



Investigation of the Protective Effects of Sodium Hydrosulfide and Sodium Nitroprusside on the Toxicity of Silver Nanoparticles in Soybeans (*Glycine max* L.)

S. Moayeri¹, M. Baradaran Firouzabadi^{1*}, M. Parsaeian¹, A. Gholami¹, H. Makarian¹

1- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

(*- Corresponding author's Email: mbaradaran@shahroodut.ac.ir)

Received: 22 June 2025

Revised: 26 October 2025

Accepted: 12 November 2025

Available Online: 02 December 2025

How to cite this article:

Moayeri, S., Baradaran Firouzabadi, M., Parsaeian, M., Gholami, A., & Makarian, H. (2026). Investigation of the protective effects of sodium hydrosulfide and sodium nitroprusside on the toxicity of silver nanoparticles in soybeans (*Glycine max* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 24(2), 183-203. (In Persian with English abstract)

<https://doi.org/10.22067/jcesc.2025.94122.1409>

Introduction

Nanotechnology is actually one of the new technologies that has recently entered the agricultural field. Nanoparticles are atomic or molecular assemblies with minimum dimensions between 1-100 nanometers. One of the first effects of reducing the size of particles to below 100 nanometers and converting them into nanoparticles is an increase in surface area to volume, which causes more atoms to be placed on the surface compared to the volume, and subsequently changes the physical and chemical properties of the particles. In the meantime Nanosilver is known as a stress factor in plants due to its unique properties such as small size and high specific surface area, which can cause plant damage by inducing oxidative stress. Increasing of resistance to abiotic stresses in some plants is done through external application of various organic compounds. In this study, the role of sodium hydrosulfide (NaHS) and sodium nitroprusside (SNP) in reducing the negative effects of nanosilver on the physiology, growth and yield of soybean cultivar Williams was investigated.

Materials and Methods

The experiment was conducted at the research farm of the Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology. The evaluated traits included shoot dry matter, forage yield, chlorophyll a and b contents, relative water content, plasma membrane stability, flavonoid content, anthocyanin content, and leaf soluble sugar concentration. The experiment was carried out as a factorial experiment in a randomized complete block design with three replications with three levels of nanosilver (0, 1.5 and 3 g L⁻¹), three levels of NaHS (0, 0.5 and 1 mM) and two levels of SNP (0 and 120 µM) in 1402. After testing, the obtained data was analyzed by SAS statistical software (version 9.1). The comparison of means was done based on minimum mean difference test (LSD) at 5 % probability level. The shape of the mold was studied using excel software.

Results and Discussion

The results showed that nanosilver reduced yield, relative leaf water content, and pigment concentration, while the combined use of NaHS and SNP reduced stress-induced damage by increasing the levels of protectants such as flavonoid, anthocyanin, and soluble sugars. In the treatment containing 3 g L⁻¹ of silver nanoparticles, 0.5 mM sodium hydrosulfide, and no sodium nitroprusside, the chlorophyll a content of 0.78 mg g⁻¹ fresh leaf weight showed the lowest value among all treatments. The highest soluble sugar content was recorded in plants treated



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jcesc.2025.94122.1409>

with 1.5 g L⁻¹ silver nanoparticles. The amount of flavonoid in plants sprayed with 1.5 g L⁻¹ nanosilver was significantly increased as the amount of this trait in the application of 0.5 mM and non - consuming sodium hydrosulfide increased 0.0771 and 0.0769 g.g⁻¹ fresh weight of leaves and increased 48 percent. The highest anthocyanin content was observed in the control treatment (0 g L⁻¹ nanosilver) and in the 1.5 g L⁻¹ nanosilver treatment in the absence of sodium hydrosulfide. All other treatment combinations significantly reduced anthocyanin content compared with the control. Nanosilver application reduced plasma membrane stability. The plasma membrane stability of the control plants was 71.55%, which decreased to 68.9% following application of 1.5 g L⁻¹ nanosilver; however, this reduction was not statistically significant. Increasing the nanosilver concentration to 3 g L⁻¹ resulted in a significant decline in plasma membrane stability, with a mean value of 61.6%. The shoot dry matter content in the control plants was 109.6 g m⁻². In the effect of spraying of plants with 1.5 g L⁻¹ nanosilver and non - consumption of sodium nitroprusside and sodium hydrosulfide to 99.5 g.m⁻² and by infecting plants with 3 g L⁻¹ nanosilver with a significant drop of 51.7 g m⁻². The highest grain yield (420.3 g m⁻²) was obtained in the treatment without nanosilver and with the use of 1 mM NaHS, which showed a 36% increase compared to the control (270 g m⁻²).

Conclusion

Overall, the application of NaHS and SNP under nanosilver stress conditions left effective protective effects and can be suggested as an efficient approach for managing stresses caused by heavy metals in plants.

Keyword: Antioxidant, Heavy metals, Oxidative stress, Pigments

مقاله پژوهشی

جلد ۲۴، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۵، ص ۱۸۳-۲۰۳

بررسی اثرات حفاظتی سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید بر سمیت نانوذرات نقره، در سویا (*Glycine max* L.)

سعید معیری^۱، مهدی برادران فیروزآبادی^{۱*}، مهدیه پارسائیان^۱، احمد غلامی^۱، حسن مکاریان^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۱

چکیده

غلظت‌های زیاد نانوذرات نقره به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد مانند اندازه کوچک و سطح ویژه بالا، به عنوان یک عامل تنش‌زا در گیاهان شناخته می‌شوند که می‌توانند از طریق القای تنش اکسیداتیو موجب آسیب به گیاه شوند. در این پژوهش، نقش بهبوددهنده سدیم هیدروسولفید (NaHS) و سدیم نیتروپروساید (SNP) کاهش اثرات منفی نانوذرات نقره بر فیزیولوژی، رشد و عملکرد سویا (*Glycine max* L.) رقم ویلیامز بررسی شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار با سه سطح محلول‌پاشی نانوذرات نقره (۰، ۱/۵ و ۳ گرم در لیتر)، سه سطح محلول‌پاشی سدیم هیدروسولفید (۰، ۵/۰ و ۱ میلی‌مولار) و دو سطح محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید (۰ و ۱۲۰ میکرومولار) در سال ۱۴۰۲ اجرا گردید. نتایج نشان داد که نانوذرات نقره موجب کاهش عملکرد، محتوای نسبی آب برگ و غلظت رنگدانه‌ها شد، در حالی که استفاده ترکیبی از سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید با افزایش سطح محافظت‌کننده‌هایی نظیر فلاونوئیدها، آنتوسیانین و قندهای محلول، آسیب‌های ناشی از تنش را کاهش داد. در تیمار حاوی سه گرم در لیتر نانوذرات نقره، ۵/۰ میلی‌مولار سدیم هیدروسولفید و عدم مصرف سدیم نیتروپروساید، میزان کلروفیل a با مقدار ۰/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ کمترین مقدار را در بین تمامی تیمارها نشان داد. بیشترین عملکرد دانه (۳۲۰/۳ گرم در مترمربع) در تیمار بدون نانوذرات نقره و با مصرف یک میلی‌مولار سدیم هیدروسولفید به دست آمد که نسبت به شاهد (۲۷۰ گرم در مترمربع) افزایش ۳۶ درصدی نشان داد. در مجموع، کاربرد سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید در شرایط تنش نانوذرات نقره، اثرات حفاظتی مؤثری بر جای گذاشت و می‌تواند به عنوان رویکردی کارآمد برای مدیریت تنش‌های ناشی از فلزات سنگین در گیاهان پیشنهاد شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، تنش اکسیداتیو، رنگدانه‌ها، فلزات سنگین

مقدمه

ساخت وسایل زندگی و انواع مواد و پودرهای شوینده مورد استفاده در منازل و استفاده در لوازم و تجهیزات پزشکی و کودهای کشاورزی شدت یافته است. قابل توجه‌ترین ویژگی ذرات در ابعاد نانو، توانایی عبور از سدیهایی است که برای ذرات مشابه با ابعاد بزرگ‌تر غیرممکن است. این ویژگی واکنش‌پذیری نانوذرات به‌ویژه نانوذرات فلزی را به شدت افزایش می‌دهد (Baker et al., 2013). بنابراین رهاسازی هر نوع نانوذره‌ای در محیط زیست ممکن است دارای آثار مضر بالقوه‌ای باشد که همین امر مطالعه آن‌ها را در سطوح مختلف زیستی دارای اهمیت می‌نماید. به عنوان مثال، در گزارش‌های مختلف آمده است که نانوذرات نقره دارای خواص بیولوژیکی مختلف از جمله خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی (Venkatesan et al., 2016)، بهبودی (Yugal et al., 2017) و ضدسرطانی (Ahmed et al., 2016) هستند. این نانوذره که امروزه به‌وفور در صنایع به‌ویژه پوشاک

نانوتکنولوژی یا کاربرد فناوری در مقیاس اتم و مولکول یکی از تکنولوژی‌های نوظهور در قرن حاضر می‌باشد که آینده اقتصادی جهان را به شدت متأثر خواهد کرد. گستردگی دامنه تأثیر این فناوری بسیار زیاد است و می‌تواند بیشتر جنبه‌های زندگی بشر را تحت تأثیر قرار دهد. هم‌اکنون با پیشرفت نانوفناوری، استفاده از آن‌ها در صنایع مختلف از ساخت خودرو، لاستیک، رنگ، صنایع هوافضا، ساختمان‌سازی، شیشه‌سازی، الکترونیک، صنایع دریایی گرفته تا

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

(*) نویسنده مسئول: Email: mbaradaran@shahrroodut.ac.ir
<https://doi.org/10.22067/jcsc.2025.94122.1409>

استفاده می‌شود به‌راحتی با شست‌وشو وارد آب‌های زیرزمینی می‌شود و در صورت مصرف آثار متعددی بر گیاهان برجای خواهد گذاشت. نانوذرات نقره با غلظت پنج گرم در لیتر می‌تواند سبب کاهش فتوسنتز، تولید کلروفیل و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در گیاهان شود (Miao et al., 2009). گزارش شده است که نانوذرات نقره باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل در برگ‌های گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) شد. این کاهش، در مقایسه با شاهد، با افزایش غلظت نانوذرات شدت بیشتری یافته و نشان‌دهنده اثر منفی نقره بر ظرفیت فتوسنتزی گیاه است (Rai et al., 2020). در آزمایشی نشان داده شد که نانوذرات نقره به‌طور معنی‌داری سبب کاهش عملکرد فتوسنتزی، رنگدانه‌ها و آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر گلوتاتیون ریداکتاز، آسکوربات کل و محتوای گلوتاتیون در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار شد (Tripathi et al., 2017). سونگ و همکاران (Song et al., 2013) بیان کردند که نانوذرات نقره می‌تواند سبب کاهش محتوای کلروفیل و افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) شود. در پاسخ به تنش نانونقره، میزان بالایی از بیان ژن‌های مرتبط با آسمیلاسیون گوگرد، بیوسنتز گلوتاتیون ریداکتاز و گلوتاتیون اس ترانسفراز دیده شده است (Nair & Chang, 2014). اگرچه امروزه مصرف خاکی کودهای گوگردی در راستای تأمین نیاز این عنصر در گیاهان زراعی مرسوم است، ولی مواد و ترکیبات متعددی وجود دارند که می‌توانند به‌عنوان منبع گوگرد برای گیاه در نظر گرفته شوند و علاوه‌بر آن از سایر مزایای آن‌ها نیز بهره‌مند گردند، به‌عنوان مثال گیاهان قادر به جذب برگی سولفید هیدروژن (H_2S) به‌عنوان منبعی از گوگرد برای رشد هستند به‌خصوص تحت شرایطی که دسترسی به گوگرد در محیط ریشه محدود شده باشد (Koralewska et al., 2008). سولفید هیدروژن در گیاهان به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان، در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف مانند جوانه‌زنی بذر، فتوسنتز، حرکت روزنه‌ای، القای ریشه‌های نابه‌جا و تأخیر در پیری گل‌ها نقش دارد. این ترکیب همچنین با کاهش خسارت اکسیداتیو، به افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها کمک می‌کند (Zhang et al., 2008). مطالعه‌ای روی برنج (*Oryza sativa* L.) نشان داد که استفاده از سدیم هیدروسولفید (NaHS) تحت تنش گرمایی منجر به افزایش وزن خشک ساقه تا ۲۱/۸ درصد در رقم Taipei-309 و ۲۰ درصد در رقم Rasi شد. این افزایش می‌تواند به‌دلیل بهبود تعادل اکسیداسیون-احیا، حفظ ساختار فتوسنتزی و کاهش آسیب اکسیداتیو باشد (Gautam et al., 2022). سولفید هیدروژن در گیاهچه‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت تنش شوری میزان فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز را به‌ترتیب ۱۴/۲، ۱۲/۳ و ۸/۳ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد (Ding et al., 2019). همچنین بیان شده است که هیدروسولفید

هیدروژن به‌عنوان دهنده هیدروژن به‌صورت خارجی سبب کاهش تنش ناشی از فلزات سنگین مانند آلومینیوم در گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) (Chen et al., 2013)، سرب در کلزا (*Brassica napus* L.) (Ali et al., 2014) و کادمیوم در یونجه (*Medicago sativa* L.) (Li, Wang et al., 2012) شده است. مطالعات انجام‌شده روی تأثیر پرایمینگ بذرهای آفتابگردان با سدیم هیدروسولفید در شرایط تنش خشکی نشان داد که تیمار بذر با سدیم هیدروسولفید شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها را در شرایط تنش خشکی اعمال‌شده توسط پلی اتیلن گلایکول بهبود داده است (Ocvirk et al., 2021). در گیاهان برنج، پیش‌تیمار با سولفید هیدروژن با حفاظت از کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئیدها و پروتئین سبب کاهش معنی‌دار نشانه‌های سمیت کادمیوم شد (Mostofa et al., 2015). همچنین سدیم هیدروسولفید می‌تواند با تأمین گوگرد احیاءپذیر موجب افزایش مخزن گلوتاتیون در گیاهان شود. گلوتاتیون به‌عنوان یک ترکیب کلیدی در سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه، حاوی گوگرد است و سنتز آن وابسته به حضور اسیدآمینه سیستئین می‌باشد. تأمین گوگرد از طریق سدیم هیدروسولفید با فراهم کردن پیش‌سازهای ضروری برای مسیرهای بیوسنتزی، نقش مؤثری در افزایش سطح گلوتاتیون ایفا می‌کند. طبق گزارش کوشواها و همکاران (Kushwaha et al., 2020)، تیمار گیاهان با سدیم هیدروسولفید باعث افزایش معنی‌دار غلظت گلوتاتیون و کاهش اثرات مخرب تنش کروم شد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که کاربرد ترکیبات گوگردی مانند سدیم هیدروسولفید با تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه از طریق افزایش تولید گلوتاتیون، می‌تواند رویکردی مؤثر برای مقابله با تنش‌های اکسیداتیو باشد. سدیم نیتروپروساید (SNP) یک ترکیب رهاکننده اکسیدنیتریک (NO) است که بررسی نقش آن در گیاهان موضوع پژوهش‌های متعدد بوده است (Li et al., 2008b). اسدی صنم و همکاران (Asadi Sanam et al., 2014) بیان کردند که اکسیدنیتریک، یکی از گونه‌های فعال نیتروژن است که می‌تواند به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان در پاسخ‌های سازشی گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان نقش ایفا کند و به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان، گونه‌های فعال اکسیژن را از بین ببرد. در مطالعه‌ای در اثر محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید مقدار کلروفیل، درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مرزه (*Satureja khuzestanica* L.) افزایش پیدا کرد (Gorgini Shabankareh & Khorasani Nejhad, 2018). همچنین در مطالعه‌ای روی کدو حلوائی (*Lagenaria siceraria*) تیمار با ۰/۲۵ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش ۲۱/۸۴ درصد در وزن خشک شد. این افزایش به‌دلیل بهبود فتوسنتز، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش آسیب اکسیداتیو بود (Zhang et al., 2024). در پژوهشی دیگر، تأثیر محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید روی گیاه رز (*Rosa*

پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیکی آن از اهمیت بالایی برخوردار است. این گیاه به‌ویژه در مراحل اولیه رشد نسبت به تغییرات در ترکیب خاک، سمیت فلزی و تنش‌های اکسیداتیو بسیار واکنش‌پذیر است. بنابراین، درک بهتر سازوکارهای دفاعی و تنظیمی گیاه سویا در برابر چنین تنش‌هایی می‌تواند نقش مهمی در توسعه راهکارهای بهبود رشد و عملکرد آن تحت شرایط تنش‌زا ایفا کند. به همین منظور، این آزمایش با اهداف مقایسه اثر غلظت‌های مختلف نانوقره بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه سویا و بررسی پاسخ‌های زراعی و فیزیولوژیک این گیاه به محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید و سدیم هیدروسولفید انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود اجرا شد. حداقل و حداکثر دمای منطقه به‌ترتیب ۱۰- و ۴۰ درجه سانتی‌گراد و میانگین بارندگی سالانه در این منطقه حدود ۱۵۴ میلی‌متر است که این بارندگی‌ها عمدتاً در فصل پاییز و بهار رخ می‌دهد. مزرعه در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۹ دقیقه شمالی و ۵۵ دقیقه طول شرقی واقع شده و میانگین ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۶۶ متر می‌باشد. نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری در **جدول ۱** نشان داده شده است.

gallica L.) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با کاربرد این تیمار، اثرات منفی قلیائیت خاک بر گیاه کاهش می‌یابد و شاخص‌های رشدی گیاه از جمله تعداد و ضخامت برگ، وزن تر و خشک برگ و ساقه و ریشه، همچنین شاخص‌های گل‌دهی، رنگیزه-های فتوسنتزی، قندهای محلول و میزان پروتئین کل افزایش می‌یابد و غلظت دو میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید مؤثرتر از بقیه غلظت‌ها عمل کرد (Moazam Babasheikhali et al., 2021). استفاده از سدیم نیتروپروساید به‌عنوان دهنده اکسیدنیتریک سبب توسعه رشد گیاه نخود در شرایط تنش کادمیوم و کاهش غلظت کادمیوم موجود در قسمت‌های مختلف این گیاه شده است (Kumari et al., 2010). در سال ۲۰۲۴ تولید جهانی گیاه سویا (*Glycine max* L.) به حدود ۴۲۹ میلیون تن رسید که نسبت به سال قبل ۸/۷ درصد افزایش داشت، به‌ویژه در کشورهای پیشرو مانند برزیل، ایالات متحده و آرژانتین که به‌ترتیب ۱۶۹، ۱۱۸۸۴ و ۵۱ میلیون تن تولید داشتند (USDA, 2024). این افزایش تولید عمدتاً ناشی از شرایط مساعد آب‌وهوایی و بهبود مدیریت کشاورزی بوده است. در ایران، سطح کشت سویا نسبت به سال‌های گذشته روند افزایشی داشته و عمدتاً در استان‌های شمال غربی و غرب کشور کشت می‌شود، هرچند میزان تولید داخلی هنوز با کشورهای پیشرو جهانی فاصله دارد و بخش عمده نیاز کشور به سویا از طریق واردات تأمین می‌شود (FAO, 2023). از آنجاکه سویا گیاهی نسبتاً حساس به شرایط تنش‌زا به‌ویژه فلزات سنگین و نانوذرات فلزی محسوب می‌شود، بررسی دقیق

جدول ۱- خصوصیات خاک محل آزمایش

Table 1- Soil characteristics of the test site

بافت Texture	شن Sand	رس Clay	سیلت Silt	کربن آلی Organic carbon	نیتروژن کل Total nitrogen	پتاسیم قابل جذب Absorbable potassium	فسفر قابل جذب Absorbable phosphorus
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(ppm)	(ppm)
لومی رسی	20.1	30.7	35	0.4	0.1	280	10

آماده گردید، این ترکیب با فرمول شیمیایی $\text{Na}[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، کریستال مانند با رنگ قهوه‌ای، محلول در آب، رهاکننده اکسید نیتریک (NO)، pH محلول تقریباً ۷/۵-۷ داشت که از شرکت مرک تهیه شده بود. این آزمایش در قالب فاکتوریل برپایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار بود. به‌منظور آماده‌سازی زمین پس از انجام عملیات شخم و دیسک، پشته‌هایی به فواصل ۵۰ سانتی‌متر به‌وسیله فاروئر ایجاد و سپس شیلنگ‌های قطره‌ای پهن گردید. بذر سویا مورد استفاده رقم ویلیامز بود و عملیات کاشت با دست در ۲۷ خرداد ماه، به‌صورت هیرم‌کاری و در عمق سه سانتی‌متر انجام شد. در هر کرت آزمایشی، چهار خط کاشت به‌طول چهار متر با فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر قرار

تیمارها شامل محلول‌پاشی نانوذرات نقره در سه سطح (صفر، غلظت ۱/۵ و غلظت ۳ گرم بر لیتر)، محلول نانوذرات نقره با خلوص ۹۹/۹۹ درصد از شرکت پیشگامان نانومواد به‌صورت کلوتیدی در آب مقطر تهیه شد. ذرات نقره دارای اندازه ۵-۸ نانومتر، شکل کروی و سطح ویژه ۲۵-۴۲ مترمربع بر گرم بودند. چگالی واقعی ذرات نقره ۱۰/۹ گرم بر سانتی‌متر مکعب بود. pH محلول حدود ۰/۵±۱۱ و رنگ آن قهوه‌ای پررنگ بود. محلول سدیم هیدروسولفید در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) آماده گردید، این ترکیب با فرمول شیمیایی NaHS، پودری با رنگ زرد روشن، محلول در آب، رهاکننده یون H_2S ، قلیایی و با pH حدود ۱۲ بود که از شرکت مرک تهیه شده بود. محلول سدیم نیتروپروساید در دو سطح (صفر و ۱۲۰ میکرومولار)

دور سانتیفریوژ گردید. سپس در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر خوانده شد. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه (۴) و (۵) اندازه‌گیری گردید (Mita et al., 1997).

$$A=A530 - (0.25 A654) \quad (4)$$

$$C(\text{mg}/100\text{g}) = A/eL \times MV \times DF \times V/G \times 100 \quad (5)$$

که در آن، e: مقدار جذب مولی آنتوسیانین و برابر ۲۶۰۰۰، L: طول مسیر طی شده در سل و برابر یک سانتی‌متر، MV: وزن مولی آنتوسیانین و برابر ۲/۴۴۹، DF: ضریب رقیق‌سازی، V: حجم نمونه و G: وزن نمونه به میلی‌گرم است.

فلانونوئید برگ

برای سنجش میزان فلانونوئید در مرحله پیش از گل‌دهی، ۱/۰ گرم وزن تر برگ در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (شامل الکل اتیلیک ۹۵ درصد و اسیداستیک گلاسیال به نسبت حجمی ۱:۹۹) به خوبی ساییده شد و عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتیفریوژ گردید. محلول رویی جدا و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد گرما داده شد و سپس در طول موج ۳۰۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه میزان فلانونوئید از منحنی استاندارد کوئرستین (شکل ۱) استفاده گردید (Krizek, 1998).

پایداری غشای پلاسمایی

برای اندازه‌گیری پایداری غشای پلاسمایی برگ در مرحله پیش از گل‌دهی، از هر کرت دو تا سه برگ هم‌سن انتخاب و سپس پانچ ۰/۰۱ گرم دیسک برگی تهیه گردید. نمونه‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفتند. از هر ترکیب تیماری دو نمونه تهیه شد. یک نمونه در بن‌ماری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳۰ دقیقه (a) و نمونه دیگر در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه (b) قرار گرفتند. بعد از خنک شدن نمونه‌ها و هم‌دمای محیط شدن با استفاده از دستگاه EC متر، هدایت الکتریکی نمونه‌ها خوانده شد و پایداری غشای پلاسمایی آن‌ها از رابطه (۶) محاسبه شد (Sairam & Srivastava, 2001).

$$(6) \quad \text{پایداری غشاء} = (1 - (a/b)) \times 100$$

محتوای نسبی آب برگ

از هر کرت دو بوته به‌طور تصادفی انتخاب شد و از هر بوته یک برگ جوان و کاملاً رشدیافته در مرحله پیش از گل‌دهی قطع گردید. نمونه‌ها پس از توزین با ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم (وزن تر)، به مدت ۲۴ ساعت درون آب مقطر و در یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس برگ‌ها از آب مقطر خارج و آب روی آن‌ها را با دستمال گرفته و خشک گردیدند و دوباره توزین شدند (وزن

گرفتند. دو خط کناری به‌عنوان حاشیه در نظر گرفته شد و صفات مورد نظر روی دو خط وسط اندازه‌گیری گردید. آبیاری به‌صورت قطره‌ای و هر چهار الی پنج روز یک بار انجام شد و مقدار آب مصرفی برای همه تیمارها یکسان بود. ۲۰ و ۴۰ روز بعد از کاشت به‌ترتیب اولین و دومین وجین به‌صورت دستی انجام گرفت. محلول‌پاشی با نانوذرات نقره طی یک مرحله و قبل از گل‌دهی (۴۶ روز پس از کاشت) به‌وسیله سم‌پاش دستی هنگام غروب و در هوایی کاملاً آرام انجام شد. پس از گذشت یک هفته محلول‌پاشی با سدیم هیدروسولفید و دو روز بعد با سدیم نیتروپروساید صورت گرفت. به‌منظور بررسی ماده خشک بخش‌های مختلف گیاه، از هر کرت آزمایشی، تعداد پنج بوته به‌طور تصادفی برداشت و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها به بخش‌های برگ، ساقه و غلاف تفکیک گردید و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند. سپس ماده خشک برحسب گرم در مترمربع محاسبه گردید. در ۲۵ مهر ماه و پس از رسیدن گیاهان به مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، از هر کرت پنج بوته برای اندازه‌گیری عملکرد برداشت شد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

به‌منظور اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ، ۰/۰۱ گرم از بافت تازه برگ در مرحله پیش از گل‌دهی توزین و به قطعات کوچکی خرد شد. به‌نمونه‌ها شش میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکسید اضافه شد و محلول حاصل به مدت چهار ساعت درون حمام آب گرم (بن‌ماری) با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Jenway ۶۳۰۵ ساخت کشور آلمان)، میزان جذب نمونه‌های حاوی کلروفیل در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد (Hiscox & Israelstam, 1978).

$$(1) \quad \text{Chl a } (\mu\text{g}/\text{ml}) = (12.25 A 663) - (2.55 A 645)$$

$$(2) \quad \text{Chl b } (\mu\text{g}/\text{ml}) = (20.31 A 645) - (4.91 A 663)$$

$$(3) \quad \text{Car } (\mu\text{g}/\text{ml}) =$$

$$(1000 A 470 - 1.90 \text{ chl a} - 63.14 \text{ chl b}) / 214$$

اعداد به‌دست‌آمده در $v/w \times 1000$ ضرب گردید تا اعداد برحسب

میلی‌گرم بر گرم وزن تر به دست آیند. که در آن، v: حجم محلول کلروفیلی برحسب میلی‌لیتر و w: وزن نمونه تر برگ برحسب گرم می‌باشد.

آنتوسیانین برگ

در مرحله پیش از گل‌دهی، مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت برگ تازه گیاهی با چهار میلی‌لیتر محلول اسیدکلریدریک یک درصد نرمال و متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰

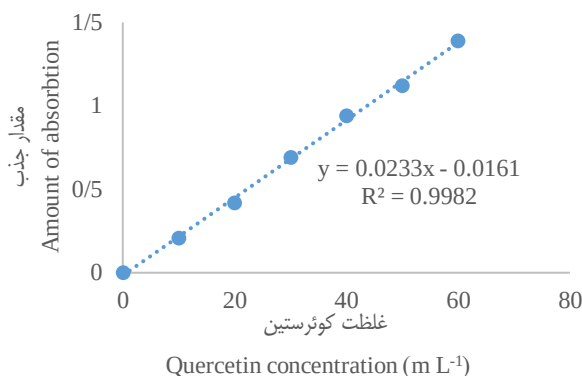
(Kramer, 1983).

= مقدار نسبی آب برگ

(Y)

$100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن اشباع}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})$

اشباع)، در نهایت نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری گردید (وزن خشک). محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه (Y) محاسبه شد



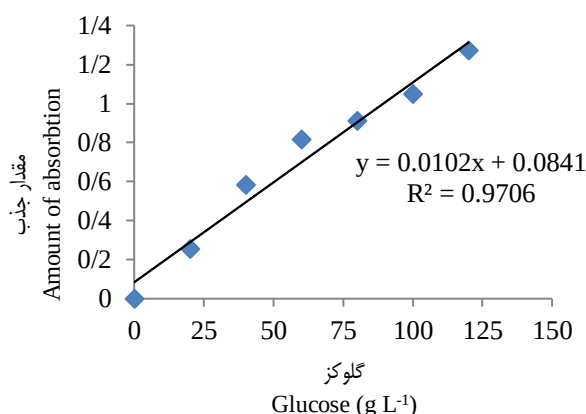
شکل ۱- منحنی استاندارد فلاونوئید در طول موج ۳۰۰ نانومتر

Figure 1- Flavonoid standard curve at 300 nm wavelength

سپس میزان جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. محلول شاهد نیز با افزودن یک میلی‌لیتر فنل پنج درصد و پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به دو میلی‌لیتر آب مقطر تهیه گردید. منحنی استاندارد (شکل ۲) در همان روز، با استفاده از محلول‌های گلوکز خالص در غلظت‌های ۰ تا ۱۲۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شد. برای این منظور، تمام مراحل روش فنل-اسید سولفوریک روی دو میلی‌لیتر از هر محلول تکرار گردید تا مقادیر ثبت‌شده توسط اسپکتروفتومتر به غلظت قند موجود در محلول تبدیل شود. معادله حاکم بر منحنی استاندارد $ABS = aC + b$ می‌باشد که در آن، ABS: مقدار جذب، C: غلظت قند موجود در محلول، و a و b: اعداد ثابت هستند (Hellubust & Caraigie, 1978)

قند محلول برگ

به‌منظور اندازه‌گیری میزان قند محلول برگ، ۱۰۰ میلی‌گرم از پودر نمونه برگ‌های خشک‌شده در فالكون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد، هشت میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به آن افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار داده شدند. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. به روشناور جمع‌شده به‌ترتیب ۳/۵ میلی‌لیتر سولفات روی ($ZnSO_4$) پنج درصد و ۳/۵ میلی‌لیتر باریم هیدروکسید ($Ba(OH)_2$) ۰/۳ نرمال اضافه گردید و دوباره ۲۰ دقیقه در ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. روشناور به‌حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. براساس این روش دو میلی‌لیتر محلول برداشته شده است. ابتدا یک میلی‌لیتر فنل پنج درصد و سپس پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ با فشار اضافه گردید.



شکل ۲- منحنی استاندارد قند محلول در طول موج ۴۸۵ نانومتر

Figure 2- Standard curve of soluble sugar at a wavelength of 485 nm

داده‌های به‌دست‌آمده به‌وسیله نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید. رسم شکل‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار EXCEL انجام گردید.

نتایج و بحث

ماده خشک اندام‌هوایی

مطابق جدول ۲ اثر دوگانه سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال پنج درصد و بقیه منابع تغییر به‌جز تکرار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. میزان ماده خشک اندام هوایی در گیاهان شاهد ۱۰۹/۶ گرم در مترمربع بود؛ که در اثر محلول‌پاشی گیاهان با میزان ۱/۵ گرم در لیتر نانوذرات نقره و شرایط عدم مصرف سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید به ۹۹/۵ گرم در مترمربع و با آلوده کردن گیاهان با سه گرم در لیتر نانوذرات نقره با

افت چشمگیر به ۵۱/۷ گرم در مترمربع رسید. در شرایط عدم مصرف نانونقره، محلول‌پاشی سدیم هیدروسولفید با و بدون مصرف سدیم نیتروپروساید، مقدار ماده خشک را به‌ترتیب ۴۱/۳ و ۱۰۷/۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داد و به ۱۵۴/۸۳ و ۲۲۷/۵۳ گرم در مترمربع رسانید که بیشترین مقادیر این صفت در بین کلیه ترکیبات تیماری بود. در شرایط اعمال ۱/۵ گرم در لیتر نانوذرات نقره در هر سه سطح سدیم هیدروسولفید (عدم، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار)، محلول‌پاشی گیاهان با سدیم نیتروپروساید سبب افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به شرایط عدم مصرف سدیم نیتروپروساید و همین‌طور شاهد شد. در زمان آلوده‌سازی گیاهان با بیشترین میزان نانوذرات نقره، همه ترکیبات تیماری حاصل از سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید سبب بهبود معنی‌دار ماده خشک شدند، ولی فقط تیمار یک میلی‌مولار سدیم هیدروسولفید و مصرف سدیم نیتروپروساید سبب افزایش این صفت نسبت به گیاهان شاهد شد (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانوذرات نقره، سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید بر کلروفیل a و b، کاروتنوئید، عملکرد دانه و ماده خشک بخش هوایی گیاه سویا

Table 2- Analysis of variance (mean of squares) of the effect of silver nanoparticles, sodium hydrosulfide and sodium nitroprusside on chlorophyll a and b, carotenoids, grain yield and aerial dry matter soybean plant

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f	ماده خشک بخش هوایی Shoot dry matter	عملکرد دانه Grain yield	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid
تکرار Repetition	2	39.966	1815.505	0.000364	0.00624	0.00038
نانونقره Nanosilver (a)	2	9774.511**	124884.94**	0.0460**	0.1880**	0.15477**
سدیم هیدروسولفید NaHS (b)	2	9383.143**	9167.706**	0.0261**	0.00487*	0.00012
سدیم نیتروپروساید SNP (c)	1	999.320**	71.38	0.00633*	0.000261	0.00148*
نانونقره × سدیم هیدروسولفید a × b	4	6089.0171**	11364.65**	0.03364**	0.007736**	0.00323**
نانونقره × سدیم نیتروپروساید a × c	2	5998.717**	12477.3**	0.00620*	0.002953	0.000815
سدیم هیدروسولفید × سدیم نیتروپروساید b × c	2	112.655*	1636.4	0.003344	0.001538	0.00033
نانونقره × سدیم هیدروسولفید × سدیم نیتروپروساید a × b × c	4	2570.826**	3541.28**	0.004863**	0.00555**	0.000197
خطا Error	34	30.263	730.831	0.001281	0.000998	0.000270
ضریب تغییرات C.V (%)		5.0	13.1	3.7	5.3	2.5

* و **: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد می‌باشد.

* and **: are significant at the 1 and 5 percent levels, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر برهم کنش نانوذرات نقره، سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید بر برخی صفات فیزیولوژیک و زراعی گیاه سویا

Table 3- Comparison of the average effect of the interaction of silver nanoparticles, sodium hydrosulfide and sodium nitroprusside on some physiological and agronomic traits of soybean plant								
نانونقره Nanosilver (g L ⁻¹)	سدیم هیدروسولفید NaHS (mM)	سدیم نیتروپروساید SNP (μM)	ماده خشک بخش هوایی Shoot dry matter (g m ⁻²)	عملکرد دانه Grain yield	کلروفیل a Chlorophyll a (g g ⁻¹ Fw)	کلروفیل b Chlorophyll b (g g ⁻¹ Fw)		
0	0	0	109.600 ^{e*}	270.03 ^{bc}	0.988 ^{bcd}	0.651 ^{bc}		
		120	70.100 ^{ij}	193.45 ^{def}	1.011 ^{ab}	0.623 ^{cd}		
		0	97.667 ^f	288.32 ^b	0.927 ^{ef}	0.701 ^{ab}		
		120	115.467 ^e	292.02 ^b	0.902 ^{fg}	0.718 ^a		
	0.5	0	227.533 ^a	420.26 ^a	1.008 ^{ab}	0.708 ^a		
		120	154.833 ^b	310.16 ^b	1.012 ^{ab}	0.706 ^a		
		1.5	0	0	99.500 ^f	208.41 ^d	0.983 ^{bcd}	0.595 ^d
				120	139.933 ^c	209.02 ^d	1.013 ^{ab}	0.609 ^{cd}
0	100.100 ^f			150.97 ^{fg}	1.028 ^{ab}	0.577 ^{de}		
120	139.600 ^c			225.94 ^{cd}	1.055 ^a	0.579 ^{de}		
0.5	0		87.000 ^g	151.74 ^{fg}	1.005 ^{abc}	0.702 ^{ab}		
	120		127.033 ^d	198.50 ^{de}	0.948 ^{cdef}	0.596 ^d		
	3		0	0	51.700 ^k	93.43 ^h	0.840 ^{hi}	0.473 ^{gh}
				120	61.900 ^j	116.08 ^{gh}	0.843 ^{gh}	0.536 ^{ef}
0		98.867 ^f		160.64 ^{efg}	0.783 ⁱ	0.489 ^{fgh}		
120		82.700 ^{gh}		138.99 ^g	0.933 ^{def}	0.442 ^h		
0.5		0	74.833 ^{hi}	119.51 ^{gh}	1.017 ^{ab}	0.453 ^{gh}		
		120	132.667 ^{cd}	158.48 ^{efg}	1.057 ^a	0.501 ^{fg}		
		LSD 5%			9.128	44.858	0.0594	0.0525

* وجود حرف مشترک در هر ستون نشانه عدم اختلاف معنی دار است

* The presence of a common letter in each column indicates no significant difference.

این تغییرات منجر به افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه گردید (Dai et al., 2024). افزایش فتوسنتز و کارایی آن به واسطه افزایش نیتریک اکسید (NO) که توسط سدیم نیتروپروساید آزاد می‌شود منجر به افزایش سطح انرژی گیاه و بهبود فرآیندهای متابولیکی می‌شود. این امر در نهایت موجب تولید بیشتر مواد فتوسنتزی و افزایش وزن خشک غلاف‌ها می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط امید و سپهری (Omid & Sepehri, 2015) انجام شد، نتایج نشان داد که تیمار با سدیم نیتروپروساید موجب افزایش معنی دار وزن خشک اندام‌های هوایی در گیاه لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) گردید.

عملکرد دانه

عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر کلیه منابع تغییر به جز تکرار، سدیم نیتروپروساید و اثر دوگانه هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید قرار گرفت (جدول ۲). نتایج حاصل از برهم کنش سه گانه تیمارهای آزمایش مزرعه‌ای بر میزان عملکرد نشان داد که جذب برگی نانوذرات نقره سبب کاهش عملکرد دانه شد. میزان عملکرد در گیاهان شاهد ۲۷۰ گرم در مترمربع بود که افت چشمگیر در زمان استفاده از ۱/۵ و ۳ گرم در لیتر نانوذرات نقره و عدم مصرف

نانوذرات نقره با القای گونه‌های فعال اکسیژن منجر به تخریب ساختارهای سلولی، پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به پروتئین‌ها و اختلال در فتوسنتز می‌شود. در چنین شرایطی، اگر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه قادر به مهار ROS نباشد، روند مرگ سلولی و اختلال در تقسیم و تمایز سلول‌های افزایش می‌یابد و در نتیجه وزن خشک به شدت کاهش می‌یابد. در مطالعه‌ای نشان داده شد که کاربرد نانوذرات نقره در گیاه آبزی *Spirodela polyrhiza* باعث افزایش تجمع ROS، تخریب کلروپلاست و تغییر در عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی شد که این تغییرات به طور مستقیم با کاهش رشد گیاه مرتبط بودند (Zhang et al., 2024). سدیم هیدروسولفید می‌تواند با افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل، کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها، کارایی فتوسنتز را بهبود بخشد. این افزایش در فتوسنتز منجر به تولید بیشتر مواد آلی و در نتیجه افزایش وزن خشک غلاف می‌شود. همچنین نتایج نشان داده است که تیمار گیاهان با سدیم هیدروسولفید باعث افزایش محتوای سولفید هیدروژن درون‌زا، بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و بهبود صفات زراعی مانند ارتفاع گیاه، قطر ساقه و مساحت برگ‌ها در گیاه تنباکو (*Nicotiana tabacum* L.) شد که

سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید (به ترتیب به میزان ۲۰۸/۴ و ۹۳/۴ گرم در مترمربع) مشاهده گردید. بیشترین میزان عملکرد در سطح صفر نانوقره، یک میلی مولار سدیم هیدروسولفید و عدم مصرف سدیم نیتروپروساید (۴۲۰/۳ گرم در مترمربع) به دست آمد، اما همین ترکیبات تیماری در دو سطح ۱/۵ و ۳ گرم در لیتر نانوذرات نقره (به ترتیب با مقادیر ۱۵۱/۷ و ۱۱۹/۵ گرم در مترمربع) کاهش قابل توجه داشتند و استفاده از تیمارهای آزمایشی توانست تا حد زیادی کاهش عملکرد ناشی از سطح بالای نانوقره را جبران نماید. به عنوان مثال، محلول پاشی با ۰/۵ میلی مولار سدیم هیدروسولفید سبب افزایش ۷۲ درصدی عملکرد نسبت به سطح صفر تیمارها در شرایط سمیت بالای نانوقره گردید. افزایش حاصل از کاربرد یک میلی مولار سدیم هیدروسولفید به همراه ۱۲۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید نیز در این شرایط حدود ۷۰ درصد بود (جدول ۳). نانوذرات ممکن است سبب اختلال در جذب عناصر غذایی ضروری مانند نیتروژن، فسفر و آهن شوند. از سوی دیگر، نانوذرات نقره می تواند با آسیب به ساختار کلروپلاست و کاهش کلروفیل، فرآیند فتوسنتز را مختل کند. در نهایت، این نانوذرات ممکن است از طریق برهم زدن تعادل هورمون های گیاهی مانند اکسین، رشد و نمو طبیعی گیاه را کاهش دهند (Yan & Chen, 2019). سدیم هیدروسولفید با آزادسازی H_2S ، موجب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی می شود که از گیاه در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می کنند. این ترکیب همچنین باعث افزایش محتوای کلروفیل و بهبود فتوسنتز می شود و در نتیجه رشد گیاه را تقویت می کند. از طرفی، سولفید هیدروژن با تنظیم تعادل یونی و جذب بهتر عناصر غذایی، تغذیه گیاه را بهبود می دهد. در نهایت، با تنظیم بیان ژن ها و مسیرهای هورمونی، فرآیندهای رشد و توسعه گیاه را فعال تر می کند و به این ترتیب عملکرد گیاه افزایش می یابد (Dai et al., 2024). گزارش شده است که مصرف نانوقره سبب کاهش عملکرد در لوبیاسبز (*Phaseolus vulgaris* L.) می شود (Rafaati Alashti et al., 2021).

کلروفیل a

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می دهد که اثر اصلی نانوذرات نقره، سدیم هیدروسولفید و اثر دوگانه نانوقره و هیدروسولفید و اثر سه گانه نانوذرات نقره، سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال یک درصد و اثر اصلی سدیم نیتروپروساید و اثر دوگانه نانوذرات نقره و سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال پنج درصد بر میزان کلروفیل a معنی دار شدند. در بین ترکیبات تیماری حاصل از برهم کنش سه گانه تیمارها، در مجموع تعداد کمی از ترکیبات تیماری توانستند اختلاف معنی داری نسبت با شاهد داشته باشند. آلودگی با سطح سوم نانوذرات نقره (سه گرم بر لیتر) کاهش

معنی دار قابل توجهی در مقدار کلروفیل a برگ ایجاد نمود که با مصرف سدیم هیدروسولفید با غلظت یک میلی مولار دوباره به سطح گیاهان شاهد برگشت و با اضافه شدن سدیم نیتروپروساید حتی بهتر از گیاهان شاهد شد. از این رو در بین تیمارهای مورد مطالعه، بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به ترکیبات تیماری سه گرم در لیتر نانوقره، یک میلی مولار سدیم هیدروسولفید و مصرف سدیم نیتروپروساید، با میزان ۱/۰۶ گرم بر گرم وزن تر برگ بود که البته تفاوت معنی داری با هشت ترکیب تیماری دیگر نداشت. کمترین میزان این صفت نیز مربوط به تیمار سه گرم در لیتر نانوذرات نقره، ۰/۵ میلی مولار سدیم هیدروسولفید و عدم مصرف سدیم نیتروپروساید (۰/۷۸ گرم بر گرم وزن تر برگ) بود که البته با تیمار سه گرم در لیتر نانوذرات نقره و عدم مصرف سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید تفاوت معنی دار نداشت اما نسبت به شاهد (۰/۹۹ گرم بر گرم وزن تر برگ) کاهش ۲۱ درصدی داشت (جدول ۳). در تحقیقاتی که طباطبایی پژوه و همکاران (Tabatabaei Pazouh et al., 2013) روی کلزا انجام دادند، بیان شد که نانوقره باعث کاهش میزان کلروفیل در گیاهان می شود که این اثر به دلیل تنش اکسیداتیو ناشی از نانوذرات نقره بوده است.

همچنین گزارش شده است که سولفید هیدروژن مولکولی مشارکت کننده در سیگنالینگ است که فرآیند فتوسنتز را با افزایش بیوزن کلروپلاست و تثبیت دی اکسید کربن بهبود می بخشد که این تغییرات متابولیکی می تواند به حفظ و افزایش محتوای کلروفیل a کمک کند (Mostofa et al., 2015). علی و همکاران (Ali et al., 2014) گزارش کردند که سدیم هیدروسولفید سبب افزایش کلروفیل در گیاه کلزا می شود. همچنین سدیم نیتروپروساید به عنوان دهنده نیتریک اکسید می تواند نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای متابولیکی در گیاهان داشته باشد. یکی از این فرآیندها، سنتز کلروفیل a است. نیتریک اکسید از طریق تأثیر بر فعالیت های آنزیمی و مسیرهای سیگنال دهی، می تواند باعث افزایش سنتز کلروفیل a و بهبود فرآیند فتوسنتز در گیاهان شود. بنابراین، نیتریک اکسید به طور غیرمستقیم بر تولید کلروفیل a تأثیر می گذارد و به این ترتیب در بهبود فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان کمک می کند (Chamizo et al., 2017). همچنین در تحقیقات یزدی و میرزایی (Yazdi & Mirzaei, 2021) گزارش شد که مصرف سدیم نیتروپروساید سبب افزایش کلروفیل روی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) می شود.

کلروفیل b

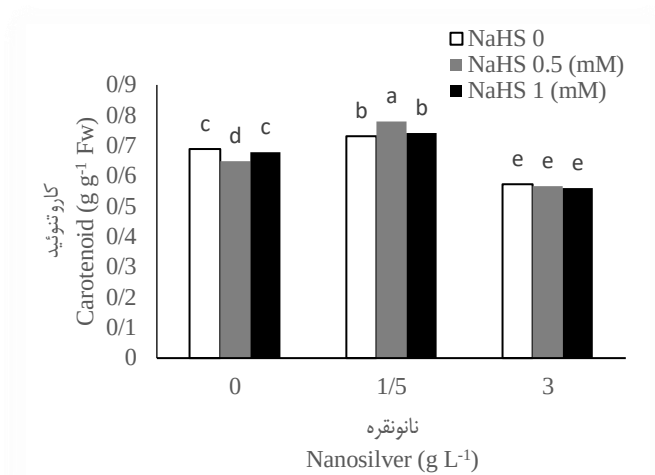
اثر اصلی نانوذرات نقره، اثر دوگانه نانوذرات نقره و سدیم هیدروسولفید و اثر سه گانه نانوذرات نقره، سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال یک درصد و اثر اصلی سدیم

سدیم نیتروپروساید $0/657$ گرم بر گرم وزن تر برگ بود که نسبت به شرایط عدم مصرف آن ($0/668$ گرم بر گرم وزن تر برگ) کاهش $1/6$ درصدی داشت (شکل ۴). در غلظت‌های بالای نانوذرات از جمله نانوذرات نقره شواهد متعددی نشان داده‌اند که این مواد می‌توانند به‌جای تحریک سیستم دفاعی گیاه منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو شدید، تخریب کلروپلاست‌ها و در نتیجه کاهش سنتز کاروتنوئیدها شوند. کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگدانه‌های فتوسنتزی و آنتی‌اکسیدان‌های مهم، در پاسخ به تنش‌های محیطی تنظیم می‌شوند. باین‌حال، تحت تنش شدید ناشی از نانوذرات نقره، مسیره‌های بیوسنتزی آن‌ها ممکن است مختل گردد یا فعالیت آنزیم‌های دخیل در تولید آن‌ها مهار شود. مطالعاتی همچون رالیا و همکاران (Raliya et al., 2015) نیز نشان داده‌اند که اگرچه نانوذرات در غلظت‌های پایین باعث افزایش کاروتنوئیدها می‌شوند، اما در غلظت‌های بالا ممکن است اثر معکوس داشته باشند. بر همین اساس، کاهش مشاهده‌شده در محتوای کاروتنوئید در برخی تیمارهای حاوی نانوذرات نقره می‌تواند ناشی از آثار تخریبی این نانوذره در غلظت‌های بالا تلقی شود. افزایش میزان کاروتنوئید در تیمار حاوی سدیم هیدروسولفید احتمالاً ناشی از نقش سیگنال‌دهی گاز سولفید هیدروژن در تنظیم پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی و فتوسنتزی گیاه است. گزارش شده است که سولفید هیدروژن با فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند SOD، CAT و APX از ساختار و عملکرد کلروپلاست محافظت می‌کند و در نتیجه، پایداری مسیره‌های بیوسنتزی کاروتنوئید نظیر مسیر موالونوئیک اسید را تقویت می‌کند. همچنین شواهد نشان می‌دهد که سولفید هیدروژن ممکن است باعث افزایش بیان ژن‌های کلیدی مانند PSY و DXS شود که نقش اصلی در مراحل آغازین بیوسنتز کاروتنوئید دارند (Li, Gong et al., 2012). سدیم نیتروپروساید به‌عنوان دهنده‌ی NO در گیاهان شناخته می‌شود و در بسیاری از پاسخ‌های تنظیمی از جمله القای دفاع آنتی‌اکسیدانی، تنظیم رشد، و تعامل با گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارد (Delledonne, 1998). باین‌حال، در شرایطی خاص، آزادسازی بیش از حد NO ممکن است منجر به شکل‌گیری گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) مانند پرکسی‌نیتريت ($ONOO^-$) شود، که ترکیبات زیستی حساس از جمله رنگدانه‌های کاروتنوئیدی را هدف قرار می‌دهد (Arasimowicz & Floryszak, 2014). کاروتنوئیدها به‌دلیل داشتن پیوندهای دوگانه گسترده، به‌شدت نسبت به تنش اکسیداتیو و نیتروژاتیو حساس‌اند و می‌توانند در حضور گونه‌های فعال نیتروژن دچار تخریب ساختاری شوند (Havaux, 2014). علاوه بر آن، مطالعات نشان داده‌اند که NO می‌تواند از طریق نیتروزیلاسیون آنزیم‌های کلیدی در مسیر بیوسنتز کاروتنوئید، مانند phytoene synthase یا lycopene cyclase، فعالیت آن‌ها را کاهش دهد (Zhang et al., 2024).

هیدروسولفید در سطح احتمال پنج درصد بر میزان کلروفیل b معنی‌دار شد (جدول ۲). مطابق جدول ۳، استفاده از غلظت سه گرم در لیتر نانوذرات نقره سبب کاهش میزان این صفت در کلیه ترکیبات تیماری نسبت به شاهد شد. البته مقدار کاهش در گیاهانی که فقط با سدیم نیتروپروساید محلول‌پاشی شدند، کمتر بود. در گیاهان آلوده به $1/5$ گرم در لیتر نانوذرات نقره، تیمارهای یک میلی‌مولار هیدروسولفید و عدم مصرف سدیم نیتروپروساید ($0/7$ گرم بر گرم وزن تر برگ) و عدم مصرف سدیم هیدروسولفید و مصرف سدیم نیتروپروساید ($0/61$ گرم بر گرم وزن تر برگ) با شاهد ($0/65$ گرم بر گرم وزن تر برگ) اختلاف معنی‌دار نداشت. سایر ترکیبات تیماری سبب کاهش میزان کلروفیل b شدند. در سطح صفر نانوذرات نقره، بیشترین افزایش کلروفیل b با مصرف غلظت یک میلی‌مولار سدیم هیدروسولفید و عدم مصرف و مصرف سدیم نیتروپروساید (به‌ترتیب $0/708$ و $0/706$ گرم بر گرم وزن تر برگ) و مصرف $0/5$ میلی‌مولار سدیم هیدروسولفید و مصرف سدیم نیتروپروساید ($0/718$ گرم بر گرم وزن تر برگ) دیده شد. گزارش شده است که سدیم هیدروسولفید سبب افزایش مقدار کلروفیل در گیاه ذرت می‌شود (Zangeneh et al., 2018). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که نانوذرات نقره با تولید گونه‌های فعال اکسیژن سبب بروز تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌شود و در نتیجه، فعالیت آنزیم‌های درگیر در سنتز کلروفیل مانند آمینولولوبینیک اسید سنتاز و کلروفیل سنتاز را مختل می‌کند. همچنین نقره ممکن است با جانشینی یون‌های فلزی ضروری نظیر منیزیم در ساختار کلروفیل موجب بی‌ثباتی آن شود (Yin et al., 2012).

کاروتنوئید

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌گردد، مقدار کاروتنوئید برگ تحت تأثیر اثر اصلی نانوذرات نقره و اثر دوگانه نانوذرات نقره و سدیم هیدروسولفید در سطح احتمال یک درصد و اثر اصلی سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفت. مطابق شکل ۳، میزان کاروتنوئید در برگ گیاهان شاهد در سطح صفر نانوذرات نقره $0/69$ گرم بر گرم وزن تر برگ بود. محلول‌پاشی با سدیم هیدروسولفید در این سطح از نانوذرات نقره اثر مثبتی نداشت. در سطح $1/5$ گرم در لیتر نانوذرات نقره، افزایش معنی‌داری در مقدار این صفت ثبت گردید. به‌طوری که هم حضور نانوذرات نقره و هم غلظت‌های سدیم هیدروسولفید مقادیر بالایی از کاروتنوئید نشان دادند. در این میان، مصرف $0/5$ میلی‌مولار سدیم هیدروسولفید با $0/78$ گرم بر گرم وزن تر برگ کاروتنوئید از نظر آماری برتر بود. کمترین مقادیر این صفت در اثر آلودگی با سه گرم در لیتر نانوذرات نقره دیده شد. در این سطح از نانوذرات نقره نیز محلول‌پاشی با سدیم هیدروسولفید مفید نبود. براساس نتایج به‌دست‌آمده، کاروتنوئید در برگ گیاهان دریافت‌کننده

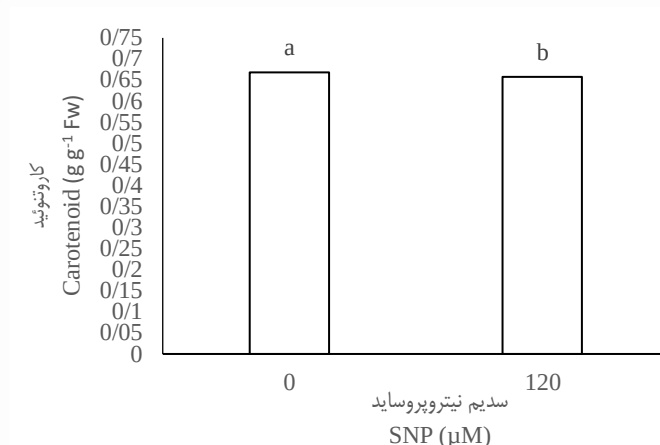


شکل ۳- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش نانوذرات نقره و سدیم هیدروسولفید بر کاروتنوئید برگ سویا

Figure 3- Comparison of the average effect of the interaction of silver nanoparticles and sodium hydrosulfide on soybean leaf carotenoids

وجود حرف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (LSD 0.05).

The presence of a common letter indicates no significant difference (LSD 0.05).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر سطوح سدیم نیتروپروساید بر میزان کاروتنوئید برگ سویا

Figure 4- Comparison of the mean effect of sodium nitroprusside levels on soybean leaf carotenoid

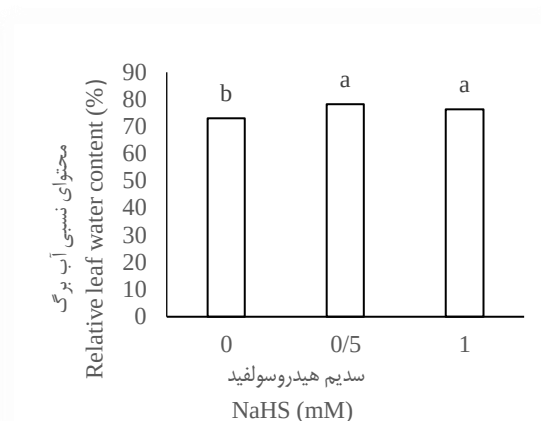
وجود حرف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (LSD 0.05).

The presence of a common letter indicates no significant difference (LSD 0.05).

را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشیدند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که سولفید هیدروژن از طریق تعدیل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، حفظ سلامت غشای سلولی و کاهش نفوذپذیری غشاء سلولی در برابر تنش‌های محیطی می‌تواند به بهبود وضعیت آبی گیاه کمک کند. به‌علاوه، سولفید هیدروژن با افزایش فشار تورژسانسی و بهبود ساختار و عملکرد غشاهای سلولی، باعث افزایش جذب و نگهداری آب در گیاه می‌شود (Zhao et al., 2021).

محتوای نسبی آب برگ

همان‌طور که در نتایج حاصل از تجزیه واریانس در جدول ۴ مشاهده می‌شود، تنها اثر اصلی سدیم هیدروسولفید بر این صفت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. مطابق شکل ۵ کمترین میزان محتوای نسبی آب برگ در تیمار شاهد معادل ۷۳/۱۴ درصد به‌دست آمد که با محلول‌پاشی غلظت‌های سدیم هیدروسولفید (۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) به‌ترتیب به ۷۸/۷ و ۷۶/۳ درصد رسید که اگرچه با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند، ولی نسبت به سطح صفر، این صفت



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر سطوح سدیم هیدروسولفید بر محتوای نسبی آب برگ سویا

Figure 5- Comparison of the average effect of sodium hydrosulfide levels on the relative soybean leaf water content

وجود حرف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (LSD 0.05).

The presence of a common letter indicates no significant difference (LSD 0.05).

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانوذرات نقره، سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید بر محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشای پلاسمایی، فلاونوئید، آنتوسیانین و قند محلول برگ گیاه سویا

Table 4- Analysis of variance (mean of squares) of the effect of silver nanoparticles, sodium hydrosulfide and sodium nitroprusside on relative leaf water content, plasma membrane stability, flavonoid, anthocyanin and leaf soluble sugar soybean plant

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f	محتوای نسبی آب برگ Relative leaf water content	پایداری غشای پلاسمایی Plasma membrane stability	فلاونوئید Flavonoid	آنتوسیانین Anthocyanin	قند محلول برگ Leaf soluble sugar
تکرار Repetition	2	32.47	10.084	0.000095	0.000218	0.000225
نانونقره Nanosilver (a)	2	30.25	481.91**	0.01245**	0.1508**	0.01057**
سدیم هیدروسولفید NaHS (b)	2	116.0522**	28.65	0.00036	0.0041	0.000058
سدیم نیتروپروساید SNP (c)	1	16.604	30.066	0.00049**	0.0024	0.000012
نانونقره × سدیم هیدروسولفید a × b	4	8.804	11.019	0.000274**	0.0252**	0.000093
نانونقره × سدیم نیتروپروساید a × c	2	1.185	3.191	0.00003	0.0185**	0.00023
سدیم هیدروسولفید × سدیم b × c	2	3.116	2.465	0.00075**	0.0168*	0.0000617
نانونقره × سدیم هیدروسولفید × سدیم a × b × c	4	6.251	6.616	0.000857	0.00676	0.000102
خطا Error	34	12.077	15.455	0.000057	0.00318	0.000159
ضریب تغییرات CV (%)		4.6	5.8	17.3	7.4	21.2

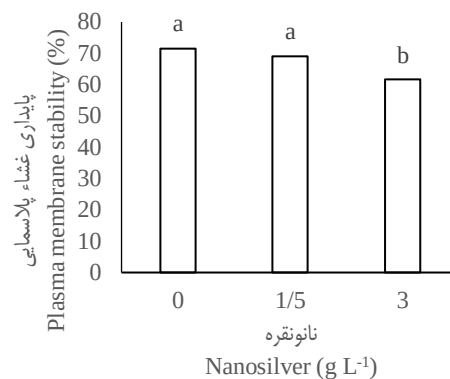
* و **: به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد می‌باشد.

* and **: are significant at the 1 and 5 percent levels, respectively.

پایداری غشای پلاسمایی

اثر اصلی نانوذرات نقره در سطح احتمال یک درصد بر این صفت معنی‌دار بود (جدول ۴). نانوذرات نقره سبب کاهش پایداری غشای پلاسمایی شد. میزان پایداری غشای پلاسمایی در برگ گیاهان شاهد ۷۱/۵۵ درصد بود که با غلظت ۱/۵ گرم در لیتر نانوذرات نقره به ۶۹/۱ درصد کاهش پیدا کرد که البته از نظر آماری معنی‌دار نبود. دو برابر شدن آلودگی نانوذرات نقره ۳ گرم در لیتر اثر منفی بیشتر و معنی‌دار از لحاظ آماری داشت و مقدار این صفت را به ۶۱/۶ درصد رساند (شکل ۶). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که نانونقره می‌تواند غشاهای سلولی را تحت تأثیر قرار دهد و باعث آسیب و پاره‌گی غشاها شود. این اثرات می‌تواند به کاهش کارایی غشا در حفظ

یکپارچگی سلولی به‌ویژه در غلظت‌های بالا منجر شود (Kumari et al., 2009). غلظت بالای نانوذرات نقره به دلیل خواص نانوذره‌ای و واکنش‌پذیری بالای آن، می‌تواند موجب تنش اکسیداتیو شدید در سلول‌های گیاهی شود. این حالت با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن همراه است که در غلظت‌های پایین نقش سیگنال‌دهنده دارند، اما در غلظت‌های بالا سبب آسیب به ساختارهای سلولی می‌شوند. یکی از اهداف اصلی ROS، لیپیدهای غشای پلاسمایی هستند که تحت فرآیند پراکسیداسیون لیپید قرار می‌گیرند. پراکسیداسیون لیپیدها باعث کاهش پایداری غشا و افزایش نفوذپذیری آن و در نهایت موجب نشت یون‌ها و مولکول‌های حیاتی از سلول می‌گردد (Mukhopadhyay, 2014)



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر سطوح نانوذرات نقره بر پایداری غشای پلاسمایی برگ سویا

Figure 6- Comparison of the average effect of silver nanoparticles surfaces on the stability of the soybean leaf plasma membrane

وجود حرف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (LSD 0.05).

The presence of a common letter indicates no significant difference (LSD 0.05).

غلظت ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار هیدروسولفید تنها در سطح آلودگی شدید نانونقره (۳ گرم بر لیتر) مفید بود و تا حد زیادی اثر منفی این فلز سنگین را کاهش داد ولی باز هم نتوانست شرایط را به حالت عادی در گیاهان شاهد باز گرداند (شکل ۷). در بررسی برهم‌کنش نانوذرات نقره و سدیم نیتروپروساید نیز تقریباً نتایج مشابهی به‌دست آمد به‌طوری که میزان آنتوسیانین در گیاهان شاهد ۰/۸۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود که اگرچه با محلول‌پاشی ۱/۵ گرم بر لیتر نانوذرات نقره کاهش جزئی یافت ولی معنی‌داری نبود. کمترین میزان آنتوسیانین زمان استفاده از ۳ گرم در لیتر نانوذرات نقره و عدم مصرف سدیم نیتروپروساید (۰/۶۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) ثبت شد که نسبت به شاهد ۲۷ درصد کمتر بود. محلول‌پاشی با سدیم نیتروپروساید در دو سطح صفر و ۱/۵ گرم در لیتر نانوذرات نقره سبب

آنتوسیانین

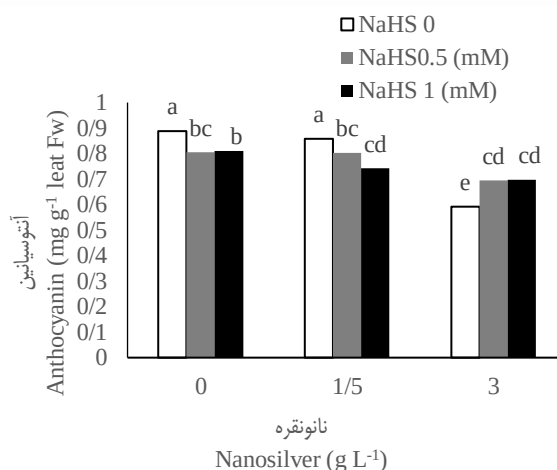
آنتوسیانین برگ از نانوذرات نقره و برهم‌کنش آن با سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال یک درصد و برهم‌کنش سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید در سطح احتمال پنج درصد تأثیر پذیرفت (جدول ۴). بررسی ۹ ترکیب تیماری حاصل از نانوذرات نقره و سدیم هیدروسولفید نشان داد که بیشترین میزان آنتوسیانین در دو غلظت صفر و ۱/۵ گرم در لیتر نانوذرات نقره بدون استفاده از سدیم هیدروسولفید ثبت شد سایر ترکیبات تیماری این صفت را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش دادند. کمترین میزان ثبت شده زمان استفاده از ۳ گرم در لیتر نانوذرات نقره و عدم مصرف سدیم هیدروسولفید (۰/۵۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) بود که نسبت به شاهد کاهش ۳۳ درصدی داشت. محلول‌پاشی با دو

آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، و آسکوربات پراکسیداز، سطح ROS را کنترل کرده و در نتیجه نیازی به سنتز بیشتر آنتوسیانین احساس نمی‌کند. این پدیده کاهش تقاضای گیاه برای سازوکارهای دفاعی غیرآنزیمی مانند آنتوسیانین را توضیح می‌دهد (Li, Wang et al., 2012).

فلاونوئید

اثر نانونقره، سدیم نیتروپروساید، برهم‌کنش نانوذرات نقره و سدیم هیدروسولفید و برهم‌کنش سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید بر این صفت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). میزان فلاونوئید در برگ گیاهانی که با ۱/۵ گرم در لیتر نانوذرات نقره محلول‌پاشی شده بودند، افزایش چشمگیر داشت، به‌طوری که مقدار این صفت در شرایط مصرف ۰/۵ میلی‌مولار و عدم مصرف سدیم هیدروسولفید به ترتیب ۰/۰۷۶۹ و ۰/۰۷۷۱ گرم بر گرم وزن تر برگ به حداکثر خود رسید و نسبت به شاهد افزایش ۴۸ درصدی داشت. دُر بالای سدیم هیدروسولفید در این سطح از نانوذرات نقره موجب کاهش معنی‌دار فلاونوئید گردید. مقدار فلاونوئید برگ در غلظت بالای نانوذرات نقره (سه گرم بر لیتر) به‌طور قابل توجهی پایین بود. این مقدار در سطح صفر سدیم هیدروسولفید نسبت به متناظر خود در سطح صفر و ۱/۵ گرم در لیتر نانوذرات نقره به ترتیب ۵۰ و ۷۴ درصد کمتر بود (شکل ۱۰).

کاهش این صفت شد ولی در سطح ۳ گرم در لیتر این صفت را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشید (شکل ۸). از طرفی در بررسی ۶ ترکیب تیماری حاصل از سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید، بیشترین میزان آنتوسیانین در برگ گیاهان شاهد (۰/۸۲ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) ثبت شد که البته با ترکیب تیماری ۰/۵ میلی‌مولار سدیم هیدروسولفید و ۱۲۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید تفاوت معنی‌دار نداشت. سایر ترکیبات تیماری بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر، نسبت به شاهد به‌طور قابل توجهی کمتر بودند. بنابراین در این شرایط اثر مثبت و معنی‌داری از هیچ‌کدام از تیمارهای سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید مشاهده نشد (شکل ۹). گونه‌های فعال اکسیژن، در غلظت‌های کم، به‌عنوان سیگنال‌های سلولی عمل کرده و پاسخ‌های دفاعی گیاه، مانند سنتز فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها را تحریک می‌کنند. اما در غلظت‌های بالاتر نانوذرات نقره، تجمع بیش از حد ROS منجر به آسیب اکسیداتیو شدید به ساختارهای سلولی و آنزیم‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی این ترکیبات می‌شود. به‌طور خاص، آنتوسیانین‌ها که نقش آنتی‌اکسیدانی و حفاظتی در گیاه دارند، تحت تنش شدید نانوذرات نقره کاهش می‌یابند، چرا که فعالیت آنزیم‌های کلیدی مانند فنیل‌آلانیل آمونیاک‌لیاز (PAL) و سایر آنزیم‌های مسیر بیوسنتز آن‌ها مهار می‌شود (Mukhopadhyay, 2014). با کاربرد سدیم هیدروسولفید به‌عنوان دهنده سولفید هیدروژن و سدیم نیتروپروساید به‌عنوان دهنده نیتریک‌اکسید (NO)، گیاه قادر است از طریق تنظیم مسیرهای آنتی‌اکسیدانی مانند فعالیت

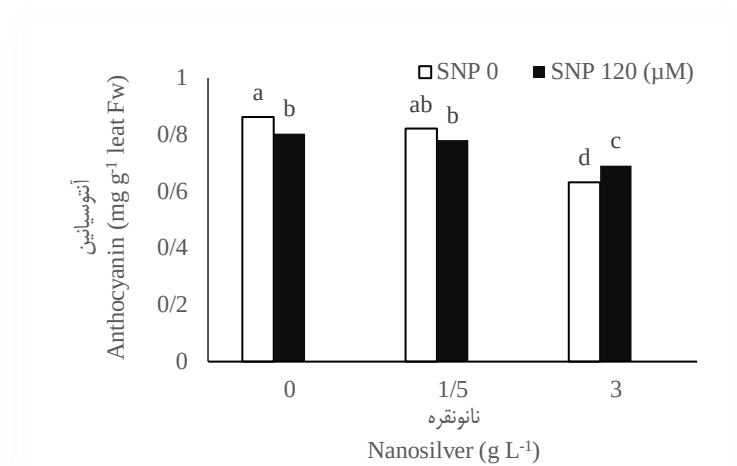


شکل ۷- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش نانوذرات نقره و سدیم هیدروسولفید بر آنتوسیانین برگ سویا

Figure 7- Comparison of the average effect of silver nanoparticles and sodium hydrosulfide on soybean leaf anthocyanin

وجود حرف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (LSD 0.05).

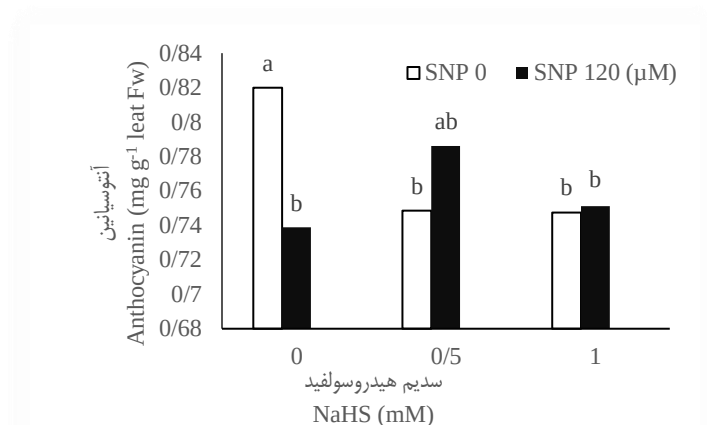
The presence of a common letter indicates no significant difference (LSD 0.05).



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش سطوح نانوذرات نقره و سدیم نیتروپروساید بر آنتوسیانین برگ سویا
Figure 8- Comparison of the average effect of silver nanoparticles and sodium nitroprusside levels on soybean leaf anthocyanin levels

وجود حرف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (LSD 0.05)

The presence of a common letter indicates no significant difference (LSD 0.05).



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر سطوح سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید بر میزان آنتوسیانین برگ سویا
Figure 9- Comparison of the average effect of sodium hydrosulfide and sodium nitroprusside levels on soybean leaf anthocyanin

وجود حرف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی‌دار (LSD 0.05).

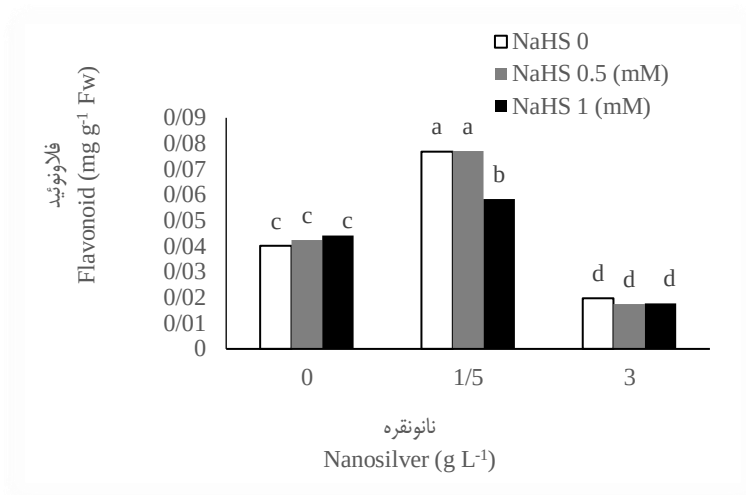
The presence of a common letter indicates no significant difference (LSD 0.05).

خود (۰/۰۵۶ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) رسید (شکل ۱۱). در غلظت بالای نانوذرات نقره (سه گرم بر لیتر)، کاهش شدید فلاونوئیدها نسبت به شاهد مشاهده شد. این افت شدید می‌تواند ناشی از افزایش بیش از حد ROS، اختلال در تعادل آنتی‌اکسیدانی سلول و آسیب به ساختارهای سلولی از جمله آنزیم‌های دخیل در بیوستز فلاونوئیدها باشد. در واقع، در غلظت‌های بالا، نانوذرات نقره به‌جای تحریک موجب تنش اکسیداتیو شدید و سرکوب سازوکارهای دفاعی

اثر برهم‌کنش سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید بر مقدار فلاونوئید برگ نیز نشان داد که مصرف و عدم مصرف سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سدیم هیدروسولفید اگرچه از لحاظ عددی با یکدیگر تفاوت داشتند، اما از لحاظ آماری هیچ تفاوت معنی‌داری بین این چهار ترکیب تیماری دیده نشد. میزان فلاونوئید در شاهد ۰/۳۵۱ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ بود و زمانی که گیاهان فقط با سدیم نیتروپروساید محلول‌پاشی شدند به حداکثر

افزایش می‌یابد. این ترکیبات نه تنها به عنوان آنتی اکسیدان‌های قوی، در حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارند، بلکه به پایداری غشاء، تنظیم رشد سلولی و حفاظت نوری نیز کمک می‌کنند (Del Río, 2015). بنابراین، افزایش فلاونوئید در پاسخ به سدیم نیتروپروساید می‌تواند نتیجه یک پاسخ دفاعی تنظیم شده توسط نیتریک اکسید باشد که به کاهش تنش اکسیداتیو و افزایش تحمل گیاه کمک می‌کند.

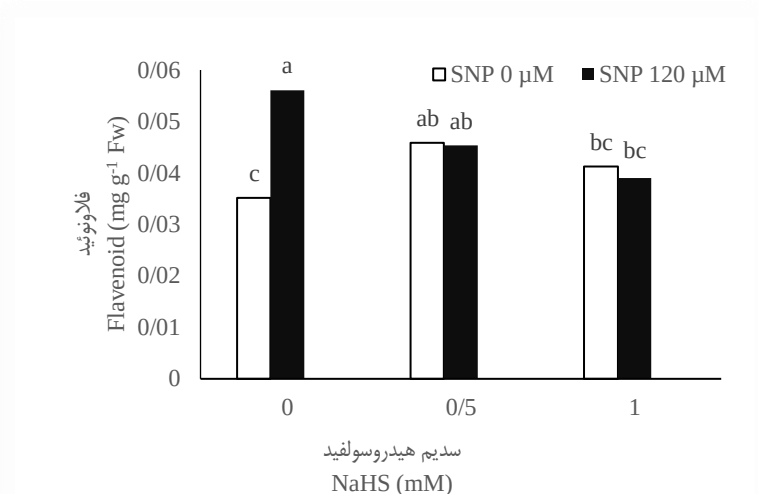
گیاه می‌شود (Vannini et al., 2014). نیتریک اکسید به عنوان یک مولکول پیام‌رسان ثانویه، مسیرهای سیگنال‌دهی متعددی را در سلول‌های گیاهی فعال می‌کند که از جمله آن‌ها فعال‌سازی آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز (PAL) است (Neill et al., 2008). افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در حضور NO باعث تحریک مسیر فنیل پروپانوئید می‌شود و تولید ترکیبات فنلی به ویژه فلاونوئیدها



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش نانوذرات نقره و سدیم هیدروسولفید بر فلاونوئید برگ سویا

Figure 10- Comparison of the average effect of silver nanoparticles and sodium hydrosulfide levels on soybean leaf flavonoid
وجود حرف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (LSD 0.05).

The presence of a common letter indicates no significant difference (LSD 0.05).



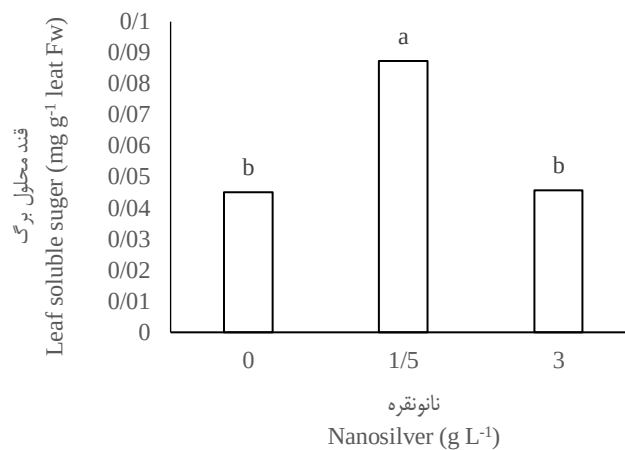
شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید بر فلاونوئید برگ سویا

Figure 11- Comparison of the average effect of sodium hydrosulfide and sodium nitroprusside on soybean leaf flavonoid
وجود حرف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (LSD 0.05).

The presence of a common letter indicates no significant difference (LSD 0.05).

قند محلول برگ

از بین منابع تغییر، تنها اثر نانوذرات نقره در سطح احتمال یک درصد بر صفت قند محلول برگ معنی‌دار شد (جدول ۴). بیشترین میزان قند محلول برگ در گیاهان محلول‌پاشی شده با ۱/۵ گرم در لیتر نانوذرات نقره (۰/۰۸۷ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) ثبت شد و تفاوت معنی‌داری بین شاهد و سه میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره دیده نشد (شکل ۱۲). نانوذرات نقره در غلظت‌های پایین ممکن است به‌عنوان یک عامل محرک ملایم عمل کنند و باعث فعال‌سازی مسیرهای دفاعی و متابولیسم ثانویه از جمله افزایش سنتز قندهای محلول شوند. قندهای محلول در این شرایط نقش کلیدی در تنظیم



شکل ۱۲- مقایسه میانگین اثر سطوح نانوذرات نقره بر فلاونوئید برگ سویا

Figure 12- Comparison of the average effect of silver nanoparticles levels on soybean leaf flavonoid

وجود حرف مشترک نشانه عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (LSD 0.05).

The presence of a common letter indicates no significant difference (LSD 0.05).

سطح کلروفیل‌ها، RWC و پایداری غشاء در مقایسه با تیمار نانونقره به‌تنهایی مشاهده گردید. همچنین عملکرد نهایی گیاه در حضور این مواد افزایش یافت و به سطح شاهد نزدیک شد یا حتی در برخی موارد از آن فراتر رفت. از نظر ترکیبات بیوشیمیایی، کاربرد نانونقره موجب افزایش معنی‌دار فلاونوئید، آنتوسیانین و قند محلول برگ شد که بیانگر فعال‌سازی مسیرهای دفاعی و تنظیم‌کننده تنش در گیاه است. اما تیمارهای ترکیبی با مواد بهبوددهنده موجب تعادل در تولید این متابولیت شدند که نشان‌دهنده کاهش تنش اکسیداتیو و برگشت نسبی به شرایط فیزیولوژیکی پایدار است.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه سویا تحت تیمار نانوذرات نقره به‌عنوان عامل تنش‌زا و دو ترکیب سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید به‌عنوان مواد بهبوددهنده نشان داد که نانونقره به‌تنهایی موجب کاهش معنی‌دار در میزان کلروفیل a و b، پایداری غشای پلاسمایی، محتوای نسبی آب برگ و ماده خشک اندام هوایی شد، که این امر می‌تواند ناشی از افزایش تنش اکسیداتیو و آسیب به ساختارهای سلولی باشد. در مقابل، کاربرد سدیم هیدروسولفید و سدیم نیتروپروساید (به‌ویژه در تیمارهای ترکیبی) سبب بهبود معنی‌دار در این صفات شد، به‌طوری که افزایش

References

1. Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research*, 7, 17-28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>.
2. Ali, B., Mwamba, T. M., Gill, R. A., Yang, C., Ali, S., Daud, M. K., Wu, Y., & Zhou, W. (2014). Improvement of element uptake and antioxidative defense in *Brassica napus* under lead stress by application of hydrogen sulfide. *Plant Growth Regul*, 74, 261-273. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9917-9>
3. Arasimowicz, M., & Floryszak, J. (2014). Nitric oxide in the offensive strategy of fungal and oomycete plant pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 5, 301. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00252>
4. Asadi Sanam, S., Zavareh, M., Pirdashti, H., & Hashempour, A. (2014). The effect of sodium nitroprusside (SNP) on some biochemical properties of barley seedlings in salinity. *Journal Plant Prod Research*, 21(3), 19-32. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23222050.1393.21.3.9.3>
5. Baker, S., Rakshith, D., Kavitha, K. S., Santosh, P., Kavitha, H. U., Rao, Y., & Satish, S. (2013). Plants: Emerging as nano factories towards Facimile route in synthesis of nanoparticles. *Bioimpacts*, 3, 111-117. <https://doi.org/10.5681/bi.2013.012>
6. Chamizo, A., Leticia, P., Llamas, F., Moreno, J., García, M., Javier, M., Ramos, A., Gutiérrez, R., & Enrique, J. (2017). Nitrate reductase regulates plant nitric oxide homeostasis. *Trends in Plant Science*, 22(2), 117-128. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.12.001>
7. Chen, J., Wang, W., Wu, F., You, C., Liu, T., Dong, X., He, J., & Zheng, H. (2013). Hydrogen sulfide alleviates aluminum toxicity in barley seedlings. *Plant and Soil*, 362, 301-318.
8. Dai, J., Wen, D., Li, H., Yang, J., Rao, X., Yang, Y., Yang, J., Yang, C., & Yu, J. (2024). Effect of hydrogen sulfide (H₂S) on the growth and development of tobacco seedlings in absence of stress. *BMC Plant Biology*, 24, 162. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-04819-w>
9. Del Río, L. A. (2015). ROS and RNS in plant physiology: An overview. *Journal of Experimental Botany*, 66(10), 2827-2837. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv099>.
10. Delledonne, M., Xia, Y., Dixon, R. A., & Lamb, C. (1998). Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394(6693), 585-588. <https://doi.org/10.1038/29087>.
11. Ding, H., Ma, D., Huang, X., Hou, J., Wang, C., Xie, Y., Wang, Y., Qin, H., & Guo, T. (2019). Exogenous hydrogen sulfide alleviates salt stress by improving antioxidant defenses and the salt overly sensitive pathway in wheat seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41(7), 1-11.
12. FAO. (2023). FAOSTAT Statistical Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
13. Gautam, H., Fatma, M., Sehar, Z., Mir, I. R., & Khan, N. A. (2022). Hydrogen sulfide, ethylene, and nitric oxide regulate redox homeostasis and protect photosynthetic metabolism under high temperature stress in rice plants. *Antioxidants*, 11(8), 1478. <https://doi.org/10.3390/antiox11081478>
14. Gorgini Shabankareh, H., & Khorasani Nejjad, S. (2018). Effects of sodium nitroprusside on physiological, biochemical and essence characteristics of savory (*Satureja khuzestanica*) under deficit water regimes. *Journal of Plant Production Research*, 24(3), 55-70. <https://doi.org/10.22069/jopp.2017.11747.2079>.
15. Havaux, M. (2014). Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. *The Plant Journal*, 79(4), 597-606. <https://doi.org/10.1111/tpj.12386>.
16. Hellubust, J. A., & Caraigie, J. S. (1978). Handbook of Physiological Methods: Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University Press.
17. Hiscox, J. D., & Israelstam, G. F. (1978). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*, 57, 1332-1334. <https://doi.org/10.1139/b79-163>
18. Koralewska, A., Stuiiver, C. E., Posthumus, F. S., Kopriva, S., Hawkesford, M. J., & De Kok, L. J. (2008). Regulation of sulfate uptake, expression of the sulfate transporters SULTR 1;1 and SULTR 1;2 and APS reductase in Chinese cabbage (*Brassica pekinensis*) as affected by atmospheric H₂S nutrition and sulfate deprivation. *Functional Plant Biology*, 35, 318-327. <https://doi.org/10.1071/FP07283>
19. Kramer, P. J. (1983). Water Relations of Plants. Academic Press.
20. Krizek, D. T., Britz, S. J., & Mirecki, R. M. (1998). Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiologia Plantarum*, 103, 1-7. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030101.x>
21. Kumari, A., Sheokand, S., & Kumari, S. (2010). Nitric oxide induced alleviation of toxic effects of short term and long term Cd stress on growth, oxidative metabolism and Cd accumulation in chickpea. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 22(4), 271-284. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202010000400004>.
22. Kumari, M., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2009). Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Science of the Total Environment*, 407(19), 5243-5246. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.06.024>.
23. Kushwaha, B. K., Srivastava, S., & Singh, N. (2020). Glutathione and hydrogen sulfide are required for sulfur-

- mediated mitigation of Cr (VI) toxicity in tomato, pea and brinjal seedlings. *Physiologia Plantarum*, 168(2), 301-319. <https://doi.org/10.1111/ppl.13024>
24. Li, L., Wang, Y., & Shen, W. (2012). Roles of hydrogen sulfide and nitric oxide in the alleviation of cadmium-induced oxidative damage in alfalfa seedling roots. *Biometals*, 25(3), 617-631. <https://doi.org/10.1007/s10534-012-9551-9>
 25. Li, Z. G., Gong, M., & Liu, P. (2012). Hydrogen sulfide is a signal molecule in plant responses to heat stress. *Plant, Cell & Environment*, 35(4), 714-721.
 26. Li, Q. Y., Niu, H. B., Yin, J., Wang, M. B., Shao, H. B., Deng, D. Z., Chen, X. X., Ren, J. P., & Li, Y. C. (2008). Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 65(2), 220-225. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.04.007>
 27. Miao, A. J., Schwehr, K. A., Xu, C., Zhang, S. J., Luo, Z., Quigg, A., & Santschi, P. H. (2009). The algal toxicity of silver engineered nanoparticles and detoxification by exopolymeric substances. *Environmental Pollution*, 157(11), 3034-3041. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.05.047>
 28. Mita, S., Murano, N., & Nakamura, K. (1997). Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that is inducible by sugars. *The Plant Journal*, 11(4), 841-851. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1997.11040841.x>
 29. Moazam Babasheikhali, M., Jabbarzadeh, Z., Amiri, J., Barin, B., & Razavi, M. (2021). Foliar application of sodium nitroprusside and salicylic acid alleviates the adverse effects of alkaline soil on roses. *European Journal of Horticultural Science*, 86, 78-87.
 30. Mostofa, M. G., Rahman, A., Ansary, M. M. U., Watanabe, A., Fujita, M., & Tran, L. S. P. (2015). Hydrogen sulfide modulates cadmium-induced physiological and biochemical responses to alleviate cadmium toxicity in rice. *Scientific Reports*, 5, Article 14078. <https://doi.org/10.1038/srep14078>
 31. Mukhopadhyay, S. S. (2014). Nanotechnology in agriculture: Prospects and constraints. *Nanotechnology, Science and Applications*, 7, 63-71. <https://doi.org/10.2147/NSA.S39409>
 32. Nair, P. G., & Chang, I. (2014). Assessment of silver nanoparticle-induced physiological and molecular changes in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(15), 8858-8869. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2822-y>
 33. Neill, S., Desikan, R., & Hancock, J. (2008). Nitric oxide signalling in plants. *New Phytologist*, 179(4), 873-887. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00804.x>
 34. Ocvirk, D., Špoljarević, M., Kristić, M., Hancock, J. T., Teklić, T., & Lisjak, M. (2021). The effects of seed priming with sodium hydrosulphide on drought tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in germination and early growth. *Annals of Applied Biology*, 178(3), 400-413. <https://doi.org/10.1111/aab.12658>
 35. Omid, F., & Sepehri, A. (2015). Effects of sodium nitroprusside application on leaf area, growth, and water use efficiency of red bean cultivars under drought stress. *Journal of Agricultural Crop Improvement*, 16(4), 871-885.
 36. Rafaati Alashti, M., Baradaran Firoozabadi, M., Dehestani, A., Gholami, A., & Parsaeian, M. (2021). Morphological and physiological responses of green bean to foliar application of citric acid and hydrogen sulfide under silver nanoparticle stress. *Journal of Plant Processes and Functions*, 10(12), 283-300. (In Persian). <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23222727.1400.10.44.22.8>
 37. Rai, R., Tripathi, S., Rai, S. K., & Srivastava, R. (2020). Biochemical changes in sunflower plant exposed to silver nanoparticles / silver ions. *Journal of Food Science & Technology*, 4(2), 629-644.
 38. Raliya, R., Nair, R., Chavalmane, S., Wang, W. N., & Biswas, P. (2015). Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plant. *Metallomics*, 7(12), 1584-1594. <https://doi.org/10.1039/c5mt00168d>
 39. Rico, C. M., Majumdar, S., Duarte-Gardea, M., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2011). Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3485-3498. <https://doi.org/10.1021/jf104517j>
 40. Sairam, R. K., & Srivastava, G. C. (2001). Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.): Variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 186(1), 63-70. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037x.2001.00461.x>
 41. Song, V., Jun, H., Waldman, B., Roh, J., Kim, Y., Yi, J., & Lee, E. J. (2013). Functional analysis of nanoparticle toxicity: A comparative study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 93, 60-67. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.03.033>
 42. Tabatabaei Pazouh, Z., Razavizadeh, R., & Rostami, F. (2013). The effect of silver nanoparticles on chlorophyll and carotenoid pigments in canola (*Brassica napus*) under *in vitro* culture conditions. Proceedings of the 2nd National Conference on Nanotechnology: From Theory to Application. (In Persian).
 43. Tripathi, D., Swati, S., Shweta, S., Prabhat, K., Vijay, P., & Samiksha, S. (2017). Nitric oxide alleviates silver nanoparticles (AgNPs)-induced phytotoxicity in *Pisum sativum* seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 167-177. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.015>
 44. USDA. (2024). World Agricultural Production. United States Department of Agriculture.

45. Vannini, C., Domingo, G., Marsoni, M., & Bracale, M. (2014). Phytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles exposure on germinating wheat seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 171(12), 1142-1148. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.05.002>
46. Venkatesan, J., Kim, S. K., & Shim, M. S. (2016). Antimicrobial, antioxidant, and anticancer activities of biosynthesized silver nanoparticles using marine algae *Ecklonia cava*. *Nanomaterials*, 6(11), 235. <https://doi.org/10.3390/nano6120235>
47. Yan, A., & Chen, Z. (2019). Impairment of photosynthesis by engineered nanoparticles. *Plant Physiology*, 181(3), 1220-1233.
48. Yazdi, Z., & Mirzaei, N. (2021). Effect of foliar application of sodium nitroprusside on some morphological, physiological, and biochemical traits of marigold (*Calendula officinalis*) under different irrigation regimes. *Plant Production Technology*, 21(1), 1-17. (In Persian).
49. Yin, L., Cheng, Y., Espinasse, B., Colman, B. P., Auffan, M., Wiesner, M., Rose, J., Liu, J., & Bernhardt, E. S. (2012). More than the ions: The effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. *Environmental Science & Technology*, 45(6), 2360-2367. <https://doi.org/10.1021/es103995x>
50. Yugal, K., Mohanta, S., Sujogya, K. P., Rasu, J., Nanaocha, S., Akshaya, K. B., & Tapan, K. M. (2017). Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activity of silver nanoparticles synthesized by leaf extract of *Erythrina suberosa* (Roxb.). *Frontiers in Molecular Biosciences*, 32(3), 136-141. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2017.00014>
51. Zangeneh, R., Jamei, R., Hoseini Sarghin, S., & Kargozar Khorrami, S. (2018). Effect of seed pre-treatment with sodium hydrosulfide on some physiological and anatomical traits of maize (*Zea mays*) under lead stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 10(36), 19-34. (In Persian). <https://doi.org/10.22108/ijpb.2018.107473.1060>
52. Zhang, H., Hu, L. Y., Hu, K. D., He, D. Y., Wang, S. H., & Luo, J. P. (2008). Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination and alleviates oxidative damage against copper stress. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(12), 1518-1529. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00769.x>
53. Zhang, X., Qi, S., Liu, S., Mu, H., & Jiang, Y. (2024). Exogenous sodium nitroprusside alleviates drought stress in *Lagenaria siceraria*. *Plants*, 13(14), 1972. <https://doi.org/10.3390/plants13141972>
54. Zhao, R., Yin, K., & Chen, S. (2021). Hydrogen sulphide signalling in plant response to abiotic stress. *Plant Biology*, 24(4), 523-531. <https://doi.org/10.1111/plb.13367>