

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات نانو و میکرو کلات آهن بر کاهش آسیب‌های تنش شوری در مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis*)

بیژن شادکام^۱، محمد حسین قرینه^۲، امین لطفی جلال آبادی^۳، سید امیر موسوی^۴

چکیده مبسوط

مقدمه: تنش شوری یکی از عوامل مهم خسارت‌زا در مراحل جوانه‌زنی بذر گیاهان است که با کاهش پتانسیل آب خاک و ایجاد سمیت یونی ناشی از تجمع نمک در بذرها در جذب برخی عناصر اختلال ایجاد می‌کند. از آنجایی که بذر زوفا در مراحل اولیه جوانه‌زنی به تنش شوری حساس می‌باشد، بررسی روش‌هایی که سبب بهبود شرایط جوانه‌زنی این گونه شوند بسیار ضروری به نظر می‌رسد. در تحقیق انجام شده به بررسی تأثیر روش پیش‌ تیمار با عنصر آهن بر ویژگی‌ها و بهبود جوانه‌زنی بذر گیاه زوفا در شرایط تنش شوری پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت دو آزمایش مجزا و فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل پنج سطح نانو کلات و میکرو کلات آهن (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و شش سطح شوری شامل (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار) و همچنین دو زمان پرایم شامل ۱۲ و ۲۴ ساعت بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد با افزایش تنش شوری خصوصیات جوانه‌زنی کاهش یافت به طوری که در تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار رشد گیاهچه و بنیه بذر و در تنش شوری ۲۵۰ میلی‌مولار جوانه‌زنی کاملاً متوقف شد. کاربرد میکرو کلات آهن در شرایط بدون تنش تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی زوفا نداشت و کاربرد پیش‌ تیمار آبی به مدت ۱۲ ساعت بهتر از نانو کلات آهن عمل کرد و در تیمار آهن میکرو تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف مشاهده نشد. کاربرد نانو و میکرو کلات در تنش‌های شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار تأثیرات خود را بهتر نشان داد به طوری که غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کلات آهن به مدت ۱۲ ساعت و غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر میکرو کلات آهن در مدت زمان ۲۴ ساعت بالاترین جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و بنیه بذر را داشت. میزان پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در شوری ۵۰ میلی‌مولار افزایش، ولی در شوری بالاتر از آن کاهش یافت که پیش‌ تیمار بذر در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر میکرو کلات آهن و نانو کلات آهن موجب شدت بخشیدن به این روند شد. نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که جوانه‌زنی گیاه زوفا در اثر تنش شوری به شدت کاهش پیدا کرد؛ به طوری که در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار گیاهچه این گیاه قادر به رشد و استقرار نبوده و در شوری ۲۵۰ میلی‌مولار نیز جوانه‌زنی در این گیاه صورت نمی‌گیرد. همچنین پیش‌ تیمار بذر این گیاه در شرایط عدم تنش و تنش‌های ملایم نیز توجیه‌پذیر نبوده و پیش‌ تیمار با میکرو کلات آهن دارای تأثیرات منفی و در بهترین حالت بی‌تأثیر بود، اما در سطوح شوری بالا استفاده از کلات آهن به خصوص در مقیاس نانو با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت بر کاهش اثر شوری مؤثر است. واژه‌های کلیدی: آهن، پیش‌ تیمار بذر، درصد جوانه‌زنی، زوفا، گیاه دارویی، جنبه‌های نوآوری:

۱. نقش عنصر آهن با روش پیش‌ تیمار بذر جهت کاهش اثرات تنش شوری بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر زوفا بررسی شد.
۲. فناوری نانو به کار رفته در ساخت کود آهن و تأثیر آن در بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری زوفا بررسی شد.

<http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1402.10.1.8.6>

DOI: 10.61186/yujs.10.1.125



CrossMark

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
^۲ استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
^۳ دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
^۴ استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

* رایانامه نویسنده مسئول: aminlotfi@asnruk.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۷)

مقدمه

ضعیف در گیاهان موجب عملکرد ضعیف در آنها می‌گردد (فاضلی کاخکی و بیک زاده^۸، ۲۰۲۲). امروزه، تلاش‌های زیادی در جهت یافتن فن‌آوری‌های کارآمد و درعین حال بی‌ضرر، برای بهبود خصوصیات جوانه‌زنی و پایایی گیاهان در شرایط تنش آغاز شده. یکی از این روش‌ها استفاده از کودهای کلاته در مقیاس‌های نانو می‌باشد که برای تغذیه و بهبود جوانه‌زنی، رشد و تکامل گیاهچه مفید بوده و مورد استفاده قرار می‌گیرد (امیدی نرگسی^۹ و همکاران، ۲۰۱۵).

در پیش‌تیمار تغذیه‌ای بذرها با محلول‌های حاوی ریزمغذی به جهت بهبود وضعیت تغذیه‌ای و عملکردی بذر مورد تیمار قرار می‌گیرند (جوهانسون^{۱۰} و همکاران، ۲۰۰۵). پیش‌تیمار تغذیه‌ای با نانو و میکرو مقیاس عناصر غذایی در کاهش تنش‌های محیطی همچون تنش شوری کاربرد داشته و بدون شک؛ نقش بسیار مهمی در تغذیه گیاه و دستیابی به بازدهی بالا دارند (آریف^{۱۱} و همکاران، ۲۰۰۶). آهن یکی از مهم‌ترین عناصر مورد نیاز جهت ایفای نقش در متابولیسم بسیاری از پروتئین‌های دخیل در فعالیت‌های سلولی از قبیل تنفس، فتوسنتز و تمایز سلولی می‌باشد (بابیوردی و مامدوف^{۱۲}، ۲۰۱۰؛ بردلی^{۱۳} و همکاران، ۲۰۱۲). آهن جزو عناصر معدنی است که برای عملکرد مناسب و تقریباً برای تمام سلول‌های زنده ضروری می‌باشد (اندیرینی^{۱۴} و همکاران، ۲۰۱۷) کود نانو کلات آهن امکان مصرف خاکی و برگی را برای عنصر آهن فراهم کرده است (خلج^{۱۵} و همکاران، ۲۰۰۹). کود کلات آهن در مقیاس نانو به علت پایداری مناسب و توان آزاد سازی تدریجی، پایه کودی مطمئنی برای رهائش این عنصر می‌باشد (بقایی^{۱۶} و همکاران، ۲۰۱۲). نورافکن و شاه‌مرادی^{۱۷}، (۲۰۱۴) در پژوهشی اثر این کود را به

گیاهی دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) دارای برگ‌های باریک، صاف، کوچک، نوک تیز و معطر است که برگ‌ها از نقاط مختلف ساقه بدون دم‌برگ به‌طور متقابل خارج می‌شود (امیدبیگی^۱، ۲۰۰۰). بخش‌های هوایی این گیاه برای ناراحتی‌های دستگاه تنفسی مفید بوده و خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی و میکروبی داشته و نیز جهت کنترل ویروس اچ آی وی مورد استفاده قرار می‌گیرد (فتحی‌زاد و حامدیزدان^۲، ۲۰۱۱؛ جلیازکوف^۳ و همکاران، ۲۰۱۲). اسانس زوفا اثر آنتی‌اکسیدانی دارد و جهت کنترل دیابت مورد استفاده قرار می‌گیرد (سریوستاوا^۴ و همکاران، ۲۰۱۸).

تنش‌های غیر زیستی از مهم‌ترین عوامل محدوده کننده رشد و نمو گیاهان در طول دوره رشد می‌باشند. از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی می‌توان به تنش شوری اشاره کرد که به‌طور چشم‌گیری رشد و نمو گیاهان را محدود می‌کند. تنش شوری با کاهش پتانسیل آب خاک و ایجاد سمیت یونی برای بذرها موجب اختلال در جذب عناصر شده که از این طریق درصد جوانه‌زنی بذر در شرایط مزرعه و همچنین سرعت و استقرار گیاهچه کاهش می‌یابد (جلیل^۵ و همکاران، ۲۰۰۷). شوری علاوه بر کاهش پتانسیل آب خاک و ایجاد سمیت یونی برای بذرها، در جذب برخی عناصر نیز اختلال ایجاد می‌کند و درنهایت سبب کاهش جوانه‌زنی می‌شود (اگامبردیوا و لوگتنبرگ^۶، ۲۰۱۴).

جوانه‌زنی و سبز شدن عاملی مهم و تعیین‌کننده در استقرار مطلوب و عملکرد نهایی گیاه به‌شمار می‌رود (مورونگو^۷ و همکاران، ۲۰۰۳). چرخه موفق رشد یکی از حیاتی‌ترین دوره‌ها در استقرار و عملکرد گیاه می‌باشد که این امر موجب افزایش توان گیاه برای مقابله با شرایط نامساعد محیطی می‌شود، از طرفی استقرار

⁸ Fazeli Kakhki and Beikzadeh

⁹ Omid Nargesi

¹⁰ Johnson

¹¹ Arif

¹² Bybordy and Mamedov

¹³ Broadley

¹⁴ Andreini

¹⁵ Khalaj

¹⁶ Baghaei

¹⁷ Noorafkan and Shahmoradi

¹ Omidbeigi

² Fathiazad and Hamed Yazdan

³ Zheljzkov

⁴ Srivastava

⁵ Jaleel

⁶ Egamberdieva and Lugtenberg

⁷ Murungu

مقیاس نانو و میکرو عنصر آهن به صورت دو آزمایش مجرا بود.

بذرهای مورد استفاده در این مطالعه از توده اصفهان و از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شدند. برای پراریم کردن، بذرهای زوفا در ۱۵ میلی‌لیتر از محلول آهن در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر از منبع کود نانو کلات آهن شش درصد و میکرو کلات آهن هفت درصد بطور جداگانه قرار گرفتند. جهت تهیه غلظت‌های فوق به ترتیب ۰/۸۳، ۱/۶، ۳/۳ و ۶/۶ میلی‌گرم از منبع کود نانو کلات آهن شش درصد و ۰/۲۱، ۱/۴، ۲/۸ و ۵/۷ میلی‌گرم از منبع کود میکرو کلات آهن هفت درصد در یک لیتر آب مقطر بطور یکنواخت حل گردید. برای غلظت صفر پیش‌تیمار از آب مقطر استفاده شد. بعد از انجام پیش‌تیمار بذرهای برای رسیدن به تعادل رطوبتی در دمای محیط آزمایشگاه (۲۵ درجه سلسیوس) خشک شدند.

جهت آزمون جوانه‌زنی ابتدا پتری‌ها در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس به مدت دو ساعت سترون شدند، سپس در هر پتری با قطر ۹ سانتی‌متری دو لایه کاغذ صافی واتمن قرار داده شد و تعداد ۲۵ عدد بذر سالم روی کاغذ در هر پتری قرار گرفت. قبل از اجرای آزمایش بذرهای با محلول هیپوکلریت سدیم ۳ درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی سطحی شده و سپس بذرهای با آب مقطر سترون شده چند بار شسته شدند.

بذرهای پیش‌تیمار شده داخل پتری‌ها قرار داده شدند و به هر پتری جهت اعمال تنش شوری ۵ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم (NaCl) که بر اساس میلی‌مولار و جرم مولکولی تهیه شد اضافه گردید، و برای تیمارهای شاهد به همان میزان آب مقطر استفاده شد. سپس برای ارزیابی به روش جوانه‌زنی استاندارد به ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. شمارش بذور جوانه‌زده به منظور اندازه‌گیری صفات جوانه‌زنی به صورت روزانه تا ۱۴ روز پس از کاشت انجام شد. معیار جوانه‌زنی بذرهای، خروج ریشه‌چه به اندازه حداقل دو میلی‌متر در نظر گرفته شد (سلطانی^۳ و همکاران،

روش پیش‌تیمار بذر عدس، بر خصوصیات جوانه‌زنی مثبت ارزیابی نمود و گزارش داد که پیش‌تیمار با نانو کلات آهن موجب افزایش خصوصیات جوانه‌زنی شد. در پژوهشی با استفاده از کود کلات آهن به روش پیش‌تیمار بذر بر خصوصیات جوانه‌زنی ریحان، اثر این کود بر خصوصیات جوانه‌زنی مثبت ارزیابی شد و موجب افزایش جوانه‌زنی گردید (رفیعی^۱ و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد پیش‌تیمار با نانو کلات آهن و اسید سالیسیلیک در شرایط شوری، خصوصیات جوانه‌زنی و استقرار گیاه‌چه عدس را بهبود بخشد (نورافکن و شاهمرادی، ۲۰۱۴). در بررسی اثر نانو کود آهن بر ذرت و جو نیز مشخص شد که کود آهن اثر معنی‌داری بر زمان جوانه‌زنی داشته و همچنین توانسته طول ساقه و گیاه‌چه را افزایش دهد (نجفی دیسفانی^۲ و همکاران، ۲۰۱۶).

با توجه به وجود تنش شوری در بخش‌هایی از اراضی ایران و تأثیر مستقیم این تنش بر عدم جذب عناصر غذایی و همچنین به دلیل عدم یکنواختی در جوانه‌زنی و استقرار ضعیف گیاه زوفا و نتایج مثبت به دست آمده از فناوری نانو در بخش عناصر غذایی، این آزمایش با هدف بهبود توان جوانه‌زنی گیاه زوفا در شرایط تنش شوری با کمک پیش‌تیمار بذر با کود آهن به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور ارزیابی تأثیر پیش‌تیمار تغذیه‌ای بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر زوفا در دو آزمایش جداگانه هر کدام به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه بذر گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان اجرا گردید. در این دو مطالعه عامل اول غلظت محلول‌های غذایی پیش‌تیمار در پنج سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و عامل دوم شش سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار) و عامل سوم زمان پیش‌تیمار، شامل دو زمان (۱۲ و ۲۴ ساعت) برای هر یک از دو

¹ Rafiei

² Najafi Disfani

³ Soltani

(۲۰۰۶).

همدا و کلین^۵، (۱۹۹۰) در طول موج ۴۷۰ نانومتر استفاده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در طول موج ۲۴۰ نانومتر طبق روش (جاندآ^۶ و همکاران، ۱۹۹۹) و برای اندازه گیری پروتئین محلول به روش بردفورد^۷ (۱۹۷۶) در طول موج ۵۹۵ نانومتر انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab 18 و رسم شکل با بهره‌گیری از نرم‌افزار Excel انجام شد. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال خطای ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش کاربرد نانو کلات آهن بر جوانه‌زنی زوفا نشان داد که غلظت نانو کلات آهن و زمان در سطح پنج درصد و شوری در سطح یک درصد بر درصد جوانه‌زنی اثرگذار بود. برهم‌کنش غلظت نانو کلات آهن در شوری، غلظت نانو کلات آهن در زمان و اثر سه‌گانه غلظت‌های نانو کلات آهن، شوری، زمان در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین اثرات سه‌گانه (جدول ۲) نشان داد، درصد جوانه‌زنی با افزایش شوری به مقدار قابل توجهی کاهش یافت به طوری که در شوری ۲۵۰ میلی‌مولار جوانه‌زنی به صفر رسید. همچنین کاربرد نانوکلات آهن در شرایط بدون تنش و تنش‌های ملایم (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نداشته، ولی با شدت یافتن تنش، تغییرات نسبت به شاهد معنی‌دار شده و سبب کاهش تأثیرات منفی تنش شوری شد. به‌عنوان مثال در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بالاترین درصد جوانه‌زنی (۶۸ درصد) در هر دو زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت از غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلات آهن مشاهده شد که نسبت به شاهد در حدود ۴۶ درصد بهبود یافت (جدول ۲). به‌طور کلی

درصد و سرعت با استفاده از روابط ۱ و ۲ محاسبه گردید: رابطه (۱) (رحیمی و کافی^۱، ۲۰۰۶)

$$100 \times \frac{\text{جوانه‌زنی نهایی}}{\text{تعداد بذور کشت شده}} = \text{درصد جوانه‌زنی (GP)}$$

رابطه (۲) (ورما^۲ و همکاران، ۲۰۰۵)

$$GR = \sum \frac{n_i}{t_i}$$

در این رابطه‌ها n_i : تعداد بذورهای جوانه‌زده در طی t_i روز، t_i : تعداد روزها پس از آزمایش.

برای اندازه‌گیری طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه از نمونه‌های آزمایشی، از هر یک از ظروف پتری ۱۰ عدد گیاهچه نرمال انتخاب و طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه آن‌ها با کولیس اندازه‌گیری شد؛ و برای محاسبه شاخص بنیه نیز از رابطه ۳ استفاده شد (عبدالباقی و اندرسون^۳، ۱۹۷۳):

رابطه (۳)

$$\text{میانگین طول گیاهچه (cm)} \times \text{جوانه‌زنی استاندارد (\%)} = \text{شاخص بنیه}$$

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و پروتئین محلول

در این مرحله تیمار بهینه عناصر غذایی با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در مقیاس نانو و میکرو که پس از آزمایش اول انتخاب شد به‌منظور بررسی فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و میزان پروتئین محلول مقدار ۰/۲ گرم از نمونه بذری پیش‌تیمار شده قبل از خروج ریشه‌چه توزین و درون هاون چینی با افزودن ۰/۲ گرم پلی وینیل پیرولیدون^۴ و مقدار ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار سائیده و محلول یکنواختی حاصل شد. سپس در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه جهت تهیه عصاره سانتریفوژ شد.

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت پراکسیداز از روش

¹ Rahimi and Kafi

² Verma

³ Abdul-Baki and Anderson

⁴ Poly vinyl pyrrolidone

⁵ Hameda and Klein

⁶ Janda

⁷ Bradford

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر نانو و میکرو کلات آهن در زمان پیش تیمار بر درصد و سرعت جوانه‌زنی تحت تنش شوری

Table 1. Analysis of the variance for nano and micro iron chelate effects during priming on germination percentage and germination rate under salinity stress

تغییرات منابع SOV	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean square			
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage		سرعت جوانه‌زنی Germination rate	
		نانو Nano	میکرو Micro	نانو Nano	میکرو Micro
کلات آهن Iron chelate (I)	3	155.4*	433.4**	0.011*	0.047**
شوری Salinity (S)	5	40083.3**	38214.8**	0.733**	0.797**
زمان Time (T)	1	460.8*	164.3 ^{ns}	0.003 ^{ns}	0.001 ^{ns}
I×S	15	151.5**	188.3**	2.271 ^{ns}	0.006*
I×T	3	1051.1**	169.2*	0.040**	0.002 ^{ns}
S×T	5	27.5 ^{ns}	221.3*	0.005 ^{ns}	0.002 ^{ns}
I×S×T	15	258.2**	71.1 ^{ns}	0.007**	0.003 ^{ns}
خطا Error	132	45.7	54.7	0.002	0.003
درصد ضریب تغییرات CV (%)	-	14.6	8.4	18.2	24.1

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** are non-significant and significant at probability level 5% and 1% respectively

بیشترین درصد جوانه‌زنی در شرایط برهمکنش میکرو کلات آهن در مدت زمان پرایم نیز در تیمار عدم وجود پیش تیمار با میکرو کلات آهن در مدت ۱۲ ساعت به میزان ۴۷/۳ درصد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با ۲۴ ساعت نداشت (شکل ۱). بر اساس نتایج پژوهشی بر گیاه ماریتیغال و شکر تیغال (پرمون^۱ و همکاران، ۲۰۱۵) گزارش کردند که با افزایش تنش شوری درصد جوانه‌زنی در این گیاهان کاهش یافت. همچنین درصد جوانه‌زنی در بذر رازیانه در اثر تنش شوری بر اساس پژوهش (اختیاری^۲ و همکاران، ۲۰۱۱) کاهش یافت. تنش شوری با ایجاد اختلال در جذب آب توسط بذرها همچنین ایجاد سمیت یونی از طریق تجمع جذب سدیم در بافت‌ها موجب تأثیرات منفی در فرآیند آبنوشتی بذر و اختلال در فرآیند جوانه‌زنی می‌شود

بیشترین درصد جوانه‌زنی به میزان ۹۰/۶ درصد در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو کلات آهن در مدت زمان ۱۲ ساعت پرایم و عدم تنش شوری مشاهده شد. نتایج مربوط به کاربرد میکرو کلات آهن نیز نشان داد، اثر غلظت‌های میکرو کلات آهن، شوری و برهمکنش دوگانه میکرو کلات آهن در شوری در سطح احتمال یک درصد و برهمکنش میکرو کلات آهن در زمان و برهمکنش شوری در زمان در سطح احتمال پنج درصد بر درصد جوانه‌زنی معنی‌دار شدند (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین برهمکنش میکرو کلات آهن در سطوح مختلف شوری نیز مشخص نمود، پیش تیمار آبی (شاهد) در تمام سطوح شوری بیشترین درصد جوانه‌زنی (۸۶/۷ درصد) را به خود اختصاص داد. که اختلاف معنی‌داری با سایر غلظت‌های میکرو کلات آهن در سطح صفر شوری نشان داد. همچنین برخلاف شرایط بدون تنش، اختلاف درصد جوانه‌زنی با افزایش تنش، بین سطوح مختلف کود در شوری بالا یعنی شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ایجاد شد (جدول ۳).

¹ Parmoon

² Ekhtiari

جدول ۲. مقایسه میانگین برهم‌کنش نانو کلات آهن و زمان پیش‌ تیمار در سطوح شوری برای درصد و سرعت جوانه‌زنی

Table 2. Mean comparison for the interaction of nano iron chelate and priming duration at salinity levels for percentage and germination rate

شوری (میلی مولار) Salinity (mM)	نانو کلات آهن Iron Nano Chelated (mg/l)	درصد جوانه‌زنی (%)		سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)	
		Germination percentage (%)		Germination rate (seed day ⁻¹)	
		زمان (ساعت)		زمان (ساعت)	
		Time (hours)		Time (hours)	
		12	24	12	24
0	0	86.6 ^{ab}	86.6 ^{ab}	0.461 ^a	0.425 ^a
	50	72.1 ^c	81.3 ^{a-c}	0.415 ^a	0.476 ^a
	100	82.6 ^{a-c}	78.6 ^{bc}	0.437 ^a	0.467 ^a
	200	85.3 ^{ab}	81.3 ^{a-c}	0.407 ^a	0.471 ^a
	400	90.6 ^a	76.0 ^{bc}	0.425 ^a	0.439 ^a
50	0	81.3 ^{ab}	86.6 ^a	0.333 ^{bc}	0.377 ^{a-c}
	50	87.6 ^{ab}	81.3 ^{ab}	0.398 ^{ab}	0.384 ^{ab}
	100	82.6 ^{ab}	76.0 ^{ab}	0.344 ^{bc}	0.404 ^{ab}
	200	86.6 ^a	77.3 ^{ab}	0.428 ^a	0.304 ^{abc}
	400	80.0 ^{ab}	72.0 ^b	0.302 ^c	0.338 ^{bc}
100	0	65.3 ^a	68.0 ^a	0.307 ^{abc}	0.301 ^{abc}
	50	73.3 ^a	76.0 ^a	0.331 ^{ab}	0.304 ^{abc}
	100	74.6 ^a	74.6 ^a	0.289 ^{abc}	0.341 ^{ab}
	200	69.3 ^a	52.0 ^b	0.364 ^a	0.251 ^c
	400	74.6 ^a	66.6 ^a	0.301 ^{abc}	0.281 ^{bc}
150	0	46.6 ^b	46.6 ^c	0.271 ^a	0.184 ^b
	50	29.3 ^{de}	45.3 ^{dc}	0.202 ^{ab}	0.259 ^{ab}
	100	28.0 ^{de}	60.0 ^a	0.246 ^{ab}	0.238 ^{ab}
	200	68.0 ^a	68.0 ^a	0.267 ^a	0.208 ^{ab}
	400	34.6 ^{cd}	34.6 ^{de}	0.237 ^{ab}	0.249 ^{ab}
200	0	4.0 ^c	1.3 ^c	0.133 ^{bc}	0.111 ^c
	50	0.0 ^c	6.6 ^{bc}	0.000 ^d	0.198 ^{ab}
	100	0.0 ^c	17.3 ^b	0.000 ^d	0.186 ^{ab}
	200	38.6 ^a	0.0 ^c	0.213 ^a	0.000 ^d
	400	0.0 ^c	0.0 ^c	0.000 ^d	0.000 ^d
250	0	0.0 ^a	0.0 ^a	0.000 ^c	0.000 ^c
	50	0.0 ^a	1.3 ^a	0.000 ^c	0.066 ^{bc}
	100	0.0 ^a	2.6 ^a	0.000 ^c	0.158 ^a
	200	4.0 ^a	0.0 ^a	0.103 ^{ab}	0.000 ^c
	400	0.0 ^a	0.0 ^a	0.000 ^c	0.000 ^c

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر سطح شوری نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد توسط LSD می‌باشد.

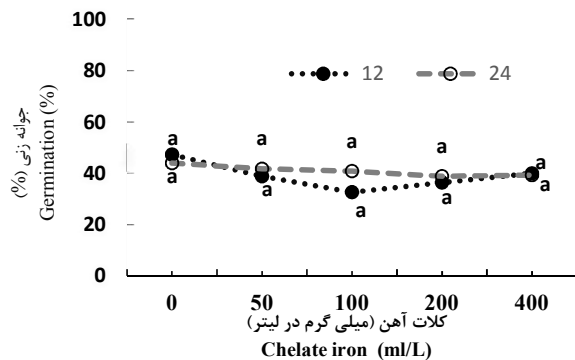
Means with different letters in each salinity level indicate a significant difference at the 5% probability level by LSD.

نتایج این مطالعه نشان داد، کاربرد کلات آهن به‌ویژه در مقیاس نانو موجب کاهش تأثیرات منفی تنش شوری شد ولی در شرایط بدون تنش و تنش ملایم دارای تأثیرات منفی بود. طبق گزارش‌های صورت گرفته، پیش‌ تیمار با نانو کلات آهن در شرایط تنش شوری، موجب کاهش درصد جوانه‌زنی نسبت به شاهد شد که با

(مواندو^۱ و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین شوری از طریق برهم زدن فرآیندهای بیوشیمیایی و فعالیت‌های متابولیسمی بذر از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن در تولید هورمون‌های مؤثر در جوانه‌زنی از قبیل جیبرلین و همچنین آنزیم‌های مانند آلفا و بتا آمیلاز موجب کاهش جوانه‌زنی می‌شوند (ابراهیم^۲، ۲۰۱۶).

¹ Mwando

² Ibrahim



شکل ۱. اثر متقابل کلات آهن و مدت زمان پرایمینگ بر درصد جوانه‌زنی

وجود حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌داری توسط آزمون LSD در سطح احتمال خطای ۵٪ می‌باشد.

Fig. 1. Interaction of iron chelate and priming duration on germination percentage

Different letters represent a significant difference in the probability level of 5% by LSD test.

جدول ۳. مقایسه میانگین سطوح میکرو کلات آهن در هر سطح شوری برای درصد و سرعت جوانه‌زنی

Table 3. Mean comparison of micro iron chelate at each salinity level for percentage and germination rate

شوری (میلی‌مولار) Salinity (mM)	میکرو کلات آهن (میلی‌گرم در لیتر) Micro chelated Iron(mg/l)	درصد جوانه‌زنی (%) Germination percentage (%)	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (seed day ⁻¹)
0	0	86.7 ^a	0.458 ^a
	50	70.7 ^{bc}	0.443 ^{ab}
	100	67.3 ^c	0.430 ^b
	200	72.7 ^{bc}	0.400 ^d
	400	77.3 ^{ab}	0.416 ^{bc}
50	0	84.0 ^a	0.356 ^b
	50	65.3 ^c	0.398 ^a
	100	72.7 ^{bc}	0.321 ^c
	200	70.0 ^{bc}	0.314 ^c
	400	76.7 ^{ab}	0.329 ^c
100	0	66.7 ^a	0.304 ^b
	50	65.3 ^a	0.398 ^a
	100	67.3 ^a	0.261 ^c
	200	65.3 ^a	0.266 ^c
	400	65.3 ^a	0.258 ^c
150	0	34.0 ^a	0.228 ^{ab}
	50	37.3 ^a	0.247 ^a
	100	13.3 ^b	0.175 ^c
	200	16.7 ^b	0.209 ^{bc}
	400	18.0 ^b	0.195 ^c
200	0	2.7 ^a	0.122 ^b
	50	3.3 ^a	0.208 ^a
	100	0.0 ^a	0.000 ^d
	200	1.3 ^a	0.042 ^{cd}
	400	0.7 ^a	0.028 ^d
250	0	0.0 ^a	0.000 ^a
	50	0.0 ^a	0.000 ^a
	100	0.0 ^a	0.000 ^a
	200	0.0 ^a	0.000 ^a
	400	0.0 ^a	0.000 ^a

میانگین‌های یا حروف متفاوت در هر سطح شوری نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ توسط LSD می‌باشد.

Means with different letters in each salinity level indicate a significant difference at the 5% probability level by LSD.

(۲۰۱۱) نیز گزارش کردند جوانه‌زنی بذر رازیانه در شرایط پیش‌تیمار نانو ذرات نقره زمانی که تحت تنش

نتایج پژوهش حاضر در تنش‌های شدید هم‌خوانی داشت (نورافکن و شاه‌مرادی، ۲۰۱۱). اختیاری و همکاران

برهمکنش غلظت نانوکلات آهن در زمان و برهمکنش غلظت نانوکلات آهن در شوری در زمان در سطح احتمال خطای یک درصد قرار گرفت این در حالی بود که در آزمایش مربوط به کلات آهن در مقیاس میکرو تنها غلظت میکرو کلات آهن، شوری و برهمکنش غلظت میکرو کلات آهن در شوری معنی‌دار بود (جدول ۱).

نتایج برش‌دهی مقایسه میانگین برهمکنش نانوکلات آهن نشان داد که در شرایط عدم شوری بین غلظت‌های مختلف نانوکلات آهن در زمان‌های مختلف تفاوت معنی‌دار وجود نداشت، اما در شوری ۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌مولار اختلاف‌ها معنی‌دار شد. به‌عنوان مثال در شوری ۵۰ میلی‌مولار بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۴۲۸ بذر در روز) در پیش‌تیمار با ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به مدت زمان ۱۲ ساعت مشاهده شد اما اختلاف معنی‌داری با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به مدت زمان ۲۴ ساعت نداشت. همچنین مشاهده شد در شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار، روند تغییرات سرعت جوانه‌زنی تا حدودی مشابه شوری ۵۰ میلی‌مولار بوده ولی تأثیرات پیش‌تیمار به مدت ۱۲ ساعت غیر معنی‌دار و به مدت ۲۴ ساعت نسبت به پیش‌تیمار آبی معنی‌دار بود. روند تغییرات سرعت جوانه‌زنی در شوری ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار نیز مانند شوری ۵۰ میلی‌مولار بوده و پیش‌تیمار به مدت ۱۲ ساعت در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر بالاترین تأثیر را داشته و تا حدودی سبب کاهش تأثیرات منفی تنش شوری شد، اما این غلظت‌ها به مدت ۲۴ ساعت تأثیر منفی داشته که نشان دهنده ایجاد سمیت در اثر افزایش مدت زمان پیش‌تیمار در غلظت‌های بالا می‌باشد (جدول ۲).

پیش‌تیمار بذر با افزایش متابولیسم پروتئین‌ها در بذرهای پیش‌تیمار شده و همچنین با افزایش فعالیت آنزیم‌هایی موجب متابولیسم مواد ذخیره‌ای مثل کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها شده که منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی می‌گردد (بلوچی و احمدپور دهکردی^۴، ۲۰۱۳). به‌طور کلی با افزایش سطوح شوری سرعت جوانه‌زنی روند کاهشی به‌خود گرفت و همین‌طور

شوری قرار گرفت نسبت به نمونه شاهد به میزان ۹۸/۲ درصد افزایش یافت که این افزایش با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت.

احمدی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که افزایش مدت زمان پیش‌تیمار تغذیه‌ای با سولفات منیزیم، سولفات منگنز، سولفات روی از ۱۲ به ۲۴ ساعت سبب بهبود کلیه صفات و شاخص‌های جوانه‌زنی بذر باریجه شد به گونه‌ای که این بهبود در تمام شاخص‌های مورد بررسی سبب افزایش معنی‌داری گردید. در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد در شرایط بدون تنش، کاربرد نانو کلات آهن به مدت زمان ۱۲ ساعت بهتر عمل کرده ولی در مقیاس میکرو مدت زمان ۲۴ ساعت مؤثرتر بوده که نشان دهنده تأثیرگذاری بیشتر و سریع‌تر مقیاس نانو می‌باشد (جدول ۲). همچنین یکی از علت‌های تأثیرات منفی غلظت‌های بالای میکرو کلات آهن در شرایط بدون تنش به دلیل افزایش و تجمع آهن در گیاهان و ایجاد سمیت این عنصر و تولید انواع اکسیژن‌های فعال می‌باشد که تنش اکسیداتیو را در گیاه القاء می‌کند (باتاچارجی^۱، ۲۰۰۵؛ آلوارز^۲ و همکاران ۲۰۰۲).

همچنین ممکن است به‌سبب جذب و تجمع نمک موجود در غلظت‌های بالای عناصر غذایی توسط بذر، بخصوص زمانی که بذرها در مدت زمان طولانی تحت تأثیر سطوح بالای محلول غذایی بصورت پیش‌تیمار قرار می‌گیرند موجب ایجاد سمیت و عدم کارایی در جهت بهبود درصد جوانه‌زنی شود. اما زمانی که گیاه در تنش‌های شوری شدید قرار می‌گیرد پتانسیل اسمزی ایجاد شده در این شرایط می‌تواند تا حدودی از این اثرات سمی بکاهد و از این طریق پیش‌تیمار در تنش‌های شدید تأثیرات خود را بهتر نشان دهد (برادفورد^۳، ۱۹۹۵).

سرعت جوانه‌زنی

بررسی تجزیه واریانس سرعت جوانه‌زنی نیز نشان داد، این صفت علاوه بر اثرات اصلی تحت تأثیر

¹ Bhattacharjee

² Alvarez

³ Bradford

⁴ Balouchi and Ahmadpour Dehkordi

طول ریشه‌چه

نتایج تجزیه واریانس طول ریشه‌چه در هر دو آزمایش نشان داد، کلات آهن و تنش شوری در هر دو آزمایش (نانو و میکرو) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اما اثر زمان تنها در آزمایش نانوکلات معنی‌دار بود. برهمکنش غلظت در تنش شوری نیز در آزمایش نانوکلات در سطح پنج درصد و در آزمایش میکروکلات آهن در سطح یک درصد اثرگذار بود. همچنین مشاهده شد که برهمکنش غلظت کلات آهن در زمان نیز تنها در آزمایش نانوکلات در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما برهمکنش غلظت نانو و میکرو کلات آهن در زمان در تنش شوری به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۴). با توجه به (جدول ۵) و مقایسه میانگین اثرات سه‌گانه، با افزایش سطوح شوری طول ریشه‌چه در هر دو آزمایش کاهش یافته و در تنش شوری ۲۵۰ میلی‌مولار به صفر رسید بر این اساس سطوح شوری ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار به علت عدم رشد ریشه‌چه و ساقچه مقادیر آنها از جدول حذف گردید. در شرایط عدم تنش (شوری صفر میلی‌مولار)، کاربرد نانوکلات آهن تأثیر منفی بر طول ریشه‌چه داشته به طوری که بالاترین طول ریشه‌چه مربوط به استفاده از آب مقطر (پیش‌تیمار آبی) به مدت زمان ۱۲ ساعت بود این در حالی است که در آزمایش دوم (میکروکلات آهن) بالاترین طول ریشه‌چه از کاربرد ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر میکرو کلات آهن به مدت زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت بود که با یک دیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند.

همچنین مشخص شد، در تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار نتایج مقداری متفاوت بود. در شرایط استفاده از نانوکلات آهن مصرف ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر این ماده به مدت ۲۴ ساعت بیشترین طول ریشه‌چه را سبب شده، اما در مقیاس میکرو این عنصر همانند شرایط بدون تنش از غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت حاصل شد (جدول ۵). نتایج تغییرات طول ریشه‌چه در تنش شوری ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار در اثر میکرو کلات آهن نیز مشابه شوری ۵۰ میلی‌مولار بود.

پیش‌تیمار بذر اثر مطلوبی بر افزایش سرعت جوانه‌زنی داشت. نکته قبل توجه این‌که در سطوح پایین تنش شوری اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف کودی وجود نداشت اما با افزایش تنش به بیشترین سطح (۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار)، سطوح پیش‌تیمار در سطوح مختلف کودی از هم تفکیک شد و اثر سودمندی پیش‌تیمار مشخص‌تر شد.

مقایسه میانگین مربوط به کاربرد کلات آهن در مقیاس میکرو در تنش شوری نیز نشان داد، بیشترین میزان سرعت جوانه‌زنی در سطح صفر شوری برای تیمار شاهد (پیش‌تیمار آبی) به میزان ۰/۴۵۸ بذر در روز مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر غلظت‌های میکرو کلات آهن در این سطح از شوری داشت. با افزایش سطح شوری سرعت جوانه‌زنی در اکثر تیمارهای کودی تقریباً به شکل یکسانی کاهش یافت اما سطح ۵۰ کود میکرو کلات آهن توانست سرعت جوانه‌زنی را با افزایش تنش شوری همچنان بالاتر از سایر سطوح کودی نگه دارد (جدول ۳).

طبق پژوهشی که روی اثر سطوح شوری بر سرعت جوانه‌زنی انجام شد مشخص گردید تنش‌های ملایم شوری سرعت جوانه‌زنی را افزایش داده و سپس با تشدید تنش شوری این خصوصیت از جوانه‌زنی کاهش و به کمترین میزان خود رسید (برزگر^۱، ۲۰۰۸). بهرامی^۲ همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش دادند که اثر پیش‌تیمارهای مختلف با نانو کلات آهن و منگنز بر سرعت جوانه‌زنی بذر گندم نسبت به شاهد مؤثر بود. حسین‌پور عسکریان^۳ و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی اثرات پیش‌تیمار بذر با محلول سولفات آهن بر برخی ویژگی‌های جوانه‌زنی موسیر اعلام داشتند که مصرف سولفات آهن، سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد گردید. پیش‌تیمار به‌ویژه در مقدار بهینه از طریق کاهش سطح رادیکال‌های فعال اکسیژن از طریق بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت موجب کاهش تأثیرات تنش و بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (پرمون و همکاران، ۲۰۱۳).

¹ Barzegar

² Bahrami

³ Hoseinpur Askarian

جدول ۴. تجزیه واریانس اثر نانو و میکرو کلات آهن و شوری در زمان پیش‌ تیمار بر رشد گیاهچه و بنیه بذر.

Table 4. Analysis of the variance for the effect of Nano and micro iron chelate and salinity during priming on seedling growth and seed vigor.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات					
		طول ریشه‌چه Root length		طول ساقه‌چه Shoot length		بنیه بذر Seed vigor	
		نانو Nano	میکرو Micro	نانو Nano	میکرو Micro	نانو Nano	میکرو Micro
کلات آهن Iron chelate (I)	3	0.116**	0.221**	0.008**	0.193**	1.8 ^{ns}	1.193**
شوری Salinity (S)	5	14.7**	14.1**	0.514**	2.321**	1795.1**	94.076**
زمان Time (T)	1	0.045**	0 ^{ns}	5.635 ^{ns}	0.006 ^{ns}	2.7 ^{ns}	0.074 ^{ns}
I×S	15	0.057*	0.112**	0.012**	0.081**	8.9**	0.866**
I×T	3	0.057**	0.016 ^{ns}	0.034**	0.016*	19.1**	0.352*
S×T	5	0.007 ^{ns}	0.031 ^{ns}	0.017**	0.011*	8.8**	0.203 ^{ns}
I×S×T	15	0.079**	0.037*	0.013**	0.011**	14.5**	0.207*
خطا Error	132	0.008	0.021	0.004	0.003	1.6	0.102
درصد ضریب تغییرات CV (%)	-	14.9	24.3	7.5	5.6	19.9	13.5

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد

ns, * and **, are no significant and significant at probability level 5% and 1% respectively

رشد می‌گردد (پرمون و همکاران، ۲۰۱۵). در این مطالعه مشاهده شد که کارایی پیش‌ تیمار در سطوح ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو کلات آهن در کاهش تنش شدید شوری مثبت بوده است این در حالی است که در شرایط بدون تنش تأثیرات یا غیر معنی‌دار یا منفی بود. عسکری^۴ و همکاران (۲۰۱۹) اظهار داشتند که پیش‌ تیمار با محلول نانو کلات آهن در سطوح پایین شوری توانسته موجب افزایش طول ریشه‌چه در گیاه سیاهدانه گردد.

طول ساقه‌چه

طول ساقه‌چه از دیگر صفاتی است که در هر دو آزمایش علاوه بر اثرات اصلی، تحت تأثیر اثر دوگانه و سه‌گانه غلظت میکرو کلات آهن در شوری در زمان در سطح خطای یک درصد قرار گرفت (جدول ۴).

به‌طور کلی بیشترین طول ریشه‌چه در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلات آهن در مقیاس میکرو و عدم تنش شوری به میزان ۲/۰ سانتی‌متر در پیش‌ تیمار به مدت ۱۲ ساعت مشاهده شد که مشابه ۲۴ ساعت پیش‌ تیمار بود (جدول ۵).

کاهش طول ریشه‌چه در گیاهان متعددی در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (پرمون و همکاران ۲۰۱۵؛ اختیاری و همکاران، ۲۰۱۱، احمدی^۱ و همکاران، ۲۰۱۵). برزگر^۲ (۲۰۰۸) نیز گزارش داد، شوری بر میانگین طول ریشه‌چه دارای تأثیر معنی‌داری بود. کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه موجب کمبود آب، سمیت یونی و کاهش جذب مواد غذایی توسط ریشه می‌شود که این امر سبب کاهش طول ریشه در شرایط تنش شوری می‌شود (شهبازی و گلکار^۳، ۲۰۱۶). همچنین شوری موجب کاهش انتقال ذخایر بذر از لپه‌ها به محور جنینی شده و کاهش انرژی لازم برای

¹ Ahmadi

² Barsegar

³ Shahbazi and Golkar

⁴ Askari

جدول ۵. مقایسه میانگین انواع کلات آهن در شوری و زمان پیش تیمار بر رشد گیاهچه و بنیه بذر زرفا.

Table 5. Comparison of means for iron chelate types under salinity and priming duration on seedling growth and hyssop seed vigor.

شوری (میلی مولار) Salinity (mM)	غلظت (میلی گرم لیتر) Concentration (mg/l)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Root Length (cm)				طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) Shoot Length hypocotyle (cm)				بنیه بذر Seed vigor			
		نانو Nano		میکرو Micro		نانو Nano		میکرو Micro		نانو Nano		میکرو Micro	
		12	24	12	24	12	24	12	24	12	24	12	24
0	0	1.51 ^a	0.46 ^{ce}	1.54 ^c	0.46 ^d	1.50 ^e	1.20 ^f	1.51 ^b	1.20 ^c	27.1 ^a	15.1 ^f	27.1 ^{bc}	15.1 ^e
	50	0.35 ^f	0.44 ^{bf}	0.64 ^d	0.48 ^d	1.51 ^e	1.70 ^d	1.51 ^b	1.10 ^f	13.8 ^f	18.1 ^{de}	13.1 ^e	13.1 ^e
	100	0.52 ^{bd}	0.41 ^{ef}	1.77 ^b	2.03 ^a	1.50 ^e	1.91 ^{ab}	1.71 ^b	2.10 ^a	17.3 ^e	18.9 ^{ab}	21.7 ^d	29.7 ^{ab}
	200	0.47 ^{ce}	0.58 ^b	1.57 ^{bc}	1.66 ^c	1.80 ^{bd}	1.90 ^{bc}	1.50 ^b	1.60 ^b	20.1 ^{cd}	20.4 ^a	21.8 ^d	24.4 ^{cd}
	400	0.61 ^b	0.53 ^{bc}	2.05 ^a	2.08 ^a	2.10 ^a	1.80 ^{cd}	2.10 ^a	2.10 ^a	24.1 ^b	18.1 ^e	31.1 ^{ab}	33.1 ^a
50	0	0.29 ^{bc}	0.36 ^b	0.29 ^e	0.36 ^e	0.70 ^d	1.10 ^b	0.70 ^e	1.10 ^{ad}	8.4 ^d	12.9 ^a	8.4 ^e	12.9 ^d
	50	0.24 ^c	0.58 ^a	0.94 ^d	1.03 ^{cd}	1.41 ^a	1.10 ^{bc}	0.90 ^{bc}	1.00 ^{cd}	12.9 ^a	13.2 ^a	12.6 ^d	13.2 ^d
	100	0.26 ^c	0.26 ^c	1.29 ^{ab}	1.25 ^{bc}	1.10 ^{bc}	0.90 ^c	1.20 ^{ab}	1.20 ^{ac}	10.6 ^{bc}	9.1 ^{cd}	16.5 ^{bcd}	20.3 ^{ab}
	200	0.37 ^b	0.38 ^b	1.10 ^{cd}	1.25 ^{bc}	1.10 ^{bc}	1.11 ^b	1.10 ^{ad}	1.20 ^{ac}	12.1 ^{ab}	11.9 ^{ab}	14.7 ^{cd}	18.7 ^{bc}
	400	0.36 ^b	0.36 ^b	1.33 ^a	1.23 ^{bc}	1.11 ^b	1.30 ^a	1.30 ^a	1.20 ^{ac}	12.1 ^{ab}	12.1 ^{ab}	21.3 ^a	18.2 ^{bc}
100	0	0.28 ^{bc}	0.22 ^{cd}	0.28 ^b	0.22 ^b	0.50 ^{bc}	0.41 ^{ef}	0.50 ^{ab}	0.40 ^b	5.7 ^{bc}	4.6 ^c	5.7 ^{bc}	4.6 ^c
	50	0.17 ^d	0.41 ^a	0.52 ^a	0.65 ^a	0.40 ^f	0.60 ^{ab}	0.50 ^{ab}	0.61 ^{ab}	4.3 ^c	8.4 ^a	7.1 ^{bc}	8.4 ^{ac}
	100	0.24 ^{cd}	0.30 ^{bc}	0.62 ^a	0.63 ^a	0.51 ^{cf}	0.60 ^{bc}	0.60 ^{ab}	0.60 ^{ab}	5.8 ^{bc}	7.2 ^{ab}	7.3 ^{bc}	9.3 ^{ab}
	200	0.27 ^{cd}	0.24 ^{bd}	0.65 ^a	0.70 ^a	0.71 ^a	0.50 ^{bc}	0.60 ^{ab}	0.70 ^a	7.1 ^{ab}	4.2 ^c	7.7 ^{bc}	10.1 ^a
	400	0.30 ^{ab}	0.27 ^{bc}	0.58 ^a	0.65 ^a	0.50 ^{df}	0.60 ^{cd}	0.50 ^{ab}	0.60 ^{ab}	6.2 ^{bc}	6.1 ^{bc}	7.7 ^{bc}	8.7 ^{ab}
150	0	0.16 ^{bc}	0.04 ^{ef}	0.16 ^{ab}	0.04 ^b	0.20 ^{ab}	0.04 ^{cd}	0.20 ^{ab}	0.04 ^b	2.1 ^{ab}	0.2 ^b	2.2 ^a	0.2 ^a
	50	0.01 ^f	0.25 ^a	0.28 ^a	0.22 ^{ab}	0.00 ^d	0.30 ^a	0.20 ^a	0.20 ^{ab}	0.1 ^b	2.7 ^a	2.2 ^a	1.7 ^a
	100	0.00 ^f	0.22 ^{ab}	0.07 ^{ab}	0.09 ^{ab}	0.00 ^d	0.40 ^a	0.07 ^{ab}	0.00 ^{ab}	1.9 ^{ab}	3.8 ^a	0.2 ^a	0.3 ^a
	200	0.14 ^{cd}	0.10 ^{ce}	0.14 ^{ab}	0.11 ^{ab}	0.30 ^a	0.10 ^{bc}	0.10 ^{ab}	0.10 ^{ab}	3.1 ^a	0.6 ^b	0.7 ^a	0.2 ^a
	400	0.06 ^{df}	0.05 ^{df}	0.18 ^{ab}	0.19 ^{ab}	0.07 ^{cd}	0.08 ^{cd}	0.10 ^{ab}	0.10 ^{ab}	0.4 ^b	0.3 ^b	0.5 ^a	0.7 ^a

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر سطح شوری نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ توسط LSD می‌باشد.

Means with different letters in each salinity level indicate a significant difference at the 5% probability level by LSD.

اتفاق افتاده است (یوکارلی^۲، ۲۰۲۰). تنش شوری سبب ایجاد تغییرات مختلفی در رشد، مورفولوژی و فیزیولوژی ریشه‌ها می‌گردد که این تغییرات ناشی از تغییر در جذب آب و یون‌ها و نیز تولید پیام‌های هورمونی است. سطوح بالای نمک موجب اثرات شدیدی بر کاهش جذب آب توسط ریشه‌چه‌ها و سمیت ناشی از تجمع نمک‌های محلول در سلول و کاهش رشد گیاهچه‌ها و زیست توده از طریق عدم تعادل یونی و اسمزی می‌شود (ره‌نشان^۳ و همکاران، ۲۰۱۸). همچنین با افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال در اثر شوری آسیب به غشا سلول‌های گیاهچه افزایش و کاهش رشد گیاهچه‌ها را موجب می‌شود (جانکس و هاسگاوا^۴، ۲۰۰۷).

در پژوهشی بر اثر پیش تیمار تغذیه‌ای با سولفات روی و سولفات منیزیم بر جوانه‌زنی بذر باریجه گزارش شد که طول ساقه‌چه تحت تیمار پیش تیمار در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشت (عمران^۵ و همکاران، ۲۰۰۸). همین‌طور پیش تیمار نانو ذرات نقره موجب بیشترین طول ساقه‌چه در آویشن کوهی گشته است (آقاجانی^۶ و همکاران، ۲۰۱۴).

مطابق (جدول ۵) مقایسه میانگین در شرایط بدون تنش، بالاترین طول ساقه‌چه در هر دو آزمایش از غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت حاصل شد که طول ساقه‌چه به ۲/۱۰ سانتی‌متر در هر دو آزمایش رسید. همچنین مشاهده شد، در تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار، کاربرد نانوکلات ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت بهتر عمل کرده است ولی در مورد میکرو کلات آهن به مدت زمان ۱۲ ساعت مؤثرتر بوده و طول ساقه‌چه (۱/۳۰ سانتی‌متر) در این شرایط را موجب شد. همچنین مشاهده شد، با شدت یافتن تنش از غلظت بهینه پیش تیمار کاسته شد به طوری که در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، کاربرد ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میکرو و نانو کلات آهن نتیجه بهتری را موجب شد (جدول ۵). همچنین در تنش شوری شدید مصرف نانوکلات آهن به مدت زمان ۱۲ ساعت مناسب‌تر بوده اما مصرف میکروکلات برای مدت زمان ۲۴ ساعت تأثیرات بهتری نشان داد (جدول ۵). خمیری^۱ و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کرد با افزایش سطوح شوری طول ساقه‌چه در شش گیاه مورد آزمایش این پژوهش کاهش یافت. طبق پژوهش‌های انجام شده، بیشترین اثر منفی تنش شوری بر پارامترهای جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه

² Uçarlı³ Rahnesan⁴ Janks and Hasegawa⁵ Imran⁶ Agajani¹ Khamari

بنیه بذر

بنیه بذر نیز در هر دو آزمایش (نانو و میکرو) تحت تأثیر غلظت کلات آهن، در شوری در زمان (اثرات سه‌گانه) به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد قرار گرفت (جدول ۴). مشخص شد، تنش شوری موجب کاهش شدید بنیه بذر گیاه زوفا شد به طوری که در تنش شوری ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار بین بنیه بذر به صفر رسید. همچنین مشاهده شد، کاربرد کلات آهن به فرم‌های نانو و میکرو سبب کاهش تأثیرات منفی تنش شوری شد اما در شرایط بدون تنش تأثیر قابل توجه بر جای نگذاشت. به‌عنوان مثال، کاربرد نانوکلات آهن در شرایط بدون تنش تأثیر منفی بر بنیه بذر داشت به طوری که بالاترین بنیه بذر از غلظت صفر نانوکلات آهن به مدت ۱۲ ساعت با میانگین ۲۷ مشاهده شد؛ اما بالاترین بنیه بذر در اثر مصرف میکروکلات آهن از غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۲۴ و ۱۲ ساعت با میانگین ۳۳ و ۳۱ حاصل شد. در تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار برخلاف شرایط بدون تنش، کاربرد نانوکلات تأثیر مثبتی بر جای داشته به طوری که در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بنیه بذر ۵۳ درصد بهبود یافت. در این سطح تنش، تأثیرات میکروکلات آهن مانند شرایط بدون تنش بود (جدول ۵). بالاترین بنیه بذر در اثر استفاده از میکروکلات آهن ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت بود که با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. همچنین در تنش شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نیز بالاترین بنیه بذر از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر هر دو مقیاس نانو و میکرو کلات آهن به مدت زمان ۲۴ ساعت حاصل شد (جدول ۵).

در کل می‌توان بیان داشت که با افزایش سطوح تنش شوری شاخص بنیه کاهش یافت؛ که این نتیجه در مطالعات متعددی گزارش شده است (پرمون و همکاران، ۲۰۱۳؛ اختیاری و همکاران، ۲۰۱۱؛ احمدی و همکاران، ۲۰۱۵). کاهش جذب آب، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش سمیت یونی از علت‌های مهم کاهش بنیه بذر در طی تنش شوری می‌باشد. همچنین در این مطالعه مشاهده شد کلات آهن به‌ویژه در مقیاس نانو تا حدودی در تنش‌های شدید توانست تأثیرات منفی تنش

را کاهش دهد. میرشکاری^۱ (۲۰۱۳) نیز بیان کرد بنیه بذر گل همیشه‌بهار تحت تأثیر پیش‌تیمار با عناصر کم‌مصرف روی و منگنز افزایش یافت. نتایج پژوهشی دیگر نیز نشان داد، پیش‌تیمار بذر با عناصر غذایی به مدت ۸ ساعت، بیشترین تأثیر را بر بهبود بنیه بذر گندم ارقام نان داشت و موجب بهبود شاخص بنیه بذر گردید (خمدی^۲ و همکاران، ۲۰۱۷). با توجه به این که بنیه بذر برآیندی از درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌باشد، پیش‌تیمار از طریق کاهش تأثیرات منفی تنش بر تحرک ذخایر بذر، هورمون‌های دخیل در جوانه‌زنی و همچنین از طریق افزایش پایداری غشاء، سبب بهبود تقسیم سلولی شده و از این طریق جوانه‌زنی و رشد گیاهچه و در نهایت بنیه بذر بهبود پیدا می‌کند.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پروتئین محلول

در این مطالعه میزان پروتئین محلول و فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز از بذرهای تیمار شده در غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلات آهن به مدت ۱۲ ساعت و میکروکلات آهن به مدت ۲۴ ساعت در تنش شوری‌های مختلف به عنوان تیمارهای بهینه اندازه‌گیری شد.

نتایج تغییرات میزان پروتئین محلول و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نیز نشان داد، میزان پروتئین محلول و فعالیت آنزیم پراکسیداز علاوه بر اثرات اصلی، تحت تأثیر برهمکنش پیش‌تیمار بهینه کودی و شوری قرار گرفت این در حالی است که فعالیت آنزیم کاتالاز تنها تحت تأثیر اثرات اصلی این دو عامل بود (جدول ۶).

مقایسه میانگین برهمکنش در مورد میزان پروتئین نشان داد، در شوری ملایم، میزان پروتئین محلول در بذر افزایش یافته ولی با شدیدتر شدن آن تأثیرات منفی آن نمایان شده و پرایمنگ بذر در غلظت‌های بهینه نیز موجب شدت بخشیدن به این روند تغییرات شد.

به‌عنوان مثال در بذرهای شاهد، در شوری ۵۰ میلی‌مولار میزان پروتئین محلول ۵۷ درصد نسبت به

¹ Mirshekari

² Khamdi

عدم تنش شوری افزایش یافته ولی با رسیدن شوری به ۲۵۰ میلی‌مولار فعالیت آنزیم ۳۲ درصد نسبت به عدم شوری کاهش یافت. در اثر پیش‌تیمار بذرها با غلظت بهینه نانوکلات و میکرو کلات آهن نیز میزان پروتئین محلول در شوری ۵۰ میلی‌مولار در حدود ۷۱ و ۱۰۰ درصد و در شوری ۲۵۰ میلی‌مولار در حدود ۲۵- و ۸- درصد نسبت به عدم تنش شوری رسید (شکل ۲). تحقیقات نشان داد شوری مانع جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شده و سنتز پروتئین را مختل می‌کند (فاروق^۱ و همکاران، ۲۰۱۵). همچنین به نظر می‌رسد که در شوری بالا به دلیل اختلال در ساختمان آنزیم‌ها و پروتئین‌ها میزان محتوای پروتئین کاهش می‌یابد.

مقایسه میانگین‌های مربوط به فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز مشخص نمود، در اثر تنش‌های ملایم فعالیت این آنزیم افزایش پیدا کرده ولی با شدت یافتن تنش به بیشتر از ۵۰ میلی‌مولار از فعالیت آن کاسته شد. مشخص شد، در شاهد (عدم پیش‌تیمار)، تغییرات آنزیم ملایم بوده ولی با کاربرد تیمار کودی در مقدار بهینه تغییرات این آنزیم نیز شدیدتر شد. به عنوان مثال، در بذره‌های شاهد، شوری ۵۰ میلی‌مولار موجب افزایش ۵/۵ برابری فعالیت پراکسیداز شد که این تغییرات در اثر نانو کلات آهن و میکرو کلات آهن در مقادیر بهینه به ترتیب به ۷/۴ و ۳/۴ برابر افزایش نسبت به شاهد شد (شکل ۳). در اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی پراکسیداز در آزمایش پیوندی^۲ و همکاران (۲۰۱۲) با اعمال تیمارهای

¹ Farooq

² Peyvandi

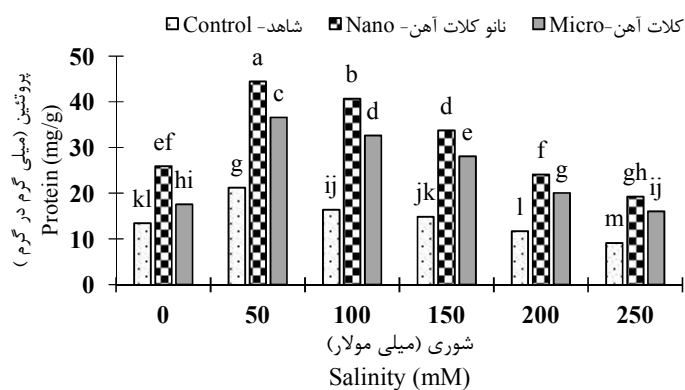
جدول ۰۶. تجزیه واریانس اثر نانو و میکرو کلات آهن بر میزان پروتئین، فعالیت پراکسیداز و کاتالاز بذر تحت تنش شوری

Table 6. Analysis of variance for the effect of nano and micro iron chelate on protein content, peroxidase and catalase activity of seeds under salinity stress

تغییرات منابع SOV	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean square		
		پروتئین محلول Soluble Protein	پراکسیداز Peroxidase	کاتالاز Catalase
کلات آهن Iron chelate (I)	2	1313.908**	0.006105**	0.006149**
شوری Salinity (S)	5	498.271**	0.007125**	0.001718**
I×S	10	32.759**	0.000551*	0.000150 ^{ns}
خطا Error	36	2.813	0.000252	0.000110
ضریب تغییرات CV (%)	-	7.1	18.0	12.2

^{ns}, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد

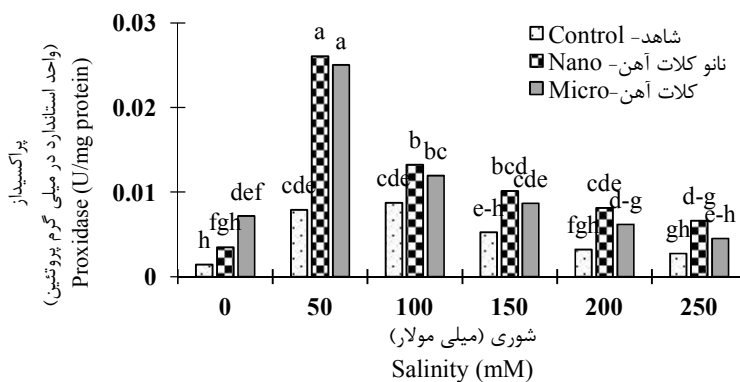
^{ns}, * and **, are non-significant and significant at probability level 5% and 1% respectively



شکل ۲. برهم‌کنش پیش‌تیمار کودهای بهینه و شوری بر میزان پروتئین محلول بذر. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح

احتمال ۵ درصد توسط LSD می‌باشد.

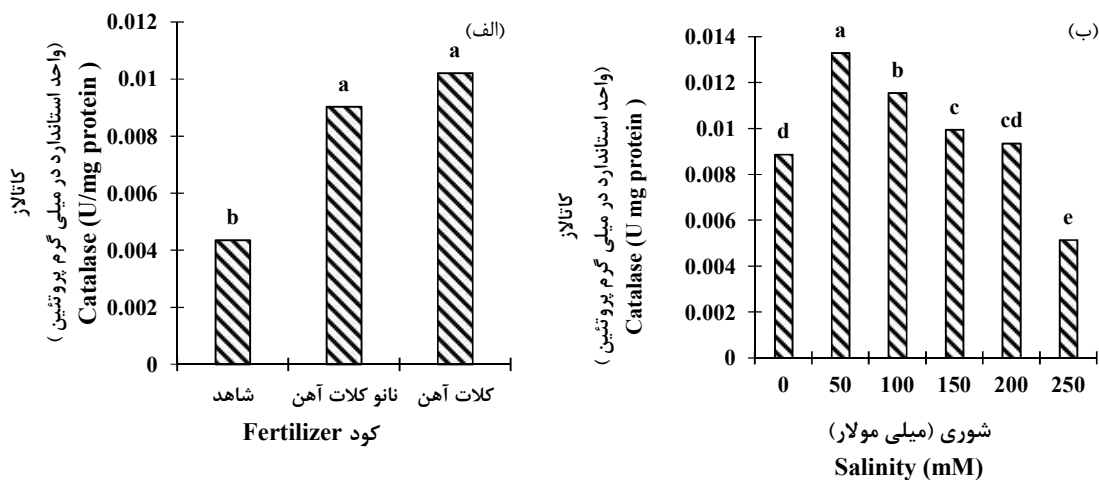
Fig. 2. Interaction of optimum fertilizer priming and salinity stress on protein content of seed. Different letters represent a significant difference in the probability level of 5% by LSD



شکل ۳. برهم‌کنش پیش‌تیمار کودهای بهینه و شوری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز بذر. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح

احتمال ۵ درصد توسط LSD می‌باشد.

Fig. 3. Interaction of optimum fertilizer priming and salinity stress on peroxidase activity enzyme of seed. Different letters indicate a significant difference in the probability level of 5% by LSD.



شکل ۴. اثر پیش تیمار کودی (الف) و شوری (ب) بر فعالیت آنزیم کاتالاز بذر. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد توسط LSD می باشد.

Fig. 4. Effect of fertilizer priming (a) and salinity stress (b) on catalase activity enzyme of seed. Different letters represent a significant difference in the probability level of 5% by LSD.

خسارات احتمالی میزان آن در سلول‌های گیاهی افزایش می‌یابد (گارات^۲ و همکاران، ۲۰۰۲). آنزیم کاتالاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های سامانه آنتی‌اکسیدانسی می‌باشد که با افزایش تنش افزایش می‌یابد، ولی با روش پیش تیمار بذر می‌توان میزان این آنزیم را در گیاهان تحت تنش بیشتر بالا برد (موسوی^۳ و همکاران، ۲۰۰۹).

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه سطوح بالای شوری موجب کاهش قابل توجه شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گردید. از طرفی لزوم تقویت ویژگی‌های جوانه‌زنی جهت تقویت کشت و کار این گیاه بسیار با اهمیت می‌باشد، لذا در این مطالعه استفاده از نانوکلات آهن در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر با ۱۲ ساعت عمل پرایمینگ و میکروکلات آهن در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر با ۲۴ ساعت پرایمینگ می‌تواند تیمار مناسبی جهت کاهش اثرات سوء ناشی از تنش شوری و افزایش استقرار موفق در گیاه زوفا باشد.

مختلف کود کلات و نانو کلات آهن بر گیاه مرزه گزارش دادند که فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با شاهد در این گیاه افزایش یافت که این نتایج با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی داشت.

تغییرات فعالیت کاتالاز نیز مشخص نمود که بین مصرف نانوکلات آهن و میکرو کلات آهن در مقدار بهینه تفاوت آماری وجود نداشت ولی نسبت به شاهد افزایش ۱۳۲ درصدی داشت. همچنین بالاترین فعالیت این آنزیم در شوری ۵۰ میلی مولار مشاهده شد که نسبت به عدم تنش شوری افزایش ۵۰ درصدی داشت (شکل ۴).

پیش تیمار با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی از جمله کاتالاز، آسکوربات، سوپراکسید دیسموتاز و مقدار پروتئین محلول و کاهش میزان مالون دی آلدئید و پراکسیداز کل موجب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (هسو^۱ و همکاران، ۲۰۰۳).

در هنگام وقوع تنش‌ها و افزایش پراکسید هیدروژن، آنزیم کاتالاز بدلیل هم دسته بودن با پروتئین‌های آهن دار برای پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از

² Garratt

³ Moosavi

¹ Hsu

منابع

- Agajani, Z., Ekhtiyari, R. and Pourmidani, R. 2014. Investigating the effects of silver nanoparticles on germination and early growth of (*Thymus kotschyanus* L). Journal of Agronomic Research in Semi-Desert Regions, 11(2): 73-81. [In Persian with English Summary]
- Ahmadi, K., Parsa, S., Mahmoudi, S. and Ghazanchian, Gh. 2015. Study of the effects of nutritional priming on germination and plant growth (*Ferula gummosa* Boiss L.). Journal of Seed Ecophysiology, 1(2): 151-137. [In Persian with English Summary]
- Alvarez-Fernandez, A., Sierra, M.A. and Lucena, J.J. 2002. Reactivity of synthetic Fe chelates with soils and soil components. Journal of Plant and Soil, 241: 129-137. <https://doi.org/10.1023/A:1016012513044>
- Andreini, C., Rosato, A. and Banci, L. 2017. The relationship between environmental dioxygen and iron-sulfur proteins explored at the genome level. Journal of PLoS One, 12(1): e0171279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171279>
- Arif, M., Ali S., Khan, A., Jan, T. and Akbar, M. 2006. Influence of farm yard manure application on various wheat cultivars. Sarhad Journal of Agriculture, 22: 27-29.
- Askari, M., Nourafcan, H., Hojjati, L. and Nemati Rad, S.P. 2019. Effect of seed priming by nano-iron and nano-potassium chelated on seed germination and growth of black cumin (*Nigella sativa* L.) under salinity stress. Journal of Seed Research, 9(3): 22-35.
- Baghaei, N., Keshavarz, N., Shukrivahed, H. and Nazaran, M.H. 2012. Effect of Nano-iron chelate on yield and yield components of rice. 12th. Crop Science Congress. Islamic Azad University, Karaj, Iran, p. 1-5. [In Persian with English Summary]
- Bahrami, N., Tohidlou, A. and Ghanbari, A. 2015. The effect of seed priming with iron and manganese nano fertilizers on germination, growth development and wheat seed quality, p. 15-23. Third International Conference on Applied Research in Agricultural Science. [In Persian with English Summary]
- Balouchi, H. and Ahmadpour Dehkordi, S. 2013. Effect of different seed priming on germination traits in Black cumin (*Nigella sativa*) under salinity stress. Journal of Plant Production Research. 20(3): 1-26. [In Persian with English Summary]
- Barzegar, A.B. 2008. Effect of salinity and drought stress on germination stimulation in Zoosh. (*Hyssopus officinalis* L.). Scientific Journal of Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 24(4): 505-499. [In Persian with English Summary]
- Bhattacharjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative stress, senescence and signal transduction in plants. Journal of Current Science, 89: 1113-1121.
- Bradford, J.K. 1995. Water relations in seed germination. In J. Kigel and G. Galili (ed.) Seed development and germination, Marcel Dekker, New York. P. 351-396. <https://doi.org/10.1201/9780203740071-13>
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Journal of Analytical Biochemistry, 72: 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Broadley, M., Brown, P.I.C., Rengel, Z. and Zhao, F. 2012. Function of nutrients: micronutrients. In: Marschner, P. (ed.) Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Elsevier, Amsterdam. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00007-8>
- Bybordy, A. and Mamedov, G. 2010. Evaluation of application methods efficiency of zinc and iron for canola (*Brassica napus* L.). Journal of Notulae Scientia Biologicae, 2(1): 94-103. <https://doi.org/10.15835/nsb213531>
- Egamberdieva, D. and Lugtenberg, B. 2014. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to

- alleviate salinity stress in plants. In *Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses*, Springer, New York, NY, 1: 73-96. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9466-9_4
- Ekhtiari, R., Mohebbi, H R. and Mansouri, M. 2011. Effect of sodium nanoparticles on fennel tolerance in early primrose in laboratory conditions. *Journal of Plant and Biomass Research*, 7: 55-62.
- Farooq, M., Hussain, M., Wakeel, A. and Siddique, K.M. 2015 Salt stress in maize: Effects, resistance mechanisms, and management. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35: 461-481. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0287-0>
- Fathiazad, F. and Hamedeyazdan, S. 2011. A review on (*Hyssopus officinalis* L.) Composition and biological activities Afr. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5: 1959-1966. <https://doi.org/10.5897/AJPP11.527>
- Fazeli Kakhki, S.F. and Beikzadeh, N. 2022. Effect of gibberellin and indole-3-butyric acid on germination indices and vigor of scallion (*Allium fistulosum* L.) seeds. *Iran Agricultural Research*. 41(1): 39-47.
- Garratt, L.C., Janagoudar, B.S., Anthony, P., Davey, MR., Power, J.B., and Lowe, K.C. 2002. Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. *Journal of Free Radical Biology and Medicine*, 33(4): 502-511. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00838-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00838-9)
- Hemeda H.M. and Klein B.P. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55: 184-186. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06048.x>
- Hoseinpour Askarian, E.S. Abbasi Surki, A. Danesh Shahraki, Abdolrazagh. 2019. Effect of seed priming with ZnSO₄ and FeSO₄ on dormancy break optimization and germination traits of Shallot (*Allium hirtifolium*). *Journal of Iranian Journal of Seed Research*, 6(1): 33-49. [In Persian with English Summary] <https://doi.org/10.29252/yujs.6.1.33>
- Hsu, C.C., Chen, C.L., Chen, J.J. and Sung, J.M. 2003. Accelerated aging-enhanced lipid peroxidation in bitter melon seeds and effects of priming and hot water soaking treatments. *Scientia Horticulturae*, 98: 201-212. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(03\)00002-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(03)00002-5)
- Ibrahim, E.A. 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*, 192: 38-46. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.011>
- Imran, M., Neuman, G. and Rombeld, V. 2008. Nutrient seed priming improves germination rate and seedling growth under submergence stress at low temperature. *Competition for Resources in a Changing World: New Drive for Rural Development*. University of Hohenheim.
- Jaleel, C.A., Gopi, R., Manivannan, P. and Panncerselvam, R. 2007. Antioxidative potentials as a protective mechanism in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. plants under salinity stress. *Turkish Journal of Botany*, 31(3): 245-251.
- Janda, T., Szalai, G., Tari I. and Paldi, E. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta*, 208: 175-180. <https://doi.org/10.1007/s004250050547>
- Janks, M.A. and P.M. Hasegawa. 2007. *Plant Abiotic Stresses*. Third Published. Purdue University Indiana, USA, P: 37-44.
- Johnson, S.E., Lauren, J.G., Welch, R.M. and Duxbury, J.M. 2005. A comparison of the effects of micronutrient seed priming and soil fertilization on the mineral nutrition of chickpea (*Cicer arietinum*), Lentil (*Lens culinaris*), Rice (*Oryza sativa*) and Wheat (*Triticum aestivum*) in Nepal. *Journal of Experimental Agriculture*, 41: 427-448. <https://doi.org/10.1017/S0014479705002851>
- Khalaj, H., Razazi, A., Nazaran, M.H., Labbafi, M.R. and B. Beheshti. 2009. Efficiency of a Nano-organic fertilizer with chelated iron in an external fertilizer on survival and quality

- characteristics of greenhouse cucumber. P. 808-813. In: 2nd National Conference on Application of Nanotechnology in Agriculture ,7 January 2009. Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran. [In Persian with English Summary]
- Khamdi, N., Nabi Pour, M., Roshanfekar, H. and Rahnama, A. 2017. Effect of seed priming on seedling growth and grain yield of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars in sowing time. Iranian Journal of Crop Science, 19(2): 116-131. [In Persian with English Summary]
- Khomri, E., Sarani, Sh. and Dehmardeh, M. 2007. Investigating the effect of salinity on seed germination and seedling growth in six species of medicinal plants. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant, 23(3): 331-339. [In Persian with English Summary]
- Mirshkari, B. 2013. Effect of seed priming with microelements on germination speed, seedling vigor and flower yield of marigold (*Calendula officinalis* L.). Journal of Agroecology, 9(4): 69-76. [In Persian with English Summary]
- Moosavi, A., Tavakkol-Afshari, R., Sharif-Zadeh, F. and Aynehband, A. 2009. Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase, and peroxidase activities of four amaranth cultivars. Journal of Food Agriculture and Environment, 7: 353-358.
- Murungu, F.S., Nyamugafata, P., Chiduzza, C., Clark, L.J. and Whalley, W.R. 2003. Effects of seed priming aggregate size and soil matric potential on emergence of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and maize (*Zea mays* L.). Journal of Soil and Tillage Researches, 74: 161-168. <https://doi.org/10.1016/j.still.2003.06.003>
- Mwando, E., Han, Y., Angessa, T.T., Zhou, G., Hill, C.B., Zhang, X. Q. and Li, C. 2020. Genome-wide association study of salinity tolerance during germination in barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Frontiers in Plant Science, 11-118. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00118>
- Najafi Disfani, M., Mikhak, A. Kassae. M.Z. and Maghari. A. 2016. Effects of nano Fe/SiO₂ fertilizers on germination and growth of barley and maize. Archives of Agronomy and Soil Science, 63(6): 817-826. <https://doi.org/10.1080/03650340.2016.1239016>
- Noorafkan, H. and Shahmoradi, M. 2011. Preventive effect of iron nano clay and salicylic acid on germination and lentil growth under salt stress. Journal of Modern Science in Sustainable Agriculture, 10(2): 65-75. [In Persian with English Summary]
- Nourafcan, H. and Shahmoradi, M. 2014. The effect of seed priming by salicylic acid and nano-iron chelate on germination and initial growth of lentil under salinity stress. Journal of Agroecology, 10(2): 65-75. [In Persian with English Summary]
- Omidbeigi, R. 2000. Production and processing approaches of medicinal plants. P, 3-11, Mashhad, Astan Quds Razavi Publishing House. [In Persian]
- Omidi Nargesi, S., Zahedi, M., Eshghizadeh, H. and Khoshgoftarmanesh, A. 2015. Screening wheat genotypes in response to ordinary chelate and nano-iron chelate fertilizers in nutrient solution. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 6(23): 123-133. [In Persian with English Summary] <https://doi.org/10.18869/acadpub.ejgcst.6.3.123>
- Parmoon, G., Ebadi, A., Ghaviazam, A. and Miri, M. 2013. Effect of seed priming on germination and seedling growth of Chamomile under salinity. Electronic Journal of Crop Production, 6(3): 145-164. [In Persian with English Summary]
- Parmoon, G., Ebadi, A. and Aghbolagh, M.A. 2015. Effects of salinity stress on some characteristics of germination and seedling growth of milk thistle (*Silybum marianum*) and thistle (*Echinops candidus*). Iranian Journal of Seed Science and Technology, 4(1): 39-52. [In Persian with English Summary]
- Peyvandi, M., Jamkani., Kamali Jamakani, Z. and Mirza, M. 2012. The effect of nano Fe chelae and Fe chelae on the growth and activity of some antioxidant enzymes of *Satureja hortensis*. Journal of New Cellular and Molecular Biotechnology, 2: 25-32. [In Persian with English Summary]

Summary]

- Rafiei, H., Mehrafrin, A., Naghdi Badi, H., Taherian, N. 2012. Effect of iron nanoclatin on germination parameters of seed and chlorophyll Basilicum (*Ocimum basilicum* L.). Iranian Congress of Agronomy and Plant Breeding, 2: 1-5. [In Persian with English Summary]
- Rahimi, Z. and Kafi, V. 2006. Evaluation of cardinal temperatures and the effect of different temperature levels on germination indices of purslane (*Portulaca olercea* L.). Journal of Plant Protection, 24(1):80-86. [In Persian with English Summary]
- Rahnesan, Z., Nasibi, F. and Moghadam, A.A. 2018. Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. Journal of Plant Interact, 13: 73-82. <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1424355>
- Shahbazi, A. and Golkar, P. 2016. Effects of salt stress on antioxidant activity and seedling traits of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. Journal of Plant Process and Function, 4: 93-104. [In Persian with English Summary]
- Soltani, A., Gholipour, M. and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Journal of Environmental and Experimental Botany, 55: 195-200. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.10.012>
- Srivastava, A., Awasthi, K., Kumar, B., Misra, A. and Srivastava, S. 2018. Pharmacognostic and Pharmacological Evaluation of (*Hyssopus officinalis* L.) (*Lamiaceae*) Collected from Kashmir Himalayas, India. Journal of Pharmacognosy, 10(4): 690-693. <https://doi.org/10.5530/pj.2018.4.114>
- Uçarlı, C. 2020. Effects of salinity on seed germination and early seedling stage. P. 211-232. In Wang, D. Y. Chen. S. Saud. C. Wu. S. Fahad (ed.) Abiotic Stress in Plants. Springer. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93647>
- Verma, S.K., Bjpai, G.C., Tewari, S.K. and J. Singh. 2005. Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeon pea. Legume Research, 28(2): 143-145.
- Zheljazkov, V.D., Astatkie, T. Hristov, A.N. 2012. Lavender and hyssop productivity, oil content, and bioactivity as a function of harvest time and drying. Journal of Industrial Crops and Products, 36: 222-228. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.09.010>

Research Article

Investigating the effects of nano and micro iron chelate to alleviate salinity stress damages at hyssop (*Hyssopus officinalis*) germination and seedling stages

Bijan Shadkam¹, Mohammed Hussain Gharineh², Amin Lotfi Jalalabadi^{3*}, Seyed Amir Mousavi⁴

Extended Abstract

Introduction: Salinity stress is one of the important damaging factors for seed germination which interrupts the uptake of some nutrients by lowering soil water potential and causing ion toxicity due to salt accumulation inside the seeds. Since hyssop seeds are sensitive to salinity stress in the early stages of seed germination, it is necessary to investigate seed enhancement methods to improve seed germination in this species under saline conditions. In this research, the effects of seed priming using iron were studied on hyssop seed germination characteristics under salinity stress conditions.

Material and Methods: This research was conducted as two separate factorial experiments in complete random design with three replications. The treatments included five levels of iron nano-chelate and micro-chelate (zero, 50, 100, 200, and 400 mg/l) and six levels of salinity (zero, 50, 100, 150, 200, and 250 mM) and two priming durations. It included 12 and 24-hours.

Results: The results showed that with the increase in salinity, the germination characteristics declined so that at 200 mM of salinity, seedling growth declined significantly and ceased completely at 250 mM level. Application of iron micro-chelate under non-stress conditions did not have any positive effect on hyssop germination, and the use of distilled water for 12 hours worked better than iron nano-chelate. No significant difference was observed among the different concentrations in micro-iron treatment. Application of nano and micro chelate at 100 and 150 mM salinity stress had a stronger effect so that nano iron chelate concentrations of 200 mg/L for 12 hours and 100 and 200 mg per liter concentrations of iron micro chelate had the highest germination, seedling growth, and seed germination in 24 hours. The amount of soluble protein and peroxidase and catalase activity increased at 50 mg/L salinity but decreased at higher salinities. Also, pretreatment of seeds with an iron micro-chelate and nano iron chelate concentration of 200 mg/liter intensified this process.

Conclusion: Conclusion: The results of this study showed that seed germination of hyssop is highly declined due to salinity stress, so the seedlings were unable to grow at a salinity concentration of 200 mg/L. Moreover, germination does not occur at 250 mg/liter salinity. Also, seed pretreatment of this plant is not justifiable under non-stress and mild stress conditions, and pretreatment with iron chelate had negative effects and was ineffective at best. However, iron chelate application at high salinity levels- especially in the nanoscale with a concentration of 200 mg/liter for 12 hours- is effective in reducing the effect of salinity.

Keywords: Iron, Seed pretreatment, Germination percentage, Hyssop, Medicinal plant

Highlights:

- 1- The role of the iron element was investigated by seed pretreatment method to alleviate the negative effects of salinity stress on hyssop seed germination characteristics.
- 2- The nanotechnology used in the production of iron fertilizer and its effect on improving the germination characteristics of hyssop under salinity stress were investigated.

¹ A Graduate of a Master's Degree, Department of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Khuzestan, Iran

² Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Khuzestan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Khuzestan, Iran

³ Associate Professor, Department of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Khuzestan, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Khuzestan, Iran

