

اثر نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم (SiO_2) بر ویژگی های فتوسنتزی و فلورسانس

کلروفیل پنج رقم زیتون در شرایط تنش شوری

The Effect of Silicon Dioxide Nanoparticles (SiO_2) on Chlorophyll Content and Chlorophyll Fluorescence of Five Olive Cultivars Under Salinity Stress

آمنه قربانی^۱، حسن ساری خانی^{۱*}، علی اصغر زینانلو^۲

۱. گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲. پژوهشکده میوه های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (sarikhani@basu.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۱۶

چکیده

پارامترهای فلورسانس و محتوای کلروفیل از مهمترین فاکتورها برای تعیین ظرفیت فتوسنتزی در طول زندگی گیاهان می باشد. در این پژوهش اثر نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم بر ویژگی های محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشای یاخته ای، رنگدانه های فتوسنتزی و کارکرد فتوسیستم II در شرایط تنش شوری کلرید سدیم در پنج رقم زیتون به صورت گلدانی مورد بررسی قرار گرفت. دو رقم زیتون (کرونیکی و کنسروالیا به ترتیب به عنوان مقاوم و حساس به شوری) و سه نژادگان (دیره، کلاه فرج و شیراز) در مرحله رویشی در دو سطح شوری (صفر و ۱۵۰ میلی مولار) کلرید سدیم و سه سطح نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم (صفر، ۱ و ۲ میلی مولار) بررسی شدند. نتایج نشان داد که در تمامی ارقام مورد بررسی، در تیمار شوری کلرید سدیم، پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت. در مقابل استفاده از نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشای یاخته ای و مقدار رنگدانه های فتوسنتزی در هر دو شرایط شاهد و تنش شوری گردید. نژادگان شیراز به دلیل برتری در بیشتر صفات مرتبط با تحمل به شوری در مقایسه با سایر رقم ها، تحمل بیشتری نسبت به شوری کلرید سدیم داشت. در مجموع می توان نتیجه گرفت که تنش شوری سبب کاهش محتوای رنگدانه های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشای یاخته ای و همچنین عملکرد فتوسیستم II شد و نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم سبب بهبود این صفات گردید. به نظر می رسد کاربرد دی اکسید سیلیسیم در غلظت ۲ میلی مولار سبب کاهش اثرات مخرب تنش شوری کلرید سدیم در ارقام مورد مطالعه زیتون می شود.

واژه های کلیدی: زیتون، کلروفیل، تنش شوری، نانو ذرات سیلیس، شاخص های فلورسانس کلروفیل.

مقدمه

تنش های محیطی حالتی است که گیاه در شرایط نامطلوب محیطی رشد می کند. اثر تنش می تواند منجر به کاهش رشد و کاهش محصول شود و اگر تنش از حد تحمل گیاه فراتر رود ممکن است سبب آسیب دائمی یا مرگ گیاه شود. تنش شوری یکی از مهمترین تنش های محیطی است که به دلایلی مانند شوری خاک، شوری آب و یا هر دو در بسیاری از نقاط جهان در حال رخ دادن است و بر رشد و نمو گیاهان تأثیر می گذارد. تنش شوری فشار اسمزی داخل یاخته را افزایش می دهد و می تواند باعث تجمع سدیم تا سطوح سمی شود (Zhu et al., 2004). توانایی گیاهان برای مقابله با سطوح بالای شوری به این بستگی دارد که گیاهان تا چه حد بتواند روابط آبی خود را تنظیم کنند علاوه بر این توانایی آن ها، به چگونگی مقابله یا اجتناب از غلظت داخلی یون های سمی وابسته است. گیاهان به منظور بقاء در خاک های دارای غلظت زیاد نمک، مکانیسم های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را فعال می نماید. تنش شوری با مهار فتوسنتز مانع رشد گیاه می شود، در نتیجه منابع موجود را کاهش می دهد و

تقسیم و گسترش یاخته‌ای را سرکوب می‌کند. (Zhu et al., 2004). یکی از بارزترین پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی، کم شدن فتوسنتز ناشی از اختلال در فعالیت فتوسیستم II می‌باشد. در چنین شرایطی به دنبال کاهش فتوسنتز و ذخیره فرآورده‌های انتقال الکترون یعنی ATP و NADPH در واکنش‌های وابسته به نور در فتوسنتز، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II کاهش پیدا می‌کند (Habibi and Hajiboland, 2013). احتمالاً خسارت به مرکز فعل و انفعالات در فتوسیستم دو (PSII) می‌تواند دلیل این کاهش باشد. پژوهشگران گزارش کردند که کاهش غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در اثر تنش شوری می‌تواند به دلیل اثر بازدارنده تجمع یون‌ها در برگ، افزایش فعالیت آنزیم تخریب کننده کلروفیل (کلروفیلاز)، کاهش در سرعت سنتز کلروفیل و کاهش در مقاومت تیلاکوئید باشد. فلورسانس کلروفیل یکی از راه‌های مصرف انرژی در فتوسنتز است که به طور گسترده‌ای مورد بررسی و مطالعه قرار می‌گیرد. همچنین از فلورسانس کلروفیل برای تعیین وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی استفاده می‌شود (Zlatev et al., 2004).

سیلیس یکی از عناصر غیر ضروری برای گیاهان است و علی‌رغم اینکه به وفور در اختیار گیاهان قرار دارد، اما گیاهان آن را از محلول خاک به شکل ترکیب و در غلظت‌های پایین جذب می‌کنند و در سطوح اپیدرمی برگ خود ذخیره می‌کنند و در فرآیند رشد استفاده می‌کنند (Tubana and Heckman, 2015). مشخص شده است که کاربرد سیلیس به فرم‌های قابل جذب در گیاهان سبب کاهش اثرات نامطلوب تنش‌های محیطی شده است (Zargar et al., 2019). کاربرد سیلیکون از طریق حفظ عملکرد فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، بهبود فتوسنتز (Gunes et al., 2007)، تغییر در جذب عناصر، کاهش جذب عناصر سمی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (Zargar et al., 2019) سبب افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش‌های مختلف محیطی می‌شود. در این راستا و با پیشرفت تکنولوژی نانو، تولید عناصر و ترکیبات مختلف به فرم‌های نانو سبب افزایش جذب این مواد و همچنین تغییر در اثرات آنها در گیاهان شده است. مشخص شده است که در بسیاری از موارد، کاربرد نانو ذرات سیلیکونی با بهبود وضعیت آب گیاه، پتانسیل منبع- مخزن، متابولیسم گونه‌های اکسیژن فعال و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، نقش محافظتی در محیط‌های تنش‌زا دارد (Mukarram et al., 2022).

زیتون یکی از محصولات با ارزش باغبانی است که کاشت آن در ایران سابقه طولانی دارد. کشت زیتون به دلایلی از جمله قابلیت رویش در خاک‌های فقیر و مقاومت به تنش‌ها به ویژه خشکی و شوری و از طرفی بدلیل افزایش تقاضای میوه و روغن آن حائز اهمیت است (Gholami et al., 2016). درخت زیتون از گیاهانی است که نسبت به شوری نیمه متحمل محسوب می‌شود و عملکرد درخت زیتون زمانی که EC بالاتر از ۴۰ دسی زیمنس بر متر باشد شروع به کاهش می‌کند (Seyedlor Fatemy et al., 2009). با اینکه زیتون گیاهی متحمل به شوری معرفی می‌شود اما به دلیل افزایش شوری خاک و آب در مناطق مستعد کشت زیتون، یافتن راه کارهای مناسبی برای مقابله با اثرات نامطلوب شوری ضروری است. در این راستا راه کارهای مختلفی مانند استفاده از ارقام مقاوم (Ashkavand et al., 2015; Assimakopoulou et al., 2017)، تیمار با عناصر تغذیه‌ای دیگر مانند کلسیم و پتاسیم (Larbi et al., 2020) و استفاده از تنظیم کننده‌های رشد (Methenni et al., 2018) برای کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری در زیتون مورد بررسی قرار گرفته است. در این راستا با توجه به اثرات مطلوب سیلیس در شرایط تنش (Zargar et al., 2019) از یک طرف و بهبود اثرات در هنگام کاربرد فرم‌های نانو آن (Dalal and Tripathy, 2012)، به نظر می‌رسد کاربرد نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم به طور بالقوه می‌تواند اثرات نامطلوب تنش شوری در گونه‌های درختی مانند زیتون را کاهش دهد. با توجه به اهمیت و جایگاه زیتون در تولیدات باغی کشور و استفاده از خاک و آب شور در توسعه آن، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم بر کاهش اثرات نامطلوب شوری کلرید سدیم و نقش احتمالی آن بر بهبود فتوسنتز و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در چند رقم زیتون انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال‌های ۱۳۹۸ تا ۱۴۰۰ در گلخانه پژوهشکده میوه‌های نیمه گرمسیری استان البرز اجراء شد. در این پژوهش، نهال‌های ریشه‌دار یکساله پنج رقم زیتون شامل کنسروالیا، کرونیکی، دیره، کلاه فرج و شیراز که از ایستگاه تحقیقات زیتون طارم تهیه شده بود و در گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۱۵ سانتی‌متر کشت شدند، استفاده شد. همچنین قابل ذکر است که برای هر تیمار آزمایشی ۶ اصله نهال در نظر گرفته شد که در مجموع نهال‌های آزمایشی ۱۸۰ اصله

نهال بود. بدین منظور، ابتدا ریشه نهال‌ها با آب شسته شد و پس از حذف خاک اطراف ریشه‌ها، در گلدان‌های حاوی محیط کشت (پرلیت و کوکوپیت به نسبت حجمی دو به یک) کشت شده و در گلخانه پژوهشی با دمای حداقل شبانه و حداکثر روزانه به ترتیب ۲۳ و ۳۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. ابتدا به مدت دو ماه تغذیه گیاهان با محلول غذایی نصف غلظت هوگلند صورت گرفت تا کاملاً در گلدان مستقر شدند. سپس اعمال تیمارها شامل تیمار شوری (صفر و ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم) و نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم (صفر، ۱ و ۲ میلی مولار) در محلول غذایی هوگلند با نصف غلظت دو ماه پس از انتقال نهال‌ها به بستر کشت اعمال گردید. در این پژوهش نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم (SiO_2) (شرکت ایستاتیس یزد) مورد استفاده قرار گرفت. نانوذرات دی اکسید سیلیسیم به محلول غذایی اضافه شده و به صورت هفتگی به همراه آن مورد استفاده قرار گرفت. تغذیه هر ۷ روز یکبار به گونه‌ای انجام می‌شد که حدود ۲۰ درصد آب آبیاری جهت شستشوی املاح از طریق زهکش خارج شود تا سطح شوری بستر داخل گلدان ثابت بماند.

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور رقم در پنج سطح و غلظت نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم و شوری در شش سطح و سه تکرار (در هر تکرار ۲ نهال) انجام شد. چهار ماه پس از شروع اعمال تنش شوری و تیمار نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم، نش‌یونی، محتوای نسبی آب، میزان رنگدانه فتوسنتز و پارامترهای فتوسنتزی و فلورسانس کلروفیل اندازه‌گیری شدند.

محتوای نسبی آب

محتوای نسبی آب برگ، مطابق روش Galmes و همکاران (۲۰۰۷) اندازه‌گیری شد. برگ‌های کاملاً توسعه یافته از هر گیاه جدا گردید و پس از برش برگ‌ها به تکه‌های مربعی، وزن آن‌ها (FW) به کمک ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰.۰۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری شد. تکه‌های برگ توزین شده به پتری دیش‌های درب‌دار حاوی آب مقطر به یخچال (با دمای ۴ درجه سلسیوس) به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند. لازم به ذکر است پتری دیش‌ها توسط پلاستیک‌های سیاه رنگ پوشانده و شرایط تاریکی برای آن‌ها فراهم گردید. پس از زمان ذکر شده نمونه‌ها از داخل آب مقطر خارج شده و در بین دو لایه دستمال کاغذی قرار داده تا رطوبت اضافی آن‌ها تخلیه گردد سپس وزن آماس (SW) آن‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس نمونه‌ها به داخل آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس منتقل شده و پس از ۲۴ ساعت، وزن خشک (DW) اندازه‌گیری شد و با استفاده از رابطه زیر محتوای نسبی آب (RWC) برگ به دست آمد.

$$RWC = \frac{[(\text{وزن خشک} - \text{وزن تورژسانس}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})] \times 100}{}$$

شاخص پایداری غشا

شاخص پایداری غشا با استفاده از اندازه‌گیری نش‌یونی نمونه‌های برگ اندازه‌گیری شد. بدین منظور یک برگ از هر نهال به طور تصادفی انتخاب شده و با استفاده از تیغ به تکه‌های مساوی تقسیم شد. پس از آبکشی با آب مقطر، در فالكون حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور شد. پس از ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی نمونه با استفاده از یک دستگاه هدایت سنج (EC متر) اندازه‌گیری شد (EC_{24}). سپس نمونه‌ها در حمام آب گرم با دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت جوشانده شدند و پس از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای اتاق، هدایت الکتریکی نمونه‌ها دوباره اندازه‌گیری شد (EC_{Max}). با تقسیم EC_{24} به EC_{Max} و ضرب آن در صد، درصد نش‌یونی محاسبه گردید. شاخص پایداری غشا (MSI) نیز از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$MSI = [1 - EC_{24}/EC_{max}] \times 100$$

سنجش رنگدانه‌های فتوسنتز

برای اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی از روش Buschmann و Lichtenthaler (۲۰۰۱) استفاده شد. بدین منظور، مقدار نیم گرم برگ تازه در هاون چینی ریخته شده و به کمک نیتروژن مایع خرد شدند. سپس ۲۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه اضافه شده و پس از همگن سازی، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. بخش روپی جدا شده و مقدار جذب (A) عصاره توسط اسپکتروفتومتر (CamSpec M501 UV/Visible, Germany) در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۳۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر و همچنین میزان نمونه اولیه و حلال استفاده شده، میزان کلروفیل‌های a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با در نظر گرفتن نسبت رقیق شدن، برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد.

$$\begin{aligned} \text{(Chlorophyll a)} \text{ Chl}_a &= (12.25 * A_{663}) - (2.79 * A_{646}) \\ \text{(Chlorophyll b)} \text{ Chl}_b &= (21.21 * A_{646}) - (5 * A_{663}) \\ \text{(Chlorophyll Total)} \text{ Chl}_{\text{total}} &= \text{Chl}_a + \text{Chl}_b \\ \text{Carotenoid (mgg}^{-1}) &= ((1000 * A_{470}) - (1.8 * \text{Chl}_a) - (85.02 * \text{Chl}_b)) / 198 \end{aligned}$$

پارامترهای فتوسنتزی و فلورسانس کلروفیل

قبل از اندازه‌گیری شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، قطعات برگ‌ی مورد نظر به مدت ۳۰ دقیقه با استفاده از کلیپس‌های مانع نور، در تاریکی کامل قرار گرفتند (Methenni *et al.*, 2018). در این وضعیت، تمام مراکز واکنش و حامل‌های الکترون در فتوسیستم II اکسیده می‌شوند که برای القاء سریع فلورسانس و اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل ضروری است. سپس پارامترهای فلورسانس کلروفیل (جدول ۱) از جمله حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (Fv/Fm) به وسیله دستگاه کلروفیل فلورومتر (مدل OPTI-Fluorometer OS-30P)، بررسی شد. سپس بیشترین کارایی فتوسیستم II (Fv/Fm) به صورت اتوماتیک به صورت $Fv/Fm = (Fm - F0)/Fm$ محاسبه شد. در این فرمول Fm و F0 به ترتیب بیشینه و کمینه فلورسانس برگ سازگار شده به تاریکی هستند.

جدول ۱- مؤلفه‌های بیوفیزیکی اندازه‌گیری شده فلورسانس کلروفیل و معادلات مربوط به آنها.

Table 1. Measured biophysical components of chlorophyll fluorescence and their related equations.

مولفه	شناسه	معادله
فلورسانس اولیه	F0	Initial fluorescence
فلورسانس حداکثر	Fm	Maximum fluorescence
فلورسانس متغیر	Fv	Variable fluorescence
حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II	Fv/Fm	Maximum photochemical quantum yield of photosystem II

واکاوی آماری

بعد از جمع آوری اطلاعات، تجزیه و تحلیل داده‌ها با مدل خطی و با نرم افزار SPSS نسخه 9.1 انجام شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد.

نتایج

محتوای نسبی آب برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده‌ی تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد روی محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود. اما برهمکنش آنها بر محتوای نسبی آب برگ در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محتوای نسبی آب برگ در اثر تنش شوری نسبت به حالت بدون تنش کاهش یافته است. نتایج نشان داد در زمان تنش بین ارقام تفاوت معنی‌داری وجود داشت و رقم دیره در زمان تنش RWC بیشتری نسبت به دیگر ارقام داشت (جدول ۲). نتایج ارایه شده همچنین نشان داد محتوای نسبی آب برگ تحت تاثیر سطوح مختلف نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم قرار گرفته است. کاربرد نانوذرات دی اکسید سیلیسیم (۱ میلی مولار) در شرایط بدون تنش باعث افزایش جزئی محتوای نسبی آب برگ نسبت به گیاهان شاهد شد (جدول ۲). براساس نتایج، کمترین محتوای نسبی آب برگ مربوط به تیمار تنش شوری بدون کاربرد نانوذرات دی اکسید سیلیسیم بود. بررسی نتایج نشان داد کاربرد نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ نسبت به گیاهان تحت تنش شوری و عدم کاربرد نانوذرات دی اکسید سیلیسیم شد.

شاخص پایداری غشای یاخته‌ای

تجزیه واریانس اثر رقم و کاربرد نانوذرات دی اکسید سیلیسیم و تنش شوری بر شاخص پایداری غشای یاخته‌ای نشان داد که تیمار نانوذرات دی اکسید سیلیسیم در سطح احتمال ۱ درصد روی شاخص پایداری غشای یاخته‌ای معنی‌دار شد. با توجه به مقایسه میانگین‌ها، بیشترین شاخص پایداری غشای یاخته‌ای در ارقام کلاه فرج و شیراز با کاربرد ۲ میلی مولار نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم مشاهده شد. از آنجایی که نشت یونی با پایداری غشای یاخته‌ای رابطه عکس دارند، در مقایسه کلی در شرایط

تنش شوری شاخص پایداری غشای یاخته‌ای نسبت به شرایط بدون تنش شوری کاهش یافته است که پس از کاربرد نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم پایداری غشای یاخته‌ای نسبت به شرایط تنش شوری افزایش یافت (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر نانوذرات دی اکسید سیلیسیم و تنش شوری کلرید سدیم بر محتوای نسبی آب برگ و شاخص پایداری غشای یاخته‌ای پنج رقم زیتون.

Table 2. Effects of SiO₂ nanoparticles and NaCl salt stress on the RWC and membrane stability index (MSI) of five olive cultivar.

شاخص پایداری غشای یاخته‌ای	محتوای نسبی آب برگ	رقم	کلرید سدیم - نانو دی اکسید سیلیسیم
MSI (%)	RWC (%)	Cultivar	SiO ₂ (mM)- NaCl (mM)
39.79 ^p	63 ^{cd}	Koroneiki	0-0
44.29 ⁿ	77 ^{ab}	Kolahfaraj	0-0
48.11 ^k	60 ^e	Dire	0-0
46.44 ^l	61 ^{de}	Shiraz	0-0
45.57 ^m	62 ^d	Conservalia	0-0
33.87 ^r	64 ^c	Koroneiki	1-0
37.60 ^q	79 ^a	Kolahfaraj	1-0
40.29 ^p	61 ^{de}	Dire	1-0
41.57 ^{op}	63 ^{cd}	Shiraz	1-0
42.45 ^o	63 ^{cd}	Conservalia	1-0
30.97 ^s	62 ^d	Koroneiki	2-0
31.86 ^s	76 ^b	Kolahfaraj	2-0
37.99 ^q	59 ^{ef}	Dire	2-0
36.96 ^q	59 ^{ef}	Shiraz	2-0
41.54 ^{op}	60 ^e	Conservalia	2-0
59.68 ^d	46 ^j	Koroneiki	0-150
57.51 ^f	50 ^{ij}	Kolahfaraj	0-150
68.32 ^a	54 ^{gh}	Dire	0-150
62.21 ^b	50 ^{ij}	Shiraz	0-150
68.33 ^a	40 ^k	Conservalia	0-150
54.54 ^g	55 ^g	Koroneiki	1-150
53.37 ^h	59 ^{ef}	Kolahfaraj	1-150
58.63 ^e	56 ^{fg}	Dire	1-150
54.34 ^g	53 ^h	Shiraz	1-150
60.11 ^c	46 ^j	Conservalia	1-150
45.28 ^m	56 ^{fg}	Koroneiki	2-150
48.39 ^k	64 ^c	Kolahfaraj	2-150
50.08 ^j	57 ^f	Dire	2-150
51.37 ⁱ	59 ^{ef}	Shiraz	2-150
51.49 ⁱ	51 ⁱ	Conservalia	2-150

در هر ستون، میانگین‌هایی دارای حداقل یک حرف مشابه، تفاوت معنی‌داری با آزمون LSD در سطح احتمال آماری ۵ درصد ندارد.
Means followed by the same letter in each column are not significantly different at 5% probability level using LSD test.

رنگدانه‌های فتوسنتزی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در شرایط تنش شوری از مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) کاسته شد. نتایج این پژوهش نشان داد که شوری موجب کاهش معنی‌دار کلروفیل a نسبت به گیاهان شاهد شد، در شوری ۱۵۰ میلی مولار بیشترین کاهش در رقم کنسروالیا با ۴۶ درصد و کم‌ترین کاهش در رقم دیره با ۳۳ درصد مشاهده گردید. بر همکنش رقم و شوری بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید معنی‌دار شد. مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اثر تنش شوری و نانو دی اکسید سیلیسیم بر غلظت کلروفیل گیاه زیتون نشان داد که بیش‌ترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل در شرایط عدم تنش و کاربرد ۱ میلی مولار به ترتیب مربوط به ارقام کلاه فرج و دیره به ترتیب

با ۴ و ۱۳ درصد افزایش نسبت به شاهد و در شرایط شوری در زمان کاربرد نانو دی اکسید سیلیسیم (۲ میلی مولار) در رقم دیره و کلاه فرج به ترتیب با ۱۳ و ۱۶ درصد کاهش نسبت به شاهد حاصل شد (جدول ۳).

مقایسه میانگین اثر ساده صفات در شرایط تنش شوری نشان داد که کمترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار بوده است. همچنین نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر کاربرد نانو دی اکسید سیلیسیم در شرایط تنش شوری و اثر بر همکنش این دو بر بیشتر صفات مورد ارزیابی در نهال‌های زیتون شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و کلروفیل فلورسانس در سطح اطمینان یک درصد معنی‌دار شد. بررسی نتایج اثرات متقابل رقم در نانو ذرات نشان داد که در شرایط بدون تنش شوری، بیشترین محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل به ترتیب ۲/۳۳، ۰/۸۹ و ۳/۲۲ (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به رقم شیراز و کاربرد نانو ذرات ۱ میلی مولار و کمترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل به رقم کرونیکی و عدم کاربرد نانو دی اکسید سیلیسیم تعلق داشت (جدول ۳). بالاترین غلظت رنگدانه کاروتنوئید در تیمار بدون شوری و در هر سه غلظت نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم در ارقام شیراز و کلاه فرج مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر کاربرد نانوذرات دی اکسید سیلیسیم و تنش شوری کلرید سدیم بر غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) پنج رقم زیتون.

Table 3. Effects SiO₂ nanoparticles and NaCl salt stress on content of photosynthetic pigments (mg g⁻¹ FW) in five olive cultivars.

کلرید سدیم - نانو دی اکسید سیلیسیم SiO ₂ (mM)- NaCl (mM)	رقم Cultivar	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoids
0-0	Koroneiki	1.93 ^g	0.65 ^d	2.58 ^{ef}	0.63 ^c
0-0	Kolahfaraj	2.25 ^{cd}	0.68 ^c	3.13 ^b	0.76 ^{ab}
0-0	Dire	1.98 ^f	0.56 ^{ef}	2.54 ^f	0.59 ^d
0-0	Shiraz	2.45 ^a	0.87 ^b	3.03 ^c	0.78 ^a
0-0	Conservalia	1.93 ^g	0.67 ^{cd}	2.60 ^e	0.57 ^e
1-0	Koroneiki	1.94 ^{fg}	0.66 ^d	2.59 ^{ef}	0.64 ^c
1-0	Kolahfaraj	2.27 ^c	0.68 ^c	2.94 ^c	0.75 ^{ab}
1-0	Dire	1.89 ^{hi}	0.59 ^e	2.47 ^g	0.59 ^d
1-0	Shiraz	2.33 ^a	0.89 ^a	3.22 ^a	0.78 ^a
1-0	Conservalia	1.94 ^{fg}	0.67 ^{cd}	2.61 ^e	0.57 ^e
2-0	Koroneiki	1.92 ^{gh}	0.65 ^d	2.56 ^f	0.63 ^c
2-0	Kolahfaraj	2.24 ^d	0.68 ^c	2.92 ^c	0.76 ^{ab}
2-0	Dire	1.87 ⁱ	0.56 ^{ef}	2.43 ^h	0.58 ^{de}
2-0	Shiraz	2.31 ^b	0.89 ^a	3.20 ^a	0.77 ^a
2-0	Conservalia	1.90 ^h	0.66 ^d	2.56 ^f	0.56 ^e
0-150	Koroneiki	1.12 ^q	0.45 ^h	1.57 ^m	0.48 ^h
0-150	Kolahfaraj	1.35 ^o	0.45 ^h	1.80 ^k	0.43 ⁱ
0-150	Dire	1.26 ^p	0.48 ^g	1.74 ^l	0.45 ⁱ
0-150	Shiraz	1.45 ^{mn}	0.51 ^g	1.96 ^j	0.45 ⁱ
0-150	Conservalia	1.02 ^r	0.45 ^h	1.47 ⁿ	0.41 ^j
1-150	Koroneiki	1.42 ⁿ	0.45 ^h	1.57 ^m	0.45 ⁱ
1-150	Kolahfaraj	1.51 ^{kl}	0.56 ^{ef}	1.96 ^j	0.54 ^f
1-150	Dire	1.48 ^m	0.48 ^g	1.97 ^j	0.47 ^h
1-150	Shiraz	1.53 ^k	0.55 ^f	2.08 ^{hi}	0.52 ^f
1-150	Conservalia	1.46 ^{mn}	0.49 ^g	1.95 ^j	0.50 ^g
2-150	Koroneiki	1.50 ^l	0.54 ^f	2.04 ⁱ	0.48 ^h
2-150	Kolahfaraj	1.86 ⁱ	0.57 ^{ef}	2.44 ^{gh}	0.64 ^b
2-150	Dire	1.60 ^{jk}	0.49 ^g	2.09 ^{hi}	0.58 ^{de}
2-150	Shiraz	2.02 ^e	0.69 ^c	2.71 ^d	0.60 ^{cd}
2-150	Conservalia	1.64 ^j	0.49 ^g	2.13 ^h	0.54 ^f

در هر ستون، میانگین‌هایی دارای حداقل یک حرف مشابه، تفاوت معنی داری با آزمون LSD در سطح احتمال آماری ۵ درصد ندارد.

Means followed by the same letter in each column are not significantly different at 5% probability level using LSD test

مؤلفه‌های فلورسانس کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به پارامترهای فلورسانس کلروفیل نشان داد که سطوح مختلف نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم و شوری تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر مقادیر آنها داشت. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس، تغییر مقادیر F0 و Fv تحت تأثیر رقم و نانو ذرات سیلیسیم قرار دارند. همچنین اثر شوری روی صفات فلورسانس کمینه (F0) و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در سطح احتمال ۱ درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار بود. برهمکنش رقم و تیمار نیز بر فلورسانس کمینه، فلورسانس بیشینه و فلورسانس متغیر (Fv) در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد و بر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II معنی‌دار نشد.

نتایج نشان داد شوری موجب کاهش معنی‌دار در مقدار Fv/Fm نسبت به گیاهان شاهد شد که بیشترین کاهش در رقم دیره مشاهده گردید. نتایج نشان داد اعمال نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم در گیاه زیتون باعث افزایش مقدار Fv/Fm نسبت به گیاهان شاهد شد. که بیشترین افزایش در نانو سیلیسیم ۲ میلی مولار نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. همچنین اعمال نانو ذرات سیلیسیم ۲ میلی مولار در شرایط بدون تنش باعث کاهش در مقدار Fv/Fm نسبت به گیاهان شاهد (جدول ۴). بیشترین میزان فلورسانس کمینه (F0) نیز در شرایط تنش شوری به مقدار در رقم دیره به‌دست آمد. بیشترین عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در شرایط تنش شوری به رقم کنسروالیا تعلق داشت (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر نانو دی اکسید سیلیسیم و تنش شوری کلرید سدیم بر ویژگی‌های بیوفیزیکی اندازه‌گیری شده فلورسانس کلروفیل پنج رقم زیتون.

Table 4. Effects SiO₂ nanoparticles and NaCl salt stress on the measured biophysical traits of chlorophyll fluorescence of five olive cultivar.

کلرید سدیم - نانو دی اکسید سیلیسیم SiO ₂ (mM)- NaCl (mM)	رقم Cultivar	فلورسانس اولیه (F0) Initial fluorescence (RFU)	فلورسانس بیشینه (Fm) Maximum fluorescence (RFU)	فلورسانس متغیر (Fv) Variable fluorescence (RFU)	عملکرد کوانتومی فتوسیستم II ΦPSII (Fv/Fm)
0-0	Koroneiki	0.053 ^f	0.255 ^j	0.203 ^l	0.792 ^k
0-0	Kolahfaraj	0.050 ^h	0.267 ^h	0.217 ^h	0.810 ^{hi}
0-0	Dire	0.046 ^j	0.267 ^h	0.221 ^{fg}	0.827 ^c
0-0	Shiraz	0.048 ⁱ	0.270 ^f	0.221 ^{fg}	0.817 ^{fg}
0-0	Conservalia	0.044 ^l	0.233 ⁿ	0.189 ⁿ	0.808 ⁱ
1-0	Koroneiki	0.052 ^{fg}	0.255 ^j	0.203 ^l	0.796 ^j
1-0	Kolahfaraj	0.051 ^g	0.270 ^f	0.219 ^{gh}	0.811 ^h
1-0	Dire	0.045 ^k	0.279 ^e	0.228 ^e	0.835 ^b
1-0	Shiraz	0.048 ⁱ	0.268 ^{gh}	0.220 ^g	0.820 ^f
1-0	Conservalia	0.044 ^l	0.239 ^m	0.195 ^m	0.815 ^g
2-0	Koroneiki	0.051 ^g	0.256 ^j	0.203 ^l	0.791 ^k
2-0	Kolahfaraj	0.048 ⁱ	0.252 ^k	0.204 ^l	0.809 ⁱ
2-0	Dire	0.046 ^j	0.269 ^g	0.229 ^e	0.828 ^c
2-0	Shiraz	0.048 ⁱ	0.263 ⁱ	0.215 ⁱ	0.817 ^{fg}
2-0	Conservalia	0.045 ^k	0.240 ^m	0.194 ^m	0.812 ^h
0-150	Koroneiki	0.081 ^c	0.245 ^l	0.164 ^o	0.669 ^m
0-150	Kolahfaraj	0.079 ^d	0.230 ⁿ	0.151 ^p	0.656 ⁿ
0-150	Dire	0.099 ^a	0.231 ⁿ	0.132 ^r	0.571 ^q
0-150	Shiraz	0.072 ^e	0.220 ^o	0.148 ^q	0.672 ^l
0-150	Conservalia	0.093 ^b	0.222 ^o	0.129 ^s	0.581 ^o
1-150	Koroneiki	0.048 ⁱ	0.270 ^f	0.222 ^f	0.822 ^e
1-150	Kolahfaraj	0.050 ^h	0.270 ^f	0.220 ^g	0.823 ^{de}
1-150	Dire	0.050 ^h	0.287 ^d	0.237 ^d	0.824 ^d
1-150	Shiraz	0.051 ^g	0.292 ^c	0.240 ^c	0.822 ^e
1-150	Conservalia	0.045 ^k	0.252 ^k	0.207 ^k	0.815 ^g
2-150	Koroneiki	0.051 ^g	0.292 ^c	0.241 ^c	0.828 ^c
2-150	Kolahfaraj	0.048 ⁱ	0.302 ^a	0.253 ^a	0.840 ^a
2-150	Dire	0.048 ⁱ	0.296 ^b	0.248 ^b	0.834 ^b

2-150	Shiraz	0.045 ^k	0.266 ^h	0.221 ^{fg}	0.835 ^b
2-150	Conservalia	0.045 ^k	0.256 ^j	0.211 ^j	0.824 ^d

در هر ستون، میانگین‌هایی دارای حداقل یک حرف مشابه، تفاوت معنی‌داری با آزمون LSD در سطح احتمال آماری ۵ درصد ندارد.
Means followed by the same letter in each column are not significantly different at 5% probability level using LSD test.

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار نهال‌های زیتون با استفاده از نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم از نظر اثر بخشی تأثیر مطلوب و معنی‌داری بر صفات فیزیولوژیکی داشته است. در این پژوهش محتوای نسبی آب برگ تحت تأثیر تنش شوری و نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم قرار گرفت. تنش شوری سبب کاهش و نانوذرات دی اکسید سیلیسیم سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ شد. تأثیر مثبت سیلیسیم بر محتوای نسبی آب در بررسی‌های Gunes و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش شده است. مشخص شده است که تنش شوری و خشکی فیزیولوژیکی حاصل از آن باعث کاهش محتوای نسبی آب می‌شوند (Modares et al., 2004). در مقایسه بین ارقام مورد مطالعه در شرایط تنش بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ در رقم کرونیکی و پس از آن در رقم شیراز به‌دست آمد و ارقام کلاه فرج، دیره در یک گروه قرار داشتند (جدول ۳). کاهش از دست‌دهی آب بافت در تیمارهای سیلیسیم به دلیل کاهش تعرق تحت تأثیر سیلیسیم و یا تجمع این عنصر در یاخته‌های زیرین اپیدرم است که میزان از دستروی آب از طریق کوتیکول را کاهش می‌دهد (Xiao et al., 2008). کاهش محتوای رطوبت نسبی در نتیجه کاهش دسترسی به آب در اثر افزایش پتانسیل اسمزی ناشی از وجود نمک است. در واقع با افزایش سطح شوری میزان رطوبت نسبی در برگ کاهش می‌یابد این کاهش در ابتدا به علت بسته شدن روزنه‌ها و کاهش فتوسنتز با افزایش شوری به دلیل توقف انتقال الکترون و ممانعت نوری در چرخه فتوسنتز می‌باشد. کاربرد سیلیسیم باعث بهبود وضعیت آب گیاه می‌شود و محتوای نسبی آب برگ را افزایش می‌دهد. در شرایط تنش شوری گیاه برای حفظ توان اسمزی جهت جذب آب به تجمع نمک یا سنتز ترکیبات آلی مثل قندها و اسیدهای آمینه می‌پردازد.

میزان نشت یونی، معیار مناسبی برای ارزیابی میزان تخریب یاخته گیاهی و بررسی میزان پایداری غشا طی تنش‌های محیطی است. پژوهش‌های گذشته نشان داده است که سیلیسیم سبب کاهش نشت یونی می‌شود (Shen et al., 2010). در پژوهش حاضر تنش شوری و اعمال تیمارهای نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم روی نرخ نشت یونی معنی‌دار بود. در بررسی‌های گذشته تأثیر نانو ذرات را روی تغییرات نشت الکترولیت متفاوت گزارش شده است. در پژوهش Habibi و Hajiboland (۲۰۱۳) نشان داده شده است کاربرد سیلیسیم سبب افزایش پایداری غشای یاخته‌ای در پسته شده است. از دلایل افزایش پایداری غشای یاخته‌ای در حضور سیلیسیم می‌توان به رسوب سیلیسیم در غشاهای یاخته‌ای، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و ممانعت از پراکسیداسیون غشاء پلاسمایی و کاهش نفوذ پذیری غشاء اشاره کرد (Zlatev and Yordanov, 2004).

یکی دیگر از پارامترهای فیزیولوژیکی متأثر از تنش شوری، محتوای کلروفیل و کاروتنوئید برگ است. برخی گیاهان در طول تنش خشکی و شوری میزان کلروفیل خود را حفظ می‌کنند و در برخی دیگر میزان کلروفیل کاهش می‌یابد. در این مطالعه، روند کاهش معنی‌داری در تمام رنگدانه‌های مربوط به نمونه‌های تحت تنش نسبت به شرایط پیش از تنش مشاهده شد. این روند کاهشی را می‌توان احتمالاً به علت از بین رفتن آنزیم‌های بیوسنتزی رنگدانه‌های فتوسنتزی و همچنین القای تجزیه شدن یا مهار سنتز آن‌ها در شرایط تنش نسبت داد (Dalal and Tripathy, 2012). از دلایل دیگر کاهش مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تنش شوری را می‌توان عموماً به تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آنها با اکسیژن یکتایی و اختلالات هرمونی نسبت داد (Zhu et al., 2004). تخریب ساختار ظریف کلروپلاست و ناپایداری کمپلکس‌های رنگدانه - پروتئین، تجزیه کلروفیل‌ها و تغییر در محتوی و ترکیب کاروتنوئیدها نیز از نتایج شوری است (Mukarram et al., 2022). بطور کلی می‌توان گفت که کاهش در مقادیر کلروفیل تحت تنش شوری به علت تخریب بیشتر کلروفیل نسبت به سنتز آن است. در پژوهشی Bybordi (۲۰۱۲)، کاهش مقدار کلروفیل در سطوح بالای شوری را به دلیل تجمع یون‌ها در کلروپلاست و افزایش تنش اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن در یاخته‌های برگ و تجزیه این رنگدانه‌ها دانسته است. کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تنش شوری در انار (Khayyat et al., 2014)، انجیر (Zarei et al., 2016) و زیتون

(Assimakopoulou *et al.*, 2017) توسط پژوهشگران به ثبت رسیده است. مقایسه تغییرات مقادیر کلروفیل a و b در پژوهش حاضر نشان داد که در اثر تنش شوری، میزان کاهش کلروفیل a در رقم کنسروالیا بیشتر از میزان کاهش کلروفیل b آن است. اگرچه کلروفیل a در مقایسه با کلروفیل b از تراکم بالاتر، در ساختار دستگاه فتوسنتز کننده برخوردار است اما این رنگدانه نسبت به کلروفیل b و سایر رنگدانه‌های سیستم فتوسنتز کننده گیاه، در مقابل تنش‌های محیطی به ویژه شوری و خشکی حساس‌تر است (Tubana and Heckman, 2015). اثرات تنش بر کاهش میزان کلروفیل a در گیاهان چوبی از جمله نهال‌های محلب توسط محققین مورد بررسی قرار گرفته است (Ashkavand *et al.*, 2015). همچنین مدرس و همکاران گزارش دادند که تغییر در کلروفیل a به دلیل شکسته شدن کلروپلاست، ناپایداری کمپلکس کلروفیل - پروتئین، کاهش تشکیل پلاستیدهای جدید کلروفیل a و تغییر در سیستم‌های فتوسنتزی در جهت کاهش نسبت PSII به PSI در شرایط تنش است (Modares *et al.*, 2004).

کاروتنوئیدها یکی از ترکیبات آنتی اکسیدانی و سیستم دفاعی غیر آنزیمی در گیاهان است که نقش مهمی در حفاظت از غشاهای فتوسنتز کننده کلروپلاست دارد. در واقع کاروتنوئیدها انرژی اضافی فتوسیستم‌ها را به صورت گرما یا واکنش‌های بی‌ضرر دفع کرده و از تنش اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (Khayyat *et al.*, 2014) و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند.

همچنین بمنظور ارزیابی اثر تنش شوری بر سیستم فتوسنتزی گیاه و تخمین میانگین کارایی کوانتوم فتوسیستم II (QII) از پارامترهای فلورسانس کلروفیل استفاده‌های زیادی شده است. هنگام وقوع تنش، تسهیم انرژی بین بخش‌های فلورسانس، فرود فتوشیمیایی و فرود غیر فتوشیمیایی یا اتلاف گرما تغییر می‌کند. در حقیقت هر عاملی که باعث کاهش فتوسنتز شود و یا برای سیستم تنش‌زا باشد، فلورسانس کلروفیل را افزایش می‌دهد. پارامتر F0 بیانگر سطحی از فلورسانس در زمانی است که پذیرنده کوئینون آ (QA) در بالاترین مقدار شرایط اکسیداسیونی قرار دارد. نتایج ما در این پژوهش نشان داد که برهمکنش رقم و شوری معنی‌دار است. مقایسه ارقام نشان داد مقدار فلورسانس حداقل در شرایط تنش شوری در رقم دیره دارای میانگین بالاتری نسبت به رقم کنسروالیا است. در حقیقت F0 هر چه کمتر باشد، بدین معناست که فعالیت‌های فتوسنتزی به نحو مطلوب‌تری در جریان هستند و تثبیت کربن یا به عبارتی انتقال الکترون فتوسیستم II در اثر کاهش ظرفیت QA و عدم اکسیداسیون کامل آن به دلیل جریان کند الکترون در طول مسیر فتوسیستم II دارد (Zlatev and Yordanov, 2004)، بنابراین رقم دیره آسیب بیشتری را در فتوسیستم II خود تجربه کرده است. همچنین Wright و همکاران (۲۰۰۹)، افزایش پارامتر F0 را تحت تنش خشکی، نتیجه‌ی کاهش یکپارچگی غشاء تیلاکوئید عنوان کردند. از آنجایی که رقم شیراز از مقدار کمتری از فلورسانس حداقل در شرایط تنش برخوردار بود، می‌توان گفت که دستگاه فتوسنتزی این رقم از کارایی بالاتری در انتقال الکترون برخوردار می‌باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد در شرایط تنش شوری، پارامترهای Fm و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل انرژی نور جذب شده به انرژی شیمیایی کاهش می‌یابد. پارامتر Fm در اثر تابش فوتون‌های نوری و احیای همه ناقل‌های الکترون و بسته بودن (شرایط اشباع) همه مراکز واکنشی ایجاد می‌شود (Zargar *et al.*, 2019). وقتی همه مراکز واکنشی فتوسیستم II بسته است، نشان دهنده افزایش تدریجی عملکرد فلورسانس و کاهش سرعت واکنش‌های فتوشیمیایی است و هرچه سیستم دیرتر بسته شود، یعنی قادر باشد تعداد الکترون بیشتری را بپذیرد، Fm آن بالاتر یا سیستم کارتر خواهد بود. در این بررسی، در شرایط تنش شوری، رقم کلاه فرج میزان Fm بالاتری داشت. براساس داده‌های به‌دست آمده از Fv/Fm و مقایسه تاثیر تنش شوری و شرایط نرمال در ارقام بررسی شده نشان می‌دهد که ارقام شیراز و کلاه فرج از توانایی بالاتری در حفظ و ثبات این نسبت در مقایسه با سایر ارقام دارا می‌باشند. کاهش میزان Fv/Fm حاکی از کارایی کمتر فتوسیستم II می‌باشد. کاهش این نسبت یا به دلیل افزایش در میزان F0 و یا کاهش Fm و یا هر دو می‌باشد.

فلورسانس متغیر (Fv) نشانگر احیای کامل پذیرنده‌های الکترون (QA) می‌باشد. بدین صورت که وقتی پذیرنده‌های الکترون در حالت احیای کامل باشند، فلورسانس کلروفیل زیاد است، بنابراین Fv نیز زیاد است، اما وقتی پذیرنده‌های الکترون در حالت اکسید هستند، مقدار فلورسانس حداقل است و مقدار Fv نیز کاهش می‌یابد، در نتیجه در شرایط تنش شوری QA در حال اکسید شدن است. در پژوهش حاضر میزان فلورسانس متغیر در تمامی ارقام در شرایط تنش شوری کاهش یافت که این کاهش می‌تواند به دلیل مهار الکترون و جلوگیری از انتقال الکترون توسط مولکول‌های کوئینون و ممانعت از فتواکسیداسیون فتوسیستم

II باشد (۲۷). در نتیجه میزان کارایی کوانتومی فتوسنتز خالص کاهش می‌یابد. در پژوهش حاضر، همبستگی منفی معنی دار بین F_v و F_0 نشان داد که همزمان با افزایش F_0 از میزان فلورسانس متغیر کاشته شد.

استفاده از فناوری‌های نوین همانند نانو ذرات می‌تواند کمک شایانی در انعطاف پذیری و افزایش مقاومت گیاهان به ویژه گیاهان چوبی نسبت به تنش‌های محیطی نماید. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم اثر مثبت و فزاینده‌ای روی انواع کلروفیل و کاروتنوئید تحت شوری دارد. غلظت ۲ میلی‌مولار بر لیتر نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم در شرایط تنش شوری روی بسیاری از صفات اثر بهتری داشت. کاهش مقدار انواع کلروفیل و کاروتنوئید تحت تنش شوری منجر به افزایش حساسیت نژادگان و ارقام زیتون به تنش شوری می‌شود. از آنجایی که افزایش سطح شوری می‌تواند سبب کاهش فتوسنتز خالص شود، بنابراین کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II نیز کاهش می‌یابد. به همین دلیل باید شرایطی فراهم شود که بتوان حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II و به تبع آن عملکرد گیاهان را داشت. یک راه حل در این رابطه، استفاده از ارقامی است که شاخص کلروفیل بزرگتر و کارایی فتوشیمیایی بیشتر و در نهایت عملکرد بیشتری را در شرایط تنش شوری زیاد دارا هستند. مقایسه میانگین موجود در این پژوهش نشان داد که رقم محلی شیراز بیشترین شاخص کلروفیل و نسبت بالایی از کارایی فتوسیستم II نسبت به رقم دیگر داشت. در رابطه با تاثیر سیلیسیم بر میزان کلروفیل گزارش‌های متناقضی وجود دارد. در ارتباط با تنش‌های محیطی Haghighi و Pessarakli (۲۰۱۳) گزارش کردند که کاربرد نانو ذرات سیلیسیم اندکی میزان نرخ کلروفیل را در شرایط تنش شوری افزایش می‌دهد. در پژوهشی دیگر Ashkavand و همکاران (۲۰۱۵) علت افزایش نرخ کلروفیل در نهال‌های محلب تحت تاثیر نانو ذرات سیلیسیم را افزایش جذب عنصر نیتروژن بیان نمودند. نتایج بررسی Barros و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که کاربرد توام سیلیسیم و سالیسیلیک اسید سبب افزایش مقدار فتوسنتز در گیاه خرما شد. در بررسی اثر سیلیسیم بر کاهش تنش شوری در گیاه توت فرنگی، Seyedlor Fatemy و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده کردند که سیلیسیم در شرایط غیر شور تاثیر معنی‌داری بر شاخص کلروفیل ندارد. این نتایج تأییدی بر نتایج حاصله در مورد زیتون است که نشان داد نانو ذرات سیلیسیم اثری قابل توجهی بر کلروفیل در شرایط بهینه رشد نداشت، اگرچه بیشتر گزارش‌ها مبنی بر اثر مثبت سیلیسیم بر میزان کلروفیل است. همچنین Yaghoubian و همکاران (۲۰۱۶) بیان نمودند که تاکنون اطلاعات دقیقی که رابطه بین Si و کارایی PII را نشان دهد در دسترس نیست، ولی احتمالاً Si از طریق افزایش برخی از عناصر غذایی مانند Fe که در ایجاد تبادل بین PI و PII نقش دارد باعث افزایش حداکثر کارایی PII می‌گردد.

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در اثر تنش شوری میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئید برگ نهال‌های زیتون کاهش یافته است و نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم اثرات ناشی از تنش شوری را بر رنگدانه‌های فتوسنتزی تا حدی بهبود بخشید که در این میان بیشترین بهبودی توسط نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم ۲ میلی‌مولار بود. همچنین در بین ارقام مورد بررسی نیز مقاومت متفاوتی در تنش به شوری مشاهده شد. اما استفاده از نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم در همه ارقام مورد بررسی موجب بهبود ویژگی‌های مورد بررسی در شرایط تنش شوری گردید. با توجه به نامشخص بودن مکانیسم‌های دقیق مقاومت به تنش شوری انواع گونه‌های درختان میوه در پاسخ به نانو ذرات، این پژوهش کمکی به توسعه دانش نانو ذرات در گیاهان چوبی خواهد بود. از نتایج این پژوهش می‌توان به عنوان مرجعی برای پیش بینی اثر نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم در گیاهان تحت تنش شوری استفاده شود. قطعاً مطالعات کامل‌تر در رابطه با استفاده از نانو ذرات دی اکسید سیلیسیم و یا نانو ذرات دیگر، در یک دوره زمانی طولانی‌تر و روی گیاهان بالغ، می‌تواند نتایج دقیق‌تری ارائه دهد و مکانیزم افزایش مقاومت گیاهان چوبی مانند زیتون در پاسخ به نانو ذرات در شرایط تنش‌های محیطی را روشن سازد.

References

- Akhtar, N., Ilyas, N., Hayat, R., Yasmin, H., Noureldeen, A., and Ahmad, P. (2021). Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and silicon dioxide nano-particles for amelioration of drought stress in wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 160-176.
- Ashkavand, P., Tabari, M., Zarafshar, M., Tomášková, I. and Struve, D. (2015). Effect of SiO₂ nanoparticles on drought resistance in hawthorn seedlings. *Lešné Prace Badawcze*, 76(4), 350–359.

منابع

- Assimakopoulou, A., Salmas, I., Roussos, P.A., Nifakos, K., Kalogeropoulos, P., and Kostelenos, G. (2017). Salt tolerance evaluation of nine indigenous Greek olive cultivars. *Journal of Plant Nutrition*, 40(8), 1099-1110.
- Barros, T.C., De Mello Prado, R., Garcia Roque, C., Ribeiro Barzotto, G., & Roberto Wassolowski, C. (2018). Silicon and salicylic acid promote different responses in legume plants. *Journal of Plant Nutrition*, 41(16), 2116-2125.
- Bybordi, A. (20120). Study effect of salinity on some physiologic and morphologic properties of two grape cultivars. *Life Science Journal*, 9(4), 1092-1101.
- Dalal, V.K. and Tripathy, B.C., (20120). Modulation of chlorophyll biosynthesis by water stress in rice seedlings during chloroplast biogenesis. *Plant, Cell and Environment*, 35 (9), 1685-1703.
- Galmes, J., Flexas, J., Save, R. and Medrano, H. (2007). Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: Responses to water stress and recovery. *Journal of Plant Soil*, 290, 139- 155.
- Gholami, R., Sarikhani, H. and Arji, I. (2016). Effects of deficit irrigation on some physiological and biochemical characteristics of six commercial olive cultivars in field conditions. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 17 (1), 39-52. (In Farsi).
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagci, E. G. and Cicek, N. (2007). Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *Journal of Plant Physiology*, 164(6), 728-736.
- Habibi, G. and Hajiboland, R. (2013). Alleviation of drought stress by silicon supplementation in pistachio (*Pistacia vera* L.) plants. *Folia Horticulturae*, 25(1), 21-29.
- Haghighi, M., Pessarakli, M., (2013). Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) at early growth stage. *Scientia Horticulturae*, 161, 111–117.
- Khayyat, M., Tehranifar, A., Davarynejad, G.H. and Sayyari-Zahan, M.H. (2014). Vegetative growth, compatible solute accumulation, ion partitioning and chlorophyll fluorescence of 'Malas-e-Savch' and 'Shishe-Kab' pomegranates in response to salinity stress. *Photosynthetica* 52(2), 301-312.
- Larbi, A., Kchaou, H., Gaaliche, B., Gargouri, K., Boulal, H., and Morales, F. (2020). Supplementary potassium and calcium improves salt tolerance in olive plants. *Scientia Horticulturae*, 260, 108912.
- Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001). Extraction of photosynthetic tissues: Chlorophylls and carotenoids. *Food Analytical Chemistry*, F4. 2.1-F4. 2.6.
- Methenni, K., Abdallah, M.B., Nouairi, I., Smaoui, A., Zarrouk, M. and Youssef, N.B. (2018). Salicylic acid and calcium pretreatments alleviate the toxic effect of salinity in the Oueslati olive variety. *Scientia Horticulturae*, 233, 349-358.
- Modares, A., Soroush, A. and Jalali, M. (2004). Changes in chlorophyll fluorescence and content of suflower plants under stress and Zn and Mn application. *Journal of Desert*, 9(1), 93-109
- Mukarram, M., Petrik, P., Mushtaq, Z., Khan, M.M.A., Gulfishan, M. and Lux, A. (2022). Silicon nanoparticles in higher plants: Uptake, action, stress tolerance, and crosstalk with phytohormones, antioxidants, and other signaling molecules. *Environmental Pollution*, 310, 119855.
- Seilsepour, M., Golchin, A. and Roozban, M.R. (2016). Evaluation of salt tolerance in two olive rootstocks based on growth characteristics and mathematical analysis of their regression equation with salinity. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 6(2), 83-100. (In Farsi).
- Severino, L.S. and Auld, D.L. (2013). Seed yield and yield components of castor influenced by irrigation. *Industrial Crops and Products*, 49, 52-60.
- Seyedlor Fatemy, L., Tabatabaei, J. and Fallahi, E. (2009). The effect of silicon on the growth and yield of strawberry grown under saline conditions. *Journal of Horticultural Sciences*, 23(1), 88-95. (In Farsi).
- Shen, X., Zhou, Y., Duan, L., Li, Z., Eneji, A.E. and Li, J. (2010). Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and Ultraviolet-B radiation. *Journal of Plant Physiology*, 167(15), 1248-1252.
- Tubana, B.S., and Heckman, J.R. (2015). Silicon in Soils and Plants. pp 7-51. In: F. Rodrigues and L. Datnoff (Eds). *Silicon and Plant Diseases*. Springer. Cham
- Wright, H., DeLong, J., Lada, R. and Prange, R. (2009). The relationship between water status and chlorophyll a fluorescence in grapes (*Vitis* spp.). *Postharvest Biology and Technology*, 51(2), 193-199.
- Xiao, Q., Zhang, F.D., Wang, Y.J., Zhang, J.F. and Zhang, S. Q. (20080). Effects of slow/controlled release fertilizers felted and coated by nano-materials on crop yield and quality. *Acta Metallic Sinica*, 14(5), 951-955.
- Yaghoubian, Y., Siadat, S. A., Moradi Telavat, M. R. and Pirdashti, H. (2016). Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem II photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63 (1), 77-84.

- Zarei, M., Azizi, M., Rahemi, M. and Tehranifar, A. (2016). Assessment of salinity tolerance of three fig cultivars based on growth and physiological factors and ions distribution. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 17(2), 247-260. (In Farsi).
- Zargar, S. M., Mahajan, R., Bhat, J. A., Nazir, M., and Deshmukh, R. (2019). Role of silicon in plant stress tolerance: opportunities to achieve a sustainable cropping system. *3 Biotech*, 9(3), 1-16.
- Zhu, Z.J., Wei, G.Q., Li, J., Qian, Q.Q. and Yu, J.Q. (2004). Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Science*, 167, 527-533.
- Zlatev, Z.S. and Yordanov, I.T. (2004). Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30 (3- 4), 3-18.

The effect of silicon dioxide nanoparticles (SiO₂) on chlorophyll content and chlorophyll fluorescence of five olive cultivars under salinity stress

Ameneh Ghorbani¹, Hassan Sarikhani¹, Ali Asghar Zeinanloo²

1. Department of Horticultural Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2. Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

* Corresponding Author, Email: (sarikhani@basu.ac.ir)

Fluorescence parameters and chlorophyll content are the most important factors to determine the photosynthetic capacity during the life of plants. In this research, the effect of SiO₂ nanoparticles was investigated on the characteristics of RWC, membrane stability, photosynthetic pigments and the functioning of photosystem II under sodium chloride salinity stress conditions in five olive cultivars. Two olive cultivars (Koroneiki and Conservalia as salinity-resistant and sensitive controls, respectively) and three selected genotypes (Deira, Kolahfaraj and Shiraz) at two levels of salinity (0 and 150 mM sodium chloride) and three levels of nanoparticles of SiO₂ (0, 1 and 2 mM) were investigated. The results showed that in all investigated cultivars, membrane stability and relative water content decreased in sodium chloride salinity treated plants. On the other hand, the application of SiO₂ nanoparticles increased the relative water content, membrane stability and the amount of photosynthetic pigment in both control and salinity conditions. Shiraz genotype is more tolerant to sodium chloride salinity due to its superiority in most traits related to salinity tolerance compared to other cultivars. The results showed that application of SiO₂ nanoparticles increased photosynthetic pigments under salinity stress. In general, it can be concluded that salinity stress reduced the content of photosynthetic pigments, relative water content, membrane stability and also the performance of photosystem II, and SiO₂ nanoparticles improved these traits. It seems that the application of SiO₂ at a concentration of 2 mM reduces the destructive effects of sodium chloride salinity stress in the studied olive cultivars.

Keywords: Olive, Chlorophyll, Salinity stress, Silica nanoparticles, Chlorophyll fluorescence indicators.