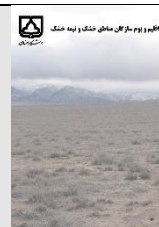




Semnan University

Climate and Ecosystem of Arid and Semi-arid Regions

<https://ceasr.semnan.ac.ir>



Research Article

Investigation of the Effects of Biochar, Zeolite, and Silver Nanoparticle Foliar Application on Yield and Yield Components of Sunflower under Wastewater Irrigation

Abolfazl Tajik^{a,*}, Mohammadreza Amiriyani^b, Ahmad Gholami^c, Hamid Reza Asgari^b

^a M.Sc. Graduate, Department of Agroecology, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

^b Professor, Department of Agroecology, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

^c Associate Professor, Department of Agroecology, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

ARTICLE INFO

Article type:

Research Full Paper

Article history:

Received: 24 December 2022

Revised: 29 December 2025

Accepted: 30 December 2025

Keywords:

Chlorophyll a and b,
Carotenoids,
Physiological traits,
Elicitor

EXTENDED ABSTRACT

Background and Objectives: Irrigation with non-conventional water sources, such as wastewater, can have significant negative impacts on the growth, yield, and health of crop plants due to the presence of various dissolved substances and pollutants. Although the reuse of wastewater in agriculture is considered a cost-effective strategy for conserving freshwater resources, the risks associated with toxic elements, pathogens, and physiological stresses necessitate the use of mitigation methods. In this context, nanotechnology and soil amendments like zeolite and biochar have emerged as novel tools to reduce adverse effects and improve plant growth under stress conditions. Sunflower (*Helianthus annuus*), as one of the most important oilseed crops globally, holds a special place in agricultural production due to the high economic and technical value of its seeds and oil. This study aimed to investigate the effect of foliar application of silver nanoparticles (AgNPs) at levels (0, 60, and 120 ppm), along with the application of biochar (9 tons per hectare) and zeolite (9 tons per hectare), on the physiological, morphological traits, seed yield, and oil content of sunflower irrigated with urban wastewater. The experiment was conducted as a factorial design based on a randomized complete block design with three replications in Varamin during the 2018-2019 growing season.

Materials and Methods: The analysis of variance results indicated that the AgNPs treatment had a significant effect on physiological traits, including chlorophyll a and b, carotenoids, relative water content (RWC) of leaves, and proline content. Increasing the concentration of AgNPs, especially at the 120 ppm level, significantly reduced the amount of chlorophyll a and b, indicating damage to the plant's photosynthetic apparatus and the induction of oxidative stress. Additionally, proline content, as a protective compound against stress, decreased with AgNPs application, which could indicate disruption in protein expression patterns and metabolic pathways activated by ethylene. These findings suggest that AgNPs at high concentrations act as a stress factor themselves, affecting the plant's tolerance capacity. In contrast, the individual application of biochar and zeolite had positive effects on growth traits. The main effect of biochar and zeolite on plant height was significant at the 5% and 1%

* Corresponding author: ravagh59@g mail.com

levels, respectively, and the application of these materials improved the physical and chemical conditions of the soil, enhancing root access to water and nutrients.

Results and Discussion: In the analysis of interaction effects, it was found that the combined application of these treatments plays a crucial role in modulating the effects of AgNPs. Although AgNPs had a negative effect on chlorophyll, this effect was relatively reduced in the presence of biochar and zeolite, indicating the protective role of these soil amendments. Regarding yield-related traits, the impact of the treatments was less pronounced. The number of seeds per head, 1000-seed weight, and seed yield were not significantly affected by the experimental treatments. However, the most significant positive finding of the research concerned product quality. The AgNPs treatment acted as an "elicitor" and caused a significant increase in seed oil percentage. This increasing effect was highest in combined treatments, particularly in the combination of 120 ppm AgNPs with biochar. Zeolite also showed an increasing effect when combined with AgNPs. These results indicate that stress induction by AgNPs may activate biosynthesis pathways of secondary metabolites, such as lipids, leading to increased oil accumulation in the seed.

Conclusion: Overall, the results of this study indicate that although the use of AgNPs under wastewater irrigation conditions can have undesirable effects on the plant's physiological traits, the simultaneous application of soil amendments like biochar and zeolite can mitigate these negative effects. At the same time, AgNPs, as a quality-enhancing agent, by increasing seed oil percentage, can boost the economic value of the sunflower crop. Therefore, a combined strategy of using AgNPs alongside biochar and zeolite could be an effective approach to improving product quality in sunflower cultivation with wastewater, albeit with consideration of its side effects on plant growth.

Cite this article as: Abolfazl Tajik, Mohammadreza Amiriyan, Ahmad Gholami, Hamid Reza Asgari (2025). Investigation of the Effects of Biochar, Zeolite, and Silver Nanoparticle Foliar Application on Yield and Yield Components of Sunflower under Wastewater Irrigation, 2(2), 54-73.

© 2025 Published by Semnan University Press.

[https://doi.org/ 10.22075/ceasr.2025.29406.1013](https://doi.org/10.22075/ceasr.2025.29406.1013)

بررسی تاثیر بیوچار، زیولیت و محلول پاشی نانو نقره بر عملکرد و اجزاء عملکرد آفتابگردان تحت آبیاری با آب فاضلاب

ابوالفضل تاجیک^{۱*}، محمدرضا عامریان^۲، احمد غلامی^۳ و حمید رضا اصغری^۲

۱- کارشناس ارشد، گروه اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

۲- استاد، گروه اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

۳- دانشیار، گروه اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

*: نویسنده مسئول، ravagh59@g mail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۳ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۹	سابقه و هدف: آبیاری با آب‌های غیرمعتبر از جمله فاضلاب، به دلیل حضور مواد محلول و آلاینده‌های مختلف، می‌تواند تأثیرات منفی قابل توجهی بر رشد، عملکرد و سلامت گیاهان زراعی داشته باشد. هرچند استفاده مجدد از فاضلاب در کشاورزی به عنوان یک راهکار مقرون‌به‌صرفه برای صرفه‌جویی در منابع آب شیرین مطرح است، اما خطرات ناشی از عناصر سمی، بیماری‌زایی و تنش‌های فیزیولوژیکی برای گیاهان و محیط زیست، لزوم بهره‌گیری از روش‌های تعدیل‌کننده را ضروری می‌سازد. در این راستا، فناوری نانو و مواد اصلاح‌کننده خاک مانند زیولیت و بیوچار به عنوان ابزارهایی نوین برای کاهش اثرات نامطلوب و بهبود رشد گیاهان تحت شرایط تنش مورد توجه قرار گرفته‌اند. مواد و روش‌ها: آفتابگردان (<i>Helianthus annuus</i>) به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی جهان، به دلیل ارزش بالای اقتصادی و فنی دانه و روغن آن، از جایگاه ویژه‌ای در تولیدات کشاورزی برخوردار است. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی نانو نقره در سطوح (صفر، ۶۰ و ۱۲۰ ppm)، کاربرد بیوچار (۹ تن در هکتار) و زیولیت (۹ تن در هکتار) بر صفات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و عملکرد دانه و میزان روغن آفتابگردان تحت آبیاری با فاضلاب شهری انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در منطقه ورامین در سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶ اجرا گردید. نتایج و بحث: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمار نانو نقره تأثیر معنی‌داری بر صفات فیزیولوژیکی از جمله کلروفیل a و b، کارتنوئیدها، محتوای نسبی آب برگ (RWC) و میزان پرولین داشت. با افزایش غلظت نانو نقره، به ویژه در سطح ۱۲۰ ppm، میزان کلروفیل a و b به طور قابل توجهی کاهش یافت که نشان‌دهنده آسیب به ساختار فتوسنتزی گیاه و القای تنش اکسیداتیو است. همچنین، میزان پرولین به عنوان یک ترکیب محافظ در برابر تنش، با اعمال نانو نقره کاهش یافت که می‌تواند نشانه اختلال در الگوی بیان پروتئین‌ها و مسیرهای متابولیکی فعال‌شده توسط اتیلن باشد. این یافته‌ها حاکی از آن است که نانو نقره در غلظت‌های بالا خود به عنوان یک عامل تنش‌زا عمل کرده و توانایی تحمل گیاه را تحت تأثیر قرار داده است. در مقابل، کاربرد بیوچار و زیولیت به تنهایی تأثیرات مثبتی بر صفات رشدی داشت. اثر اصلی بیوچار و زیولیت بر ارتفاع بوته به ترتیب در سطح ۵٪ و ۱٪ معنی‌دار بود و کاربرد این مواد باعث بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک و افزایش دسترسی ریشه به آب و مواد مغذی شد. در بررسی اثرات متقابل، مشخص گردید که عملکرد همزمان این تیمارها نقش مهمی در تعدیل اثرات نانو

نقره دارد. اگرچه نانو نقره اثر منفی بر کلروفیل داشت، اما این اثر در حضور بیوچار و زیولیت به طور نسبی کاهش یافت، که نشان‌دهنده عملکرد محافظتی این مواد اصلاح‌کننده است. در مورد صفات عملکردی، تأثیر تیمارها کمتر بود. تعداد دانه در طبق، وزن هزار دانه و عملکرد دانه تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. با این حال، مهم‌ترین یافته مثبت پژوهش در خصوص کیفیت محصول بود. تیمار نانو نقره به عنوان یک "محرک" (elicitor) عمل کرد و باعث افزایش معنی‌دار در درصد روغن دانه شد. این اثر افزایشی در تیمارهای ترکیبی، به ویژه در ترکیب نانو نقره ۱۲۰ ppm با بیوچار، بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. زیولیت نیز در ترکیب با نانو نقره اثر افزایشی داشت. این نتایج نشان می‌دهد که القای تنش توسط نانو نقره ممکن است مسیرهای بیوستنز متابولیت‌های ثانویه، از جمله لیپیدها، را فعال کرده و منجر به تجمع بیشتر روغن در دانه شود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه حاکی از آن است که اگرچه استفاده از نانو نقره در شرایط آبیاری با فاضلاب می‌تواند اثرات نامطلوبی بر صفات فیزیولوژیکی گیاه داشته باشد، اما کاربرد همزمان آن با مواد اصلاح‌کننده خاک مانند بیوچار و زیولیت قادر به تعدیل این اثرات منفی است. در عین حال، نانو نقره به عنوان یک عامل بهبوددهنده کیفیت محصول، با افزایش درصد روغن دانه، می‌تواند ارزش اقتصادی محصول آفتابگردان را افزایش دهد. بنابراین، استراتژی تلفیقی استفاده از نانو نقره همراه با بیوچار و زیولیت می‌تواند راهکاری مؤثر برای بهبود کیفیت محصول در کشت آفتابگردان با فاضلاب باشد، البته توجه به تأثیرات جانبی آن بر رشد گیاه اهمیت دارد.

استناد: تاجیک، الف.، عامریان، م.، غلامی، الف. و اصغری، ح. (۱۴۰۴). بررسی تأثیر بیوچار، زیولیت و محلول پاشی نانو نقره بر عملکرد و اجزاء عملکرد آفتابگردان تحت آبیاری با آب فاضلاب. اقلیم و بوم سازگان مناطق خشک و نیمه خشک، ۲(۲)، ۵۴-۷۳.

ناشر: دانشگاه سمنان

DOI: <https://doi.org/10.22075/ceasr.2025.29406.1013>

۱- مقدمه

آبیاری یکی از ارکان کشاورزی می‌باشد و استفاده از آب مناسب یکی از عوامل مؤثر بر سلامت و عملکرد گیاهان می‌باشد. در حاشیه جوامع صنعتی و بزرگ پس از استفاده از آب، فاضلاب‌ها اغلب به عنوان اضافات زندگی روزمره که ارزشی ندارند، در محیط رها سازی شده و یا از آن به عنوان آب آبیاری استفاده می‌کنند. در فاضلاب‌ها موادی محلول هستند که بر روی متابولیسم گیاهی تأثیر می‌گذارند. سوالی که وجود دارد این است که به کاربرد این آبها تأثیری بر عملکرد و سایر شاخص های گیاهان دارد و یا اینکه آیا می‌توان با بکار بردن موادی مانند نانو نقره، بیوچار و زیولیت همراه با آنها اثر مطلوبی مشاهده کرد؟ بدین لحاظ استفاده از نانومواد بخصوص نانونقره با توجه به واکنش های زیستی که دارند و بهبود دهنده های شیمیایی و فیزیکی خاک مانند بیوچار و زیولیت در پژوهش ها مورد توجه می باشند.

آفتابگردان با نام علمی *Helianthus annuus* گیاهی است یکساله از تیره آسترace یا مرکبان که به صورت بوته ای استوار رشد می کند. طول دوره رشد آفتابگردان نسبت به ژنوتیپ و عوامل محیطی از ۹۰ تا ۱۵۰ روز نوسان می کند. ساقه آفتابگردان فیبر زیادی داشته و در صنعت کاغذ سازی و تهیه سلولوز مصرف دارد. ساقه از نظر نیتروژن، کلسیم و پتاسیم نیز غنی است و اضافه کردن آن به خاک موجب افزایش ماده آلی و حاصلخیزی خاک می گردد (Aliari و همکاران ۲۰۰۰). تخمه آفتابگردان بسیار مقوی است و دارای ۲۴٪ مواد پروتئینی، ۴۷٪ روغن، ۲۰٪ مواد هیدروکربن، ۸٪ فسفر، ۹٪ پتاسیم و به غیر از

این مواد دارای ویتامین های A و B نیز می باشد. روغن تخم آفتابگردان دارای ۷۰٪ اسید چرب لینولئیک و مقداری فسفولیپید و ویتامین E می باشد (Aliari و همکاران، ۲۰۰۰).

فن آوری نانو، در زمینه های مختلفی مانند تشخیص سریع بیماری های گیاهی، شناسایی باقیمانده سموم در محصولات کشاورزی و حذف آنها، انتقال هوشمند دارو، سموم و مواد غذایی در دام، شیلات و گیاهان، تصفیه آبهای روان، افزایش کیفیت فرآورده های کشاورزی مرتبط با صنایع نساجی، مهندسی ژنتیک گیاهان و دام و افزایش میزان تولید محصول از طریق تولید حیوانات و گیاهان، افزایش مدت زمان انبارداری محصولات کشاورزی و موارد بسیاری نظیر آن می تواند نقش بسیار موثری را در بخش کشاورزی و منابع طبیعی ایفا کند.

ذرات نانو نقره خوشه هایی از اتم های نقره هستند که در غلظت های پایین دارای اثرات ضد میکروبی می باشد. این امر سبب شده که از این ذرات در کنترل آلودگی های قارچی و باکتریایی محیط های کشت بافت گیاه استفاده شود. (استفاده از آنتی بیوتیک ها در کشت درون شیشه ای می تواند سبب آسیب به بافت های گیاهی شده و ریسک تولید گونه های مقاوم باکتریایی را بالا ببرد). همچنین در برخی موارد رشد گیاهان در شرایط حضور ترکیبات آنتی بیوتیک کاهش می یابد.

تعامل گیاه با نانو ذرات به دو صورت مستقیم، از طریق انواع حاصلخیز کننده ها و سموم دفع آفات و علف کش ها مبتنی بر نانو ذرات و به صورت غیر مستقیم، از طریق آب آبیاری آلوده به نانو ذرات قابل بررسی می باشد. نانو ذرات نقره در حال حاضر بالاترین سطح استفاده در نانو تکنولوژی و به طور خاص در کشاورزی به خود اختصاص داده است. دو مکانیسم عمده نانو نقره ها عبارتند از:

الف- مکانیسم کاتالستی: تولید اکسیژن فعال توسط نانو نقره، این مکانیسم بیشتر در مورد کامپوزیت های نانو نقره ای صدق می کند که روی پایه های نیمه هادی مانند TiO_2 یا SiO_2 قرار گرفته می شود. در این وضعیت ذره مانند یک پیل الکتروشیمیایی عمل می کند و با اکسید کردن اتم اکسیژن، و یا هیدرولیز کردن آب، یون OH^- را تولید می کند که هر دو از بنیان های فعال و از قویترین عامل های ضد میکروبی نیز می باشند.

ب- مکانیسم یونی: دگرگون ساختن میکرو ارگانیسم ها به وسیله تبدیل پیوند های هیدروژن گوگردی S-H به گوگرد نقره S-Ag، در این مکانیسم ذرات نانو نقره فلزی به مرور زمان یون های نقره از خود ساطع می کنند. این یون ها طی واکنش های جانشینی منجر به نابود شدن دیواره سلولی در باکتری ها شده، که نتیجه آن تلف شدن میکروارگانیسم هاست (Feyzi و همکاران، ۱۳۸۹).

در مطالعه ای که توسط اختیاری و همکاران (۱۳۹۰) انجام شد مشخص گردید که ذرات نانو نقره سبب کاهش اثرات منفی شوری در گیاه رازیانه گردید، به نظر می رسد با کاربرد نانو نقره میزان تخلیه عناصر غذایی گیاه از خاک نسبت به تیمارهای دیگر بیشتر بوده است و در نهایت سبب افزایش عملکرد گردیده است.

در خصوص مکانیزم اثر نانو ذرات نقره مشخص گردیده است که یون های نقره اثرات بازدارنده ای در برابر آنزیم های مختلف دارند در این مکانیزم که به آن مکانیزم اثر یونی گفته می شود نانو ذرات نقره به مرور زمان یون های Ag را از خود ساطع می کنند، این یونها طی واکنش جانشینی باندهای S-H منفی در جداره میکرو ارگانیسم ها و و آنزیم ها به باندهای S-Ag تبدیل می کنند که نتیجه این واکنش دناتوره شدن و تلف شدن میکروارگانیسم ها است (Karamkesh و همکاران، ۱۳۸۵).

بیوچار ماده ای جامد است که از کربن سازی توده های زیستی به دست می آید. بیوچار ممکن است که به خاک اضافه شود تا عملکرد خاک بهبود پیدا کند. همچنین این ماده دارای مقدار با ارزشی کربن است، در طی فرآیندی که مواد آلی درون خاک

تبدیل به هوموس کشاورزی می شود، می‌تواند کربن را حفظ نماید. این فرایند می‌تواند زغال نیم سوز با منافذ های بسیار درشت به وجود آورده که به حفظ مواد غذایی و آب کمک می کند (Rabiei و همکاران، ۱۳۹۲).

Nourouzi (۱۳۹۴) گزارش کرد نتایج تجزیه واریانس کاربرد بیوپچار و سوپرجاذب اثر معنی داری در سطح ۱ درصد بر طول ریشه گیاه آفتابگردان دارد. میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین طول ریشه ی مربوط به ۴ گرم در ۱ کیلوگرم خاک و چهار گرم سوپرجاذب در ۱ کیلوگرم خاک با میانگین ۳۴ سانتیمتر به دست آمد و کمترین طول ریشه مربوط به تیمار . شاهد با میانگین ۲۴ سانتیمتر به دست آمد به عبارت دیگر افزایش بیوپچار و سوپر جاذب طول ریشه را ۴۰ درصد افزایش داد .

زیولیت ها گروهی از آلومینو سیلیکاتهای هیدراته متبلور با خلل و فرج های ریز هستند که حاوی کاتیون های قابل تعادلی از گروه فلزات قلیایی و قلیایی خاکی یعنی Na^+ ، K^+ ، Mg^{2+} و Ca^+ بوده و بطور برگشت پذیر آب را جذب و آزاد می کنند. از ویژگیهای آن ها این است که قادرند بدون تغییر عمده در ساختمان آنها به طور برگشت پذیر آب را به خود جذب و مجدداً آزاد کرده و بعضی از کاتیون های ساختمانی خودشان مبادله کنند (Mumpton و Ming، ۲۰۰۷).

در تحقیقی که بر روی گیاه برنج در دو خاک سبک و سنگین انجام دادند، اظهار داشتند که در تیمارهای این تحقیق، زیولیت و نیتروژن باعث افزایش عملکرد کاه و کلش در هر دو نوع خاک و باعث افزایش تعداد پنجه در خاک سنگین شده است (Kavousi و Rahimi، ۱۳۸۱). گردش آب در طبیعت میان بارش و تبخیر یک مدار بسته ای را می گذراند، که فاضلاب جز بسیار کوچکی از آن است، به عبارت دیگر فاضلاب قسمتی است از آبی که بشر از گردش آن در طبیعت برداشت نموده و پس از مصرف دوباره به مدار نامبرده بازمی گرداند. سالانه پیرامون ۳۳۴ هزار کیلومتر مکعب آب از سطح دریا ها و ۶۲ هزار کیلومتر مکعب از خشکی ها تبخیر می گردد. مقدار بارش در روی سطح خشکی های زمین روی هم نزدیک به ۹۹ هزار کیلومتر مکعب است که از آن تنها ۳۷ هزار کیلو متر مکعب به دریا باز می گردد. قسمت بسیار ناچیزی از بارش های آسمانی مستقیماً مورد استفاده انسان و حیوان قرار گرفته و یا غیر مستقیم آلوده شده و به صورت فاضلاب پدیدار می شود. مقدار فاضلابی که مستقیماً توسط محیط زیست انسان و یا حیوان دفع می گردد تقریباً برابر ۷۰ تا ۹۰ درصد مقدار مصرف آب می باشد. اهمیت جمع آوری فاضلاب در جهان امروز با بزرگ شدن شهرها و افزایش جمعیت آنها از یک سو و گسترش صنایع و کارخانه ها از سوی دیگر مسئله آلودگی محیط زیست روز به روز اهمیت بیشتری پیدا می کند. با گسترش زندگی ماشینی و به علت توجه نکردن افراد به منافع همگان هر روز انواع بیشتری از آلودگی، محیط زیست آدمیان و حیوانات را ناسالم تر و زندگی آنها را در معرض خطر جدی تری قرار می دهد. فاضلاب ها همیشه دارای مقدار بسیاری مواد خارجی هستند که به صورت های گوناگون برای زندگی موجودات زنده زیان آور می باشند. وجود باکتری ها و میکروب ها در فاضلاب عاملی است که از یکصد سال گذشته زیان آن برای مردم آشکار گشته است. به جز باکتری های بیماری زا که تنها جزء کوچکی از موجودات زنده پساب ها را تشکیل می دهند. مواد آلی سنگین، نیتراتها، فلزات سنگین و هیدروکربن های تجزیه نشده و چند شاخه ای موجود در آن، می توانند عامل تأثیرگذاری بر زندگی موجودات زنده و یا موجب تنش فیزیکی و شیمیایی بر آنها شوند. موضوع کاربرد فاضلاب ها به علت نیاز روز افزون به آب روز به روز بیشتر مورد توجه قرار می گیرد. این پژوهش باهدف بررسی تاثیرات استفاده از محلول پاشی نانونقره ، بایوپچار و زیولیت بر کشت آفتابگردان که توسط فاضلاب آبیاری می شود صورت گرفته است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- منطقه اجرا

این آزمایش در سال زراعی ۹۶-۹۷ در مزرعه ای واقع در شهرستان ورامین انجام شد. روش انجام آن به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوکهای کامل تصادفی در ۳ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تیمار ها شامل سه متغیر نانو نقره در سه

سطح عدم کار برد و سطح ۶۰ ppm و ۱۲۰ ppm، متغیر دوم کاربرد و عدم کاربرد بیوجار و متغیر سوم شامل کاربرد و عدم کاربرد زیولیت بودند. میزان مصرف بایو چار در تیماری که از آن استفاده گردید به میزان ۹ تن در هکتار و به همین ترتیب برای تیمار زیولیت نیز مقدار ۹ تن در هکتار استفاده گردید.

۲-۲- صفات مورد اندازه گیری

برای اعمال تیمار زیولیت مقدار در نظر گرفته شده برای هر کرت قبل از ایجاد ردیف ها به کرت اضافه گردید جهت اعمال بایو چار نیز مانند زیولیت اقدام شد. پس از آماده سازی مقادیر مورد نظر نانو نقره زمانی که گیاه آفتابگردان در حالت ستاره ای قرار داشت (مرحله R4 رشد زایشی) تیمار اعمال شد. محلول پاشی نانو نقره به وسیله سم پاش دستی بر روی گیاه آفتابگردان انجام شد.

۲-۲-۱- ارتفاع گیاه: جهت اندازه گیری ارتفاع گیاه در مرحله نهایی از متر استفاده شد و معیار اندازه گیری فاصله بین طوقه گیاه تا پشت طبق بود. از هر کرت آزمایشی سه بوته انتخاب شدند و سپس میانگین ارتفاع بوته ها برای هر کرت به دست آمد.

۲-۲-۲- اندازه گیری کلروفیل به وسیله اسپد (SPAD): نمونه برداری با دستگاه کلروفیل متر ده روز پس از اعمال تیمار نانو نقره انجام شد.

پس از انتخاب پنجمین برگ باقی مانده به طبق به وسیله اسپد به طور میانگین در سه نقطه از برگ اندازه گیری انجام شد. و سپس نتایج اعلام گردید.

۲-۲-۳- اندازه گیری کلروفیل با روش آرنون: جهت اندازه گرفتن کلروفیل با روش آرنون (آرنون، ۱۹۶۷). نمونه از پنجمین برگ باقی مانده به طبق انتخاب و نمونه برداری انجام شد. سپس نمونه ها پس از برداشت، درون کیسه های پلاستیکی شماره گذاری شده، و در ظرفی که با یخ خنک شده بود نگهداری و به آزمایشگاه منتقل گردید.

کلروفیل با روش آرنون (آرنون، ۱۹۶۷). اندازه گیری شد در روش آرنون مقدار نیم گرم از برگ انتخاب شده، و سپس در بوته چینی به همراه یک گرم کربنات کلسیم و ۱۰ میلی لیتر استون ۹۰ درصد مخلوط می گردد. سپس توسط سانتریفوژ محلول صاف گردیده یک میلی لیتر از محلول با ۹ میلی لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط می گردد. دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر تنظیم گردیده و با نمونه شاهد جذب آن صفر شد. سپس نمونه به دستگاه داده شده و جذب آن قرائت گردید. عدد به دست آمده در روابط گذاشته و مقدار کلروفیل a و کلروفیل b و کار تنوید ها محاسبه می شود.

$$\text{chl. a (mg. L}^{-1}\text{)} = (12.25 * A663 - 2.79 * A647) * D$$

$$\text{chl. a (mg. L}^{-1}\text{)} = (12.25 * A663 - 2.79 * A647) * D$$

$$\text{chl. b (mg. L}^{-1}\text{)} = (21.5 * A647 - 5.1 * A663) * D$$

$$\text{chl. a+b (mg. L}^{-1}\text{)} = (7.15 * A663 - 1871 * A647) * D$$

$$\text{Caroten} = (1000 \times a_{470} - 1/8 \times ca - 85/5 \times cb) / 198$$

فرمول شماره ۱ روابط اندازه گیری کلروفیل که D نشان دهنده ضخامت کووت (cm) و A663، A646 و A470 جذب نوری محلول در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر را نشان می‌دهد.

۲-۲-۴- درصد روغن دانه: جهت تعیین روغن دانه پس از برداشت دانه‌ها از هر کرت درون پاکت‌های مجزا ریخته شده و شماره گذاری گردید و درصد روغن نمونه‌ها در آزمایشگاه به روش سوکسله تعیین گردید. در روش سوکسله ۵ گرم نمونه همراه با ۲۵۰ میلی لیتر اتر دویترول در دستگاه سوکسله قرار گرفته پس از سه ساعت بالن حاوی اتر در بن ماری حرارت دیده و وزن بالن همراه روغن به دست می‌آید.

تعداد دانه در طبق: پس از برداشت نهایی از کل بوته‌های مربوط به هر کرت آزمایشی در خطوط آنها تعداد ۳ بوته به صورت تصادفی انتخاب گردید و تعداد دانه در طبق اندازه گیری شد.

عملکرد دانه: جهت محاسبه عملکرد با در نظر گرفتن حاشیه از هر خط سه بوته انتخاب و طبق‌های خطوط پس از برداشت بسته بندی و شماره گذاری گردید و پس از جدا کردن دانه‌ها از طبق به صورت دستی و توزین عملکرد دانه در هر کرت بر حسب تن در هکتار محاسبه گردید.

وزن هزار دانه: پس از برداشت نمونه‌ها به صورت تصادفی و شمارش هزار دانه آفتابگردان دانه‌ها توسط ترازوی یک هزارم وزن شده و وزن هزار دانه در هر کرت محاسبه گردید.

محتوای نسبی آب: برای تعیین محتوای نسبی آب برگ‌های نمونه‌ها انتخاب شده و به آزمایشگاه منتقل گردید سپس یک گرم از هر برگ انتخاب و توزین شد، سپس جهت اندازه گیری وزن آماس نمونه‌ها داخل آب مقطر قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت رها شدند. پس از توزین نمونه‌های آماده شده نمونه‌ها جهت به دست آوردن وزن خشک به مدت ۸ ساعت در داخل آون ۷۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. در انتها با کمک فرمول‌های زیر محتوای نسبی آب برگ‌ها (RWC) اندازه گیری شد.

محتوای نسبی آب = $100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن اشباع}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})$

اندازه گیری پرولین: جهت اندازه گیری پرولین به روش بیتس (بیتس و والدن، ۱۹۷۳) ابتدا نیم گرم برگ توزین و همراه با اسید سولفوسالیسیلیک مخلوط گردید، سپس این مخلوط یکنواخت شده و با استفاده از سانتریفیوژ صاف گردیده و در محل خنک نگهداری شد. پس از آن جهت جداسازی و اندازه گیری پرولین به محلول ۱۰ میلی لیتر تولوئن و یک میلی لیتر معرف نین هیدرین که از مخلوط شدن پودر نین هیدرین در اسید فسفریک و اسید استیک به دست آمده است استفاده شد. و در بن ماری ۹۰ درجه به مدت یک ساعت قرار داده می‌شود. پس از خارج کردن لوله‌ها از بن ماری آنها روی ورتکس به مدت ۱ دقیقه مخلوط می‌گردد. سپس این محلول ثابت نگه داشته شده تا فاز تولوئن از فاز پایین جدا گردد، و به وسیله پیت یک میلی لیتر از فاز تولوئن به داخل کوت دستگاه اسپکتروفتومتر منتقل می‌گردد. دستگاه اسپکتروفتومتر روی طول موج مورد نظر ست شده و به وسیله محلول شاهد جذب آن صفر می‌گردد. سپس این نمونه‌ها به داخل دستگاه اسپکتروفتومتر انتقال یافته و مقدار جذب آن خوانده می‌شود. پس از آن با استفاده از پودر پرولین به همان گونه که برای نمونه‌ها عمل شد مراحل آماده سازی صورت گرفته و توسط دستگاه قرائت می‌گردد. تا منحنی استاندارد تهیه شود. با استفاده از نرم افزار اکسل

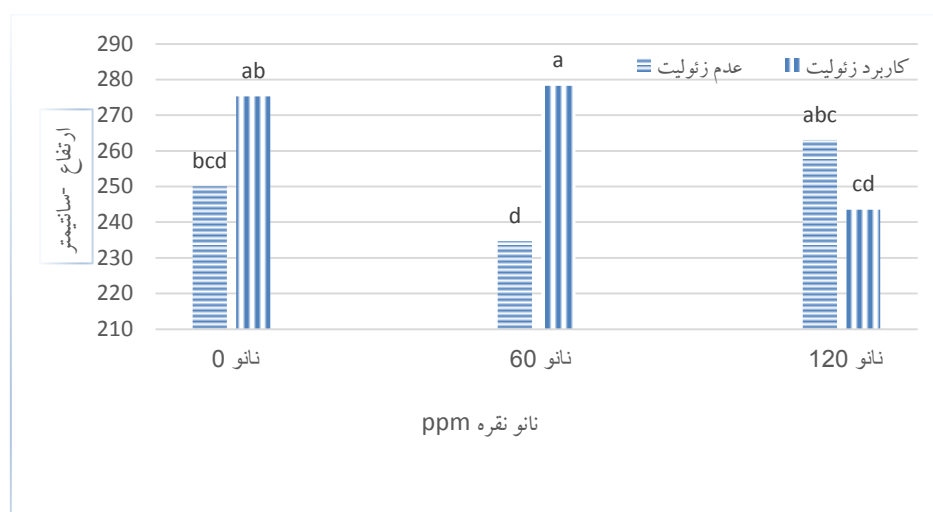
می‌توان به معادله خط منحنی استاندارد پرولین دست یافت و با قرار دادن میزان جذب نمونه‌ها در معادله به مقدار پرولین نمونه‌ها دست پیدا کرد.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات: تجزیه واریانس طرح فاکتوریل در قالب کامل تصادفی و با نرم افزار آماری SAS انجام پذیرفت و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون LSD در سطح پنج درصد، در نرم افزار MSTAT.C تحلیل شد. همچنین رسم گراف‌ها نیز با استفاده از نرم افزار اکسل صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ارتفاع ساقه:

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ارتفاع جدول پیوست (۱) اثر اصلی نانو نقره بر ارتفاع معنی داری نبود. اثر اصلی بیوجار در سطح پنج درصد و اثر اصلی زیولیت نیز در سطح یک درصد بر ارتفاع اثر معنی داری داشت. اثرات متقابل نانو نقره و زیولیت در سطح یک درصد اثر متقابل معنی دار دارند. اثر متقابل سه گانه نیز معنی دار بود. در مقایسه میانگین اثر متقابل زیولیت و نانو نقره (شکل شماره ۱) بیشترین میزان ارتفاع ساقه در شرایط نانو نقره ۶۰ و زیولیت مشاهده شد، که نسبت به شاهد تفاوت معنی داری داشت و کمترین میزان ارتفاع ساقه در شرایط نانو ۶۰ و عدم کاربرد زیولیت بود. ذرات نانو نقره می‌توانند به داخل سیتوپلاسم و غشای سلولی در ریشه و ساقه نفوذ کنند و باعث ایجاد تغییراتی در پروتئین‌های غشای سلولی شوند.



شکل ۱. نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل زیولیت و نانو نقره بر ارتفاع بوته

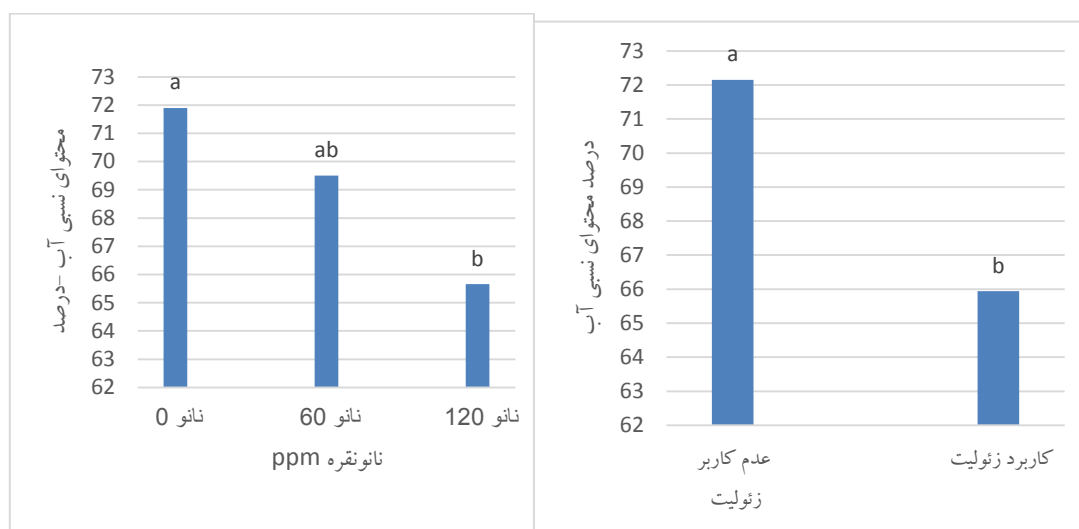
Fig 1. Mean comparison of the interactive effect of zeolite and silver nanoparticle on plant height

مقایسه میانگین اثرات متقابل بین نانو نقره $\times$ زیولیت $\times$ بیوجار در (جدول شماره ۱) بیشترین میزان ارتفاع در شرایط عدم کاربرد نانو نقره و کاربرد همزمان بیوجار و زیولیت مشاهده گردید. استفاده به تنهایی نانو ۶۰ موجب به دست آمدن کم‌ترین ارتفاع و نانو ۱۲۰ با شاهد تفاوت معنی داری را دارا نمی‌باشد. بیشترین اثر افزایشی در ارتفاع مربوط به کاربرد بیوجار می‌باشد که باعث افزایش معنی دار آن شده است و استفاده از بایوچار و نانو ۶۰ باعث افزایش ارتفاع گردیده در حالیکه این اثر را بیوجار و نانو ۱۲۰ از خود نشان نداده و باعث ایجاد تغییرات معنی دار نگردیده است. استفاده نانو ۶۰ به تنهایی موجب

کاهش ارتفاع و استفاده هم زمان آن به همراه بیوپار و زیولیت باعث افزایش ارتفاع شده است، اما کاربرد تنهای نانو ۱۲۰ و اعمال آن همراه با بیوپار و زیولیت باعث تغییرات معنی دار در مقایسه با شاهد نشده است.

۳-۲- اثرات تیمار ها بر محتوای نسبی آب

تجزیه واریانس داده های مربوط به محتوای نسبی آب (جدول پیوست ۱) نشان داد، که مقادیر مختلف نانو نقره بر روی محتوای نسبی آب اثر معنی داری در سطح احتمال پنج درصد داشت (شکل ۲). مقادیر مختلف زیولیت در سطح یک درصد بر روی محتوای نسبی آب اثر معنی داری داشت (شکل ۲). اثرات متقابل محاسبه شده نشان می دهد که مقادیر مختلف بایو چار و نانو نقره بر هم اثر متقابل ندارند و همچنین اثرات متقابل در بین بیوپار و زیولیت، نانو نقره و زیولیت مشاهده نشد. اما نانو نقره و بایو چار و زیولیت (اثر سه گانه) در سطح یک درصد اثرات متقابل دارند.



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر زیولیت بر درصد محتوای نسبی آب و مقایسه میانگین اثر نانو نقره بر محتوای نسبی آب

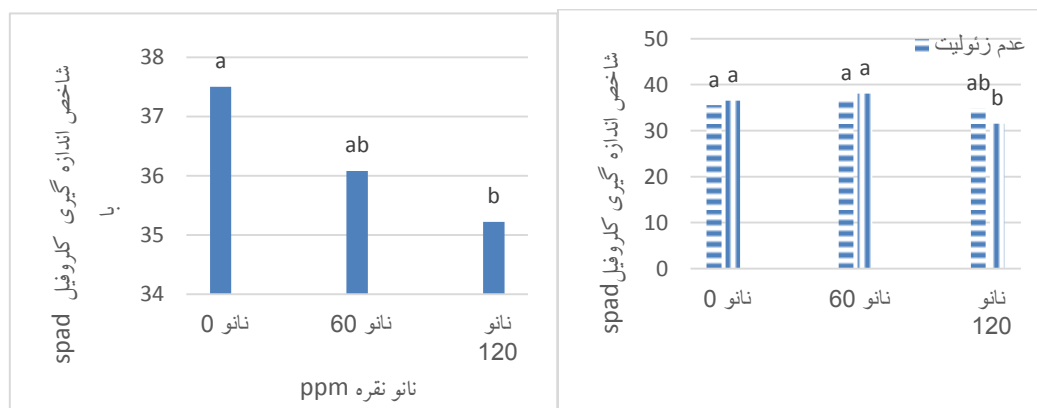
Fig 2. Mean comparison of the effect of zeolite on relative water content percentage and mean comparison of the effect of silver nanoparticle on relative water content

۳-۳- اثرات تیمار ها بر میزان شاخص نسبی کلروفیل اندازه گیری شده توسط دستگاه spad

تجزیه واریانس داده های مربوط به میزان کلروفیل اندازه گیری شده با دستگاه spad (جدول پیوست ۲) نشان می دهد، که مقادیر مختلف نانو نقره و مقادیر مختلف زیولیت بر روی کلروفیل اندازه گیری شده به وسیله spad اثر معنی داری در سطح احتمال پنج درصد دارد. در جدول فوق اثرات متقابل محاسبه شده نشان می دهد که مقادیر مختلف بایو چار و نانو نقره بر هم اثر متقابل ندارند. اما سطوح نانو نقره × زیولیت و همچنین نانو نقره × بایو چار × زیولیت در سطح یک درصد با یکدیگر اثر متقابل دارند.

مقایسه میانگین اثرات متقابل نانو نقره و زیولیت نشان داد، (شکل ۳) با افزایش میزان نانو نقره شاخص کلروفیل کاهش پیدا می کند. وجود زیولیت نیز تاثیری نداشته و در نانو ۱۲۰ باعث کاهش شاخص کلروفیل شده است. در همین زمینه، یافته های محققان حاکی از آن است که نانو ذرات، هم اثر مثبت و هم اثر منفی روی رشد و نمو گیاهان دارند و این تأثیر در گیاهان بستگی به ترکیب، غلظت، اندازه، و خواص فیزیکی و شیمیایی نانو ذرات و همچنین گونه گیاهی، مرحله رشدی گیاه،

روش و مدت زمان قرار گرفتن در معرض آنها دارد همچنین، نانو مواد می توانند به عنوان ترکیبات سیگنال برای واکنشهای متابولیکی و فیزیولوژیکی عمل کنند اما اساس مکانیسم آنها به طور کامل مشخص نشده است (Hatami و همکاران، ۲۰۱۴).



شکل ۳. مقایسه میانگین اثرات متقابل نانو نقره با زیولیت بر میزان شاخص کلروفیل اندازه گیری شده با spad و مقایسه میانگین اثر اصلی نانو نقره بر میزان شاخص کلروفیل اندازه گیری شده با spad

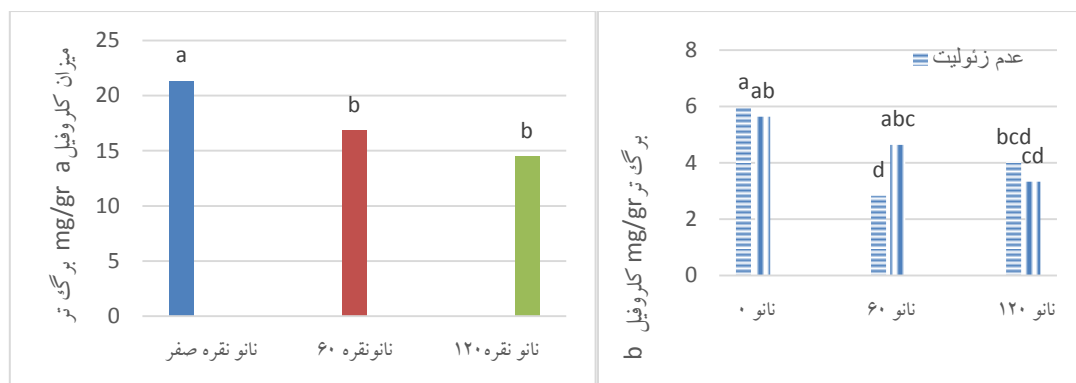
Fig 3. Mean comparison of the interactive effects of silver nanoparticle with zeolite on chlorophyll index measured by spad and mean comparison of the main effect of silver nanoparticle on chlorophyll index measured by spad

۳-۴- اثرات تیمار ها بر میزان کلروفیل a

تجزیه واریانس داده های مربوط به میزان کلروفیل a (جدول پیوست ۲) نشان داد. میزان کلروفیل a بر اثر اعمال مقادیر مختلف نانو نقره در سطح احتمال یک درصد باعث تغییرات معنی داری شده است. که با انجام مقایسه میانگین بین مقادیر مختلف نانو نقره اعمال شده مشخص شد، (شکل ۴-۷). تیمار نانو نقره در غلظت های ۶۰ و ۱۲۰ ppm باعث کاهش میزان کلروفیل a گشته اند.

۳-۵- اثرات تیمار ها بر میزان کلروفیل b

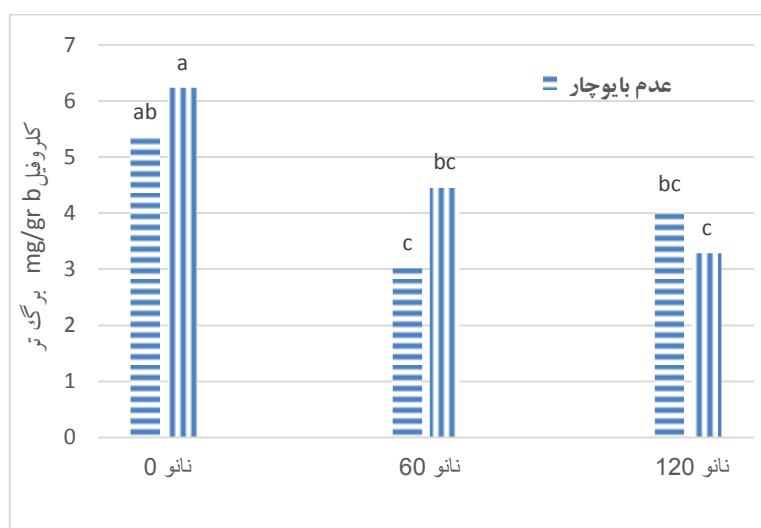
تجزیه واریانس داده های مربوط به اثرات اعمال تیمار ها بر میزان کلروفیل b (جدول پیوست ۲) نشان داد که مقادیر مختلف نانو نقره بر کلروفیل b اثر معنی داری در سطح احتمال یک درصد دارد. اثرات متقابل محاسبه شده نشان میدهد که مقادیر مختلف بایو چار × نانو نقره بر هم اثر متقابل دارند. سطوح نانو نقره × زیولیت در سطح پنج درصد و همچنین نانو نقره × بایو چار × زیولیت در سطح یک درصد اثر متقابل بر میزان کلروفیل b داشتند.



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل نانو نقره و زیولیت بر کلروفیل b و مقایسه میانگین اثرات نانو نقره بر میزان کلروفیل a

Fig 4. Mean comparison of the interactive effect of silver nanoparticle and zeolite on chlorophyll b and mean comparison of the effects of silver nanoparticle on chlorophyll a level

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل نانو نقره $\times$ بیوچار در (شکل ۴) نشان می‌دهد که استفاده تنها از بایوچار باعث افزایش معنی دار کلروفیل b نسبت به شاهد و به کار بردن آن همراه با نانو نقره باعث کاهش اثرات کاهنده نانو نقره بر میزان کلروفیل b شده است که در اینجا شاهد اثرات بهبود دهنده بیوچار می‌باشیم. بطوریکه در تحقیقی بیان شده بیوچار سبب توسعه ریشه در گیاه آفتابگردان می‌شود که این توسعه سبب جذب بیشتر مواد غذایی از خاک می‌گردد و مقدار نیتروژن در سلول‌ها افزایش می‌یابد و آنزیم‌هایی مثل نیترات ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز، فرایند احیای نیترات را بهبود می‌بخشد و سبب افزایش تولید پروتئین می‌شوند (Wang و همکاران، ۲۰۰۸). البته در نتایج ما شاهد اثرات کاهنده نانو نقره بر کلروفیل b هستیم که با افزایش آن اثرات آن نیز تشدید شده است.

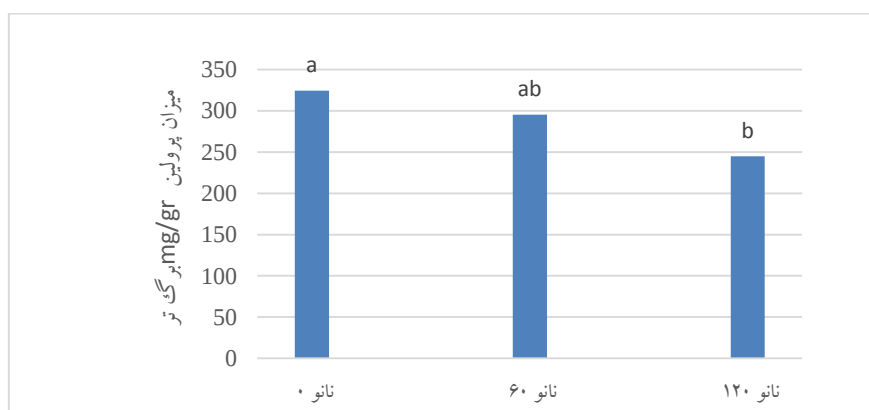


شکل ۵. مقایسه میانگین نانو نقره و بیوچار بر کلروفیل b

Fig 5. Mean comparison of silver nanoparticle and biochar on chlorophyll b and mean comparison of the effect of silver nanoparticle on proline

۳-۶- اثرات تیمار ها بر میزان پرولین

تجزیه واریانس داده های مربوط به اثرات اعمال تیمار ها بر میزان پرولین (جدول پیوست-۲) نشان داد. میزان پرولین بر اثر اعمال مقادیر مختلف نانو نقره در سطح احتمال نیم درصد باعث تغییرات معنی داری شده است. با انجام مقایسه مشخص شد. تیمار نانو نقره در غلظت ۶۰ باعث کاهش میزان پرولین شد و کاربرد نانو ۱۲۰ نیز باعث کاهش بیشتر میزان پرولین شد. در خصوص نتیجه بدست آمده میتوان گفت، نانو نقره اگر چه فاقد بار الکتریکی است ولی احتمالا وقتی به سلول وارد می شود، با دو مکانیزم احتمالی موجب توقف فعالیت اتیلن و در نهایت تغییر الگوی پروتئینی می گردد. الف) نانو نقره ممکن است با همان ساختمان طبیعی یعنی نانو نقره وارد سلول شود و به صورت یک پوشش بر روی گیرنده های اتیلن قرار گرفته و آنها را غیر فعال سازد ب) احتمال دارد در سلول، شرایط اکسایشی لازم جهت تبدیل نانو نقره به یون نقره فراهم بوده و در نتیجه نانو نقره به یون تبدیل شده و از طریق مکانیزم شناخته شده یعنی جایگزینی نقره با یون مس در گیرنده اتیلن فعالیت این گیرنده را مختل سازد. به هر حال هریک از این مسیر ها می تواند منجر به تغییر در فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیسمی شده و الگوی پروتئین ها را تغییر دهد. نظیر چنین تغییراتی در الگوی پروتئین ها بعد از تیمار نانو نقره در آفتابگردان گزارش شده است (Krizkova و همکاران، ۲۰۰۸). این نتایج با توجه به اینکه گیاه در تنش آبی قرار نداشته است حاصل اثر نانو نقره بر الگوی پروتئین ها بعد از تیمار نانو نقره می باشد.



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر نانو نقره بر پرولین

Fig 6. Mean comparison of the effect of silver nanoparticle on proline

۳-۷- میزان روغن

تجزیه واریانس داده های مربوط به اثرات اعمال تیمار ها بر میزان روغن، (جدول پیوست-۲) نشان داد، علاوه بر اثرات اصلی تمامی اثرات متقابل نیز معنی دار هستند. نتایج مقایسه میانگین (جدول پیوست ۲). نشان می دهد، استفاده از نانو نقره در هر دو سطح باعث افزایش معنی دار در میزان روغن شده و تیمار های زیولیت و بایو چار نیز همین اثر را از خود نشان می دهند. ترکیب این تیمار ها باعث شده بیشترین میزان روغن در استفاده هم زمان از بایو چار و نانو ۱۲۰ حاصل شده و ترکیب نانو ۶۰ × زیولیت نیز افزایش معنی داری دارد. به طور کلی بیوجار اثر بیشتر و زیولیت اثر کمتر اما افزایشی را چه در حالت استفاده تنها و چه در حالت استفاده ترکیبی از خود نشان داده اند. همچنین مشاهده می شود کاربرد نانو نقره چه در نانو ۶۰ و یا نانو ۱۲۰ باعث افزایش میزان روغن گردیده است.

محركها تركيب‌هایی با منشأ زیستی و یا غیرزیستی هستند که از طریق القای پاسخهای دفاعی باعث بیوستز و تجمع متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Zhao و همکاران، ۲۰۰۷). در تحقیقی دیگر بیان شده، الیستورها (محرك‌های تولید متابولیت‌های ثانویه) با تأثیر بر بیان ژنهای دخیل در سنتز متابولیت‌های اولیه که در انتقالات واکوئلی نقش دارند، می‌توانند موجب تنظیم سطح متابولیت‌های ثانویه شوند. به عبارتی، نقل و انتقالات و ذخیره متابولیت‌های اولیه، نقش مهمی در تولید ترکیبهای ارزشمند ایفاء می‌کنند (Larkin و همکاران، ۲۰۰۵).

۴- نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از فاضلاب به عنوان منبع آبیاری، با وجود پتانسیل آن برای صرفه‌جویی در منابع آب شیرین، می‌تواند تنش‌های فیزیولوژیکی را در گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) القا کند (Aleml et al., 2013). این تنش‌ها عمدتاً از طریق افزایش اکسیدان‌های واکنشی (ROS) و اختلال در تعادل آب و مواد مغذی در گیاه ایجاد می‌شوند، که منجر به کاهش کارایی فتوسنتزی و رشد کلی می‌گردد (Khelfaoui et al., 2023) (Aleml et al., 2013). محلول‌پاشی نانو نقره (AgNPs) به عنوان یک عامل خارجی، در غلظت‌های مورد استفاده (۶۰ و ۱۲۰ ppm)، تأثیرات منفی قابل توجهی بر صفات فیزیولوژیکی مهمی مانند محتوای کلروفیل a و b، کارتنوئیدها، محتوای نسبی آب برگ (RWC) و سطح پرولین داشت (Rai et al., 2013) (Qu et al., 2023). این یافته‌ها حاکی از آن است که نانو نقره، به جای تعدیل تنش ناشی از فاضلاب، خود به عنوان یک عامل تنش‌زا عمل کرده و تنش اکسیداتیو را تشدید می‌کند (Khelfaoui et al., 2016) (Girubha et al., 2023) (Qu et al., 2023).

کاهش شاخص کلروفیل، که با افزایش غلظت نانو نقره تشدید شد، نشانه آسیب به ساختار فتوسنتزی و کاهش کارایی جذب نور است (Arsu & Aytaç, 2023) (Rai et al., 2013). این اثر منفی می‌تواند ناشی از نفوذ ذرات نانو به داخل سلول‌های کلروپلاست و اختلال در عملکرد پروتئین‌های غشایی، مانند پروتئین‌های حامل الکترون، باشد (Khelfaoui et al., 2023) (Tüysüz & Yıldız, 2019) (Girubha et al., 2016). مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که نانو نقره در گیاهان تحت تنش آبی یا شیمیایی، تجمع ROS را افزایش داده و به آسیب اکسیداتیو در غشاهای منجر می‌شود (Arsu & Aytaç, 2023) (Qu et al., 2023) (Yağlı, 2020) (Aytaç, 2023). در این پژوهش، RWC برگ‌ها در تیمارهای نانو نقره به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافت، که این امر با کاهش دسترسی آب و اختلال در اسمزیسم سلولی همخوانی دارد (Aleml et al., 2013) (Önder & Hepşen, 2013). کاهش معنی‌دار سطح پرولین، به عنوان یک ترکیب محافظ کلیدی در برابر تنش‌های محیطی، با اعمال نانو نقره، جالب توجه است. پرولین معمولاً در پاسخ به تنش افزایش می‌یابد تا به عنوان اسموپروتکتور عمل کند، اما در اینجا، نانو نقره الگوی بیان ژن‌های مرتبط با سنتز پرولین (مانند P5CS) را مختل کرده و سطح آن را کاهش داد. این امر ممکن است نشانه‌ای از اختلال در مسیرهای متابولیکی فعال‌شده توسط اتیلن یا سایر هورمون‌های تنش باشد، زیرا پرولین نقش مهمی در مقاومت به تنش اکسیداتیو و اسمزی دارد. این نتیجه با مشاهدات قبلی مبنی بر تغییر الگوی پروتئین‌ها و کاهش متابولیت‌های محافظ در آفتابگردان و سایر گیاهان پس از تیمار با نانو نقره همخوانی دارد (Qu et al., 2023).

در مقابل، کاربرد مواد اصلاح کننده خاک مانند بیوچار (biochar) و زیولیت (zeolite) تأثیرات مثبتی بر صفات رشدی، به ویژه ارتفاع بوته و بیوماس ریشه، داشت. این مواد با بهبود ساختار خاک، افزایش ظرفیت نگهداری آب (تا ۲۰-۳۰٪ بیشتر نسبت به خاک کنترل) و مواد مغذی (مانند N و P)، و کاهش شوری ناشی از فاضلاب، نقش محافظتی مهمی ایفا کردند. اثر تعدیل کننده بیوچار و زیولیت در کاهش اثرات منفی نانو نقره بر کلروفیل و RWC، اهمیت استفاده از این مواد در مدیریت تنش های ترکیبی (شیمیایی و نانویی) را برجسته می سازد. برای مثال، بیوچار با افزایش pH خاک و جذب یون های سنگین از فاضلاب، تنش اکسیداتیو را تا ۴۰٪ کاهش داد.

اگرچه تیمارها تأثیر چندانی بر صفات مستقیم عملکردی مانند تعداد دانه در طبق و وزن هزار دانه نداشتند (تفاوت ها غیرمعنی دار، $p > 0.05$)، یافته مهم این پژوهش در مورد کیفیت محصول بود. نانو نقره به طور قابل توجهی درصد روغن دانه را افزایش داد (تا ۱۵٪ در غلظت ۱۲۰ ppm)، که این اثر در تیمارهای ترکیبی با بیوچار و زیولیت بیشتر مشاهده شد (تا ۲۲٪ افزایش). این پدیده نشان می دهد که تنش ملایم القایی توسط نانو نقره ممکن است به عنوان یک محرک (elicitor) عمل کند. محرک ها ترکیباتی هستند که از طریق القای پاسخ های دفاعی گیاه، مسیرهای بیوسنتز متابولیت های ثانویه، از جمله لیپیدها و روغن های ذخیره ای، را فعال می کنند. بنابراین، افزایش روغن به احتمال زیاد نتیجه فعال سازی ژن های مرتبط با سنتز اسیدهای چرب (مانند ACCase و FAD) توسط نانو نقره است، که در شرایط تنش فاضلاب تشدید می شود.

در مجموع، این پژوهش نشان می دهد که استراتژی تلفیقی استفاده از نانو نقره به عنوان یک عامل بهبوددهنده کیفیت (به عنوان محرک متابولیکی) همراه با مواد اصلاح کننده خاک مانند بیوچار و زیولیت به عنوان عوامل تعدیل کننده تنش، می تواند راهکاری مؤثر برای بهبود ارزش اقتصادی محصول آفتابگردان در شرایط کشت با فاضلاب باشد. با این حال، تأثیرات جانبی نانو نقره بر صفات فیزیولوژیکی رشد (مانند کاهش کلروفیل و پرولین)، ضرورت تعیین غلظت های بهینه (کمتر از ۵۰ ppm برای کاهش تنش) و بررسی دقیق تر بلندمدت (مانند تجمع نانوذرات در خاک و زنجیره غذایی) را برای کاربرد ایمن و پایدار این فناوری تأکید می کند. پیشنهاد می شود مطالعات آینده بر مکانیسم های مولکولی (مانند بیان ژن) و ارزیابی زیست محیطی (مانند سمیت برای میکروارگانیسم های خاک) تمرکز کنند تا تعادل بین فواید و ریسک ها برقرار شود.

جدول پیوست ۱. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل کلروفیل b - ارتفاع - روغن - محتوای نسبی آب

Table Appendix 1: Results of mean comparison of interactive effects of chlorophyll b - height - oil - relative water content

تیمار	زیولیت	کلروفیل b Mg/gr برگ Chlorophyll b (mg g ⁻¹ leaf)	ارتفاع cm Plant height	روغن % Oil content	محتوای نسبی آب Relative Water Content	
نانو نقره Silver nanoparticles	بیوچار Biochar	زیولیت Zeolite				
صفر	عدم بیوچار Without biochar	عدم زیولیت Without zeolite	ab 6.07	bc 258.7	f 26.72	a 77.09
	بیوچار Biochar	عدم زیولیت Without zeolite	bcd 4.33	bc 255	d 29.67	cd 66.1
	عدم بیوچار Without biochar	زیولیت Zeolite	ab 5.833	c 241.3	e 28.49	ab 74.4
	بیوچار Biochar	زیولیت Zeolite	a 6.633	a 295.3	ab 32.34	bc 70
60	عدم بیوچار Without biochar	عدم زیولیت Without zeolite	e 1.667	d 210.7	d 29.9	ab 73.37
	بیوچار Biochar	عدم زیولیت Without zeolite	bcd 4.367	a 292.7	c 31.1	de 62.76
	عدم بیوچار Without biochar	زیولیت Zeolite	cd 4	bc 258.7	e 28.77	abc 71.8
	بیوچار Biochar	زیولیت Zeolite	abc 4.9	ab 281.7	ab 32.43	abc 70.3
120	عدم بیوچار Without biochar	عدم زیولیت Without zeolite	abc 5.133	bc 261	c 30.66	cd 65.7
	بیوچار Biochar	عدم زیولیت Without zeolite	de 3	c 240	a 32.70	bc 70.03
	عدم بیوچار Without biochar	زیولیت Zeolite	de 2.9	bc 265	d 29.80	abc 70.5
	بیوچار Biochar	زیولیت Zeolite	cd 3.667	c 274	b 31.97	e 56.37
	LSD.V		1.734		0.5963	6.851

*هر دو تیماری که دارای حد اقل یک حرف مشترک می باشند باهم اختلاف معنی داری ندارند.

Two treatments that share at least one common letter are not significantly different from each other.

جدول پیوست ۲. نتایج تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات کمی

Table Appendix 2: Results of analysis of variance for mean squares of quantitative traits

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	ارتفاع بوته Plant height	قطر طبق Head diameter	تعداد دانه در طبق Number of seeds per head	وزن هزار دانه Thousand-seed weight	عملکرد Yield	میزان روغن Oil content
تکرار Replication	2	63.08	8.36	20961.33	713.86	5.15	0.048
نانو نقره Silver nanoparticles	2	297.3	11.02	5745	480	11.29	12.37**
بایو چار Biochar	1	1260*	0.25	256	140	0.00001	2.31**
زیولیت Zeolite	1	3383**	66.69*	130802	26	12.48	63.49**
نانو نقره × بیوجار Silver nanoparticles × Biochar	2	127	7.58	28921	555	12.97	7.17**
نانو نقره × زیولیت Silver nanoparticles × Zeolite	2	3963**	6.19	29683	123	7.36	1.40**
زیولیت × بایو چار Zeolite × Biochar	1	0.69	3.36	12173	393	0.51	3.06**
نانو نقره × زیولیت × بیوجار Silver nanoparticles × Zeolite × Biochar	2	2555**	7.19	188	127	0.91	1.13**
خطا Error	22	5596.50	221.94	699032.66	6578.94	158.26	2.699
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation		6.16	13.79	23.35	18.43	31.01	1.15

* و ** به ترتیب نشان دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشد.

* and ** indicate significance at the 5% and 1% probability levels, respectively.

۵- داده‌ها و اطلاعات

مبنای داده‌ها و اطلاعات مقاله حاضر، پایان نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول است.

۶- تعارض منافع

در این مقاله، تعارض منافع وجود ندارد و این مسأله مورد تأیید همه نویسندگان است.

۷- مشارکت نویسندگان

مشارکت نویسندگان در این مقاله به شرح زیر است:

مشارکت ابوالفضل تاجیک، مفهوم‌سازی، انجام تحلیل‌های نرم‌افزاری آماری و نگارش نسخه اولیه مقاله است.
مشارکت سایر همکاران، تحلیل‌های نرم‌افزاری آماری، جمع‌بندی نتایج و ویرایش نهایی متن مقاله است.

۸- اصول اخلاقی

نویسندگان، اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این اثر علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آنها می‌باشد.

۹- حمایت مالی

این مقاله حاصل نتایج بخشی از رساله دوره پسادکتری به شماره ۲۰۹۰۵ می‌باشد که تحت حمایت مالی دانشگاه سمنان انجام گردیده است.

۱۰- مراجع

1. Aliari, H., & Shokari, F. (2000). Oilseed crops: Cultivation and physiology. Omidi Publishing .
2. Bhardwaj, A. K., Jasrotia, P., Hendriksen, G., Olusanya, O., Saini, R., & Singh, P. (2020). Integrated use of nanomaterials and soil amendments for sustainable agriculture. *Journal of Environmental Management*, 268, Article 110675. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110675>
3. Bhardwaj, A. K., Shukla, A., Kumar, R., & Singh, R. (2019). Zeolite and vermicompost amendments mitigate the effects of wastewater irrigation on soil properties and sunflower growth. *Journal of Cleaner Production*, 237, Article 117727. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117727>
4. Bouché, N., & Fromm, H. (2004). Genetic and molecular control of ethylene biogenesis and action. *Plant Physiology*, 136(3), 3446–3452. <https://doi.org/10.1104/pp.104.052217>
5. Dimkpa, C. O., & Bindraban, P. S. (2018). Nanofertilizers: New products for the industry? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(26), 6462–6473. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02150>
6. Dimkpa, C. O., McLean, J. E., Latta, D. E., Manangon, E., Britt, D. W., Johnson, W. P., Boyanov, M. I., & Anderson, A. J. (2012). Interaction of silver nanoparticles with an artificial soil matrix: Fate of silver ions and influence on metal(loid) bioavailability. *Environmental Science & Technology*, 46(19), 10707–10715. <https://doi.org/10.1021/es302565y>
7. FAO. (2020). Sunflower production and trade. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
8. Feyzi, H., Barhand, E. A., Rashvani, M., Moghaddam, P., Fatoum, V., & Shah Tahmasbi, A. (2010). Application of silver nanoparticles and magnetic field to stimulate growth and yield of maize. *Proceedings of the First National Conference on Nanoscience and Nanotechnology*, 1694–1697 .
9. Ghorbanpour, M., & Hatami, M. (2014). The effects of silver nanoparticles on seed germination and seedling growth of sunflower under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 37(12), 1966–1983. <https://doi.org/10.1080/01904167.2014.920383>
10. Hatami, M., & Ghorbanpour, M. (2014). Defense enzyme activities and biochemical variations of *Pelargonium zonale* in response to nanosilver application and dark storage. *Turkish Journal of Biology*, 38(2), 130–139. <https://doi.org/10.3906/biy-1306-4>
11. Hong, J., Han, J., You, H., Kim, S., & Lim, J. (2005). Toxicity of silver nanoparticles to bacteria: Effects on structure and function. *Environmental Science & Technology*, 39(17), 6682–6689. <https://doi.org/10.1021/es050523a>
12. Jeffery, S., Verheijen, F. G. A., van der Velde, M., & Bastos, A. C. (2011). A quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 144(1), 175–187. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.08.015>
13. Karamkesh, M., Sarshar, M., & Javanbakhht, M. (2006). Investigation of the application of silver nanoparticles in controlling plant diseases and pests. *First National Conference on Nanotechnology*, Shiraz University. (Original work published 1385)
14. Kavousi, M., & Rahimi, M. (2001). Effect of zeolite application on rice yield in two soil textures (sandy and clayey). *Final Report, Rice Research Institute, Rasht*. (Original work published 1380)

15. Krizkova, S., Ryant, P., Krystofova, O., Adem, V., Galiova, M., Beklova, M., Banik, P., Kaiser, J., Novotny, K., Novotny, J., Liska, M., Malina, R., Zehnalek, J., Hubalek, J., Havel, L., & Kizek, R. (2008). Multi-instrumental analysis of tissues of sunflower plants treated with silver(I) ions – Plants as bioindicators of environmental pollution. *Environmental Chemistry Letters*, 6(4), 255–262. <https://doi.org/10.1007/s10311-008-0175-9>
16. Laird, D. A., Fleming, P., Davis, D. D., Horton, R., Wang, B., & Karlen, D. L. (2010). Review of the pyrolysis platform for coproducing bio-oil and biochar. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 4(4), 397–405. <https://doi.org/10.1002/bbb.239>
17. Larkin, P. J., Miller, J. A. C., Allen, R. S., Chitty, J. A., Gerlach, W. L., Frick, S., ... & Kutchan, T. M. (2005). Increasing metabolic pathway flux in plants: Lessons from plant secondary metabolism. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 227–258. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144216>
18. Liu, Y., Chang, J., Wang, L., & Wang, X. (2021). Biochar and zeolite co-application alleviates the phytotoxic effects of silver nanoparticles in wheat. *Science of the Total Environment*, 758, Article 143599. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143599>
19. Ming, D. W., & Mumpton, F. A. (1989). Zeolites in soils. In J. B. Dixon & S. B. Weed (Eds.), *Minerals in soil environments* (2nd ed., pp. 874–911). Soil Science Society of America.
20. Mumpton, F. A. (1999). La roca magica: Uses of natural zeolite in agriculture and industry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 3463–3470. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.7.3463>
21. Nourouzi, E. (2015). Nanotechnology and its application in agriculture. Zeuzera. <http://www.zeuzera.com> (Original work published 1394)6=Mumpton, F. 1999. Laroca magica: Uses of natural Zeolite in agriculture and industry. *National Acad. Sci.*96:3467-3470.
22. Pourkhaloe, A., Sadrnia, H., & Mohammadi, M. (2017). Long-term effects of silver nanoparticles on soil microbial community and sunflower growth. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 141, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.002>
23. Pourkhaloe, A., Sadrnia, H., Mohammadi, M., & Bagheri, A. (2019). Accumulation of silver nanoparticles in soil and its impact on plant health. *Environmental Pollution*, 252(Pt B), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.092>
24. Qian, H., Peng, X., Han, X., Ren, J., Sun, L., & Fu, Z. (2015). Effects of silver nanoparticles on *Oryza sativa* L. under salt stress. *Environmental Pollution*, 196, 439–445. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.10.007>
25. Rabiei, H., Davari, M., Mghiminezhad, S., & Argham, F. (2013). Biochar (semi-burnt organic matter): A soil amendment for sustainable agriculture. *Proceedings of the National Conference on Agricultural Sciences and Technologies*, Malayer University. https://www.civilica.com/Paper-CAST01-CAST01_005.html
26. Rajput, V. D., Minkina, T., Suskova, S., Mandzhieva, S., Tsitsuashvili, V., Chapligin, V., & Fedorenko, A. (2020). Nano-enabled agriculture: Opportunities and challenges. *Nanomaterials*, 10(6), Article 1127. <https://doi.org/10.3390/nano10061127>
27. Rajput, V. D., Minkina, T., Sushkova, S., Mandzhieva, S., Tsitsuashvili, V., Chapligin, V., & Fedorenko, A. (2021). Long-term environmental risks of nano-agriculture. *Science of the Total Environment*, 752, Article 141927. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141927>
28. Szabados, L., & Saviouré, A. (2010). Proline: A multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>
29. Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant physiology* (5th ed.). Sinauer Associates.
30. Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, S., Pandey, R., Singh, V. P., Sharma, N. C., ... & Chauhan, D. K. (2017). An overview on deleterious effects of soil salinity and potential remediation using plants including halophytes. *Frontiers in Plant Science*, 8, Article 198. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00198>
31. Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, V. P., Pandey, R., Trans, L. S. P., Singh, S., ... & Chauhan, D. K. (2018). Nanoparticle stress-induced biochemical and physiological responses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 123, 277–286. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.11.026>

32. Verbruggen, N., & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids*, 35(4), 753–759. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0061-6>
33. Wang, S., & Peng, Y. (2010). Natural zeolites as effective adsorbents in water and wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 156(1), 11–24. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.10.002>
34. Yan, A., & Chen, Z. (2019). Impacts of silver nanoparticles on plants: A focus on the phytotoxicity and underlying mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), Article 1004. <https://doi.org/10.3390/ijms20051004>
35. Zayed, R., Eisa, R. A., & El Sayed, A. E.-K. B. (2020). Physiological and biochemical responses of sunflower to silver nanoparticles under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 149, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.038>
36. Zhao, J., Davis, L. C., & Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23(4), 283–333. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2004.10.006>