

Paper Type: Original Article



Nano-Titanium Oxide and Nano Zinc Oxide Foliar Application Ameliorates the Salinity Stress Effects on *Matricaria Chamomilla*

Iraj Ezzatmand¹, Lamia Vojodi Mehrabani^{1,*}, Ali Abdolzadehfard²

¹MSc Student, Department of Medicinal Plants, Agriculture and Plant Breeding, Shahid Madani University of Azerbaijan, Tabriz, Iran; izzatmand@gmail.com.

¹Associate Professor, Department of Medicinal Plants, Agriculture and Plant Breeding, Shahid Madani University of Azerbaijan, Tabriz, Iran; (**Corresponding author:** vojodilamia@gmail.com).

²MSc Student, Department of Agricultural Biotechnology, Shahid Madani University of Azerbaijan, Tabriz, Iran; ali_abdolzadehfard@yahoo.com.

Citation:

Darvishnia, H., & Kavyanifard, A. (2023). Comparison of diet composition of variable toad *Bufo* *Sitibundus* (amphibia: Anura: Bufonidae), inside and outside the caves in west of Iran. *The quarterly scientific journal of applied biology*, 36(3), 86-101.

Received: 06/05/2023

Accepted: 17/09/2023

Abstract

Introduction: Salinity stress is one of the most important abiotic stresses in the world that influence the plant growth and productivity. The aim of this study was to investigate the effects of salinity stress (0, 75 and 150 mM) and foliar application of nano TiO₂ and ZnO (0, 2 and 4 mg L⁻¹) on the growth and some physiological and biochemical traits of *Matricaria chamomilla*.

Methods: Salinity stress was applied in 3-4 leaf stage of plant under hydroponic conditions. The foliar spraying with nanoparticle was done simultaneously with the initiation of salinity stress. 38 days after second foliar treatment, the plants were harvested to study the desired traits.

Results: The highest flower dry weight was obtained in the NaCl₀ × both concentrations of nano ZnO and TiO₂. The highest concentration of chlorophyll a (20-50 %) was obtained in NaCl₀ × both levels of ZnO and TiO₂ nanoparticles and NaCl_{75mM} × 4 mg L⁻¹ nano ZnO. Malondialdehyde and proline content in plant increased at 150 mM salinity stress.

Conclusion: The results showed that the foliar treatment of TiO₂ and ZnO nanoparticles improved elemental content, yield and total protein content of the plant under no-salinity, and 75 mM NaCl salinity conditions.

Keywords: Chlorophyll, Elemental content, Malondialdehyde, Proline.



Corresponding Author: vojodilamia@gmail.com



<https://doi.org/10.22051/jab.2023.43648.1568>



تأثیر محلول پاشی نانوذره اکسید تیتانیوم و اکسید روی بر کاهش اثرات تنش شوری در گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*)

ایرج عزتمند^۱، لمیا وجودی مهریانی^{۱*}، علی عبدالزاده فرد^۲

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.

^۲دانشیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.

نویسنده مسئول: vojodilamia@gmail.com

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۶

دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۶

چکیده

مقدمه: تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر تنش کلرید سدیم (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و محلول پاشی نانوذره‌های اکسید تیتانیوم و اکسید روی (۰، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) بر رشد و برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بابونه (*Matricaria chamomilla*) بود.

روش‌ها: تنش شوری در مرحله ۳-۴ برگ گیاه، در کشت هیدروپونیک اعمال شد و محلول پاشی با نانوذرات هم‌زمان با اعمال تنش شوری انجام شد. ۳۸ روز بعد از دومین محلول پاشی، گیاهان، برای مطالعه صفات مورد نظر برداشت شدند.

یافته‌ها: بیش‌ترین وزن خشک گل در تنش شوری صفر با محلول پاشی هر دو سطح نانوذره‌های اکسید روی و تیتانیوم مشاهده شد. محلول پاشی هر دو سطح نانو ذره‌های اکسید روی و تیتانیوم در تنش شوری صفر و محلول پاشی ۴ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسید روی در تنش شوری ۷۵ میلی‌مولار موجب افزایش محتوای کلروفیل a (۲۰ تا ۵۰ درصدی) شد. تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار موجب افزایش محتوای مالون دی‌آلدنید و پرولین شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که محلول پاشی با نانوذره‌ها موجب بهبود محتوای عناصر، کلروفیل، عملکرد و پروتئین کل گیاه در شرایط تنش صفر و ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم شد.

کلیدواژه‌ها: پرولین، کلروفیل، مالون دی‌آلدنید، محتوای عناصر.

۱- مقدمه

افزایش جمعیت و استفاده روزافزون از فرآورده‌های حاصل از گیاهان دارویی، نقش این گیاهان را در چرخه اقتصاد جهانی پررنگ نموده است. بابونه (*Matricaria chamomilla*) گیاهی یک‌ساله از خانواده آستراسه است که بومی شرق اروپا، شمال و غرب آسیا می‌باشد و در بسیاری از نقاط جهان نیز رشد می‌کند [1]. این گیاه یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده است که دارای خواص درمانی مانند درمان عفونت‌ها، اختلالات عصبی، تنفسی، آرام‌بخش، ضد اسپاسم، ضد عفونی‌کننده، ضد استفراغ، ضد قارچ، ضد انگل، ضد دیابت، ضد سرطان، رفع اختلالات گوارشی و کبدی می‌باشد [2]، [3]. اسانس بابونه حاوی بیش از ۱۲۰ ترکیب مختلف مانند ترپنوئیدهای آلفا-بیزابول، کامازولن و بتا-فارنیزین می‌باشد. عصاره

گیاه، حاوی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و کومارین است. تنوع ترکیبات موجود در این گیاه، موجب کاربرد گسترده آن در صنایع غذایی و دارویی شده است [2]، [3].

تغییرات اقلیمی، افزایش دمای کره زمین و تنش‌های محیطی، سبب کاهش عملکرد محصولات کشاورزی شده است. یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی که تولید محصولات کشاورزی را در سراسر جهان تهدید می‌کند تنش شوری می‌باشد [4]. شوری با ایجاد اختلال در فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی، متابولیسمی (فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای)، بیوشیمیایی و مولکولی سبب کاهش عملکرد و رشد گیاهان می‌شود. ایجاد تنش اسمزی در اثر کاهش پتانسیل آب برگ و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، نیتروژن و کربونیل، از دیگر اثرات تنش شوری بر گیاه است. مسمومیت یونی ناشی از تنش شوری با ایجاد اختلال در هموستازی یونی در سلول، عدم تعادل در جذب مواد مغذی و توزیع آن در سلول موجب از هم پاشیدگی غشای سلول می‌شود [7]–[5]. تحقیقات متعدد انجام شده در گیاهان مختلف نشان‌دهنده تاثیر منفی تنش شوری بر صفات رشدی و عملکردی گیاه است [4]، [8]. بررسی انجام شده در بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) نشان داد که تنش شوری موجب کاهش ارتفاع و عملکرد گیاه، کاهش محتوای کلروفیل، افزایش نشت یونی و محتوای آب نسبی برگ شد [9]. نتایج مشابهی در خصوص کاهش وزن خشک گل و محتوای اسانس گیاه بابونه در اثر تنش شوری گزارش شد [10].

تکنیک‌های به‌زراعی و کاربرد نانوذرات نقش مهمی در توسعه کشاورزی داشته است. امروزه در کشاورزی مدرن از فناوری نانو به‌عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی و سموم دفع آفات در کشاورزی استفاده می‌شود [11]. اندازه کوچک نانوذرات (۱ تا ۱۰۰ نانومتر) موجب ایجاد خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی (حلالیت، بارسطحی، تجمع‌پذیری و سطح ویژه بالا) برای آن‌ها شده است. نسبت بالای سطح به حجم نانوذرات و کمک به افزایش جذب برخی عناصر معدنی مغذی موجب بهبود رشد گیاه می‌شود [12]. امروزه، استفاده از پوشش‌های فوتوکاتالیستی نانوذره تیتانیوم موجب کاربرد گسترده‌ای آن در صنایع مختلف (کاهش آلودگی هوا و محیط‌زیست) و کشاورزی (بهبود فتوسنتز، کاهش اثرات منفی تنش‌های زیستی و غیرزیستی) شده است. نانوذره تیتانیوم به‌عنوان محرک رشدی در غلظت کم موجب افزایش رشد ساقه و ریشه گیاه از طریق تحریک تقسیم سلولی و بهبود متابولیسم گیاه و کاهش محتوای پراکسید هیدروژن می‌شود [13]. نتایج بررسی انجام شده در جو نشان داد که استفاده از نانوذره تیتانیوم موجب کنترل تنش شوری از طریق افزایش فتوسنتز می‌شود [4]. نانوذره تیتانیوم با بهبود ویژگی‌های بیوشیمیایی و مورفو-فیزیولوژیکی، افزایش فتوسنتز، محتوای کلروفیل، فعالیت آنزیم روبیسکو، خاصیت آنتی‌اکسیدانی ذرت [14]، افزایش محتوای قند محلول، پرولین، کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدنید تحت شرایط تنش شوری به مقاومت گیاه لوبیا [13] در مقابل تنش کمک می‌کند.

روی یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی ریزمغذی مورد نیاز گیاه است که نقش مهمی در رشد و نمو گیاه، بیوسنتز پروتئین و کلروفیل، تولید مثل گیاه، مقاومت در برابر تنش‌های محیطی و فعالیت آنزیمی گیاه دارد [15]. نانوذره روی موجب حفظ تمامیت غشای سلول، بهبود فعالیت آنزیمی گیاه، افزایش بیان ژن، کنترل جذب سدیم و کاهش جذب سایر یون‌های سمی می‌شود [8]. برخی یافته‌ها نشان داد که کاربرد نانوذره اکسیدروی باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (اسکوربات پراکسیداز و کاتالاز) در ذرت شد [16]. تحت شرایط تنش شوری محلول‌پاشی با نانوذره روی موجب افزایش محتوای پتاسیم، روی، کلروفیل، فلاونوئید، اسانس و آنتوسیانین کل در گیاه اسطوخودوس گردید [17]. افزایش عملکرد گیاه، کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدنید و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه ذرت در اثر کاربرد نانوذره روی تحت تنش شوری گزارش شد [15] تغییرات اقلیمی و گرمایش کره زمین موجب کاهش بارندگی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان مخصوصاً ایران شده است و این امر موجب شده تا بخش وسیعی از ایران درگیر مساله خشکی و شوری منابع آبی و خاکی گردد. ادامه کشاورزی در چنین خاک‌هایی مستلزم دسترسی به ترکیباتی است که موجب کاهش اثرات تنش در گیاه شود. امروزه با پیشرفت علم و شناخته‌شدن اثرات مفید عناصر مختلف در کنترل تنش‌ها، لازم است تا مطالعات تکمیلی در خصوص تاثیر این عناصر و غلظت‌های مختلف آن‌ها در کنترل تنش شوری مورد بررسی قرار گیرد. لذا هدف از بررسی حاضر ارزیابی اثرات نانوذره‌های اکسید تیتانیوم و روی بر کاهش اثرات منفی تنش شوری بر گیاه دارویی بابونه می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر تاثیر سه سطح تنش شوری کلریدسدیم (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و محلول‌پاشی با نانوذره‌های اکسید تیتانیوم و روی (Nano US company) [8] (غلظت‌های ۰، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) بر رشد و برخی صفات فیزیولوژیکی بابونه آلمانی، مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان انجام شد. تناوب نوری گلخانه در طول دوره رشد گیاه به‌صورت ۱۶ ساعت

روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. رطوبت نسبی گلخانه ۶۵٪ تا ۷۰٪، و میانگین دمای گلخانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۰ درجه سانتی‌گراد در شب بود. بذر بابونه آلمانی از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. برای جوانه‌زنی، بذور ابتدا در سینی کاشت دارای کوکوپیت کشت شد. گیاهان در مرحله سه برگچه‌ای از سینی کشت به گلدان‌های ۵ لیتری حاوی پرلیت دانه متوسط منتقل شدند. در هر گلدان ۵ گیاه کاشته شد. از محلول نیم‌هولگند (pH: 5.5-5.7) برای تغذیه گیاهان استفاده شد. دو هفته بعد از سازگاری گیاهان با شرایط کشت هیدروپونیک، تنش شوری به گیاهان در مرحله ۴ تا ۵ برگگی اعمال شد. اعمال تنش شوری به تدریج و با غلظت ۳۰ میلی‌مولار نمک آغاز و هر سه روز یک‌بار با اضافه کردن ۳۰ میلی‌مولار دیگر نمک، سطح شوری گلدان‌ها افزایش یافت و این روند تا رسیدن به سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نمک ادامه یافت. تغذیه گیاهان تا زمان برداشت گیاهان با محلول‌های حاوی نمک ادامه یافت. محلول‌پاشی اول با نانوذرات هم‌زمان با اعمال تنش شوری انجام شد و محلول‌پاشی دوم دوهفته بعد تکرار شد. سی و هشت روز بعد از آخرین محلول‌پاشی (هم‌زمان با باز شدن گل‌ها)، نمونه‌برداری از گیاهان برای مطالعه صفات مورد نظر انجام شد. لازم به ذکر است که از زمان انتقال نشاها به گلدان‌ها تا برداشت گیاهان، ۶۸ روز زمان لازم بود.

اندازه‌گیری وزن خشک گیاه و ریشه

بعد از خارج کردن گیاهان از بستر کشت، بخش هوایی گیاه از محل طوقه قطع شدند و سپس در دمای اتاق (۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد) خشک شدند. اندازه‌گیری وزن خشک گیاه با استفاده از ترازوی دیجیتال (BBI41, Boeco, Germany) انجام شد.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل، ۰/۵ گرم نمونه برگگی در ۵ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکساید به مدت ۴ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا بی‌رنگ شود. جذب نمونه‌ها در طیف‌های نوری ۶۶۵ و ۶۴۸ نانومتر، به کمک اسپکتروفتومتر (T80 ساخت چین) قراعت شد [18]. محتوای کلروفیل a و b از رابطه $Chl\ a = 14.85A_{665} - 5.14A_{648}$ و $Chl\ b = 25.48A_{648} - 7.36A_{665}$ محاسبه شد. در رابطه فوق A میزان جذب نمونه بود.

اندازه‌گیری محتوای کاتالاز

۰/۵ گرم از نمونه‌ی برگگی تازه بابونه با بافر فسفات پتاسیم سرد ۰/۱ مولار (pH: ۷/۵) و ۰/۵ میلی‌مولار EDTA مخلوط گردید. محلول حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۵۰۰۰ g سانتی‌فیوژ شد. ۰/۰۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ میلی‌مولار (pH: ۷) و ۱/۴۵ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر مخلوط و واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۷۵ میلی‌مولار آغاز شد. کاهش در جذب در ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه یادداشت برداری شد. از ضریب خاموشی ۰/۰۳۶ برای محاسبه محتوای کاتالاز استفاده شد [19].

محتوای پراکسید هیدروژن

۰/۲ گرم از برگ تازه بابونه در نیتروژن مایع ساییده شد و روی نمونه‌ی ساییده شده، ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱٪ حجمی (حجمی/وزنی) اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ g سانتی‌فیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، ۰/۵ میلی‌لیتر از فاز رویی با ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار (pH: ۷/۵) و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم (یک مولار) مخلوط شد. جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد [20].

اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدئید

۰/۲ گرم از نمونه‌های برگگی بابونه در نیتروژن مایع ساییده شد. روی نمونه ساییده شده ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱٪ حجمی (حجمی/وزنی) اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ g سانتی‌فیوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی با ۴ میلی‌لیتر از مخلوط تیوباربی‌توریک اسید ۵٪ + تری کلرواستیک اسید ۲۰٪ مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بعد از این مرحله، نمونه‌ها روی یخ قرار داده شد تا فعالیت آنزیم متوقف شود. در مرحله بعد مخلوط به مدت ۵ دقیقه در $g\ 10000$ سانتریفیوژ گردید و جذب نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر (T80+, China) در ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [21].

اندازه‌گیری محتوای پرولین

۰/۲ گرم نمونه برگ تازه بابونه در ازت مایع ساییده شد. روی نمونه ساییده شده ۵ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ اضافه گردید. عصاره حاصل به مدت ۷ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید، سپس فاز مایع حاصل جدا شد. یک میلی لیتر از محلول رویی با همان حجم اسید نین هیدرین و یک میلی لیتر اسید گلاسیال مخلوط و نمونه‌ها همراه با محلول‌های استاندارد پرولین به مدت یک ساعت در حمام آب در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از یک ساعت قرارگیری در حمام آب گرم نمونه‌ها بلافاصله به حمام یخ به مدت ۵ دقیقه منتقل شدند. بعد از خارج کردن نمونه‌ها از حمام یخ، روی آن‌ها ۲ میلی لیتر تولوئن اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه تکان داده شد. در مرحله نهایی، نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در وضعیت سکون قرار گرفتند. بعد از تشکیل فاز قرمز، حدود ۱۰۰۰ میکرولیتر برداشته شد و محتوای پرولین اندازه‌گیری شد [22].

محتوای پروتئین کل

برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین، ۰/۵ گرم برگ تازه در ۵ میلی لیتر بافر تریس گلایسین به مدت ۱۰ دقیقه ساییده شد. سپس فاز رویی جدا و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره حاصل ۵ میلی لیتر محلول برادفورد اضافه و ۱۰ دقیقه ورتکس شد. جذب نمونه‌ها در ۵۹۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. محتوای پروتئین بر مبنای منحنی استاندارد آلبومن تعیین شد [23].

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره گیاهی انجام شد. برای این منظور ابتدا عصاره متانولی از نمونه‌ها در غلظت‌های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱ میلی گرم در میلی لیتر تهیه شد. سپس ۲/۵ میلی لیتر از هر عصاره با ۱ میلی لیتر محلول DPPH (غلظت $10^{-4} \times 3$ مولار) مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. از اسید اسکوربیک (با غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۵، ۸ و ۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر) به عنوان استاندارد استفاده شد. درصد مهار نمونه‌ها از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد مهار} = (\text{جذب محلول شاهد} - \text{نمونه مورد نظر} / \text{جذب شاهد}) \times 100$$

سپس IC_{50} نمونه‌ها و اسید اسکوربیک محاسبه شد. IC_{50} به عنوان غلظتی از عصاره است که موجب کاهش غلظت اولیه DPPH تا ۵۰٪ می‌شود تعریف می‌شود [24].

اندازه‌گیری عناصر برگ

برای اندازه‌گیری محتوای عناصر، ابتدا یک گرم از پودر خشک شده برگ بابونه در کوره الکتریکی در دمای ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت قرار گرفت، تا نمونه‌ها به خاکستر تبدیل شوند. به هر نمونه، ۲۰ میلی لیتر اسید نیتریک یک نرمال اضافه شد. مخلوط حاصل، به دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم منتقل گردید تا اسید تبخیر شود. نمونه هضم شده با ۱۰۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر مخلوط گردید و در مرحله بعد صاف شد. از روش فلاپمتری (Corning, 410, England) برای اندازه‌گیری محتوای عناصر سدیم و پتاسیم، دستگاه جذب اتمی (Corning, 410, England)، برای اندازه‌گیری محتوای آهن و روی و از روش کج‌لدال برای اندازه‌گیری محتوای نیتروژن برگ بابونه استفاده شد. محتوای فسفر به روش رنگ سنجی و انادات مولیبدات تعیین شد (AOAC, 1990).

طرح آزمایشی و آنالیز داده‌های آماری

تجزیه داده‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در نرم افزار SAS انجام گردید و میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ در نرم افزار SPSS مقایسه گردید.

۳- نتایج و بحث

وزن خشک بخش هوایی گیاه و گل

نتایج نشان داد که وزن خشک گیاه و گل تحت تاثیر اثرات متقابل تنش شوری و محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۱). براساس نتایج حاصل بیش‌ترین وزن خشک بخش هوایی گیاه در تیمار بدون تنش شوری با محلول‌پاشی ۴ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسیدروی و اکسیدتیتانیوم و تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار کلریدسدیم با محلول‌پاشی ۴ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسیدروی حاصل شد. هر دو غلظت مورد بررسی نانوذره‌های اکسیدروی و تیتانیوم، در شرایط بدون تنش شوری موجب افزایش وزن خشک گل شد (جدول ۲). وزن خشک ریشه نیز تحت تاثیر محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۱). نتایج نشان داد که بیش‌ترین وزن خشک ریشه در تیمار ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسیدروی و ۲ میلی‌گرم در لیتر اکسید تیتانیوم مشاهده شد. تفاوتی بین وزن خشک ریشه بین تیمار شاهد (بدون محلول‌پاشی) و محلول‌پاشی با ۴ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسیدتیتانیوم مشاهده نشد (شکل ۱). شوری خاک با تاثیر منفی بر جذب آب، فعالیت فتوسنتزی گیاه (بسته شدن روزنه در اثر عدم توازن یونی ایجادشده)، ایجاد تنش اسمزی، ممانعت از جذب و انتقال ازت و تولید گونه‌های فعال اکسیژن موجب کاهش رشد گیاه می‌شود [25]–[27]. نتایج بررسی انجام‌شده در زینان نشان داد که استفاده از نانوذره اکسیدتیتانیوم موجب بهبود صفات رشدی، فعالیت آنزیمی و محتوای کلروفیل گیاه شد [28]. در گیاه سرخارگل کاربرد نانوذره تیتانیوم تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلریدسدیم موجب افزایش وزن خشک گیاه شد [29]. افزایش تعداد گل (از ۵ به ۹ عدد) و وزن خشک گیاه اطلسی، در اثر محلول‌پاشی با ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسیدتیتانیوم گزارش شده است [30]. بررسی اثرات تنش شوری و محلول‌پاشی با نانوذره روی در بادرشبی نشان داد که محلول‌پاشی نقش مهمی در کنترل تنش شوری و افزایش عملکرد گیاه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای کلروفیل گیاه را داشت [9]. روی یکی از عناصر غذایی ضروری مورد نیاز گیاه است که نقش مهمی در پایداری سلول، بیوسنتز کلروفیل، پروتئین، فعال‌سازی آنزیم و تولید هورمون اکسین دارد و به این طریق موجب رشد گیاه و افزایش مقاومت آن در برابر تنش می‌شود [31]. تیتانیوم با کمک به جذب عناصر غذایی موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شود [30]. چنین به نظر می‌رسد که کاربرد نانوذرات نقش مهمی در رشد گیاه تحت شرایط تنش شوری را داشته باشند.

محتوای کلروفیل

اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی محتوای کلروفیل را تحت تاثیر قرار داد (جدول ۱). محلول‌پاشی با غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر نانوذره‌ی اکسیدروی و تیتانیوم در شرایط بدون تنش شوری (۱/۳-۱/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) و تیمارهای محلول‌پاشی با ۴ میلی‌گرم در لیتر نانوذره‌ی اکسیدروی و ۲ میلی‌گرم در لیتر اکسیدتیتانیوم تحت تنش ۷۵ میلی‌مولار کلریدسدیم موجب افزایش محتوای کلروفیل a به ۱/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر شد. بیش‌ترین محتوای کلروفیل b (۱/۰ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر نانوذره‌ی اکسید تیتانیوم در شرایط بدون تنش شوری و کم‌ترین محتوای کلروفیل b (۰/۳ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) در تیمار تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم در شرایط بدون محلول‌پاشی مشاهده شد که نشان‌دهنده تاثیر منفی تنش بر محتوای کلروفیل b بود (جدول ۲). تجمع یون‌های سدیم و کلر تحت تنش شوری موجب تسریع فرآیند پیری برگ، کاهش تعداد سلول، کاهش فتوسنتز و جذب کربن توسط گیاه می‌شود [32]. کاهش نفوذپذیری CO₂، کاهش غلظت CO₂ به دلیل بسته شدن روزنه‌ها، تسریع در فرآیند پیری برگ، تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید، تغییر فعالیت آنزیم‌ها به دلیل تغییرات ساختاری سیتوپلاسم و در نهایت کاهش مقدار کلروفیل از اثرات منفی تنش شوری بر گیاه است [7]. مبارزه با اثرات منفی تنش در گیاهان مستلزم صرف انرژی اضافی است. کاهش بیوسنتز کلروفیل تحت شرایط تنش شاید به دلیل تبدیل گلوتامات (پیش‌ماده ساخت کلروفیل) به پرولین است که در نهایت موجب کاهش بیوسنتز کلروفیل می‌شود [33]. نتایج بررسی انجام‌شده در بابونه نشان داد که تنش شوری موجب کاهش محتوای کلروفیل گیاه شد [34]. محلول‌پاشی با نانوذره تیتانیوم تحت تنش شوری در گیاه زینان، موجب بهبود عملکرد و محتوای کلروفیل گیاه شد که دلیل آن بهبود فتوسنتز گیاه از طریق افزایش جذب عناصر غذایی مانند روی و آهن می‌باشد [28]. نتایج تحقیق انجام‌شده در گیاه بادرشبی نشان داد که کاربرد نانوذره روی تحت تنش شوری موجب افزایش محتوای کلروفیل گیاه شد [9].

روی با نگهداری سطح مناسب عنصر پتاسیم در گیاه تحت شرایط تنش شوری در سلول‌های محافظ روزنه نقش مهمی در تنظیم میزان باز بودن روزنه داشته و به تنظیم فتوسنتز در گیاه کمک می‌کند [8]، [31].

جدول ۱ - تجزیه واریانس تاثیر تنش شوری و محلول پاشی با نانوذره اکسید روی و تیتانیوم بر بیوماس و محتوای کلروفیل بابونه (*Matricaria chamomilla*)

Table 1- ANOVA for the effects of salinity stress and foliar application with nano TiO₂ and ZnO on biomass and chlorophyll content of *Matricaria chamomilla*.

Source of Variation	df	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Aerial Part Dry Weight	Root Dry Weight	Flower Dry Weight
Salinity (A)	2	0.43*	0.24*	19*	0.18 ^{ns}	14*
Foliar spray (B)	4	1.9*	0.49*	18**	1.1*	17*
A × B	8	0.96*	0.28*	8.6*	0.2 ^{ns}	39**
Error	30	0.24	0.19	1.8	0.28	0.78
Coefficient of variation (%)		12	13	8	4.8	6.7

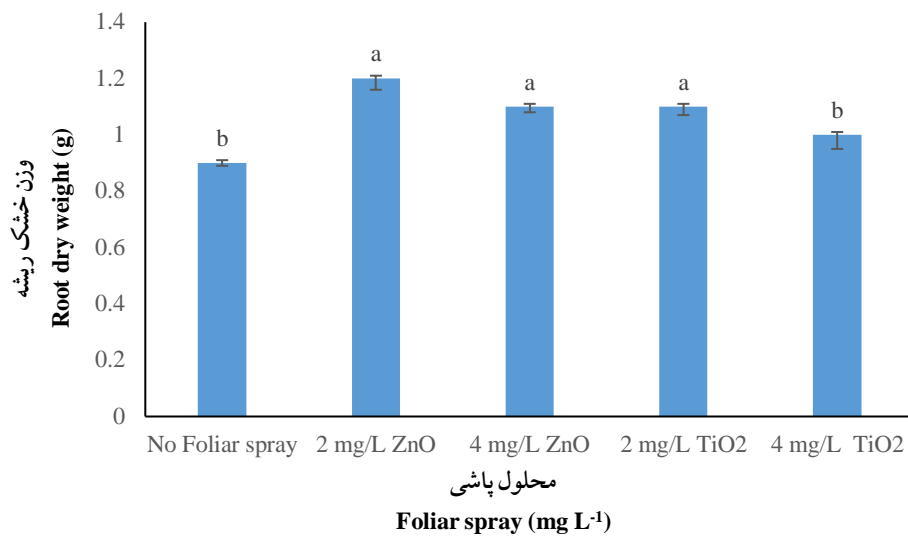
ns, * and ** indicate no significant difference and significant differences at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲ - مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری و محلول پاشی با نانوذره اکسید روی و اکسید تیتانیوم بر وزن خشک و محتوای کلروفیل گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*)

Table 2- Mean comparison for the interaction effects of salinity stress and foliar application with nano TiO₂ and ZnO on plant dry weight and chlorophyll content of *Matricaria chamomilla*.

Salinity (mM)	Foliar Spray (mg L ⁻¹)	Chlorophyll a (mg g ⁻¹ FW)	Chlorophyll b (mg g ⁻¹ FW)	Aerial Part Dry Weight (g)	Flower Dry Weight (Per Pot)
No salinity	zero	1.0 ^c	0.7 ^c	1.9 ^c	0.59 ^c
No salinity	2 : Nano ZnO	1.5 ^a	0.9 ^b	4.0 ^b	1.21 ^a
No salinity	4 : Nano ZnO	1.3 ^a	0.9 ^b	4.7 ^a	1.30 ^a
No salinity	2 : Nano TiO ₂	1.3 ^a	1.0 ^a	4.0 ^b	1.10 ^a
No salinity	4 : Nano TiO ₂	1.4 ^a	0.9 ^b	4.9 ^a	1.30 ^a
75	zero	0.8 ^d	0.6 ^d	1.4 ^c	0.51 ^c
75	2 : Nano ZnO	0.9 ^{cd}	0.7 ^c	2.2 ^d	0.70 ^b
75	4 : Nano ZnO	1.2 ^a	0.85 ^{bc}	4.3 ^{ab}	0.72 ^b
75	2 : Nano TiO ₂	1.2 ^a	0.80 ^c	2.5 ^d	0.70 ^b
75	4 : Nano TiO ₂	1.1 ^b	0.7 ^c	2.3 ^d	0.68 ^b
150	zero	0.7 ^d	0.3 ^f	0.9 ^f	0.30 ^d
150	2 : Nano ZnO	0.9 ^d	0.5 ^e	1.1 ^f	0.41 ^d
150	4 Nano ZnO	0.9 ^{cd}	0.6 ^d	1.0 ^e	0.42 ^d
150	2 : Nano TiO ₂	1.0 ^c	0.8 ^c	1.1 ^e	0.42 ^d
150	4 : Nano TiO ₂	1.0 ^c	0.7 ^c	0.9 ^{ef}	0.43 ^d

*Significant differences among treatments are indicated by the different Latin letters based on Duncans test (P≤5%). The data of mean comparison table is the results of three replications.



شکل ۱- مقایسه میانگین تاثیر اکسید روی و تیتانیوم محلول پاشی با نانوذره بروزن خشک ریشه

گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*).

(تفاوت معنی دار بین تیمارها با حروف متفاوت لاتین براساس آزمون دانکن (P ≤ ۵٪) نشان داده شد. داده‌های جدول مقایسه میانگین حاصل از سه تکرار می‌باشند).

Figure 1- Mean comparison for the effects of foliar application with nano TiO₂ and ZnO on root dry weight of *Matricaria chamomilla*.

محتوای پروتئین کل و پرولین

محتوای پروتئین تحت تاثیر اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (جدول ۳) براساس نتایج حاصل بیشترین محتوای پروتئین در تیمار محلول پاشی با ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید روی در شرایط تنش شوری ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم و محلول پاشی با غلظت‌های ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید تیتانیوم در شرایط بدون تنش شوری مشاهده شد. با افزایش تنش شوری به ۱۵۰ میلی مولار، تیمارهای مورد استفاده در محلول پاشی قادر به کنترل اثرات منفی تنش بر محتوای پروتئین گیاه نبود (جدول ۴). محتوای پرولین تحت تاثیر اثرات مستقل تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (جدول ۳). براساس نتایج حاصل محلول پاشی با غلظت‌های ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید تیتانیوم و روی موجب افزایش محتوای پرولین گیاه شد (شکل ۲). با افزایش تنش شوری به ۱۵۰ میلی مولار بر محتوای پرولین گیاه افزوده شد (شکل ۳). افزایش در محتوای پرولین گیاه با درشتی تحت تنش ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در شرایط بدون محلول پاشی با نانوذره روی گزارش شد [9]. روی نقش مهمی در تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی گیاه از طریق حذف یا کنترل تولید رادیکال‌های آزاد را دارد [7]، [31]. پرولین نقش مهمی در حفظ پتانسیل اسمزی سلول، جلوگیری از جذب یون‌های سدیم و کلر تحت شرایط تنش را دارد. تحت شرایط تنش، سلول از پرولین به عنوان منبع کربن و نیتروژن استفاده می‌کند و نقش مهمی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن را دارد [35]. دی اکسید تیتانیوم از طریق افزایش پرولین و تحریک سیستم آنتی اکسیدانی موجب حفاظت گیاه در برابر تنش اسمزی و اکسیداتیو ناشی از تنش شوری را می‌شود [28]. سنتز پروتئین، یکی از مکانیسم‌های متاثر شده از تنش شوری می‌باشد. شوری با تغییر در بیان ژن و الگوی بیان پروتئین در طی نمو گیاه موجب مقاومت گیاه در مقابل تنش می‌شود. با افزایش میزان تنش شوری به دلیل افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز، پراکسیداسیون پروتئین‌ها افزایش می‌یابد [36]. نتایج حاصل از بررسی حاضر نیز نشان دهنده کاهش غلظت پروتئین (به غیر از تیمار ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم با محلول پاشی ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره روی) حتی در شرایط محلول پاشی با هر دو نانوذره در پاسخ به تنش شوری می‌باشد. تحت تنش شوری محلول پاشی با نانوذره روی در شبلیله موجب افزایش غلظت پروتئین در گیاه شد [37] که با نتایج حاصل از بررسی حاضر مطابقت دارد.

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر تنش شوری و محلول پاشی با نانوذره اکسید روی و

تیتانیوم بر محتوای پروتئین و پرولین گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*).

Table 3- ANOVA for the effects of salinity stress and foliar application with nano TiO₂ and ZnO on protein and proline of *Matricaria chamomilla*.

Source of Variation	df	Protein Content	Proline Content
Salinity (A)	2	5.647*	5.6*

Foliar spray (B)	4	2361*	4.9**
A × B	8	6854**	0.78ns
Error	30	874	0.74
Coefficient of variation (%)		11	3.8

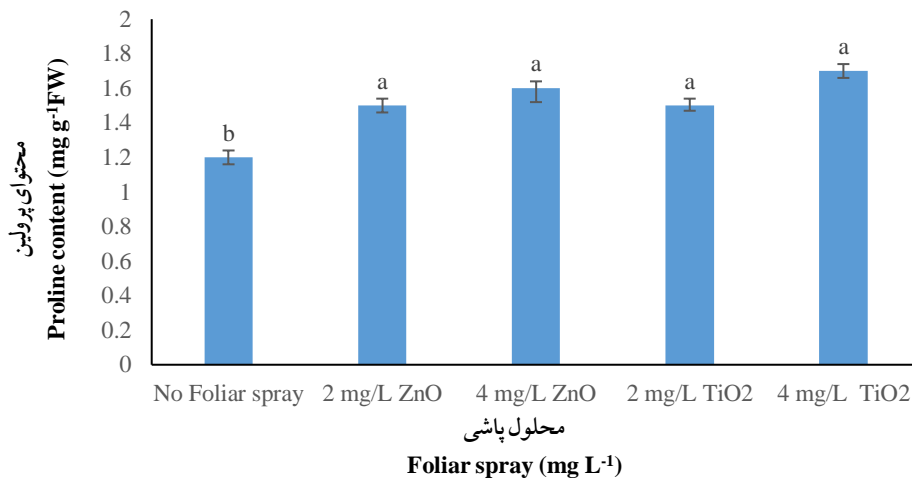
ns, * and ** indicate no significant difference and significant differences at 5 and 1% probability levels, respectively

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری و محلول پاشی با نانوذره اکسید روی و تیتانیوم بر محتوای پروتئین، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*).

Table 4- Mean comparison for the interaction effects of salinity stress and foliar application with nano TiO₂ and ZnO on protein, H₂O₂ content and catalase activity of *Matricaria chamomilla*.

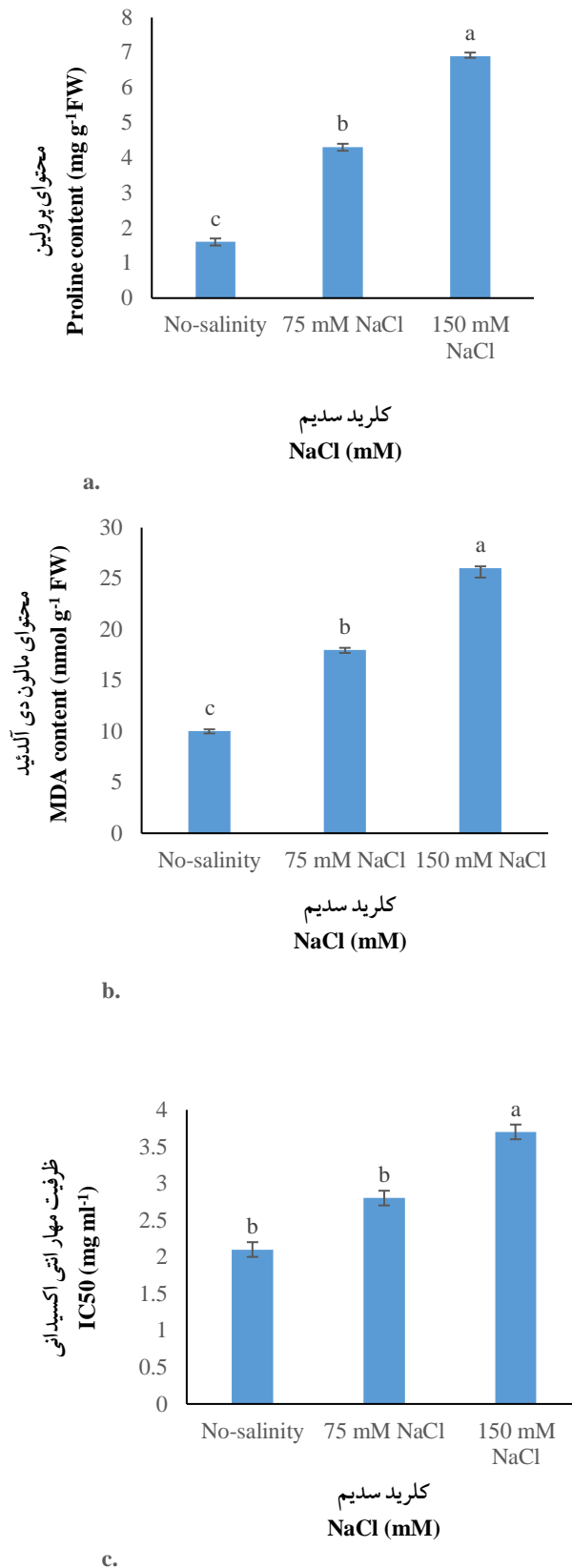
Salinity (mM)	Foliar Spray (mg L ⁻¹)	Protein Content (mg g ⁻¹ FW)	Catalase Activity (μmol H ₂ O ₂ mg ⁻¹ protein min ⁻¹)	H ₂ O ₂ Content (μmol g ⁻¹ FW)
No salinity	zero	151 ^c	27 ^e	8.6 ^c
No salinity	2 : Nano ZnO	165 ^b	31 ^d	7.6 ^e
No salinity	4 : Nano ZnO	178 ^b	33 ^d	8.1 ^c
No salinity	2 : Nano TiO ₂	190 ^a	28 ^d	7.2 ^e
No salinity	4 : Nano TiO ₂	191 ^a	30 ^d	7.0 ^f
75	zero	152 ^c	35 ^c	19 ^e
75	2 : Nano ZnO	159 ^c	37 ^c	14 ^d
75	4 : Nano ZnO	185 ^a	36 ^c	12 ^d
75	2 : Nano TiO ₂	157 ^c	39 ^b	14 ^d
75	4 : Nano TiO ₂	149 ^d	37 ^c	17 ^e
150	zero	143 ^d	39 ^b	29 ^a
150	2 : Nano ZnO	151 ^d	45 ^a	23 ^b
150	4 Nano ZnO	159 ^c	45 ^a	22 ^b
150	2 : Nano TiO ₂	148 ^d	43 ^a	22 ^b
150	4 : Nano TiO ₂	139 ^e	42 ^a	20 ^b

*Significant differences among treatments are indicated by the different Latin letters based on Duncans test (P≤5%). The data of mean comparison table is the results of three replications.



شکل ۲- مقایسه میانگین تاثیر محلول پاشی با نانوذره اکسید روی و تیتانیوم بر محتوای پرولین گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*).

(تفاوت معنی دار بین تیمارها با حروف متفاوت لاتین براساس آزمون دانکن (P≤ ٪۵) نشان داده شد. داده‌های جدول مقایسه میانگین حاصل از سه تکرار می‌باشند.)

Figure 2- Mean comparison for the effects of foliar spray with nano TiO₂ and ZnO on proline content of *Matricaria chamomilla*.

شکل ۳- مقایسه میانگین تاثیر تنش شوری بر: a- محتوای پرولین، b- مالون دی آلدئید، c- اثرات مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*). تفاوت معنی‌دار بین تیمارها با حروف متفاوت لاتین براساس آزمون دانکن ($P \leq 5\%$) نشان داده شد. داده‌های جدول مقایسه میانگین حاصل از سه تکرار می‌باشند.

Figure 3- Mean comparison for the effects of salinity stress on; a. proline, b. MDA content, c. IC₅₀ index of *Matricaria chamomilla*.

محتوای مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن

تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار در شرایط بدون محلول پاشی موجب افزایش محتوای پراکسید هیدروژن (۲۹ میکرومول بر گرم وزن تر) در گیاه شد و کمترین محتوای پراکسید هیدروژن (۷ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار بدون تنش شوری با محلول پاشی ۴ میلی گرم در لیتر اکسید تیتانیوم مشاهده شد (جدول ۴). محتوای مالون دی آلدئید تحت تاثیر اثر مستقل تنش شوری قرار گرفت (جدول ۵) و براساس نتایج حاصل از شکل ۴، تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار کلریسدلیم، محتوای مالون دی آلدئید (۲۵ نانومول بر گرم وزن تر) گیاه را افزایش داد (شکل ۳.B). تنش شوری از طریق تجمع یون های سدیم، کلر و سولفات در سطح سلولی و ایجاد عدم توازن یونی و غذایی موجب تولید رادیکال های آزاد اکسیژن در سلول شده که در صورت ادامه روند موجب آسیب به سلول می شود. افزایش در محتوای مالون دی آلدئید در اثر تنش شوری در گیاه زنیان [28] و بادرشبی [9] گزارش شد. گیاهان در مواجهه با تنش های زیستی و غیرزیستی رادیکال های آزاد در سطح سلولی تولید می کنند که موجب شروع سلسله واکنش هایی می شوند که موجب آسیب به پروتئین، چربی و اسیدهای هسته ای می شود که در صورت ادامه موجب تخریب غشای سلول و افزایش محتوای مالون دی آلدئید می شود [7]. استفاده از تیتانیوم تحت چنین شرایطی با فعال کردن آنزیم های وابسته به آهن، مانند نترات رداکتاز و سایر آنزیم های آنتی اکسیدانی موجب کاهش آسیب وارده به سلول از طریق کاهش تولید رادیکال های آزاد می شود [29]، [13].

جدول ۵- تجزیه واریانس تاثیر تنش شوری و محلول پاشی با نانوذره اکسید روی و تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*).

Table 5- ANOVA for the effects of salinity stress and foliar application with nano TiO₂ and ZnO on physiological and biochemical traits of *Matricaria chamomilla*.

Source of Variation	df	Calalase Activity	IC ₅₀ Index	H ₂ O ₂ Content	MDA Content
Salinity (A)	2	26*	3.7**	27*	41*
Foliar spray (B)	4	18*	1.9*	39*	21 ^{ns}
A × B	8	26*	0.47 ^{ns}	38*	19 ^{ns}
Error	30	6.8	0.19	11	33
Coefficient of variation (%)		9.8	8	4.5	9.7

ns, * and ** indicate no significant difference and significant differences at 5 and 1% probability levels, respectively

فعالیت آنزیم کاتالاز

محلول پاشی با غلظت های ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید روی و تیتانیوم در تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار کلریسدلیم موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه شد (جدول ۴). نتایج مشابهی در خصوص افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر محلول پاشی با نانوذره اکسید روی در بادرشبی گزارش شد [9]. در بررسی تاثیر تنش شوری و محلول پاشی با تیتانیوم در گوجه فرنگی مشخص شد که کاربرد نانوذره تیتانیوم موجب بهبود فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، نترات ردکتاز و کربونیک آنهیدراز گیاه شد [38]. روی نقش مهمی در افزایش محتوای آنزیم کاتالاز، حفظ تمامیت غشای پلاسمایی و کنترل جذب سدیم و سایر یون های سمی در گیاه را دارد. تحت شرایط تنش، بیوسنتز پروتئین در گیاه کاهش یافته و موجب کاهش بیوسنتز آنزیم ها مخصوصا کاتالاز می شود [39]. کاربرد روی تحت تنش شوری از گروه سولفدریل پروتئین های غشا در مقابل آسیب اکسیداتیو محافظت می کند و به این طریق به حفظ تمامیت غشای سلول و بیوسنتز آنزیم ها کمک می کند [7]. تنش های زیستی و غیرزیستی موجب تشدید تولید رادیکال های آزاد (پراکسید هیدروژن، هیدروکسیل و سوپراکسید) می شود. آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز نقش مهمی در کاهش اثرات سو رادیکال های آزاد تولید شده در سلول های گیاهی را برعهده دارند [40]. کاربرد نانوذرات تیتانیوم و روی موجب کاهش تنش اکسیداتیو و کاهش آسیب وارده به غشای سلول می شوند که این عمل را با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز انجام می دهند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به عنوان اولین آنزیم از بین برنده رادیکال های آزاد تولید شده در اندامک های مختلف

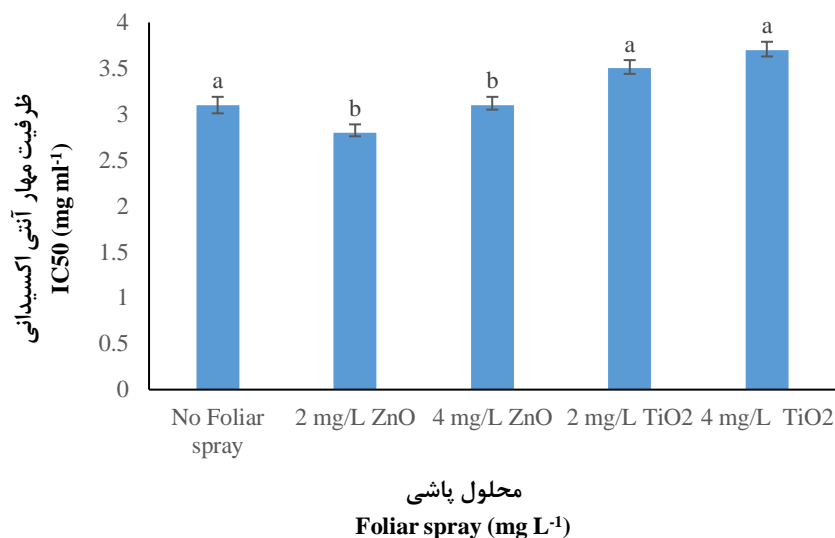
سلول شناخته شده است که موجب تبدیل رادیکال‌های اکسیژن منفرد به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی می‌شود. در مرحله بعدی آنزیم‌های اسکوربات پراکسیداز و کاتالاز با تبدیل H_2O_2 به آب و مولکول اکسیژن موجب کاهش اثر تنش بر گیاه می‌شود [7]. افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر کاربرد نانوذرات در بررسی حاضر ممکن است به دلیل تاثیر این نانوذرات در کاهش محتوای پراکسید هیدروژن در گیاه باشد.

اثرات مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (مهار ۵۰ درصدی) (IC_{50})

تنش شوری صفر و ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم دارای بیش‌ترین اثرات مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد بود و تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار دارای کم‌ترین اثرات مهارکنندگی بود (شکل ۳.C). محلول‌پاشی با هر دو غلظت نانوذره اکسیدروی موجب افزایش اثرات مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد شد، در حالی که تاثیر نانوذره اکسیدتیتانیوم در این خصوص مشابه تیمار شاهد بود (شکل ۴). در تحقیق انجام شده در گوجه‌فرنگی مشخص شد که کاربرد نانوذره تیتانیوم تحت تنش شوری موجب بهبود صفات رشدی، محتوای کلروفیل برگ، فعالیت آنزیمی، محتوای فنل گیاه و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شد [38]. در تحقیق دیگری در گوجه‌فرنگی مشخص شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفت و کاربرد اکسیدتیتانیوم تاثیری در افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نداشت [41]. تنش شوری (۲۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم) و محلول‌پاشی (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نانوذره روی موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار DPPH) گیاه شبلیله شد که شاید دلیل آن نقش روی در بیوسنتز آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی باشد [37]. در این بررسی هم کاربرد نانوذره روی موجب افزایش مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن شد.

محتوای عناصر

محتوای عناصر پتاسیم، آهن، روی، سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم تحت تاثیر اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی، محتوای فسفر تحت تاثیر اثر مستقل تنش شوری و محتوای نیتروژن تحت تاثیر اثر مستقل تنش شوری و محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۶).



شکل ۴- مقایسه میانگین تاثیر محلول‌پاشی با نانوذره اکسید روی و تیتانیوم بر ظرفیت مهار آنتی‌اکسیدانی گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*)

(تفاوت معنی‌دار بین تیمارها با حروف متفاوت لاتین براساس آزمون دانکن (P ≤ ۵٪) نشان داده شد. داده‌های جدول مقایسه میانگین حاصل از سه تکرار می‌باشند.)

Figure 4- Mean comparison for the effects of foliar application with nano TiO₂ and ZnO on IC₅₀ of *Matricaria chamomilla*.

جدول ۶- تجزیه واریانس تاثیر تنش شوری و محلول‌پاشی با نانوذره اکسید روی و تیتانیوم بر محتوای عناصر گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*)

Table 6- ANOVA for the effects of salinity stress and foliar application with nano -TiO₂ and nano-ZnO on concentration of some mineral nutrients in *Matricaria chamomilla*.

Source of Variation	df	N Content	P Content	K Content	Fe Content	Zn Content	Na Content	K/Na Ratio
Salinity (A)	2	132*	903547*	86*	358478*	47*	98*	15*
Foliar spray (B)	4	151*	19543 ^{ns}	121*	32154*	20 ^{ns}	18 ^{ns}	5.8*
A × B	8	0.84 ^{ns}	18474 ^{ns}	89*	12357*	26*	58**	9.3**
Error	30	12	244521	14.3	5471	21	19	1.9
Coefficient of variation (%)	11	7	12	13	8	9	11	

ns, * and ** indicate no significant difference and significant differences at 5 and 1% probability levels, respectively.

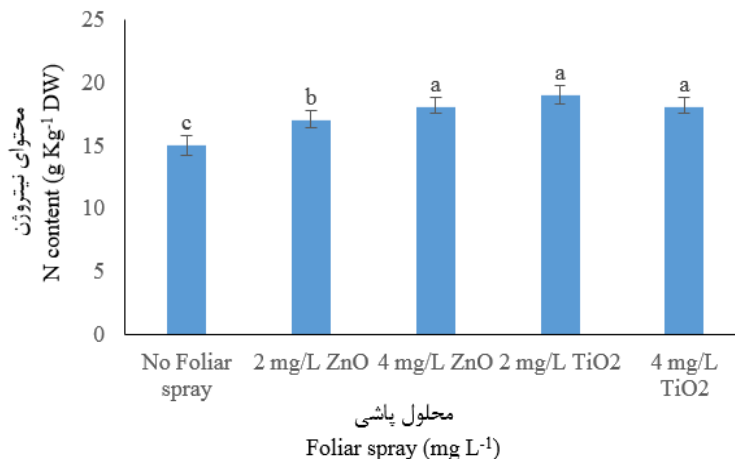
اثر مستقل تیمارهای آزمایشی محتوای نیتروژن و اثر مستقل شوری محتوای فسفر گیاه را تحت تاثیر قرار داد (جدول ۶). کمترین محتوای نیتروژن (۸/۱ گرم بر کیلوگرم وزن خشک) و فسفر (۳/۱ گرم بر کیلوگرم وزن خشک) در تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم مشاهده شد و بیشترین محتوای هر دو عنصر در تیمارهای صفر و ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم مشاهده شد (جدول ۷). محلول پاشی با ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید روی، ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید تیتانیوم موجب افزایش محتوای نیتروژن گیاه شد (شکل ۵).

جدول ۷- مقایسه میانگین تاثیر تنش شوری بر محتوای نیتروژن و فسفر گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*)

Table 7- Mean comparison for the effects of salinity stress on N and P content of *Matricaria chamomilla*.

Salinity (mM)	N Content (g Kg ⁻¹ DW)	P Content (g Kg ⁻¹ DW)
0	14 ^a	4.2 ^a
75	11 ^{ab}	3.9 ^{ab}
150	8.1 ^c	3.1 ^b

Significant differences among treatments are indicated by the different Latin letters based on Duncans test (P≤5%). The data of mean comparison table is the results of three replications.



شکل ۵- مقایسه میانگین تاثیر محلول پاشی با نانوذره اکسید روی و تیتانیوم بر محتوای نیتروژن گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*)

(تفاوت معنی دار بین تیمارها با حروف متفاوت لاتین براساس آزمون دانکن (P≤ ٪۵) نشان داده شد. داده‌های جدول مقایسه میانگین حاصل از سه تکرار می‌باشند.)

Figure 5- Mean comparison for the effects of foliar application with nano TiO₂ and ZnO on nitrogen content of *Matricaria chamomilla*.

بیشترین محتوای پتاسیم (۲۳ گرم در کیلوگرم وزن خشک) در تیمار بدون تنش شوری با محلول پاشی ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید تیتانیوم مشاهده شد که نشان دهنده افزایش ۳۵ درصدی این عنصر نسبت به تیمار شاهد بود. در شرایط بدون تنش شوری محلول پاشی با ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره تیتانیوم موجب افزایش محتوای آهن و محلول پاشی با ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره روی، و ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره تیتانیوم در شرایط بدون تنش شوری موجب افزایش محتوای روی گیاه شد. با افزایش تنش شوری بر محتوای سدیم گیاه افزوده شد و بالاترین محتوای سدیم در

تیمار ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در شرایط بدون محلول پاشی مشاهده شد که نشان دهنده افزایش ۲۴۸ درصدی نسبت به تیمار شاهد بود. شرایط بدون تنش شوری با محلول پاشی تیتانیوم موجب افزایش نسبت پتاسیم به سدیم شد (جدول ۸). سمیت سدیم و کلر با ایجاد اختلالات تغذیه‌ای و کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک، کاهش آب سلول و تورژسانس سلولی، موجب آغاز فرآیندهای بیوشیمیایی در گیاه شده که منجر به خشکی فیزیولوژیکی گیاه می‌شود [42]. تجمع اضافی آنیون کلر موجب نکروزه شدن برگ، کاهش کارایی فتوسنتز و بازداری از جذب نیترات توسط گیاه می‌شود. تجمع اضافی سدیم به دلیل خاصیت آنتاگونیستی با پتاسیم موجب کاهش جذب پتاسیم شده و به این طریق موجب کاهش دسترسی گیاه به منابع ازته لازم می‌شود [43-45]. در بررسی انجام شده در گوجه‌فرنگی مشخص شد که تنش شوری موجب کاهش محتوای پتاسیم گیاه شد، اما کاربرد نانوذره تیتانیوم در چنین شرایطی موجب افزایش محتوای نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم برگ شد [41]. نتایج مشابهی در خصوص افزایش جذب عناصر غذایی در اثر تیمار با تیتانیوم در گوجه‌فرنگی در شرایط بدون تنش شوری گزارش شد [46]. تیتانیوم تاثیر مثبت در آلی سازی نیتروژن از طریق افزایش تولید پروتئین‌های جدید مورد نیاز برای سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر تنش را دارد [47]. کاهش در محتوای پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم تحت شرایط تنش شوری در رزماری گزارش شد. محلول پاشی با نانوذره روی در چنین شرایطی موجب افزایش جذب پتاسیم و بهبود نسبت پتاسیم به سدیم شد [47]. پتاسیم نقش مهمی در تنظیم پتانسیل اسمزی سلول‌های ریشه، انتقال مواد در آوند چوبی و توازن آبی گیاه را دارد و به عنوان فاکتور مقاومت گیاه در مقابل تنش شوری مطرح می‌باشد [7]. جایگزینی یون سدیم به جای یون کلسیم در دیواره سلولی تحت شرایط تنش موجب اختلال در کارکرد دیواره سلولی و تمامیت غشای سلول شده و به این طریق رشد و عملکرد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد [48]. محلول پاشی با نانوذره روی تحت شرایط تنش، تاثیر مثبت در حفظ تمامیت غشای سلول و فتوسنتز از طریق جذب و متابولیسم پتاسیم توسط گیاه داشته و به این طریق موجب کاهش جذب سدیم توسط گیاه می‌شود [49].

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و محلول پاشی با نانوذره اکسید روی و تیتانیوم بر محتوای عناصر (پتاسیم، آهن، روی، سدیم و نسبت پتاسیم به سدیم) در گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*).

Table 8- Mean comparison for the interaction effects of salinity stress and foliar application with nano TiO₂ and ZnO on concentration of some mineral nutrients (K, Fe, Zn, Na content and K/Na ratio) of *Matricaria chamomilla*.

Salinity (mM)	Foliar spray (mgL ⁻¹)	K content (g Kg ⁻¹ DW)	Fe content (mg Kg ⁻¹ DW)	Zn content (mg Kg ⁻¹ DW)	Na content (mg Kg ⁻¹ DW)	K/Na ratio
No salinity	zero	17 ^b	987 ^d	16 ^d	5.2 ^f	3.20 ^c
No salinity	2 : Nano ZnO	17.2 ^b	1001 ^c	26 ^a	4.9 ^j	3.50 ^c
No salinity	4 : Nano ZnO	17 ^b	1032 ^c	31 ^a	4.2 ^j	4.00 ^b
No salinity	2 : Nano TiO ₂	19 ^b	1124 ^a	25 ^b	3.8 ^l	5.00 ^b
No salinity	4 : Nano TiO ₂	23 ^a	1234 ^a	26 ^a	3.5 ^j	6.50 ^a
75	zero	14 ^d	845 ^e	13 ^f	11.0 ^d	1.18 ^d
75	2 : Nano ZnO	15 ^c	954 ^d	19 ^e	9.8 ^e	1.57 ^d
75	4 : Nano ZnO	15 ^c	897 ^e	22 ^b	8.4 ^e	1.80 ^d
75	2 : Nano TiO ₂	17 ^b	1024 ^c	17 ^d	8.9 ^e	1.92 ^d
75	4 : Nano TiO ₂	18 ^b	1135 ^b	16.2 ^d	8.8 ^e	2.06 ^d
150	zero	9.2 ^f	698 ^l	9.3 ^j	18.1 ^a	0.50 ^e
150	2 : Nano ZnO	10 ^f	741 ^f	15.7 ^e	15.2 ^b	0.66 ^e
150	4 Nano ZnO	10 ^f	703 ^f	18.2 ^c	14 ^b	0.71 ^e
150	2 : Nano TiO ₂	12 ^e	987 ^d	14.1 ^e	13.3 ^c	0.92 ^e
150	4 : Nano TiO ₂	13 ^d	1001 ^b	13.9 ^f	13.5 ^c	0.97 ^e

*Significant differences among treatments are indicated by the different Latin letters based on Duncans test (P≤5%). The data of mean comparison table is the results of three replications.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی حاضر نشان داد که تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم با افزایش محتوای مالون دی‌آلدنید، پراکسید هیدروژن و اختلال در جذب عناصر غذایی موجب آسیب به گیاه شد. عملکرد بخش هوایی گیاه تحت تاثیر محلول پاشی با ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید روی و تیتانیوم در شرایط بدون تنش شوری و ۴ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید روی در ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم قرار گرفت. سایر صفات فیزیولوژیک

مورد مطالعه در بررسی حاضر نیز تحت تاثیر اثرات منفی تنش شوری قرار گرفتند. در کل چنین می توان نتیجه گیری کرد که گیاه بایونه قادر به تحمل تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم نبوده و محلول پاشی با نانوذره روی قادر به کنترل اثرات منفی تنش تا ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم می باشد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان به خاطر تامین هزینه های این پژوهش تشکر و قدردانی می شود.

اعلام تعارض منافع

بدین وسیله اعلام می شود که مقاله حاضر حاصل کار تحقیقی اعضای دخیل در مقاله بوده است و نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

منابع

- [1] Lim, T. K. (2014). *Matricaria chamomilla*. In *Edible medicinal and non-medicinal plants* (pp. 397–431). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7395-0_25
- [2] dos Santos, D. S., de Souza Siqueira Barreto, R., Serafini, M. R., Gouveia, D. N., Marques, R. S., de Carvalho Nascimento, L., ... & Guimarães, A. G. (2019). Phytomedicines containing matricaria species for the treatment of skin diseases: a biotechnological approach. *Fitoterapia*, 138, 104267. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X19309669>
- [3] El Mihyaoui, A., da Silva, J. C. G., Charfi, S., Candela Castillo, M. E., Lamarti, A., & Arnao, M. B. (2022). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): a review of ethnomedicinal use, phytochemistry and pharmacological uses. *Life*, 12(4). <https://www.mdpi.com/2075-1729/12/4/479>
- [4] Karami, A., & Sepehri, A. (2018). Nano titanium dioxide and nitric oxide alleviate salt induced changes in seedling growth, physiological and photosynthesis attributes of barley. *Zemdirbyste-agriculture*, 105(2). <https://pdfs.semanticscholar.org/64b1/1227d6f4f1ec13acb86680bfb382beb8a1ff.pdf>
- [5] Fatehi, S. F., Oraei, M., Gohari, G., Akbari, A., & Faramarzi, A. (2022). Proline-functionalized graphene oxide nanoparticles (Go-Pro Nps) mitigate salt-induced adverse effects on morpho-physiological traits and essential oils constituents in moldavian balm (*dracocephalum moldavica* L.). *Journal of plant growth regulation*, 41(7), 2818–2832. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10477-1>
- [6] Ganjavi, A. S., Oraei, M., Gohari, G., Akbari, A., & Faramarzi, A. (2021). Glycine betaine functionalized graphene oxide as a new engineering nanoparticle lessens salt stress impacts in sweet basil (*ocimum basilicum* L.). *Plant physiology and biochemistry*, 162, 14–26. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0981942821000954>
- [7] Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual review of plant biology*, 59(Volume 59, 2008), 651–681. <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- [8] Mehrabani, L. V., Hassanpouraghdam, M. B., & Shamsi-Khotab, T. (2018). The effects of common and nano-zinc foliar application on the alleviation of salinity stress in *Rosmarinus officinalis* L. *ACTA scientiarum polonorum hortorum cultus*, 17(6), 65–73. <https://czasopisma.up.lublin.pl/index.php/asphc/article/view/61>
- [9] Esmailpour, B., Shiekhalipour, M., & Torabi-Giglo, M. (2020). Effects of zinc nanoparticles on growth, some physiological characteristics, and essential oil yield of *dracocephalum moldavica* L. under salinity stress conditions. *Iranian journal of medicinal and aromatic plants research*, 36(5), 867-884. (In Persian). https://ijmapr.areeo.ac.ir/article_122921.html
- [10] Dadkhah, A. R., & others. (2010). Effect of salt stress on growth and essential oil of *Matricaria chamomilla*. *Research journal of biological sciences*, 5(10), 643–646.
- [11] El-Saadony, M. T., Almoshadak, A. S., Shafi, M. E., Albaqami, N. M., Saad, A. M., El-Tahan, A. M., ... & Helmy, A. M. (2021). Vital roles of sustainable nano-fertilizers in improving plant quality and quantity-an updated review. *Saudi journal of biological sciences*, 28(12), 7349–7359. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X2100718X>
- [12] Farooq, T., Adeel, M., He, Z., Umar, M., Shakoob, N., da Silva, W., ... & Rui, Y. (2021). Nanotechnology and plant viruses: an emerging disease management approach for resistant pathogens. *ACS nano*, 15(4), 6030–6037. <https://doi.org/10.1021/acs.nano.0c10910>
- [13] Abdel Latef, A. A. H., Srivastava, A. K., El-sadek, M. S. A., Kordrostami, M., & Tran, L. S. P. (2018). Titanium dioxide nanoparticles improve growth and enhance tolerance of broad bean plants under saline soil conditions. *Land degradation & development*, 29(4), 1065–1073. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ldr.2780>
- [14] Daughan, H. I. (2018). Effects of TiO₂ nanoparticles on maize (*Zea mays* L.) growth, chlorophyll content and nutrient uptake. *Applied ecology and environmental research*, 16, 6873–6883.
- [15] Chattha, M. U., Amjad, T., Khan, I., Nawaz, M., Ali, M., Chattha, M. B., ... & others. (2022). Mulberry based zinc nanoparticles mitigate salinity induced toxic effects and improve the grain yield and zinc bio-fortification of wheat by improving antioxidant activities, photosynthetic performance, and accumulation of osmolytes and hormones. *Frontiers in plant science*, 13, 1-16. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.920570/full>

- [16] Dimkpa, C. O., McLean, J. E., Latta, D. E., Manangón, E., Britt, D. W., Johnson, W. P., ... & Anderson, A. J. (2012). CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. *Journal of nanoparticle research*, 14(9), 1125. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1125-9>
- [17] Mehrabani, L. V., Valizadeh Kamran, R., Hassanpouraghdam, M. B., & Pessarakli, M. (2017). Zinc sulfate foliar application effects on some physiological characteristics and phenolic and essential oil contents of lavender *stoechas* L. under sodium chloride (NaCl) salinity conditions. *Communications in soil science and plant analysis*, 48(16), 1860–1867. <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1406105>
- [18] Shinano, T., Lei, T. T., Kawamukai, T., Inoue, M. T., Koike, T., & Tadano, T. (1996). Dimethylsulfoxide method for the extraction of chlorophylls a and b from the leaves of wheat, field bean, dwarf bamboo, and OAK. *Photosynthetica*, 32(3), 409–415.
- [19] Luhova, L., Lebeda, A., Hedererová, D., & Pec, P. (2003). Activities of amine oxidase, peroxidase and catalase in seedlings of *pisum sativum* L. under different light conditions. *Plant soil and environment*, 49(4), 151–157.
- [20] Nareshkumar, A., Veeranagamallaiiah, G., Pandurangaiiah, M., Kiranmai, K., Amaranathareddy, V., Lokesh, U., ... & Sudhakar, C. (2015). Pb-stress induced oxidative stress caused alterations in antioxidant efficacy in two groundnut (*arachis hypogaea* L.) cultivars. *Agricultural sciences*, 6(10), 1283–1297.
- [21] Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125(1), 189–198. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003986168906541>
- [22] Fedina, I., Georgieva, K., Velitchkova, M., & Grigorova, I. (2006). Effect of pretreatment of barley seedlings with different salts on the level of UV-B induced and UV-B absorbing compounds. *Environmental and experimental botany*, 56(3), 225–230. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847205000353>
- [23] Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1), 248–254. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269776905273>
- [24] Zhang, D., & Hamauzu, Y. (2004). Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food chemistry*, 88(4), 503–509. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814604001517>
- [25] Parida, A. K., & Das, A. B. (2004). Effects of NaCl stress on nitrogen and phosphorous metabolism in a true mangrove *Bruguiera parviflora* grown under hydroponic culture. *Journal of plant physiology*, 161(8), 921–928. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S017616170400015X>
- [26] Ashraf, M., Shahzad, Sh. M., Imtiaz, M., & Rizwan, M. Sh. (2018). Salinity effects on nitrogen metabolism in plants – focusing on the activities of nitrogen metabolizing enzymes: a review. *Journal of plant nutrition*, 41(8), 1065–1081. <https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1431670>
- [27] Garg, N., Saroy, K., Cheema, A., & Bisht, A. (2019). Microbial diversity in soil: biological tools for abiotic stress management in plants. *Plant biotic interactions : state of the art* (pp. 283–321). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-26657-8_17
- [28] Amooaghaie, R., Majidi, M., & Farhadian, S. (2022). Impact of nano-TiO₂ on salt stress tolerance of *carum copticum*. *Plant process and function*, 11(48). <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1560-en.html>
- [29] Behnam, H., Feizi, H., & Alipanah, M. (2021). Alleviation the effects of salinity stress using titanium dioxide nano and bulk particles in *Echinacea* seeds and seedlings. *Advances in horticultural science*, 35(4), 351–360.
- [30] Kamali, M., Shour, M., & Feizi, H. (2018). Impacts of nanosized and bulk titanium dioxide on flowering and morpho-physiological traits of *petunia* (*petunia hybrida*) under salinity stress. *Journal of horticultural science*, 32(2), 199–212. (In Persian). https://jhs.um.ac.ir/article_36490.html
- [31] Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants*. Elsevier Science. https://www.google.com/books/edition/Marschner_s_Mineral_Nutrition_of_Higher/yqKV3USG41cC?hl=en&gbpv=0
- [32] Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental science and pollution research*, 22(6), 4056–4075. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3739-1>
- [33] Drkaskiewicz, M. (1994). Chlorophyllase: occurrence, functions, mechanism of action, effects of external and internal factors. *Photosynthetica*, 30(3), 321–331. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19950706776>
- [34] Rasekh, F., Rowshan, V., Vaziri, A., & Kholdebarin, B. (2019). Effects of salinity on biochemical and physiological characteristics of *matricaria chamomilla*. *Journal of plant research (Iranian journal of biology)*, 32(3), 583–595. (In Persian). https://plant.ijbio.ir/article_1376.html
- [35] Chrysargyris, A., Michailidi, E., & Tzortzakis, N. (2018). Physiological and biochemical responses of *lavandula angustifolia* to salinity under mineral foliar application. *Frontiers in plant science*, 9, 339208.
- [36] Pasandi Pour, A., Farahbakhsh, H., & Saffari, M. (2014). Response of fenugreek plants to short-term salinity stress in relation to lipid peroxidation, antioxidant activity and protein content. *Journal of ethno-pharmaceutical products*, 1(1), 45–52.
- [37] Noohpisheh, Z., Amiri, H., Mohammadi Gholami, A., & Farhadi, S. (2020). Investigating the application of ZnO nanoparticle on morphological and physiological parameters of two cultivars of Fenugreek (*trigonella foenum-graecum* L.) under salinity stress. *Plant process and function*, 9(35). <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1223-en.html>
- [38] Khan, M. N. (2016). Nano-titanium dioxide (nano-TiO₂) mitigates NaCl stress by enhancing antioxidative enzymes and accumulation of compatible solutes in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of plant sciences*, 11(1-3), 1–11.

- [39] Khanna-Chopra, R., & Selote, D. S. (2007). Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environmental and experimental botany*, 60(2), 276–283. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847206001638>
- [40] Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K., & Charoensataporn, R. (2003). Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. *Science asia*, 29(2), 109–113.
- [41] Carbajal-Vázquez, V. H., Gómez-Merino, F. C., Alcántar-González, E. G., Sánchez-García, P., & Trejo-Téllez, L. I. (2022). Titanium increases the antioxidant activity and macronutrient concentration in tomato seedlings exposed to salinity in hydroponics. *Plants*, 11(8). <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/8/1036>
- [42] Khan, N., Bano, A., & Babar, M. D. A. (2019). The stimulatory effects of plant growth promoting rhizobacteria and plant growth regulators on wheat physiology grown in sandy soil. *Archives of microbiology*, 201(6), 769–785. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01644-w>
- [43] Soussi, M., Ocana, A., & Lluch, C. (1998). Effects of salt stress on growth, photosynthesis and nitrogen fixation in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of experimental botany*, 49(325), 1329–1337.
- [44] Castorena, M. V., Valencia, E. A. C., Ibarra, M. A. I., & Ulery, A. L. (2006). Absorción y traslocación de sodio y cloro en plantas de chile fertilizadas con nitrógeno y crecidas con estrés salino. *Revista fitotecnia mexicana*, 29(1), 79–88.
- [45] Calderón-Paniagua, N., Estrada-Luna, A. A., & Martínez-Hernández, J. D. J. (2001). Efecto de la salinidad en el crecimiento y absorción nutrimental de plantas micropropagadas de nopal (*Opuntia* spp). *Revista chapingo: serie ciencias forestales y del ambiente*, 7(2), 127–132.
- [46] Kleiber, T., & Markiewicz, B. (2013). Application of “Tytanit” in greenhouse tomato growing. *Acta scientiarum polonorum. hortorum cultus*, 12(3), 117–126.
- [47] Cherchi, C., Lin, Y., & Gu, A. Z. (2021). Nano-Titanium dioxide exposure impacts nitrogen metabolism pathways in cyanobacteria. *Environmental engineering science*, 38(6), 469–480. <https://doi.org/10.1089/ees.2020.0150>
- [48] Cherchi, C., Lin, Y., & Gu, A. Z. (2020). Nano-titanium dioxide exposure impacts nitrogen metabolism pathways in cyanobacteria. *Environmental engineering science*, 38(6), 469–480. DOI:10.1089/ees.2020.0150
- [49] Tufail, A., Li, H., Naeem, A., & Li, T. X. (2018). Leaf cell membrane stability-based mechanisms of zinc nutrition in mitigating salinity stress in rice. *Plant biology*, 20(2), 338–345. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/plb.12665>