



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

مهدی افروز^۱، پریسا شیخ‌زاده مصدق^{۲*}

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

۲. دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۳۱)

چکیده

به منظور ارزیابی تأثیر نانوذرات نقره سنتز شده از رازیانه بر جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (صفر، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر) و روش کاربرد (پیش‌تیمار بذر و افزودن به بستر کشت) بود. نتایج نشان داد که در هر دو روش کاربرد نانوذره، با کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره موجب افزایش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، شاخص همزمانی جوانه‌زنی، شاخص قدرت، طول و وزن خشک گیاهچه‌های ذرت و کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت گردید. از میان روش‌های کاربرد نانوذره، پیش‌تیمار کردن بذر با ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر و افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره، تأثیر بیشتری در بهبود جوانه‌زنی، رشد گیاهچه‌ها و افزایش شاخص قدرت بذر داشت. با افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت، سبب شد تا بیشترین درصد جوانه‌زنی، شاخص همزمانی، متوسط جوانه‌زنی روزانه و کمترین میانگین مدت جوانه‌زنی حاصل شود. همچنین کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذره نقره در هر دو روش کاربرد موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز و محتوی اسیدآمین پرولین نسبت به تیمار شاهد گردید. به‌طور کلی کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به روش پیش‌تیمار بذر و افزودن غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره به بستر کاشت جهت بهبود جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: پیش‌تیمار بذر، سنتز سبز، سرعت جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

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

M. Afrouz^{1*}, P. Sheikhzadeh Mosaddegh²

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

2. Associate Professor, Department of Plant Production and Genetic, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

(Received: Mar. 19, 2023 – Accepted: May. 21, 2023)

Abstract

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

Keywords: Antioxidant enzymes activity, Germination rate, Green synthesis, Seed priming.

* Email: sheikhzadehmp@gmail.com

مقدمه

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

در سال‌های اخیر پژوهشگران از پتانسیل‌های نانوذرات به‌عنوان تکنولوژی در جهت بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهان زراعی استفاده کرده‌اند. که در این راستا تأثیر نانوذرات در رابطه با رشد گیاهان مورد تأکید قرار گرفته است (Smirnov *et al.*, 2022; Afrouz and Sheikhzadeh, 2023). کاربرد نانوذرات در مرحله‌ی جوانه‌زنی و سبز شدن تأثیر مثبت و معنی‌داری بر شاخص‌های جوانه‌زنی داشته و سبب بالا رفتن درصد و

سرعت جوانه‌زنی شده است، که دلیل این امر را می‌توان رهایش کنترل شده و بهینه‌ی این نانوذرات دانست که علاوه بر نقشی که در تغذیه مستقیم دارند، افزایش کارایی را نیز باعث شده است (Esper Neto *et al.*, 2021). در بین نانوذرات مختلف، نانوذرات نقره بیشترین استفاده را در دارند، بطوریکه ۳۰ درصد محصولات حاوی نانومواد دارای نانوذرات نقره هستند (Shukla *et al.*, 2019). در مطالعات انجام شده روی بذرهایی اسفناج (Mingyu *et al.*, 2007) و گلرنگ (Zari *et al.*, 2015) گزارش شده که بذور تیمار شده با نانوذرات نقره در غلظت‌های بهینه، توانایی جوانه‌زنی و سبز شدن بالاتری داشته و گیاهچه‌های تولید شده از کیفیت مطلوب‌تری برخوردار بودند. همچنین گزارش شده است که استفاده از نانوذرات نقره منجر به بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاهچه‌های برنج شده است (Thuesombat *et al.*, 2014). روش‌های متفاوتی بصورت صنعتی، جهت سنتز نانوذرات در جهان وجود دارد. یکی از این روش‌ها، سنتز نانوذرات به وسیله‌ی عصاره گیاهان می‌باشد که سنتز سبز نامیده می‌شود. نانوذرات حاصل از روش‌های شیمیایی که امروزه به کار برده می‌شوند به دلیل استفاده از مواد شیمیایی خطرناک و سمی بودن، نگرانی‌های زیادی را ایجاد کرده که روش سنتز سبز جایگزینی موثر برای روش‌های شیمیایی می‌باشد که قابلیت این را دارد تا نانوذرات را در اندازه، ساختار و شکل معینی تولید کند (Kannan *et al.*, 2013). از جمله مزیت استفاده از سنتز سبز نانوذرات می‌توان به استفاده آسان از آن‌ها و دارا بودن تنوع وسیعی از متابولیت‌های ثانویه اشاره کرد. به علاوه امنیت زیستی و پایداری بالای نانوذرات بیوسنتز شده گیاهی در مقایسه با نانوذرات فلزی سنتز شده به روش شیمیایی یکی از دلایلی است که محققان را به طور گسترده به سمت استفاده از سنتز سبز جهت تهیه نانوذرات فلزی سوق داده است که این ویژگی‌ها سبب شده تا امروزه فرآیندهای سبز برای سنتز نانوذرات به یک شاخه‌ی مهمی از نانو تکنولوژی تبدیل

به بستر کاشت در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر نانوذرات نقره سنتز شده به روش سنتز سبز از عصاره آبی گیاه رازیانه بر جوانه‌زنی، رشد و صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت انجام شد.

مواد و روش‌ها

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

جهت بیوسنتز نانوذر نقره از برگ‌های رازیانه به روش آبی، ابتدا برگ‌های خشک شده را آسیاب و سپس عمل عصاره‌گیری انجام گرفت. به این ترتیب که ابتدا مقدار ۱۰ گرم از پودر خشک شده برگ گیاه را به ۱۰۰ میلی لیتر آب اضافه نموده و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد. در نهایت محلول مورد نظر در بشر ریخته شده و در انکوباتوری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار روز قرار داده شد تا خشک شوند (Patiño-Ruiz et al., 2020). در ادامه برای بیوسنتز نانوذرات نقره، ابتدا ۱۰ میلی لیتر از عصاره آبی برگ‌های رازیانه را به ۹۰ میلی لیتر محلول یک می مولار نیترات نقره (شرکت مرک آلمان) اضافه شد، و به منظور کاهش یون‌های نقره، محلول در دمای

گردد (Hazrati et al, 2022). از طرفی، مزیت بهره‌گیری از عصاره گیاهان در سنتز نانوذرات، حضور تنوع و سیعی از متابولیت‌های ثانویه (مانند پلی فنل‌ها، آلکالوئیدها، تریپنئیدها، کوئینون‌ها، تانن‌ها و غیره) در آن‌ها است که در عمل احیاء زیستی یون نیز دخیل هستند (Bhavyasree and Xavier, 2020; Hazrati et al, 2023). طی نتایج بدست آمده از تحقیقات پیشین، غالب گیاهان مورد استفاده برای استخراج نانوذرات بصورت سنتز سبز، گیاهان دارویی از جمله گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) از خانواده‌ی چتریان می‌باشند (Swaminathan et al., 2021). این گیاه به دلیل دارا بودن ترکیبات لیمونن، فنکون و آنتول در بذر آن‌ها سبب شده تا از این گیاه جهت سنتز سبز استفاده شود (Swaminathan et al., 2021).

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

با توجه به اینکه یکی از مشکلات تولید گیاهان زراعی از جمله ذرت، جوانه‌زنی و استقرار ضعیف گیاهچه‌ها می‌باشد. همچنین به دلیل اهمیت ذرت به عنوان یکی از محصولات استراتژیک کشور و از طرفی نقش موثر نانوذرات نقره سنتز شده بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها، موجب شد تا اثر این نانوذر به صورت پیش‌تیمار و افزودن

مدت دو ساعت در محلول‌های تهیه شده با غلظت‌های مختلف نانوذره نقره، قرار داده شدند. جهت اعمال تیمار شاهد (غلظت صفر نانوذره نقره) از آب مقطر استفاده شد. در انتها، بذرها، پیش‌تیمار شده تا رسیدن به رطوبت اولیه در محیط آزمایشگاه خشک شدند.

برای انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد، به صورت تصادفی سه تکرار ۵۰ بذری از هر تیمار (بذرهای پیش‌تیمار شده و بذرها بدون پیش‌تیمار) جدا گردید و درون پتری‌دیش به روش بالای کاغذ کشت شدند. برای تیمارهای افزودن محلول به بستر کشت، مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از محلول‌های نانوذره نقره تهیه شده با غلظت‌های ذکر شده به پتری‌ها اضافه شدند. لازم به ذکر است، برای بذرها، پیش‌تیمار شده، از آب مقطر به مقدار ۱۵ میلی‌لیتر استفاده گردید. پس از انتقال نمونه‌ها به ژرمناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شمارش بذور هر ۱۲ ساعت یکبار به مدت هفت روز انجام گردید. خروج دو میلی‌متری ریشه‌چه از پوسته‌ی بذر، به عنوان بذور جوانه‌زده در نظر گرفته شدند. در پایان این آزمون، تعداد گیاهچه‌های نرمال شمارش و درصد جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی (Ellis and Roberts, 1981)، متوسط جوانه‌زنی روزانه، شاخص همزمانی جوانه‌زنی (Hunter et al., 1984)، سرعت جوانه‌زنی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی و شاخص قدرت بذر (Vashisth and Nagarajan, 2010)، طول و وزن خشک گیاهچه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات اندازه‌گیری شده از روابط جدول ۱ بدست آمدند.

برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی ابتدا گیاهچه‌های نرمال هفت روزه انتخاب و عصاره آنزیمی (Chang and Koa, 1998) از نمونه‌های گیاهی برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز تهیه گردید. جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش چانس و ماهلی (Chance and Maehly, 1955) بر پایه تشکیل تراگایاکول از گایاکول در حضور پراکسید هیدروژن و

اتاق و در شرایط تاریکی به مدت یک شبانه روز نگهداری شد. تغییر رنگ عصاره از زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تیره تا سیاه نشان دهنده تولید نانوذرات نقره است. سپس عصاره‌های حاوی نانوذرات با دور ۸۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب بدست آمده در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج ساعت خشک گردید. در نهایت نانوذرات نقره بدست آمده جهت مطالعه بیشتر در داخل میکروتیوب در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند (Kannan et al., 2013). در انتهای کار، از دستگاه‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) به منظور بررسی خصوصیات مورفولوژیکی نانوذرات نقره استفاده شد. همچنین از طیف پراش اشعه ایکس برای استخراج سنتز نانوذرات و پی بردن به نوع شبکه کریستالی از دستگاه XRD مدل XMD 300 و به منظور خصوصیات ساختمانی نانوذرات از دستگاه طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) مدل GX آمریکا استفاده شد.

بعد از سپری کردن این مراحل، بذرها ذرت گواهی شده (رقم هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ تهیه شده در سال ۱۳۹۹ از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل) به صورت تصادفی به دو قسمت تقسیم شدند. یک قسمت از بذرها تا زمان انجام آزمون جوانه‌زنی در یخچالی با دمای ۳ تا ۴ نگهداری شدند و قسمت دیگر بذرها با غلظت‌های مختلف نانوذره نقره سنتز شده (صفر، ۰/۰۰۱، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر) پیش‌تیمار شدند. قبل از پیش‌تیمار نمودن، بذرها ذرت با محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر به طور کامل شست‌وشو داده شدند. سپس مقدار مشخص شده نانوذره در یک لیتر آب ریخته و برای تهیه سوسپانسیون یکنواخت به مدت ۳۰ دقیقه در هموژنایزر فراصوت (اولتراسونیک) قرار داده شد (Esper Neto et al., 2021). در ادامه بذرها ذرت به

آنزیم گایاکول اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ایبی (Aebi, 1984) اندازه‌گیری شد که بر پایه تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز استوار است. میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز توسط روش کار و میسرا (Kar and Mishra, 1976) تعیین شد.

جدول ۱- روابط محاسباتی مورد مطالعه در آزمایش

Table1- Computational relations studied in the experiment

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

در روابط بالا، N: تعداد کل بذر، n_i: تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز آ_m، t_i: تعداد روزهای سپری شده از شروع جوانه‌زنی، n_it_i: حاصلضرب تعداد بذرهای جوانه زده در زمان (روز) آ_m، D: تعداد روزهای لازم برای بیشترین جوانه زنی، f_i: فراوانی نسبی جوانه زنی.

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

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

نتایج و بحث

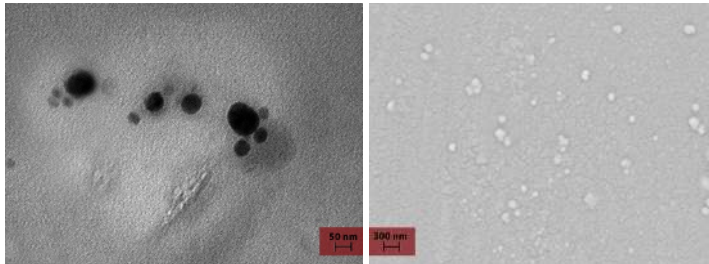
اندازه ذرات نانو نقره

تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، نشان‌دهنده مورفولوژی و اندازه نانوذرات نقره سنتز شده می‌باشد

استخراج پرولین به روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) صورت گرفت. بدین منظور ابتدا ۰/۱ گرم از برگ تازه را درون فالدکون با هاون له کرده، سپس ده میلی‌لیتر سولفو سالیسیلیک اسید سه درصد به آن اضافه و همگنای حاصل با سرعت ۷۵۰۰ دور به مدت ده دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از عصاره صاف شده را درون فالدکون جدید ریخته و دو میلی‌لیتر اسید ناین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه شد. نمونه‌ها را به مدت یک ساعت در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از خارج شدن از بن‌ماری چهار میلی‌لیتر تولوئن به محلول‌ها اضافه و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شدند و نمونه‌ها را در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه

تصویر TEM می‌توان نتیجه گرفت که در بزرگنمایی ۵۰ نانومتر اندازه این نانوذره نقره سنتز شده، در حدود ۲۰ نانومتر می‌باشد که در محدوده اندازه نانوذرات است.

(شکل ۱). بنابراین با توجه به تصاویر بدست آمده از SEM، مشخص گردید که شکل نانوذرات نقره سنتز شده بصورت کروی هستند. همچنین با توجه به مقیاس روی



شکل ۱- تصاویر TEM و SEM نانوذرات نقره

Figure 1- TEM and SEM images of silver nanoparticles

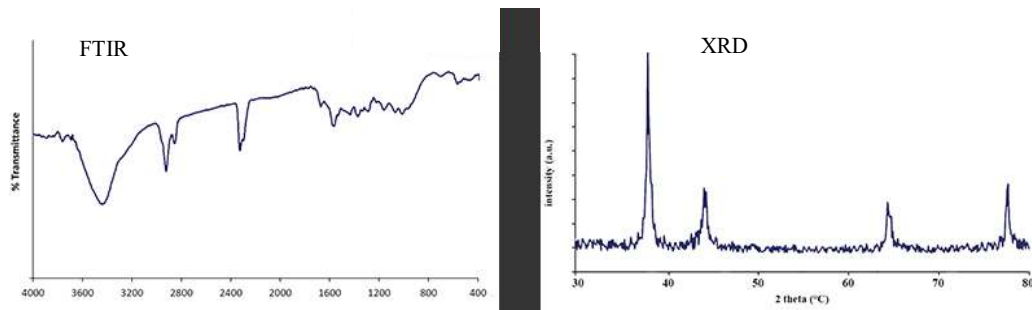
آلی همچون ترکیبات آلیفاتیک، آروماتیک و پروتئین‌ها در سطح نانوذرات دلالت دارد. همچنین هنگامی که نانوذرات با استفاده از سانتریفیوژ رسوب‌گیری شدند، محلول رویی کاملاً شفاف و بی‌رنگ بود که نشان‌دهنده شرکت تمامی ترکیبات آلی در واکنش سنتز نانوذرات بود. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده در پژوهش‌های همسو، صحت سنتز این نانوذرات را به دلیل رویکرد یکسان در نحوه‌ی پیک‌های کششی مختلف ای طول موج‌های برای نانوذرات نقره تایید گردید که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (Mittal *et al.*, 2013).

آزمون پراش اشعه ایکس (XRD)

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

بررسی طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

با هدف بررسی گروه‌های عاملی پوشاننده‌ی دخیل در سنتز و پایداری نانوذرات نقره سنتز شده توسط فرایند سنتز سبز، آنالیز و مشخصه‌یابی طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه انجام شد (شکل ۲). که با توجه به طول موج‌های جذبی در نواحی ۱۶۴۰ سانتی‌متر مربوط به گروه N-H که همان آمین می‌باشد، باند در ۳۵۴۰ سانتی‌متر مربوط به گروه‌های O-H یا N-H و باند قوی که در محدوده‌ی بین ۲۳۴۲-۲۳۶۰ قرار دارد مربوط به گروه O=C=O می‌باشد. همچنین محدوده‌های بین ۲۸۵۰-۲۹۰۰ متر مکعب مربوط به پیوند C-H کششی و مربوط به آلکنیک است (Sun *et al.*, 2014). نتایج حاصل از طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز، وجود گروه‌های عاملی مختلفی از جمله هیدروکسیل، کربوکسیل و کربونیل را در سطح نانوذرات نشان داد. همچنین وجود باندهای مربوط به پیوندهای ارتعاشی کششی C-O در گروه‌های استری و اسیدی، باند مربوط به گروه آمیدی پروتئین‌ها، و باند مربوط به پیوند ارتعاشی کششی گروه‌های آلدئیدی، کتونی و استری است که به فراوانی در ترکیبات ترپنوئیدی مشاهده می‌شوند. بنابراین نتایج بر جذب کارآمد ترکیبات



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

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

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر فاکتورهای نانوذره نقره و روش کاربرد و اثر متقابل نانوذره نقره × روش‌های کاربرد بر صفت درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت معنی‌دار بود (جدول ۲). به نظر می‌رسد با ورود نانوذرات نقره به داخل سلول‌های بذر، واکنش‌های اکسیداسیون احیا از طریق رادیکال بودن سوپر اکسید تشدید شده و باعث دفع شدن رادیکال‌های آزاد در بذرهای در حال جوانه‌زنی شده و به دلیل اکسیژن تولید شده در چنین فرآیندی می‌تواند جوانه‌زنی بذر را تحریک کند (Itrotwar *et al.*, 2020). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در بین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره، کاربرد غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره موجب افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت گردید. تیمار افزودن غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره سبب شد تا بیشترین درصد جوانه‌زنی بذرها بدست آید. با کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به روش افزودن در بستر کاشت و روش پیش‌تیمار نمودن موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت به ترتیب در حدود ۹/۲۲ و ۶/۲۷ درصدی نسبت به شاهد گردید (شکل ۳a). با توجه به اینکه هر دو روش کاربرد نانوذره منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی در غلظت‌های کمتر شده است بنابراین می‌توان چنین استنباط

کرد که کاربرد نانوذرات نقره در غلظت‌های پایین از طریق بذر جذب شده که می‌تواند به نوبه خود بر درصد جوانه‌زنی و رشد ریشه‌چه (شکل ۶b) تاثیر گذاشته و همانطور که در مطالعه حاضر نشان داده شد منجر به افزایش قوه نامیه بذر می‌شود. از طرفی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره، درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت با افزایش غلظت نانوذره نقره از ۰/۱ به ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر روند کاهشی را در پی داشتند و در غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر در هر دو روش پیش‌تیمار و افزودن به بستر کاشت به ترتیب منجر به کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت در حدود ۶/۷ و ۴/۸۱ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۳a) در واقع نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره، نه تنها تأثیر مثبتی بر روی جوانه‌زنی بذور نداشته است بلکه باعث کاهش جوانه‌زنی بذرهای ذرت نسبت به تیمار شاهد گردید. در تحقیقات صورت گرفته تأثیر نانوذرات نقره تا غلظت‌های بهینه را بر جوانه‌زنی گندم و جو گزارش کردند و اظهار داشتند که با اعمال نانوذرات نقره درصد جوانه‌زنی هر دو گیاه ذکر شده افزایش یافت (Abou-Zeid *et al.*, 2014). از طرفی گزارش‌ها نشان داده است که نانوذرات نقره تأثیرات مثبت و منفی بر روی جوانه‌زنی بذر گلرنگ داشته است بنحویکه در سطوح پایین نانوذرات نقره (۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی بذر در

گلرنگ شده در حالی که با افزایش سطوح نقره تا ۷ میلی گرم در کیلوگرم باعث کاهش ویژگی های جوانه زنی بذر گردید که دلیل آن را تولید گونه های فعال اکسیژن دانسته که منجر به تنش اکسیداتیو در گیاهان می شود (Mohammadi Sanjani *et al.*, 2021). همچنین محققان دیگری در بررسی های صورت گرفته بر تأثیر نانوذرات نقره بر جوانه زنی ذرت نیز گزارش کردند که غلظت های

پایین نانوذرات نقره اثر تحریکی بر رشد و نمو بذور ذرت داشته و با افزایش غلظت نقره اثرات سمی بر جوانه زنی و رشد گیاهچه مشهود بود. بنحویکه به نظر می رسد اثرات منفی نانوذرات نقره بر جوانه زنی بذر ذرت از طریق ایجاد تنش اکسایشی و اختلال در جذب مواد مغذی بوجود می آید (Itoutwar *et al.*, 2020) که با پژوهش حاضر مطابقت دارد.

جدول ۲- تجزیه وایانس خصوصیات جوانه زنی و رشد گیاهچه های ذرت تحت تأثیر غلظت های مختلف نانوذره نقره و روش های کاربرد آن
Table 2- Analysis of variance of germination characteristics of corn seeds under the influence of different concentrations of silver nanoparticles (Nano-Ag) and its application methods (AM)

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

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

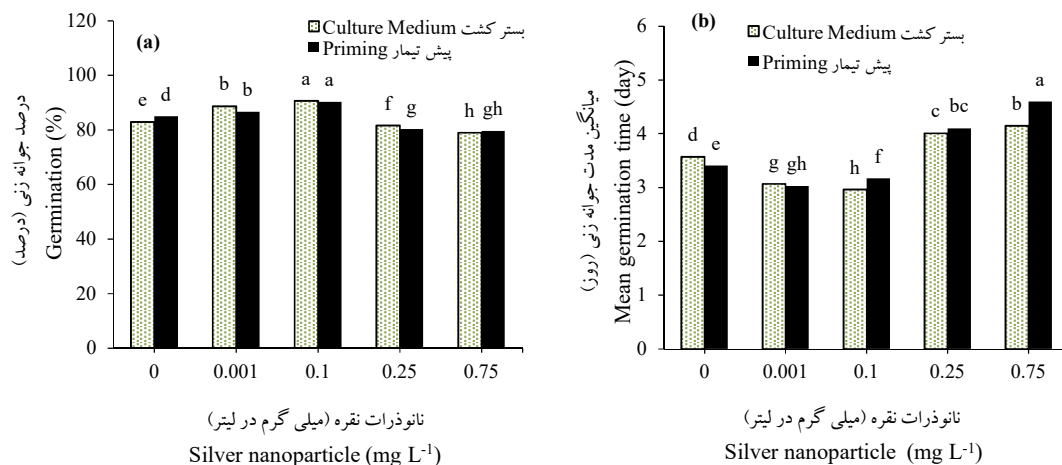
مدت جوانه زنی بذرهای ذرت بطور معنی داری کمتر از تیمار عدم کاربرد نانوذره گردد (شکل ۳b). بنحوی که در بین تیمارهای مختلف کمترین مدت جوانه زنی بذر (۲/۹۶ روز) در تیمار کاربرد غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به صورت اضافه کردن به بستر کاشت بدست آمد که با غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نقره بصورت پیش تیمار تفاوت معنی داری را نشان نداد (شکل ۳b). در واقع کاربرد غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به روش افزودن

میانگین مدت جوانه زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای نانوذرات نقره، روش های کاربرد آن و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش های کاربرد بر صفت میانگین مدت جوانه زنی بذر تأثیر معنی داری داشت (جدول ۲). با توجه به نتایج شکل ۳b مشخص گردید در هر دو روش افزودن نانوذره به بستر کاشت و پیش تیمار نمودن بذر، با کاربرد غلظت های پایین (۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر) نانوذرات نقره سبب شده تا

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

به بستر کاشت موجب کاهش ۱۷/۰۸ درصدی و کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به روش پیش‌تیمار نمودن سبب کاهش ۱۱/۱۴ درصدی میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای ذرت گردید. کاهش مدت زمان جوانه‌زنی بذر با کاربرد نانوذرات نقره در بذرهای اسفناج (Mingyu *et al.*, 2007)، گلرنگ (Zari *et al.*, 2015) و ذرت (Itrotwar *et al.*, 2020) نیز گزارش شده است. در پژوهش حاضر مشخص شد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره از ۰/۱ به ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر منجر به افزایش مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای ذرت گردید. پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به ترتیب منجر به افزایش ۲۰/۲۳ و ۳۴/۸۹ درصدی میانگین مدت جوانه‌زنی بذرهای



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

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

افزودن ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به بستر کاشت بیشترین شاخص همزمانی جوانه‌زنی حاصل گردید که با کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره (۰/۲۲۳) به روش پیش‌تیمار نمودن بذرهای مختلف معنی‌داری نداشت. در واقع با افزودن ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت سبب شد تا شاخص همزمانی جوانه‌زنی در مقایسه با تیمار شاهد در حدود ۱۳ درصد

شاخص همزمانی جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس در این آزمایش نشان‌دهنده تاثیر معنی‌داری اثر اصلی نانوذرات نقره و اثر متقابل نانوذره نقره × روش‌های کاربرد در ارتباط با صفت شاخص همزمانی جوانه‌زنی بود در صورتی که تاثیر روش‌های کاربرد نانوذره تاثیر معنی‌داری را روی این صفت نداشت (جدول ۲). با مشاهده شکل ۴a مشخص گردید که با

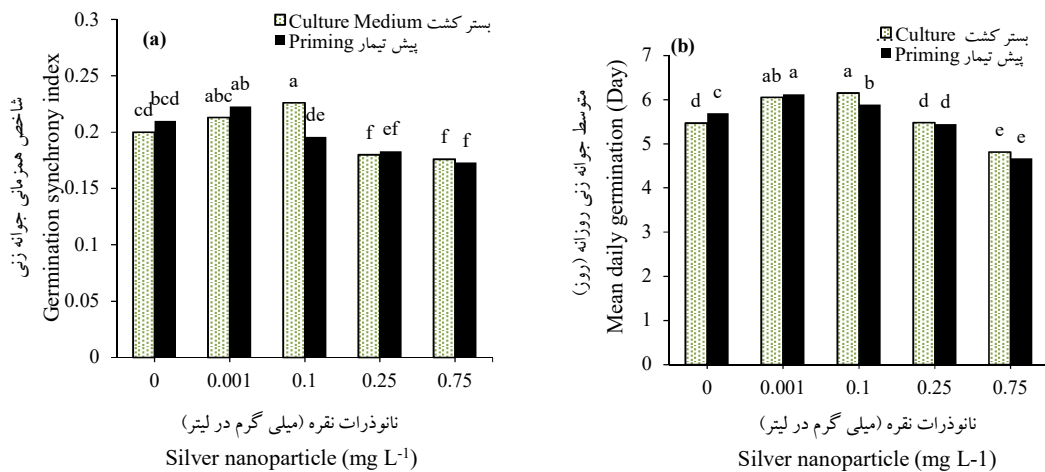
متوسط جوانه‌زنی روزانه

با بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشخص گردید که متوسط جوانه‌زنی روزانه به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اثر اصلی نانوذرات نقره و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد قرار گرفت در صورتی که اثر اصلی روش‌های کاربرد نانوذره تاثیر معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲). مطابق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها مشخص گردید که با کاربرد غلظت‌های پایین نانوذرات نقره (۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) میانگین جوانه‌زنی روزانه بذرهای ذرت به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه گردید. بیشترین متوسط جوانه‌زنی روزانه (۶/۱۵ روز) در تیمار کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره در بستر کاشت بدست آمد. همچنین در روش پیش‌تیمار نمودن بذر با نانوذرات نقره بیشترین متوسط جوانه‌زنی روزانه (۶/۱۲ روز) در تیمار کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره حاصل شد. بین تیمارهای کاربرد غلظت‌های ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره در بستر کاشت و غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره در هر دو روش کاربرد (پیش‌تیمار نمودن و افزودن نانوذره نقره به بستر کاشت) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۴b). با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید که کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به روش پیش‌تیمار نمودن بذر و همچنین کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به روش افزودن آن به بستر کاشت به ترتیب موجب افزایش در حدود ۷/۵۵ و ۱۲/۴۳ درصدی متوسط جوانه‌زنی روزانه بذرهای ذرت شده است. از آنجا که متوسط جوانه‌زنی روزانه از تقسیم جوانه‌زنی نهایی بر دوره جوانه‌زنی بدست می‌آید بنابراین این پارامتر با کاربرد غلظت بهینه نانوذرات نقره افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد کاربرد نانوذره نقره به روش افزودن به بستر کاشت و پیش‌تیمار نمودن بذر با منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی (شکل ۵a) شده، که همین امر منجر به افزایش متوسط جوانه‌زنی روزانه

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

می‌توان چنین استنباط کرد غلظت بهینه نانوذره نقره بین ۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بوده و بیشتر از این مقدار می‌تواند برای بذر ایجاد سمیت کرده و منجر به کاهش جوانه‌زنی و در نهایت بازدارندگی رشد گیاهچه شود. پژوهش محققین حاکی از آن است که جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌هایی مانند پنبه (ارقام سپید و ورامین) و ذرت در غلظت‌های پایین نانوذرات نقره بیشترین سرعت جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه را داشته، در صورتی که با افزایش نانوذره نقره به دلیل سمی بودن آن در غلظت‌های بالا تأثیر منفی بر روی بذر گیاهان ذکر شده داشته و بذرها دچار اختلال شده و این امر باعث کاهش جوانه‌زنی روزانه می‌گردد (Saberbaghban *et al.*, 2020) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

می‌شود. محققان طی تحقیقات انجام گرفته بر روی تأثیر نانوذرات نقره بر مولفه‌های جوانه‌زنی گزارش کردند که نانوذره نقره در غلظت‌های پایین و با روش‌های گوناگون منجر به افزایش ویژگی‌های جوانه‌زنی شده است، بطوری‌که بهترین جوانه‌زنی روزانه در غلظت‌های پایین در گیاه گندم (Belava *et al.*, 2017) و ذرت (Sehnal *et al.*, 2020) بدست آمد. از طرفی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزایش غلظت نانوذرات نقره منجر به کاهش متوسط جوانه‌زنی روزانه شد. بنحویکه کاربرد ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره به روش پیش‌تیمار و افزودن به بستر کاشت به ترتیب منجر به کاهش ۱۷/۹۲ و ۱۲/۰۶ درصدی متوسط جوانه‌زنی روزانه بذرها ذرت نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۴b). در واقع با توجه به نتایج



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

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

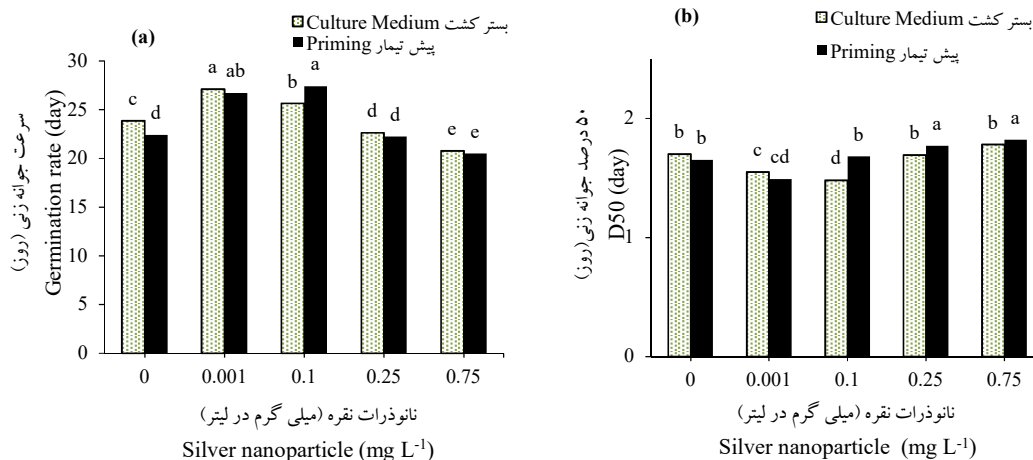
سرعت جوانه‌زنی

که در هر دو روش کاربرد غلظت‌های پایین نانوذره نقره (۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) سرعت جوانه‌زنی افزایش یافت. بنحویکه، بیشترین سرعت جوانه‌زنی با میانگین ۲۷/۴۲ در روز از تیمار افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره در بستر کاشت حاصل شد که از نظر آماری به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود (شکل ۵a). همچنین پیش‌تیمار نمودن

با بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشخص گردید که متوسط جوانه‌زنی روزانه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثر اصلی نانوذرات نقره و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد قرار گرفت در صورتی که اثر اصلی روش‌های کاربرد نانوذره تأثیر معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها گویای آن است

سرعت جوانه‌زنی بذرهای تیمار شده با غلظت‌های کم نانوذرات نقره ممکن است به دلیل افزایش سرعت تقسیم سلولی در سلول‌های مریستم ریشه‌چه‌ی ذرت از همان ابتدای شروع تیمار با نانوذرات نقره باشد که مطالعات دیگر محققین بر روی بذور ذرت این مطلب را تأیید می‌کند (Tong et al., 2018). از طرفی نتایج نشان داد که کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به روش پیش تیمار، منجر به کاهش به ترتیب ۵/۲۲ و ۱۲/۹۰ درصدی سرعت جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۵a). همچنین افزودن غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به بستر کاشت، منجر به کاهش به ترتیب ۸/۵۲ و ۰/۶۲ درصدی سرعت جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد.

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



شکل ۵- تاثیر تیمارهای نانوذره نقره و روش‌های کاربرد بر سرعت جوانه‌زنی (a) و زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی (b) بذر ذرت
Figure 5- The effects of copper oxide nanoparticles and application methods treatments on germination rate (a) and D50 (b) of corn seed

کاهش یافت، به طوری که نتایج نشان داد که کمترین زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت (۱/۴۸ روز) مربوط به تیمار افزودن غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به بستر کاشت بود که به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود، اما اختلاف معنی‌داری با تیمار کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره

زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نانوذرات نقره، روش‌های کاربرد آن و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد بر مدت زمان لازم تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ۲). با کاربرد غلظت‌های ۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نسبت به تیمار عدم کاربرد

به روش پیش‌ تیمار بذر نشان نداد (شکل ۵b). همچنین پیش‌ تیمار نمودن بذر با غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم نانوذره نقره نیز موجب کاهش معنی‌ دار زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی گردید که به‌طور معنی‌ داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بود. به‌ نظر می‌ رسد استفاده از هر دو روش کاربرد در غلظت پایین نانوذره نقره، از طریق افزایش سرعت جوانه‌زنی (شکل ۵a)، کوتاه شدن متوسط مدت جوانه‌زنی (شکل ۳b) و افزایش جوانه‌نی روزانه (شکل ۴b) منجر به کاهش زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی گردید. همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت از ۰/۱ تا ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره در هر دو روش کاربرد منجر به افزایش زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی گردید. در واقع کاهش سرعت جوانه‌زنی و افزایش زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی در غلظت‌های بالای نانوذره نقره احتمالاً به دلیل اثرات سمی ایجاد شده در این غلظت‌ها است (Savassa et al., 2021) که منجر به کاهش جذب آب توسط بذر شده و در نهایت باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی و افزایش زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی می‌شود.

طول گیاهچه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، نانوذرات نقره، روش‌های کاربرد آن و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد بر طول گیاهچه‌های ذرت تأثیر معنی‌ داری داشت (جدول ۲). نتایج شکل ۶a نشان داد که کاربرد غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره در هر دو روش کاربرد نانوذره (پیش‌ تیمار و افزودن به بستر کاشت) به‌طور معنی‌ داری سبب افزایش طول گیاهچه‌های ذرت گردید. به‌طوری‌که بیشترین طول گیاهچه با میانگین ۳۹/۸۹ سانتی‌متر از تیمار افزودن ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت بذرهای ذرت حاصل شد که به‌طور معنی‌ داری بیشتر از طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود. با کاربرد تیمار فوق، طول گیاهچه‌های ذرت نسبت به تیمار

شاهد در حدود ۴۶/۱۱ درصدی بیشتر بود (شکل ۶a). همچنین در روش پیش‌ تیمار نمودن بذرهای، بیشترین طول گیاهچه از تیمار کاربرد غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بدست آمد که با غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره با همین روش کاربرد اختلاف معنی‌ داری را نشان نداد (شکل ۶a). محققان گزارش کردند که تیمار نانوذره نقره منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی، طول ساقچه‌چه، طول ریشه‌چه و در نتیجه منجر به بهبود استقرار گیاهچه‌های کلزا گردید (Yin et al., 2012). بنحویکه بیان شده است نانوذره نقره می‌تواند از طریق بذر جذب شده که در این صورت به نوبه خود بر درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه تأثیر می‌گذارد (Afsheen et al., 2020). در واقع این افزایش رشد گیاهچه‌های ذرت تیمار شده با غلظت‌های ۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره، می‌تواند ناشی از فعالیت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی از جمله جیبرلین و سیتوکینین باشد که این موضوع را محققین دیگری تأیید می‌کنند (Shukla et al., 2019). همچنین نانوذرات نقره با افزایش محتویات آب سلولی باعث تحریک در سرعت جوانه‌زنی (شکل ۶a) در مراحل بعدی تمایز و رشد گیاهچه می‌شود. با توجه به اینکه نانوذره نقره در غلظت‌های بالا باعث ایجاد سمیت و جلوگیری از جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه می‌شود (Savassa et al., 2021) بنابراین در مطالعه حاضر نشان داده شد که با افزایش غلظت نانوذره نقره (۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر) در هر دو روش کاربرد منجر به کاهش طول گیاهچه‌های ذرت گردید. بطوری‌که، پیش‌ تیمار نمودن بذرهای با غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره منجر به کاهش ۷/۳۸ و ۱۱/۷۹ درصدی طول گیاهچه‌های حاصله نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین در تیمار کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت، طول گیاهچه‌های حاصل شده به ترتیب در حدود ۳/۲۶ و ۷/۲۸ درصد نسبت به طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد کاهش داشت (شکل

۶a). تحقیقات محققین نشان داد که طول ریشه چه و ساقه چه یکی از شاخص‌های مناسب جهت تعیین سمیت فلزات می‌باشد (Stampoulis *et al.*, 2009). مهار رشد گیاهچه تا حدودی با غلظت نانوذرات نقره ارتباط دارد. در واقع رشد گیاهچه در شرایط استفاده از غلظت‌های بالای نانوذرات نقره با برهمکنش آن‌ها با واکنش‌های بیوشیمیایی درون گیاه منجر به تخریب متابولیسم گیاه می‌شود (Tong *et al.*, 2018). همچنین اختلال در مسیر انتقال آب نیز می‌تواند یکی از راه‌هایی باشد که نانوذرات نقره می‌تواند موجب آسیب به گیاهچه و جلوگیری از رشد آن باشد (Afsheen *et al.*, 2020).

وزن خشک گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر فاکتورهای نانوذرات نقره و روش کاربرد و اثر متقابل نانوذره نقره × روش‌های کاربرد بر صفت وزن خشک گیاهچه ذرت معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج شکل ۶b نشان داد که کاربرد غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره در هر دو روش کاربرد نانوذره (پیش‌تیمار و افزودن به بستر کاشت) به‌طور معنی‌داری سبب افزایش وزن خشک گیاهچه‌های ذرت گردید. به‌طوریکه بیشترین طول گیاهچه با میانگین ۰/۳۹۹ گرم از تیمار افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت بذرهای ذرت حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود. با کاربرد تیمار فوق، وزن خشک گیاهچه‌های ذرت نسبت به تیمار شاهد در حدود ۳۶/۱۷ درصدی بیشتر بود (شکل ۶b). همچنین در روش پیش‌تیمار نمودن بذرها، بیشترین وزن خشک گیاهچه با میانگین ۰/۳۹۸ گرم از تیمار کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد که با غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره با همین روش کاربرد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۶b). در واقع برتری گیاهچه‌های حاصل از تیمارهای، پیش‌تیمار نمودن و

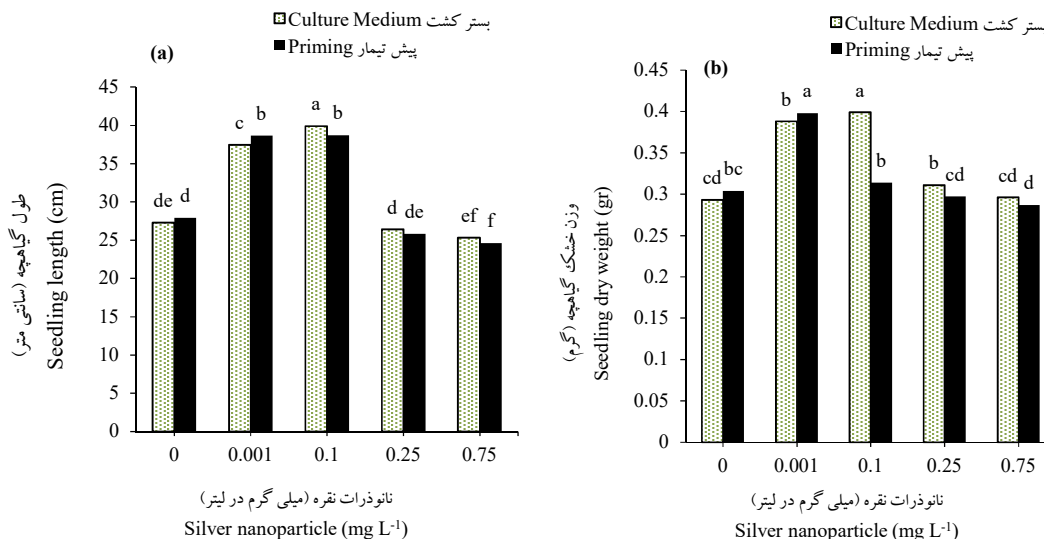
افزودن نانوذره نقره به بستر کاشت در غلظت‌های ۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره از نظر وزن خشک گیاهچه را می‌توان به سرعت بالای جوانه‌زنی بذر (شکل ۵a) آن‌ها نسبت داد. به عبارت دیگر، نانوذره نقره موجب می‌شود تا بذرهای ذرت سریع‌تر در مقایسه با تیمار عدم کاربرد نانوذره جوانه‌زده در نتیجه فرصت بیشتری برای رشد گیاهچه خواهد بود که این امر منجر به افزایش وزن خشک گیاهچه می‌گردد. همچنین نتایج نشان داد که افزایش غلظت نانوذره نقره منجر به کاهش وزن خشک گیاهچه گردید که یکی از دلایل این کاهش را می‌توان به کاهش جذب آب توسط بذر در اثر وجود نانوذره نقره دانست که باعث کاهش ترشح هورمون‌ها (سیتوکینین و جبریلین)، افزایش فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد گیاهچه و کاهش وزن خشک گیاهچه می‌شود. افزایش طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه با کاربرد نانوذرات نقره در بذر گیلاس اسپانیایی (Alshehddi *et al.*, 2020) و برنج (Iqbal *et al.*, 2020) نیز گزارش شده است. در صورتی که در تحقیقی دیگر که بر روی گیاهچه‌های کاهو انجام گرفته بود، گزارش شده که غلظت‌های کم نانوذره نقره تا حدودی منجر به افزایش طول و وزن خشک گیاهچه گردیده و در غلظت‌های بالای به دلیل خاصیت سمیت نانوذره در سطوح بالا منجر به بازدارندگی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کاهو شده در نتیجه وزن خشک گیاهچه کاهش یافت (Daniels *et al.*, 2006) که نتایج آن با مطالعه حاضر مطابقت داشت.

شاخص قدرت بذر

با بررسی نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها مشخص گردید که شاخص قدرت بذر به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای نانوذرات نقره و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد قرار گرفت در صورتی که اثر روش‌های کاربرد نانوذره تاثیر معنی‌داری را بر روی این صفت نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین گویای آن است که روش‌های کاربرد نانوذرات نقره تا حدودی منجر به افزایش

بستر کاشت با میانگین ۳۶۱۷/۰۶ حاصل شد که منجر به افزایش ۶۸/۲۵ درصدی نسبت به تیمار شاهد گردید.

معنی دار شاخص قدرت بذر شد. بنحویکه، بیشترین شاخص قدرت بذر از تیمار ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره در



شکل ۶- تاثیر تیمارهای نانوذره نقره و روش‌های کاربرد بر طول گیاهچه (a) و وزن خشک گیاهچه‌های (b) ذرت
Figure 6- The effects of silver nanoparticles and application methods treatments on seedling dry (a) and seedling length (b) of corn

افزایش شاخص قدرت بذر با کاربرد نانوذرات نقره در بذرهای خردل سیاه (Sharma *et al.*, 2012)، آویشن کوهی (Abbasi Khalaki *et al.*, 2016) و جو (Elamawi *et al.*, 2014) نیز گزارش شده است. همچنین در مطالعه حاضر نشان داده شد که با افزایش غلظت نانوذره نقره (۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر) در هر دو روش کاربرد منجر به کاهش شاخص قدرت بذر ذرت گردید. بطوری که، پیش تیمار نمودن بذرها با غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره منجر به کاهش ۷/۱۲ و ۱۳/۰۲ درصدی شاخص قدرت بذر حاصله نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین در تیمار کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره به بستر کاشت، شاخص قدرت بذر حاصل شده به ترتیب در حدود ۲/۳۸ و ۸/۷۳ درصد نسبت به شاخص قدرت بذر حاصل از بذرهای شاهد کاهش داشت (شکل ۷a). در واقع وجود نانوذرات نقره در غلظت‌های بالا منجر به تنش اکسیداتیو

همچنین در بین روش پیش تیمار کردن، بیشترین شاخص قدرت بذر از پیش تیمار نمودن بذرها با ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره با میانگین ۳۴۹۷/۱۶ بدست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۵۶/۴۳ درصد افزایش داشت (شکل ۷a). در واقع بهبود شاخص قدرت بذر را می‌توان به بهبود درصد جوانه‌زنی (شکل ۳a) و طول گیاهچه‌ها (شکل ۷a) نسبت داد. در مطالعه حاضر نشان داده شد کاربرد نانوذره نقره در هر دو روش مورد آزمایش (پیش تیمار نمودن و افزودن به بستر کاشت) در غلظت‌های پایینی نانوذره نقره (۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم) با بهبود جوانه‌زنی (شکل ۳a) و وزن خشک گیاهچه‌ها (شکل ۷b) منجر به افزایش معنی دار در نتیجه بهبود شاخص قدرت بذر شود. در واقع روش‌های بکار برده برای اعمال نانوذره نقره نه تنها سرعت (شکل ۵a) و مدت زمان جوانه‌زنی (شکل ۳b) را بهبود می‌بخشد، بلکه قدرت گیاهچه‌ها را از طریق افزایش طول گیاهچه‌ها (شکل ۶a) و درصد جوانه‌زنی (شکل ۳a) افزایش می‌دهد.

شده و در محیط جوانه‌زنی به دلیل نفوذ سریع به داخل بذر همراه با آب از طریق تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مهم از جمله جلوگیری از تقسیم سلول‌ها، منجر به اختلال در رشد گیاهچه و در نتیجه کاهش شاخه بنبه بذر می‌شود (Saberbaghban *et al.*, 2020). در این راستا محققان گزارش کردند که غلظت‌های بالای نانوذره نقره منجر به کاهش شاخص قدرت بذر گندم (Yasmeen *et al.*, 2015) شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

اسید آمینه پرولین

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) اثر تیمارهای نانوذرات نقره، روش کاربرد و اثر متقابل نانوذرات نقره × روش‌های کاربرد بر اسید آمینه پرولین معنی‌دار بود. در هر دو روش کاربرد، اسید آمینه پرولین گیاهچه‌های حاصل با کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره نسبت به اسید آمینه پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۷b). همچنین با افزایش غلظت نانوذرات نقره، محتوای پرولین گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که در روش پیش‌تیمار بذر، بیشترین اسید آمینه پرولین گیاهچه‌ها در تیمار کاربرد غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره بدست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود. در روش افزودن نانوذرات نقره به بستر کاشت هم، کاربرد غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره، محتوای اسید آمینه پرولین گیاهچه‌ها بیشترین بود که بین روش‌های کاربرد در این غلظت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین کمترین محتوای پرولین در تیمار شاهد مشاهده شد. در واقع پیش‌تیمار نمودن بذرها و افزودن غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به بستر کاشت به ترتیب منجر به افزایش ۹۴/۱۱ و ۹۱/۶۱ درصدی محتوای اسید آمینه پرولین نسبت به تیمارهای شاهد شد (شکل ۷b). در واقع پرولین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و با حذف فعالیت اکسیژن‌واکنش‌پذیر (ROS)، مقاومت

گیاهچه‌ها را به تنش اکسیداتیو افزایش می‌دهد (Nawaz and Bano, 2020). بنابراین به نظر می‌رسد در گیاهچه‌های ذرت اسید آمینه پرولین به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو عمل می‌کنند و با افزایش غلظت نانوذرات نقره افزایش می‌یابد. محققان گزارش کردند که نانوذرات نقره سنتز شده به روش سنتز سبز منجر به افزایش محتوای پرولین در گیاه بادرنجبویه شد (Shavalibor and Esmailzadeh, 2019). همچنین افزایش محتوای پرولین بر اثر استفاده از پیش‌تیمار کردن بذرها با نانوذرات نقره در گیاهچه‌های گندم (Bano, 2020)، ذرت (Iqbal *et al.*, 2022)، جو (Doğaroğlu and Köleli, 2017) گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

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

با افزایش غلظت نانوذره از ۰/۰۰۱ به ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های ذرت افزایش یافت که روند افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز با افزایش غلظت نانوذرات نقره معنی‌دار بود. به‌نحوی‌که در بین تیمارهای مورد مطالعه، بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز گیاهچه‌ها در تیمار کاربرد غلظت ۰/۷۵

میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی فنول اکسیداز از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما با کاربرد غلظت ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی فنول اکسیداز به ترتیب در حدود ۱/۲۱ و ۷/۰۳ درصد گردید.

میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد و سایر تیمارها بود (جدول ۴). کاربرد غلظت ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره سبب شد تا میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز به ترتیب در حدود ۳۹/۲۷، ۸۷/۵۲ و ۳۱/۸۴ درصد افزایش داشته باشد. اگرچه بین تیمار شاهد و تیمار کاربرد غلظت ۰/۰۰۱

جدول ۳- تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و اسید آمینه پرولین گیاهچه‌های ذرت

تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره نقره و روش‌های کاربرد آن

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

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

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

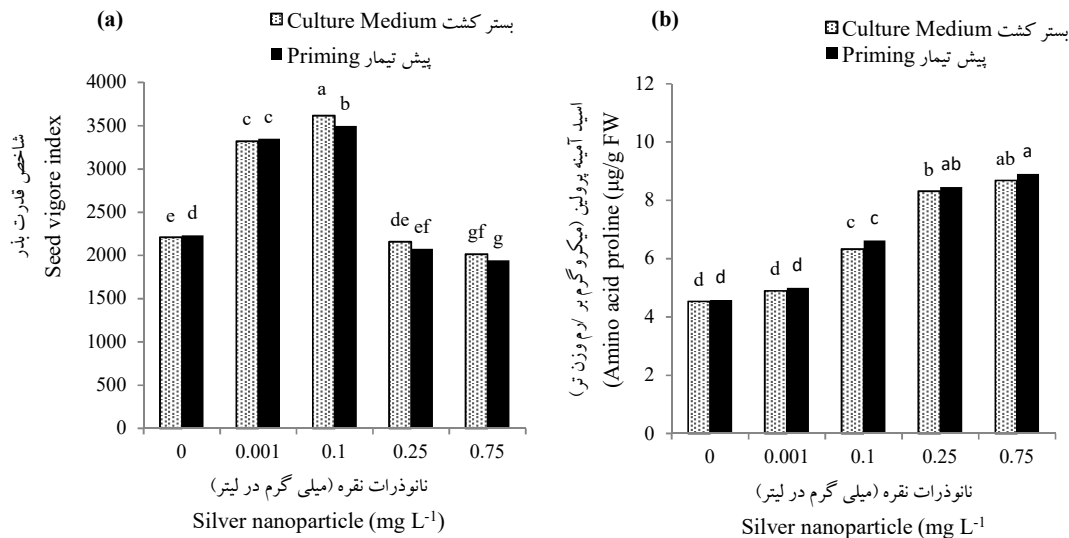
^{ns}, * and ** are non-significant and significant probability level of 5%, 1%, respectively

تیمار شاهد گردید (جدول ۴). یکی از با اهمیت‌ترین اجزای مکانیسم محافظت‌کننده در گیاه، آنزیم کاتالاز بوده، که در میتوکندری و پراکسی‌زوم وجود دارد. این آنزیم در پاکسازی رادیکال‌های آزاد خصوصاً تولید پراکسید هیدروژن در شرایط تنش نقش مهمی را ایفا می‌کند (Sehnal et al., 2019). در واقع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، به ویژه برای پراکسید هیدروژن و سوپراکسید القا شده توسط نانوذرات می‌تواند باعث اکسیداتیو شود. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش

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

به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره موجب شد تا میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی کاهش یافته و این امر منجر به بهبود جوانه‌زنی (شکل ۳a)، رشد گیاهچه (شکل ۶b) و بهبود شاخص قدرت بذر (شکل ۷a) می‌شود. نتایج یافته‌های این پژوهش با دیگر محققان همخوانی دارد (Nawaz and Bano, 2020; Bano, 2020).

تغییر در فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز یکی از مکانیسم‌های مهمی است که در شرایط روبه‌رو شدن گیاه با تنش‌های اکسیداتیو از جمله تنش فلزات سنگین برای بالا بردن تحمل گیاهچه در این شرایط رخ می‌دهد (Gupta et al., 2018). همچنین پیش‌تیمار نمودن بذر ها موجب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در گیاهچه‌های ذرت شد.



شکل ۷- تاثیر تیمارهای نانوذره نقره و روش‌های کاربرد بر شاخص قدرت (a) و اسید آمینه پرولین (b) گیاهچه‌های ذرت

Figure 7- The effects silver nanoparticles and application methods treatments on vigor index (a) and amino acid proline (b) of corn seedlings

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

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

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

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

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

نتیجه گیری کلی

در مطالعه حاضر، ویژگی‌های جوانه‌زنی و پاسخ‌های مختلف فعالیت بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره و روش‌های کاربرد آن مورد بررسی قرار گرفت. بطور کلی پژوهش حاضر نشان داد، کاربرد غلظت‌های مناسب و بهینه نانوذرات نقره در هر دو روش کاربرد آن موجب بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های ذرت گردید. در بین تیمارهای مورد استفاده، پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره و افزودن ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره موثرترین تیمارها برای بهبود جوانه‌زنی و شاخص‌های رشدی ذرت باشد. زیرا استفاده

از این تیمارها منجر به افزایش خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گردید. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از نانوذرات نقره با افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش و جلوگیری از خسارات وارده توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده که این امر خود منجر به بهبود خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها گردیده است. در واقع محتوای اسید آمینه پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، نشان‌دهنده فعال شدن سیستم دفاعی گیاهچه برای کاهش پراکسید هیدروژن تحت تأثیر نانوذرات نقره بود. بنابراین می‌توان بیان کرد که نانوذرات نقره سنتز شده به‌عنوان محرک مناسب برای بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه پیشنهاد می‌شود.

Reference

منابع

- Abbasifar, A., F. Shahrabadi, and B. ValizadehKaji., 2020. Effects of green synthesized zinc and copper nano-fertilizers on the morphological and biochemical attributes of basil plant. *J. Plant. Nutr.* 43 (8): 1104-1118. DOI:10.1080/01904167.2020.1724305.
- Abou-Zeid, H.M., and Y. Moustafa. 2014. Physiological and Cytogenetic Responses of Wheat and Barley to Silver Nanopriming Treatment. *Inter. J. Appl. Biol. Psheiharm. Technol.* 5 (3): 265-278.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105: 121-126. DOI:10.1016/s0076-6879(84)05016-3.
- Afrouz, M., and P. Sheikhzadeh. 2023. Improving seed germination, growth, and biochemical characteristics of corn seedlings via the application of iron oxide nanoparticles synthesized from oregano (*Origanum vulgare*). *Iranian J. Seed Sci. Technol.* 12(1), 41-60. DOI: 10.22092/ijst.2022.359765.1447. (In Persian)
- Afsheen, S., H. Naseer, T. Iqbal, M. Abrar, A. Bashir, and M. Ijaz. 2020. Synthesis and characterization of metal sulphide nanoparticles to investigate the effect of nanoparticles on germination of soybean and wheat seeds. *Mater. Chem. Phys.* 252: 123216. DOI:10.1016/j.matchemphys.2020.123216.
- Ahmadi Nouraldinvand, F., R. Seyed Sharifi, S. A. Siadat, and R. Khalilzadeh. 2021. Effect of water limitation and application of bio-fertilizer and nano-silicon on yield and some biochemical traits of wheat. *Cereal Res.* 10(4): 285-298. DOI:10.22059/jci.2022.333768.2639. (In Persian)
- Alshehddi, L.A.A. and N. Bokhari. 2020. Influence of gold and silver nanoparticles on the germination and growth of *Mimusops laurifolia* seeds in the South-Western regions in Saudi Arabia. *Saudi J. Biol. Sci.* 27(1): 574-580. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.11.013.
- Bano, A. 2020. Interactive effects of Ag-nanoparticles, salicylic acid, and plant growth promoting rhizobacteria on the physiology of wheat infected with yellow rust. *J. Plant. Pathol.* 102(4): 1215-1225. DOI:10.1007/s42161-020-00626-y.
- Bates, L. S., R. D. Walderen, and I. D. Taere. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 39: 205-207. DOI:10.1007/BF00018060.

- Belava, V.N., O. O. Panyuta, G. M. Yakovleva, Y. M. Pysmenna, and M. V. Volkogon. 2017.** The effect of silver and copper nanoparticles on the wheat—*Pseudocercospora herpotrichoides* Pathosystem. *Nanoscale Res. Lett.* 12(1): 1-10. DOI:10.1186/s11671-017-2028-6.
- Bhavyasree, P.G., and T.S. Xavier. 2020.** Green synthesis of Copper Oxide/Carbon nanocomposites using the leaf extract of *Adhatoda vasica* Nees, their characterization and antimicrobial activity. *Heliyon.* 6:e03323. DOI:10.1016/j.heliyon.2020.e03323.
- Chance, B., and A.C. Maehly. 1955.** Assay of catalase and peroxidase. *Methods Enzymol.* 2: 764-775. DOI:10.1016/S0076-6879(55)02300-8.
- Chang, C.J., and C.H. Kao. 1998.** H₂O₂ metabolism during senescence of rice leaves: changes in enzyme activities in light and darkness. *Plant Growth Regul.* 25 (1): 11-15. DOI:10.1023/A:1005903403926.
- Choudhury, R., M. Majumder, D. N. Roy, S. Basumallick, and T. K. Misra. 2016.** Phytotoxicity of Ag nanoparticles prepared by biogenic and chemical methods. *Int. Nano Lett.* 6(3): 153-159. DOI:10.1007/s40089-016-0181-z.
- Daniels, J.K., T. P. Caldwell, K. A. Christensen, and G. Chumanov. 2006.** Monitoring the kinetics of *Bacillus subtilis* endospore germination via surface-enhanced Raman scattering spectroscopy. *Analytical Chem.* 78(5): 1724-1729. DOI:10.1021/ac052009v.
- Doğaroğlu, Z.G., and N. Köleli. 2017.** TiO₂ and ZnO nanoparticles toxicity in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Clean–Soil Air. Water.* 45(11): 1700096. DOI:10.1002/clen.201700096.
- Ellis, R.H., and E.H. Roberts. 1981.** The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed. Sci. Technol.* 9: 373-409.
- El-Temseh, Y.S., and E. J. Joner. 2012.** Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil. *Environ. Toxicol.* 27(1):42-49. DOI:10.1002/tox.20610.
- Esper Neto, M., D.W. Britt, K.A. Jackson, C.F. Coneglian, T.T. Inoue, and M.A. Batista. 2021.** Early growth of corn seedlings after seed priming with magnetite nanoparticles synthesised in easy way. *Acta. Agric. Scandi. Sec-B. Soil Plant Sci.* 71(2): 91-97. DOI:10.1080/09064710.2020.1852304.
- Finch-Savage, W.E., and S. Footitt. 2017.** Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. *J. Exp. Bot.* 68 (4): 843-856. DOI:10.1093/jxb/erw477.
- Gupta, S.D., A. Agarwal, and S. Pradhan. 2018.** Phytostimulatory effect of silver nanoparticles (AgNPs) on rice seedling growth: An insight from antioxidative enzyme activities and gene expression patterns. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 161: 624-633. DOI:10.1016/j.ecoenv.2018.06.023.
- Hazrati R, N. Zare, R. Asghari, P. Sheikhzadeh, and M. Johari-Ahar. 2022.** Biologically synthesized CuO nanoparticles induce physiological, metabolic, and molecular changes in the hazel cell cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 106(18):6017-6031. DOI: 10.1007/s00253-022-12107-6.
- Hazrati R., N. Zare, R. Asghari-Zakaria, and P. Sheikhzadeh. 2023.** Green synthesized Ag nanoparticles stimulate gene expression and paclitaxel production in *Corylus avellana* cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 107(19):5963-5974. DOI: 10.1007/s00253-023-12683-1.
- Hunter, E.A., C.A. Glasbey, and R.E.L. Naylor. 1984.** The analysis of data from germination tests. *J. Agric. Sci.* 102 (1): 207 -213. DOI:10.1017/S0021859600041642.
- Iqbal, S., M. Farid, M. Zubair, Z.U.Z. Asam, S. Ali, M. Abubakar, S. Farid, and M. Rizwan. 2022.** Efficacy of Various Amendments for the Phytomanagement of Heavy Metal Contaminated Sites and Sustainable Agriculture: a review. Pp 239-272. *In* M. Hasanuzzaman, G. Jalal Ahammed, and K. Nahar(eds). *Managing Plant Production under Changing Environment.* Springer, Singapore. DOI:10.1007/978-981-16-5059-8_9.
- Itroutwar, P.D., G. Kasivelu, V. Raguraman, K. Malaichamy, and S. K. Sevathapandian. 2020.** Effects of biogenic zinc oxide nanoparticles on seed germination and seedling vigor of maize (*Zea mays*). *Biocatalysis Agric. Biotechnol.* 29: 101778. DOI:10.1016/j.cbab.2020.101778.

- Kannan, R., R. Arumugam, D. Ramya, K. Manivannan, and P. Anantharaman. 2013.** Green synthesis of silver nanoparticles using marine macroalga *Chaetomorpha linum*. Appl. Nanotechnol. 3(3): 229-233. DOI:10.1007/s13204-012-0125-5.
- Kar, M, and D. Mishra. 1976.** Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant. Physiol. 57 (2): 315-319. DOI:10.1104/pp.57.2.315.
- Lahuta, L.B., J. Szablińska-Piernik, K. Glowacka, K. Stalanowska, V. Railean-Plugaru, M. Horbowicz, P. Pomastowski, and B. Buszewski. 2022.** The Effect of Bio-Synthesized Silver Nanoparticles on Germination, Early Seedling Development, and Metabolome of Wheat (*Triticum aestivum* L.). Molecules. 27(7): 2303. DOI:10.3390/molecules27072303.
- Mingyu, S., H. Fashui, L. Chao, W. Xiao, L. Xiaoqing, C. Liang, G. Fengqing, Y. Fan, and L. Zhongrui. 2007.** Effects of nano-anatase TiO₂ on absorption, distribution of light, and photoreduction activities of chloroplast membrane of spinach. Biol. Trace. Element. Res. 118(2): 120-130. DOI:10.1007/s12011-007-0006-z.
- Mittal, A.K., Y. Chisti, and U.C. Banerjee. 2013.** Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. Biotechnol. Adv. 31(2): 346-356. DOI:10.1016/j.biotechadv.2013.01.003.
- Mohammadi Sanjani, A. M. Hosseinzadeh, and M. Sorahi. 2021.** The effect of silver nanoparticles treatment on some physiological and biochemical responses of safflower. Appl. Biol. 33(4): 149-164. DOI:10.22051/jab.2020.31071.1365. (In Persian)
- Muhammad, I., M. Kolla, R. Volker, and N. Günter. 2015.** Impact of nutrient seed priming on germination, seedling development, nutritional status and grain yield of maize. J. Plant. Nutr. 38 (12): 1803-1821. DOI:10.1080/01904167.2014.990094.
- Nawaz, S., and A. Bano. 2020.** Effects of PGPR (*Pseudomonas* sp.) and Ag-nanoparticles on enzymatic activity and physiology of cucumber. Recent Patents Food. Nutr. Agric. 11(2):124-136. DOI: 10.2174/2212798410666190716162340.
- Ocvirk, D., M. Špoljarević, M. Kristić, J. T. Hancock, T. Teklić, and M. Lisjak. 2021.** The effects of seed priming with sodium hydrosulphide on drought tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in germination and early growth. Ann. Appl. Biol. 178 (2): 400-413. DOI:10.1111/aab.12658.
- Patiño-Ruiz, D., L. Sánchez-Botero, L. Tejeda-Benitez, J. Hinestroza, and A. Herrera. 2020.** Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Cymbopogon citratus* extract and sodium carbonate salt: Nanotoxicological considerations for potential environmental applications. Environ. Nanotechnol. Monit. Manage. 14 (100377): 1-10. DOI:10.1016/j.enmm.2020.100377.
- Rutkowski, M., L. Krzemińska-Fiedorowicz, G. Khachatryan, K. Bulski, A. Kolton, and K. Khachatryan. 2022.** Biodegradable Silver Nanoparticles Gel and Its Impact on Tomato Seed Germination Rate in In-Vitro Cultures. Appl. Sci. 12(5): 2722. DOI:10.3390/app12052722.
- Saberbaghban, Z., M. Ahmadzadeh, and H. R. Haddadi. 2020.** Effect of nano silver particles on seed germination indices of cotton (Sepid and Varamin) and maize (Single Cross 704) seeds and its effects on *Xanthomonas smithii* a seed-born pathogen of cotton. Iran. Seed. Sci. Technol. 8 (2): 33-46. (In Persian) DOI:10.22034/IJSST.2018.109046.1046.
- Savassa, S.M., H. Castillo-Michel, A.E.P. del Real, J. Reyes-Herrera, J.P.R. Marques, and de H.W. Carvalho. 2021.** Ag nanoparticles enhancing *Phaseolus vulgaris* seedling development: understanding nanoparticle migration and chemical transformation across the seed coat. Environ. Sci. Nano. 8(2): 493-501. DOI:10.1039/D0EN00959H.
- Sehna, K., B. Hosnedlova, M. Docekalova, M. Stankova, D. Uhlirova, Z. Tothova, M. Kepinska, H. Milnerowicz, C. Fernandez, B. Ruttkay-Nedecky, and H. V. Nguyen. 2019.** An assessment of the effect of green synthesized silver nanoparticles using sage leaves (*Salvia officinalis* L.) on germinated plants of maize (*Zea mays* L.). Nanomaterials. 9(11): 1550. DOI:10.3390/nano9111550.
- Sharma, P., D. Bahatt, M.G.H. Zaidi., P. P. Saradhi., P. K. Khanna, and S. Arora. 2012.** Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of Brassica juncea. Appl. Biochem. Biotechnol. 167(8): 2225-2233. DOI:10.1007/s12010-012-9759-8.

- Shavalibor, A., and S. Esmailzadeh. 2019.** The effect of silver nanoparticles synthesized by biological method on growth, physiological and biochemical properties of *Melissa officinalis* L. *Plant. Processes Func.* 8 (32): 19-34. (In Persian) DOI:20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9.
- Shukla, P., P. Chaurasia, K. Younis, O. S. Qadri, S. A. Faridi, and G. Srivastava. 2019.** Nanotechnology in sustainable agriculture: studies from seed priming to post-harvest management. *Nanotechnol. Environ. Eng.* 4(1): 1-15. DOI:10.1007/s41204-019-0058-2.
- Singh, Y., S. Kaushal, and R. S. Sodhi. 2020.** Biogenic synthesis of silver nanoparticles using cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. WUC 59 cell-free extract and their effects on bacterial growth and seed germination. *Nanoscale Adv.* 2(9): 3972-3982. DOI:10.1039/D0NA00357C.
- Smirnov, O., V. Kalynovskiy, Y. Yumyna, P. Zelena, T. Levenets, M. Kovalenko, V. Dzhagan, and M. Skoryk. 2022.** Potency of phytosynthesized silver nanoparticles from *Lathraea squamaria* as anticandidal agent and wheat seeds germination enhancer. *Biologia.* 77: 2715-2724. DOI:10.1007/s11756-022-01117-4.
- Stampoulis, D., S. K. Sinha, and J. C. White. 2009.** Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environ. Sci. Technol.* 43(24): 9473-9479.
- Sun, Q., X. Cai, J. Li, and M. Zheng. 2014.** Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. *Colloids and surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* 444: 226-231. DOI:10.1016/j.colsurfa.2013.12.065.
- Swaminathan, A., K. B. Kalyani, S. K. Sudhagar, S. Bhuvaneswari, S.T. Nagalatha, T. L. S. Raj, V. N. Sumantran, and S. Chatterjee. 2021.** Nitric oxide mitigates thalidomide-induced abnormalities during germination and development of fennel seeds. *Toxicol. Res.* 10(4): 893-901. DOI:10.1093/toxres/tfab071.
- Thuesombat, P., S. Hannongbua, S. Akasit, and S. Chadchawan. 2014.** Effect of silver nanoparticles on rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105) seed germination and seedling growth. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 104: 302-309. DOI:10.1016/j.ecoenv.2014.03.022.
- Tong, X., N. Guo, Z. Dang, Q. Ren, and H. Shen. 2018.** In vivo biosynthesis and spatial distribution of Ag nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *IET. Nanobiotechnol.* 12(7): 987-993. DOI:10.1049/iet-nbt.2017.0230.
- Vashisth, A., and S. Nagarajan. 2010.** Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. *J. Plant. Physiol.* 167 (2): 149-156. DOI:10.1016/j.jplph.2009.08.011.
- Yasmeen, F., A. Razzaq, M. N. Iqbal, and H. M. Jhanzab. 2015.** Effect of silver, copper and iron nanoparticles on wheat germination. *Int. J. Biosci.* 6(4): 112-117. DOI:10.12692/ijb/6.4.112-5.
- Yin, L., B. P. Colman, B. M. McGill, J. P. Wright, and E. S. Bernhardt. 2012.** Effects of silver nanoparticle exposure on germination and early growth of eleven wetland plants. *PLOS ONE* 7(10): e47674. DOI:10.1371/journal.pone.0047674.
- Zari, H., P. Babak, and R. Asad. 2015.** The effect of priming with nano-silver on agronomic traits of safflower cultivars. *J. Ess. Oil Bearing Plants.* 18(5): 1148-1156. DOI:10.1080/0972060X.2014.976664.