journal of Crop Production, 9(4): 179-199.
  - Badihi, L., Gerami, M., Akbarinodeh, D., Shokrzadeh, M. and Ramezani, M., 2021. Physio-chemical responses of exogenous calcium nanoparticle and putrescine polyamine in Saffron (*Crocus sativus* L.). Iranian Journal of Physiology and Molecular Biology of Plants, 27: 119-133.
  - Bandehagh, A., Alipour Ghorbani, Sh., Toorchi, M. and Shokri Gharelo, R., 2018. Proteomic profiling analysis of canola seed under salinity stress. Iranian Journal of Plant Research, 31(2): 291-302.
  - Cacmak, I. and Horst, W., 1991. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip soybean. Plant Physiology, 83: 463-468.
  - Carmona, F.J., Guagliardi, A. and Masciocchi, N., 2022. Nanosized calcium phosphates as novel macronutrient nano-fertilizers. Nanomaterials, 12: 2709.
  - Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Food Drug Analysis, 10: 178-182.
  - Chehregani Rad, A., Khorzaman, A., LariYazdi, H. and Shirkhani, Z., 2016. Changes in growth characteristics and physiological indices in Zn-stressed *Phaseolus vulgaris* plants on hydroponic medium. Iranian Journal of Developmental Biology, 8(2): 31-39.
  - Dashti, H., Taj Abadi Pour, A., Shirani, H. and Naghavi, M.R., 2011. Evaluation of wheat germplasm in response to salinity stress. Iranian Journal of Field Crop Science, 41(4): 655-664.
  - Farhadi, H., Azizi, M. and Nemati, S.H., 2015. Effect of salinity stress on morphological and proline content of eight landraces fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Iranian Journal of Field Crop Research, 13(2): 411-419.
  - Firoozeh, R., Khavarinejad, R., Najafi, F. and Saadatmand, S., 2019. Effects of gibberellin on contents of photosynthetic pigments, proline, phenol and flavonoid in savory plants (*Satureja hortensis* L.) under salt stress. Iranian Journal of Plant Research, 31(4): 894-908.
  - Gerami, M., Mohammadian, A. and Akbarpour, V., 2019. The effect of putrescine and salicylic acid on physiological characteristics and antioxidant in *Stevia rebaudiana* B. under salinity stress. Iranian Journal of Crop Breeding, 11(29): 40-54.
  - Ghahremani, A., Akbari, K., Yousefpour, M. and Ardalani, H., 2014. Effects of nano-potassium and nano-calcium chelated fertilizers on qualitative and quantitative characteristics of *Ocimum basilicum*. International Journal for Pharmaceutical Research Scholars, 3(1-2): 235-241.
  - Gholami, A., Abaspour, H., Gerami, M. and Ghorbani, A., 2016. The effect of Nano Fe-chelate foliar application on growth and physiological characteristics in basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress. Iranian Journal of Ecophysiology and Phytochemistry of Medicinal and Aromatic Plants, 8(2): 117-133.
  - Hoagland, D.R. and Arnon, D.I., 1950. The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil. California Agricultural Experiment Station, 347: 32p.
  - In, B.C., Motomura, S., Inamoto, K., Doi, M. and Mori, G., 2007. Multivariate analysis of relation between preharvest environmental factors, postharvest morphological and physiological factors and vase life of cut Asomi Red Roses. Japanese Society for Horticultural Science, 76: 66-72.
  - Jafari, T., Iranbakhsh, A., Kamali, K., Daneshmand, F. and S.E. Seifati, 2021. Effect of salinity stress levels on some growth parameters, mineral ion concentration, osmolytes, non-enzymatic antioxidants and phenylalanine ammonia-lyase activity in three genotypes of (*Chenopodium quinoa* Willd). Iranian Journal of New Cellular and Molecular Biotechnology, 12(45): 63-85.
  - Jahani, S., Lahouti, M. and Jahani, M., 2014. Investigation Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> interaction on biomass and enzymes activity of peroxidase and polyphenol oxidase in leaf of barley (*Hordeum vulgare* L.). Iranian Journal of Crop physiology, 5(20): 15-24.
  - Kafi, M., Nabati, J., Zare Mehrjerdi, M., Goldani, M., Khaninejad, S., Keshmiri, E. and Norooziyan, A., 2013. Effect of calcium and potassium on amelioration of negative effects of salinity on some physiological characteristics Kochia (*Kochia scoparia*). Iranian Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences, 5(2): 181-192.
  - Kalteh, M., Taj Alipour, Z., Ashraf, S., Marashi Aliabadi, M. and Falah Nosratabadi, A., 2014. Effect of silica nanoparticles on Basil (*Ocimum basilicum*) under salinity stress. Iranian Journal of Chemical Health Risks, 4(3): 49-55.

- Kheshti, M., Malekmohammad, K. and Gholampour, F., 2022. Study of basil (*Ocimum basilicum* L.) and its mechanism of action on type 2 diabetes. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, 30(8): 5093-5109.
- Lotfollahi, L., Torabi H. and Omid, H., 2015. Salinity effect on proline, photosynthetic pigments and leaf relative water content in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) in hydroponic condition. Iranian Journal of Plant Production, 22(1): 89-103.
- Mahlooji, M., 2022. Effects of salinity stress and Zinc application and some physiological traits on grain filling of three barley cultivars. Iranian Journal of Plant Process and Function, 11(48): 211-227.
- Marzvan, S., Mohammadi, M.H. and Shekari, F., 2021. Biochemical reactions of maize leave and roots to simultaneous salinity and drought stress. Iranian Journal of Soil Management and Sustainable Production, 10(4): 155-171.
- Mazloomi, F., Ronaghi, A. and Karimian, N., 2011. Influence of salinity and supplementary calcium on vegetative growth, fruit yield and concentration of some nutrients in hydroponically-grown strawberry. Iranian Journal of Soil and Plant Interactions, 2(2): 51-63.
- McCready, R.M., Guggolz, J., Silveira, V. and Owens, H., 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. Analytical chemistry, 22: 1156-1158.
- Mirvakili, F., Mosleh Arani, A., Sarafraz Ardakani, M.R. and Sodaee-Zadeh, H., 2018. The study of salinity stress influence on some morphological, biochemical and antioxidant responses of *Securigera securidaca* L. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 6(1): 32-43.
- Mirzaee Esgandian, N., Jabbarzadeh, Z. and Rasouli-Sadaghiani, M., 2020. Influence of humic acid and nano-calcium chelate application on photosynthetic pigments and nutrient uptake of *Gerbera jamesonii* cv. Dune. Plant Process and Function, 9(39): 61-76
- Mita, S., Murano, N., Akaike, M. and Nakamura, K., 1997. Mutants of arabidopsis thaliana with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars. Plant Journal, 11: 841-851.
- Norouzi Haroni, N. and Pilevar, B., 2019. The effect of salinity stress on gas exchange rate and leaf water potential in *Cercis Siliquastrum* L. and *Robinia Pseudoacacia* L. species. Iranian Journal of Plant Research, 31(4): 983-993.
- Peyvandi, M., Parande, H. and Mirza, M., 2011. Comparison of nano Fe chelate with Fe chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum basilicum*. Iranian Journal of New Cellular and Molecular Biotechnology, 1(4): 89-98.
- Pouri, N., Seifi, E. and Alizadeh, M., 2017. The effect of salt stress and proline on some morphological, physical and phytochemical traits of leaf in three olive cultivars. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 5(2): 69-84.
- Saadatian, B., Soleimani, F. and Ahmadvand, G., 2012. Evaluation of salinity tolerance of some wheat cultivars. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 2(4): 1-12.
- Salehi, L., Chehrizi, M. and Mousavi, S., 2018. The effect of nano calcium and potassium humic acid fertilizer on morphological and biochemical traits of Nasturtium (*Tropaeolum majus*). Iranian Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 27(4): 191-202.
- Sarai Tabrizi, M., Babazadeh, H., Homae, M., Kaveh, F. and Parsinejad, M., 2015. Simulating basil response to irrigation water salinity. Iranian Journal of Water Research in Agriculture, 28(4): 691-701.
- Shams, H., Naghdi Badi, H., Omid, H., Rezazadeh, S., Sorooshzadeh, A. and Sahandi, M., 2009. Qualitative and Quantitative Changes in the Aerial Parts of Borage under Foliar Application of Calcium Nitrate. Journal of Medicinal Plants, 8(32): 138-144.
- Soori, N., Bakhshi, D., Rezaei Nejad, A. and Faizian, M., 2019. Effect of salinity stress on some physiological characteristics and photosynthetic parameters of several Iranian commercial pomegranate genotypes. Iranian Journal of Plant Process and Function, 8(30): 155-170.
- Tazikeh, N., Dadashi, M.R. and Jafari, M.J., 2013. Investigating the germination of two wheat cultivars under salt stress condition. Iranian Journal of Seed Research, 3(4): 1-7.
- Thor, K., 2019. Calcium-nutrient and messenger. Frontiers in Plant Science, 10: 440.
- Witte, M.E., Schumacher, A., Mahler, C.F., Bewersdorf, J.P., Lehmitz, J., Scheiter, A., Sánchez, P., Williams, P.R., Griesbeck, O., Naumann, R., Misgeld, T. and Kerschensteiner, M., 2019. Calcium influx through plasma-membrane nanoruptures drives axon degeneration in a model of multiple sclerosis. Neuron, 101(4): 615-624.