

## The Effects of Foliar Application of Chitosan-Salicylic Acid Nanocomposite on *Mentha spicata* L. under Salinity Stress in Hydroponic Conditions

Mohammad Bagher Hassanpouraghdam<sup>1\*</sup>, Leila Mohammadi<sup>2</sup>, Gholamreza Gohari<sup>1</sup> and Lamia Vojodi Mehrabani<sup>3</sup>

1- Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

2- M.Sc. Graduate, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

3- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

\*Corresponding author: hassanpouraghdam@gmail.com

(Received: 5 January 2022

Revise: 8 February 2022

Accepted: 23 February 2022)

### Extended Abstract

**1. Introduction:** *Mentha spicata* is one of the most widely consumed vegetables that is grown commercially worldwide. The essential oil and extracts of *Mentha spicata* are used in the cosmetics, food, and pharmaceutical industries. Salinity is one of the most important abiotic stresses that endanger plant growth and productivity. Salinity stress reduces the plant's capacity to absorb water, creates ion imbalances, and induces oxidative stress in the plant due to the accumulation of ions such as sodium and chlorine at toxic levels in cells and tissues. Salicylic acid plays an important role in improving physiological activities and increasing plant resistance to biotic and abiotic stress factors. Chitosan as a biostimulant can improve plant growth and yield. Furthermore, the combined application of salicylic acid and chitosan is believed to ameliorate the salinity defects more efficiently. This study aimed to investigate the application of chitosan-salicylic acid nanocomposite under salinity stress on the growth and some physiological traits of *Mentha spicata* in hydroponic culture.

**2. Materials and Methods:** To investigate the effects of different levels of salinity stress and application of chitosan-salicylic acid nanocomposite on the morphological and physiological traits of *M. spicata*, a factorial pot experiment based on a completely randomized design with four replications was performed at the University of Maragheh, Iran during 2019. Treatments used in this experiment included salicylic acid (1 mM), chitosan (10 mg L<sup>-1</sup>), an aqueous mixture of chitosan and salicylic acid (1 mM and 10 mg L<sup>-1</sup>), and 1% w/v chitosan-salicylic acid nanocomposite.

**3. Results and Discussion:** Salinity reduced the height of *M. spicata* compared to the control plants. However, foliar application of chitosan-salicylic acid nanocomposite improved plant growth and increased plant height under non-salinity conditions and different salinity levels compared to the controls. Salinity stress significantly reduced the fresh and dry weight of the *M. spicata*. The highest leaf chlorophyll index (56.9) was related to the treatment of 1% w/v of the chitosan-salicylic acid nanocomposite. The highest amount of proline (20.6 μmol g<sup>-1</sup> fresh weight) was related to the treatment of an aqueous mixture of chitosan and salicylic acid at a salinity level of 100 mM sodium chloride. The highest content of malondialdehyde (2.93 nmol g<sup>-1</sup> fresh weight) was obtained in the treatment without foliar application and a salinity level of 100 mM. The highest protein content (1.81 mg g<sup>-1</sup>) was related to the treatment with 1% chitosan-salicylic acid nanocomposite and the treatment without salinity stress. Otherwise, the lowest amount (0.858 mg g<sup>-1</sup>) for protein content belonged to the control and salinity of 100 mM. With increasing salinity levels, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content in the plant tissues increased. So that, the highest content for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was observed in the treatment without foliar application and salinity level of 100 mmol and, the lowest H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content was recorded in the control treatment (without foliar application and salinity).

**4. Conclusions:** The overall results revealed that salinity stress had a detrimental effect on the growth and some physiological traits of the *Mentha spicata* L., but the foliar application of salicylic acid and chitosan alone or in combination had a promising role in reducing the effects of salinity stress on the *M. spicata*. Considering the progressive salinity stress incidence in many parts of the world and Iran, it seems that the results of the present study can be proposed to the agricultural extension sections to use the resulting mixture in plant breeding programs under saline areas to possibly reduce the salinity adverse effects.

**Keywords:** Bio-stimulant, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Malondialdehyde, Proline.

**Citation:** Hassanpouraghdam, M. B., Mohammadi, L., Gohari, G. & Vojodi Mehrabani, L. (2022). The effects of foliar application of chitosan-salicylic acid nanocomposite on *Mentha spicata* L. under salinity stress in hydroponic conditions. *Journal of Vegetables Sciences*, 10(2), 35-51. doi: 10.22034/iuvs.2022.546245.1189

### Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted to Journal of Vegetables Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).





## تأثیر کاربرد محلول‌پاشی نانو کمپوزیت کیتوزان - اسید سالیسیلیک بر گیاه نعنا سبز (*Mentha spicata* L.) تحت تنش شوری در شرایط هیدروپونیک

محمدباقر حسن پوراقدم<sup>۱\*</sup>، لیلا محمدی<sup>۲</sup>، غلامرضا گوهری<sup>۱</sup> و لمیا وجودی مهربانی<sup>۳</sup>

۱- دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۳- دانشیار گروه زراعت و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

\*نویسنده مسئول: hassanpouraghdam@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۱/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۵

### چکیده

کاربرد محرک‌های زیستی مانند نانو کمپوزیت‌ها برای کاهش اثرات نامطلوب شوری حائز اهمیت فراوانی است. به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف تنش شوری و کاربرد نانو کمپوزیت کیتوزان - اسید سالیسیلیک بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه نعنا سبز (*Mentha spicata* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار و چهار تکرار در شرایط گلخانه‌ای در طی سال ۱۳۹۸ در دانشگاه مراغه اجرا شد. فاکتور اول سطوح مختلف تنش شوری (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و فاکتور دوم شامل (یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک)، ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان، مخلوط آبی یک میلی‌مولار + ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان و اسید سالیسیلیک و یک درصد جرمی حجمی نانو کمپوزیت کیتوزان - اسید سالیسیلیک) بود. شوری باعث کاهش معنی‌دار پروتئین کل (۸۴ درصد نسبت به تیمار شاهد)، شاخص کلروفیل (۸۵ درصد نسبت به تیمار شاهد) و محتوای کاروتنوئید (۸۲ درصد نسبت به تیمار شاهد) شد. از طرفی با افزایش سطح شوری مقادیر پرولین و پراکسید هیدروژن، در مقایسه با شاهد در سطح احتمال یک درصد افزایش یافت. به علاوه کاربرد نانو کمپوزیت کیتوزان - اسید سالیسیلیک در شرایط تنش شوری موجب بهبود محتوای پروتئین، شاخص کلروفیل و محتوای کاروتنوئید گردید. همچنین، کاربرد نانو کمپوزیت منجر به کاهش مقادیر پراکسید هیدروژن و محتوای مالون‌دی‌آلدئید نسبت به تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون محلول‌پاشی شد. بنابراین، کاربرد نانو کمپوزیت مورد مطالعه می‌تواند به عنوان روشی مناسب در جهت بهبود تحمل گیاه در شرایط تنش شوری مد نظر قرار گرفته و با انجام مطالعات تکمیلی تر و آزمون در شرایط مزرعه‌ای به بخش ترویج نیز پیشنهاد گردد.

واژه‌های کلیدی: پراکسید هیدروژن، پرولین، مالون‌دی‌آلدئید، محرک‌های زیستی.

استناد: حسن پوراقدم، م. ب.، محمدی، ل.، گوهری، غ. و وجودی مهربانی، ل. (۱۴۰۰). تأثیر کاربرد محلول‌پاشی نانو کمپوزیت کیتوزان - اسید سالیسیلیک بر گیاه نعنا سبز (*Mentha spicata* L.) تحت تنش شوری در شرایط هیدروپونیک. علوم سبزی‌ها، ۱۰(۲)، ۳۵-۵۱.

### حق چاپ:



حق چاپ برای نویسنده (گان) این مقاله محفوظ است. بر اساس قوانین انتشارات با دسترسی آزاد، تمام مطالعات چاپ شده در این مجله به صورت آزاد در وب سایت مجله برای عموم بدون پرداخت هزینه قابل دسترس است.

## مقدمه

می‌شود (Kundu et al., 2018; Hassan et al., 2021).

اسید سالیسیلیک، ترکیبی فنولی است که در همه گیاهان آلی یافت می‌شود. اسید سالیسیلیک نقش مهمی در بهبود فعالیت‌های فیزیولوژیکی و افزایش مقاومت گیاهان، در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی را دارد. این ترکیب نقش مهمی در افزایش رشد گیاه، مقاومت در مقابل آفات و بیماری‌ها و افزایش بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان را دارد (Kundu et al., 2018). در تحقیق انجام شده روی بومادران (Gorni & Pacheco, 2016) و سیب (Gacnik et al., 2021) مشخص شد که کاربرد اسید سالیسیلیک موجب افزایش عملکرد، محتوای کلروفیل، محتوای فنول و رشد ریشه گردید.

کیتوزان یک پلی‌ساکارید کاتیونی طبیعی (B-2-amino-2-deoxy-D-glucan) است که برای کاهش اثرات منفی تنش‌های غیرزیستی استفاده می‌شود. کیتوزان به‌عنوان محرک زیستی قادر به بهبود رشد و عملکرد گیاه می‌باشد (Hassan et al., 2021). گزارش شده است که با افزایش تنش شوری کاهش یافت پارامترهای رشد مانند ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، تعداد و قطر کاپیتول در بوته و عملکرد دانه در گیاه خارمریم (*Silybum marianum* L.) (Safikhan et al., 2018). اما کاربرد کیتوزان در چنین شرایطی نقش مهمی در بهبود رشد و کاهش اثرات تنش شوری در گیاه داشت (Safikhan et al., 2018). نتایج مشابهی در این خصوص در گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.) گزارش شد (Hassan et al., 2021).

شوری یک مسئله مهم جهانی است که از طریق ترغیب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و القای تنش اکسیداتیو منجر به تغییرات بیوشیمیایی و متابولیکی در گیاهان شده و باعث کاهش عملکرد و بهره‌وری گیاهان می‌شود. هدف از این پژوهش، بررسی کاربرد نانوکمپوزیت کیتوزان-اسید سالیسیلیک، تحت تنش

استفاده از سبزی‌ها و گیاهان دارویی از اولین و قدیمی‌ترین روش‌های مراقبت از سلامت انسان می‌باشد. نعنا سبز با نام علمی *Mentha spicata* L. چندساله و متعلق به خانواده Lamiaceae می‌باشد (Mahendran et al., 2021). که به‌صورت تجاری در سراسر جهان کشت می‌شود (Kundu et al., 2018). اسانس و عصاره نعناع در صنایع آرایشی، غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند. نعنا دارای خواص ضد نفخ، ضد اسپاسم، ضد استفراغ، ضد تشنج، ضد برونشیت، آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچی می‌باشد (Kundu et al., 2018; Mahendran et al., 2021).

شوری یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی است که رشد و بهره‌وری گیاهان را به خطر می‌اندازد. اثرات منفی تنش شوری موجب کاهش ظرفیت گیاه برای جذب آب، ایجاد عدم تعادل یونی و ایجاد تنش‌های اکسیداتیو در گیاه به‌دلیل تجمع یون‌هایی مانند سدیم و کلر در سطوح سمی در سلول‌ها می‌شود. تنش اکسیداتیو ایجاد شده در گیاه بر سرعت فتوسنتز، عملکرد غشاها و متابولیسم سلولی تأثیر مخرب دارد (Hassan et al., 2021). عملکرد و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی و معطر به‌شدت تحت تأثیر تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار می‌گیرد (Coban & Baydar, 2016).

استفاده از محرک‌های زیستی یکی از روش‌های کاهش اثرات منفی تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاه می‌باشد که به بهبود عملکرد و کیفیت گیاه کمک می‌کند (Safikhan et al., 2018). اسید سالیسیلیک و کیتوزان از ترکیبات طبیعی می‌باشند که نقش مهمی در محافظت از گیاه در مقابل تنش‌های محیطی دارند. تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی توسط محرک‌های زیستی مانند کیتوزان افزایش می‌یابد. محرک‌های زیستی نقش مهمی در افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت فیتواکسین‌ها و کیتینازها دارند که موجب افزایش مقاومت گیاه در مقابل تنش‌های محیطی

شوری بر رشد و برخی صفات فیزیولوژیک نعنا سبز در کشت هیدروپونیک است تا در صورت حصول به نتیجه مطلوب، از ترکیب ذکر شده، بتوان در کنترل تنش شوری در بخش کشاورزی استفاده نمود.

## مواد و روش‌ها

### سنتز نانوکمپوزیت اسید سالیسیلیک- کیتوزان

به منظور سنتز نانوکمپوزیت، ۰/۱ گرم کیتوزان در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد در ۲۰۰ دور در دقیقه به خوبی هم زده شد (دستگاه وورتکس اوج آزما، ایران). برای حل کامل کیتوزان، ۲۰۰ میکرو لیتر اسید استیک اضافه شد و به مدت دو ساعت هم زدن ادامه یافت. ۰/۱ گرم اسید سالیسیلیک در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و پس از انحلال کامل کیتوزان، محلول حاوی اسید سالیسیلیک به کیتوزان اضافه شد. پس از یک ساعت، ۰/۴ گرم تری پلی فسفات سدیم را در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و قطره قطره به مخلوط کیتوزان و اسید سالیسیلیک اضافه شده است. با افزودن ترکیب اخیر به محلول حاوی کیتوزان و اسید سالیسیلیک، محلول حالت شفاف خود را از دست داده و به محلولی کدر تبدیل شد که نشان دهنده اتصال عرضی نانوذرات کیتوزان با اسید سالیسیلیک بود. نانوذرات تهیه شده به روش انجماد خشک شده و مورد استفاده قرار گرفتند (Hasanpour *et al.*, 2021).

### اجرای آزمایش

به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف تنش شوری و کاربرد نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه نعنا سبز، آزمایش گلدانی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه مراغه در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش شامل، اسید سالیسیلیک (یک میلی مولار)، کیتوزان (۱۰ میلی گرم بر لیتر)، مخلوط آبی کیتوزان و اسید سالیسیلیک (یک میلی مولار و ۱۰

میلی گرم بر لیتر) و نانوکمپوزیت اسید سالیسیلیک- کیتوزان (یک درصد جرمی حجمی) بود. جهت آماده سازی بستر کشت، از گلدان‌های پنج لیتری پلاستیکی به عنوان ظروف کاشت و از کوکوپیت و پرلایت به نسبت ۲:۱ به عنوان بستر کاشت استفاده شد و به منظور یکسان بودن شرایط اولیه گیاه در هر گلدان دو عدد ریزوم با طول چهار سانتی متر قرار داده شد. این گیاه یکی از گونه‌های مهم نعنا و سازگار با محیط‌های مرطوب می باشد. محلول غذایی مورد استفاده، محلول نصف هوگلند بود که به میزان ۳۰۰ میلی لیتر و دو بار در روز به صورت دستی به پای بوته گیاهان، درون بستر کشت افزوده شد. pH محلول غذایی نیز در محدوده ۶ تنظیم گردید. اعمال تنش شوری با غلظت‌های (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) کلرید سدیم (Vojodi *Mehrabani et al.*, 2018) از مرحله ۱۰ برگی به بعد هر روز تا زمان گلدهی کامل گیاهان صورت گرفت و در طول مدت زمان تنش، هر هفته یک مرتبه آبیاری کامل محیط ریشه گیاهان با آب معمولی انجام شد. تیمارهای محلول پاشی سه هفته بعد از اعمال تنش شوری و به صورت محلول پاشی برگی در سه مرحله طی سه روز متوالی انجام گرفت. نمونه برداری از گیاهان در مرحله گلدهی کامل، به منظور سنجش صفات مورفولوژیکی (ارتفاع، وزن تر و خشک بوته و برگ، وزن تر و خشک ریزوم و قطر ساقه) و صفات فیزیولوژیکی (شاخص کلروفیل، کاروتنوئید کل، پرولین، مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن و پروتئین کل) انجام گردید. جهت اندازه گیری ارتفاع بوته از خط کش میلی متری و برای سنجش قطر ساقه از کولیس میلی متری استفاده شد. جهت اندازه گیری وزن خشک برگ، نمونه‌ها در داخل آون (نوآوران تجهیز، ایران) در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد و به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شده و سپس وزن خشک نمونه‌ها اندازه گیری شد. وزن خشک گیاه با ترازوی معمولی اندازه گیری شد. در انتها، ریزوم‌ها از گلدان‌ها خارج و پس از شست و شو با آب و خشک کردن آن‌ها با یک پارچه خشک، وزن تر آن‌ها ثبت گردید. برای سنجش وزن خشک ریزوم، پاکت‌های حاوی

حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال یک و پنج درصد صورت گرفت.

### نتایج و بحث

#### ارتفاع بوته

نتایج نشان داد که تنش شوری موجب کاهش ارتفاع گیاهان نعنا سبز در مقایسه با شاهد شد. اما محلول پاشی برگ‌گی نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک باعث بهبود رشد و افزایش ارتفاع بوته در شرایط عدم تنش شوری و سطوح مختلف شوری در مقایسه با گیاه شاهد گردید. کمترین ارتفاع بوته در تیمار شاهد و تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (۴۶/۷ سانتی‌متر) مشاهده شد. بیشترین ارتفاع بوته در تیمار مخلوط آبی کیتوزان و اسید سالیسیلیک در سطح شوری صفر (۶۱/۵ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۱).

شوری تعادل یونی سلول‌ها را مختل می‌کند. هنگامی که گیاه در معرض غلظت‌های بالای سدیم قرار می‌گیرد، این عنصر از طریق اسمولاریته محلول خاک یا از طریق کانال‌های کاتیونی به سلول‌های گیاه وارد می‌شود (Shahid et al., 2020). Hassan و همکاران (۲۰۲۱) گزارش دادند که تنش شوری در گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.) باعث کاهش ارتفاع بوته، تعداد شاخه و وزن تر ساقه و ریشه شد که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. تأخیر در رشد گیاهان طی تنش شوری ممکن است به دلیل تنش اسمزی و یونی، کند شدن تقسیم و بزرگ شدن سلولی، کاهش سرعت فتوسنتز یا اختلالات متابولیکی نسبت داده شود (Hassan et al., 2021). تحقیقات نشان داده است که کیتوزان مسیرهای متابولیسم نیتروژن و کربن را بهبود بخشیده و با تنظیم مسیرهای سیگنال‌دهی هورمونی (اکسین و جیبرلین‌ها) به بهبود رشد گیاه کمک می‌کند (Hassan et al., 2021; Safikhan et al., 2018). اسید سالیسیلیک نقش مهمی در تنظیم جوانه‌زنی بذر، رشد رویشی، فتوسنتز، تنفس، تشکیل گل، پیری و هموستازی ردوکس سلولی

نمونه‌ها تا رسیدن به وزن ثابت در درون آون با دمای ۵۰ درجه قرار گرفتند.

برای ارزیابی شاخص کلروفیل به روش غیرتخریبی قبل از انجام نمونه‌برداری از دستگاه SPAD مدل (502 Plus Chlorophyll Meter Japan) استفاده شد (Sanjary-Mijani et al., 2015). به این منظور از هر گلدان برگ‌های میانی سالم و توسعه یافته به‌طور تصادفی انتخاب و با محاسبه میانگین اعداد حاصل شده از هر پنج برگ، شاخص کلروفیل هر گیاه مشخص گردید. جهت اندازه‌گیری کاروتنوئید کل از روش Arnon (۱۹۶۷) محاسبه شد.

رابطه (۱)

$$\text{Car: } [1000(A_{470}) - 1.82C_a - 85.02C_b] / 198$$

جهت اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده گردید و میزان پرولین استخراجی بر اساس واحد میکرومول بر گرم وزن تر و منحنی استاندارد محاسبه شد. محتوای مالون‌دی‌آلدئید نیز با روش Heath و Packer (۱۹۶۸) برحسب نانومول بر گرم وزن تر با استفاده از رابطه ۲ اندازه‌گیری شد.

رابطه (۲)

$$\text{MDA: } [(532\text{nm} - 600\text{nm}) \times 20] / 155 \times 100$$

برای اندازه‌گیری محتوای پراکسید هیدروژن از روش Sinha و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد. میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و مقدار پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد به دست آمد. برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین کل از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد و محتوای پروتئین کل نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد به دست آمد.

جهت تجزیه و تحلیل‌های آماری از نرم‌افزار SAS (ورژن ۹/۴) و برای رسم شکل از نرم‌افزار Excel استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون

دهند. کمبود آب بر انبوهی از مسیرهای سیگنال دهی، بیان ژن، فعالیت‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه تأثیر می‌گذارد که منجر به کاهش تقسیم و رشد سلولی، پژمردگی و در نهایت مرگ گیاه می‌شود. این اثرات مضر شوری را می‌توان به‌عنوان اثرات مستقیم و غیرمستقیم کمبود آب در نظر گرفت (Zeeshan et al., 2020). رشد و نمو اندام‌های زیرزمینی دیگر چون ریزوم‌ها نیز در شرایط شوری همانند ریشه‌ها متأثر از اثرات بازدارندگی محیط شور بوده و قابل انتظار خواهد بود که با وجود آسیب به رشد و متابولیسم ریشه، رشد و بالندگی اندام‌های دیگر همچون ریزوم‌ها نیز در شرایط شوری کاهش یابد. در مقادیر کم شوری خاک، رشد ریشه تقریباً همیشه کمتر از رشد اندام هوایی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. بنابراین سرعت رشد اندام هوایی نسبت به ریشه بیشتر است؛ اما وقتی که گیاه در معرض مقادیر بالای شوری خاک قرار بگیرد، رشد ریشه نیز کاهش می‌یابد. گیاه کاهش قابل توجهی در تجمع زیست‌توده خشک ناشی از کاهش رشد اندام هوایی و ریشه در شرایط تنش شوری بالا نشان می‌دهد و بدین طریق شوری خاک و محلول ریزوسفر تأثیر قابل توجهی بر رشد و عملکرد گیاهان دارد (Kibria et al., 2019). نتایج Safikhan و همکاران (۲۰۱۸) شوری باعث کاهش وزن خشک ریشه در گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) شد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

#### قطر ساقه

بر اساس یافته‌ها، اثر متقابل نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک و شوری بر قطر ساقه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که با افزایش سطح شوری قطر ساقه کاهش یافت. نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک موجب افزایش قطر ساقه در سطوح مختلف شوری شد؛ به طوری که بیشترین میزان قطر ساقه (۶/۱۶ میلی‌متر) مربوط به تیمار یک درصد جرمی حجمی کیتوزان- اسید سالیسیلیک و سطح شوری صفر بود (جدول ۱) که با نتایج تحقیقات انجام شده در گیاه ذرت (*Zea mays* L.) مطابقت دارد (Kumaraswamy et al., 2019; Kadam et al., 2021; Abdelhameed et al., 2021).

#### وزن تر و خشک ریزوم

شوری به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) باعث کاهش وزن تر ریزوم شد. در سطوح مختلف تنش شوری، کاربرد نانوکمپوزیت منجر به بهبود میانگین وزن تر ریزوم به‌جزء تیمار مخلوط آبی کیتوزان و اسید سالیسیلیک تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم گردید (جدول ۱). طبق نتایج، بیشترین میانگین وزن تر ریزوم (۲۰۰/۷ گرم) مربوط به تیمار مخلوط آبی کیتوزان و اسید سالیسیلیک تحت شرایط عدم تنش شوری بود که در مقایسه با شاهد افزایش ۱/۴ برابری داشت. به‌علاوه کمترین میانگین وزن تر ریزوم (۸۸/۳ گرم) در تیمار مخلوط آبی کیتوزان و اسید سالیسیلیک در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد (جدول ۱). نتایج نشان داد که اثر نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک و شوری بر وزن خشک ریزوم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین میانگین وزن خشک ریزوم (۳۲/۶ گرم) مربوط به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان و سطح شوری صفر بود که در مقایسه با گیاه شاهد ۱/۵ برابر افزایش نشان داد. کمترین میانگین وزن خشک ریزوم (۹/۸۵ گرم) نیز در تیمار مخلوط آبی کیتوزان و اسید سالیسیلیک در تیمار تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد (جدول ۱).

ریشه گیاه و آناتومی آن نقش مهمی در کاهش جذب و انتقال یون‌های سدیم و کلر در گیاهان مقاوم به تنش شوری دارد (Shahid et al., 2020; Es-sbihi et al., 2021). تأثیر منفی تنش شوری بر رشد قسمت هوایی و ریشه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) گزارش شده است (Es-sbihi et al., 2021). خاک‌های شور به‌دلیل استرس اسمزی، سمیت یونی و کاهش توانایی جذب مواد معدنی ضروری، رشد گیاه را محدود می‌کنند. در موارد شدید، سلول‌های ریشه ممکن است به‌دلیل فشار اسمزی بیش از حد محلول خاک، آب از دست

ممکن است با مداخله در جوانه‌زنی بذر، فعالیت آنزیم‌ها و اختلال در میتوز رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Kibria *et al.*, 2019). کاربرد اسید سالیسیلیک به‌عنوان تیمار بذر و شاخساره، بسیاری از فرآیندهای متابولیکی در گیاهان را تحریک می‌کند و روشی جایگزین برای کنترل و تقویت رشد و عملکرد گیاه تحت شرایط تنش است (Kumaraswamy *et al.*, 2019).

(*et al.*, 2019). با افزایش سطح شوری، قطر ساقه گیاه کاهش یافت. کمترین قطر ساقه (۴/۴۸ میلی‌متر) در تیمار شاهد و سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد. تنش شوری با دخالت در متابولیسم و فعالیت آنزیم‌های گیاهی، چرخه سلولی را به‌طور موقت محدود می‌کند و در نتیجه فعالیت سلول‌های مریستمی کاهش یافته و رشد محدود می‌شود. تنش شوری همچنین

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل نانوذرات اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر صفات مورفولوژیک گیاه نعنا سبز تحت شرایط تنش شوری

Table 1- Mean comparisons for the interactions of salicylic acid (SA) and chitosan (Cs) on the morphological traits of *Mentha spicata* L. plants under salinity stress

شوری (میلی‌مولار) NaCl (mM)	محلول پاشی Foliar spray	قطر ساقه (میلی‌متر) Stem diameter (mm)	وزن خشک ریزوم (گرم) Rhizome dry weight (g)	وزن تر ریزوم (گرم) Rhizome fresh weight (g)	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)
0	شاهد Control	5.24 <sup>ef</sup>	20.6 <sup>e</sup>	141.5 <sup>g</sup>	51.7 <sup>ef</sup>
	اسید سالیسیلیک 1 mM SA	5.33 <sup>de</sup>	23.3 <sup>d</sup>	146.5 <sup>e</sup>	57.5 <sup>b</sup>
	کیتوزان 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	5.80 <sup>b</sup>	32.6 <sup>a</sup>	176.4 <sup>b</sup>	51.5 <sup>e-g</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 mM SA+ 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	5.20 <sup>de</sup>	30.8 <sup>b</sup>	200.7 <sup>a</sup>	61.5 <sup>a</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 % w/v SA-Cs	6.10 <sup>a</sup>	25.5 <sup>c</sup>	165.1 <sup>c</sup>	53.7 <sup>d</sup>
50	شاهد Control	5.10 <sup>f</sup>	16.7 <sup>g</sup>	130.6 <sup>i</sup>	48.2 <sup>ij</sup>
	اسید سالیسیلیک 1 mM SA	4.59 <sup>gh</sup>	15.3 <sup>i</sup>	137.7 <sup>h</sup>	51.5 <sup>e-g</sup>
	کیتوزان 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	5.20 <sup>de</sup>	12.7 <sup>j</sup>	116.6 <sup>k</sup>	50.5 <sup>f-h</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 mM SA+ 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	5.20 <sup>ef</sup>	19.5 <sup>f</sup>	152.5 <sup>d</sup>	57.7 <sup>b</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 % w/v SA-Cs	5.40 <sup>d</sup>	16.8 <sup>g</sup>	144.8 <sup>f</sup>	50.0 <sup>gh</sup>
100	شاهد Control	4.48 <sup>h</sup>	10.3 <sup>n</sup>	98.7 <sup>n</sup>	46.7 <sup>j</sup>
	اسید سالیسیلیک 1 mM SA	4.69 <sup>g</sup>	12.3 <sup>k</sup>	121.9 <sup>j</sup>	53.5 <sup>d</sup>
	کیتوزان 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	5.68 <sup>g</sup>	12.1 <sup>l</sup>	113.8 <sup>m</sup>	53.0 <sup>de</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 mM SA+ 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	5.19 <sup>ef</sup>	9.8 <sup>o</sup>	90.3 <sup>o</sup>	49.0 <sup>hi</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 % w/v SA-Cs	5.60 <sup>c</sup>	11.3 <sup>m</sup>	115.7 <sup>i</sup>	55.5 <sup>c</sup>

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.  
In each column, means followed by the same letters are not significantly different according to LSD test ( $P \leq 1\%$ ).

### وزن تر و خشک بوته

نتایج نشان دادند که اثر متقابل نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک و شوری بر وزن تر گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. تنش شوری به طور معنی داری سبب کاهش وزن تر و خشک گیاه شد (جدول ۲). محلول پاشی نانوذرات اسید سالیسیلیک به طور معنی داری باعث بهبود وزن تر گیاه شد به طوری که بیشترین میزان وزن تر بوته (۱۵۹/۳ گرم) مربوط به تیمار یک میلی مولار اسید سالیسیلیک و شوری صفر بود. همچنین، بیشترین میانگین وزن خشک بوته (۵۰/۳ گرم) مربوط به تیمار یک درصد جرمی نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک و سطح شوری صفر و کمترین میانگین وزن تر (۶۷/۷ گرم) و خشک بوته (۲۲/۱ گرم) در تیمار مخلوط آبی کیتوزان و اسید سالیسیلیک و سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار مشاهده شد (جدول ۲).

تنش شوری موجب کاهش زیست توده و اختلال در پارامترهای فتوسنتزی (کاهش محتوای کلروفیل) در رزماری (*Salvia rosmarinus*) شد (Vojodi, Mehrabani et al., 2018). کاهش زیست توده احتمالاً به دلیل اثرات منفرد یا ترکیبی کاهش هدایت روزنه‌ای، مهار پدیده‌های متابولیکی و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است (Zeeshan et al., 2020). به علاوه کاهش در رشد را می‌توان به سمیت یون‌های سدیم انباشته شده در گیاهان نسبت داد که منجر به عدم تعادل تغذیه‌ای و کاهش سطوح کلسیم، فسفر و پتاسیم می‌شود (Es-sbihi et al., 2021). اثر مثبت اسید سالیسیلیک تحت تنش شوری را می‌توان به توانایی آن برای بهبود رشد با تحریک ظرفیت فتوسنتزی، القای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برای کاهش آسیب اکسیداتیو و حفاظت از پارامترهای مؤثر در عملکرد نسبت داد (Es-sbihi et al., 2021).

### وزن تر و خشک برگ

با افزایش تنش شوری عملکرد وزن تر برگ به طور معنی داری کاسته شد. بیشترین میزان وزن تر برگ

مربوط به تیمار یک میلی مولار اسید سالیسیلیک و سطح شوری صفر بود (جدول ۲). همچنین کمترین میزان وزن تر برگ نیز در تیمار مخلوط آبی کیتوزان و اسید سالیسیلیک و سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار مشاهده شد. گیاهان به طور مؤثری با به کارگیری ویژگی‌های فیزیولوژیکی یا کاهش شوک ناشی از تنش شوری پاسخ‌های متفاوتی نسبت به شوری نشان می‌دهند. اولین پاسخ گیاهانی که در معرض افزایش سطح شوری خاک قرار دارند، کندی سرعت رشد برگ‌ها است. شوری خاک تأثیر قابل توجهی بر رشد و عملکرد گیاهان دارد. این کاهش ممکن است ناشی از عدم تعادل در ارسال مواد فتوسنتزی و یا هورمون‌ها به بافت‌های در حال رشد (Kibria et al., 2019) و کاهش زیاد فعالیت‌های آنزیمی باشد (Zeeshan et al., 2020).

بیشترین میانگین وزن خشک برگ (۰/۱۸۲ گرم) مربوط به تیمار یک میلی مولار اسید سالیسیلیک و سطح شوری صفر و کمترین میانگین وزن خشک برگ (۰/۱۰۲ گرم)، در تیمار شاهد و سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار مشاهده شد (جدول ۲). شوری بالای خاک می‌تواند منجر به تنش اسمزی شود که از اثرات اصلی و مستقیم تنش شوری است. در چنین شرایطی رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر تنش، موجب ایجاد اختلال در فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه می‌شود. بر اساس گزارشات، زمانی که مقدار رادیکال‌های آزاد تولید شده از ظرفیت مهار سیستم گیاهان فراتر باشد، این امر منجر به آسیب اکسیداتیو به غشاها و ماکرومولکول‌ها می‌شود. افزایش سطح رادیکال‌های آزاد می‌تواند آنزیم‌ها را غیرفعال کرده و به اجزای مهم سلولی آسیب برساند که باعث توقف رشد گیاه و سرانجام مرگ گیاه می‌شود (Kibria et al., 2019). افزایش سطح شوری باعث کاهش وزن خشک نشاء گوجه‌فرنگی شد (Shahid et al., 2020). در گزارشی دیگر، وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن خشک برگ در گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita L.*) همگام با افزایش سطح شوری کاهش یافت (Coban & Baydar, 2016). همچنین مشخص شده است که کاربرد نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید

سالیسیلیک باعث افزایش سطح برگ و طول ریشه در گیاه ذرت شد (Kumaraswamy *et al.*, 2019).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل نانوذرات اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر وزن برگ و بوته گیاه نعنا سبز تحت شرایط تنش شوری

Table 2- Mean comparisons for the interactions of salicylic acid (SA) and chitosan (Cs) on the dry weight of leaf and stem in *Mentha spicata* L. plants under salinity stress

شوری (میلی مولار) NaCl (mM)	محلول پاشی Foliar spray	وزن خشک برگ (گرم) Leaves dry weight (g)	وزن تر برگ (گرم) Leaves fresh weight (g)	وزن خشک بوته (گرم) Shoot dry weight (g)	وزن تر بوته (گرم) Shoot fresh weight (g)
0	شاهد Control	0.157 <sup>b</sup>	0.565 <sup>e-g</sup>	45.3 <sup>b</sup>	144.8 <sup>b</sup>
	اسید سالیسیلیک 1 mM SA	0.182 <sup>a</sup>	0.665 <sup>a</sup>	48.8 <sup>ab</sup>	159.3 <sup>a</sup>
	کیتوزان 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	0.150 <sup>bc</sup>	0.560 <sup>e-h</sup>	49.9 <sup>a</sup>	148.8 <sup>ab</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 mM SA+ 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	0.157 <sup>b</sup>	0.502 <sup>h</sup>	47.8 <sup>ab</sup>	148.4 <sup>ab</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 % w/v SA-Cs	0.150 <sup>bc</sup>	0.530 <sup>e-h</sup>	50.3 <sup>a</sup>	158.5 <sup>ab</sup>
50	شاهد Control	0.130 <sup>c-e</sup>	0.510 <sup>gh</sup>	32.5 <sup>de</sup>	111.0 <sup>d</sup>
	اسید سالیسیلیک 1 mM SA	0.150 <sup>bc</sup>	0.642 <sup>ab</sup>	40.7 <sup>c</sup>	157.6 <sup>ab</sup>
	کیتوزان 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	0.122 <sup>d-f</sup>	0.540 <sup>e-h</sup>	34.7 <sup>d</sup>	126.4 <sup>c</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 mM SA+ 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	0.150 <sup>bc</sup>	0.635 <sup>a-c</sup>	39.0 <sup>c</sup>	145.5 <sup>ab</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 % w/v SA-Cs	0.135 <sup>b-d</sup>	0.637 <sup>a-c</sup>	34.7 <sup>d</sup>	126.6 <sup>c</sup>
100	شاهد Control	0.102 <sup>f</sup>	0.590 <sup>b-e</sup>	25.1 <sup>gh</sup>	83.0 <sup>f</sup>
	اسید سالیسیلیک 1 mM SA	0.107 <sup>ef</sup>	0.627 <sup>a-d</sup>	29.7 <sup>ef</sup>	104.9 <sup>de</sup>
	کیتوزان 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	0.105 <sup>f</sup>	0.557 <sup>c-f</sup>	30.1 <sup>ef</sup>	107.0 <sup>de</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 mM SA+ 10 mg l <sup>-1</sup> Cs	0.117 <sup>d-f</sup>	0.525 <sup>f-h</sup>	22.1 <sup>h</sup>	67.7 <sup>g</sup>
	کیتوزان + اسید سالیسیلیک 1 % w/v SA-Cs	0.105 <sup>f</sup>	0.572 <sup>d-f</sup>	22.5 <sup>fg</sup>	96.5 <sup>ef</sup>

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.  
In each column, means followed by the same letters are not significantly different according to LSD test (P ≤ 1%).

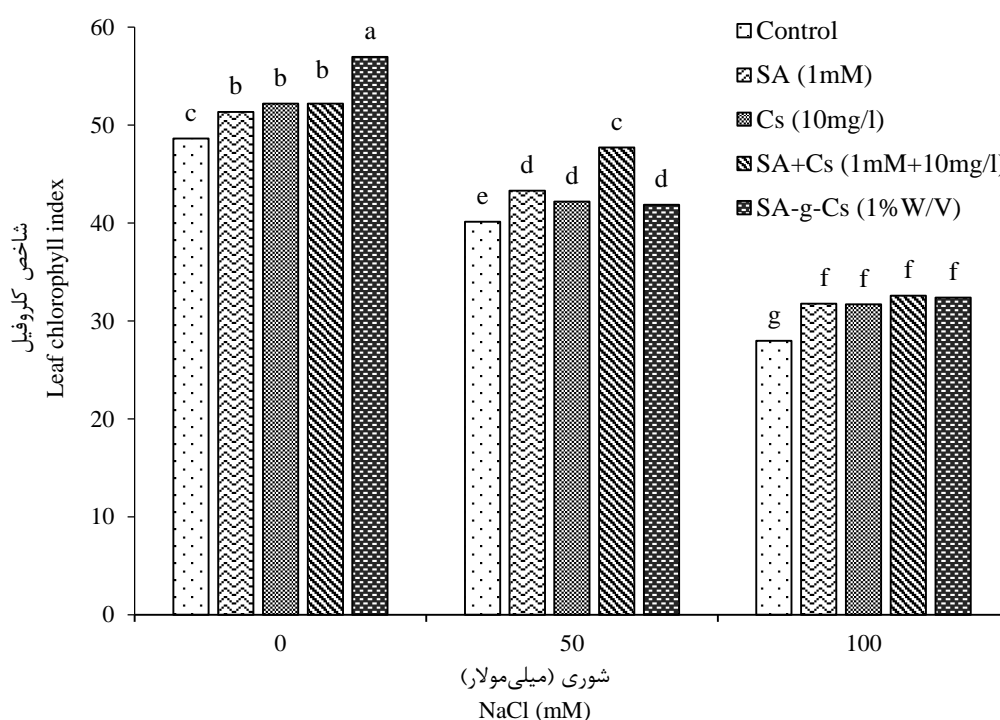
### شاخص کلروفیل

برگ (۲۷/۹) در تیمار شاهد و تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم حاصل شد (شکل ۱). نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری، محلول پاشی نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک تا حدودی منجر به بهبود سبزی‌نگی برگ گردید. اثر نامطلوب شوری بر میزان

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین شاخص کلروفیل برگ (۵۶/۹) مربوط به تیمار یک درصد جرمی حجمی نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک و سطح شوری صفر و کمترین میزان شاخص کلروفیل

ارکیده (*Orchid* sp) و قهوه (*Coffea*) شد (Abdelhameed و Safikhan *et al.*, 2018). همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که محلول پاشی اسید سالیسیلیک با القای فعالیت رویسکو و تحریک بیوسنتز کربوهیدراتها موجب بهبود محتوی کلروفیل در گیاهان تحت تنش شوری شد. در تحقیقی دیگر، تیمار گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تنش شوری با ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک باعث تحریک تولید رنگدانه‌ها شد (Es-sbihi *et al.*, 2021).

کلروفیل برگ در گیاه پروانش نیز مشاهده شده است (Hassan *et al.*, 2021). کاهش محتوای کلروفیل در این شرایط ممکن است به دلیل ناپایداری رنگدانه-پروتئین تحت تنش (Es-sbihi *et al.*, 2021) و فعالیت آنزیم کلروفیلاز ناشی از تنش شوری باشد که در فرآیند تخریب کلروفیل نقش دارد (Shahid *et al.*, 2020; Hassan *et al.*, 2020; Es-sbihi *et al.*, 2021). کاربرد کیتوزان باعث افزایش محتوای کلروفیل فتوسنتزی و بزرگ شدن کلروپلاست در برگ گیاهان



شکل ۱- تأثیر نانوذرات اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر شاخص کلروفیل نعنا سبز تحت شرایط تنش شوری

Figure 1- Effect of SA and Cs nanoparticles on chlorophyll index of *Mentha spicata* L. under salinity

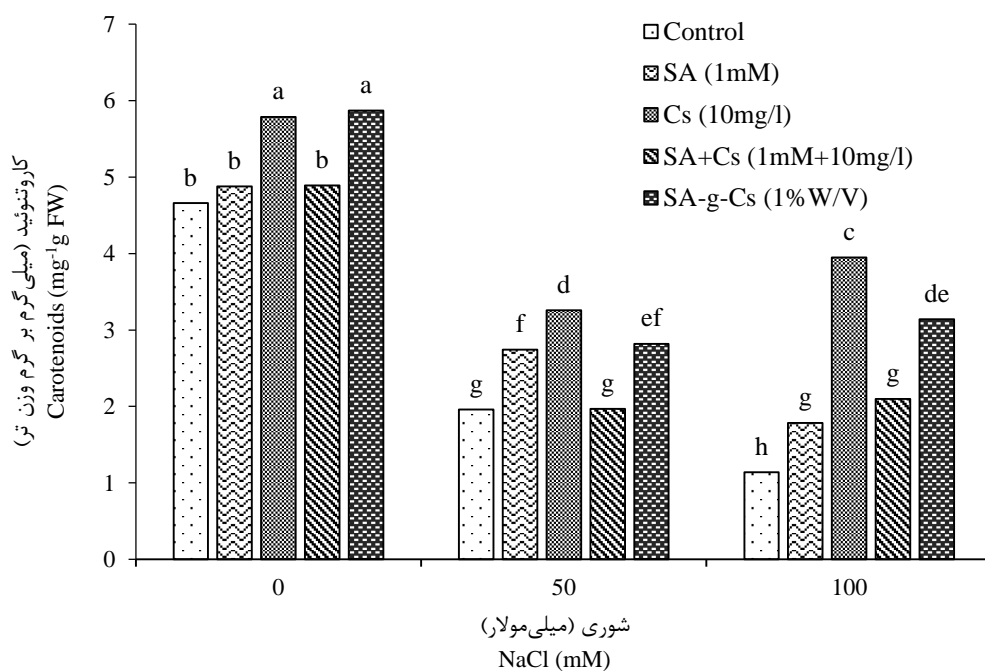
برگ) مربوط به تیمار بدون محلول پاشی و سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم بود (شکل ۲). Shahid و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند که محتوای کاروتنوئید در پاسخ به شوری کاهش یافت. در بررسی انجام شده در گیاه بادرشبی (*Dracocephalum moldavica*) مشخص شد که با افزایش تنش شوری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه کاهش یافت (Gohari & Bahrami, 2020) که در تأیید نتایج حاصل از این پژوهش می‌باشد. تنش شوری با تأثیر منفی بر حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II، که موجب تبدیل انرژی

### کاروتنوئید کل

نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری از میزان کاروتنوئیدها به طور معنی داری کاسته شد ولی تیمار با نانوکمپوزیت کیتوزان-اسید سالیسیلیک به طور قابل توجهی موجب تقویت محتوای کاروتنوئیدها شد، بدین صورت که بیشترین میزان کاروتنوئیدها (۵/۸۹ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)، در تیمار با یک درصد جرمی حجمی نانوکمپوزیت کیتوزان-اسید سالیسیلیک و سطح شوری صفر مشاهده شد. همچنین، کمترین محتوای کاروتنوئیدها (۱/۱۴ میلی گرم بر گرم وزن تر

تأثیر معنی‌داری بر فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب در فتوسیستم II داشت. تنش شوری موجب کاهش فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب به‌عنوان دهنده الکترون به فتوسیستم II در گیاه می‌شود. در حالی که محلول پاشی کیتوزان موجب افزایش این نسبت در گیاه شده و با بهبود فتوسنتز گیاه به افزایش رشد و عملکرد گیاه کمک می‌کند (Gohari & Bahrami, 2020) که نتایج حاصل از این مطالعه نیز در تأیید این مورد می‌باشد.

نورانی به انرژی شیمیایی می‌شود، موجب کاهش نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر در گیاه می‌شود که نشان‌دهنده کاهش ظرفیت انتقال الکترون در فتوسیستم II می‌باشد (Gorni *et al.*, 2020). هر چقدر مدت قرارگیری گیاه تحت شرایط تنش محیطی افزایش یابد این نسبت کاهش خواهد یافت که نشان‌دهنده تأثیر مخرب تنش بر گیاه می‌باشد. نتایج بررسی انجام‌شده در بادرشبی همچنین نشان داد که اثر متقابل محرک زیستی کیتوزان و شوری



شکل ۲- تأثیر نانوذرات اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر محتوای کاروتنوئید نعنا سبز تحت تنش شوری

Figure 2- Effect of SA and Cs nanoparticles on carotenoids content of *Mentha spicata* L. under salinity

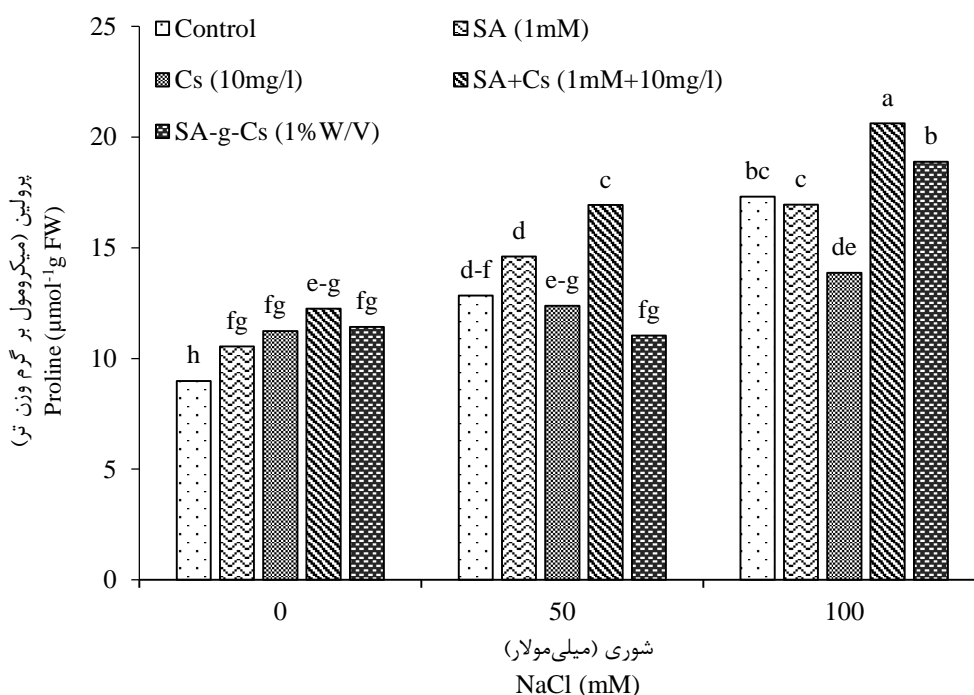
گلوتامات و در نتیجه حفظ مقادیر پرولین باشد (Khan *et al.*, 2019). تنش شوری با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سوپراکسید متابولیسم سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گونه‌های اکسیژن فعال موجب صدمه به DNA و مرگ سلول‌های گیاهی می‌شود. پرولین (و سایر مولکول‌هایی پیام‌رسان) نقش مهمی در محافظت از سلول تحت شرایط تنش را ایفا می‌کنند و در شرایط تنش شدید، سلول از پرولین به‌عنوان منبع کربن و نیتروژن هم استفاده می‌کند و به این طریق به افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش کمک می‌کند (Khan *et al.*

### محتوی پرولین

بیشترین میزان پرولین (۲۰/۶ ماکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار مخلوط آبی کیتوزان و اسید سالیسیلیک در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. همچنین طبق نتایج، کمترین میزان پرولین (۸/۹۸ ماکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به گیاه شاهد و تیمار بدون تنش شوری بود (شکل ۳). محلول پاشی نانوکمپوزیت در همه تیمارها منجر به افزایش پرولین نسبت به گیاهان شاهد شد. این تأثیر ممکن است به دلیل نقش شوری در کاهش اکسیداسیون پرولین به

برنج، جو (*Hordeum vulgare*)، نخودفرنگی (*Pisum sativum*) و سویا باعث مقاومت بیشتر نسبت به شرایط تنش شوری شد (Kibria et al., 2019). علاوه بر این، محتوای پرولین در برگ گندم (*Triticum aestivum* L.) تیمار شده با نانوکمپوزیت SA-CS در مقایسه با شاهد به طور قابل توجهی بالاتر بود که نشان دهنده کارآمدی این ترکیب در محافظت از گیاه در مقابل تنش شوری بود (Kadam et al., 2021).

(al., 2020). رادیکال‌های آزاد اکسیژن تأثیر مخرب بر فعالیت‌های سلولی دارد (Shahid et al., 2020). تجمع پرولین علاوه بر نقش آن به عنوان یک اسمولیت، به حذف رادیکال‌های آزاد، تثبیت ساختارهای درون سلولی، تعدیل هموستاز ردوکس سلولی و تأمین انرژی در سلول کمک می‌کند (Safikhan et al., 2018). افزایش محتوای پرولین در نعنا فلفلی (Coban & Baydar, 2016) و تعدادی از گونه‌های گیاهی مانند



شکل ۳- تأثیر نانوذرات اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر محتوای پرولین نعنا سبز تحت تنش شوری  
Figure 3- Effect of SA and Cs nanoparticles on proline content of *Mentha spicata* L. under salinity

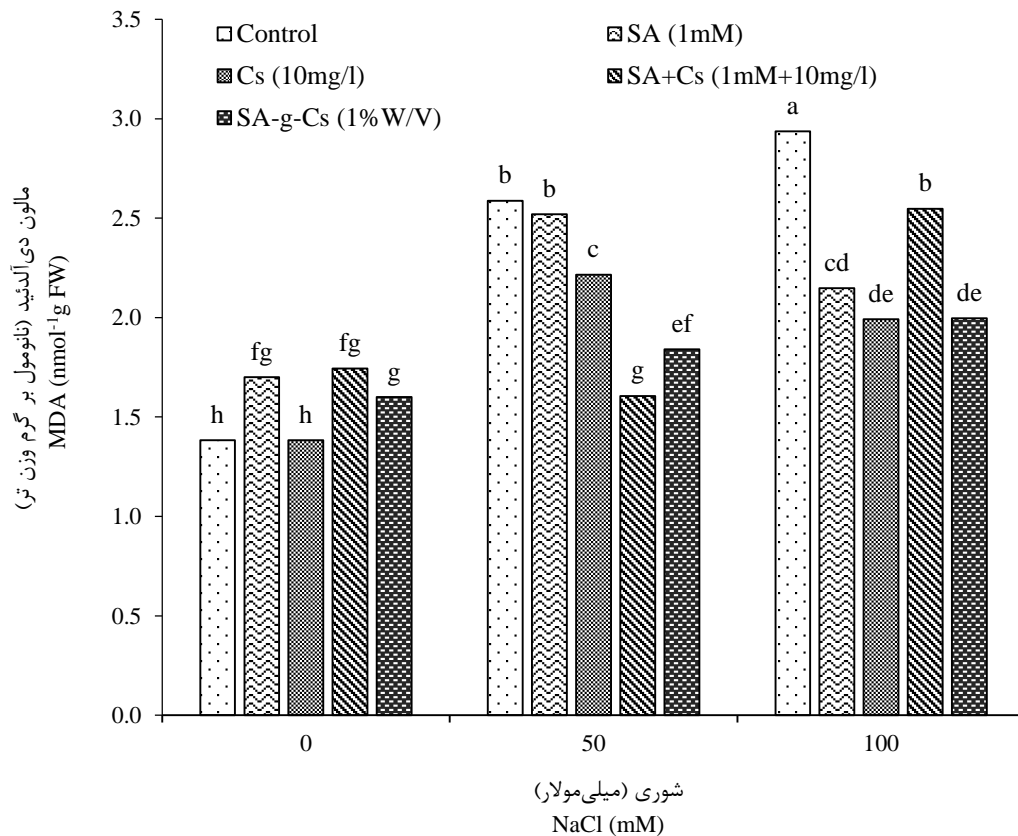
ناشی از اثرات اسمزی تنش اکسیداتیو و با واسطه تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال است که موجب آسیب سلولی می‌شود (Hassan et al., 2021). تجمع مالون‌دی‌آلدئید در برگ‌های گیاه تحت تنش شوری به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌ها نسبت داده می‌شود که باعث تسریع پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شده و منجر به افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید در سلول‌ها می‌شود (Abdelhameed et al., 2021). تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت تنش به ماکرومولکول‌های سلولی آسیب می‌رساند که در نهایت باعث مرگ سلولی می‌شود (Hassan et al., 2021).

### محتوای مالون‌دی‌آلدئید

بیشترین محتوای مالون‌دی‌آلدئید (۲/۹۳ نانومول بر گرم وزن تر) در تیمار بدون محلول پاشی و سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم حاصل شد و کمترین محتوای آن (۱/۳۸ نانومول بر گرم وزن تر) مربوط به گیاه شاهد (بدون شوری و محلول پاشی) بود (شکل ۴). افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گیاه شنبلیله (Abdelhameed et al., 2021)، نعنا (Coban & Baydar, 2016) و پروانش (Hassan et al., 2021) در اثر تنش شوری گزارش شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. اثرات نامطلوب تنش شوری بر رشد گیاه

کیتوزان به دلیل هیدروکسیله شدن گروه آمین آن است که آن را به یک جاروب‌کننده مؤثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن تبدیل می‌کند (Hassan *et al.*, 2021). در تحقیقی دیگر، کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گیاه شنبلیله به علت تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک گزارش شد (Abdelhameed *et al.*, 2021). کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گندم تیمار شده با نانوکمپوزیت SA-CS در مقایسه با کاربرد اسید سالیسیلیک تحت تنش شوری گزارش شده است (Kadam *et al.*, 2021).

مالون‌دی‌آلدئید محصولی حاصل از پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده غشایی سلول بوده و به عنوان شاخص تنش اکسیداتیو (Hassan *et al.*, 2021; Zeeshan *et al.*, 2020) نشانه یونی بالا و تخریب غشاء شناخته می‌شود (Hassan *et al.*, 2021; Kadam *et al.*, 2021; Coban & Baydar, 2016). کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در پاسخ به تیمار کیتوزان با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و حفظ یکپارچگی غشاء هماهنگ می‌باشد که نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی



شکل ۴- تأثیر نانوذرات اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید نعنا سبز تحت تنش شوری  
Figure 4- Effect of SA and Cs nanoparticles on malondialdehyde content of *Mentha spicata* L. under salinity

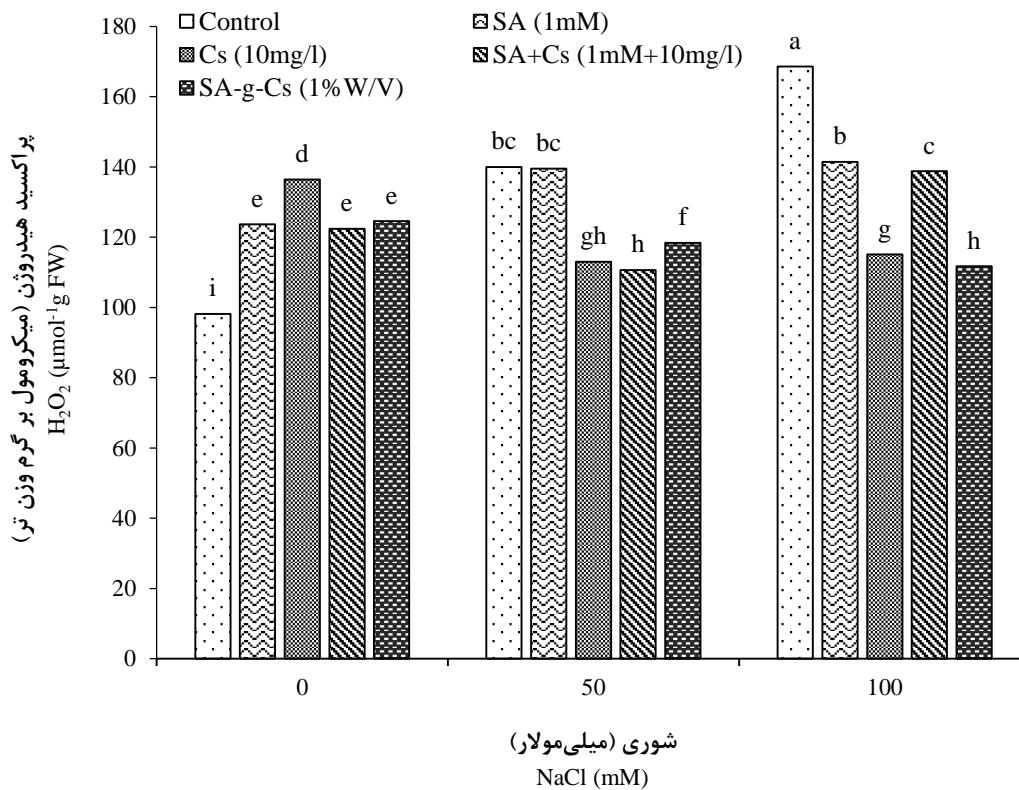
بدون محلول‌پاشی و سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و کمترین میزان پراکسید هیدروژن در گیاه شاهد (بدون محلول‌پاشی و شوری) بود (شکل ۵). بر اساس نتایج Safikhan و همکاران (۲۰۱۸) تنش شوری منجر به

#### محتوی پراکسید هیدروژن

نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری، محتوای پراکسید هیدروژن در گیاه افزایش یافت. به این صورت که، بیشترین میزان پراکسید هیدروژن مربوط به تیمار

افزایش مقادیر پراکسید هیدروژن در برگ‌های خارمریم شد. پراکسید هیدروژن در مقادیر کم به‌عنوان یک مولکول سیگنال‌دهی برای واکنش‌های متابولیک مختلف و همچنین جزء فعال دفاعی گیاه عمل می‌کند. از این‌رو، ممکن است نقش مهمی در انتقال سیگنال‌ها به سلول‌های گیاهی اطراف برای شروع مقاومت سیستمیک اکتسابی داشته باشد (Kumaraswamy *et al.*, 2021; Safikhan *et al.*, 2018).

افزایش مقادیر پراکسید هیدروژن در برگ‌های خارمریم شد. پراکسید هیدروژن در مقادیر کم به‌عنوان یک مولکول سیگنال‌دهی برای واکنش‌های متابولیک مختلف و همچنین جزء فعال دفاعی گیاه عمل می‌کند. از این‌رو، ممکن است نقش مهمی در انتقال سیگنال‌ها به سلول‌های گیاهی اطراف برای شروع مقاومت سیستمیک اکتسابی داشته باشد (Kumaraswamy *et al.*, 2021; Safikhan *et al.*, 2018).

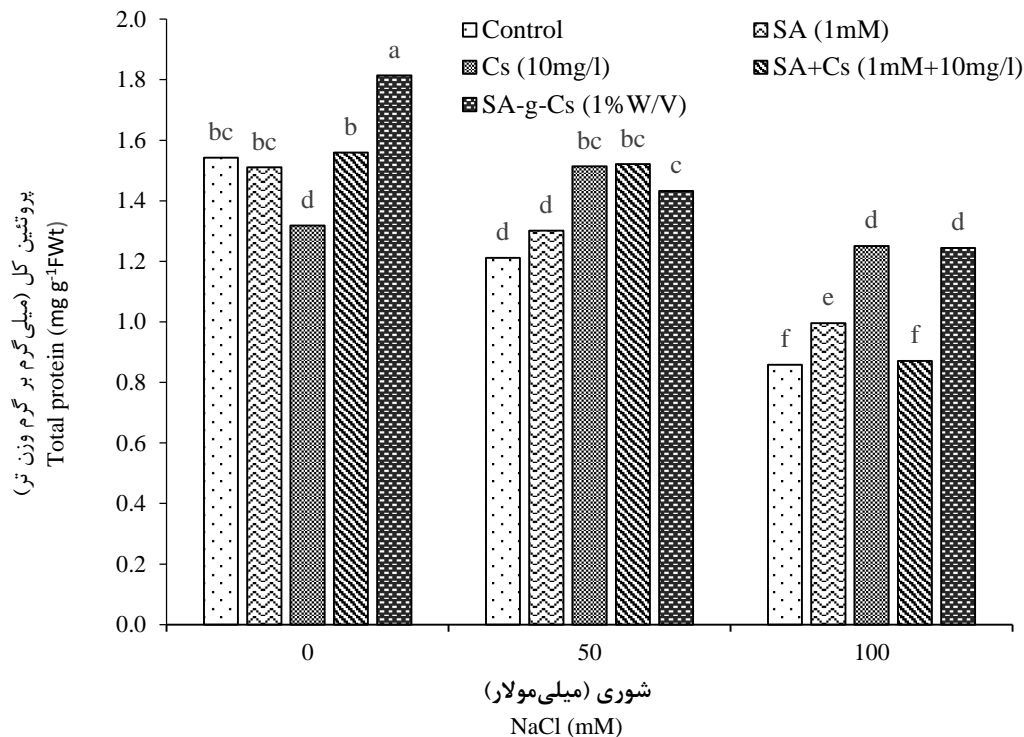


شکل ۵- تأثیر نانوذرات اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر میزان پراکسید هیدروژن در گیاه نعنا سبز تحت تنش شوری

Figure 5- Effect of SA and Cs nanoparticles on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content of *Mentha spicata L.* under salinity

پروتئین کل کاربرد نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مختلف تنش شوری باعث بهبود محتوای پروتئین نسبت به شاهد همان گروه شد. طبق نتایج، بیشترین میزان پروتئین (۱/۸۱ میلی‌گرم بر گرم) مربوط به تیمار محلول‌پاشی با یک درصد جرمی حجمی نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک و تیمار بدون تنش شوری مشاهده شد (شکل ۶). تنش شوری منجر به کاهش پروتئین محلول در گوجه‌فرنگی شد (Shahid *et al.*, 2020).

پروتئین کل کاربرد نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مختلف تنش شوری باعث بهبود محتوای پروتئین نسبت به شاهد همان گروه شد. طبق نتایج، بیشترین میزان پروتئین (۱/۸۱ میلی‌گرم بر گرم) مربوط به تیمار محلول‌پاشی با یک درصد جرمی حجمی نانوکمپوزیت کیتوزان- اسید سالیسیلیک و تیمار بدون تنش شوری مشاهده شد (شکل ۶). تنش شوری منجر به کاهش پروتئین محلول در گوجه‌فرنگی شد (Shahid *et al.*, 2020).



شکل ۶- تأثیر نانوذرات اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر محتوای پروتئین کل گیاه نعنا سبز تحت تنش شوری  
Figure 6- Effect of SA and Cs nanoparticles on protein content of *Mentha spicata* L. under salinity

مطالعه بعد از انجام مطالعات تکمیلی تر قابل پیشنهاد به بخش ترویج خواهد بود تا در مناطق شور بتوان از ترکیب حاصل در پرورش گیاه نعنا سبز استفاده و موجب کاهش اثرات منفی تنش شوری در گیاه و بهبود شاخص‌های رشدی و عملکردی گیاه گردید.

#### سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه مراغه به‌خاطر حمایت مالی این پژوهش تشکر می‌نماییم.

#### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش شوری تأثیر مخرب بر رشد و برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه نعنا سبز داشت. اما کاربرد یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و یک درصد نانوکمپوزیت اسید سالیسیلیک-کیتوزان (یک درصد جرمی حجمی) نقش مهمی در کاهش اثرات منفی تنش شوری در گیاه داشت. با توجه به گسترش تنش شوری در عموم نقاط کشور، چنین به‌نظر می‌رسد که نتایج حاصل از این

#### References

- Abdelhameed, R. E., Abdel Latef, A. A. H. & Shehata, R. S. (2021). Physiological responses of salinized fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) plants to foliar application of alicyclic acid. *Plants*, 10, 657.
- Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Coban, O. & Baydar, N. G. (2016). Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in Peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress. *Industrial Crops and Products*, 86, 251-258.

- Es-sbihi, F. Z., Hazzoumi, Z., Aasfar, A. & Amrani Joutei, K. (2021). Improving salinity tolerance in *Salvia officinalis* L. by foliar application of salicylic acid. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8, 1-12.
- Gacnik, S., Veberic, R., Hudina, M., Marinovic, S. & Halbwirth, H. (2021). Methyl salicylic acid affect quality and phenolic apple fruit three weeks before the harvest. *Plants*, 10, 1807.
- Gohari, G. R. & Bahrami, M. K. (2020). Effects of chitosan as growth elicitor on some growth parameters and essential oils yield of *Dracocephalum moldavica* L. under salinity condition. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30(1), 155-169.
- Gorni, P. H., Pacheco, A. C., Moro, A. L., Silva, J. F. A., Moreli, R. R., de Miranda, G. R. & da Silva, R. M. G. (2020). Salicylic acid foliar application increases biomass, nutrient assimilation, primary metabolites and essential oil content in *Achillea millefolium* L. *Scientia Horticulturae*, 270, 109436.
- Gorni, P. H. & Pacheco, A. C. (2016). Growth promotion and elicitor activity of salicylic acid in *Achillea millefolium* L. *African Journal of Biotechnology*, 15, 657-665.
- Hassan, F. A. S., Ali, E., Gaber, A., Fetouh, M. I. & Mazrou, R. (2021). Chitosan nanoparticles effectively combat salinity stress by enhancing antioxidant activity and alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 291-300.
- Hasanpour, M., Jafari, H., Sharifi, S., Rezaiee, J., Mehri Lighvan, Z., Mahdavinia, G. R., Gohari, G. R. & Akbari, A. (2021). Salicylic acid-loaded chitosan nanoparticles (SA/CTS NPs) for breast cancer targeting: synthesis, characterization and controlled release kinetics. *Journal of Molecular Structure*, 1245, 40-50.
- Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
- Kadam, P. M., Prajapati, D., Kumaraswamy, R. V., Kumari, S., Devi, K. A., Pal, A. & Saharan, V. (2021). Physio-biochemical responses of wheat plant towards salicylic acid-chitosan nanoparticles. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 699-705.
- Khan, A., Numan, M., Khan, A. L., Lee, I. J., Imran, M., Asaf, S. & Al-Harrasi, A. (2020). Melatonin: Awakening the defense mechanisms during plant oxidative stress. *Plants*, 9, 407.
- Khan, N., Bano, A., Rahman, M. A., Rathinasabapathi, B. & Babar, M. A. (2019). UPLC-HRMS-based untargeted metabolic profiling reveals changes in Chickpea (*Cicer arietinum*) metabolome following long-term drought stress. *Plant, Cell & Environment*, 42, 115-132.
- Kibria, M. G. & Hoque, M. A. (2019). A review on plant responses to soil salinity and amelioration strategies. *Open Journal of Soil Science*, 9, 219.
- Kumaraswamy, R. V., Kumari, S., Choudhary, R. C., Sharma, S. S., Pal, A., Raliya, R., Biswas, P. & Saharan, V. (2019). Salicylic acid functionalized chitosan nanoparticle: a sustainable biostimulant for plant. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 59-69.
- Kundu, M., Halder, S. & Bhattacharjee, A. (2018). Salicylic acid-induced modulation of growth and metabolism of a medicinal plant *Mentha Spicata* L. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9, 5294-5300.
- Mahendran, G., Verma, S. K. & Rahman, L. U. (2021). The traditional uses, phytochemistry and pharmacology of spearmint: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 278, 114266.
- Safikhan, S., Khoshbakht, K., Chaichi, M., Amini, A. & Motesharezadeh, B. (2018). Role of chitosan on the growth, physiological parameters and enzymatic

- activity of milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) in a pot experiment. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 10, 49-58.
- Sanjary-Mijani, M., Syrosmehr, A. & Fakhery, B. (2015). Effect of drought stress and humic acid on some physiological characteristics of Hibiscus (*Hibiscus sabdarifa*). *Crops Improvement*, 2, 403-414.
  - Shahid, M. A., Sarkhosh, A., Khan, N., Balal, R. M., Ali, S., Rossi, L., Gomez, C., Mattson, N., Nasim, W. & Garcia-Sanchez, F. (2020). Insights into the physiological and biochemical impacts of salt stress on plant growth and development. *Agronomy*, 10, 938.
  - Sinha, S., Saxena, R. & Singh, S. (2005). Chromium induced lipid peroxidation in the plants of *Pistia stratiotes* L.: role of antioxidants and antioxidant enzymes. *Chemosphere*, 58, 595-604.
  - Vojodi Mehrabani, L., Hassanpouraghdam, M. B. & Shamsi-Khotab, T. (2018). The effects of common and nano-zinc foliar application on the alleviation of salinity stress in *Rosmarinus officinalis* L. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 17(6), 65-73.
  - Zeeshan, M., Lu, M., Sehar, S., Holford, P. & Wu, F. (2020). Comparison of biochemical, anatomical, morphological, and physiological responses to salinity stress in Wheat and Barley genotypes deferring in salinity tolerance. *Agronomy*, 10, 127.