تأثیر نانو ذرات نقره بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد اولیه دو گونه نعناع فلفلی و پونه در شرایط تنش شوری

منصوره قوام[1*]

[1]استادیار، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۰

چکیده

در طبیعت گیاهان در برابر نوسانات محیطی مختلفی از جمله شوری و خشکی قرار می‌گیرند که رشد آن‌ها را محدود می‌کند. جوانه‌زنی بذر به‌عنوان اساسی‌ترین مرحله تعیین‌کننده رشد گیاه است که به‌شدت تحت تأثیر عوامل محیطی به خصوص رطوبت و مواد محلول قرار می‌گیرد. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات نانو ذرات نقره بر شاخص‌های جوانه‌زنی دو گونه دارویی نعناع فلفلی و پونه انجام پذیرفت. آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل (گونه و نانو ذرات نقره) در ٤ تکرار در دانشگاه کاشان در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. تیمارهای شوری در چهار سطح (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl و تیمارهای نانو ذرات نقره با چهار غلظت (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد اثر متقابل برهمکنش گونه، تنش شوری و نانو ذرات بر طول ساقه‌چه و شاخص بنیه در سطح احتمال یک درصد و بر شاخص‌های دیگر در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. نانو ذرات نقره تأثیر افزاینده بر تمام صفات به غیر از شاخص بنیه بذر داشت که غلظت‌های ۳۰ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات بهترین عملکرد را داشتند. از این‌رو به جهت جلوگیری از افزایش ترکیبات نقره در خاک، که استفاده بیش از حد آن می‌تواند مشکلاتی را در آینده پدید آورد، غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر برای شوری‌های کمتر از ۱۰۰ میلی‌مولار قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: بذر، پونه، تنش شوری، گیاهان دارویی، نعناع فلفلی

*نویسنده مسئول: mghavam@kashanu.ac.ir

مقدمه

تنش‌های محیطی به‌طور کلی حدود ۷۱ درصد از عملکرد گیاهان زراعی را کاهش می‌دهند که در این میان افت عملکرد در اثر دمای بالا ۱۵ درصد، دمای پایین ٤٠ درصد، تنش خشکی ۱۷ درصد و تنش شوری ۲۰ درصد برآورد شده است (Ashraf and Harris, 2005).

کشور ایران پس از هند و پاکستان (Vashev et al., 2010)، با دارا بودن ٦/٨ میلیون هکتار از اراضی شور (Moameni, 2010) در صدر کشورهای در معرض تهدید از نظر تنش شوری محسوب می‌گردد. در حال حاضر سطح کل اراضی فاریاب ایران ۷/۳ میلیون هکتار و سطح کل اراضی زراعی مبتلا به درجات مختلف شوری خاک آب و یا هر دو، ۳/۵ میلیون هکتار برآورد شده است (Banaei et al., 2004).

جوانه‌زنی شامل انتقال مواد ذخیره‌ای به محور جنین و شروع فعالیت‌های متابولیک و رشد آن است. این مرحله از زندگی گیاهان زراعی نقش تعیین کننده‌ای در استقرار مناسب گیاه و عملکرد نهایی آن دارد (Alizadeh, 2005). براساس تحقیقات صورت گرفته بذوری که جوانه‌زنی مناسب‌تری داشته باشند، در مراحل بعدی رشد گیاهانی با بنیه بهتر و سیستم ریشه‌ای قوی‌تر تولید می‌کنند (Opoku et al., 1996).

جوانه‌زنی به‌شدت تحت تأثیر عوامل محیطی به خصوص رطوبت و مواد محلول قرار می‌گیرد (Soltani et al., 2006). کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در شرایط شوری ممکن است به خاطر پتانسیل اسمزی پایین و ممانعت از جذب آب، سمیت یون‌های سدیم و کلر و یا عدم تعادل عناصر غذایی می‌باشد (Lynch and Lauchli, 1988).

یکی از عوامل مهم در زراعت، به‌کارگیری روش‌هایی است که از طریق آن درصد جوانه‌زنی بذر و به‌طبع آن رشد گیاه افزایش یابد. این امر موجب افزایش تولید محصولات کشاورزی خواهد شد. در سال‌های اخیر تحقیقات متعددی، اثرات نانو ذرات را بر جوانه‌زنی و رشد گیاه به منظور کاربرد آن در تولید محصولات کشاورزی مورد مطالعه قرار داده است (Khoshkalam et al., 2015). نانو ذرات مجموعه‌های اتمی یا مولکولی با حداقل ابعاد بین ۱۰۰- ۱ نانومتر هستند که خواص فیزیکوشیمیایی متفاوتی در مقایسه با توده مواد خود دارند. نانو ذرات در سرعت جوانه‌زنی مؤثر بوده و رشد گیاه را افزایش می‌دهند. کلید افزایش سرعت جوانه‌زنی بذور توسط نانو ذرات در نفوذ این ذرات به داخل بذرهاست (Khot et al., 2012).

یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های گیاهی، خانواده نعناعیان می‌باشند که تنوع زیستی زیادی در سراسر جهان و مخصوصاً نواحی مدیترانه‌ای و مرطوب دارند. گیاهان متعلق به این خانواده گیاهی اهمیت زیادی از لحاظ کاربرد در صنایع آرایشی، غذایی و دارویی دارند (Zargari, 2014).

نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) هیبریدی است که از تلاقی بین گونه‌های *Mentha spicata* و *Mentha aquatic* به‌دست آمده است (Foster, 1996). ارتفاع این گیاه بسته به شرایط اقلیمی محل رویش متفاوت و بین ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر نوسان می‌کند (Omidbeygi, 2008) ساقه این گیاه، چهار گوش و به رنگ قرمز مایل به بنفش یا مایل به ارغوانی است و در محل هر یک از گره‌های آن دو برگ متقابل دیده می‌شود برگ‌های آن بیضی، متقابل، نوک تیز، دندانه‌دار، گل‌های این گیاه نامنظم، اکثراً دو جنس یا هرمافرودیت است (Zargari, 2014). نعناع فلفلی را در ایران نیز در اکثر نقاط می‌توان کشت کرد ولی مناطق بسیار سرد برای کشت این گیاه مناسب نیست (Omidbeygi, 2008).

پونه (*Menthe longifolia* L. Huds.) با نام مترادف *M. Sylvestris* دارای برگ‌های باریک و به شدت معطر و گل‌های ارغوانی است. یک گیاه چندساله ریزوم‌دار است. دارای ساقه‌های افراشته و گاهاً خمیده که در محل مقطع

مربعی و ارتفاع آن در مرحله بالغ به ۱/۵ متر می‌رسد. برگ‌ها ساده (Mohkami, 2012) و چسبیده (بدون پایه) به ساقه (Ghorbani et al., 2015)، گل‌ها :گلچه‌های کوچک با طول حدود۵-۳ میلی‌متر به رنگ سفید تا ارغوانی روشن، در دسته‌هایی که یک خوشه استوانه‌ای شکل به طول ۱۰۰ میلی‌متر و عرض ۱٤ میلی‌متر را تشکیل می‌دهند (Mohkami, 2012). این گیاه در اکثر نواحی ایران می‌روید. اساساً به‌صورت وحشی در مکان‌های مرطوب مانند حاشیه رودخانه‌ها روییده و در سراسر مناطق معتدله نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب غربی آسیا و استرالیا رشد می‌کند (Pajohi et al., 2011).

Razzaq et al. (2016)، اثر نانو ذره نقره بر روی جوانه‌زنی گیاه گندم را مورد بررسی قرار دادند. یافته‌ها نشان داد استفاده از نانو ذرات نقره یا بر روی جوانه‌زنی تأثیری نداشت و یا اینکه باعث کاهش شاخص جوانه‌زنی می‌گردد. لیکن ریشه‌ها به طور مشخصی در تیمارهای ۲۵ و۵۰ پی‌پی‌ام در مقایسه با شاهد افزایش نشان دادند. Salehi et al. (2010)، در بررسی پرایمینگ بذر بر جوانه‌زنی کلزا در مقایسه با نانو سیلور تحت تنش شوری نتایج حاکی از آن بود که نانوسیلور باعث بهبود رشد و استقرار گیاهچه شد. تیمار۲۰ پی پی ام بهترین تیمار بذری در محیط شور و غیر شور بود. Ekhtiari and Mohebi (2010)، اثر ذرات نانو نقره بر میزان تحمل به شوری گیاه زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) در مرحله جوانه‌زنی را مورد مطالعه قرار دادند. در پایان تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر ذرات نانو نقره برای سطوح مختلف شوری، سبب افزایش مقاومت به شوری شد. Ekhtiari et al. (2012)، در بررسی اثر ذرات نانو نقره بر میزان تحمل به شوری گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) دریافتند تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر ذرات نانو نقره برای سطوح مختلف شوری، بر شاخص‌های اندام هوایی و زمینی گیاه اثر معنی‌داری داشت و باعث افزایش مقاومت آن‌ها به شوری گردید. Sharif Rohani et al. (2014)، اثرات متقابل و اصلی تنش‌های شوری و خشکی بر روی گیاه دارویی نعناع فلفلی را مطالعه نمودند. با توجه به نتایج بدست آمده از این آزمایش، تنش خشکی به طور معنی‌داری درصد جوانه‌زنی را کاهش داد ولی تنش شوری تأثیر معنی‌داری روی درصد جوانه‌زنی نداشت. Aghajantabarali et al. (2014)، در پژوهش اثرات نانوذرات نقره بر جوانه‌زنی دو گونه مرتعی *Festuca ovina* و *Festuca arundinaceae* تحت تنش شوری نتایج نشان داد که اثرات ساده گونه، تنش شوری و نانو ذرات نقره و برهمکنش آن‌ها برای همه صفات مورد بررسی به جز طول ریشه‌چه در سطح یک درصد معنی‌دار بود. در مجموع استفاده از غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نقره باعث بهبود در مؤلفه‌های سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه و طول ساقه در مقایسه با تیمار شاهد در شرایط تنش شوری شد.

Ramezani et al. (2014)، در بررسی اثر نانوذرات نقره، روی، نیکل، روی – مس بر جوانه‌زنی، استقرار و فعالیت آنزیمی بذر گیاه یونجه (*Medicago sativa*) نشان دادند بیشترین کاهش در سرعت جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه به‌ترتیب در تیمار ٤۰ میلی‌گرم بر لیتر روی– مس و نقره مشاهده شد.

با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی در صنایع مختلف و همچنین کمبود منابع آب و فراوانی خاک شور و مناطق خشک در کشور، لازم است با اعمال تکنیک‌هایی روی بذر این گیاهان، مدیریت صحیحی در تولید و پرورش این گونه‌های ارزشمند و افزایش عملکرد آن‌ها بکار گرفته شود. پژوهش حاضر با هدف بررسی و کاربرد ذرات نانو نقره در افزایش یا بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی دو گونه ارزشمند دارویی جنس نعناع انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۳۹۵ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل (گونه و نانوذرات نقره) در ٤ تکرار در دانشگاه کاشان به اجرا در آمد. بذرهای گونه‌های جنس نعناع شامل گونه نعناع فلفلی نعناع فلفلی و پونه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت سه دقیقه به‌طور سطحی ضدعفونی و سپس با آب مقطر سه بار شستشو شدند. بعد از این کار با قرار دادن بذور در مجاورت هوای خشک رطوبت اولیه بذور به حالت طبیعی در آمد. همچنین ظروف پتری‌دیش مورد استفاده که به قطر ۸ سانتی‌متر بودند که پس از شستشو و ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در محلول هیپوکلریت سدیم و شستشوی مجدد با آب مقطر به مدت ۲ ساعت همراه با کاغذهای صافی در آون در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند.

- آماده‌سازی تیمارها

تیمار نانو

ابتدا محلول نانو ذره نقره با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام و اندازه ذرات ۲۰ نانومتر، از شرکت پیشگامان نانو مواد ایانیان خریداری شد. سپس با رقیق کردن محلول با آب مقطر ، تیمارهای آزمایش با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر ساخته شد

تیمار شوری

سطوح مختلف شوری شامل (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl) بودند که بر اساس روش تغییر داده شده (Leland et al., 1994)، مقدار گرم نمک مورد نیاز برای هر سطح شوری محاسبه و در یک لیتر آب مقطر حل شد. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد.

۱ مولکول گرم NaCl: Na(23)+Cl(35.5)= 58.5

۵۸/۵×میلی‌مولار نمک / ۱۰۰۰= گرم نمک مورد نیاز

۲- کاشت بذور

برای هر گونه گیاهی درون هر پتری‌دیش ۲۰ عدد از بذور بر روی کاغذ صافی قرار گرفت و سه میلی‌لیتر از محلول‌های شوری و یا خشکی و دو میلی‌لیتر از محلول نانوذرات نقره سنتز شده اضافه گردید، به‌گونه‌ای که بذور قادر به رشد بوده و در محلول‌ها غوطه‌ور نباشند. به منظور جلوگیری از تبخیر آب از پتری‌ها، هر یک از آن‌ها داخل کیسه پلاستیکی کوچکی قرار داده شد

۳- داده‌برداری

شمارش بذور جوانه‌زده به صورت روزانه و در ساعت معینی از روز انجام گرفت. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه از بذر به اندازه دو میلی‌متر بود (Hardegree and Van Vactor, 2000). شمارش تا زمانی ادامه یافت که افزایشی در تعداد بذور جوانه‌زده مشاهده نشد و این حالت به‌مدت سه روز متوالی ثابت ماند. در آخرین روز شمارش کلیه گیاهچه‌های درون هر ظرف پتری جهت اندازه‌گیری طول ریشه‌چه و ساقه‌چه خارج شدند و تعدادی به صورت تصادفی انتخاب شدند. در اندازه‌گیری طول ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه‌های جوانه‌زده هر تیمار، از خط کش میلی‌متری استفاده شد. برای این منظور ابتدا گیاهچه بر روی سطح صافی قرار داده شد و خمیدگی ریشه‌چه و ساقه‌چه باز شده و طول ریشه‌چه از انتهای آن تا محل اتصال به بذر و طول ساقه‌چه از محل اتصال به برگ‌های لپه‌ای تا محل خارج شدن از بذر محاسبه گردید.

داده‌های حاصل از شمارش بذور جوانه‌زده در آخرین روز شمارش و نیز اندازه‌گیری طول ساقه‌چه و ریشه‌چه برای محاسبه شاخص‌های زیر مورد استفاده واقع شدند:

-محاسبه ویژگی‌های جوانه‌زنی

$$GP = \frac{ni}{N} \times 100$$

محاسبه درصد جوانه‌زنی (GP) با استفاده از رابطه زیر انجام شد (Parveen and Rao, 2014)

که در آن؛

GP: درصد جوانه‌زنی

N: تعداد کل بذرها

ni: بذر جوانه‌زده در روز آخر شمارش

برای محاسبه سرعت جوانه‌زنی (GR) رابطه زیر استفاده شد (Panwar and Bhardwaj, 2005).

$$GR = \sum \frac{ni}{t}$$

که در آن؛

GR: سرعت جوانه‌زنی

ni :تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز

t: تعداد روزهای سپری شده از شروع آزمایش می‌باشد

برای محاسبه شاخص بنیه بذر ۱(Vi) از رابطه زیر استفاده شد (Vashisth and Nagarajan, 2010).

$$Vi = GP \times (rl + sl)$$

که در آن؛

Vi: بنیه بذر

rl: طول ریشه‌چه بر حسب میلی‌متر

sl: طول ساقه‌چه بر حسب میلی‌متر

تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا نرمال بودن تمام داده‌های حاصل از صفات مختلف جوانه‌زنی، شامل: درصد جوانه‌زنی ، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه و بنیه بذر با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف[۲] مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS (ver.9) انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده گونه برای تمام صفات (به غیر از شاخص بنیه بذر در سطح احتمال پنج درصد) در سطح احتمال یک درصد (P≤۰/۰۱) معنی‌دار بود. همچنین اثر تنش شوری بر تمام شاخص‌ها در سطح

1- Vigor index
2- Kolmogorov-Smir nov's

احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. اثر ساده نانو ذرات نقره (به غیر از طول ساقه‌چه در سطح احتمال پنج درصد) برای بقیه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثرات متقابل گونه× تنش شوری بر صفات درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و شاخص بنیه در سطح احتمال یک درصد ($P \geq ۰/۰۱$) و بر صفات دیگر در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. اثرات متقابل گونه × نانو بر طول ریشه‌چه در سطح احتمال یک درصد، بر سایر شاخص‌ها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اثرات متقابل تنش شوری × نانو بر درصد و سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک و بر سایر شاخص‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل برهمکنش گونه، تنش شوری و نانو ذرات نیز بر طول ساقه‌چه و شاخص بنیه در سطح احتمال یک درصد و بر شاخص‌های دیگر در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول۱).

جدول۱: تجزیه واریانس اثر نانوذرات بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گونه‌های نعناع فلفلی و پونه در شرایط تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات(MS)				
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	شاخص بنیه بذر
گونه	۱	۹۱٤/۰۵**	۰/۲۰٦**	۱۳/۸۸**	۲۲۸/۱۱**	۳۵/٤۸*
تنش شوری	۳	۲۲۸۱/٤۵*	۲۵/۹۵*	٦۸/۳٦*	۲۳۸/٤۷*	٤۷/۰۸*
نانو	۳	۱۸/۱٤*	۰/۲۳۵*	۱٤/۹۹**	۵/٦۷*	۰/۳۰٦*
گونه × تنش شوری	۳	۱۳/٦٤**	۰/۲۱۲*	۲/۰٦*	۲/۷۱**	۰/۲۳٤**
گونه × نانو	۳	۸۰۳/۳٤*	۱/۸۲۲*	۲۲/۷۷**	۱۷٦/٦۲*	۳٤/۸۱*
تنش شوری × نانو	۹	۷٦/۱٦**	۱/۰٤۸**	۸/۲۳*	۱۰/۸٦*	۰/۵٤۷*
گونه × تنش شوری × نانو	۹	۲۹/٦۵*	۰/٤۹۵*	٤/٦٤*	۵/۰۵**	۰/۱۰۸**
خطا	۹٦	۰/۸۵۷	۰/۱۵۷	۰/۲٤٤	۰/۲۷۹	۰/۰۹۸۸
ضریب تغییرات		۱۷/۳٤	۲۱/٦٦	۱٤/٤۷	۲۵/۳۳	۱٤/۱۲

**: معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، *: معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۲-مقایسه میانگین اثر متقابل گونه× تنش شوری × نانو ذرات بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گونه‌های نعناع فلفلی و پونه

گونه	تیمار		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه (mm)	طول ساقه‌چه (mm)	شاخص بنیه بذر
	شوری (میلی‌مولار)	نانو (میلی‌گرم در لیتر)					
M. piperita	شاهد	شاهد	۱۳/۵b	۲/۵۵a	۲/۸b	۲/۲b	۰/۷۵b
	شاهد	۱۰	9b	۱/۷۲۵a	۲/۲٤b	۱/۱۲b	۰/۳۷۳b
	شاهد	۲۰	۳/۵c	۰/۷۵b	۰/٦۸bc	۰/۰cd	۰/۳۰۸b
	شاهد	۳۰	۵/۵c	۱/۱۷۵a	۰/٤٤bc	۰/۰cd	۰/۲٦b
	۱۰۰	شاهد	۰/۰c	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc
	۱۰۰	۱۰	۸/۵b	۰/۹۳b	۳/٦۲۵b	۰/۵۲۵bc	۰/۳۵۵b
	۱۰۰	۲۰	۰/۷۸۷c	۰/۲۵bc	۰/۷۵bc	۰/۰cd	۰/۰۲bc
	۱۰۰	۳۰	9b	۱/۳۷۵a	۱/۷۲۵b	۰/٦۲۵bc	۰/۳۵۲b
	۲۰۰	شاهد	۰/۰c	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc
	۲۰۰	۱۰	۰/۰c	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc
	۲۰۰	۲۰	۲/۲c	۰/۵۷۵bc	۰/۵۵bc	۰/۰cd	۰/۳۵b
	۲۰۰	۳۰	۰/۰c	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc

۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	شاهد	۳۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	۱۰	۳۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	۲۰	۳۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	۳۰	۳۰۰	
۵/۳۲۳a	۱٤/۰۸a	۳/۸b	۲/۵۱۲a	۳۰a	شاهد	شاهد	
٤/۸۹a	۹/۳۲۵a	۹/۳۲۵a	۲/٤٤۷a	۲۲/۵a	۱۰	شاهد	
٤/۰۷a	۱۱/۹۲۵a	۲/٤۵b	۲/٤۲۵a	۲۹/۵a	۲۰	شاهد	
٤/۱۱a	۳/٦۲۵b	۳/۳۲۵b	۱/۹a	۳۰/۷۵a	۳۰	شاهد	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	شاهد	۱۰۰	
۰/۸۲b	۱/۱٤۳b	۲b	۰/۷۸۵bc	۱۳b	۱۰	۱۰۰	
۰/۱۵۵b	۰/۳۷bc	۰/۹۵bc	۰/۲۵۵bc	۵bc	۲۰	۱۰۰	*M. longifolia*
۰/۳۲۳b	۰/۰cd	۱/۵b	۰/۲۹bc	٦/۷۵bc	۳۰	۱۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	شاهد	۲۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	۱۰	۲۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	۲۰	۲۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	۳۰	۲۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	شاهد	۳۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	۱۰	۳۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	۲۰	۳۰۰	
۰/۰bc	۰/۰cd	۰/۰bc	۰/۰bc	۰/۰c	۳۰	۳۰۰	

درصد: بالاترین درصد جوانه‌زنی در شرایط شاهد و در گونه پونه به‌وقوع پیوسته است و سطوح مختلف نانو هم در این شرایط هیچ اثری بر این صفت نداشت؛ لیکن در همین شرایط گونه نعناع فلفلی درصد جوانه‌زنی کمتری نسبت به گونه اول داشت و ذرات نانو نقره هم از غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر اثر کاهنده بر آن داشتند. این نتایج عدم تأثیر و یا کاهش جوانه‌زنی در مطالعه Razzaq et al. (2016)، بر روی گیاه گندم به چشم می‌خورد. بنابراین استفاده از تیمار اصلاحی نانو ذرات نقره، به‌ویژه در غلظت‌های بالا برای گونه نعناع فلفلی مؤثر نبوده است.

تنش شوری بر جوانه‌زنی هر دو گونه تأثیر منفی داشته و هیچ بذری در شرایط شوری جوانه نزد که با نتایج مطالعه Sharif Rohani et al. (2014)، بر روی گونه نعناع فلفلی مطابقت ندارد. کاهش جوانه‌زنی در شرایط شوری ممکن است به خاطر پتانسیل اسمزی پایین و ممانعت از جذب آب، سمیت یون‌های Na^+ یا Cl^- و یا عدم تعادل عناصر غذایی است (Lynch and Lauchli, 1988). لیکن افزایش نانو ذرات نقره باعث جوانه‌زنی بذور در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار شد که در گونه پونه غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره و در گونه نعناع فلفلی تیمارهای ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دارای درصد جوانه‌زنی بالاتری بودند. نکته کلیدی در افزایش جوانه‌زنی، نفوذ نانوذرات به درون بذر است که بر اساس گزارش‌های موجود، در این حالت میزان جذب آب توسط بذر افزایش می‌یابد (Khoshkalam et al., 2015) از این‌رو می‌توان دریافت که تیمار نانو ذرات نقره در تنش‌های خفیف و ملایم باعث حذف اثر تنش شده ولی در تنش‌های شدید که خسارات وارده به گیاه بیشتر می‌باشد این توانایی را ندارد.

کم بودن درصد جوانه‌زنی در گیاهان جنس نعناع امری بدیهی است و این گیاهان عمدتاً تکثیر رویشی دارند. به‌ویژه در گونه نعناع فلفلی که این گونه، هیبریدی است که از تلاقی بین گونه‌های *Mentha spicata* و *Mentha aquatic* به دست آمده است (Foster, 1996). بذر این گیاه فاقد قوه رویشی است (Omidbeygi, 2008). نر عقیمی شدید در این گیاه ناشی از عقیم بودن دانه گرده آن می‌باشد(Zargari, 2014). بنابراین نعناع فلفلی فاقد تکثیر جنسی است و بقای آن از طریق تکثیر رویشی و توسط ساقه خزنده امکان می‌یابد (Omidbeygi, 2008).

سرعت جوانه‌زنی: مطالعات زیادی گزارش کردند که افزایش غلظت شوری باعث روند کاهشی سرعت جوانه‌زنی بذور می‌گردد (Demir-Kaya et al., 2005). نتایج این مطالعه بر کاهش سرعت جوانه‌زنی در اثر اعمال تنش شوری تأکید دارد. تنش اسمزی و افت حرکت آب به سوی بذرها تحت تنش شوری باعث کند شدن سرعت جوانه‌زنی می‌شود. افزایش غلظت نمک و در نتیجه شوری حاصل از املاح در غلظت‌های سمّی، منجر به کاهش جوانه‌زنی و تأخیر در فرآیندهای آن می‌گردد، آن‌چنان‌که ممکن است غلظت‌های بالای نمک باعث توقف کامل این مرحله از رشد می‌شود (Patade et al., 2005; Guzman and Olave, 2006).

بالاترین سرعت جوانه‌زنی در گونه پونه در شرایط شاهد نشان می‌دهد حضور نانو ذرات نقره هیچ تأثیری کاهنده یا افزاینده بر سرعت جوانه‌زنی این گونه در محیط شور و غیر شور ندارد (جدول ۲). در گونه نعناع فلفلی این صفت در تمام تیمارهای شاهد به غیر از غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو از نظر آماری با شرایط مشابه در گونه مورد مطالعه دیگر تفاوت معنی‌داری نداشت. حضور نانو ذرات نقره در این گونه و در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، تأثیر افزایشی داشت؛ به‌گونه‌ای که با حضور این ذرات اثر کاهشی تنش شوری تقلیل یافت و در تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر با سرعت شاهد (عدم شوری) برابر شد. این امر نشان می‌دهد نانو ذرات نقره در غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر توانایی حذف اثر منفی تنش و بازگشت گیاه به حالت اول از نظر سرعت جوانه‌زنی را در این گونه دارند. نکته حائز اهمیت آن است که این گونه نسبت به تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات واکنش منفی نشان داد و در محیط شور و غیر شور این تیمار تأثیر کاهنده بر سرعت جوانه‌زنی داشت که با نتایج Aghajantabarali et al. (2014) و Salehi et al. (2010) تطابق ندارد.

طول ساقه‌چه: نتایج جدول۲ نشان داد بالاترین طول ساقه‌چه در گونه پونه در شرایط شاهد تا غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد و پس از آن کاهش یافت. در مطالعه Ramezani et al. (2014)، بر روی گیاه یونجه، این کاهش بعد از غلظت ۲۰ میلی‌گرم مشاهده شد. از شاخص‌های مؤثر در تحمل بشوری گیاهان، تنظیم اسمزی سلول و حفظ آماس سلولی است که با ساخت مواد آلی نظیر بتائین، گلایسین، پرولین، سوربیتول و مانیتول انجام می‌شود. از آن‌جایی‌که گیاه برای ساخت این مواد انرژی زیادی صرف می‌کند، بنابراین رشد اندام‌های گیاهی به‌ویژه رشد اندام‌های هوایی گیاه کاهش می‌یابد (Penuelas et al., 1997).

در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار هم این ذرات اثر کاهشی تنش شوری را جبران کرده و باعث افزایش طول ساقه‌چه تا غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر شدند. این افزایش در مطالعه Aghajantabarali et al. (2014) هم مشاهده شد. از این‌رو تیمار نانو ذرات نقره در حذف اثر منفی تنش‌های خفیف بر روی رشد ساقه‌چه این گونه، با غلظت‌های کمتر از ۲۰ میلی‌گرم در لیتر مفید خواهد بود و افزایش غلظت آن هیچ تأثیری بر این صفت ندارد.

در گونه نعناع فلفلی همواره طول ساقه‌چه کمتر از گیاه دیگر بود. بالاترین طول ساقه‌چه در تیمارهای آب مقطر و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانو شاهد رخ داد و پس از آن کاهش یافت. در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار غلظت‌های ۱۰ و ۳۰

میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره، باعث افزایش آن شدند و تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر اثر کاهنده بر این شاخص داشت. این امر واکنش منفی این گونه به تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره را در شرایط شور و عدم شور نشان می‌دهد.

طول ریشه‌چه: بر اساس نتایج جدول ۲ بالاترین طول ریشه‌چه متعلق به گونه پونه و در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانو شاهد (عدم شوری) است که از طول ریشه‌چه در تیمار شاهد (آب مقطر) هم پیشی گرفت. افزایش طول ریشه‌چه در غلظت‌های کم نانو ذرات نقره نسبت به شاهد (آب مقطر) در نتایج Razzaq et al. (2016) هم وجود داشته است. بنابراین در این گونه و محیط غیر شور، تیمار کمکی نانو ذرات نقره با غلظت کمتر از ۱۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش رشد ریشه‌چه و در نتیجه توانایی استفاده بیشتر از امکانات محیطی و جذب آب گونه می‌شود.

در گونه نعناع فلفلی طول ریشه‌چه در تیمار آب مقطر و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانو بالاتر بود که از نظر آماری با تیمارهای مختلف شاهد در گونه دیگر (به غیر از تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانو) تفاوت معنی‌داری نداشتند. در این گونه استفاده از نانو ذرات در شرایط عدم شوری تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با آب مقطر تفاوتی نشان نداده است؛ لیکن در غلظت‌های بالاتر کاهش طول ریشه‌چه مشاهده شد که این کاهش در گونه اول وجود نداشت. بنابراین در محیط‌های غیر شور نیازی به تیمار کمکی نانو ذرات برای افزایش رشد ریشه‌چه و جذب آب بیشتر نیست.

در شرایط شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، غلظت‌های ۱۰ و ۳۰ میلی‌مولار باعث افزایش این صفت در هر دو گونه شد، به‌گونه‌ای که با تیمار شاهد(آب مقطر) از نظر آماری برابر شدند. این افزایش با یافته‌های Ekhtiari et al. (2012)، مطابقت دارد. از اینرو می‌توان دریافت نانو ذرات نقره در محیط‌های شور تأثیر افزایشی بر طول ریشه‌چه و بازگشت گیاه به شرایط عدم شوری و استفاده بهتر از امکانات محیط را دارد.

شاخص بنیه بذر: شوری قادر است با غیر فعال کردن برخی هورمون‌ها و هم‌چنین تأثیر بر نفوذپذیری غشا سلول، موجب کاهش بنیه بذر شود. یافته‌های جدول ۲ نشان داد بالاترین شاخص بنیه مربوط به تیمارهای شاهد (حضور و عدم حضور نانو) گونه پونه است که در گیاه دیگر در شرایط مشابه مقدار آن کمتر است. این امر حاکی از آن است که این گونه به دلیل داشتن درصد جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه بیشتر، دارای شاخص بنیه بذر بالاتری هم نسبت به گونه دیگر بود. در این گونه حضور نانو ذرات در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار باعث افزایش اندک این شاخص نسبت به شاهد (شوری) شد؛ لیکن بین غلظت‌های مختلف نانو تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده نشد. این امر دلالت بر توانایی تیمار کمکی نانو ذرات نقره در کاهش اثر منفی تنش‌های خفیف شوری دارد.

در گونه نعناع فلفلی حضور نانو ذرات در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار شاخص بنیه بذر در غلظت‌های ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم نانو ذرات افزایش یافت و از نظر آماری برابر با شاخص بنیه در تیمارهای مختلف شاهد شد. در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار هم این شاخص فقط در غلظت ۲۰ میلی‌مولار افزایش اندکی نسبت به تیمار شوری داشت و با تیمارهای مختلف شاهد (حضور و عدم حضور نانو) از نظر آماری برابر شد. بنابراین در این گونه عملکرد اصلاحی نانو ذرات نقره بر تیمارهای شوری خفیف تا متوسط مورد آزمایش در این مطالعه بهتر از گونه اول بود؛ به‌گونه‌ای که باعث برگشت کامل گیاه از حالت تنش به شرایط عدم تنش شد. با آنکه درصد جوانه‌زنی این گونه در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار با حضور نانو ذرات نقره از نظر آماری معنی‌دار نشد اما در شاخص بنیه بذر به وضوح این تفاوت رخ داد که نشان دهنده تأثیر نانو ذرات بر افزایش قدرت و توانایی این گیاه در جوانه‌زدن در عرصه‌های شور به کمک نانو ذرات نقره است. از آنجایی که بنیه بذر از حاصل‌ضرب درصد جوانه‌زنی طبیعی و طول گیاهچه به دست می‌آید دلیل

افزایش بنیه بذر با استفاده از تیمارهای پرایمینگ می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی و در نتیجه افزایش مصرف مواد ذخیره‌ای بذر و طویل شدن گیاهچه در اثر افزایش انرژی در بذرهای پرایم شده در ارتباط باشد (Ansari et al., 2013).

نتیجه‌گیری کلی

در دو گونه نعناع فلفلی و پونه در شرایط تنش شوری، نانو ذرات نقره تأثیر افزاینده بر تمام صفات تا سطح ۱۰۰ میلی‌مولار داشت که غلظت‌های ۳۰ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات هر دو بهترین عملکرد را داشتند. لیکن به جهت جلوگیری از افزایش ترکیبات نقره در خاک، که استفاده بیش از حد آن می‌تواند مشکلاتی را در آینده پدید آورد، غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر برای شوری‌های کمتر از ۱۰۰ میلی‌مولار قابل توصیه است.

سپاسگزاری

به این ترتیب مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه کاشان که شرایط لازم برای انجام این طرح پژوهشی را فراهم آورده‌اند، اعلام می‌دارم.

References

Aeinechi, Y. 1987. Materia Medica and herbs, medicinal Iran. Tehran University Press.

Aghajantabarali, H., Pirdashti, Kashani, A., and Biparva, P. 2014. The effect of silver nanoparticles on the germination of two species of fescue *Festuca arundinaceae* and *Festuca ovina* under salt stress. Journal of Range Management, 1 (1): 33-45.

Alebrahim, M.T., Sabaghnia, N., Ebadi, A. and Mohebodini, M. 2004. Effect of drought stress and salinity on seed germination herb thyme (*Thymus vulgaris* L.) J. Agri. Res. 1 (1): 13-19

Alizadeh, A. 2005. Water and soil and plant relationships. Publication of Imam Reza (AS).

Alizadeh, A. 2015. Principles Applied Hydrology. Publication of Imam Reza (AS). 946 pages.

Ansari, O., Azadi, M.S., Sharif-Zadeh, F., and Younesi, E. 2013. Effect of hormone priming on germination characteristics and enzyme activity of mountain rye (*Secale montanum*) seeds under drought stress conditions. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 9: 3. 61-71

Ashraf, M., and P. J. C., Harris. 2005. Abiotic Stresses: Plant Resistance through Breeding and Molecular Approaches. Haworth Press, New York, USA.

Banaei, M.H., Moameni, A., Baybordi, M. and Malakouti, M.J. 2004. Iran Soils: New transformations in the identification, management and operation. Soil and Water Research Institute, Tehran. (In Persian).

Burnie, D. 1995. Wild flowers of mediterranean. Dorling Kinderseley. p: 320

Demir-Kaya, M., Okcu, G., Atak. M., Cikili, Y., and Kolsarici. O. 2005. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.), European Journal of Agronomy, 24(4): 291-295.

Ekhtiari, R., Mohebi, H.M., Mansuri, M. 2012. Study the effects of silver nanoparticles on salinity tolerance of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) in early growth in vitro. Journal of Plant and Ecosystem, 27 (7): 55-62.

Ekhtiari, R. and Moraghebi, F. 2012. Study the effects of silver nanoparticles on salinity tolerance of cumin (*Cuminum cyminum* L.) during seed germination in vitro. Journal of Plant and Ecosystem, 25 (7): 55-62.

Foster S. 1996. Peppermint: *Mentha piperita* American Botanical Council-Botanical Series, 36: 3 - 8.

Hardegree, S.P., and Van Vactor, S.S. 2000. Germination and emergence of primed grass seeds under field and simulated-field temperature regimes. Annals of Botany, 85: 379–390.

Hojjat, S.S. 2016. The Effect of silver nanoparticle on lentil seed germination under drought stress. International Journal of Farming and Allied Sciences. 5(3): 200-212

Ghorbani, SH., Rozbeh Nasireii, L., and Joodi, M.H. 2015. The antimicrobial effect of oregano essential oil (*Mentha longifolia*) on Salmonella enteritidis in mayonnaise. Journal of Food Microbiology, 2 (6): 26-15

Guzman, M., and Olave, J. 2006. Response of growth and biomass production of primed melon seed (*Cucumis melon* L. Cv. Primal) to germination salinity level and N-forms in nursery. J. Food Agric. Environ. 4: 163- 165.

-Khoshkalam, A., Talebi Atuie, M., Bakhsh Gangeh, M., Ahmadigol, F. and Meftahi, M. 2015. Nanotechnology and its development in Agriculture. Rep. Nano. Ind. report coll. 2015. N: 45.

Khot, L.R., Sankaran, S., Maja, J.M., Ehsani, R., and Schuster, E.W. 2012. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection.Crop Protection, 35: 64-70.

Leland, E.F., Catherine, M.G., Eugene, V.M., and Scott, M.L. 1994. Time of salt stress affects growth and yield components of irrigated wheat. Agron. J. 86, 100–107

Lynch, J., and Lauchli, A. 1988. Salinity affects intracellular calcium in corn root protoplasts. Plant Physiol. 87: 351-356

Moameni, A. 2010. Geographical distribution and salinity levels of soil resources of Iran. Soil Res. J. 24: 203-215. (In Persian with English abstract).

Mohkami, R. 2012. Evaluation of some morphological and phytochemical native mint masses of Golestan province. Master's thesis in the field of Agricultural Engineering of Horticulture. Department of Plant Production. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

Nezami, S. 2013. Effects of water stress on growth characteristics of three mint species under controlled conditions. Master thesis. Faculty of Agriculture. Mashhad Ferdowsi University

Omidbeygi, R. 2008. Processing of medicinal plants. Volume II. Astan Quds Razavi.

Opoku, G., Davies, F.M., Zetrio, E.V., and Camble, E.E. 1996. Relationship between seed vigor and yield of white beans (*Phaseolos vulgaris* L.). Plant Variety Seed. 9: 119 – 125.

Pajohi, M.H., Tajik, H., Akhondzadeh, A., Gandomim, H., Ehsani, A., and Shokohi Sabet Jalali, F. 2011. Evaluate the chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of oregano and cumin seed alone or in combination with nisin. Urmia Medical Journal, 21 (4): 331-324

Panwar, P., and Bhardwaj, S.D. 2005. Hand book of practical forestry, Agrobios, India, 21p.

Parveen, A., and Rao, S. 2014. Effect of nano-silver on seed germination and seedling growth in Pennisetum glaucum. Jour. Cluster Science, 26 (3): 693-701.

Patade, V.Y., Bhargava, S., and Suprasanna, P. 2009. Halopriming imparts tolerance to salt and PEG induced drought stress in Sugarcane. Agric Ecosys. Environ. 134: 24-28.

Penuelas, J., Isla, R., Fillela, I., and Araus, J.L. 1997. Visible and near-infrared reflectance assessment of salinity effects on barley. Crop Science, 37: 198- 202.

Ramezani, F., Shayanfar, Gh., Tvakol Afshari, R., and Rezai, K. 2014. The effect of nano silver, nickel, zinc and Zn-Cu on the germination, establishment and enzymatic activity of alfalfa seed. *Ira. J Fi. Cr. Sci*, 45 (1): 118-107

Razzaq, A., Ammara, R., Jhanzab, H.M., Mahmood, T., Hafeez, A., and Hussain, S. 2016. A Novel Nanomaterial to Enhance Growth and Yield of Wheat. Journal of Nanoscience and Technology, 2(1): 55-58

Salehi, M., and Tamasoki, F. 2009. Nanocid effect of seed treatment on seed germination and seedling growth in wheat under salt stress. Proceedings of the First National Conference on Science and Technology Seed Iran. Page 358

Salehi, M., Tamasoki, F., Ehsani, M., and Arefi, M. 2010. Effect of priming on germination and seedling growth of canola compared with nano-silver salt stress. Journal of Plant Science, 16 (4): 52-57.

Sharif Rohani, M., Jhedipoor, F., Jahedipoor, S., and Sepehri Moghadam, H. 2014. The main study investigated the effects of salinity and drought stresses on the cross and peppermint (*Mentha piperita* L). First National Conference on Agricultural Science with an emphasis on abiotic stresses

Soltani, A., Gholipoor, M., and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat asaffected by drought and salinity. Environmental and Experimental Botany, 55: 195–200.

Vashev, B.T., Gaiser, T., Ghawana, A., de Vries and Stahr, K. 2010. Biosafor Project Deliv- erable 9: Cropping Potentials for Saline Areas in India, Pakistan and Bangladesh. University of Hohenheim, Germany.

Vashisth, A., and Nagarajan, S., 2010. Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. Jour. Plant Physiology, 167(2): 149–156.

Voigt, E.L., Almeida, T.D., Chagas, R.M., Ponte, L.F.A., Viégas, R.A., and Silveira, J.A.G. 2009. Source–sink regulation of cotyledonary reserve mobilization during cashew (*Anacardium occidentale*) seedling establishment under NaCl salinity. J. Plant Physiol., 166: 80–89.

Unnithan, C.R., Gebreselassie, H., Sushen, U., Reddy, D.N., Woldu, A., and Muuz, M. 2013. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Mentha longifolia* L. of Mekole, Ethiopia. Journal of Biological & Scientific Opinion, 1(3): 151-153

Zargari, A. 2014. Medicinal Plants. Tehran University Press. p :4274