

Effect of the foliar application of copper nanoparticles on the growth and yield of Persian Leek (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) under salinity stress

Farhad Shakarami¹ | Sadegh Mousavi-Fard²  | Abdolhossein Rezaei Nejad³  | Farhad Beiranvand⁴ 

1. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran. E-mail: shakarami.farhad1358@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. E-mail: Mousavifard.S@sku.ac.ir
3. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran. E-mail: rezaeinejad.h@lu.ac.ir
4. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran. E-mail: Farhadbeiranvand@yahoo.com

Introduction

Salinity in water and soil stands as a crucial environmental factor that significantly hampers global agricultural production. Over recent decades, the escalating demand for irrigation in arid and semi-arid regions has intensified this issue, making it a major agricultural challenge. Salinity stress, characterized by reduced water absorption, heightened salt uptake (especially sodium, chlorine, and boron), and the generation of reactive oxygen species, induces oxidative stress in plants, severely impacting their growth and overall performance. To enhance plant tolerance to salinity stress, elicitors are employed as a short-term and viable solution to mitigate the adverse effects of stress. Copper, serving as a cofactor and essential element for numerous enzymes involved in photosynthesis and respiration processes, plays a crucial role in sustaining natural plant growth and metabolism. Copper ions function as cofactors in enzymes like superoxide dismutase (Cu/Zn SOD) and polyphenol oxidase, contributing to the removal of reactive oxygen species. However, the absence of this element in plants cultivated in alkaline and saline soils of arid and semi-arid regions can lead to nutritional disorders. In this context, copper nanoparticles emerge as a suitable alternative to chemical fertilizers due to their quicker and more efficient impact. Their use not only mitigates the negative consequences of excessive fertilizer application but also reduces the frequency of application. The Persian leek (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) is a valuable edible-medicinal plant native to Iran, belonging to the Amaryllidaceae family. It holds significance in Iran as a key leafy vegetable, valued for its freshness and high processing potential among horticultural plants. Given the nutritional and medicinal importance of Persian leek and the prevalence of salinity stress, this study aims to explore the impact of copper nanoparticle spray in modifying the effects of salinity stress on the morphophysiological and biochemical characteristics of Persian leek.

Materials and methods

A factorial experiment was conducted using a completely randomized design with three replications in the research greenhouses of Lorestan University's Faculty of Agriculture. The experimental conditions included daytime temperatures ranging from 20 to 28 °C, nighttime temperatures from 15 to 20 °C, relative humidity set at 60-70%, and a light intensity of 400-500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The first factor involved foliar spraying of copper nanoparticles at control levels (zero), 150, and 300 mg/liter, while the second factor comprised salinity stress at control

levels (zero), 50, 100, and 150 mM sodium chloride. F1 seeds were obtained from Pakan Bazar Company and planted in 1.5-liter pots, with each pot containing three plants. The copper nanoparticles were applied through foliar spraying twice on the shoot parts at the four-leaf and six-leaf stages. Salinity stress was introduced one week after the foliar application, implemented through irrigation once every three days at a level corresponding to 90% of the field capacity. The soil mixture comprised an equal ratio of agricultural soil, cow manure, and sand, maintaining a clay-sand loam texture. Following three months of applying salt stress, a comprehensive assessment of morphophysiological characteristics was carried out. This included the measurement of plant height, stem and bulb diameter, leaf count, fresh and dry weights of stem, root leaf, root volume and length, shoot/root ratio, dry matter (%), stress tolerance index, relative water content (RWC), electrolyte leakage, malondialdehyde content, photosynthetic pigments, chlorophyll stability index, as well as the activity of peroxidase and ascorbate peroxidase.

Results and Discussion

The results indicated that salinity stress had a detrimental impact on various aspects of plant growth, including a decrease in plant height, stem and bulb diameter, leaf number, and the fresh and dry weights of the stem, bulb, and root. Additionally, there was a reduction in root volume and length, along with decreased levels of photosynthetic pigments. The percentage of electrolyte leakage, malondialdehyde content, and the activity of antioxidant enzymes, namely peroxidase and ascorbate peroxidase, also increased, highlighting the adverse effects of salinity stress on plant development. The decline in plant growth can be attributed to multiple factors, including diminished cell division, ionic imbalance, reduced water absorption, impaired uptake of essential elements, and the impact of toxic ions, particularly sodium and chlorine. Other contributing factors include impaired absorption, regeneration, and metabolism of nitrogen and protein, as well as stomatal closure, collectively resulting in reduced photosynthetic efficiency. Salinity stress further leads to a reduction in soil water potential and an increase in the osmotic pressure of the soil solution. Consequently, the plant requires more energy to absorb water from the soil, leading to increased respiration and alterations in the hormonal balance of plant tissues, ultimately causing a decrease in growth and negative effects on the plant. The application of copper nanoparticles at both concentrations demonstrated positive effects on various growth components, including plant height, stem and bulb diameter, leaf count, and the fresh and dry weights of the stem, bulb, and root, as well as increased root volume and length. Additionally, the use of copper nanoparticles resulted in a decrease in the percentage of electrolyte leakage and malondialdehyde content, coupled with an increase in the concentration of photosynthetic pigments and the activity of antioxidant enzymes, including peroxidase and ascorbate peroxidase. Notably, the concentration of 150 mg/liter exhibited a more pronounced effect in enhancing plant growth, with a diminishing impact observed at higher concentrations. Copper nanoparticles improve plant growth under stress conditions by influencing the content of cellular antioxidants and modulating the hormonal balance of plant tissues.

Conclusion

The findings of this study indicated that increased salinity stress led to higher electrolyte leakage and malondialdehyde content, along with a reduction in RWC and photosynthetic pigments. These changes caused a decline in the morpho-physiological characteristics of Persian leek. However, salinity stress also increased the activity of peroxidase and ascorbate

peroxidase enzymes. Foliar application of copper nanoparticles under these conditions had beneficial effects on the plants. Specifically, at a concentration of 150 mg/liter, the negative effects of salinity stress on the morpho-physiological indices of Persian leek were alleviated. This improvement was due to an increase in the activity of antioxidant enzymes, RWC, and the concentration of photosynthetic pigments.

مجله علمی پژوهشی
فصلنامه علمی پژوهشی
پژوهش‌های زیست‌فناوری

بررسی رشد و عملکرد تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) در پاسخ به محلول پاشی نانوذرات مس تحت تنش شوری

فرهاد شاکرمی^۱ | صادق موسوی فرد^۲ | عبدالحسین رضایی نژاد^۳ | فرهاد بیرانوند^۴

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران. رایانامه: shakarami.farhad1358@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. رایانامه: Mousavifard.S@sku.ac.ir

۳. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران. رایانامه: rezaeinejad.h@lu.ac.ir

۴. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران. رایانامه: Farhadbeiranvand@yahoo.com

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر محلول پاشی نانوذرات مس بر ویژگی‌های رشد و عملکرد گیاه تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) تحت شرایط تنش شوری بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل محلول پاشی نانوذرات مس در سه سطح صفر (شاهد)، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و فاکتور دوم شامل تنش شوری در چهار سطح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که به صورت آبیاری سه روز یک‌بار (در سطح ۹۰ درصد ظرفیت زراعی) انجام شد. نتایج آزمایش نشان داد که افزایش تنش شوری موجب کاهش معنی‌داری در ارتفاع بوته، قطر ساقه و پیاز، تعداد برگ، حجم ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، پیاز و ریشه، شاخص مقاومت به تنش، محتوای کلروفیل a، b و کل، کارتنوئید، شاخص ثبات کلروفیل و محتوای نسبی آب شد و از سوی دیگر باعث افزایش قابل توجهی در طول ریشه، درصد ماده خشک، نشت الکترولیت، میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه تره ایرانی شد. نتایج نشان داد محلول پاشی نانوذرات مس اثرات تنش شوری را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتی و بهبود تعادل آبی تعدیل کرد. استفاده از هر دو غلظت نانوذرات مس باعث افزایش معنی‌داری در همه‌ی ویژگی‌های مورد مطالعه نسبت به تیمار شاهد شد. به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تنش شوری در همه‌ی سطوح دارای اثرات منفی بر رشد و عملکرد در تره ایرانی می‌باشد در صورتی که کاربرد نانوذرات مس به‌ویژه در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش شاخص ثبات کلروفیل، بهبود روابط آبی گیاه و همچنین افزایش شاخص مقاومت گیاه به تنش منجر به افزایش قطر پیاز، وزن تر و خشک اندام هوایی و پیاز شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم پراکسیداز، مالون دی‌آلدئید، محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت

مقدمه

شوری آب‌های آبیاری و خاک، یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی محدودکننده تولید محصولات کشاورزی در سراسر جهان است و در طول دهه‌های گذشته به دلیل افزایش نیاز آبیاری در مناطق خشک و نیمه‌خشک، یکی از مشکلات عمده کشاورزی شده است (Abdelraheem et al., 2019; Gholamzadeh Alam et al., 2022). تحت شرایط

تنش شوری، هدایت روزنه‌ای، تعرق و در دسترسی به دی‌اکسید کربن کاهش می‌یابد و روند فتوسنتز تغییر می‌کند. در نتیجه، تنش اکسیداتیو با افزایش تولید و حضور گونه‌های فعال اکسیژن و یا گونه‌های نیتروژن واکنش‌پذیر ایجاد می‌شود (Safari *et al.*, 2022). شوری باعث کمبود یا عدم تعادل مواد غذایی معدنی در گیاه می‌شود. این تاثیر می‌تواند به دلیل رقابت یون‌های Na^+ و Cl^- با مواد مغذی مانند پتاسیم (K^+)، کلسیم (Ca^{2+}) فسفر (P)، منیزیم (Mg) و نترات (NO_3^-) باشد (Della Maggiora *et al.*, 2023; Safari *et al.*, 2022).

متابولیسم گیاه توسط عناصر درشت و ریز مغذی تنظیم می‌شود که ریزمغذی‌ها به‌طور عمده در حفاظت سلول، تنظیم بیان ژن‌ها، انتقال پیام و همچنین در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و فرآیندهای آنزیمی نقش عمده‌ی دارند. در میان ریز مغذی‌ها، مس (Cu) یک کوفاکتور و عنصر کلیدی برای بسیاری از آنزیم‌های درگیر در فرآیندهای فتوسنتز و تنفسی است و به‌عنوان کوفاکتور در بسیاری از آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز (Cu/Zn SOD)، سیتوکروم C اکسیداز، آمینو اکسیداز، پلاستوسیانین و پلی فنل اکسیداز عمل شرکت دارد (Thounaojam *et al.*, 2012) و از طریق برخی آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز باعث حذف گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود، در نتیجه کمبود این عنصر در گیاهان روئیده در خاک‌های قلیایی و شور مناطق خشک و نیمه خشک می‌تواند منجر به نوعی اختلال تغذیه‌ای شود (Thounaojam *et al.*, 2012).

امروزه نانو فناوری، یک علم جدید و شاخه‌ای جذاب است که اجازه پیشرفت به تحقیقات در بسیاری از زمینه‌ها را می‌دهد. نانو تکنولوژی شامل دامنه‌ی از تکنولوژی‌های مربوط به دستکاری مواد در مقیاس طولی ۱۰۰-۱ نانومتر است (Pérez-Labrada *et al.*, 2019). در این بین، نانوذرات مس می‌توانند به دلیل فعل و انفعال با ساختارهای داخل سلولی و سهولت نفوذ در دیواره‌ی سلولی به دلیل اندوسیتوز، شکل منافذ، پروتئین‌های انتقال دهنده یا پلاسما سماها باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شوند (Pérez-Labrada *et al.*, 2019). از طرف دیگر کودهای شیمیایی، نقش اساسی در جبران کمبود عناصر در گیاه ایفا می‌کنند، اما به‌واسطه‌ی فتولیز (تجزیه آب)، هیدرولیز و فعالیت‌های میکروبی بخش زیادی از آن از دسترس گیاه خارج می‌شود. در نتیجه برای کنترل مؤثر و تأمین کمبود عناصر، تکرار کوددهی ضروری بوده که این خود منجر به اثرات ناخواسته‌ای همچون آلودگی آب و خاک و در نتیجه شوری بیشتر خاک می‌گردد. از این رو به‌کارگیری نانوذرات به عنوان جایگزینی مناسب برای کودهای شیمیایی (برای به حداقل رسیدن اثرات منفی مصرف بیش از حد آن‌ها و کاهش تعداد دفعات کاربردشان) می‌تواند یکی از راه‌های مؤثر در رفع نیاز غذایی گیاهان به عناصر کم‌مصرف و افزایش جذب این عناصر باشد (Siddiqi *et al.*, 2020).

تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) یکی از گونه‌های مهم خانواده Alliaceae است که به‌عنوان یک گیاه بومی ایرانی و یکی از سبزی‌های برگی مهم در ایران شناخته می‌شود. گیاهی دو ساله، چندچین دارای برگ‌های با عرض ۴-۱ سانتی‌متر و به‌طول ۳۰-۲۰ سانتی‌متر است. پس از هر بار برداشت برگ‌های جدید عریض‌تر و طویل‌تر شده و در قاعده همدیگر را می‌پوشانند (Panahandeh, 2015). تولید سبزی‌ها به لحاظ اهمیت تازه‌خوری و فرآوری زیاد آن‌ها در بین گیاهان باغبانی از اهمیت بسیاری برخوردار است (Panahandeh, 2015). مطالعات نشان داده است که یکی از راهکارهای بهبود تحمل به تنش شوری در گیاهان باغبانی محلول‌پاشی مواد تعدیل دهنده تنش می‌باشد. در این خصوص طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی و هورمون‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است (Safari *et al.*, 2022; Roozbahani *et al.*, 2020). با توجه به اینکه تره ایرانی به‌عنوان یک سبزی بومی و پرمصرف، اهمیت تغذیه‌ای و دارویی زیادی دارد از طرفی تنش شوری در حال گسترش می‌باشد. لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر محلول‌پاشی نانوذرات مس بر تعدیل اثر تنش شوری بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تره ایرانی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه‌های پژوهشی دانشکده کشاورزی لرستان با دمای روزانه ۲۸-۲۰، شبانه ۲۰-۱۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد و شدت نور ۴۰۰-۵۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه با دوره روشنایی ۱۶ ساعت و ۸ ساعت تاریکی در بهار و تابستان ۱۴۰۱ اجرا شد. فاکتور اول شامل محلول‌پاشی نانوذرات مس (سطوح صفر؛ شاهد، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بود. بذرهاى وارسته تره شادگانی از شرکت پاکان بذر تهیه و در نیمه اول خرداد ماده در گلدان‌هایی با حجم ۱/۵ لیتری کشت شدند (هر گلدان حاوی سه گیاه). نانوذرات مس در مرحله چهار برگی و شش برگی دوبار با فاصله حدود ۱۰ روز روی سطح رویی و زیرین برگ گیاهان محلول‌پاشی شد. یک هفته بعد از محلول‌پاشی، تنش شوری کلرید سدیم به صورت آبیاری سه روز یکبار در سطح ۹۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۱۵۰ میلی‌لیتر اعمال شد. به منظور جلوگیری از اثر تجمعى نمک، بعد از ۵ مرتبه آبیاری گلدان‌ها با سطح شوری مورد نظر آبشویی گلدان‌ها با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب لوله انجام شد تا نمک اضافی از محیط ریشه خارج شود. نانوذرات مس با جرم مولکولی ۶۳/۵۴ از شرکت نانومواد ایرانیان تهیه شد. بستر کاشت شامل نسبت مساوی ۱:۱:۱ خاک زراعی، کود دامی پوسیده و ماسه (با بافت لومی رسی-شنی (۷۱/۷۱ درصد شن، ۴/۰۸ سیلت و ۲۴/۲ درصد رس)) بود. تنش شوری به مدت ۳ ماه ادامه داشت و در نیمه اول مهرماه آزمایش پایان یافت، سپس شاخص‌های زیر اندازه‌گیری شد:

ویژگی‌های ریخت‌شناسی شامل ارتفاع گیاه (به وسیله خط‌کش بر حسب سانتی‌متر از ناحیه یقه محاسبه شد)، قطر ساقه و طوقه (با استفاده از دستگاه کولیس بر حسب میلی‌متر)، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، طول ریشه (به وسیله خط‌کش بر حسب سانتی‌متر)، حجم ریشه (از طریق اختلاف حجم ایجاد شده پس از قرار گرفتن ریشه در حجم مشخصی از آب بر اساس قانون ارشمیدوس بر حسب سانتی‌متر مکعب، محاسبه شد)، وزن تر و خشک ریشه، نسبت اندام هوایی به اندام زیرزمینی، درصد ماده خشک (Starman and Lombardini, 2006) و شاخص مقاومت به تنش خشکی (رابطه ۱) (Fischer and Maurer, 1978) نیز طبق رابطه زیر اندازه‌گیری شد:

$$\text{STI (Stress tolerance index) (\%)} = \frac{\text{Total dry weight (gr)}}{\text{Control dry weight (gr)}} \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

ویژگی‌های فیزیولوژیکی: محتوای نسبی آب برگ گیاه به روش ریچی و نگوین (Ritchie and Nguyen, 1990)، اندازه‌گیری شد. پس از اندازه‌گیری وزن تر (FW)، نمونه‌های برگ به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور شد. پس از آن وزن تورژسانس (TW) آن اندازه‌گیری گردید. جهت اندازه‌گیری وزن خشک (DW) به مدت ۴۸ ساعت نمونه‌ها در داخل آون و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت محتوای نسبی آب برگ (RWC) بر حسب درصد از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{RWC (\%)} = \frac{\text{FW} - \text{DW}}{\text{TW} - \text{DW}} \times 100 \quad \text{رابطه (۲)}$$

برای تعیین نفوذپذیری غشاء سلولی، بر اساس روش لوتس و همکاران (Lutts et al., 1996)، از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته، نمونه‌برداری شد. نمونه‌های برگ در ابعاد ۱ سانتی‌متری بریده و سپس با آب مقطر شسته شد. پس از آن به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و در داخل لوله‌های شیشه‌ای درب‌دار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. هدایت الکتریکی اولیه (E1) با دستگاه EC متر قرائت شد. نمونه‌ها در اتوکلاو و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته و پس از سرد شدن نمونه‌ها، هدایت الکتریکی ثانویه (E2) قرائت شد. در نهایت درصد نشت الکترونیک برگ از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{EL (\%)} = \frac{\text{E1}}{\text{E2}} \times 100 \quad \text{رابطه (۳)}$$

اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کارتنوئید برگ‌ها، به روش لیختن هالر (Lichtenthaler, 1987)، انجام شد. ابتدا ۰/۱ گرم از برگ توزین شد. برگ در هاون چینی با ازت مایع خرد و با ۱۰ میلی‌لیتر استون خالص مخلوط شد. عصاره به دست آمده در فالكون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته و در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب محلول در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۲ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. استون به‌عنوان محلول شاهد برای تنظیم صفر جذب نوری اسپکتروفتومتر استفاده شد. در نهایت غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از روابط زیر محاسبه و بر اساس میلی‌گرم در گرم محاسبه شد.

$$\text{Chl a (mg/g)} = (11.24 \times A_{662}) - (2.04 \times A_{645}) \quad \text{رابطه (۴)}$$

$$\text{Chl b (mg/g)} = (20.13 \times A_{645}) - (4.19 \times A_{662}) \quad \text{رابطه (۵)}$$

$$\text{Total Chl (mg/g)} = 7.05 \times (A_{662}) + 18.09 \times (A_{645}) \quad \text{رابطه (۶)}$$

$$\text{Car} = 1000 \times (A_{470} - 1.90 \times \text{Chl a} - 63.14 \times \text{Chl b}) / 214 \quad \text{رابطه (۷)}$$

شاخص ثبات کلروفیل نیز از رابطه به‌دست آمد (Vinaya Rai and Parthiban, 1995).

رابطه (۸)

$$\text{Chlorophyll Stability Index (CSI)(\%)} = \frac{\text{Total chlorophyll contents (stressed)}}{\text{Total chlorophyll contents (control)}} \times 100$$

اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید با استفاده از تیوباریتوریک اسید به‌عنوان معرف و بر اساس روش وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2009) انجام شد. بدین منظور یک دهم گرم از یافت تازه گیاه (برگ) با استفاده از نیتروژن مایع درون هاون چینی خرد شد، سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول نیم درصد تیوباریتوریک اسید (حل شده در تری‌کلرو استیک اسید) به آن اضافه و در فالكون ریخته شد. به منظور انجام واکنش، فالكون‌ها به مدت ۱۵ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند پس از این مدت، بلافاصله با استفاده از یخ سرد شدند. مخلوط در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جذب روشن‌آور در سه طول موج ۴۵۰، ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (SHIMADZU, model UV-1700, Japan)، قرائت شد و سپس میزان مالون دی‌آلدئید بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$\text{MDA} = 6.45(\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56(\text{OD}_{450}) \quad \text{رابطه (۹)}$$

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش ناکانوا و آسادا (MacAdam *et al.*, 1992) استفاده شد. میزان فعالیت بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر محاسبه شد. در ابتدا سه دهم گرم نمونه (برگ) با ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار) هموزن شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سپس ۱۲۰۰ میکرولیتر بافر (۵۰ میلی‌مولار) و ۵۰ میکرولیتر آب اکسیژنه و ۵۰ میکرولیتر گایاکول با ۵۰ میکرولیتر از روشن‌آور در طول موج ۴۷۵ نانومتر به مدت ۱۳۰ ثانیه با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-600A) قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر محاسبه شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز طبق روش ناکانوا و آسادا (Nakano and Asada, 1981) اندازه‌گیری شد. یک دهم گرم نمونه (برگ) با ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم (۵۰ میلی‌مولار) حاوی EDTA (۲ میلی‌مولار) و PVP (۱٪) هموزن شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج بدون اسید آسکوربیک و ۳۰۰ میکرو لیتر بافر (۵۰ میلی‌مولار) محتوی اسید آسکوربیک و ۳ میکرولیتر آب اکسیژنه با ۵۰ میکرولیتر از روشن‌آور در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-600A) قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری Minitab V20 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح 5% و رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش شوری و نانو ذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر ارتفاع بوته تاثیر معنی‌داری داشت ولی اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش شوری اثر منفی بر رشد گیاه داشت، به طوری که بیشترین ارتفاع بوته در تیمار شاهد (۵۸/۷۳ سانتی‌متر) و کمترین مقدار آن در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار (۲۴/۷) درصد کاهش در مقایسه با تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۴). همچنین محلول پاشی نانو ذرات مس موجب افزایش ارتفاع بوته شد و بیشترین ارتفاع بوته در غلظت ۳۰۰ میلی گرم در لیتر (۱۴/۳۲) درصد افزایش در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۵).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر قطر ساقه تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد با افزایش سطح تنش شوری قطر ساقه کاهش یافت و در سطح ۱۵۰ میلی مولار، کاهش ۴۱/۹۱ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد. اما محلول پاشی نانو ذرات در دو سطح شوری ۵۰ و ۱۵۰ میلی مولار سبب افزایش قطر ساقه شد. در کل، بیشترین قطر ساقه در تیمار شاهد (بدون شوری و نانو ذرات) (۷/۷۳ میلی متر) و کمترین آن نیز در تیمار ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم بدون نانو ذرات مس (۴/۴۹ میلی متر) به دست آمد (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر قطر پیاز تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد با افزایش سطح تنش شوری از قطر پیاز کاسته شد به طوری که در سطح ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم کاهش ۳۲/۴۷ در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد. کاربرد نانو ذرات مس در سطح بدون تنش باعث کاهش قطر پیاز شد، اما در سطوح تنش شوری به خصوص در غلظت ۳۰۰ میلی گرم در لیتر سبب افزایش قطر پیاز شد. در کل، بیشترین (۱۲/۸۴ میلی متر) و کمترین (۸/۶۷ میلی متر) قطر پیاز به ترتیب در تیمار شاهد (صفر میلی مولار کلرید سدیم و عدم محلول پاشی نانو ذرات مس) و تیمار ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم بدون نانو ذرات مس ثبت شد (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر تعداد برگ تاثیر معنی‌داری داشت ولی اثر نانو ذرات مس و اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش تنش شوری از تعداد برگ کاسته شد، هر چند اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف تنش شوری (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی مولار) مشاهده نشد و بیشترین تعداد برگ نیز در تیمار شاهد (۶/۲۲) در بوته به دست آمد (جدول ۴).

جدول ۱) تجزیه واریانس تاثیر نانوذرات مس بر صفات رشدی تره ایرانی تحت تنش شوری

Table 1) Analysis of variance (ANOVA) of the effect of copper nanoparticles on growth characteristics of Persian leek under salinity stress

منبع تغییرات S. O. V.	درجه آزادی d.f	ارتفاع گیاه Plant height	تعداد برگ number of leaves	قطر ساقه Stem diameter	قطر پیاز Bulb diameter	وزن تر اندام هوایی Shoot Fresh weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry weight	وزن تر پیاز Bulb Fresh weight	وزن خشک پیاز Bulb dry weight	طول ریشه Root length	حجم ریشه Root volume	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	نسبت اندام هوایی به اندام زیرزمینی Shoot/root ratio	درصد وزن خشک percentage of dry matter	شاخص مقاومت به تنش STI
																Mean squares
شوری Salinity	3	357.3**	7.1**	5.620**	10.22**	4332.7**	20.88**	25.09**	0.529**	2.642**	4567.14**	3967.1**	31.92**	0.0473**	36.09**	4019.5**
نانوذرات مس NP-Cu	2	136.96**	0.33 ^{ns}	0.420**	1.629**	75.4**	0.393**	0.650 ^{ns}	0.164**	1.941*	60.86**	69.90**	1.47**	0.00008 ^{ns}	0.56 ^{ns}	167.2**
شوری × نانوذرات مس Salinity × NP-Cu	6	2.88 ^{ns}	0.33 ^{ns}	1.41**	1.63**	33.6**	0.215*	0.782*	0.082*	2.621**	4.75 ^{ns}	4.97 ^{ns}	0.76**	0.00111 ^{ns}	0.54 ^{ns}	79.55**
خطای آزمایشی	22	1.71	0.212	0.057	0.018	1.08	0.060	0.294	0.023	0.363	2.81	4.21	0.09	0.0012	0.43	3.95
ضرریت تغییرات C.V		2.58	10.71	3.99	1.28	2.57	6.99	4.76	6.21	2.93	3.45	4.31	5.57	8.35	5.55	3.00

ns, * و **: به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

ns, * and **: no significant difference and significant difference at the probability level of 0.05 and 0.01, respectively.

جدول ۲) تجزیه واریانس تاثیر نانوذرات مس بر شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تره ایرانی تحت تاثیر تنش شوری

Table 2) Analysis of variance of the effect of copper nanoparticles on the physiological and biochemical indices of Persian leek under salinity stress

منبع تغییرات S. O. V.	درجه آزادی d.f	محتوای نسبی آب Relative water content	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	مالون دی آلدهید Malondialdehyde	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total chlorophyll	شاخص نبات کلروفیل CSI	پراکسیداز Peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
											Mean squares
شوری Salinity	3	76.65**	299.33**	0.0152**	3.817**	1.304**	0.640**	9.421**	2697.3**	9.421**	0.0055**
نانوذرات مس NP-Cu	2	7.68*	70.27**	0.0010**	4.659**	0.363**	0.583**	7.618**	2181.3**	7.618**	0.0154**
شوری × نانوذرات مس Salinity × NP-Cu	6	8.67**	7.83 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.035 ^{ns}	0.026 ^{ns}	0.016 ^{ns}	0.057 ^{ns}	16.4 ^{ns}	0.057 ^{ns}	0.0003*
خطای آزمایشی	22	2.02	2.13	0.0001	0.123	0.020	0.024	0.163	46.94	0.163	0.0001
ضرریت تغییرات C.V		1.59	5.33	12.45	9.35	10.37	11.72	7.92	7.92	7.47	5.17

ns, * و **: به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

ns, * and **: no significant difference and significant difference at the probability level of 0.05 and 0.01, respectively.

جدول ۳) تاثیر نانوذرات مس بر صفات رشدی گیاه تره ایرانی تحت تاثیر تنش شوری
 Table 3) Effect of copper nanoparticles on growth characteristics of Persian leek under salinity stress

نانوذرات مس (میلی گرم در لیتر) NP-Cu (mg/L)	شوری (میلی مولار) Salinity (mM)	قطر ساقه (میلی متر) Stem diameter (mm)	قطر پیاز (میلی متر) Onion diameter (mm)	وزن تر اندام هوایی (گرم) Shoot Fresh weight (gr)	وزن خشک اندام هوایی (گرم) Shoot Dry weight (gr)	وزن تر پیاز (گرم) Fresh weight of onion (gr)	وزن خشک پیاز (گرم) Dry weight of onion (gr)	طول ریشه (سانتی متر) Root length (cm)	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (gr)	شاخص مقاومت به تنش (درصد) STI (%)	محتوای نسبی آب (%) Relative water content (%)	اسکوربات پراکسیداز (میکرومولر بر دقیقه بر گرم وزن تر) Ascorbate peroxidase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$)
0	0	7.73a	12.84a	74.66a	5.804a	13.80a	2.912a	20.07ef	8.466a	100a	90a	0.1514g
	150	6.28bc	10.82e	72.51b	5.384b	12.84b	2.707ab	21.43bcd	7.977a	94b	87bcd	0.2036e
	300	6.40b	11.81b	68.68c	5.476ab	12.57bc	2.539bc	20.53def	7.428b	90c	88bc	0.2193de
50	0	5.13ef	10.74e	39.02f	3.107d	11.59d	2.398cde	20.53def	4.973e	61f	85def	0.1770f
	150	5.87d	11.09cd	45.36d	3.753c	12.29bcd	2.598bc	19.60f	6.429c	74d	89ab	0.2082e
	300	5.95cd	11.26c	43.33e	3.443cd	11.81cd	2.447cd	20.40ef	5.907d	69e	87cd	0.2621b
100	0	6.38b	9.51h	24.44h	2.126g	9.55ef	2.082fg	22.47a	3.963f	48h	84efg	0.1843f
	150	5.29e	10.39f	32.62g	2.638e	10.26e	2.398cde	20.27ef	4.944e	58f	86cde	0.2139e
	300	5.06ef	10.95de	33.38g	2.421ef	10.03e	2.227def	21.70bc	4.705e	54g	83fg	0.2345cd
150	0	4.50g	8.67j	17.69j	1.980g	8.98f	1.957g	22.07ab	3.148g	41i	81h	0.2167e
	150	4.82fg	9.17i	25.24h	2.660e	10.11e	2.470bcd	20.97cde	3.989f	53g	83fg	0.2445c
	300	5.38e	10.13g	22.55i	2.131fg	9.45ef	2.163efg	19.80f	3.663f	46h	82gh	0.2924a

حروف مختلف بر اساس آزمون LSD، اختلاف در سطح ۹۵ درصد را نشان می دهند.
 Different letters show significant difference at 95% based on LSD test

جدول ۴) تاثیر تنش شوری بر ویژگی های مورفوفیزیولوژیکی گیاه تره ایرانی
 Table 4) Effect of salinity stress on the morphophysiological characteristics of Persian leek

شوری (میلی مولار) Salinity (mM)	ارتفاع گیاه (سانتی متر) Plant height (cm)	تعداد برگ number of leaves	حجم ریشه (سانتی متر مکعب) Root volume (cm ³)	وزن تر ریشه (گرم) Root fresh weight (gr)	نسبت اندام هوایی به اندام زیرزمینی Shoot/root ratio	درصد ماده خشک percentage of dry matter	نسبت الکترولیت (درصد) Electrolyte leakage (%)	مالون دی آلدئید (میلی گرم بر گرم وزن تر) MDA ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر) Chlorophyll a ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر) Chlorophyll b ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	کلروفیل کل Total chlorophyll ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	شاخص شاد کروفیل (درصد) CSI (%)	اسکوربات پراکسیداز (میکرومولر بر دقیقه بر گرم وزن تر) Peroxidase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$)	
0	58.7a	6.22a	73.44a	68.06a	0.522a	10.60c	22c	0.0374d	4.704a	1.885a	1.715a	6.589a	111a	3.576c
50	51.5b	4.56b	56.2b	62.81b	0.417b	9.95d	22c	0.0671c	3.468b	1.302b	1.270b	4.770b	81b	4.226b
100	47.2c	4.67b	36.11c	35.78c	0.353c	12.1b	26b	0.0896b	3.454b	1.257b	1.214bc	4.711b	80b	4.213b
150	44.2d	4.22b	22.1d	24.520d	0.389b	14.46a	34a	0.1350a	3.306b	0.979c	1.110c	4.286c	73c	5.026a

حروف مختلف بر اساس آزمون LSD، اختلاف در سطح ۹۵ درصد را نشان می دهند.
 Different letters show significant difference at 95% based on LSD test.

جدول ۵) تاثیر نانوذرات مس بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه تره ایرانی

Table 5) Effect of copper nanoparticles on the morphophysiological characteristics of Persian leek

پراکسیداز (میکرومولار بر دقیقه بر گرم وزن تر) Peroxidase ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$)	شاخص نبات کلروفیل (درصد) SCI (%)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر) Total chlorophyll ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر) Carotenoid ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر) Chlorophyll b ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر) Chlorophyll a ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	مالون دی‌آلدئید (میلی گرم بر گرم وزن تر) MDA ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	نشت الکترولیت (درصد) Electrolyte leakage (%)	وزن تر ریشه (گرم) Root fresh weight (gr)	حجم ریشه (متر مکعب) Root volume (cm^3)	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر) Plant height (cm)	نانوذرات مس (میلی گرم در لیتر) NP-Cu (mg/L)
3.423c	75c	4.408c	1.107c	1.201c	3.207c	0.0927a	28a	50.269a	49.17a	46.83a	0
4.998a	101a	5.965a	1.549a	1.544a	4.421a	0.0746b	23c	45.448b	44.67b	50.81b	150
4.360b	83b	4.894b	1.326b	1.323b	3.571b	0.0795b	26b	47.662c	47.08c	53.54c	300

حروف مختلف بر اساس آزمون LSD، اختلاف در سطح ۹۵ درصد را نشان می‌دهند.
Different letters show significant difference at 95% based on LSD test.

نتایج پژوهش اکبری و همکاران (Akbari et al., 2011) نشان داد که با افزایش غلظت شوری ناشی از کلرید سدیم، از ارتفاع گیاه و تعداد برگ گیاه تره ایرانی کاسته شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. جلوگیری از رشد گیاه تحت تنش شوری می‌تواند به دلیل کاهش تقسیم سلولی، عدم تعادل یونی، کاهش جذب آب (افزایش تنش اسمزی)، اختلال در جذب عناصر، تاثیر یون‌های سمی به ویژه سدیم و کلر، اختلال در جذب، احیا و متابولیسم نیتروژن و پروتئین، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش کارایی فتوسنتز باشد (Raza et al., 2022). کاهش پتانسیل آب مانع از تقسیم سلولی، رشد اندام‌ها، فتوسنتز و تولید پروتئین می‌شود و تعادل هورمونی بافت‌های اساسی گیاه را تغییر می‌دهد و با افزایش غلظت املاح، فشار اسمزی محلول خاک زیاد شده، در نتیجه مقدار انرژی که گیاه باید صرف جذب آب از خاک کند افزایش می‌یابد که این خود باعث افزایش تنفس و کاهش ارتفاع و عملکرد گیاه می‌شود (Raza et al., 2022). از طرفی دیگر کاهش سطح برگ نیز در شرایط تنش شوری در نتیجه کاهش اندازه و تعداد سلول‌ها اتفاق می‌افتد منجر به کاهش سطوح تعرق‌کننده شده که در حفظ تعادل آبی گیاه نقش به‌سزایی دارد (Osakabe et al., 2014). در سطوح شوری بالا، برگ‌ها کوچک‌تر و ضخیم‌تر می‌شوند که این تغییرات ناشی از محدود شدن گسترش سلولی به دلیل کاهش فشار آماس و تنش ثانویه اسمزی است (Jampeetonga and Brix, 2009; Croser et al., 2001). همچنین کاهش سطح برگ در اعمال شوری می‌تواند به دلیل کاهش مواد فتوسنتزی جهت رشد و توسعه سلول‌های برگ باشد (Betran et al., 2003).

نتایج پژوهش روی گیاه گوجه فرنگی (Pérez-Labrada et al., 2019; Hernandez-Hernandez et al., 2018) نشان داده است که کاربرد نانوذرات مس باعث افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه و تعداد برگ در گیاهان تحت تنش شوری شد که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. سیگنالینگ هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در تعدیل گیاه و پاسخ به سازگاری تنش خشکی و شوری دارد. اکسین در تنظیم شوری گیاهان و واکنش تطبیقی تنش خشکی بسیار مهم است و به‌عنوان یک پیام‌رسان شیمیایی، بیان ژن را از طریق خانواده‌ای از فاکتورهای رونویسی (فاکتورهای پاسخ اکسین (ARFs) متصل شونده به DNA) متمایز از نظر عملکردی، تحت تأثیر قرار می‌دهد. از طرفی فاکتورهای پاسخ اکسین (ARFs) نقش مهمی در ایجاد پاسخ‌های اکسین دارند و چندین فرآیند بیولوژیکی مانند قطبیت اندام، گسترش برگ، پیری، رشد ریشه، رشد گل و رشد میوه را تنظیم می‌کند. بنابراین عنصر مس با تنظیم و تعدیل اکسین بر رشد و نمو گیاه تاثیر می‌گذارد (Raza et al., 2022). همچنین مس با تأثیر بر متابولیسم نیتروژن و در نتیجه با تولید اسید آمینه تریپتوفان و تولید اکسین باعث افزایش ارتفاع گیاه می‌شود (Hernandez-Hernandez et al., 2018).

اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر وزن تر و خشک اندام هوایی تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد که وزن تر و خشک اندام هوایی با افزایش سطح تنش شوری کاهش یافت و در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب در وزن تر و خشک اندام هوایی کاهش ۷۶/۳۰ و ۶۶ درصد مشاهده شد. کاربرد نانوذرات مس در سطح بدون شوری کلرید سدیم کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی را نشان داد، اما هر سه سطح شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی شد. در بین غلظت‌های استفاده شده نیز غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نیز تاثیر بیشتری در افزایش شاخص‌های فوق داشت. به‌طور کلی، تیمار شاهد بیشترین وزن تر (۷۴/۶۶ گرم) و خشک (۵/۸ گرم) اندام هوایی را نشان داد. تیمار تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات نیز کمترین وزن تر (۱۷/۶۹ گرم) و خشک (۱/۹۷ گرم) اندام هوایی را داشت (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس بر وزن تر و خشک پیاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد وزن تر و خشک پیاز گیاه تره ایرانی با اعمال تنش شوری کاهش نشان داد به طوری که در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب کاهش ۳۵ و ۳۲/۹۸ درصدی

در وزن تر و خشک پیاز گیاه تره ایرانی مشاهده شد. کاربرد نانوذرات مس نیز در سطح بدون تنش شوری منجر به کاهش وزن تر و خشک پیاز شد. با این حال، استفاده از نانوذرات به خصوص در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در سطوح مختلف شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش شاخص‌های مورد نظر شد. در بین تیمارهای آزمایشی، تیمار شاهد بیشترین وزن تر (۱۳/۸ گرم) و خشک (۲/۹۱۲ گرم) پیاز را نشان داد. سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات نیز کمترین مقدار وزن تر (۸/۹۷۷ گرم) و خشک (۱/۹۵۷ گرم) ریشه را ثبت کرد (جدول ۳).

نتایج پژوهش وجودی مهرابی و همکاران (Vojodi Mehrabani *et al.*, 2018) روی تره ایرانی نیز نشان داد تنش شوری موجب کاهش زیست توده گیاه تره ایرانی شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. کاهش وزن تر اندام در هنگام تنش شوری به علت افزایش غلظت نمک‌های محلول محیط رشد ریشه می‌باشد که سبب منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محیط و در نتیجه کاهش جذب آب شده که در نهایت منجر به کاهش سطح سطح برگ، سرعت فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای می‌شود (Raza *et al.*, 2022). از دیگر دلایل کاهش رشد و نمو گیاه تحت تنش شوری، افزایش مصرف انرژی در گیاه به منظور خروج یون‌های سدیم است (Arvin, 2015). نتایج نشان کاربرد نانوذرات مس، اثر منفی تنش شوری را بهبود بخشید و سبب افزایش وزن تر و خشک بوته و پیاز شد. نومان و همکاران (Noman *et al.*, 2021) روی گیاه ذرت و وجودی مهرابی و همکاران (Vojodi Mehrabani *et al.*, 2018) روی گیاه تره ایرانی گزارش کردند کاربرد نانوذرات مس باعث افزایش زیست توده گیاهان (وزن تر شاخساره) تحت شرایط تنش شوری شده است که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. عوامل متعددی مانند کاهش فتوسنتز، تخریب غشای سلولی، کاهش آب در دسترس گیاهان و تجمع Na^+ در برگ‌ها از عوامل اصلی کاهش وزن در شرایط شوری است، که این افزایش رشد ناشی از کاربرد نانوذرات مس می‌تواند به دلیل تنظیم مثبت تنش اکسیداتیو و تنش یونی ناشی از شوری باشد (Choudhary *et al.*, 2017). بنابراین نانوذرات مس با افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌های سلولی (آنزیمی و غیرآنزیمی) باعث غریبال گونه‌های فعال اکسیژن شده و در نتیجه تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهند (Noman *et al.*, 2021).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش شوری و نانو ذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر وزن تر ریشه و نسبت اندام هوایی به اندام زیرزمینی تاثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر ساده نشان داد وزن تر ریشه با افزایش سطح تنش شوری کاهش پیدا کرد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار باعث کاهش ۶۳/۹۷ درصدی در وزن تر ریشه در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۲). محلول پاشی نانوذرات مس موجب افزایش وزن تر ریشه نسبت به شاهد شد و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر عملکرد بهتری (۱۰/۶ درصد افزایش در مقایسه تیمار شاهد) به همراه داشت (جدول ۵). همچنین نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر وزن خشک ریشه گیاه تره ایرانی معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، وزن خشک ریشه گیاه تره ایرانی با افزایش سطح تنش شوری کاهش پیدا کرد، به طوری که در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری کلرید سدیم کاهش ۶۲/۸۸ درصدی نسبت به تیمار شاهد نشان داد. کاربرد نانوذرات مس در سطوح تنش شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) موجب افزایش وزن خشک ریشه شد. اما در سطح شاهد (بدون تنش شوری) کاهش شاخص مذکور را نشان داد. غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات مس نیز در سطوح مختلف تاثیر به نسبت بهتری روی افزایش وزن خشک ریشه نشان داد هر چند در سطوح شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار، اختلاف معنی‌داری با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نشان نداد. در مجموع بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار شاهد (۸/۴۶ گرم) و کمترین مقدار آن در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و عدم محلول پاشی نانوذرات مس (۳/۱۴ گرم) به دست آمد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد تنش شوری باعث کاهش نسبت اندام هوایی

به اندام زیرزمینی شد و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار، کاهش ۲۴/۴ درصدی در شاخص مذکور در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر طول ریشه گیاه تره ایرانی تاثیر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری طول ریشه افزایش یافت و در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۱۱/۹۶ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد شد. محلول پاشی نانوذرات مس در سطح بدون تنش باعث افزایش طول ریشه شد اما در سطوح تنش شوری کلرید سدیم (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) باعث کاهش طول ریشه در گیاه تره فرنگی شد. در مجموع تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات بیشترین طول ریشه (۲۲/۴۶ سانتی‌متر) را نشان داد. همچنین غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات در سطوح تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیز کمترین (به ترتیب ۱۹/۶ و ۱۹/۸ سانتی‌متر) مقدار شاخص مذکور را ثبت کردند (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش شوری و نانو ذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر حجم ریشه تاثیر معنی‌داری داشت ولی اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش سطح شوری کلرید سدیم به شدت از حجم ریشه کاسته شد به طوری که در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری، کاهش ۶۹/۸۹ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد (جدول ۴). با این وجود، کاربرد نانوذرات مس موجب افزایش حجم ریشه نسبت به تیمار شاهد شد و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر عملکرد بهتری (۱۰ درصد افزایش در مقایسه با تیمار شاهد) نشان داد (جدول ۵).

افزایش رشد ریشه گیاهان مختلف از جمله تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* var. *porrum* Gay) (Vojodi et al., 2018) با کاربرد نانوذرات مس گزارش شده است. ریشه وظیفه جذب آب و مواد غذایی را بر عهده دارد و تنش شوری از ناحیه ریشه به گیاه وارد می‌شود، بنابراین ریشه اولین اندامی است که با تنش شوری مواجه می‌شود و با توجه به تنظیم اسمزی و شیوه‌های اجتنابی که در جهت کاهش اثر شوری انجام می‌دهد. ریشه مقدار زیادی انرژی از اندام‌های هوایی دریافت می‌کند که صرف مقابله با تنش شوری می‌نماید، این عمل باعث کاهش کارایی ریشه در تأمین عناصر غذایی و آب برای سایر اندام‌ها می‌شود. مجموع این عوامل کاهش رشد ریشه را به دنبال خواهد داشت (Raza et al., 2022). کاهش طول ریشه و اندام هوایی نیز در شرایط تنش اسمزی، می‌تواند به علت کاهش جذب آب، ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و همچنین اختلال در فتوسنتز و رشد ریشه و اندام هوایی باشد. در شرایط تنش، مقدار پروتئین‌های دیواره سلولی که در طول شدن و رشد سلول نقش دارند کاهش یافته و در نتیجه موجب کاهش طول ریشه‌چه و اندام هوایی می‌گردد (Zhang et al., 2014). همچنین در دراز مدت، به دلیل سمیت یونی ناشی از تجمع بیش از حد نمک‌ها در سیتوپلاسم، واکوئل‌ها قادر به حذف نمک اضافی نخواهند. سمیت سدیمی نیز باعث جذب بیشتر یون شده و pH ریزوسفر را به دلیل کربنات‌ها و بی‌کربنات‌هایی که مانع جذب مواد مغذی می‌شوند، افزایش می‌دهد. تحت چنین شرایط شوری، رشد ریشه به شدت کاهش می‌یابد و رشد اندام هوایی متوقف می‌شود (Raza et al., 2022). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش شوری و نانو ذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر درصد ماده خشک تاثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس بر آنها معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد درصد ماده خشک گیاهی با اعمال تنش شوری افزایش یافت و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم افزایش ۳۶/۴ درصد در شاخص مذکور شد (جدول ۴).

افزایش تولید ماده خشک تابع وجود آب قابل وصول در محیط ریشه و در نتیجه انتقال عناصر غذایی لازم از ریشه به برگ‌ها و در نهایت بهبود فتوسنتز در شرایط بهینه است. یکی از اثرات تنش شوری، محدودیت میزان توسعه‌ی برگ و کاهش میزان رشد برگ‌ها به دلیل کم شدن میزان تقسیم سلولی و یا کاهش طول شدن سلول‌هاست که می‌تواند

تجمع ماده خشک و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Gorgini Shabankareh *et al.*, 2021; Kapoor *et al.*, 2020). مطالعات افزایش (Fattahi *et al.*, 2021) و کاهش (Nabati *et al.*, 2012) درصد ماده خشک گیاهی در گونه‌های مختلف گیاهی را در تنش شوری گزارش کردند. افزایش درصد ماده خشک در گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند به دلیل انباشت یونهای سمی در برگ باشد که منجر به انتقال آب به طرف برگ‌ها جهت حفظ تعادل اسمزی و عدم آسیب به سلول می‌شود (Abdel-Salam *et al.*, 2018).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۲) که اثرات تنش شوری و نانوذرات مس و همچنین اثر متقابل آنها روی شاخص مقاومت به تنش معنی‌دار شده است. بررسی میانگین داده‌ها نشان داد اعمال تنش شوری باعث کاهش قابل توجهی در شاخص مقاومت به تنش در گیاهان تره ایرانی شد و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم کاهش ۵۹ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد. از طرفی دیگر در سطح غیر تنش کاربرد نانوذرات مس نیز باعث کاهش شاخص مقاومت به تنش در گیاهان تحت تیمار شد اما در سطوح تنش شوری مختلف استفاده از نانوذرات مس باعث افزایش در شاخص مورد نظر شد، به طوری که در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در سطح تنش ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم باعث افزایش ۱۲ درصدی در شاخص مقاومت به تنش نسبت به تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به نانوذره شد (جدول ۳).

تنش شوری از طریق اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی (تبادلات گازی و رفتار روزنه‌ای) و بیوشیمیایی گیاه و همچنین دفاع آنتی‌اکسیدانی در نتیجه تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن، مقاومت گیاهان را کاهش می‌دهد (Guzman and Marques, 2023; Acosta-Motos *et al.*, 2017). با این حال، تاثیر نانوذرات اکسید مس در افزایش مقاومت به تنش در گیاهان را می‌توان مرتبط با نقش این عنصر در بسیاری از آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز (Cu/Zn SOD)، سیتوکروم C اکسیداز، آمینو اکسیداز، پلاستوسیانین و پلی فنل اکسیداز و همچنین غریبال گونه‌های فعال اکسیژن با افزایش فعالیت برخی آنزیم‌ها از جمله سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز دانست (Tabatabaee *et al.*, 2021; Thounaojam *et al.*, 2012).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر محتوای نسبی آب برگ تاثیر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش سطح تنش شوری از محتوای نسبی آب کاسته شد و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کاهش ۱۰/۷۳ درصدی نسبت به تیمار شاهد نشان داد. کاربرد نانوذرات مس در سطح بدون تنش شوری، کاهش محتوای نسبی آب را نشان داد، اما در سطوح تنش شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ شد و در غلظت‌های استفاده شده غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، تاثیر بهتری در افزایش شاخص مربوطه به همراه داشت. بیشترین محتوای نسبی آب برگ در تیمار شاهد (۹۰/۹۱ درصد) و کمترین مقدار آن نیز در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات (۸۱/۱۵ درصد) به دست آمد (جدول ۳). بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید تاثیر معنی‌داری داشت، اما اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح شوری کلرید سدیم، میزان نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید نیز افزایش یافت، به طوری که در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بیشترین میزان نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید (به ترتیب ۵۴/۷۳ و ۲۶۴ درصد افزایش در مقایسه با تیمار شاهد) به دست آمد (جدول ۴). با این حال، محلول پاشی نانوذرات مس سبب کاهش نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید شد، هر چند با افزایش غلظت تاثیر کاهشی نشان داد، به طوری که در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کمترین درصد نشت الکترولیت و مقدار مالون دی‌آلدئید (به ترتیب ۱۶/۸ و ۲۹/۵ درصد کمتر از تیمار شاهد) را نشان داد (جدول ۵).

محتوای نسبی آب از چند طریق بر فیزیولوژی سلول از جمله تغییر در موقعیت‌های اندامک بین سلولی، کانال‌های انتقال مواد و بیوشیمی آنزیم‌ها مثل انقباض دیواره سلولی تأثیر می‌گذارد. واضح است که این تغییرات بر متابولیسم سلولی، از جمله فتوسنتز تأثیر می‌گذارد (Lawlor and Cornic, 2002). غلظت بالای سدیم در سلول‌های گیاهی با ایجاد اختلال در تعادل اسمزی و خشکی فیزیولوژیکی، مانع از جذب آب در گیاه می‌گردد و منفی‌تر شدن پتانسیل آب برگ را در پی دارد (Zhang *et al.*, 2014)، در نتیجه به واسطه‌ای اختلال در فرآیند انتقال الکترون در کلروپلاست و میتوکندری، مقادیر بالای از گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شود که باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع غشای لیبیدی و به دنبال آن تخریب تمامیت غشای سلولی می‌شود (Zhang *et al.*, 2014). در نتیجه این فرآیندها غلظت مالون دی‌آلدئید و نشت یونی افزایش یافته و محتوای نسبی آب کاهش می‌یابد. نتایج پژوهش اکبری و همکاران (Akbari *et al.*, 2011) روی تره ایرانی نشان داد که تنش شوری موجب افزایش محتوای نسبی آب تره ایرانی شد که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت. وجودی مهربانی و همکاران (Vojodi Mehrabani *et al.*, 2017) در بررسی تأثیر تنش شوری (صفر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) روی گیاه تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* L.) گزارش کردند با افزایش سطح تنش شوری تجمع یون سدیم، نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید در گیاهان افزایش یافت و در غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین مقادیر شاخص‌های مذکور را نشان داد. مطالعات روی ذرت (Noman *et al.*, 2021) و رزماری (Hejazi *et al.*, 2012) نشان داد که کاربرد نانوذرات مس باعث کاهش نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید و افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاهان تحت تنش شوری شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. تحقیقات نشان داده است عنصر مس به دلیل شرکت در ساختار برخی آنزیم‌ها از جمله پلی فنل اکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز Zn/Cu و آسکوربات اکسیداز باعث افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شده و باعث حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود در نتیجه بهبود محتوای نسبی آب برگ و کاهش نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید را به همراه دارد (Raza *et al.*, 2022; Siddiqi *et al.*, 2020).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کلروفیل کل و شاخص ثبات کلروفیل تأثیر معنی‌داری داشت ولی اثر متقابل تنش شوری و نانو ذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش سطح تنش شوری کلرید سدیم از مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل کاسته شد به طوری که تنش ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب باعث کاهش ۲۹/۷۸، ۴۷/۸۷، ۳۵/۴۶ و ۳۴/۹۰ درصدی در مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل شد (جدول ۴). کاربرد نانوذرات مس موجب افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی شد و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب سبب ۳۸/۱۲، ۲۸/۳۳، ۴۰/۹۰ و ۳۵/۶۸ درصد افزایش در مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل شد (جدول ۵). همچنین نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد شاخص ثبات کلروفیل با افزایش سطح تنش شوری کاهش یافت و سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار باعث کاهش ۵۰ درصدی در شاخص مذکور شد (جدول ۴). با این حال، کاربرد نانوذرات مس، افزایش شاخص ثبات کلروفیل را به دنبال داشت و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش ۳۴/۶ درصد در شاخص مربوطه شد (جدول ۵).

کلروفیل برگ یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های فیزیولوژیکی می‌باشد که نشان‌دهنده شرایط مطلوب گیاه بوده که به آب قابل دسترس گیاه و سطح تغذیه بستگی دارد (Farouk and Al-Amri, 2019). تحقیقات روی گیاهان تره ایرانی کاهش محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل را تحت شرایط تنش شوری گزارش کرده‌اند (Vojodi Mehrabani *et al.*, 2011; Akbari *et al.*, 2018)، که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش، می‌تواند به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، اکسیداسیون نوری کلروفیل‌ها، واکنش

آن‌ها با اکسیژن یکتایی، تخریب پیش ماده‌های سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه کننده کلروفیل از جمله کلروفیل‌از و اختلالات هورمونی باشد (Farouk and Al-Amir, 2019). تنش شوری با افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیکی مانند کلروفیل‌از، جایگزینی یون منیزیم موجود در ساختار کلروفیل با یون سدیم و کلر، کاهش آمینولولینیک اسید سنتتاز و رویسکو، رشد گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Radi *et al.*, 2013). نتایج پژوهش هرماندز-هرماندز و همکاران (Hernandez-Hernandez *et al.*, 2018) روی گوجه فرنگی نشان داد استفاده از نانوذرات مس باعث افزایش غلظت کلروفیل در گیاهان تحت تنش شوری شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. با این وجود، پرز-لابرادا و همکاران (Pérez-Labrada *et al.*, 2019) روی گیاه گوجه فرنگی نشان داد که کاربرد نانوذرات مس باعث کاهش کلروفیل a، b، کلروفیل کل تحت تنش شوری شد. مطالعات نشان داده است، عنصر مس به دلیل نقش موثری که در تولید تعداد زیادی از آنزیم‌ها دارد عملکردهای متابولیکی متفاوتی در گیاه می‌تواند داشته باشد. هر چند غلظت بالای این عنصر اثر منفی بر رشد گیاه دارد (Siddiqi *et al.*, 2020).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز تاثیر معنی‌داری داشت ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). بررسی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تاثیر تنش شوری کلرید سدیم افزایش شد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بیشترین (۴۰/۵۰ درصد افزایش در مقایسه با تیمار شاهد) میزان فعالیت آنزیم مربوطه را نشان داد (جدول ۴). محلول پاشی نانوذرات مس نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد شد و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بالاترین (۱۶/۶ درصد افزایش در مقایسه با تیمار شاهد) فعالیت آنزیم ثبت شد (جدول ۵). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تاثیر معنی‌داری داشتند (جدول ۱). بررسی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش سطح تنش شوری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به طور قابل توجهی افزایش یافت و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، افزایش ۳۴ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد. کاربرد نانوذرات مس در سطوح مختلف شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد، به طوری که در سطح تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش ۹۳/۳۷ درصد در فعالیت آنزیم مذکور در مقایسه با تیمار شاهد (بدون شوری و نانوذرات) شد (جدول ۳).

به طور کلی در شرایط تنش شوری، رونویسی از برخی ژن‌های مرتبط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوکاتایون ردوکتاز یا آسکوربات پراکسیداز برای بهبود وضعیت گیاه در چنین شرایطی، افزایش پیدا می‌کند که نقش مهمی در کاهش گونه‌های اکسیژن فعال و آسیب‌های ناشی از آن را ایفا می‌کند (Raza *et al.*, 2022). با توجه به سمیت پراکسید هیدروژن برای سلول‌های گیاهی از جمله کلروپلاست و حضور کاتالاز در پراکسی‌زوم‌ها، فعالیت آنزیم پراکسید آسکوربات پراکسیداز می‌تواند نقش مهمی در غربال پراکسید هیدروژن داشته باشد. در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری افزایش یافت. تنش شوری باعث تجمع گونه‌های اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در سلول‌های گیاهی می‌شود. متابولیسم H_2O_2 وابسته به عملکرد آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در سلول‌های گیاهی است (Siddiqi *et al.*, 2020). محلول پاشی نانوذرات مس باعث افزایش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شد. در تحقیقات گذشته نیز افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی از جمله پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان ذرت (Noman *et al.*, 2021) و گوجه فرنگی (Pérez-Labrada *et al.*, 2019) تحت شرایط تنش شوری گزارش شده است که با نتایج ما همخوانی دارد. کاربرد نانوذرات مس موجب تولید سریع‌تر و کارآمدتر

گونه‌های اکسیژن فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود، زیرا توسط فضاهای متخلخل جذب شده و از دیواره سلولی عبور می‌کنند. پس از ورود به داخل سلول، نانوذرات (با بار منفی) به قسمت بیرونی غشای سلولی (بارهای مثبت غشا) طی برهمکنش الکترواستاتیکی متصل می‌شوند. در نهایت، نانوذرات توسط پتانسیل غشای پلاسمایی در سیتوسل، پلاستیدها، واکوئل یا هسته پخش می‌شود (Da Costa and Sharma, 2016). بنابراین ورود نانوذرات باعث تنش اکسیداتیو می‌شود که در نتیجه مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی فعال می‌شوند و تحمل گیاه را به تنش شوری افزایش می‌دهند (Da Costa and Sharma, 2016). از طرفی دیگر پراکسید هیدروژن، گونه‌ای فعال اکسیژن تولید شده در پاسخ به شرایط تنش است که از کاتالیز رادیکال آزاد سوپراکسید به وسیله فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تولید شده و در نهایت توسط برخی آنزیم‌ها از جمله کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به آب و اکسیژن تجزیه می‌شود (Noman et al., 2021). در کل پاسخ گیاهان به شوری شامل تعدیل هموستاز یونی، القای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و بیوسنتز فیتوهورمون‌های متعدد و محافظ‌کننده‌های اسمزی برای در برابر تنش اسمزی با کاهش سمیت یونی و افزایش مهار گونه‌های اکسیژن فعال است. از آنجایی که اکثر گیاهان به شوری حساس هستند، بهبود تحمل به نمک از طریق تعدیل کننده‌های تنش در حفظ بهرموری کشاورزی جهانی بسیار مهم است (Raza et al., 2022).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که افزایش تنش شوری با افزایش نشت الکتروولت و کاهش محتوای نسبی آب برگ باعث کاهش رشد گیاه تره فرنگی شد. هر چند درصد ماده خشک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را اندکی افزایش داد. اگرچه اثرات نانوذرات مس در گیاهان شاهد (سطح بدون تنش) مثبت نبود، اما تحت شرایط تنش و به خصوص در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و بهبود روابط آبی گیاه، مقاومت گیاهان به تنش شوری را افزایش و تاثیر منفی تنش روی شاخص‌های مورفوفیزیولوژی (قطر پیاز، وزن تر و خشک اندام هوایی و پیاز) گیاه تره ایرانی را کاهش داد. بنابراین کاربرد نانوذرات مس زمانی که گیاه در معرض انواع تنش‌های مختلف قرار می‌گیرد، شایسته توجه بیشتری است.

منابع

1. Abdelraheem, A., Esmacili, N., O'Connell, M., & Zhang, J. (2019). Progress and perspective on drought and salt stress tolerance in cotton. *Industrial Crops and Products*, 130, 118-129. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.070>
2. Abdel-Salam, E., Alatar, A., & El-Sheikh, M. A. (2018). Inoculation with arbuscular mycorrhiza fungi alleviates harmful effects of drought stress on damask rose. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25, 1772-1780. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.10.015>
3. Acosta-Motos, J. R., Maria Fernanda, O., Agustin, B., Pedro D.V., Maria, J.B., & Jose Antonio H. (2017). Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy* 7(1): 18. doi:10.3390/agronomy7010018
4. Akbari, S., Dashti, F., & Gholami, M. (2011). Effect of salinity stress on performance and some biochemical and physiological characteristics of Iranian leek. *7th Congress of Iranian Horticultural Science, Isfahan*. (In Persian). <https://civilica.com/doc/174155>
5. Arvin, P. (2015). Effect of gibberellin on some morphological traits, photosynthetic pigments content and proline in savory (*Satureja hortensis* L.) under salinity stress conditions. *Journal of Agricultural Research*, 7(2), 90-104.
6. Betran, F.J., Beck, D., Banziger, M., & Edmeades, G.O. (2003). Secondary traits in parental inbreeds and hybrids under stress and nonstress environments in tropical maize. *Field Crops Research*, 83, 51-65. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00061-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00061-3)
7. Choudhary, R. C., Kumaraswamy, R. V., Kumari, S., Sharma, S. S., Pal, A., Raliya, R., & Saharan, V. (2017). Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (*Zea mays* L.). *Scientific reports*, 7(1), 9754. DOI <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08571-0>

8. Croser, C., Renault, S., Franklin, J., & Zwiazek, J. (2001). The effect of salinity on the emergence and seedling growth of *Picea morian*, *Picea glausa* and *Pinus banksiana*. *Environmental Pollution*, 115, 6-16. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00097-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00097-5)
9. Da Costa, M. V. J., & Sharma, P. K. (2016). Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*. *Photosynthetica*, 54, 110-119. DOI <https://doi.org/10.1007/s11099-015-0167-5>
10. Della Maggiora, L., Francini, A., & Giovannelli, A. (2023). Assessment of the salinity tolerance, response mechanisms and nutritional imbalance to heterogeneous salt supply in *Populus alba* L. clone 'Marte' using a split-root system. *Plant Growth Regul*, 101, 251–265. <https://doi.org/10.1007/s10725-023-01017-w>
11. Farouk, S., & Al-Amri, S.M. (2019). Ameliorative roles of melatonin and/or zeolite on chromium-induced leaf senescence in marjoram plants by activating antioxidant defense, osmolyte accumulation, and ultrastructural modification. *Industrial Crops and Products*, 142, 111823. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111823>
12. Fattahi, M., Mohammadkhani, A., Shiran, B., Baninasab, B., & Ravash, R. (2021). Investigation of Phosphorus Use Efficiency and Drought and Salinity Stress Resistance Index in Pistachio Rootstocks Coexisted with *Mycorrhiza Arbuscular*. *Plant Productions*, 44(4), 587-600. <https://doi.org/10.22055/ppd.2020.33219.1894> (In Persian with English abstract).
13. Fischer, R.A. & Maurer, R. (1998). Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29: 897-912 <https://doi.org/10.1071/AR9780897>
14. Gholamzadeh Alam, A., Mousavi-Fard, S., & Rezaei Nejad, A. (2022). Morphological and physiological characteristics for evaluation of salicylic acid effects on *Celosia argentea* L. under salinity stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 12(1), 4027-4037. doi: 10.30495/ijpp.2022.689078
15. Gorgini Shabankareh, H., Khorasaninejad, S., & Soltanloo, H. (2021). Physiological response and secondary metabolites of three lavender genotypes under water deficit. *Scientific reports*, 11, 1, 19164. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98750-x>
16. Guzman, M.R., & I. Marques. (2023). Effects of salinity on edible marigold flowers (*Tagetes patula* L.). *Biology Life Science Forum*, 27, 38. <https://doi.org/10.3390/IECAG2023-15986>
17. Hejazi, M. M., Shariatmadari, H., Khoshgoftarmansh, A. H., & Dehghani, F. (2012). Copper effects on growth, lipid peroxidation, and total phenolic content of rosemary leaves under salinity stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14, 205-212.
18. Hernandez-Hernandez, H., Juárez-Maldonado, A., Benavides-Mendoza, A., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Sánchez-Aspeytia, D., & González-Morales, S. (2018). Chitosan-PVA and copper nanoparticles improve growth and overexpress the SOD and JA genes in tomato plants under salt stress. *Agronomy*, 8(9), 175. <https://doi.org/10.3390/agronomy8090175>
19. Jampeetonga, A., & Brix, H. (2009). Effects of NaCl salinity on growth, morphology, photosynthesis and proline accumulation of *Salvinia natans*. *Aquatic Botany*, 3, 181- 186. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2009.05.003>
20. Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M., & Sharma, A. (2020). The impact of drought in plant metabolism: how to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. *Applied sciences*, 10, 5692. <https://doi.org/10.3390/app10165692>
21. Lawlor D.W., & Cornic G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environment*, 25, 275–294. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x>
22. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophyll and carotenoids—pigments of photosynthetic biomembrances za Colowick SP, *Kaplan NO Methods in Enzymology*, Vol. 148.
23. Lutts, S., Kinet, J. M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of botany*, 78(3), 389-398. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134>
24. MacAdam, J. W., Nelson, C. J., & Sharp, R. E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3), 872-878. <https://doi.org/10.1104/pp.99.3.872>
25. Nabati, J., Kafi, M., Nezami, A., Rezvani Moghaddam, P., Masoumi, A., & Zare Mehrjerdi, M. (2012). Evaluation of quantitative and qualitative characteristic of forage kochia in different growth under salinity stress. *Journal of Crop Production*, 5(2), 111-128. 20.1001.1.2008739.1391.5.2.7.8 (In Persian with English abstract).

26. Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5), 867-880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
27. Noman, M., Ahmed, T., Shahid, M., Niazi, M. B. K., Qasim, M., Kouadri, F., & Ali, S. (2021). Biogenic copper nanoparticles produced by using the *Klebsiella pneumoniae* strain NST2 curtailed salt stress effects in maize by modulating the cellular oxidative repair mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 217, 112264. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112264>
28. Osakabe, Y., Yamaguchi- Shinozaki, K., Shinozaki, K., & Tran, L.S.P. (2014). ABA control of plant macroelement membrane transport systems in response to water deficit and high salinity. *New Phytologist*, 202(1), 35-49. <https://doi.org/10.1111/nph.12613>
29. Panahandeh, J. (2015). Meiosis in Persian Leek *Allium ampeloprasum* ssp. persicum. In *VII International Symposium on Edible Alliaceae* 1143, 23-26. 10.17660/ActaHortic.2016.1143.4
30. Pérez-Labrada, F., López-Vargas, E. R., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., & Juárez-Maldonado, A. (2019). Responses of tomato plants under saline stress to foliar application of copper nanoparticles. *Plants*, 8(6), 151. <https://doi.org/10.3390/plants8060151>
31. Radi, A. F. (2013). Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. *Journal of Biology and Earth Sciences* 3, 72-88.
32. Raza, A., Tabassum, J., Fakhar, A. Z., Sharif, R., Chen, H., Zhang, C., & Varshney, R. K. (2022). Smart reprogramming of plants against salinity stress using modern biotechnological tools. *Critical reviews in biotechnology*, 1-28. <https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2093695>
33. Ritchie, S. W., Nguyen, H. T., & Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas- exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop science*, 30(1), 105-111. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025>
34. Roozbahani, F., Mousavi-Fard, S., & Nejad, A.R. (2020). Effect of proline on some physiological and biochemical characteristics of two cultivars of *Impatiens walleriana* under salt stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(3). <https://doi.org/10.22059/ijhs.2019.279774.1632>
35. Safari, M., Mousavi-Fard, S., Rezaei Nejad, A., Sorkheh, K., & Sofo, A. (2022). Exogenous salicylic acid positively affects morpho-physiological and molecular responses of *Impatiens walleriana* plants grown under drought stress. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-03092-2>
36. Siddiqi, K. S., & Husen, A. (2020). Current status of plant metabolite-based fabrication of copper/copper oxide nanoparticles and their applications: a review. *Biomaterials Research*, 24(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s40824-020-00188-1>
37. Starman, T., & Lombardini, L. (2006). Growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence of four ornamental herbaceous perennials during water deficit conditions. *Journal American Horticultural Science*, 131(4):475.
38. Tabatabaee S., Iranbakhsh, A., Shamili, M., & Oraghi Ardebili Z. (2021). Copper nanoparticles mediated physiological changes and transcriptional variations in microRNA159 (miR159) and mevalonate kinase (MVK) in pepper; potential benefits and phytotoxicity assessment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5), 106151 <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106151>
39. Thounaojam, T. C., Panda, P., Mazumdar, P., Kumar, D., Sharma, G. D., Sahoo, L., & Sanjib, P. (2012). Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. *Plant physiology and biochemistry*, 53, 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.01.006>
40. Vinaya Rai, R.S., & Parthiban, K.T. (1995). Studies on the drought tolerance of Eucalyptus at seedling stage. *Journal Tropical For Science* 8(2), 155–160. <https://www.jstor.org/stable/43582472>
41. Vojodi Mehrabani, L., Valizadeh Kamran, R., Khurizadeh, S., & Seied Nezami, S. (2018). Response of coriander to salinity stress. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 8(2), 89-98. 10.22034/JPPB.2018.9804
42. Wang, F., Zeng, B., Sun, Z., & Zhu, C. (2009). Relationship between proline and Hg²⁺- induced oxidative stress in a tolerant rice mutant. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 56, 723-731. DOI <https://doi.org/10.1007/s00244-008-9226-2>
43. Zhang, H. Z. (2014). Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA4 interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, 57, 269-279. <https://doi.org/10.1111/jpi.12167>