

تأثیر نانوذرات نقره بر کیفیت رویش جوانه‌زنی بذر درخت کاج جنگلی (*Pinus sylvestris*) در خاک و آب

- ❖ مریم قدیری خرزوقی: دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، گروه خاک‌شناسی، کرج، ایران
- ❖ ویلما بایرام‌زاده*: استادیار، عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، گروه صنایع چوب، کرج، ایران
- ❖ محمدحسین داودی: استادیار، عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات آب و خاک، گروه خاک‌شناسی، کرج، ایران

چکیده

هدف این تحقیق بررسی تأثیر نانوذره نقره بر درصد و سرعت جوانه‌زنی و نیز پتانسیل غشای سلولی بذر کاج جنگلی^۱ است. به همین منظور، بذور مذکور با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در محیط خاکی، و با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در محیط آبی، تیمار شدند. بنابر نتیجه این تحقیق، در محیط خاکی آثار بازدارندگی نانوذره نقره برای درصد و سرعت جوانه‌زنی در غلظت ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک شروع شد و پتانسیل غشای سلولی از غلظت مذکور افزایش نشان داد. در محیط آبی درصد جوانه‌زنی و نیز سرعت جوانه‌زنی از غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کاهش و پتانسیل غشای سلولی افزایش یافت. با مقایسه نتایج در محیط‌های آبی و خاکی مشاهده شد که آثار بازدارندگی نانوذرات نقره در محیط آبی (در مقایسه با محیط خاکی) می‌تواند از غلظت‌های بسیار پایین شروع شود. این نتیجه می‌تواند به دلیل وجود عواملی چون ذرات کلوئیدی مانند رس و مواد آلی در خاک باشد که باعث هم‌آوری شدن این ذرات شده است. به‌طور کلی، به‌نظر می‌رسد در محیط‌های آبی مسمومیت سریع‌تر و شدیدتر از محیط خاکی اتفاق می‌افتد که البته تحقیقات بعدی برای اثبات این فرضیه لازم است.

واژگان کلیدی: بذر کاج جنگلی، جوانه‌زنی، محیط آبی، محیط خاکی، نانوذره نقره.

مقدمه

نانوذرات از ده‌ها یا صدها اتم یا ملکول با اندازه‌های متفاوت بین ۱-۱۰۰ نانومتر [۱] و با شکل ظاهری مختلف (آمورف، کریستالی، کروی، و سوزنی) ساخته می‌شوند و از زمان‌های بسیار دور به‌کار می‌رفته‌اند. اما امروزه، شناخت و آگاهی در مورد این ذرات سبب شده از مواد مذکور در زمینه‌های بسیار متنوعی مثل الکترونیک، پزشکی، داروسازی، و محیط زیست استفاده شود [۲]. از خصوصیات ویژه این ذرات می‌توان به ریزبودن، سطح ویژه زیاد، اکسیدشدن بعد از تجزیه، رهاسازی، و تبدیل شدن به صور دیگر اشاره کرد [۳]. استفاده وسیع از مواد حاوی نانو، پژوهش‌گران را به مطالعه و تحقیق در مورد شناخت مسمومیت ناشی از این مواد، تشویق کرد.

در پژوهش‌های انجام‌شده مسمومیت توسط چندین نوع از نانوذرات در گونه‌های آب‌زیست، بی‌مهرگان، میکروارگانیسم‌های خاک، و نیز گیاهان و پستانداران گزارش شده است [۴-۱۱]. استمپولیس و همکارانش در سال ۲۰۰۹ در تحقیقی نشان دادند که ذرات نانونقره باعث کاهش توده زیستی و تعرق گیاه مورد مطالعه در مقایسه با تیمار شاهد شده است [۱۲]. کوماری و همکارانش در سال ۲۰۰۹ [۱۳]، بین وهمکارانش در سال ۲۰۱۱ [۱۴]، و اوم و همکارانش در سال ۲۰۱۲ [۱۵] نتایج مشابهی را از بازدارندگی ذرات نانونقره به ترتیب بر روی پیاز خوراکی، چمن، و لوبیا^۳ گزارش کردند. با توجه به بررسی‌های انجام‌شده، این‌طور برمی‌آید که کمتر به اثر مسمومیت‌زایی ذرات نانونقره بر روی درختان جنگلی توجه شده است. بنابراین، با توجه به نیاز

روزافزون بشر به چوب و تولیدات چوبی و نیز نیاز به محیط زیست سالم - که وجود درخت یکی از ملزومات آن است - و نیز کاربرد فراوان نانوذره نقره در صنعت، هدف اصلی این تحقیق، بررسی اثر مسمومیت حاصل از ذرات نانونقره بر روی درخت کاج^۴ است که برای جنگل‌کاری به‌کار می‌رود. به‌همین منظور، تأثیر ذرات نانو بر کیفیت شاخص‌های رویشی در محیط خاکی و آبی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی تأثیر نانوذره نقره بر روی کیفیت جوانه‌زنی بذر کاج، در آبان سال ۱۳۹۰، آزمایش‌های لازم در آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام پذیرفت که به شرح زیر است:

ساخت ذرات نانو: ذرات نانونقره (شکل ۱) در مؤسسه تحقیقات آب و خاک به‌روش بورهیدرات (با قطری معادل ۱۰۰ نانومتر) ساخته شدند [۱۶].

آماده‌سازی بذر: بذر موردنظر به مدت سه هفته در یخچال نگهداری شد تا زمان لازم برای سرمادهی بذر طی شود. بعد از سه هفته، بذرها سه مرتبه با آب مقطر شسته و به مدت بیست دقیقه با ویتاواکس یک در هزار ضدعفونی شدند [۱۷].

آماده‌سازی خاک و کاشت در محیط خاکی:

ابتدا خصوصیات خاک تهیه‌شده به شرح زیر بررسی شد:

اسیدیته در گل اشباع تهیه‌شده از خاک موردنظر به کمک دستگاه pH متر، و هدایت الکتریکی در عصاره اشباع به کمک دستگاه هدایت سنج الکتریکی [۱۸]، بافت به روش هیدرومتری [۱۹]، و مواد آلی به

1. Allium cep
2. Lolium multiflorum
3. Phaseolus rabiatu

جوانه‌زنی است که با استفاده از فرمول الیس و رابرتز محاسبه می‌شود [۲۱].

معادله میانگین مدت جوانه‌زنی (برحسب روز بر

$$\bar{D} = \frac{\sum Dn}{Dn}$$

تعداد بذر جوانه‌زده):

در این فرمول، D تعداد روزها پس از شروع آزمون جوانه‌زنی، n تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز D ، و \bar{D} میانگین مدت جوانه‌زنی است.

معادله میانگین سرعت جوانه‌زنی (تعداد بذر

$$\bar{R} = \frac{1}{D}$$

جوانه‌زده بر روز):

شایان ذکر است سرعت جوانه‌زنی عکس معادله

مدت جوانه‌زنی، و در معادله بالا \bar{D} میانگین مدت جوانه‌زنی است.

۳. نشت الکترولیت (پایداری غشای سلولی):

برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت، برگ میانی هر گیاهچه به داخل لوله آزمایشی، که حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول مانیتول با پتانسیل اسمز ۲- بار است، منتقل شد و بعد از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی، هر لوله به وسیله دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد [۲۲]. بعد از ۱۵ روز، گیاهان به‌منظور اندازه‌گیری صفات زیر (جدول ۱) از هر دو محیط آبی و خاکی برداشت شدند.

روش والکی بلاک [۲۰] تعیین شد (جدول ۱). بذرهای در ظرف‌های حاوی ۵۰ گرم از خاک موردنظر کاشته شد. بسترهای حاوی بذر و خاک به مدت ۱۵ روز در اتاقک جوانه‌زنی قرار داده شدند. در حین آزمایش، ظرفیت نگه‌داری رطوبت خاک (FC) و دما (۲۲ درجه سانتی‌گراد) ثابت نگه داشته شد تا فقط اثر مستقیم ذرات نانونقره بر خصوصیات جوانه‌زنی بررسی شود. در نهایت، ذرات نانونقره در غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کاملاً با خاک موجود مخلوط شدند.

سبز کردن بذر در محیط آبی: بذرهای مزبور بر

روی کاغذ صافی مرطوب قرار داده شد و با آب حاوی ذرات نانونقره با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۱۰، ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آبیاری شد و بعد از اتمام کار بذرها، که در میان کاغذ صافی قرار داده شده بودند، برای مدت ۱۵ روز به اتاقک رشد منتقل شد.

صفات مورد مطالعه

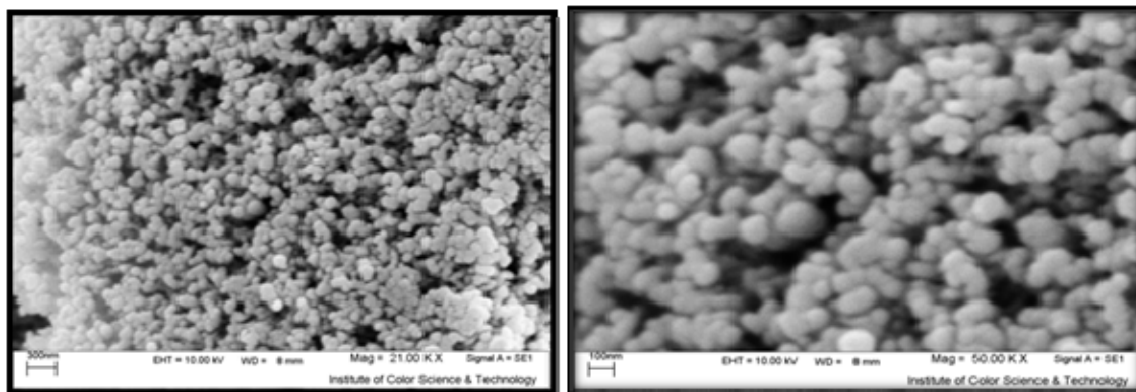
صفات مورد مطالعه در هر دو محیط (آبی و خاکی) عبارت‌اند از:

۱. درصد جوانه‌زنی: فراوانی بذرهای جوانه‌زده محاسبه شد.

۲. سرعت جوانه‌زنی^۱ عکس میانگین مدت زمان

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

بافت خاک	Silt %	Sand %	Clay %	FC %	EC (µs/cm)	pH	درصد ماده آلی
Silty clay	۴۱	۱۲	۴۷	۲۹/۹	۰/۸	۵	۰/۱



شکل ۱. تصویر ذرات نانوقره با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ نانومتر (سمت راست) و با بزرگ‌نمایی ۳۰۰ نانومتر (سمت چپ)

بررسی و تحلیل آماری

این آزمایش در غالب طرح کاملاً تصادفی و با در نظر گرفتن ۵ تکرار برای هر تیمار انجام شد. مقایسه آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری Statgraphics plus 2. 1 انجام گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها به سبب کم بودن تعداد تیمارها در محیط آبی، از آزمون Fisher (LSD)، و از آزمون (HSD) Tukey's در محیط خاکی با سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی بذر کاج جنگلی در محیط خاکی

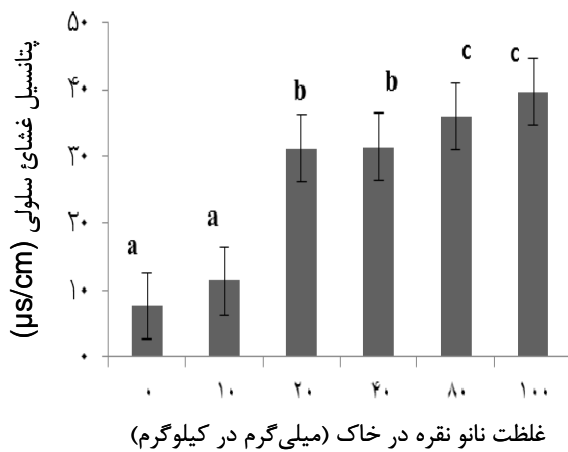
شکل ۲ درصد جوانه‌زنی بذور درخت کاج جنگلی را، که در خاک با غلظت‌های متفاوت نانو کاشته شده است، نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، درصد جوانه‌زنی با افزایش غلظت نانو ذره در خاک کاهش نشان می‌دهد. شروع کاهش درصد جوانه‌زنی به‌طور معنی‌دار از غلظت ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک است. مطالعه مغایری نشان داده است که نانو ذره نقره اثر بازدارندگی بر جوانه‌زنی کتان، جو، و علف چمن در محیط خاکی تا غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نداشته است [۴]. از میان بررسی‌های مشابه، که با نتایج ما همسو بودند، می‌توان به بررسی تأثیر نانو ذره نقره بر گیاهان

سورگوم و نخودفرنگی اشاره کرد که اوم و همکارانش در سال ۲۰۱۲ انجام دادند [۱۵]. نتایج این تحقیق نشان داد که تا غلظت ۱۰۰ پی پی ام، نانو ذره نقره تأثیر معنی‌داری بر روی سورگوم نداشته ولی از غلظت ۱۰۰ کاهش رشد در نخودفرنگی مشاهده شد. کوماری و همکارانش (۲۰۰۹) نیز اثبات کردند که رشد ریشه‌های پیاز در غلظت ۲۵ پی پی ام شروع به کاهش کرد که علت صدمه به نوکلئوپروتئین‌ها در کروموزوم هسته سلولی گزارش شد [۱۳]. دلایل مغایرت میان نتایج به دست آمده از مطالعات می‌تواند ناشی از نوع گونه، نوع محیط کشت آزمایشی، مدت‌زمانی که گونه گیاهی انتخاب شده تحت تنش قرار گرفته است، و نیز سن گیاه باشد [۲۳].

سرعت جوانه‌زنی بذر کاج جنگلی در محیط خاکی

شکل ۳ سرعت جوانه‌زنی بذور درخت کاج جنگلی را، که در خاک حاوی غلظت‌های متفاوت از نانو ذره نقره کاشته شده، نشان می‌دهد. همان‌طور که دیده می‌شود، سرعت جوانه‌زنی به‌طور معنی‌دار از غلظت ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک کاهش یافته و کمترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۰۲۴) مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک است. طبق مطالعات انجام شده، سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر عوامل محیطی متفاوتی از جمله وجود عناصر آلاینده در محیط است. این عوامل مانع فعالیت بعضی از

میزان پتانسیل غشای سلولی ($39/6 \mu\text{s/cm}$) مربوط به غلظت 100 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک است. در واقع، گیاهان تحت تنش در مقایسه با گیاهانی که در شرایط معمولی رشد می‌کنند از EC بالاتری برخوردارند و این بالاتر بودن EC نشان‌دهنده پایین بودن پایداری غشای سیتوپلاسمی است [۲۲]. ذرات نانونقره می‌توانند به داخل سیتوپلاسم و غشای سلولی در ریشه و ساقه نفوذ کنند و باعث ایجاد تغییراتی در پروتئین‌های غشای سلولی شوند [۲۴].

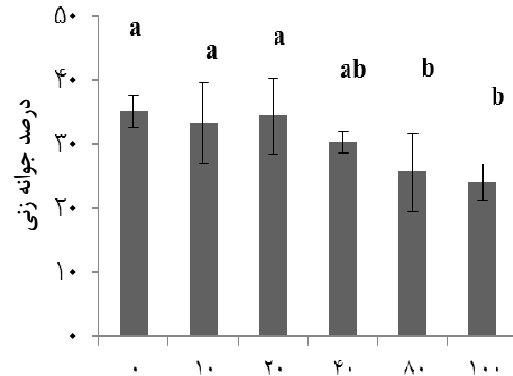


شکل ۴. تأثیر ذرات نانونقره بر پتانسیل غشای سلولی بذر درخت کاج جنگلی در محیط خاکی (حروف نامشابه a, b نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌هاست ($P < 0.05$)).

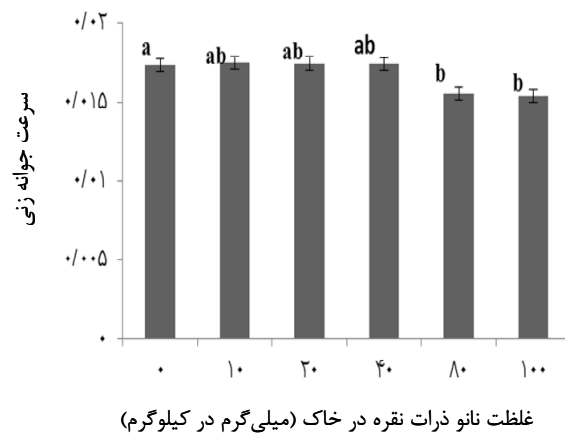
درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذر کاج جنگلی در محیط آبی

شکل‌های ۵ و ۶ درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذر درخت کاج جنگلی را، که با آب حاوی غلظت‌های متفاوت نانوذرة نقره آبیاری شده است، نشان می‌دهند. همان‌طور که در شکل دیده می‌شود، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی با افزایش غلظت نانوذره در آب کاهش یافته است. در محیط آبی شروع کاهش درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی از غلظت پایین، یعنی از غلظت 10 میلی‌گرم در لیتر، مشاهده شد. به‌طوری‌که کمترین

آنزیم‌های مؤثر در جوانه‌زنی بذرهای می‌شوند و در نتیجه سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی را کاهش می‌دهند [۱۷].



شکل ۲. تأثیر ذرات نانونقره بر درصد جوانه‌زنی بذر درخت کاج جنگلی در محیط خاکی (حروف نامشابه a, b نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌هاست ($P < 0.05$)).



شکل ۳. تأثیر ذرات نانونقره بر سرعت جوانه‌زنی بذر کاج جنگلی در محیط خاکی (حروف نامشابه a, b نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌هاست ($P < 0.05$)).

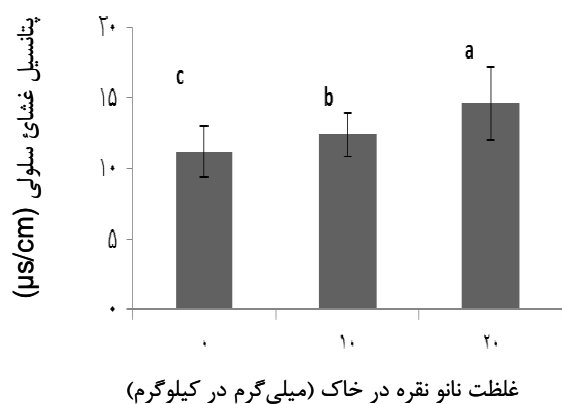
نشت الکترولیت کاج جنگلی در محیط خاکی

شکل ۴ پایداری غشای سیتوپلاسمی بذر کاج جنگلی را، که در خاک حاوی غلظت‌های متفاوت نانو کاشته شده است، نشان می‌دهد. همان‌طور که دیده می‌شود، پتانسیل غشای اسمزی با افزایش غلظت نانو در خاک افزایش یافته است. پتانسیل غشای سلولی از همان غلظت‌های پایین (20 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) شروع به افزایش کرده و بیشترین

۲۰۱۱ انجام دادند [۱۴]. آن‌ها گزارش کردند که از غلظت ۴۰ پی پی ام، ذرات نانوقره یک عامل بازدارنده بر جوانه‌زنی بذر چمن است که باعث خراب شدن سلول‌های پوست و از بین رفتن اپی‌درم و کلاهک ریشه می‌شود. با توجه به مطالعات انجام‌شده، مشخص شد که اثر بازدارندگی در محیط آبی می‌تواند در غلظت‌های پایین مشاهده شود.

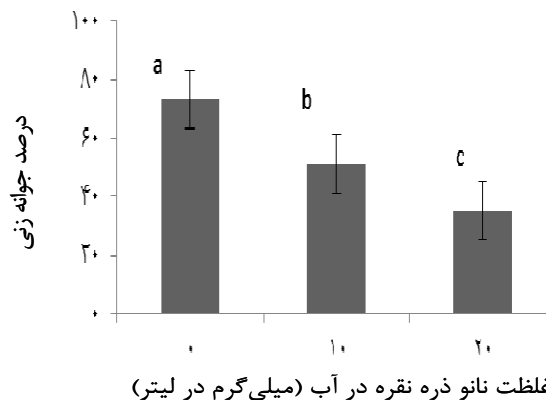
نشت الکترولیت بذر درخت کاج جنگلی در محیط آبی

شکل ۷ پایداری غشای سیتوپلاسمی بذر درخت کاج جنگلی را، که با آب حاوی غلظت‌های متفاوت نانو آبیاری شده است، نشان می‌دهد. همان‌طور که دیده می‌شود، پتانسیل غشای اسمزی با افزایش غلظت نانو در آب افزایش یافته است. پتانسیل غشای سلولی از همان غلظت‌های پایین (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) شروع به افزایش کرده و بیشترین میزان پتانسیل غشای سلولی (۱۴/۶ $\mu\text{s/cm}$) مربوط به غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر است. ذرات نانوقره هنگامی که در محیط تجزیه می‌شوند سریع اکسید می‌شوند و تولید یون نقره (Ag^+) می‌کنند که بیشترین اثر مسموم‌کنندگی ذرات نانوقره مربوط به تولید Ag^+ در محیط زیست است [۳، ۹].

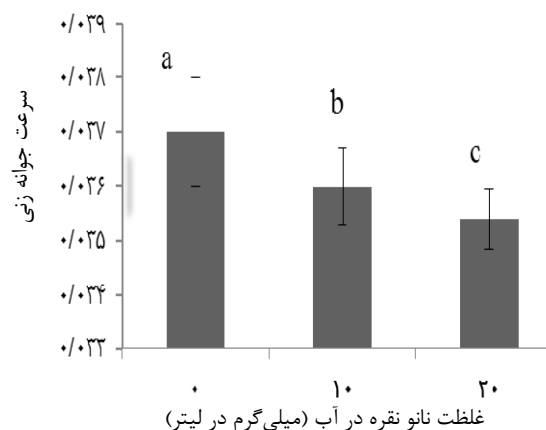


شکل ۷. تأثیر ذرات نانوقره بر پتانسیل غشای سلولی بذر درخت کاج جنگلی در محیط آبی (حروف نامشابه a, b, c نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌هاست ($P < 0.05$)).

درصد جوانه‌زنی (۳۵/۲ درصد) مربوط به غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آب، و کمترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۰۳۵) نیز مربوط به غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آب است. در مطالعه مشابه دیده شد که نانوذره نقره در غلظت پایین (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث کاهش جوانه‌زنی کتان، جو، و علف چمن شده است [۴].



شکل ۵. تأثیر ذرات نانوقره بر درصد جوانه‌زنی بذر درخت کاج جنگلی در محیط آبی (حروف نامشابه a, b, c نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌هاست ($P < 0.05$)).



شکل ۶. تأثیر ذرات نانوقره بر سرعت جوانه‌زنی بذر کاج جنگلی در محیط آبی (حروف نامشابه a, b, c نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌هاست ($P < 0.05$)).

همچنین، اوم و همکارانش در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند ذرات نانوقره آثار بازدارنده‌ای بر رشد بذرهای سورگوم و نخودفرنگی دارد [۱۵]. این آثار منفی در غلظت ۴۰ پی پی ام از ذرات نانوقره گزارش شده است. مطالعه دیگر، بررسی آثار نانوقره بر بذر نوعی چمن بود که بین و همکارانش در سال

منفی حتی در غلظت‌های پایین بر روی کیفیت جوانه‌زنی بذر کاج جنگلی در دو محیط خاکی و آبی شده‌اند. در محیط آبی مسمومیت سریع‌تر و شدیدتر از محیط خاکی است و دلیل آن این است که قابلیت تحرک زیستی^۱ ذرات نانونقره در خاک، تحت تأثیر عواملی از قبیل جذب سطحی به‌وسیله ذرات خاک، به‌ویژه ذرات رس و مواد آلی و نیز عامل pH و شوری، کم می‌شود. با استناد به نتایج به‌دست‌آمده، توصیه می‌شود مطالعات بیشتری در زمینه نانوتوکسیکولوژی یا خصوصیات سم‌شناسی نانوذرات نقره به‌دلیل کاربرد زیاد این ذرات در تولیدات صنعتی انجام گیرد و با احتیاط بیشتری از ذرات مذکور استفاده شود.

در واقع، این ذرات از بافت‌های موجودات زنده (میکروارگانیسم‌ها، جانوران، و گیاهان) عبور می‌کنند و می‌توانند پیوندهای بیولوژیکی با پروتئین‌ها و آنزیم‌ها ایجاد کنند و موجب ایجاد تغییراتی در آن‌ها شوند [۲۳].

نتیجه‌گیری

غلظت نانوذره نقره، از طریق پساب‌های صنعتی در محیط‌های خاکی و آبی به‌دلیل استفاده زیاد این ذرات، در حال افزایش است. مرور منابع بیانگر این است که ذرات مذکور آثار بازدارنده‌ای بر موجودات زنده، به‌خصوص گیاهان، داشته است. مطالعه تأثیر این ذرات بر روی صفات رویشی بذر درخت کاج جنگلی نشان داد که نانوذرات نقره باعث ایجاد آثار

References

- [1]. Yin, L., Cheng, Y., Espinasse, B., P. Colman, B., and Auffan, M. 2011. The effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. Environmental Science & Technology. 45(6). 2360-2367.
- [2]. Guzman, K. A. D., Taylor, M. R., and Banfield, J. F. (2006). Environmental risks of Nanotechnology. National nanotechnology initiative funding. Environmental Science & Technology, 40:1401-1407.
- [3]. Nel, A., Xia, T., Madler, L., and Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nano level. Science, 311: 622-627.
- [4]. El-Temsah, Y. S., and J. Joner, E. (2010). Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil. Environmental Toxicology, 27:42-49.
- [5]. Hong, F. H., Zhou, J., Liu, C., Yang, F., Wu, C., Zheng, L., and Yang, P. (2005). Effect of nano-TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. Biological Trace Element Research, 105:269-279.
- [6]. Klaine, S. J., Alvarez, P. J. J., Batley, G. E., Fernandes, T. F., Handy, R. D., Lyon, D. Y., Mahendra, S., McLaughlin, M. J., and Lead, J. R. (2008). Nanomaterials in the environment: Behaviour, fate, bioavailability and effects. Environmental Toxicology & Chemistry, 27:1825-1851.
- [7]. Liyan, Y., Yingwen, Ch., Benjamin, B., Benjamin, P. C., and Melanie, A. (2011). The effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. Environmental Science & Technology, 45:2360-2367.
- [8]. Lok, C. N., Ho, C. M., Chen, R., He, Q. Y., Yu, W. Y., Sun, H. Z., Tam, P. K. H., Chiu, J. F., and Che C. M. (2006). Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. Journal of Proteome Research, 5: 916-924.
- [9]. Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L., and Behra, R. (2008). Toxicity of silver nanoparticles to *chlamydomonas reinhardtii*, Environmental science & Technology, 42:8959-8964.
- [10]. Nowack, B., and Bucheli, T. D. (2007). Occurrence, behaviour and effect of nanoparticles in the environment. Environmental Pollution, 150:5-22.
- [11]. Seif- Sahand, M., Sorooshzadeh, A., H. Rezazadeh, S., and Naghdibadi, H. A. (2010). Effect of nano silver and silver nitrate on seed yield of borage. Medicinal Plants Research, 5:171-175.
- [12]. Stampoulis, D., Sinha, SK., and White, JC. 2009. Assay dependent phytotoxicity of nanoparticles to plant. Environmental Science & Technology, 43: 9473-9479.
- [13]. Kumari, M., Mukherjee, A., and Ghandrasekaran, N. (2009). Genotoxicity of silver nanoparticle in *Allium cepa*. US National Library of Medicine, National Institutes of Health, 7:435-442.
- [14]. Yin, L., Cheng, Y., Espinasse, B., P. Colman, B., and Auffan, M. 2011. The effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. Environmental Science & Technology, 45(6). 2360-2367.
- [15]. Wm, L., Jinll, K., and Youn-Joo, A. (2012). Effect of silver Nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiates* and sorghum bicolor: Media effect on phytotoxicity. Chemosphere, 86: 491-499.
- [16]. Oughton, D. H., Hertel-Aas, T., Pellicer, E., Mondoza, E., and Joner, E. J. (2008). Neutron activation of engineered nanoparticles as a tool for tracing their environmental fate and uptake in organisms. Environmental Toxicology & Chemistry, 27: 1883-1887.
- [17]. Osareh, M. H., and Shareat., A. (1387). Salinity resistance in germination stage and

- growth stage in some *Eucalyptus* species. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 15: 47-61.
- [18]. Richards, L. A. (1954). Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. U. S. D. A Handbook 60.
- [19]. Gee, G. W., and Bauder, J. W. (1986). Particle size analysis. In: A Klute (ed). *Methods of soil Analysis, Part 1. Agronomy*, 9: 383-411.
- [20]. Welkley, A., and Black, I. E. (1934). An examination of the Degtjareff method for three determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37: 29-38.
- [21]. Ellis, R. H., hory, T. P., and Roberts, E. H. (1980). Towards a rational basis for testing seed quality. In Hebblethwaite. P. D. (ed). *Seed Production. Butter wortheLanden*, pp. 605-635.
- [22]. Shezhi, M., Sagedi, N., and Jiereani, M. (1388). Effects of water deficit on agrophysiological traits hybrids of Maiza. *Scientific Information Database*, 3: 275-286.
- [23]. Samuel, N. L. (2008). Silver Nanotchnologies and the Environment. *Project on Emerging Nanotechnologies*, 15: 10-57.
- [24]. Bliss, R. D., Platt-Aloia, K. A., and Thomas, W. W. (1984). Effects of salts on cell membranes of germinating seeds. *California Agriculture*, 34: 24-25.