

Research Article

Improving seed germination, growth, and biochemical characteristics of corn seedling via the application of silver nanoparticles synthesized from fennel (*Foeniculum vulgare*)

Mehdi Afrouz¹ , Parisa Sheikhzadeh Mosaddegh^{2*} 

1. Ph.D student of Crop Plants Physiology, Department of Plant Production and Genetic, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
2. Associate Professor, Department of Plant Production and Genetic, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Article Information

Received: 19 Mar. 2023
Revised: 15 Apr. 2023
Accepted: 21 May. 2023

Keywords:

Antioxidant enzymes activity,
Germination rate,
Green synthesis,
Seed priming

Corresponding Author:

sheikhzadehmp@gmail.com



Abstract

In order to evaluate the effect of Ag synthesized from fennel on seed germination, growth and biochemical characteristics of hybrid single cross 704 corn seedlings, an experiment was carried out in a randomized complete block design with three replications at the University of Mohaghegh Ardabili in 2021. Experimental factors included synthesized Ag nanoparticles (0, 0.001, 0.1, 0.25, and 0.75 mg L⁻¹) and the application methods of Ag nanoparticles (seed priming and adding to the culture medium). The results showed that in both methods of nanoparticle application, with the use of different concentrations of Ag nanoparticles, there was a significant increase in the percentage and speed of germination, mean daily germination, germination simultaneity index, vigor index, length and dry weight of corn seedlings and a decrease in the mean germination time, D50 of corn seeds were germinated. Among the nanoparticle application methods, seeds priming with 0.001 mg L⁻¹ and adding 0.1 mg L⁻¹ Ag nanoparticles had a greater effect on improving germination, seedling growth, and increasing seed vigor index. By adding 0.1 mg L⁻¹ of Ag nanoparticles to no priming, it resulted in the highest germination percentage, synchronicity index, mean daily germination and the lowest mean germination time. The use of different concentrations of Ag nanoparticles in both application methods increased the activity of catalase, peroxidase, polyphenol oxidase enzymes and proline content compared to the control treatment. Therefore, the use of a concentration of 0.001 mg L⁻¹ of Ag nanoparticles as a priming can be suggested to improve seed germination, growth, and biochemical characteristics of corn seedlings.

How to cite this paper: Afrouz, M., Sheikhzadeh Mosaddegh, P. (2024). Improving seed germination, growth, and biochemical characteristics of corn seedling via the application of silver nanoparticles synthesized from fennel (*Foeniculum vulgare*). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 13 (1), 15-36. <https://doi.org/10.22092/ijst.2023.361213.1471>



© Authors, Published by Iranian Journal of Seed Science and Technology. This is an open-access article distributed under the CC BY (license <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Maize (*Zea mays* L.) is one of the most important grains in providing human food and animal and poultry feed due to its high sugar and starch content. According to the physiological processes of plant growth, germination is one of the most important and sensitive stages of the life cycle of plants, which, as the first developmental stage, has a significant effect on plant growth and development. It is clear that good germination followed by proper establishment in the field can provide a way to produce a product with high quantity and quality. On the other hand, with the industrialization of agriculture, the use of high-quality seeds in crops and the need to obtain seeds with high commercial efficiency, corn seed producers are trying to use advanced technologies in seed production and management. One of these methods is the use of nanoparticles, which, due to their involvement in sensitive biological processes in plants, improves the quality and quantity of agricultural products. There are different methods for the synthesis of nanoparticles, and one of these methods is green synthesis using plant extracts. One of the advantages of plant extracts utilization in the synthesis of nanoparticles is the presence of a wide range of secondary metabolites such as polyphenols, alkaloids, terpenoids, quinones, and tannins. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of green synthesized Ag on the seed germination, growth, and biochemical characteristics of corn (704 single cross hybrid cultivar) seedlings.

Materials and methods

In order to prepare an aqueous extract, 10 grams of dried fennel leaves were added to 100 ml of water and kept in a shaker for 24 hours. For the synthesis of silver nanoparticles, 10 ml of the aqueous extract of fennel leaves was added to 90 ml of a 1M solution of silver nitrate (Merck, Germany) and incubated at room temperature in the dark for 24 hours. The change in the color of the extract from pale yellow to dark color indicates the synthesis of silver nanoparticles. Then, the extracts containing nanoparticles were centrifuged at 800 rpm for 20 minutes and dried in an oven at 70 °C for five hours. Fourier transform infrared spectrum (FTIR), XRD, transmission electron microscope (TEM), and scanning electron microscope (SEM) were used to evaluate the morphological characteristics of the synthesized nanoparticles.

Experimental factors included synthesized Ag nanoparticles (0, 0.001, 0.1, 0.25, and 0.75 mg L⁻¹) and application methods (seed priming and adding to the seedbed). Corn seeds (Hybrid Single Cross 704) were randomly divided into two parts. One part of the seeds was treated for two hours with different concentrations (zero, 0.001, 0.1, 0.25, and 0.75 mg of silver nanoparticles were pretreated. Distilled water was used to apply the control (zero concentration of Ag nanoparticles) treatment.

To perform the standard germination test, three replicates of 50 seeds from each treatment (pre-treated seeds and non-pre-treated seeds) were randomly separated and cultivated in Petri dishes using the top-paper method. For the treatments of adding the Ag to seedbed, 15 ml of silver nanoparticle solutions prepared with the above-mentioned concentrations were added to the Petri dishes. It should be

noted that 15 ml of distilled water was used for the pre-treated seeds. After transferring the samples to the incubator with a temperature of 25°C, the seeds were counted every 12 hours for seven days. At the end of test, the number of normal seedlings counted and germination percentage, average germination time, average daily germination, germination simultaneity index, germination speed, time to 50% germination, and seed strength index. Furthermore, the length and dry weight of seedlings and biochemical properties of (proline and H₂O₂ content, and activity of antioxidant enzymes) seedlings were measured.

Results and discussion

The results showed that in both methods of nanoparticle application, Ag nanoparticles significantly influenced the corn seed germination and seedling growth characteristics and biochemical properties. Pretreatment of the seeds with 0.001 mg L⁻¹ Ag nanoparticles or adding 0.1 mg L⁻¹ Ag nanoparticles to the seedbed significantly improved the percentage and speed of germination, germination synchronicity index, strength index, length, and dry weight of corn seedlings and decreased the average germination time, D50 of corn seeds. In previous studies, it has been shown that the application of nanoparticles increases the activity of some key enzymes such as nitrate reductase, which can lead to increased water absorption and increased seed germination. However, increasing the concentration of Ag nanoparticles to 0.25 and 0.75 mg L⁻¹ caused a significant decrease in the percentage and speed of germination, the synchronicity index of seed germination, average daily germination, and seedling weight and length. In contrast, the average germination time, and D50 of corn seeds were significantly increased at the higher concentrations of Ag nanoparticles. These results can be attributed to the fact that Ag nanoparticles at the higher concentrations (0.25 and 0.75 mg/liter) cause a disturbance in the absorption of nutrients and induce oxidative stress that finally causes toxicity to seeds and seedlings. Furthermore, the utilization of Ag nanoparticles in both application methods increased the activity of catalase, peroxidase, polyphenol oxidase, and proline content compared to the control treatment.

Conclusion

In general, our study showed that utilization of appropriate and optimal concentrations of green synthesized Ag nanoparticles in both methods of its application (pretreatment and adding to seedbed) improved the seed germination characteristics and seedling growth of corn. The optimal Ag nanoparticle concentration was varied depending on the application method. So, pre-treatment of corn seeds with 0.001 mg L⁻¹ Ag nanoparticles and adding 0.1 mg L⁻¹ Ag nanoparticles to the seedbed are the most effective concentrations to improve the germination and growth indicators of corn. Also, the results of the present study showed that the use of Ag nanoparticles by increasing the activity of antioxidant enzymes has reduced the damages caused by free oxygen radicals, which has led to the improvement of germination and growth characteristics of seedlings. Therefore, it can be concluded that the green synthesized Ag nanoparticles at lower concentrations are suitable stimuli for improving germination and seedling growth.

انجمن
علمی
بذر
ایرانسازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تخصصی بذر و نهال

نشریه علوم و فناوری بذر ایران



ISSN: 2588-4638

مقاله پژوهشی

بهبود جوانه‌زنی، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ با کاربرد نانوذرات نقره سنتز شده از گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*)

مهدی افروز^۱ ID، پریسا شیخ‌زاده مصدق^۲ ID*

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲. دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۱/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۳۱

واژه‌های کلیدی:

پیش تیمار بذر،

سنتز سبز،

سرعت جوانه‌زنی،

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نویسنده مسئول:

sheikhzadehmp@gmail.com

چکیده

به منظور ارزیابی تأثیر نانوذرات نقره سنتز شده از رازیانه بر جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (صفر، ۰/۰۰۱، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۷۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) و روش کاربرد (پیش تیمار بذر و افزودن به بستر کشت) بود. نتایج نشان داد که در هر دو روش کاربرد نانوذره، با کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره موجب افزایش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی، شاخص قدرت، طول و وزن خشک گیاهچه‌های ذرت و کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت گردید. از میان روش‌های کاربرد نانوذره، پیش تیمار کردن بذر با ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر و افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره، تأثیر بیشتری در بهبود جوانه‌زنی، رشد گیاهچه‌ها و افزایش شاخص قدرت بذر داشت. با افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت، سبب شد تا بیشترین درصد جوانه‌زنی، شاخص هم‌زمانی، متوسط جوانه‌زنی روزانه و کمترین میانگین مدت جوانه‌زنی حاصل شود. همچنین کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذره نقره در هر دو روش کاربرد موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز و محتوی اسید آمینه پرولین نسبت به تیمار شاهد گردید. به طور کلی کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به روش پیش تیمار بذر و افزودن غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره به بستر کاشت جهت بهبود جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت پیشنهاد می‌شود.

نحوه استناد به این مقاله:

Afrouz, M., Sheikhzadeh Mosaddegh, P. (2024). Improving seed germination, growth, and biochemical characteristics of corn seedling via the application of silver nanoparticles synthesized from fennel (*Foeniculum vulgare*). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 13 (1), 15-36. <https://doi.org/10.22092/ijssst.2023.361213.1471>

مقدمه

امروزه بیش از سه چهارم انرژی و در حدود نیمی از پروتئین مورد نیاز بشر از غلات تامین می‌شود. ذرت (*Zea mays* L.)، به علت داشتن مواد قندی و نشاسته‌ی زیاد یکی از مهم‌ترین غلات در تامین غذای انسان، دام و طیور محسوب می‌شود (Muhammad et al., 2015). بنابراین با توجه به فرایندهای فیزیولوژیکی رشد گیاهان، جوانه‌زنی، از مهم‌ترین و حساس‌ترین مراحل چرخه زندگی گیاهان بوده، که به‌عنوان اولین مرحله‌ی نمو، تأثیر قابل توجهی بر رشد و توسعه گیاهان دارد (Ocvirk et al., 2021). پر واضح است که جوانه‌زنی مطلوب و در پی آن استقرار مناسب در مزرعه می‌تواند راه را برای تولید محصولی قابل قبول از نظر کمی و کیفی هموار سازد (Singh et al., 2020). از طرفی با صنعتی شدن کشاورزی و استفاده از بذرهایی با کیفیت بالا در گیاهان زراعی و لزوم دستیابی به بذوری با راندمان تجاری بالا، تولیدکنندگان بذر ذرت در تلاش هستند تا با استفاده از پیشرفت‌های حاصل شده در تکنولوژی‌های تولید و مدیریت بذر، کارایی مناسبی در تولید بذر با کیفیت بالا برای رسیدن به اهداف اقتصادی و تجاری داشته باشند (Smirnov et al., 2022). از جمله‌ی این روش‌ها استفاده از نانوذرات می‌باشد که با توجه به دخیل بودنشان در فرایندهای حساس بیولوژیکی در گیاهان، سبب بهبود کمی و کیفی محصولات کشاورزی می‌شود.

در سال‌های اخیر پژوهشگران از پتانسیل‌های نانوذرات به‌عنوان تکنولوژی در جهت بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهان زراعی استفاده کرده‌اند. که در این راستا تأثیر نانوذرات در رابطه با رشد گیاهان مورد تأکید قرار گرفته است (Afrouz & Sheikhzadeh, 2023; Smirnov et al., 2022). کاربرد نانوذرات در مرحله‌ی جوانه‌زنی و سبز شدن تأثیر مثبت و معنی‌داری بر شاخص‌های جوانه‌زنی داشته و سبب بالا رفتن درصد و سرعت جوانه‌زنی شده است، که دلیل این امر را می‌توان ره‌ایش کنترل شده و بهینه‌ی این نانوذرات دانست که علاوه بر نقشی که در تغذیه مستقیم دارند، افزایش کارایی را نیز باعث شده است (Esper Neto et al., 2021). در بین نانوذرات مختلف، نانوذرات نقره بیشترین استفاده را در دارند، بطوریکه ۳۰ درصد محصولات حاوی نانومواد دارای نانوذرات نقره هستند (Shukla et al., 2019). در مطالعات انجام شده روی بذرهایی اسفناج

(Mingyu et al., 2007) و گلرنگ (Zari et al., 2015) گزارش شده که بذور تیمار شده با نانوذرات نقره در غلظت‌های بهینه، توانایی جوانه‌زنی و سبز شدن بالاتری داشته و گیاهچه‌های تولید شده از کیفیت مطلوب‌تری برخوردار بودند. همچنین گزارش شده است که استفاده از نانوذرات نقره منجر به بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه‌های برنج شده است (Thuesombat et al., 2014).

روش‌های متفاوتی بصورت صنعتی، جهت سنتز نانوذرات در جهان وجود دارد. یکی از این روش‌ها، سنتز نانوذرات به وسیله‌ی عصاره گیاهان می‌باشد که سنتز سبز نامیده می‌شود. نانوذرات حاصل از روش‌های شیمیایی که امروزه به کار برده می‌شوند به دلیل استفاده از مواد شیمیایی خطرناک و سمی بودن، نگرانی‌های زیادی را ایجاد کرده که روش سنتز سبز جایگزینی موثر برای روش‌های شیمیایی می‌باشد که قابلیت این را دارد تا نانوذرات را در اندازه، ساختار و شکل معینی تولید کند (Kannan et al., 2013). از جمله مزیت استفاده از سنتز سبز نانوذرات می‌توان به استفاده آسان از آن‌ها و دارا بودن تنوع وسیعی از متابولیت‌های ثانویه اشاره کرد. به علاوه امنیت زیستی و پایداری بالای نانوذرات بیوسنتز شده گیاهی در مقایسه با نانوذرات فلزی سنتز شده به روش شیمیایی یکی از دلایلی است که محققان را به طور گسترده به سمت استفاده از سنتز سبز جهت تهیه نانوذرات فلزی سوق داده است که این ویژگی‌ها سبب شده تا امروزه فرآیندهای سبز برای سنتز نانوذرات به یک شاخه‌ی مهمی از نانو تکنولوژی تبدیل گردد (Hazrati et al., 2022). از طرفی، مزیت بهره‌گیری از عصاره گیاهان در سنتز نانوذرات، حضور تنوع وسیعی از متابولیت‌های ثانویه (مانند پلی‌فنل‌ها، آلکالوئیدها، تریپنئوئیدها، کوئینون‌ها، تانن‌ها و غیره) در آن‌ها است که در عمل احیاء زیستی یون نیز دخیل هستند (Bhavyasree & Xavier, 2020; Hazrati et al., 2023). طی نتایج بدست آمده از تحقیقات پیشین، غالب گیاهان مورد استفاده برای استخراج نانوذرات بصورت سنتز سبز، گیاهان دارویی از جمله گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) از خانواده‌ی چتریان می‌باشند (Swaminathan et al., 2021). این گیاه به دلیل دارا بودن ترکیبات لیمونن، فنکون و آنتول در بذر آن‌ها سبب شده تا از این گیاه جهت سنتز سبز استفاده شود (Swaminathan et al., 2021).

دارویی وابسته به پارک علم و فناوری استان اردبیل بود. جهت بیوسنتز نانوذره نقره از برگ‌های رازیانه به روش آبی، ابتدا برگ‌های خشک شده را آسیاب و سپس عمل عصاره‌گیری انجام گرفت. به این ترتیب که ابتدا مقدار ۱۰ گرم از پودر خشک شده برگ گیاه را به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه نموده و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد. در نهایت محلول مورد نظر در بشر ریخته شده و در انکوباتوری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار روز قرار داده شد تا خشک شوند (Patiño-Ruiz et al., 2020). ادامه برای بیوسنتز نانوذرات نقره، ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره آبی برگ‌های رازیانه را به ۹۰ میلی‌لیتر محلول یک می‌مولار نیترات نقره (شرکت مرک آلمان) اضافه شد، و به‌منظور کاهش یون‌های نقره، محلول در دمای اتاق و در شرایط تاریکی به مدت یک شبانه روز نگهداری شد. تغییر رنگ عصاره از زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تیره تا سیاه نشان دهنده تولید نانوذرات نقره است. سپس عصاره‌های حاوی نانوذرات با دور ۸۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب بدست آمده در آن با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج ساعت خشک گردید. در نهایت نانوذرات نقره بدست آمده جهت مطالعه بیشتر در داخل میکروتیوب در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند (Kannan et al, 2013). در انتهای کار، از دستگاه‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) به منظور بررسی خصوصیات مورفولوژیکی نانوذرات نقره استفاده شد. همچنین از طیف پراش اشعه ایکس برای استخراج سنتز نانوذرات و پی بردن به نوع شبکه کریستالی از دستگاه XRD مدل XMD 300 و به‌منظور خصوصیات ساختمانی نانوذرات از دستگاه طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) مدل GX آمریکا استفاده شد.

بعد از سپری کردن این مراحل، بذره‌های ذرت گواهی شده (رقم هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ تهیه شده در سال ۱۳۹۹ از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل) به صورت تصادفی به دو قسمت تقسیم شدند. یک قسمت از بذرها تا زمان انجام آزمون جوانه‌زنی در یخچالی با دمای ۳ تا ۴ نگهداری شدند و قسمت دیگر بذرها با غلظت‌های مختلف نانوذره نقره سنتز شده (صفر، ۰/۰۰۱، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر) پیش‌تیمار شدند. قبل از پیش‌تیمار نمودن، بذره‌های ذرت

یکی از روش‌های موثر کاربرد نانوذرات برای بهبود جوانه‌زنی و سبز شدن بذرها پیش‌تیمار نمودن بذرها است. در واقع به روش بهبود دهنده بنیه بذر که در آن مرطوب کردن بذر تا زمانی صورت می‌گیرد که فرآیندهای متابولیک جوانه‌زنی انجام گیرد، اما خروج ریشه‌چه از بذر صورت نمی‌گیرد پرایمینگ گفته می‌شود (Finch-Savage & Footitt, 2017). پژوهش‌ها نشان داده است که پیش‌تیمار نمودن بذرها و استفاده از نانوذرات نقره سنتز شده در غلظت‌های پایین منجر به افزایش طول و وزن خشک گیاهچه، شاخص قدرت بذر، سرعت و درصد جوانه‌زنی بذر و کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی در بذره‌های ذرت (Itoutwar et al., 2020)، کلزا (Yin et al., 2012) و آویشن کوهی (Abbasi Khalaki et al., 2016) شد.

با توجه به اینکه یکی از مشکلات تولید گیاهان زراعی از جمله ذرت، جوانه‌زنی و استقرار ضعیف گیاهچه‌ها می‌باشد. همچنین به دلیل اهمیت ذرت به‌عنوان یکی از محصولات استراتژیک کشور و از طرفی نقش موثر نانوذرات نقره سنتز شده بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها، موجب شد تا اثر این نانوذره به صورت پیش‌تیمار و افزودن به بستر کاشت در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر نانوذرات نقره سنتز شده به روش سنتز سبز از عصاره آبی گیاه رازیانه بر جوانه‌زنی، رشد و صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ با کاربرد نانوذره نقره سنتز شده از گیاه رازیانه، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۰، در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل غلظت‌های نانوذره نقره سنتز شده در پنج سطح (صفر، ۰/۰۰۱، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر) و روش‌های کاربرد نانوذره در دو سطح (پیش‌تیمار کردن و افزودن به بستر کشت) بودند. منبع گیاهی مورد استفاده در این مطالعه، برگ‌های خشک شده گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) تهیه شده از مرکز گیاهان

مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از محلول‌های نانوذره نقره تهیه شده با غلظت‌های ذکر شده به پتری‌ها اضافه شدند. لازم به ذکر است، برای بذره‌های پیش‌تیمار شده، از آب مقطر به مقدار ۱۵ میلی‌لیتر استفاده گردید. پس از انتقال نمونه‌ها به ژرمیناتوری با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شمارش بذور هر ۱۲ ساعت یکبار به مدت هفت روز انجام گردید. خروج دو میلی‌متری ریشه‌چه از پوسته‌ی بذور، به عنوان بذور جوانه‌زده در نظر گرفته شدند. در پایان این آزمون، تعداد گیاهچه‌های نرمال شمارش و درصد جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی (Ellis & Roberts, 1981)، متوسط جوانه‌زنی روزانه، شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی (Hunter et al., 1984)، سرعت جوانه‌زنی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی و شاخص قدرت بذور (Vashisth & Nagarajan, 2010)، طول و وزن خشک گیاهچه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات اندازه‌گیری شده از روابط جدول ۱ بدست آمدند.

با محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر به‌طور کامل شست‌وشو داده شدند. سپس مقدار مشخص شده نانوذره در یک لیتر آب ریخته و برای تهیه سوسپانسیون یکنواخت به مدت ۳۰ دقیقه در هم‌زنایزر فراصوت (اولتراسونیک) قرار داده شد (Esper Neto et al., 2021). در ادامه بذره‌های ذرت به مدت دو ساعت در محلول‌های تهیه شده با غلظت‌های مختلف نانوذره نقره، قرار داده شدند. جهت اعمال تیمار شاهد (غلظت صفر نانوذره نقره) از آب مقطر استفاده شد. در انتها، بذره‌های پیش‌تیمار شده تا رسیدن به رطوبت اولیه در محیط آزمایشگاه خشک شدند. برای انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد، به‌صورت تصادفی سه تکرار ۵۰ بذری از هر تیمار (بذره‌های پیش‌تیمار شده و بذره‌های بدون پیش‌تیمار) جدا گردید و درون پتری‌دیش به روش بالایی کاغذ کشت شدند. برای تیمارهای افزودن محلول به بستر کشت،

جدول ۱- روابط محاسباتی مورد مطالعه در آزمایش

Table1- Computational relations studied in the experiment

درصد جوانه‌زنی	$GP = ((\sum n_i) / N) 100$
Germination percentage	
میانگین مدت جوانه‌زنی	$MGT = (\sum (n_i t_i)) / \sum n_i$
Mean germination time	
شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی	$Z = - \sum_{i=1}^k f_i \log_2 f_i$
Germination synchrony index	
میانگین جوانه‌زنی روزانه	$MDG = (GP/D)$
Mean daily germination	
سرعت جوانه‌زنی	$GR = \sum (n_i / t_i)$
Germination rate	
زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی	$T50 = t_i + \left[\frac{\left(\frac{N}{2} - n_i \right) (t_j - t_i)}{n_j - n_j} \right]$
D50	
شاخص قدرت	$VI = GP \times \text{Seedling length}$
Vigor index	

در روابط بالا، N: تعداد کل بذور، n_i : تعداد بذره‌های جوانه‌زده در روز t_i ، t_i : تعداد روزهای سپری شده از شروع جوانه‌زنی، $n_i t_i$: حاصلضرب تعداد بذره‌های جوانه‌زده در زمان (روز) t_i ، D: تعداد روزهای لازم برای بیشترین جوانه‌زنی، f_i : فراوانی نسبی جوانه‌زنی.

In these formula N= Total number of seeds used, n_i = number of seeds germinated in the i^{th} time, t_i =time taken for seeds to germinate at i^{th} count, $n_i t_i$ =The product of seeds germinated at i^{th} interval with the corresponding time interval, D=total number of days required for final germination, f_i =Relative frequency of germination.

آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز تهیه گردید. جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Chance & Maehly (1955) بر پایه تشکیل تترآگایاکول از

برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی ابتدا گیاهچه‌های نرمال هفت روزه انتخاب و عصاره آنزیمی (Chang & Koa, 1998) از نمونه‌های گیاهی برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های

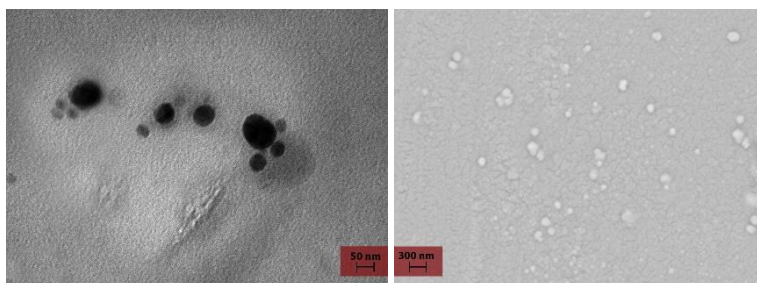
کلیه تجزیه‌های آماری داده‌ها پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴) تجزیه شده و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد. رسم شکل‌ها با بهره‌گیری از نرم‌افزار Excel انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

اندازه ذرات نانو نقره

تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، نشان‌دهنده مورفولوژی و اندازه نانوذرات نقره سنتز شده می‌باشد (شکل ۱). بنابراین با توجه به تصاویر بدست آمده از SEM، مشخص گردید که شکل نانوذرات نقره سنتز شده بصورت کروی هستند. همچنین با توجه به مقیاس روی تصویر TEM می‌توان نتیجه گرفت که در بزرگنمایی ۵۰ نانومتر اندازه این نانوذره نقره سنتز شده، در حدود ۲۰ نانومتر می‌باشد که در محدوده اندازه نانوذرات است.

گایاکول در حضور پراکسید هیدروژن و آنزیم گایاکول اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به روش (Aebi 1984) اندازه‌گیری شد که بر پایه تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز استوار است. میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز توسط روش Kar & Mishra (1976) تعیین شد. استخراج پروتئین به روش Bates et al. (1973) صورت گرفت. بدین منظور ابتدا ۰/۱ گرم از برگ تازه را درون فالدکون با هاون له کرده، سپس ده میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد به آن اضافه و همگنای حاصل با سرعت ۷۵۰۰ دور به مدت ده دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از عصاره صاف شده را درون فالدکون جدید ریخته و دو میلی‌لیتر اسید ناین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه شد. نمونه‌ها را به مدت یک ساعت در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از خارج شدن از بن‌ماری چهار میلی‌لیتر تولوئن به محلول‌ها اضافه و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شدند و نمونه‌ها را در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شدند.



شکل ۱- تصاویر TEM و SEM نانوذرات نقره

Figure 1- TEM and SEM images of silver nanoparticles

O=C=O می‌باشد. همچنین محدوده‌های بین ۲۸۵۰-۲۹۰۰ متر مکعب مربوط به پیوند C-H کششی و مربوط به آلکنیک است (Sun et al., 2014). نتایج حاصل از طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز، وجود گروه‌های عاملی مختلفی از جمله هیدروکسیل، کربوکسیل و کربونیل را در سطح نانوذرات نشان داد. همچنین وجود باندهای مربوط به پیوندهای ارتعاشی کششی C-O در گروه‌های استری و اسیدی، باند مربوط به گروه آمیدی پروتئین‌ها، و باند مربوط به پیوند ارتعاشی کششی گروه‌های آلدئیدی، کتونی

بررسی طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

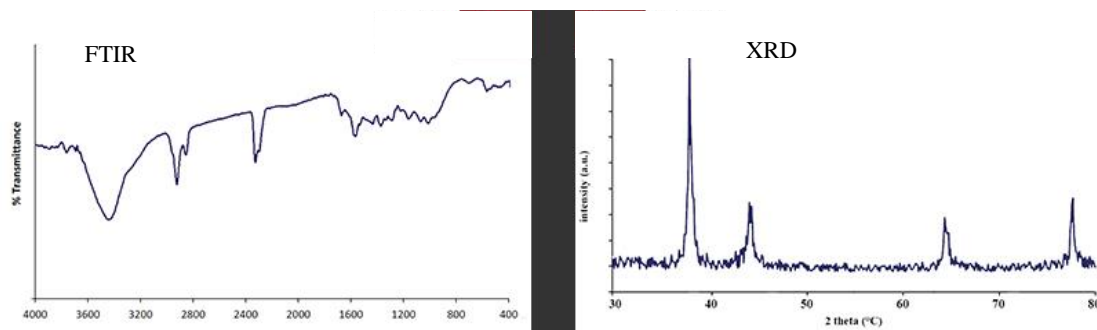
با هدف بررسی گروه‌های عاملی پوشاننده‌ی دخیل در سنتز و پایداری نانوذرات نقره سنتز شده توسط فرایند سنتز سبز، آنالیز و مشخصه‌یابی طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه انجام شد (شکل ۲). که با توجه به طول موج‌های جذبی در نواحی ۱۶۴۰ سانتی‌متر مربوط به گروه N-H که همان آمین می‌باشد، باند در ۳۵۴۰ سانتی‌متر مربوط به گروه‌های O-H یا N-H و باند قوی که در محدوده‌ی بین ۲۳۴۲-۲۳۶۰ قرار دارد مربوط به گروه

(al., 2013).

آزمون پراش اشعه ایکس (XRD)

با توجه نتایج شکل ۲ آزمون پراش اشعه ایکس انجام گردید و الگوی XRD نانوذرات تهیه شده آورده شده است. نتایج آزمون XRD برای نانوذرات سنتز سبز شده‌ی اکسید مس، نشان‌دهنده‌ی پیک‌های قابل رؤیت در محدوده‌های ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۳۱۱ درجه است که منطبق بر صفحات و زوایای پراش آنها با نمونه‌ی استاندارد نانوذرات نقره است. این الگوی، همچنین تأیید کرد که نانوذرات نقره تشکیل شده به شکل نانو کریستال‌های نقره هستند.

و استری است که به فراوانی در ترکیبات ترپنوئیدی مشاهده می‌شوند. بنابراین نتایج بر جذب کارآمد ترکیبات آلی همچون ترکیبات آلیفاتیک، آروماتیک و پروتئین‌ها در سطح نانوذرات دلالت دارد. همچنین هنگامی که نانوذرات با استفاده از ساتریفیوژ رسوب‌گیری شدند، محلول رویی کاملاً شفاف و بی‌رنگ بود که نشان‌دهنده‌ی شرکت تمامی ترکیبات آلی در واکنش سنتز نانوذرات بود. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده در پژوهش‌های همسو، صحت سنتز این نانوذرات را به دلیل رویکرد یکسان در نحوه‌ی پیک‌های کششی مختلف ای طول موج‌های برای نانوذرات نقره تأیید گردید که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (Mittal et



شکل ۲- تصاویر FTIR و XRD برای ارزیابی نانوذرات نقره سنتز سبز شده

Figure 2- FTIR and XRD images for evaluating of green synthesized silver nanoparticles

درصد جوانه‌زنی بذرها بدست آید. با کاربرد غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به روش افزودن در بستر کاشت و روش پیش تیمار نمودن موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذره‌های ذرت به ترتیب در حدود ۹/۲۲ و ۶/۲۷ درصدی نسبت به شاهد گردید (شکل ۳a). با توجه به اینکه هر دو روش کاربرد نانوذره منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی در غلظت‌های کمتر شده است بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که کاربرد نانوذرات نقره در غلظت‌های پایین از طریق بذری جذب شده که می‌تواند به نوبه خود بر درصد جوانه‌زنی و رشد ریشه‌چه (شکل ۳b) تأثیر گذاشته و همانطور که در مطالعه حاضر نشان داده شد منجر به افزایش قوه نامیه بذری می‌شود. از طرفی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره، درصد جوانه‌زنی بذره‌های ذرت با افزایش غلظت نانوذره نقره از ۰/۱ به ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر روند کاهشی را در پی داشتند و در غلظت ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر در هر

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر فاکتورهای نانوذره نقره و روش کاربرد و اثر متقابل نانوذره نقره × روش‌های کاربرد بر صفت درصد جوانه‌زنی بذره‌های ذرت معنی‌دار بود (جدول ۲). به نظر می‌رسد با ورود نانوذرات نقره به داخل سلول‌های بذری، واکنش‌های اکسیداسیون احیا از طریق رادیکال بودن سوپراکسید تشدید شده و باعث دفع شدن رادیکال‌های آزاد در بذره‌های در حال جوانه‌زنی شده و به دلیل اکسیژن تولید شده در چنین فرآیندی می‌تواند جوانه‌زنی بذری را تحریک کند (Itoutwar et al., 2020). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در بین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره، کاربرد غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره موجب افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذره‌های ذرت گردید. تیمار افزودن غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره سبب شد تا بیشترین

گلرنگ شده در حالی که با افزایش سطوح نقره تا ۷ میلی گرم در کیلوگرم باعث کاهش ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر گردید که دلیل آن را تولید گونه‌های فعال اکسیژن دانسته که منجر به تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (Mohammadi Sanjani et al., 2021). همچنین محققان دیگری در بررسی‌های صورت گرفته بر تأثیر نانوذرات نقره بر جوانه‌زنی ذرت نیز گزارش کردند که غلظت‌های پایین نانوذرات نقره اثر تحریکی بر رشد و نمو بذور ذرت داشته و با افزایش غلظت نقره اثرات سمی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه مشهود بود. بنحویکه به نظر می‌رسد اثرات منفی نانوذرات نقره بر جوانه‌زنی بذر ذرت از طریق ایجاد تنش اکسایشی و اختلال در جذب مواد مغذی بوجود می‌آید (Ittroutwar et al., 2020) که با پژوهش حاضر مطابقت دارد.

دو روش پیش تیمار و افزودن به بستر کاشت به ترتیب منجر به کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذره‌های ذرت در حدود ۶/۷ و ۴/۸۱ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۳a) در واقع نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره، نه تنها تأثیر مثبتی بر روی جوانه‌زنی بذور نداشته است بلکه باعث کاهش جوانه‌زنی بذره‌های ذرت نسبت به تیمار شاهد گردید. در تحقیقات صورت گرفته تأثیر نانوذرات نقره تا غلظت‌های بهینه را بر جوانه‌زنی گندم و جو گزارش کردند و اظهار داشتند که با اعمال نانوذرات نقره درصد جوانه‌زنی هر دو گیاه ذکر شده افزایش یافت (Abou-Zeid et al., 2014). از طرفی گزارش‌ها نشان داده است که نانوذرات نقره تأثیرات مثبت و منفی بر روی جوانه‌زنی بذر گلرنگ داشته است بنحویکه در سطوح پایین نانوذرات نقره (۵ میلی گرم در کیلوگرم) منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی بذر در

جدول ۲- تجزیه وایانس خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره و روش‌های کاربرد آن

Table 2- Analysis of variance of germination characteristics of corn seeds under the influence of different concentrations of silver nanoparticles (Nano-Ag) and its application methods (AM)

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean squares								
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	میانگین مدت جوانه‌زنی Mean germination time	شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی Germination synchrony index	میانگین جوانه‌زنی روزانه Mean daily germination	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی D ₅₀	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص قدرت بذر Vigor index
نانوذره نقره Nano-Ag	4	127.83**	2.10**	0.0021**	1.75**	44.00**	0.077**	304.51**	0.011**	3352948.31**
روش کاربرد Application methods	1	1.33**	0.14**	0.000028 ^{ns}	0.0053 ^{ns}	1.545 ^{ns}	0.013**	0.201 ^{ns}	0.0022**	7289.57 ^{ns}
نانوذره نقره × روش کاربرد Nano-Ag × AM	4	3.46**	0.07**	0.00041**	0.050*	1.60*	0.017**	1.40**	0.0023**	11114.83**
خطای آزمایش Error	20	0.333	0.003	0.000073	0.014	0.458	0.0012	0.267	0.000063	2249.60
ضریب تغییرات CV (%)	-	0.68	1.73	4.31	2.12	2.82	2.13	1.67	2.42	1.79

^{ns}, * and ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد می‌باشند.

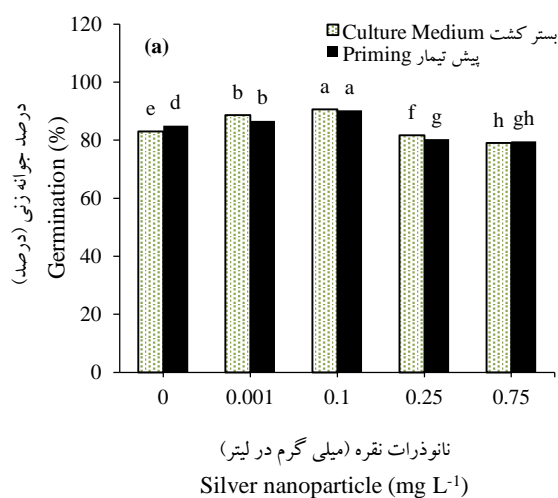
^{ns}, * and ** are non-significant and significant probability level of 5%, 1%, respectively.

کاربرد بر صفت میانگین مدت جوانه‌زنی بذر تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۲). با توجه به نتایج شکل ۳b مشخص گردید در هر دو روش افزودن نانوذره به بستر کاشت و پیش تیمار نمودن بذر،

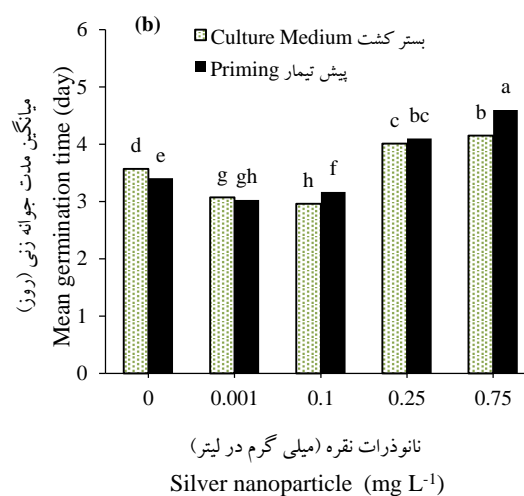
میانگین مدت جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای نانوذرات نقره، روش‌های کاربرد آن و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های

مشخص شد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره از ۰/۱ به ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر منجر به افزایش مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای ذرت گردید. پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به ترتیب منجر به افزایش ۲۰/۲۳ و ۳۴/۸۹ درصدی میانگین مدت جوانه‌زنی بذرها نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به روش افزودن در بستر کاشت به ترتیب منجر به افزایش ۱۲/۳۲ و ۱۶/۲۴ درصدی میانگین مدت جوانه‌زنی بذرها نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۳b). پژوهشگران معتقدند که پاسخ بذرها به نانوذرات نقره متفاوت بوده و تأثیرات منفی و مثبت این نانوذره بستگی به بذر گیاه مورد مطالعه دارد، بنحویکه ایشان گزارش کردند که غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی و کاهش مدت زمان جوانه‌زنی بذر گندم گردید در صورتی که این مقدار نانوذره نقره تأثیرات منفی بر جوانه‌زنی و رشد بذور ذرت داشت (Itroutwar et al., 2020; Shukla et al., 2019).



با کاربرد غلظت‌های پایین (۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) نانوذرات نقره سبب شده تا مدت جوانه‌زنی بذرهای ذرت بطور معنی‌داری کمتر از تیمار عدم کاربرد نانوذره گردد (شکل ۳b). بنحوی که در بین تیمارهای مختلف کمترین مدت جوانه‌زنی بذر (۲/۹۶ روز) در تیمار کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به صورت اضافه کردن به بستر کاشت بدست آمد که با غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نقره بصورت پیش‌تیمار تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۳b). در واقع کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به روش افزودن در بستر کاشت موجب کاهش ۱۷/۰۸ درصدی و کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به روش پیش‌تیمار نمودن سبب کاهش ۱۱/۱۴ درصدی میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای ذرت گردید. کاهش مدت زمان جوانه‌زنی بذر با کاربرد نانوذرات نقره در بذرهای اسفناج (Mingyu et al., 2007)، گلرنگ (Zari et al., 2015) و ذرت (Itroutwar et al., 2020) نیز گزارش شده است. در پژوهش حاضر



شکل ۳- درصد جوانه‌زنی (a) و میانگین مدت جوانه‌زنی (b) بذر ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره و روش‌های کاربرد آن.

Figure 3- germination percentage (a) and mean germination time (b) of corn seed under different concentrations of silver nanoparticles and its application methods.

نداشت (جدول ۲). با مشاهده شکل ۴a مشخص گردید که با افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به بستر کاشت بیشترین شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی حاصل گردید که با کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره (۰/۲۲۳) به روش پیش‌تیمار نمودن بذرها اختلاف معنی‌داری نداشت. در واقع با افزودن ۰/۱

شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس در این آزمایش نشان‌دهنده تأثیر معنی‌داری اثر اصلی نانوذرات نقره و اثر متقابل نانوذره نقره × روش‌های کاربرد در ارتباط با صفت شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی بود در صورتی که تأثیر روش‌های کاربرد نانوذره تأثیر معنی‌داری را روی این صفت

متوسط جوانه‌زنی روزانه به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اثر اصلی نانوذرات نقره و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد قرار گرفت در صورتی که اثر اصلی روش‌های کاربرد نانوذره تاثیر معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲). مطابق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها مشخص گردید که با کاربرد غلظت‌های پایین نانوذرات نقره (۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر) میانگین جوانه‌زنی روزانه بذرهاي ذرت به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه گردید. بیشترین متوسط جوانه‌زنی روزانه (۶/۱۵ روز) در تیمار کاربرد غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره در بستر کاشت بدست آمد. همچنین در روش پیش‌تیمار نمودن بذرها با نانوذرات نقره بیشترین متوسط جوانه‌زنی روزانه (۶/۱۲ روز) در تیمار کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره حاصل شد. بین تیمارهای کاربرد غلظت‌های ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره در بستر کاشت و غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذره در هر دو روش کاربرد (پیش‌تیمار نمودن و افزودن نانوذره نقره به بستر کاشت) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۴b). با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید که کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به روش پیش‌تیمار نمودن بذر و همچنین کاربرد غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به روش افزودن آن به بستر کاشت به ترتیب موجب افزایش در حدود ۷/۵۵ و ۱۲/۴۳ درصدی متوسط جوانه‌زنی روزانه بذرهاي ذرت شده است. از آنجا که متوسط جوانه‌زنی روزانه از تقسیم جوانه‌زنی نهایی بر دوره جوانه‌زنی بدست می‌آید بنابراین این پارامتر با کاربرد غلظت بهینه نانوذرات نقره افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد کاربرد نانوذره نقره به روش افزودن به بستر کاشت و پیش‌تیمار نمودن بذرها منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی (شکل ۵a) شده، که همین امر منجر به افزایش متوسط جوانه‌زنی روزانه می‌شود. محققان طی تحقیقات انجام گرفته بر روی تاثیر نانوذرات نقره بر مولفه‌های جوانه‌زنی گزارش کردند که نانوذره نقره در غلظت‌های پایین و با روش‌های گوناگون منجر به افزایش ویژگی‌های جوانه‌زنی شده است، بطوری که بهترین جوانه‌زنی روزانه در غلظت‌های پایین در گیاه گندم (Belava et al., 2017) و ذرت (Sehnal et al., 2020) بدست آمد. از طرفی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزایش

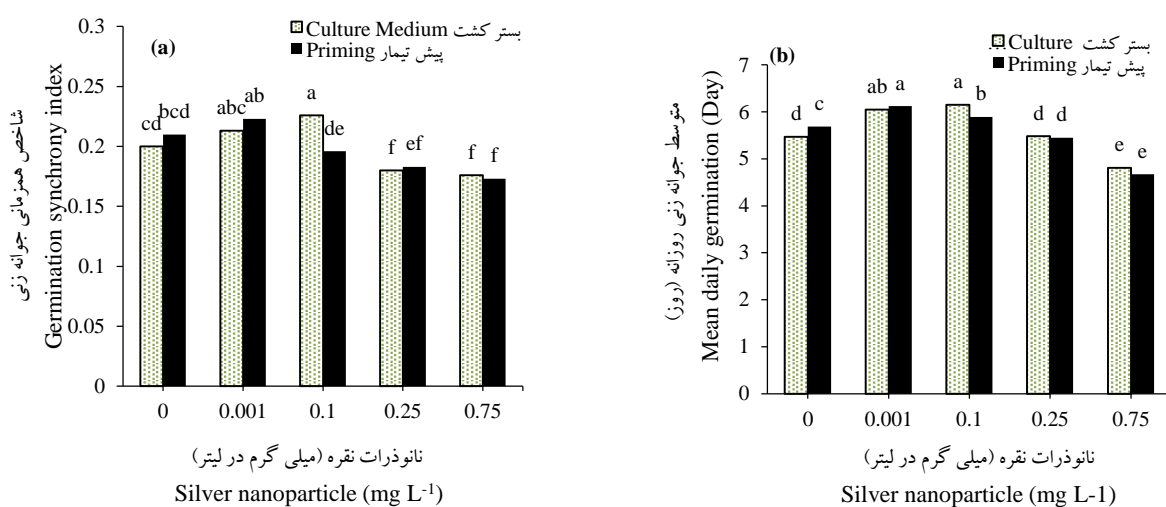
میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت سبب شد تا شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی در مقایسه با تیمار شاهد در حدود ۱۳ درصد افزایش داشته باشد. از طرفی پیش‌تیمار نمودن بذرها با غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره منجر به افزایش ۶/۱۹ درصدی شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد گردید (شکل ۴a). از آنجایی که جوانه‌زنی بذر به‌طور کلی بصورت هم‌زمان نیست، بنابراین در این پژوهش با استفاده از کاربرد نانوذره نقره در غلظت‌های پایینی (۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر) به بستر کاشت و پیش‌تیمار کردن بذرها منجر بهبود هم‌زمانی در جوانه‌زنی بذرها گردید. از آنجایی که جوانه‌زنی بذر به‌طور کلی بصورت غیر یکنواخت است، بنابراین در این پژوهش با استفاده از کاربرد نانوذره نقره به بستر کاشت و پیش‌تیمار کردن بذرها منجر بهبود یکنواختی در جوانه‌زنی بذرها گردید. در این راستا محققان اظهار داشتند که جوانه‌زنی بذرهاي گندم با استفاده از نانوذره نقره منجر به افزایش هم‌زمانی جوانه‌زنی بذرها گردید (El-Temseh et al., 2012). همچنین هم‌زمانی جوانه‌زنی بذر با کاربرد نانوذره نقره در بذرهاي گیاهان گوجه‌فرنگی (Rutkowski et al., 2022) و گندم (Lahuta et al., 2022) نیز گزارش شده است. همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی بذرهاي ذرت به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در این غلظت‌ها بین روش‌های کاربرد نانوذره نقره از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کاربرد غلظت ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به روش پیش‌تیمار نمودن بذر و افزودن نانوذره به بستر کاشت به ترتیب منجر به کاهش ۱۷/۶۱ و ۱۲ درصدی شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۴a). به نظر می‌رسد کاهش شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به دلیل اثرات سمی این نانوذره در غلظت‌های بالا و باعث بوجود آمدن تنش اکسیداتیو نیز می‌شود، که یکی از دلایل اصلی و مهم آن کاهش سرعت جوانه‌زنی در بذر است (Choudhury et al., 2016).

متوسط جوانه‌زنی روزانه

با بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشخص گردید که

است که جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌هایی مانند پنبه (ارقام سپید و ورامین) و ذرت در غلظت‌های پایین نانوذرات نقره بیشترین سرعت جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه را داشته، در صورتی که با افزایش نانوذره نقره به دلیل سمی بودن آن در غلظت‌های بالا تأثیر منفی بر روی بذر گیاهان ذکر شده داشته و بذرها دچار اختلال شده و این امر باعث کاهش جوانه‌زنی روزانه می‌گردد (Saberbaghban et al., 2020) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

غلظت نانوذرات نقره منجر به کاهش متوسط جوانه‌زنی روزانه شد. بنحویکه کاربرد ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذره به روش پیش تیمار و افزودن به بستر کاشت به ترتیب منجر به کاهش ۱۷/۹۲ و ۱۲/۰۶ درصدی متوسط جوانه‌زنی روزانه بذرها ذرت نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۴b). در واقع با توجه به نتایج می‌توان چنین استنباط کرد غلظت بهینه نانوذره نقره بین ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر بوده و بیشتر از این مقدار می‌تواند برای بذر ایجاد سمیت کرده و منجر به کاهش جوانه‌زنی و در نهایت بازدارندگی رشد گیاهچه شود. پژوهش محققین حاکی از آن



شکل ۴- شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی (a) و متوسط جوانه‌زنی روزانه (b) بذر ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره و روش‌های کاربرد آن.

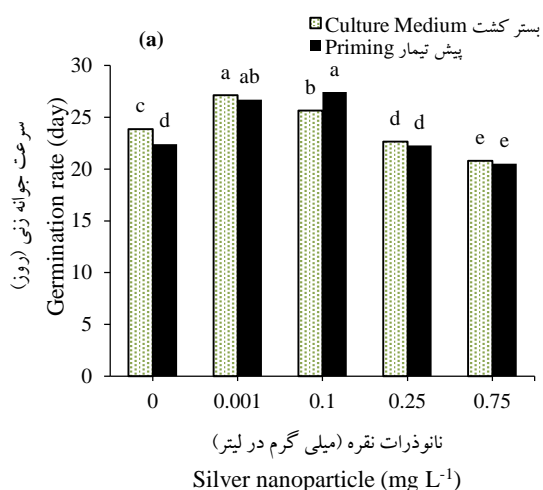
Figure 4- Germination synchrony index (a) and mean daily germination (b) of corn seed under the influence of different concentrations silver nanoparticles and its application methods.

(شکل ۵a). همچنین پیش تیمار نمودن بذرها با ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره نیز موجب افزایش معنی دار سرعت جوانه‌زنی بذرها ذرت در مقایسه با تیمار شاهد و سایر تیمارها گردید. در واقع کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به روش پیش تیمار نمودن بذرها و افزودن ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت به ترتیب منجر به افزایش ۱۳/۶۲ و ۱۹/۱۴ درصدی سرعت جوانه‌زنی بذرها نسبت به تیمار شاهد گردید (شکل ۵a). بالا بودن سرعت جوانه‌زنی بذر ذرت در تیمار کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به روش پیش تیمار مؤید آن بود که در اثر پیش تیمار نمودن بذرها، فعالیت‌های متابولیکی پیش از جوانه‌زنی سریع‌تر انجام شده که این امر موجب آماده ساختن دانه برای خروج ریشه‌چه باشد.

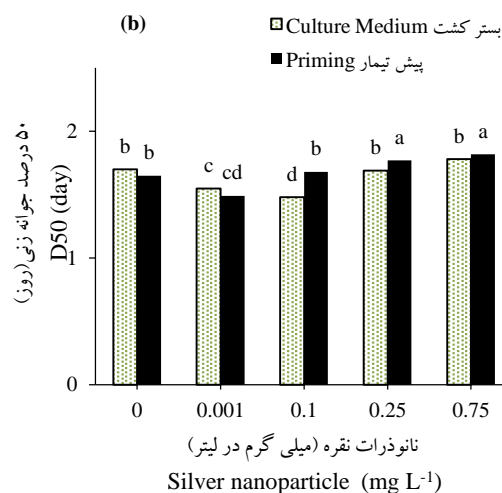
سرعت جوانه‌زنی

با بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشخص گردید که متوسط جوانه‌زنی روزانه به‌طور معنی داری تحت تأثیر اثر اصلی نانوذرات نقره و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد قرار گرفت در صورتی که اثر اصلی روش‌های کاربرد نانوذره تأثیر معنی داری را نشان نداد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها گویای آن است که در هر دو روش کاربرد غلظت‌های پایین نانوذره نقره (۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر) سرعت جوانه‌زنی افزایش یافت. بنحویکه، بیشترین سرعت جوانه‌زنی با میانگین ۲۷/۴۲ در روز از تیمار افزودن ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره در بستر کاشت حاصل شد که از نظر آماری به‌طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود

میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به روش پیش تیمار، منجر به کاهش به ترتیب ۵/۲۲ و ۱۲/۹۰ درصدی سرعت جوانه زنی نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۵a). همچنین افزودن غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به بستر کاشت، منجر به کاهش به ترتیب ۸/۵۲ و ۰/۶۲ درصدی سرعت جوانه زنی نسبت به تیمار شاهد شد.



درواقع افزایش سرعت جوانه زنی بذره‌های تیمار شده با غلظت‌های کم نانوذرات نقره ممکن است به دلیل افزایش سرعت تقسیم سلولی در سلول‌های مریستم ریشه‌چه‌ی ذرت از همان ابتدای شروع تیمار با نانوذرات نقره باشد که مطالعات دیگر محققین بر روی بذور ذرت این مطلب را تأیید می‌کند (Tong et al., 2018). از طرفی نتایج نشان داد که کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵



شکل ۵- تاثیر تیمارهای نانوذره نقره و روش‌های کاربرد بر سرعت جوانه زنی (a) و زمان تا ۵۰ درصد جوانه زنی (b) بذور ذرت

Figure 5- The effects of copper oxide nanoparticles and application methods treatments on germination rate (a) and D50 (b) of corn seed

نقره نیز موجب کاهش معنی دار زمان تا ۵۰ درصد جوانه زنی گردید که به طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بود. به نظر می‌رسد استفاده از هر دو روش کاربرد در غلظت پایین نانوذره نقره، از طریق افزایش سرعت جوانه زنی (شکل ۵a)، کوتاه شدن متوسط مدت جوانه زنی (شکل ۳b) و افزایش جوانه‌نی روزانه (شکل ۴b) منجر به کاهش زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه زنی گردید. همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت از ۰/۱ تا ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره در هر دو روش کاربرد منجر به افزایش زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه زنی گردید. در واقع کاهش سرعت جوانه زنی و افزایش زمان تا ۵۰ درصد جوانه زنی در غلظت‌های بالای نانوذره نقره احتمالاً به دلیل اثرات سمی ایجاد شده در این غلظت‌ها است (Savassa et al., 2021) که منجر به کاهش جذب آب توسط بذور شده و در نهایت باعث کاهش

زمان تا ۵۰ درصد جوانه زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نانوذرات نقره، روش‌های کاربرد آن و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد بر مدت زمان لازم تا ۵۰ درصد جوانه زنی تاثیر معنی داری داشت (جدول ۲). با کاربرد غلظت‌های ۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه زنی نسبت به تیمار عدم کاربرد کاهش یافت، به طوری که نتایج نشان داد که کمترین زمان تا ۵۰ درصد جوانه زنی بذره‌های ذرت (۱/۴۸ روز) مربوط به تیمار افزودن غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به بستر کاشت بود که به طور معنی داری کمتر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود، اما اختلاف معنی داری با تیمار کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به روش پیش تیمار بذور نشان نداد (شکل ۵b). همچنین پیش تیمار نمودن بذور با غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم نانوذره

سرعت جوانه‌زنی و افزایش زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی می‌شود.

طول گیاهچه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، نانوذرات نقره، روش‌های کاربرد آن و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد بر طول گیاهچه‌های ذرت تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ۲). نتایج شکل ۶a نشان داد که کاربرد غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره در هر دو روش کاربرد نانوذره (پیش‌تیمار و افزودن به بستر کاشت) به‌طور معنی‌داری سبب افزایش طول گیاهچه‌های ذرت گردید. به‌طوریکه بیشترین طول گیاهچه با میانگین ۳۹/۸۹ سانتی‌متر از تیمار افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت بذرهاى ذرت حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهاى شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود. با کاربرد تیمار فوق، طول گیاهچه‌های ذرت نسبت به تیمار شاهد در حدود ۴۶/۱۱ درصدی بیشتر بود (شکل ۶a). همچنین در روش پیش‌تیمار نمودن بذرها، بیشترین طول گیاهچه از تیمار کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد که با غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره با همین روش کاربرد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۶a). محققان گزارش کردند که تیمار نانوذره نقره منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه و در نتیجه منجر به بهبود استقرار گیاهچه‌های کلزا گردید (Yin et al., 2012). بنحویکه بیان شده است نانوذره نقره می‌تواند از طریق بذر جذب شده که در این صورت به نوبه خود بر درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه تأثیر می‌گذارد (Afsheen et al., 2020). در واقع این افزایش رشد گیاهچه‌های ذرت تیمار شده با غلظت‌های ۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره، می‌تواند ناشی از فعالیت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از جمله جبریلین و سیتوکنین باشد که این موضوع را محققین دیگری تایید می‌کنند (Shukla et al., 2019). همچنین نانوذرات نقره با افزایش محتویات آب سلولی باعث تحریک در سرعت جوانه‌زنی (شکل ۶a) در مراحل بعدی تمایز و رشد گیاهچه می‌شود. با توجه به اینکه نانوذره نقره در غلظت‌های بالا باعث ایجاد سمیت و جلوگیری از جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه می‌شود (Savassa et al., 2021) بنابراین در مطالعه حاضر نشان

داده شد که با افزایش غلظت نانوذره نقره (۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر) در هر دو روش کاربرد منجر به کاهش طول گیاهچه‌های ذرت گردید. بطوری‌که، پیش‌تیمار نمودن بذرها با غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره منجر به کاهش ۷/۳۸ و ۱۱/۷۹ درصدی طول گیاهچه‌های حاصله نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین در تیمار کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت، طول گیاهچه‌های حاصل شده به ترتیب در حدود ۳/۲۶ و ۷/۲۸ درصد نسبت به طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهاى شاهد کاهش داشت (شکل ۶a). تحقیقات محققین نشان داد که طول ریشه‌چه و ساقه‌چه یکی از شاخص‌های مناسب جهت تعیین سمیت فلزات می‌باشد (Stampoulis et al., 2009). مهار رشد گیاهچه تا حدودی با غلظت نانوذرات نقره ارتباط دارد. در واقع رشد گیاهچه در شرایط استفاده از غلظت‌های بالای نانوذرات نقره با برهمکنش آن‌ها با واکنش‌های بیوشیمیایی درون گیاه منجر به تخریب متابولیسم گیاه می‌شود (Tong et al., 2018). همچنین اختلال در مسیر انتقال آب نیز می‌تواند یکی از راه‌هایی باشد که نانوذرات نقره می‌تواند موجب آسیب به گیاهچه و جلوگیری از رشد آن باشد (Afsheen et al., 2020).

وزن خشک گیاهچه

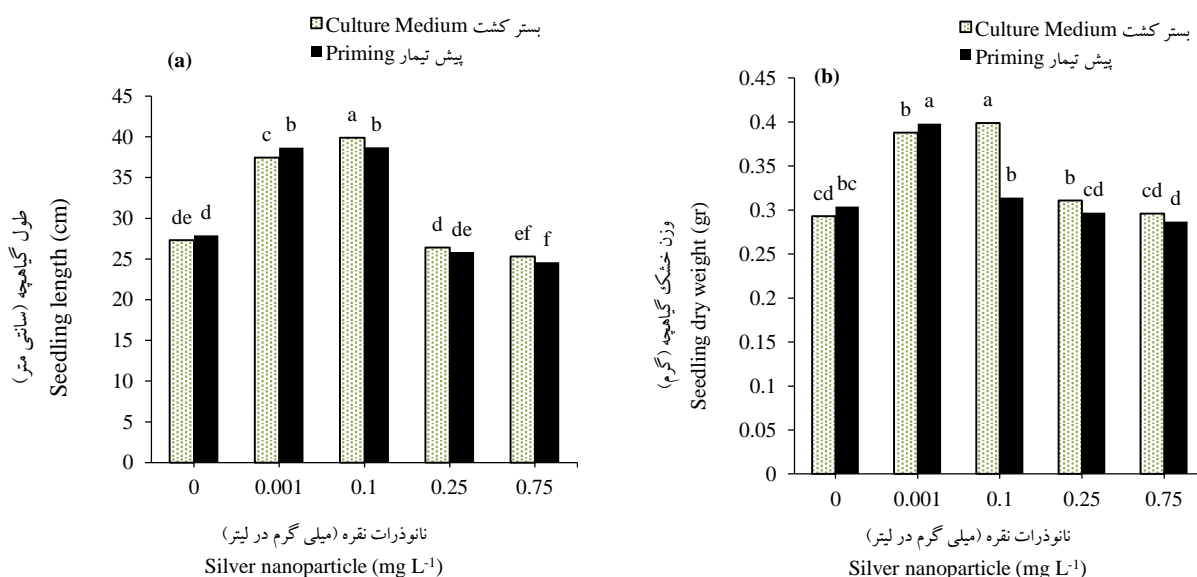
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر فاکتورهای نانوذرات نقره و روش کاربرد و اثر متقابل نانوذره نقره × روش‌های کاربرد بر صفت وزن خشک گیاهچه ذرت معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج شکل ۶b نشان داد که کاربرد غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره در هر دو روش کاربرد نانوذره (پیش‌تیمار و افزودن به بستر کاشت) به‌طور معنی‌داری سبب افزایش وزن خشک گیاهچه‌های ذرت گردید. به‌طوریکه بیشترین طول گیاهچه با میانگین ۰/۳۹۹ گرم از تیمار افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت بذرهاى ذرت حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهاى شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود. با کاربرد تیمار فوق، وزن خشک گیاهچه‌های ذرت نسبت به تیمار شاهد در حدود ۳۶/۱۷ درصدی بیشتر بود (شکل ۶b). همچنین در روش پیش‌تیمار نمودن بذرها، بیشترین وزن

تحقیقی دیگر که بر روی گیاهچه‌های کاهو انجام گرفته بود، گزارش شده که غلظت‌های کم نانوذره نقره تا حدودی منجر به افزایش طول و وزن خشک گیاهچه گردیده و در غلظت‌های بالای به دلیل خاصیت سمیت نانوذره در سطوح بالا منجر به بازدارندگی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کاهو شده در نتیجه وزن خشک گیاهچه کاهش یافت (Daniels et al., 2006) که نتایج آن با مطالعه حاضر مطابقت داشت.

شاخص قدرت بذر

با بررسی نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها مشخص گردید که شاخص قدرت بذر به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای نانوذرات نقره و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد قرار گرفت در صورتی که اثر روش‌های کاربرد نانوذره تاثیر معنی‌داری را بر روی این صفت نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین گویای آن است که روش‌های کاربرد نانوذرات نقره تا حدودی منجر به افزایش معنی‌دار شاخص قدرت بذر شد. بنحویکه، بیشترین شاخص قدرت بذر از تیمار ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره در بستر کاشت با میانگین ۳۶۱۷/۰۶ حاصل شد که منجر به افزایش ۶۸/۲۵ درصدی نسبت به تیمار شاهد گردید.

خشک گیاهچه با میانگین ۰/۳۹۸ گرم از تیمار کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد که با غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره با همین روش کاربرد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۶b). در واقع برتری گیاهچه‌های حاصل از تیمارهای، پیش‌تیمار نمودن و افزودن نانوذره نقره به بستر کاشت در غلظت‌های ۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره از نظر وزن خشک گیاهچه را می‌توان به سرعت بالای جوانه‌زنی بذر (شکل ۵a) آن‌ها نسبت داد. به عبارت دیگر، نانوذره نقره موجب می‌شود تا بذرهای ذرت سریع‌تر در مقایسه با تیمار عدم کاربرد نانوذره جوانه‌زده در نتیجه فرصت بیشتری برای رشد گیاهچه خواهد بود که این امر منجر به افزایش وزن خشک گیاهچه می‌گردد. همچنین نتایج نشان داد که افزایش غلظت نانوذره نقره منجر به کاهش وزن خشک گیاهچه گردید که یکی از دلایل این کاهش را می‌توان به کاهش جذب آب توسط بذر در اثر وجود نانوذره نقره دانست که باعث کاهش ترشح هورمون‌ها (سیتوکینین و جبریلین)، افزایش فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد گیاهچه و کاهش وزن خشک گیاهچه می‌شود. افزایش طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه با کاربرد نانوذرات نقره در بذر گیلان اسپانیایی (Alshehddi et al., 2020) و برنج (Iqbal et al., 2020) نیز گزارش شده است. در صورتی که در



شکل ۶- تاثیر تیمارهای نانوذره نقره و روش‌های کاربرد بر طول گیاهچه (a) و وزن خشک گیاهچه‌های (b) ذرت

Figure 6- The effects of silver nanoparticles and application methods treatments on seedling dry (a) and seedling length (b) of corn

شاخص قدرت بذر گندم (Yasmeen et al., 2015) شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

اسید آمینه پرولین

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) اثر تیمارهای نانوذرات نقره، روش کاربرد و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد بر اسید آمینه پرولین معنی‌دار بود. در هر دو روش کاربرد، اسید آمینه پرولین گیاهچه‌های حاصل با کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره نسبت به اسید آمینه پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۷b). همچنین با افزایش غلظت نانوذرات نقره، محتوای پرولین گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری که در روش پیش‌تیمار بذر، بیشترین اسید آمینه پرولین گیاهچه‌ها در تیمار کاربرد غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره بدست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود. در روش افزودن نانوذرات نقره به بستر کاشت هم، کاربرد غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره، محتوای اسید آمینه پرولین گیاهچه‌ها بیشترین بود که بین روش‌های کاربرد در این غلظت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین کمترین محتوای پرولین در تیمار شاهد مشاهده شد. در واقع پیش‌تیمار نمودن بذرها و افزودن غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به بستر کاشت به ترتیب منجر به افزایش ۹۴/۱۱ و ۹۱/۶۱ درصدی محتوای اسید آمینه پرولین نسبت به تیمارهای شاهد شد (شکل ۷b). در واقع پرولین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و با حذف فعالیت اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS)، مقاومت گیاهچه‌ها را به تنش اکسیداتیو افزایش می‌دهد (Nawaz & Bano, 2020). بنابراین به نظر می‌رسد در گیاهچه‌های ذرت اسید آمینه پرولین به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو عمل می‌کنند و با افزایش غلظت نانوذرات نقره افزایش می‌یابد. محققان گزارش کردند که نانوذرات نقره سنتز شده به روش سنتز سبز منجر به افزایش محتوای پرولین در گیاه بادرنجبویه شد (Shavalibor & Esmailzadeh, 2019). همچنین افزایش محتوای پرولین بر اثر استفاده از پیش‌تیمار کردن بذرها با نانوذرات نقره در گیاهچه‌های

همچنین در بین روش پیش‌تیمار کردن، بیشترین شاخص قدرت بذر از پیش‌تیمار نمودن بذرها با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره با میانگین ۳۴۹۷/۱۶ بدست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۵۶/۴۳ درصد افزایش داشت (شکل ۷a). در واقع بهبود شاخص قدرت بذر را می‌توان به بهبود درصد جوانه‌زنی (شکل ۳a) و طول گیاهچه‌ها (شکل ۷a) نسبت داد. در مطالعه حاضر نشان داده شد کاربرد نانوذره نقره در هر دو روش مورد آزمایش (پیش‌تیمار نمودن و افزودن به بستر کاشت) در غلظت‌های پایینی نانوذره نقره (۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم) با بهبود جوانه‌زنی (شکل ۳a) و وزن خشک گیاهچه‌ها (شکل ۷b) منجر به افزایش معنی‌دار در نتیجه بهبود شاخص قدرت بذر شود. در واقع روش‌های بکار برده برای اعمال نانوذره نقره نه تنها سرعت (شکل ۵a) و مدت زمان جوانه‌زنی (شکل ۳b) را بهبود می‌بخشد، بلکه قدرت گیاهچه‌ها را از طریق افزایش طول گیاهچه‌ها (شکل ۶a) و درصد جوانه‌زنی (شکل ۳a) افزایش می‌دهد. افزایش شاخص قدرت بذر با کاربرد نانوذرات نقره در بذرهای خردل سیاه (Sharma et al., 2012)، آویشن کوهی (Abbasi Khalaki et al., 2016) و جو (Elamawi et al., 2014) نیز گزارش شده است. همچنین در مطالعه حاضر نشان داده شد که با افزایش غلظت نانوذره نقره (۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر) در هر دو روش کاربرد منجر به کاهش شاخص قدرت بذر ذرت گردید. بطوری که، پیش‌تیمار نمودن بذرها با غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره منجر به کاهش ۷/۱۲ و ۱۳/۰۲ درصدی شاخص قدرت بذر حاصله نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین در تیمار کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت، شاخص قدرت بذر حاصل شده به ترتیب در حدود ۲/۳۸ و ۸/۷۳ درصد نسبت به شاخص قدرت بذر حاصل از بذرهای شاهد کاهش داشت (شکل ۷a). در واقع وجود نانوذرات نقره در غلظت‌های بالا منجر به تنش اکسیداتیو شده و در محیط جوانه‌زنی به دلیل نفوذ سریع به داخل بذر همراه با آب از طریق تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مهم از جمله جلوگیری از تقسیم سلول‌ها، منجر به اختلال در رشد گیاهچه و در نتیجه کاهش شاخص بیه بذر می‌شود (Saberbaghban et al., 2020). در این راستا محققان گزارش کردند که غلظت‌های بالای نانوذره نقره منجر به کاهش

میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های ذرت افزایش یافت که روند افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز با افزایش غلظت نانوذرات نقره معنی‌دار بود. به‌نحوی که در بین تیمارهای مورد مطالعه، بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز گیاهچه‌ها در تیمار کاربرد غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد و سایر تیمارها بود (جدول ۴). کاربرد غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره سبب شد تا میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز به‌ترتیب در حدود ۳۹/۲۷، ۸۷/۵۲ و ۳۱/۸۴ درصد افزایش داشته باشد. اگرچه بین تیمار شاهد و تیمار کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی‌فنول‌اکسیداز از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما با کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی‌فنول‌اکسیداز به‌ترتیب در حدود ۱/۲۱ و ۷/۰۳ درصد گردید.

گندم (Bano, 2020)، ذرت (Iqbal et al., 2022)، جو (Doğaroğlu & Köleli, 2017) گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی نانوذرات نقره و روش‌های کاربرد بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۳). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهچه‌های حاصل از بذرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بیشتر از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد بود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز در گیاه باعث حذف گونه‌های فعال اکسیژن شده در نتیجه با محافظت از گیاهچه‌ها در برابر پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو فسفولیپیدهای غشایی باعث حفظ کیفیت و قدرت بذر می‌شود (Ahmadi nouraldin vand et al., 2021). با افزایش غلظت نانوذره از ۰/۰۰۱ به ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر

جدول ۳- تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و اسید آمینه پرولین گیاهچه‌های ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره و روش‌های کاربرد آن

Table 3-Analysis of variance of activity of antioxidant enzymes and Amino acid proline of corn seedlings under different concentrations of silver nanoparticles (Nano-Ag) and its application method (AM)

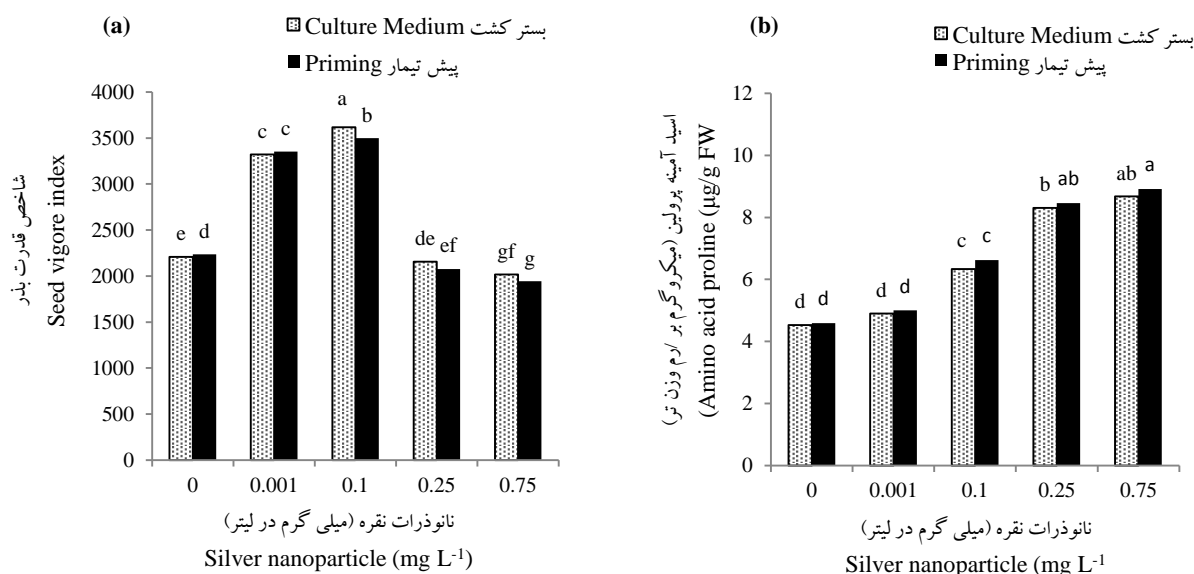
منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean of squares			
		اسید آمینه پرولین Amino acid proline	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme activity	فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز Polyphenoloxidase enzyme activity
نانوذره نقره Nano-Ag	4	36.68**	296.39**	1694.74**	167.98**
روش کاربرد Application methods	1	0.204**	45.32*	455.57**	37.18*
نانوذره نقره × روش کاربرد Nano-Ag × AM	4	0.043**	8.31 ^{ns}	62.06 ^{ns}	4.14 ^{ns}
خطای آزمایش Error	20	0.0056	9.49	29.48	7.15
ضریب تغییرات CV (%)	-	1.14	6.63	8.45	5.63

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد می‌باشند

ns, * and ** are non-significant and significant probability level of 5%, 1%, respectively

درصدی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز نسبت به تیمار شاهد گردید (جدول ۴). یکی از با اهمیت‌ترین اجزای مکانیسم محافظت‌کننده در گیاه، آنزیم کاتالاز بوده، که در میتوکندری و پراکسی‌زوم وجود دارد. این آنزیم در پاکسازی رادیکال‌های آزاد خصوصاً تولید پراکسید هیدروژن در شرایط تنش نقش مهمی را ایفا می‌کند (Sehnal et al., 2019).

همچنین در بین روش‌های کاربرد نانوذره، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده با نانوذرات نقره به‌طور معنی‌داری بیشتر از میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های حاصل از بذرهایی بود که نانوذره به‌بستر کاشت آن‌ها اضافه شده بود. بطوری‌که، پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با نانوذرات نقره به ترتیب منجر به افزایش ۵/۴۴، ۱۲/۹۲ و ۴/۷۸



شکل ۷- تاثیر تیمارهای نانوذره نقره و روش‌های کاربرد بر شاخص قدرت (a) و اسید آمینه پرولین (b) گیاهچه‌های ذرت
Figure 7- The effects silver nanoparticles and application methods treatments on vigor index (a) and amino acid proline (b) of corn seedlings

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات اصلی فاکتورهای آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های ذرت

Table 4- Comparison of the main effects of experimental factors on the activity of antioxidant enzymes of corn seedlings

تیمارها Treatments	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme activity	فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز Polyphenoloxidase enzyme activity
نانوذره نقره (میلی‌گرم در لیتر) (mg L ⁻¹) silver nanoparticles			
0	41.07 ^c	44.49 ^d	41.64 ^d
0.001	41.57 ^c	57.60 ^c	44.78 ^{cd}
0.1	42.34 ^c	61.57 ^c	45.32 ^c
0.25	49.98 ^b	74.83 ^b	50.75 ^b
0.75	57.20 ^a	83.43 ^a	54.90 ^a
روش کاربرد (Application method)			
پیش‌تیمار Priming	47.66 ^a	68.08 ^a	48.59 ^a
افزودن به بستر کشت Adding to the culture medium	45.20 ^b	60.29 ^b	46.37 ^b

در هر ستون میانگین‌هایی که یک حرف مشترک دارند فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

In each column, means which followed by the same letter are not significantly different at 5% probability level.

آمینه پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، نشان‌دهنده فعال شدن سیستم دفاعی گیاهچه برای کاهش پراکسید هیدروژن تحت تأثیر نانوذرات نقره بود. بنابراین می‌توان بیان کرد که نانوذرات نقره سنتز شده به‌عنوان محرک مناسب برای بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه پیشنهاد می‌شود.

تعارض منافع

نویسنده این مقاله اعلام می‌دارد که هیچ‌گونه تعارض منافی در رابطه با نگارش و یا انتشار این مقاله ندارد.

References

- Abbasifar, A., Shahrabadi, F., & Valizadeh Kaji, B. (2020). Effects of green synthesized zinc and copper nanofertilizers on the morphological and biochemical attributes of basil plant. *Journal of Plant Nutrition*, 43(8), 1104–1118. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1724305>
- Abou-Zeid, H. M., & Moustafa, Y. (2014). Physiological and cytogenetic responses of wheat and barley to silver nanopriming treatment. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 5(3), 265–278.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121–126. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3)
- Afrouz, M., & Sheikhzadeh, P. (2023). Improving seed germination, growth, and biochemical characteristics of corn seedlings via the application of iron oxide nanoparticles synthesized from oregano (*Origanum vulgare*). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 12(1), 41–60. <https://doi.org/10.22092/ijss.2022.359765.1447>. [In Persian]
- Afsheen, S., Naseer, H., Iqbal, T., Abrar, M., Bashir, A., & Ijaz, M. (2020). Synthesis and characterization of metal sulphide nanoparticles to investigate the effect of nanoparticles on germination of soybean and wheat seeds. *Materials Chemistry and Physics*, 252, 123216. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.123216>
- Ahmadi Nouraldinvand, F., Seyed Sharifi, R., Siadat, S. A., & Khalilzadeh, R. (2021). Effect of water limitation and application of bio-fertilizer and nano-silicon on yield and some biochemical traits of wheat. *Cereal Research*, 10(4), 285–298. <https://doi.org/10.22059/jci.2022.333768.2639>. [In Persian]

درواقع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، به ویژه برای پراکسید هیدروژن و سوپراکسید القا شده توسط نانوذرات می‌تواند باعث اکسیداتیو شود. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش تغییر در فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز یکی از مکانیسم‌های مهمی است که در شرایط روبه‌رو شدن گیاه با تنش‌های اکسیداتیو از جمله تنش فلزات سنگین برای بالا بردن تحمل گیاهچه در این شرایط رخ می‌دهد (Gupta et al., 2018). همچنین پیش‌تیمار نمودن بذرها موجب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در گیاهچه‌های ذرت شد. به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره موجب شد تا میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی کاهش یافته و این امر منجر به بهبود جوانه‌زنی (شکل ۳a)، رشد گیاهچه (شکل ۶b) و بهبود شاخص قدرت بذر (شکل ۷a) می‌شود. نتایج یافته‌های این پژوهش با دیگر محققان همخوانی دارد (Bano, 2020; Nawaz & Bano, 2020).

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر، ویژگی‌های جوانه‌زنی و پاسخ‌های مختلف فعالیت بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره و روش‌های کاربرد آن مورد بررسی قرار گرفت. بطور کلی پژوهش حاضر نشان داد، کاربرد غلظت‌های مناسب و بهینه نانوذرات نقره در هر دو روش کاربرد آن موجب بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های ذرت گردید. در بین تیمارهای مورد استفاده، پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره و افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره موثرترین تیمارها برای بهبود جوانه‌زنی و شاخص‌های رشدی ذرت باشد. زیرا استفاده از این تیمارها منجر به افزایش خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گردید. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از نانوذرات نقره با افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش و جلوگیری از خسارات وارده توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده که این امر خود منجر به بهبود خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها گردیده است. درواقع محتوای اسید

- Alshehdi, L. A. A., & Bokhari, N. (2020).** Influence of gold and silver nanoparticles on the germination and growth of *Mimulus aurantiacus* seeds in the South-Western regions in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1), 574–580. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.11.013>
- Bano, A. (2020).** Interactive effects of Ag-nanoparticles, salicylic acid, and plant growth-promoting rhizobacteria on the physiology of wheat infected with yellow rust. *Journal of Plant Pathology*, 102(4), 1215–1225. <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00626-y>
- Bates, L. S., Walderen, R. D., & Taere, I. D. (1973).** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Belava, V. N., Panyuta, O. O., Yakovleva, G. M., Pysmenna, Y. M., & Volkogon, M. V. (2017).** The effect of silver and copper nanoparticles on the wheat—*Pseudocercospora herpotrichoides* pathosystem. *Nanoscale Research Letters*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-2028-6>
- Bhavyasree, P. G., & Xavier, T. S. (2020).** Green synthesis of copper oxide/carbon nanocomposites using the leaf extract of *Adhatoda vasica* Nees, their characterization and antimicrobial activity. *Heliyon*, 6, e03323. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03323>
- Chance, B., & Maehly, A. C. (1955).** Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764–775. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
- Chang, C. J., & Kao, C. H. (1998).** H₂O₂ metabolism during senescence of rice leaves: Changes in enzyme activities in light and darkness. *Plant Growth Regulation*, 25(1), 11–15. <https://doi.org/10.1023/A:1005903403926>
- Choudhury, R., Majumder, M., Roy, D. N., Basumallick, S., & Misra, T. K. (2016).** Phytotoxicity of Ag nanoparticles prepared by biogenic and chemical methods. *International Nano Letters*, 6(3), 153–159. <https://doi.org/10.1007/s40089-016-0181-z>
- Daniels, J. K., Caldwell, T. P., Christensen, K. A., & Chumanov, G. (2006).** Monitoring the kinetics of *Bacillus subtilis* endospore germination via surface-enhanced Raman scattering spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 78(5), 1724–1729. <https://doi.org/10.1021/ac052009v>
- Doğaroğlu, Z. G., & Köleli, N. (2017).** TiO₂ and ZnO nanoparticles toxicity in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Clean – Soil, Air, Water*, 45(11), 1700096. <https://doi.org/10.1002/clen.201700096>
- Ellis, R. H., & Roberts, E. H. (1981).** The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9, 373–409.
- El-Temseh, Y. S., & Joner, E. J. (2012).** Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil. *Environmental Toxicology*, 27(1), 42–49. <https://doi.org/10.1002/tox.20610>
- Esper Neto, M., Britt, D. W., Jackson, K. A., Coneglian, C. F., Inoue, T. T., & Batista, M. A. (2021).** Early growth of corn seedlings after seed priming with magnetite nanoparticles synthesized in easy way. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science*, 71(2), 91–97. <https://doi.org/10.1080/09064710.2020.1852304>
- Finch-Savage, W. E., & Footitt, S. (2017).** Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. *Journal of Experimental Botany*, 68(4), 843–856. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw477>
- Gupta, S. D., Agarwal, A., & Pradhan, S. (2018).** Phytostimulatory effect of silver nanoparticles (AgNPs) on rice seedling growth: An insight from antioxidative enzyme activities and gene expression patterns. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161, 624–633. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.023>
- Hazrati, R., Zare, N., Asghari, R., Sheikhzadeh, P., & Johari-Ahar, M. (2022).** Biologically synthesized CuO nanoparticles induce physiological, metabolic, and molecular changes in the hazel cell cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(18), 6017–6031. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12107-6>
- Hazrati, R., Zare, N., Asghari-Zakaria, R., & Sheikhzadeh, P. (2023).** Green synthesized Ag nanoparticles stimulate gene expression and paclitaxel production in *Corylus avellana* cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(19), 5963–5974. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12683-1>
- Hunter, E. A., Glasbey, C. A., & Naylor, R. E. L. (1984).** The analysis of data from germination tests. *Journal of Agricultural Science*, 102(1), 207–213. <https://doi.org/10.1017/S0021859600041642>
- Iqbal, S., Farid, M., Zubair, M., Asam, Z. U. Z., Ali, S., Abubakar, M., Farid, S., & Rizwan, M. (2022).** Efficacy of various amendments for the phytomanagement of heavy metal contaminated sites and sustainable agriculture: A review. In M. Hasanuzzaman, G. Jalal Ahammed, & K. Nahar (Eds.), *Managing plant production under changing environment* (pp. 239–272). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-16-5059-8_9
- Itrotwar, P. D., Kasivelu, G., Raguraman, V., Malaichamy, K., & Sevathapandian, S. K. (2020).** Effects of biogenic zinc oxide nanoparticles on seed germination and seedling vigor of maize (*Zea mays*). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101778. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101778>

- Kannan, R., Arumugam, R., Ramya, D., Manivannan, K., & Anantharaman, P. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using marine macroalga *Chaetomorpha linum*. *Applied Nanotechnology*, 3(3), 229–233. <https://doi.org/10.1007/s13204-012-0125-5>
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57(2), 315–319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- Lahuta, L. B., Szablińska-Piernik, J., Glowacka, K., Stalanowska, K., Railean-Plugaru, V., Horbowicz, M., Pomastowski, P., & Buszewski, B. (2022). The effect of bio-synthesized silver nanoparticles on germination, early seedling development, and metabolome of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecules*, 27(7), 2303. <https://doi.org/10.3390/molecules27072303>
- Mingyu, S., Fashui, H., Chao, L., Xiao, W., Xiaoqing, L., Liang, C., Fengqing, G., Fan, Y., & Zhongrui, L. (2007). Effects of nano-anatase TiO₂ on absorption, distribution of light, and photoreduction activities of chloroplast membrane of spinach. *Biological Trace Element Research*, 118(2), 120–130. <https://doi.org/10.1007/s12011-007-0006-z>
- Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31(2), 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.003>
- Mohammadi Sanjani, A., Hosseinzadeh, M., & Sorahi, M. (2021). The effect of silver nanoparticles treatment on some physiological and biochemical responses of safflower. *Applied Biology*, 33(4), 149–164. DOI:10.22051/jab.2020.31071.1365. [In Persian]
- Muhammad, I., Kolla, M., Volker, R., & Günter, N. (2015). Impact of nutrient seed priming on germination, seedling development, nutritional status and grain yield of maize. *Journal of Plant Nutrition*, 38(12), 1803–1821. <https://doi.org/10.1080/01904167.2014.990094>
- Nawaz, S., & Bano, A. (2020). Effects of PGPR (*Pseudomonas* sp.) and Ag-nanoparticles on enzymatic activity and physiology of cucumber. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 11(2), 124–136. <https://doi.org/10.2174/2212798410666190716162340>
- Ocvirk, D., Špoljarević, M., Kristić, M., Hancock, J. T., Teklić, T., & Lisjak, M. (2021). The effects of seed priming with sodium hydrosulfide on drought tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in germination and early growth. *Annals of Applied Biology*, 178(2), 400–413. <https://doi.org/10.1111/aab.12658>
- Patíño-Ruiz, D., Sánchez-Botero, L., Tejada-Benitez, L., Hinestroza, J., & Herrera, A. (2020). Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Cymbopogon citratus* extract and sodium carbonate salt: Nanotoxicological considerations for potential environmental applications. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 14, 100377. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100377>
- Rutkowski, M., Krzemińska-Fiedorowicz, L., Khachatryan, G., Bulski, K., Kolton, A., & Khachatryan, K. (2022). Biodegradable silver nanoparticles gel and its impact on tomato seed germination rate in in-vitro cultures. *Applied Sciences*, 12(5), 2722. <https://doi.org/10.3390/app12052722>
- Saberbaghban, Z., Ahmadzadeh, M., & Haddadi, H. R. (2020). Effect of nano silver particles on seed germination indices of cotton (*Sepid* and *Varamin*) and maize (*Single Cross 704*) seeds and its effects on *Xanthomonas smithii*, a seed-borne pathogen of cotton. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 8(2), 33–46. [In Persian] <https://doi.org/10.22034/IJSST.2018.109046.1046>
- Savassa, S. M., Castillo-Michel, H., del Real, A. E. P., Reyes-Herrera, J., Marques, J. P. R., & Carvalho, H. W. (2021). Ag nanoparticles enhancing *Phaseolus vulgaris* seedling development: Understanding nanoparticle migration and chemical transformation across the seed coat. *Environmental Science: Nano*, 8(2), 493–501. <https://doi.org/10.1039/D0EN00959H>
- Sehnal, K., Hosnedlova, B., Docekalova, M., Stankova, M., Uhlírova, D., Tothova, Z., Kepinska, M., Milnerowicz, H., Fernandez, C., Ruttkay-Nedecky, B., & Nguyen, H. V. (2019). An assessment of the effect of green synthesized silver nanoparticles using sage leaves (*Salvia officinalis* L.) on germinated plants of maize (*Zea mays* L.). *Nanomaterials*, 9(11), 1550. <https://doi.org/10.3390/nano9111550>
- Sharma, P., Bahatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K., & Arora, S. (2012). Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(8), 2225–2233. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9759-8>
- Shavalibor, A., & Esmailzadeh, S. (2019). The effect of silver nanoparticles synthesized by biological method on growth, physiological, and biochemical properties of *Melissa officinalis* L. *Plant Process Functions*, 8(32), 19–34. [In Persian] DOI: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9
- Shukla, P., Chaurasia, P., Younis, K., Qadri, O. S., Faridi, S. A., & Srivastava, G. (2019). Nanotechnology in sustainable agriculture: Studies from seed priming to post-harvest management. *Nanotechnology and Environmental Engineering*, 4(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s41204-019-0058-2>

- Singh, Y., Kaushal, S., & Sodhi, R. S. (2020).** Biogenic synthesis of silver nanoparticles using cyanobacterium *Leptolyngbya sp.* WUC 59 cell-free extract and their effects on bacterial growth and seed germination. *Nanoscale Advances*, 2(9), 3972-3982. <https://doi.org/10.1039/D0NA00357C>
- Smirnov, O., Kalynovskyi, V., Yumyna, Y., Zelena, P., Levenets, T., Kovalenko, M., Dzhagan, V., & Skoryk, M. (2022).** Potency of phytosynthesized silver nanoparticles from *Lathraea squamaria* as an anticandidal agent and wheat seeds germination enhancer. *Biologia*, 77, 2715-2724. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01117-4>
- Stampoulis, D., Sinha, S. K., & White, J. C. (2009).** Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environmental Science & Technology*, 43(24), 9473-9479. <https://doi.org/10.1021/es901543g>
- Sun, Q., Cai, X., Li, J., & Zheng, M. (2014).** Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 444, 226-231. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.12.065>
- Swaminathan, A., Kalyani, K. B., Sudhagar, S., Bhuvaneshwari, S. T., Nagalatha, T. L. S., Sumantran, V. N., & Chatterjee, S. (2021).** Nitric oxide mitigates thalidomide-induced abnormalities during germination and development of fennel seeds. *Toxicology Research*, 10(4), 893-901. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfab071>
- Thuesombat, P., Hannongbua, S., Akasit, S., & Chadchawan, S. (2014).** Effect of silver nanoparticles on rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105) seed germination and seedling growth. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104, 302-309. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.03.022>
- Tong, X., Guo, N., Dang, Z., Ren, Q., & Shen, H. (2018).** In vivo biosynthesis and spatial distribution of Ag nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *IET Nanobiotechnology*, 12(7), 987-993. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2017.0230>
- Vashisth, A., & Nagarajan, S. (2010).** Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. *Journal of Plant Physiology*, 167(2), 149-156. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.08.011>
- Yasmeen, F., Razzaq, A., Iqbal, M. N., & Jhanzab, H. M. (2015).** Effect of silver, copper, and iron nanoparticles on wheat germination. *International Journal of Biosciences*, 6(4), 112-117. <https://doi.org/10.12692/ijb/6.4.112-5>
- Yin, L., Colman, B. P., McGill, B. M., Wright, J. P., & Bernhardt, E. S. (2012).** Effects of silver nanoparticle exposure on germination and early growth of eleven wetland plants. *PLOS ONE*, 7(10), e47674. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047674>
- Zari, H., Babak, P., & Asad, R. (2015).** The effect of priming with nano-silver on agronomic traits of safflower cultivars. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(5), 1148-1156. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.976664>