"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد دوازدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲
(ص ۶۰-۴۱)
*مقاله پژوهشی*

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 12, No.: 1, Spring 2023
(pp: 41-60)
DOI: 10.22092/ijsst.2022.359765.1447
*Research Article*

# بهبود جوانه‌زنی، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ با کاربرد نانواکسید آهن سنتز شده از گیاه پونه کوهی (*Origanum vulgare*)

**مهدی افروز[1]، پریسا شیخ‌زاده[2*]**

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲. دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۳)

**چکیده**

به‌منظور ارزیابی تأثیر نانواکسید آهن سنتز شده از پونه کوهی بر جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن (صفر، ۱۲۰، ۲۴۰، ۳۶۰ و ۴۸۰ میلی-گرم در لیتر) و روش کاربرد (پیش‌تیمار بذر و افزودن به بستر کشت) بود. نتایج نشان داد که نانواکسید آهن تأثیر مثبت و معنی‌داری بر جوانه‌زنی، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت داشت. در بین غلظت‌های مورد استفاده، بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۲۹/۶۶ روز)، شاخص قدرت (۴۳۱۶) و طول (۴۵/۱۵ سانتی‌متر) و وزن خشک (۰/۸۲۹ گرم) گیاهچه با کاربرد ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن حاصل شد. از میان روش‌های کاربرد نانوذره، پیش‌تیمار کردن بذرها نسبت به روش افزودن به بستر کشت، تأثیر بیشتری در بهبود جوانه‌زنی، رشد گیاهچه‌ها و افزایش شاخص قدرت بذر داشت. با کاربرد ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به صورت پیش‌تیمار، سبب شد تا بیشترین درصد جوانه‌زنی (۱۰۰ درصد)، شاخص هم‌زمانی (۰/۲۵۶)، متوسط جوانه‌زنی روزانه (۶/۳۳ روز) و کمترین میانگین مدت جوانه‌زنی (۲/۳۲ روز) حاصل شود. در صورت افزودن نانوذره به بستر کشت اگر چه نسبت به روش پیش‌تیمار بذر تأثیر کمتری داشته اما افزودن ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به بستر کشت نیز موجب افزایش معنی‌دار جوانه‌زنی بذر (۲۹/۷ درصد) ذرت گردید. کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن در هر دو روش کاربرد نانوذره موجب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌ها گردید. بنابراین، کاربرد غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به‌صورت پیش‌تیمار بذر جهت بهبود جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت می‌توان پیشنهاد نمود.

**کلمات کلیدی:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پیش‌تیمار بذر، درصد جوانه زنی، سرعت جوانه‌زنی

# Improving seed germination, growth, and biochemical characteristics of corn seedling via the application of iron oxide nanoparticles synthesized from oregano (*Origanum vulgare*)

**M. Afrouz[1], P. Sheikhzadeh[2*]**

1-Ph.D Student of Crop Physiology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil Iran.
2- Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
(Received: Aug. 20, 2022 – Accepted: Sept. 14, 2022)

**Abstract**

In order to evaluate the effect of iron nanooxide synthesized from oregano on seed germination, growth and biochemical characteristics of hybrid single cross 704 corn seedlings, an experiment was carried out in a randomized complete block design with three replications at the University of Mohaghegh Ardabili in 2021. Experimental factors included synthesized iron oxide nanoparticles (0, 120, 240, 360, and 480 mg $L^{-1}$) and the application methods of iron oxide nanoparticles (seed priming and adding to the planting medium). The results showed that iron oxide nanoparticles had a positive and significant effect on seed germination, growth, and biochemical characteristics of corn seedlings. Among the concentrations used, the highest germination rate (29.66 seed/day), vigor index (4316), seedling dry weight (45.15 cm), and length (0.829 gr) were achieved with the application of 240 mg $L^{-1}$ of iron oxide nanoparticles. Among the nanoparticle application methods, seed priming compared to the method of adding them to the planting medium had a greater effect on improving germination, seedling growth, and increasing the seed vigor index. Using 240 mg $L^{-1}$ of iron oxide nanoparticles as priming resulted in the highest germination percentage (100%), germination synchrony index (0.256), mean daily germination (6.33 day), and the lowest mean germination time (2.32 day). In the case of adding nanoparticles to the planting medium, although it had less effect than the priming method, adding 360 mg $L^{-1}$ of iron oxide nanoparticles to the planting medium also caused a significant increase in corn seed germination (29.7%). The use of different concentrations of iron oxide nanoparticles in both methods of nanoparticle application caused a significant increase in the activity of antioxidant enzymes in seedlings. Therefore, the use of a concentration of 240 mg $L^{-1}$ of iron oxide nanoparticles as a priming can be suggested to improve seed germination, growth, and biochemical characteristics of corn seedlings.

**Keywords:** Antioxidant enzymes activity, Seed priming, Germination percentage, Germination rate.

* Email: sheikhzadehmp@gmail.com

## مقدمه

ذرت با نام علمی *Zea mays* L.، به دلیل قدرت سازگاری بالا با شرایط اقلیمی گوناگون، به سرعت در تمام دنیا گسترش یافته و جایگاه سوم را بعد از گندم و برنج از نظر سطح زیر کشت به خود اختصاص داده است. به‌دلیل سهولت کشت و کار، قابلیت انبارداری بالا و برخورداری از عملکرد بالا این گیاه در مقایسه با سایر غلات، موجب شده تا توجه زیادی به زراعت این گیاه ارزشمند شود (Golbashy, 2010).

یکی از مراحل حساس و مهم در چرخه زندگی گیاهان، جوانه‌زنی بوده که به عنوان اولین مرحله‌ی نموی، تأثیر قابل توجهی بر رشد و توسعه گیاه دارد. جوانه‌زنی مطلوب و در پی آن استقرار سریع و یکنواخت گیاهچه‌ها می‌تواند راه را برای تولید محصولی قابل قبول از نظر کمی و کیفی هموار ساخته و موجب بهبود عملکرد گردد (Zhang *et al.*, 2021). در واقع استفاده از بذرهایی با کیفیت بالا در گیاهان زراعی از جمله ذرت این امکان را برای کشاورزان فراهم می‌کند که بذرهای کشت شده، از بالاترین درصد و سرعت سبز شدن برخوردار بوده و گیاهچه‌ها نیز استقرار مطلوب و یکنواختی در مزرعه داشته باشند که این ویژگی منجر به تولید بوته‌های قوی با عملکرد بالا می‌شود (Li *et al.*, 2021).

با توجه به کاربرد گیاه ذرت در صنایع گوناگون و پیشرفت‌های حاصل شده در تکنولوژی بذر و مدیریت زراعی، استفاده از راهکارهایی که ضمن اقتصادی و مقرون به‌صرفه بودن، کارایی مناسبی در تولید بذرهای با کیفیت بالا داشته باشد، دارای اهمیت کلیدی است. یکی از این روش‌ها استفاده از عناصر کم‌مصرف می‌باشد. عناصر کم‌مصرف عناصری هستند که گیاه به میزان کمی به آن‌ها نیاز داشته و به منظور بهبود کمی و کیفی محصولات کشاورزی استفاده می‌شوند (Mimmo *et al.*, 2014). عناصری مانند آهن (Fe)، روی (Zn)، منگنز (Mn)، بُر (B)، مس (Cu)، مولیبدن (Mo) و کلر (Cl) از عناصر کم‌مصرف و یا عناصر ریزمغذی هستند (Kouhbanani *et al.*, 2019).

در بین عناصر کم‌مصرف، عنصر آهن بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیاء بوده و در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله بیوسنتز کلروفیل دخالت دارد (Mimmo *et al.*, 2014). کاربرد آهن سبب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، یکنواختی سبز شدن و بهبود رشد گیاهچه از طریق افزایش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌شود (Saadat and Ehteshami, 2016). در مطالعات انجام شده روی بذر سویا گزارش شده که بذور تیمار شده با آهن، توانایی جوانه‌زنی و سبز شدن بالاتری داشته و گیاهچه‌های تولید شده از کیفیت مطلوب‌تری برخوردار بودند (Jalil and Movahedi, 2012). محتوای آهن موجود در خاک معمولا بالا است، اما بخش بزرگی از این آهن در خاک تثبیت شده و قابل جذب نیست، به همین دلیل کمبود آهن در میان بسیاری از محصولات زراعی مشاهده می‌شود. با توجه به نقش عنصر آهن در جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها، استفاده از تکنیک‌هایی که موجب افزایش میزان جذب آهن می‌شود از اهمیت زیادی برخوردار است.

نانو ذرات به واسطه اندازه بسیار کوچک و نسبت حجم به سطح بالا، که منجر به تفاوت‌های فیزیکی و شیمیایی (از قبیل خواص مکانیکی، خواص فضایی و بیولوژیکی، جذب نور و نقطه ذوب) در خواص آن‌ها در مقایسه با مواد بالکی شده، مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Lin *et al.*, 2018). همچنین از کاربردهای نانوذرات در بخش کشاورزی می‌توان به نقش تغذیه‌ای آن‌ها به صورت نانوکودها اشاره کرد که موجب رهایش بهینه و افزایش کارایی جذب عناصر توسط گیاه می‌شود (Ju *et al.*, 2020). در مرحله جوانه‌زنی و سبز شدن کاربرد نانوذرات تأثیر مثبت و معنی‌داری بر شاخص‌های جوانه‌زنی داشته و سبب افزایش درصد و سرعت

جوانه‌زنی و استقرار مطلوب گیاهچه‌ها می‌شوند (Esper Neto *et al*., 2021). روش‌های گوناگونی به منظور سنتز نانوذرات موجود است، اما روش سنتز نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهان که سنتز سبز نامیده می‌شود، یک روش نوین، بسیار ساده، اقتصادی و دوست‌دار محیط زیست است. در واقع، سنتز سبز با کاهش و حذف مواد سمی و ضایعات خطرناک، به محیط زیست کمک می‌کند (Patiño-Ruiz *et al*., 2020). این روش، سنتز نانوذرات در اندازه و شکل معین را امکان‌پذیر کرده و مسیر جدیدی را به نانوبیوتکنولوژی مدرن اضافه می‌کند. همچنین جایگزین مؤثری برای روش‌های شیمیایی و فیزیکی متعارف می‌باشد (Mehta *et al*., 2017). طی تحقیقات انجام شده توسط پژوهشگران، اکثر گیاهان سنتز شده به روش سنتز سبز، گیاهان دارویی بوده زیرا این گیاهان دارای خواص ضدمیکروبی هستند. یکی از گیاهان دارویی پونه کوهی (*Origanum vulgare*) بوده که این گیاه از خانواده نعناعیان است (Seirafy and Sobhanirad, 2017). از برگ، گل و ساقه این گیاه در طب سنتی و برای درمان تهوع، برونشیت و بی‌اشتهایی استفاده می‌شود (Nozohor *et al*., 2018). عصاره پونه کوهی به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فلاونوئیدی از جمله ایزوریتین، ویسینین، هیپولیتین و لوسیونین سبب شده تا از این گیاه جهت سنتز سبز استفاده شود (Tavosi *et al*., 2018).

نانوذرات سنتز شده به روش سنتز سبز را می‌توان به‌صورت محلول‌پاشی روی بوته‌ها (Abbasifar *et al*., 2020)، افزودن به بستر کشت (Rostamizadeh *et al*., 2020) و یا به‌صورت تیمارهای پیش از کاشت بذر (El-Temsah and Joner, 2012) استفاده کرد. اعمال تیمارهای پیش از کاشت بذر، می‌تواند باعث بهبود جوانه‌زنی و رشد و نمو در ابتدای دوره زیستی و استقرار بهتر گیاهچه‌ها شود، که در این راستا می‌توان به پرایمینگ بذر (پیش‌تیمار بذر) اشاره کرد که یک فناوری با هزینه کم و مفید برای بهبود قدرت و کیفیت بذر است (Finch-Savage and Footitt, 2017). در واقع پرایمینگ بذر باعث می‌شود تا برخی فعالیت‌های متابولیکی قبل از جوانه‌زنی شروع شده، در نتیجه موجب بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی و افزایش رشد گیاهچه‌ها گردد (Ocvirk *et al*., 2021). در تعدادی از مطالعات به تأثیر مثبت کاربرد عناصر ریزمغذی به شکل نانوذره (سنتز سبز) بر بهبود جوانه‌زنی بذر، سبز شدن و استقرار یکنواخت و سریع گیاهچه‌ها در لوبیا سبز (Aslani *et al*., 2018) و ریحان (Abbasifar *et al*., 2020) اشاره شده است.

با توجه به اهمیت ذرت به‌عنوان یکی از محصولات استراتژیک کشور در تغذیه انسان و دام و تأثیر تولید بذرهایی با قدرت و کیفیت بالا بر تولید بوته‌های قوی و با عملکرد زیاد و از طرفی به‌دلیل نقش نانواکسید آهن در بهبود جوانه‌زنی، رشد و استقرار گیاهچه‌ها، موجب شد تا اثر این نانوذره به‌صورت پیش‌تیمار و کاربرد در بستر کاشت مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر نانواکسید آهن سنتز شده به روش سنتز سبز از عصاره آبی گیاه پونه کوهی بر جوانه‌زنی، رشد و صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف کاربرد نانواکسید آهن سنتز شده به روش سنتز سبز بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های ذرت، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۰ در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل غلظت‌های نانواکسید آهن سنتز شده (صفر (شاهد)، ۱۲۰، ۲۴۰، ۳۶۰ و ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر) و روش کاربرد نانوذره (پیش‌تیمار کردن و افزودن به بستر کشت) بودند. منبع گیاهی مورد استفاده در این مطالعه، برگ‌های خشک شده گیاه پونه کوهی

(*Origanum vulgare*) تهیه شده از مرکز گیاهان دارویی وابسته به پارک علم و فناوری استان اردبیل بود.

جهت بیوسنتز نانواکسید آهن از پونه‌کوهی، ابتدا برگ‌های خشک شده را آسیاب کرده و عمل عصاره‌گیری به روش آبی انجام گرفت. برای این منظور ابتدا مقدار ۱۰ گرم از پودر خشک شده گیاه را به ۱۰ میلی‌لیتر آب اضافه نموده و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده‌شد. در نهایت محلول مورد نظر در بشر ریخته شده و در انکوباتوری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار روز قرار داده شد تا خشک شوند (Patiño-Ruiz *et al*., 2020). در ادامه برای بیوسنتز نانواکسید آهن، مقدار ۳/۳۳ گرم از کلرید آهن (III) هگزاهیدرات ($FeCl_3.6H_2O$) و ۱/۵۹ گرم از کلریدآهن (II) تتراهیدرات ($FeCl_2.4H_2O$) به داخل بالن سه دهانه ریخته و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه گردید. در ورودی یک دهانه‌ی بالن یک دماسنج قرار داده و در ادامه از طریق دهانه‌ی دیگر بالن گاز نیتروژن به درون ظرف اضافه گردید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه محتویات ظرف در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد هم‌زده شد، و ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره آبی گیاه به محلول اضافه گردید. پس از آن میزان ۶۰ میلی‌لیتر سود یک مولار به آن اضافه شده و بعد از تغییر رنگ محلول محتویات بالن به بشر انتقال داده شد و با استفاده از آهنربای قوی، نانوذرات سنتز شده از کف بشر جمع‌آوری و مورد شست‌وشو قرار گرفت (Amodeo *et al*., 2022). به‌منظور بررسی خصوصیات مورفولوژیکی نانواکسید آهن از دستگاه‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد.

بذرهای ذرت گواهی شده رقم هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ تهیه شده در سال ۱۳۹۹ از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل به‌صورت تصادفی به دو قسمت تقسیم شدند. یک قسمت از بذرها قبل از انجام آزمون جوانه‌زنی با غلظت‌های صفر، ۱۲۰، ۲۴۰، ۳۶۰ و ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن سنتز شده، پیش‌تیمار شدند. به منظور پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت، ابتدا محلول نانواکسید آهن در غلظت‌های مختلف تهیه شد. به این ترتیب که مقدار مشخص شده نانو ذره در یک لیتر آب ریخته و برای تهیه سوسپانسیون یکنواخت به مدت ۳۰ دقیقه در هموژنایزر فراصوت[1] قرار داده شد. قبل از پیش‌تیمار نمودن، بذرهای ذرت با محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی شده و سپس با آب مقطر به‌طور کامل شست‌وشو داده شدند (Esper Neto *et al*., 2021). جهت پیش‌تیمار بذرهای ذرت با غلظت صفر (شاهد) از آب مقطر استفاده شد. جهت اعمال پیش‌تیمار، بذرهای ضدعفونی شده به مدت دو ساعت در محلول‌های تهیه شده با غلظت‌ها مختلف نانواکسید آهن، قرار داده شدند. سپس بذرهای پیش‌تیمار شده تا رسیدن به رطوبت اولیه در محیط آزمایشگاه خشک شدند.

جهت انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد سه تکرار ۵۰ بذری به‌طور تصادفی از هر تیمار بذری (بذرهای پیش‌تیمار شده و بذرهای شاهد (بدون پیش‌تیمار)) جدا و در داخل پتریدیش به روش بالای کاغذ[2] کشت شدند. برای تیمارهای افزودن محلول به بستر کشت، مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از محلول‌های نانواکسید آهن تهیه شده (غلظت‌های صفر، ۱۲۰، ۲۴۰، ۳۶۰ و ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر) به پتری‌ها اضافه شدند. برای بذرهای پیش‌تیمار شده نیز از آب مقطر به مقدار ۱۵ میلی‌لیتر استفاده گردید. سپس نمونه‌ها به ژرمیناتوری با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. شمارش بذور هر ۱۲ ساعت یکبار به‌مدت هفت روز انجام گردید و بذوری جوانه‌زده تلقی شدند که ریشه‌چه آن‌ها در حدود دو میلی‌متر از پوسته بذر خارج شده بودند. در پایان این آزمون، تعداد گیاهچه‌های عادی شمارش و درصد جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی

[1] Ultrasound
[2] Top of paper

(Ellis and Roberts, 1981)، متوسط جوانه‌زنی روزانه (Hunter *et al.*, 1984)، سرعت جوانه‌زنی، مدت زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی (Yari *et al.*, 2012)، و شاخص قدرت بذر (Vashisth and Nagarajan, 2010)، طول و وزن خشک گیاهچه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. طول گیاهچه‌های نرمال توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد. جهت تعیین وزن خشک گیاهچه، گیاهچه‌های نرمال از هر تیمار و تکرار در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و پس از آن با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت یک هزارم گرم توزین شدند. شاخص قدرت بذر نیز از حاصل ضرب طول گیاهچه و درصد جوانه‌زنی بذرها محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیای ابتدا گیاهچه‌های نرمال هفت روزه انتخاب و عصاره آنزیمی از نمونه‌های گیاهی برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز تهیه گردید. برای تهیه عصاره آنزیمی از روش چانگ و کوآ (Chang and Koa, 1998) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش چانس و ماهلی (Chance and Maehly, 1955) بر پایه تشکیل تتراگایاکول از گایاکول در حضور پراکسید هیدروژن و آنزیم گایاکول اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ابی (Aebi, 1984) اندازه‌گیری شد که بر پایه تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز استوار است. میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز توسط روش کار و میشرا (Kar and Mishra, 1976) تعیین شد.

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، کلیه تجزیه‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴) و همچنین مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. رسم شکل و نمودارها با بهره‌گیری از نرم‌افزار Excel انجام پذیرفت.

## نتایج و بحث

### اندازه ذرات نانواکسید آهن

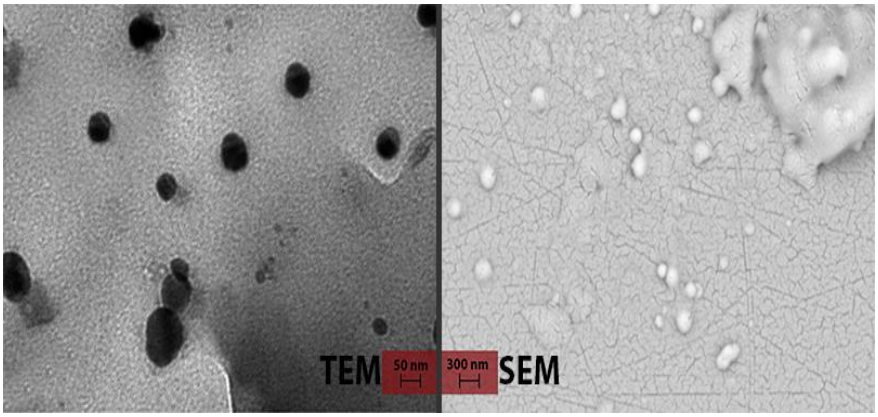
به منظور بررسی مورفولوژی و اندازه نانوذرات اکسیدآهن تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نانواکسید آهن سنتز شده در شکل ۱ نشان داده شده است. طبق تصاویر به‌دست آمده با میکروسکوپ الکترونی روبشی نانواکسید آهن بصورت مکعبی و کروی هستند. در واقع از این شکل برای تأیید اندازه نانوذرات استفاده می‌شود. در واقع اندازه نانواکسید آهن با توجه به تصویر SEM در بزرگنمایی ۳۰۰ نانومتر، بین ۲۵ تا ۳۲ نانومتر نیز نشان داده شده است. همچنین برای تعیین کیفیت و ویژگی‌های نانوذرات از دستگاه TEM استفاده شد. از روی تصاویر گرفته شده ثابت شد که نانوذرات اکسید آهن سنتز شده نمونه، در بزرگنمایی ۵۰ نانومتر، در حدود ۲۷ نانومتر می‌باشد که در محدوده اندازه نانوذرات است.

### درصد جوانه‌زنی

یکی از رایج‌ترین آزمایش‌ها جهت تعیین کیفیت و قدرت بذرها، ارزیابی خصوصیات جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌ها است. زیرا این مراحل، حساس‌ترین مراحل در چرخه زندگی گیاهان است به‌طوری‌که نحوه جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها تعیین‌کننده سرنوشت گیاه در طول رشد بوده که در نهایت روی عملکرد گیاه از نظر کمی و کیفی تاثیر گذار می‌باشد (Babaei *et al.*, 2019).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای نانواکسید آهن و روش کاربرد و اثرمتقابل نانواکسید آهن × روش‌های کاربرد بر صفت درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج گویای آن است که در هر دو روش کاربرد نانوذره (افزودن به بستر کشت و پیش‌تیمار کردن) با کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن درصد جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار عدم کاربرد نانوذره بود (شکل ۲). در بین تیمارها،

پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن سبب شد تا بیشترین درصد جوانه‌زنی بذرها (۱۰۰ درصد) حاصل گردد که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه داشت.




شکل ۱- تصاویر TEM و SEM نانواکسید آهن ($Fe_3O_4$)

Figure 1- TEM and SEM images of iron oxide nanoparticles ($Fe_3O_4$)

در روش کاربرد نانوذره در بستر کشت، بیشترین درصد جوانه‌زنی با کاربرد غلظت ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن حاصل شد. کاربرد غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر به روش پیش‌تیمار بذر و غلظت ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به روش کاربرد در بستر کشت موجب افزایش درصد جوانه‌زنی به‌ترتیب ۲۵ و ۲۹/۸ درصد نسبت به شاهد گردید (شکل ۲). با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان چنین استدلال کرد که کاربرد نانواکسید آهن به‌صورت پیش‌تیمار و افزودن به بستر کشت سبب بهبود قدرت بذر ذرت گردیده و این امر منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی بذرها شد. تیمار بذر برنج با عناصر کم‌مصرفی همانند آهن به‌فرم نانوذره تأثیر مثبتی بر روی جوانه‌زنی بذر این گیاهان داشته است (Ali *et al.*, 2021). در روش کاربرد نانواکسید آهن به‌صورت پیش‌تیمار بذر تا غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر و در روش کاربرد در بستر کشت تا غلظت ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر درصد جوانه‌زنی افزایش و در ادامه با افزایش غلظت نانوذره، درصد جوانه‌زنی کاهش یافت. با وجود این کاهش، درصد جوانه‌زنی بذرهای تیمار شده با غلظت‌های بالای نانواکسید آهن نیز به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد به‌دست آمد. کمترین درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت مربوط به تیمار شاهد (عدم کاربرد نانواکسید آهن) بود (شکل ۲). بر اساس نتایج احتمال داده می‌شود که نانوذرات قادر به نفوذ از پوشش بذر و تأثیر بر جوانه‌زنی آن باشند. به‌عبارتی احتمالاً نانواکسید آهن با توجه به اندازه کوچک ذرات می‌تواند توسط بذر جذب و بر روند رشد و نمو و افزایش درصد جوانه‌زنی آن تأثیر بگذارد.از طرفی، در بین روش‌های کاربرد نانوذره، پیش‌تیمار نمودن بذرها نسبت به کاربرد در بستر کشت، از طریق کاهش مدت لازم برای جذب آب، منجر به بهبود جوانه‌زنی، سبز شدن و استقرار سریع گیاهچه ذرت شده است. در واقع به‌نظر می‌رسد پیش‌تیمار نمودن بذرها با ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن برای به حداکثر رسیدن پویایی اندوخته‌های غذایی موجود در بذر برای جوانه‌زنی سریع‌تر مناسب باشد که در نهایت منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود. درصد جوانه‌زنی گیاهان تیره نعناعیان مانند بادرشبو[1] و بادرنجبویه[2] نیز با افزایش غلظت نانوذره

[1] *Dracocephalum moldavica*
[2] *Melissa officinalis*

آهن روند کاهشی را نشان داد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (Talei *et al*., 2018).

جدول ۱- تجزیه واریانس خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد آن

Table 1- Analysis of variance of germination characteristics of corn seeds under the influence of different concentrations of iron oxide nanoparticles (Nano-$Fe_3O_4$) and its application methods (AM)

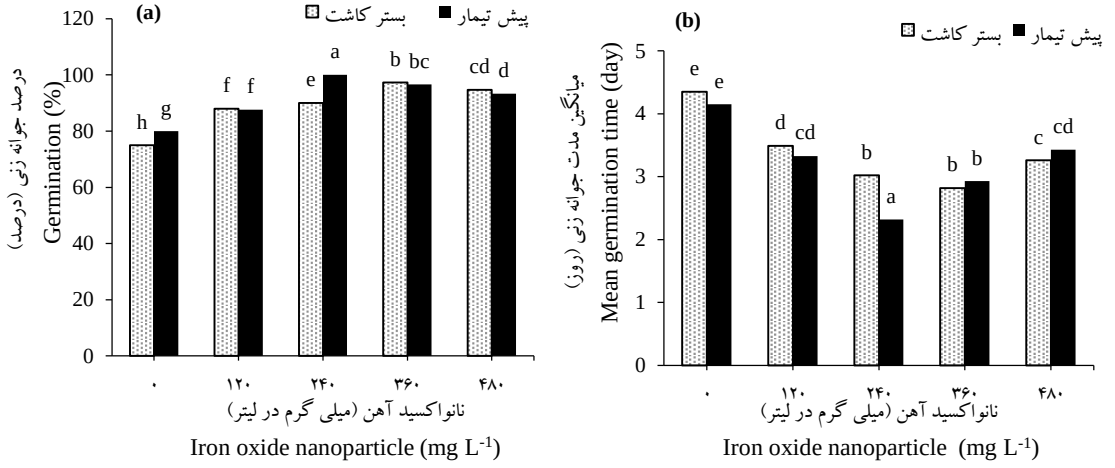
| منابع تغییرات S.O.V. | درجه آزادی DF | میانگین مربعات Mean squares | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | درصد جوانه‌زنی Germination percentage | میانگین مدت جوانه‌زنی Mean germination time | شاخص همزمانی جوانه‌زنی Germination synchrony index | متوسط جوانه‌زنی روزانه Mean daily germination | سرعت جوانه‌زنی Germination rate | زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی $D_{50}$ | شاخص قدرت بذر Vigor index | طول گیاهچه Seedling length | وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight |
| نانواکسید آهن Nano-$Fe_3O_4$ | 4 | 163.15** | 0.901** | 0.0049** | 3.77** | 50.24** | 0.739** | 7057724.57** | 516.18** | 0.171** |
| روش کاربرد Application methods | 1 | 15.04** | 0.340** | 0.0020** | 0.075* | 17.10** | 0.322* | 1100713.34** | 74.56** | 0.052** |
| نانواکسید آهن× روش کاربرد Nano-$Fe_3O_4$× AM | 4 | 7.93** | 0.627* | 0.00071* | 0.014** | 1.74ns | 0.095ns | 55058.83ns | 14.69ns | 0.007 ns |
| خطای آزمایش Error | 20 | 0.208 | 0.018 | 0.000195 | 0.016 | 0.942 | 0.063 | 108362.09 | 12.17 | 0.0027 |
| ضریب تغییرات CV(%) | - | 1.48 | 4.36 | 7.14 | 2.28 | 3.74 | 13.87 | 9.53 | 9.27 | 8.32 |

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد می‌باشند.

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

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد و اثر متقابل نانواکسید آهن × روش کاربرد بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذر ذرت معنی‌دار بود (جدول ۱). براساس شکل ۲ با کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن در هر دو روش کاربرد (افزودن به بستر کشت و پیش‌تیمار نمودن بذر) میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای ذرت به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار عدم کاربرد نانوذره کاهش یافت. در بین تیمارهای مختلف، بیشترین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی با ۴/۳۵ روز مربوط به تیمار شاهد بود. پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن موجب کاهش بیشتر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذرها گردید که به‌طور معنی‌داری کمتر از میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذرها در سایر تیمارهای مورد مطالعه بود. اما از نظر این صفت در سایر غلظت‌های مورد استفاده، بین دو روش کاربرد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲). کمترین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی در بین روش‌های کاربرد نانوذره، پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن (۲/۳۲ روز) بود که به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود. در روش افزودن نانواکسید آهن به بستر کشت کمترین میانگین مدت جوانه‌زنی با ۲/۸۲ روز مربوط به کاربرد غلظت ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر بود که اختلاف معنی‌داری با غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نداشت (شکل ۲). کاربرد غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید

آهن به روش پیش‌تیمار موجب کاهش ۴۴/۱ درصدی و کاربرد غلظت ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به روش افزودن به بستر کشت سبب کاهش ۳۵/۲ درصدی میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای ذرت گردید. درواقع سرعت جوانه‌زنی رابطه معکوسی با میانگین مدت زمان جوانه‌زنی دارد، به‌نحوی‌که هر چه سرعت جوانه‌زنی افزایش یابد مدت زمان لازم برای جوانه‌زدن بذر نیز کاهش پیدا می‌کند. میانگین مدت جوانه‌زنی همچنین با کیفیت توده بذری رابطه عکس دارد، بنابراین هر چه میانگین مدت جوانه‌زنی بذر کمتر باشد، نمونه بذری از کیفیت بیشتری برخوردار است. می‌توان بیان نمود که نانواکسید آهن با بهبود فرایند جوانه‌زنی موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی (جدول ۲) و کاهش میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (شکل ۲) گردید، که این موضوع نشان‌دهنده افزایش قدرت بذر ذرت با کاربرد نانواکسید آهن است.




شکل ۲- میانگین درصد جوانه‌زنی (a) و میانگین مدت جوانه‌زنی (b) بذرهای ذرت تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد آن. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

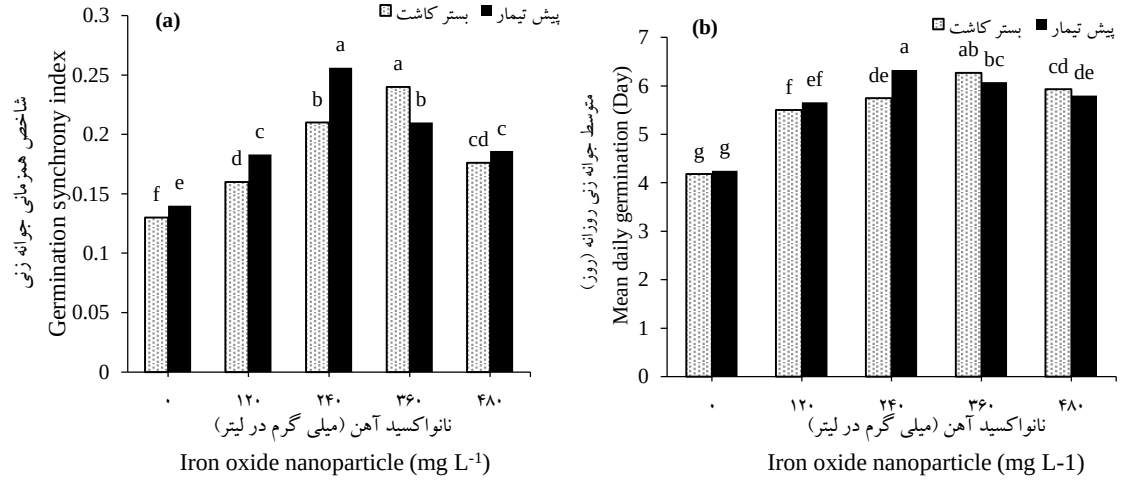
Figure 2- Mean germination percentage (a) and mean germination time (b) of corn seeds under different concentrations of iron oxide nanoparticles and its application methods.
Similar letters indicate no significant difference between means.

در واقع کاربرد نانواکسید آهن سنتز شده با بهره‌گیری از روش افزودن به بستر کشت و پیش‌تیمار نمودن بذر، این بستر را برای بذر فراهم می‌کند تا با افزایش فعالیت متابولیکی که طی جذب آب اتفاق می‌افتد و باعث می‌شود بذور تیمار شده از لحاظ مراحل جوانه‌زنی نسبت به بذور شاهد پیشرفته‌تر باشند. درواقع در بذرهای پیش‌تیمار شده بخشی از ماکرومولکول‌ها مانند پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها در اثر تسریع فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده شکسته شده و آماده شرکت در فرآیند جوانه‌زنی می‌شوند که این موضوع می‌تواند توجیهی برای افزایش سرعت جوانه و کاهش مدت جوانه‌نی باشد. در این راستا نتایج بدست آمده از تحقیقات دیگر محققان با پژوهش حاضر در افزایش سرعت جوانه‌زنی و کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی با کاربرد نانواکسید آهن همخوانی دارد (Golshahi *et al*., 2018; Kasote *et al*., 2019; Kornarzyński *et al*., 2020).

### شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی

بررسی نتایج جدول تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های

مختلف نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد همچنین اثر متقابل آن‌ها گویای اثر معنی‌داری بر شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی است (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی در تیمارهای کاربرد نانواکسید آهن به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار عدم کاربرد بود (شکل ۳). بیشترین شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی بذرهای ذرت زمانی حاصل شد که بذرها با غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن پیش‌تیمار شده بودند. در کاربرد نانواکسید آهن به روش افزودن به بستر کشت بیشترین شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی با کاربرد غلظت ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن حاصل شد. با پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن سبب شد تا شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی در مقایسه با تیمار شاهد ۸۲/۹ درصد افزایش داشته است. از طرفی در روش افزودن به بستر کشت ، غلظت ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن منجر به افزایش ۸۴/۶ درصدی شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد گردید (شکل ۳). در واقع چنین به‌نظر می‌رسد که پیش‌تیمار نمودن بذرها با نانواکسید آهن سبب شده تا با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتی، فرایند جوانه‌زنی بهبود یافته و باعث افزایش سرعت جوانه-زنی (جدول ۲) و یکنواختی در جوانه‌زنی شود که در نتیجه، منجر به بهبود شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی گردید. به عبارتی، بذرهای پیش‌تیمار شده به واسطه تجزیه سریع‌تر مواد ذخیره‌ای به‌طور همزمان جوانه‌زنی می‌زنند. با توجه به نتایج چنین مشاهده گردید که در روش کاربرد نانواکسید آهن بصورت افزودن به بستر کشت و پیش‌تیمار بذر، به‌ترتیب تا غلظت ۳۶۰ و ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن تأثیر مثبتی بر روی بذرها داشته است که با نتایج محققان دیگر مطابقت دارد (Hoseinpur Askarian *et al.*, 2019).




شکل ۳- شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی (a) و متوسط جوانه‌زنی روزانه (b) بذرهای ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد آن. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

Figure 3- Germination synchrony index (a) and mean daily germination (b) of corn seeds under the influence of different concentrations iron oxide nanoparticles and its application methods.
Similar letters indicate no significant difference between means.

**متوسط جوانه‌زنی روزانه**

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح نانواکسید آهن و روش کاربرد و اثر متقابل آن‌ها بر متوسط جوانه‌زنی روزانه معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه

میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد نانواکسید آهن در هر دو روش پیش‌تیمار بذر و افزودن نانوذره به بستر کشت به‌طور معنی‌داری باعث افزایش متوسط جوانه‌زنی روزانه بذر ذرت نسبت به تیمار عدم کاربرد شد (شکل ۳). مطابق نتایج شکل ۳، بیشترین متوسط جوانه‌زنی روزانه (۶/۳۳ روز) با پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تیمار کاربرد غلظت ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به روش افزودن به بستر کشت نشان نداد. کمترین متوسط جوانه‌زنی روزانه با ۴/۱۸ روز از تیمار عدم کاربرد نانواکسید آهن به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارهای مورد مطالعه بود (شکل ۳). با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید که پیش‌تیمار نمودن بذر و همچنین افزودن نانواکسید آهن به بستر کشت به‌ترتیب در غلظت‌های ۲۴۰ و ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن سبب تقویت درصد جوانه‌زنی (شکل ۲) و در نهایت افزایش متوسط جوانه‌زنی روزانه شده است. به نظر می‌رسد پیش‌تیمار نمودن بذرها با نانواکسید آهن منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی (جدول ۲) شده، که همین امر منجر به افزایش متوسط جوانه زنی روزانه می‌شود. از طرفی احتمال می‌رود که یکی از دلایل افزایش جوانه‌زنی روزانه در پیش‌تیمار نمودن بذرها با نانواکسید آهن، توانا ساختن بذر جهت تسریع جذب آب که دراین‌صورت متابولیسم بذر به‌سرعت فعال‌تر می‌شود. در نتیجه پیش‌تیمار بذر از طریق بهبود ترمیم غشای سیتوپلاسمی و DNA، کاهش نشت متابولیت‌ها و افزایش فعالیت‌های متابولیکی از جمله افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده مثل آلفا -آمیلاز، منجر به افزایش جوانه‌زنی روزانه بذرها می‌شود (Hoseinpur Askarian *et al.*, 2019). نانوذرات آهن باشد. در این راستا کاربرد نانوذرات آهن تا غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر در بذر کتان منجر به افزایش جوانه‌زنی روزانه بذر گردید اما در غلظت‌های بالاتر اثرات مهار جوانه‌زنی مشاهده گردیدکه با نتایج بدست آمده در این پژوهش همخوانی دارد (El-Temsah and Joner, 2012).

### سرعت جوانه‌زنی

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها می‌توان اظهار داشت که صفت سرعت جوانه‌زنی بذر به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد آن قرار گرفت اما اثر متقابل سطوح نانواکسید آهن × روش‌های کاربرد بر روی این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین گویای آن است که کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن سبب شد تا سرعت جوانه‌زنی بذور ذرت به‌طور معنی‌داری نسبت به بذور شاهد افزایش یابد. بیشترین سرعت جوانه‌زنی با کاربرد غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن حاصل شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه داشت. غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن سرعت جوانه‌زنی بذور ذرت را درحدود ۳/۹ تا ۳۳/۹ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (جدول ۲). کاربرد نانواکسید آهن به‌صورت پیش‌تیمار بذر به‌طور معنی‌داری سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با روش کاربرد نانوذره در بستر کاشت گردید، به‌طوری که سرعت جوانه‌زنی بذرهای ذرت پیش‌تیمار شده با نانواکسید آهن ۶/۷ درصد در مقایسه با روش افزودن به بستر کشت بیشتر بود (جدول ۲). این افزایش در سرعت جوانه‌زنی بذور با پیش‌تیمار نمودن بذرها در مقایسه با روش کاربرد نانوذره در بستر کشت می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های تجزیه‌کننده در بذر باشد که این موضوع سبب تسریع تکمیل فعالیت‌های متابولیکی پیش از جوانه‌زنی شده است (Maharramov *et al.*, 2019). در واقع کاربرد نانواکسید آهن در بذر ذرت به روش پیش‌تیمار منجر به ایجاد ذخایر غذایی بیشتر در بذر شده بنابراین برتری خصوصیات جوانه‌زنی به دلیل بهره‌وری بیشتر بذر از مواد مغذی است. بنابراین به نظر می‌رسد که آنزیم‌های مؤثر در فرآیندهای جوانه‌زنی بذور حاصل از آنها سریع‌تر فعالیت خودشان را

آغاز می‌کنند و همین امر سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی در این بذرها می‌شود (Maswada *et al.*, 2018). افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر با کاربرد نانواکسید آهن در بذرهای سورگوم (Maswada *et al.*, 2018)، لوبیا سبز (Aslani *et al.*, 2018) و ریحان (Abbasifar *et al.*, 2020) نیز گزارش شده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین خصوصیات جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن و روش کاربرد آن

Table 2- Means of comparison seed germination characteristics and seedling growth of maize under different concentrations of iron oxide nanoparticles and its application method

| تیمارها Treatments | سرعت جوانه‌زنی Germination rate (Seed/day) | زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی $D_{50}$ (day) | شاخص قدرت بذر Vigor index | طول گیاهچه Seedling length (cm) | وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight (g) |
|---|---|---|---|---|---|
| نانواکسید آهن (میلی‌گرم در لیتر) Nano-$Fe_3O_4$ (mg $L^{-1}$) | | | | | |
| 0 | 22.15e | 2.29d | 1956.2c | 25.26c | 0.418d |
| 120 | 23.01d | 1.97c | 2638.0b | 30.04b | 0.493c |
| 240 | 29.66a | 1.84bc | 4316.0a | 45.15a | 0.829a |
| 360 | 26.64b | 1.38a | 4297.0a | 44.49a | 0.717b |
| 480 | 24.46c | 1.59ab | 4046.0a | 43.08a | 0.689b |
| روش کاربرد Application method | | | | | |
| پیش‌تیمار Priming | 26.79a | 1.79b | 3642.9a | 42.77a | 0.671a |
| افزودن به بستر کشت Adding to the planting medium | 25.1b | 1.92a | 3259.8b | 38.67b | 0.583b |

در هر ستون میانگین‌هایی که یک حرف مشترک دارند فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

In each column, means which followed by the same letter are not significantly different at 5% probability level.

**مدت زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی**

ارزیابی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که صفت مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذر به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای غلظت نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد آن قرار گرفت (جدول ۱). با کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نسبت به تیمار عدم کاربرد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری که نتایج نشان داد که کمترین مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت (۱/۳۸ روز) با کاربرد غلظت ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن بدست آمد که با تیمار غلظت ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). با کاربرد غلظت ۳۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن مدت زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت در مقایسه با تیمار شاهد در حدود ۳۹/۷ درصد کاهش یافت. به‌نظر می‌رسد کاربرد نانواکسید آهن به دلیل جذب آهن توسط بذر، از طریق افزایش سرعت جوانه‌زنی (جدول ۲) و کوتاه شدن متوسط زمان جوانه‌زنی (شکل ۲) منجر به کاهش مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی گردید. درواقع هر چه این زمان کوتاه‌تر باشد، سرعت جوانه‌زنی نیز افزایش

خواهد یافت. در بین انواع روش‌های کاربرد نانوذره، پیش‌تیمار نمودن بذور با نانواکسید آهن در مقایسه با روش کاربرد نانوذره در بستر کشت سبب شد تا بذرهای ذرت در کوتاه‌ترین مدت زمان به ۵۰ درصد جوانه‌زنی خود برسند. درواقع علت بهبود مدت زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی با پیش‌تیمار نمودن بذرها به این دلیل است که بذرها پیش از قرار گرفتن در بستر خود مراحل اولیه جوانه‌زنی را طی کرده و از طرف دیگر جذب نانوذره آهن باعث بهبود بخشیدن فرآیند جوانه‌زنی می‌شود (Babaei *et al.*, 2019). پیش‌تیمار نمودن بذرهای شوید با نانوذرات آهن منجر به افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و در مقابل کاهش مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نیز می‌شود (Mirshekari, 2012). گزارش شده است که پیش‌تیمار کردن بذور آفتابگردان باعث افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و بهبود رشد گیاهچه می‌شود. همچنین آنها علت این واکنش را افزایش در فعالیت‌های تنفسی، تولید ATP، تحرک فعالیت RNA و پروتئین‌سازی در بذور پیش‌تیمار شده بیان کردند (Chojnowski and Come, 1997). نتایج محققان نشان داد که پیش‌تیمار نمودن بذرهای موسیر با نانو ذره مانند آهن سبب شد تا مدت زمان لازم تا رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی در مقایسه با سایر تیمارها کمترین باشد.

### شاخص قدرت بذر

شاخص‌های قدرت بذر را می‌توان به عنوان صفاتی در نظر گرفت که با توجه به نحوه محاسبه آن‌ها دارای ارزش بیشتری در مطالعات جوانه‌زنی هستند و شاید بیش از صفاتی چون وزن یا طول گیاهچه به تنهایی بیانگر شرایط توده بذری باشند (Guha *et al.*, 2018). براساس نتایج جدول ۱، شاخص قدرت بذر به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد آن قرار گرفت در حالی که اثر متقابل نانواکسید آهن × روش‌های کاربرد برای این صفت معنی‌دار نبود. نتایج نشان داد که میانگین شاخص قدرت بذور با کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن به‌طور معنی‌داری بیشتر از بذور شاهد به‌دست آمد. در بین تیمارهای مورد مطالعه کمترین و بیشترین شاخص قدرت به‌ترتیب در تیمار عدم کاربرد نانوذره (۱۹۵۶/۲) و تیمار کاربرد غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن (۴۳۱۶) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با غلظت‌های ۳۶۰ و ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر نداشت. همچنین در بین روش‌های کاربرد نانواکسید آهن، پیش‌تیمار نمودن بذرها منجر به افزایش ۱۱/۸ درصدی شاخص قدرت نسبت به روش افزودن نانواکسید آهن به بستر کشت شد (جدول ۲). شاخص قدرت بذر به شدت تحت تأثیر مقدار مواد مغذی در بذر قرار می‌گیرد. به‌طوری که ذخایر تغذیه‌ای یک عامل تعیین‌کننده در کیفیت بذر بوده و هر چه بذر کیفیت بالاتری داشته باشد از جوانه‌زنی و رشد بهتر گیاهچه برخوردار خواهد شد که این امر موجب بهبود شاخص قدرت بذر می‌گردد (Muhammad *et al.*, 2015). به‌طوری که در مطالعه حاضر نشان داده شد کاربرد نانواکسید آهن نیز می‌تواند با تأمین مواد غذایی برای بذر، منجر به بهبود جوانه‌زنی (شکل ۱) و وزن خشک گیاهچه‌ها (جدول ۲) و در نتیجه بهبود شاخص قدرت بذر شود. در این خصوص گزارش شده است که تیمار کردن بذرهای موسیر با آهن و روی یکی از بهترین روش‌هایی است که می‌توان در راستای ارتقای مواد قابل دسترس بذر در اوایل رشد از آن استفاده کرد (Hoseinpur Askarian *et al.*, 2019). همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که روش کاربرد نانوذره آهن به‌صورت پیش‌تیمار نمودن بذرها نسبت روش کاربرد در بستر کشت منجر به افزایش معنی‌دار شاخص قدرت بذر شده است. درواقع یکی از روش‌های موثر برای افزایش قدرت بذر، گیاهچه و در نهایت بهبود جوانه‌زنی پیش‌تیمار نمودن بذرها می‌باشد. این روش نه‌تنها سرعت جوانه‌زنی (جدول ۲) و مدت زمان جوانه‌زنی (شکل ۲) را بهبود می‌بخشد، بلکه قدرت گیاهچه‌ها را از طریق افزایش طول و وزن خشک گیاهچه‌ها (جدول ۲)

افزایش می‌دهد. به‌عبارت دیگر، پیش‌تیمار بذر فرآیندهای متابولیکی مؤثر بر مراحل اولیه جوانه‌زنی را بهبود بخشیده که این امر باعث بهبود در سرعت و درصد جوانه‌زنی و در نتیجه بهبود قدرت و کیفیت بذرها شده است که این موضوع منجر به تولید گیاهچه‌هایی قوی می‌شود (Abbasi Khalaki *et al*., 2021).

## طول گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان دادند که طول گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد آن قرار گرفت. اما تأثیر اثر متقابل نانواکسید آهن × روش کاربرد بر روی این صفت معنی‌دار نبود. با کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای ذرت به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار عدم کاربرد افزایش یافت. به‌طوری که در بین غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن بیشترین طول گیاهچه با کاربرد ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن حاصل گردید که تفاوت معنی‌داری با غلظت‌های ۳۶۰ و ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر نشان نداد. با کاربرد غلظت‌های ۱۲۰ تا ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن طول گیاهچه‌های ذرت بین ۱۸/۹ تا ۷۸/۷ درصد نسبت به تیمار عدم کاربرد افزایش نشان داد (جدول ۲). در تحقیقی روی گیاه لوبیای سبز نشان داده شد که کاربرد نانوذرات آهن منجر به افزایش طول گیاهچه گردید (Aslani *et al*., 2018). در بین روش‌های کاربرد نانوذره، پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با نانواکسید آهن منجر به تولید گیاهچه‌های طویل نسبت به روش افزودن نانوذره به بستر کشت گردید. پیش‌تیمار نمودن بذرها به دلیل افزایش آنزیم‌های هیدرولیتیک و افزایش میزان پویایی ذخایر بذر منجر به تولید گیاهچه‌هایی با طول زیاد می‌شود که در این صورت میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در در ساقه گیاهچه‌های پیش‌تیمار شده بالاتر می‌باشد. درواقع بیشتر بودن طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده را می‌توان به سرعت جوانه‌زنی بالاتر این بذرها (جدول ۲) نسبت داد، که این موضوع به خوبی در نتایج حاصل از پژوهش حاضر مشاهده می‌شود. بالا بودن سرعت جوانه‌نی در این بذرها منجر گردید تا بذرهای پیش‌تیمار شده جوانه‌زنی سریع داشته و گیاهچه‌های حاصل از این بذرها نیز نسبت به تیمار افزودن به بستر کشت رشد بیشتر و سریع‌تر داشته و در نتیجه گیاهچه‌های بزرگتری را تولید کنند.

## وزن خشک گیاهچه

وزن خشک گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثر سطوح نانواکسید آهن و روش کاربرد آن قرار گرفت در حالی که اثر متقابل نانواکسید آهن × روش کاربرد برای این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱). میانگین وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر از وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن بود. کاربرد نانواکسید آهن تا غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش ۹۸/۳ درصدی وزن خشک گیاهچه‌های ذرت نسبت به تیمار شاهد گردید (جدول ۲). به‌نحوی‌که بیشترین وزن خشک گیاهچه‌ها با وزن ۰/۸۲۹ گرم با کاربرد غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از سایر غلظت‌ها داشت. بین غلظت‌های ۳۶۰ و ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن از نظر وزن خشک گیاهچه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. برتری گیاهچه‌های حاصل از تیمارهای کاربرد نانواکسید آهن از نظر وزن خشک گیاهچه را می‌توان به سرعت بالای جوانه‌زنی بذر آن‌ها نسبت داد (جدول ۲). به عبارت دیگر، نانواکسید آهن موجب می‌شود تا بذرهای ذرت سریع‌تر در مقایسه با تیمار عدم کاربرد جوانه‌زده (جدول ۲) در نتیجه فرصت بیشتری برای رشد گیاهچه خواهد داشت که این امر منجر به افزایش وزن خشک گیاهچه می‌گردد. افزایش طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه با کاربرد عناصر کم‌مصرف مانند نانوذرات آهن

در بذر سویا (Sheikhbaglu *et al.*, 2014)، جو (Najafi Disfani *et al.*, 2017) و سورگوم (Maswada *et al.*, 2018) نیز گزارش شده است. در بین روش‌های مورد استفاده برای نانواکسید آهن، پیش‌تیمار نمودن بذرها سبب تولید گیاهچه‌هایی با وزن خشک بیشتر در مقایسه با روش کاربرد نانوذره در بستر کشت گردید، بین روش‌های کاربرد نانواکسید آهن از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با نانواکسید آهن موجب افزایش ۱۵/۰۹ درصدی وزن خشک گیاهچه‌ها در مقایسه با روش کاربرد نانوذره در بستر کاشت گردید (جدول ۲). درواقع برتری روش پیش‌تیمار نمودن بذرها در مقایسه با روش کاربرد نانوذره در بستر کشت از نظر تولید گیاهچه‌هایی با وزن خشک بالاتر را می‌توان به بالا بودن سرعت جوانه‌زنی آن‌ها (جدول ۲) نسبت داد که این امر موجب می‌شود که در یک زمان معین بذرها سریع‌تر جوانه‌زده و ماده خشک بیشتری تولید کنند. به‌نظر می‌رسد پیش‌تیمار نمودن بذرها با نانواکسید آهن از راه افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز و همچنین با کم کردن مدت زمان لازم برای جذب آب منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی (جدول ۲) تولید گیاهچه‌های بزرگ‌تر (جدول ۲) و در نهایت افزایش وزن خشک گیاهچه شده است. نتایج پژوهش حاضر با دیگر محققین مطابقت دارد (Mezginezhad et al., 2019).

### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز)

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی فاکتورهای آزمایشی و اثرمتقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۳). کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن در هر دو روش کاربرد نانوذره موجب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های ذرت گردید (شکل ۴). افزایش غلظت نانوذره از ۲۴۰ به ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن نیز در افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهچه‌های ذرت نقش داشت. به‌نحوی‌که در بین تیمارهای مورد مطالعه، بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز به ترتیب با مقادیر ۶۰/۲، ۱۱۰/۹ و ۷۵/۱ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه در گیاهچه‌های حاصل از کاربرد غلظت ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد و سایر تیمارها بود (شکل ۴). در واقع نانواکسید آهن یکی از عناصر کم‌مصرف است که نقش مهمی را در فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و پراکسیداز دارد. کاتالاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بوده که هر مولکول آن حاوی چهار اتم آهن کلاته شده به پروتوپورفیرین IX می‌باشد و یکی از آنزیم‌های جمع‌آوری‌کننده پراکسیدهیدروژن به‌شمار می‌آید که آن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Miri-Hesar *et al.*, 2019). آنزیم پراکسیداز نیز یکی دیگر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بوده که در تبدیل پراکسید هیدروژن به آب با استفاده از طیف وسیعی از اهدا کننده‌های الکترون، نقش فعالی دارند (Nejadalimoradi *et al.*, 2014). محققان اظهار داشتند که یون‌های فلزی از جمله آهن بعنوان کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشارکت داشته و با افزایش میزان عناصر کم‌مصرف موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد (Waqas Mazhar *et al.*, 2022). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز در گیاه باعث حذف گونه‌های فعال اکسیژن شده در نتیجه با محافظت از بذرها در برابر پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو فسفولیپیدهای غشایی باعث حفظ کیفیت و قدرت بذر می‌شود (Pawar and Laware, 2018).

در بین روش‌های کاربرد نانوذره، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی‌فنول‌اکسیداز گیاهچه‌های حاصل

از بذرهای پیش‌تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن به‌طور معنی‌داری بیشتر از میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های حاصل از بذرهایی بود که نانوذره به بستر کشت آن‌ها اضافه شده بود. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در غلظت‌های کمتر (۱۲۰ و ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن) از نظر روش کاربرد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما در غلظت‌های بالاتر کاربرد نانوذره (۳۶۰ و ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن)، بین دو روش کاربرد از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید، به‌طوری که پیش‌تیمار نمودن بذرها در مقایسه با روش افزودن نانوذره به بستر کشت موجب شد تا میزان فعالیت آنزیم پراکسیدار به‌طور معنی‌داری بیشتر گردد (شکل ۴). با کاربرد غلظت ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به روش پیش‌تیمار بذر به ترتیب منجر به افزایش ۷۱/۶، ۳۳/۴ و ۵۸/۹ درصدی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز نسبت به تیمار شاهد گردید (شکل ۴). به‌نظر می‌رسد پیش‌تیمار نمودن بذرها در غلظت ۴۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن به این علت است که افزایش آهن باعث تولید پیش‌ساخت‌های آنزیمی بیشتری در گیاهچه شده بنابراین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز می‌شود که با افزایش فعالیت این آنزیم‌ها، فعالیت پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی کاهش یافته و این امر منجر به افزایش جوانه‌زنی (شکل ۲) رشد گیاهچه (جدول ۲) و بهبود شاخص قدرت بذر (جدول ۲) می‌شود. درواقع جوانه‌زنی بذر به عوامل مختلفی از جمله سازوکارهای آنزیمی بستگی دارد که در بذر به هنگام جوانه‌زنی فعال می‌گردد. بنحوی‌که، هر چه سازوکارهای آنزیمی مرتبط با جوانه‌زنی و حذف گونه‌های فعال اکسیژن کارآمدتر باشد در مقابل فرآیند جوانه‌زنی بهتر صورت می‌گیرد. احتمالاً یکی از دلایل کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های کمتر نانواکسید آهن می‌تواند به دلیل کمبود آهن برای بیوسنتز این مولکول‌های آنزیمی باشد. نتایج یافته‌های این پژوهش با دیگر محققان همخوانی دارد (Nair *et al*., 2008; Waqas Mazhar *et al*., 2022).

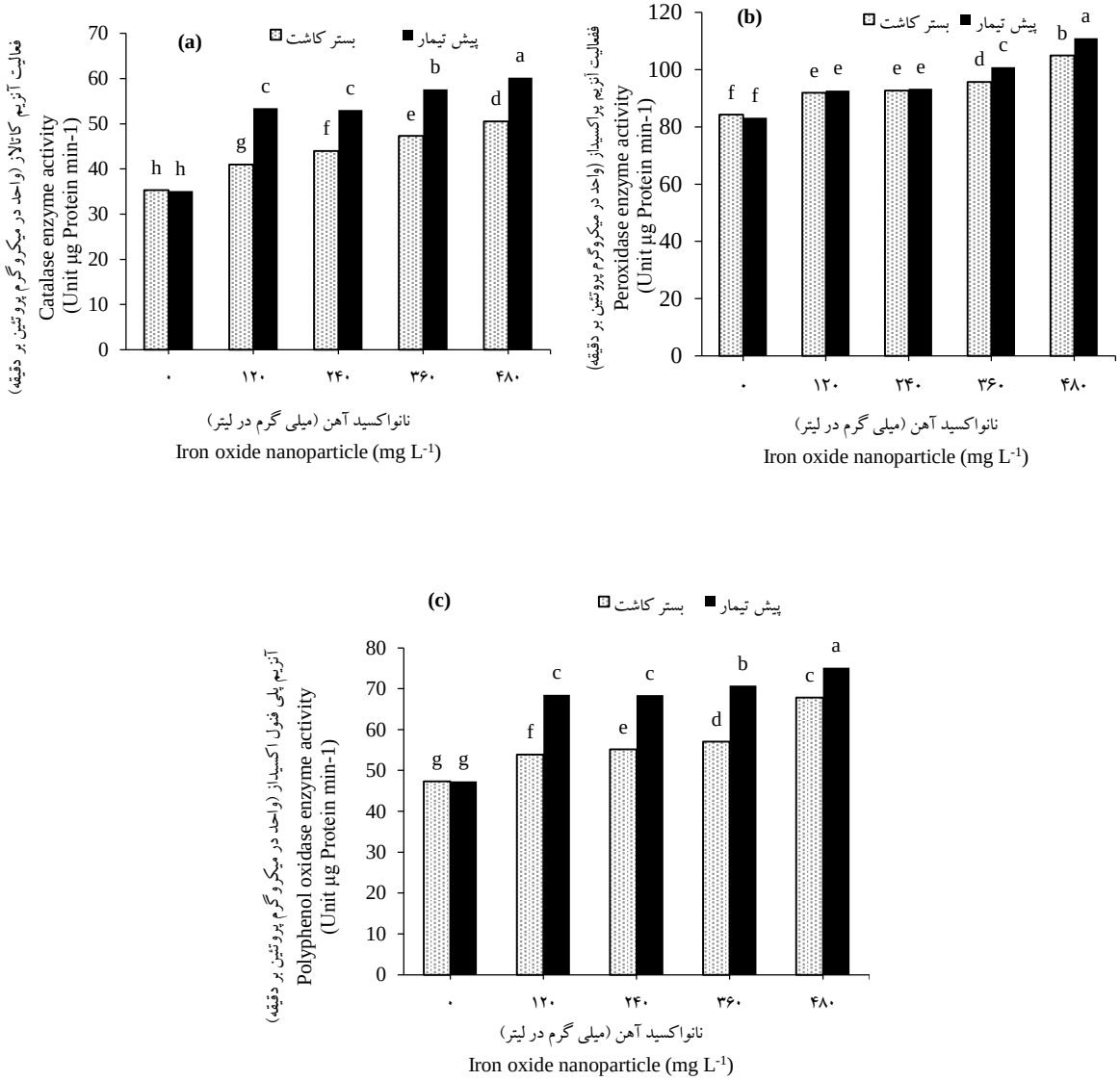
جدول ۳- تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهچه‌های ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد آن

Table 3-Analysis of variance of seedling length and dry weight and activity of antioxidant enzymes of corn seedlings under different concentrations of iron oxide nanoparticles (Nano-$Fe_3O_4$) and its application method (AM)

| منابع تغییرات S.O.V. | درجه آزادی DF | میانگین مربعات Mean of squares | | |
|---|---|---|---|---|
| | | فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity | فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme activity | فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز Polyphenoloxidase enzyme activity |
| نانواکسید آهن Nano-$Fe_3O_4$ | 4 | 83.26** | 315.59** | 135.75** |
| روش کاربرد Application method | 1 | 648.04** | 61.23** | 895.88** |
| نانواکسید آهن× روش کاربرد Nano-$Fe_3O_4$× AM | 4 | 3.23* | 11.56** | 16.69** |
| خطای آزمایشی Error | 20 | 1.50 | 1.44 | 1.43 |
| ضریب تغییرات CV (%) | - | 2.48 | 2.22 | 2.85 |

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد می‌باشند

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




شکل ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن و روش‌های کاربرد آن بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (a)، پراکسیداز (b) و پلی‌فنول‌اکسیداز (c).
حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

Figure 4- The effect of different concentrations of iron oxide nanoparticles and its application method on Catalase (a), peroxidase (b), and polyphenol oxidase (c) enzymes activity.
Similar letters indicate no significant difference between means.

## نتیجه‌گیری کلی

در مجموع پژوهش حاضر نشان داد که نانواکسید آهن از طریق بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴، موجب افزایش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر، کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی و افزایش طول و وزن خشک گیاهچه‌های ذرت گردید که این موضوع در نهایت به افزایش شاخص قدرت بذر ذرت انجامید. در بین غلظت‌های نانواکسید آهن مورد استفاده، بیشترین سرعت جوانه‌زنی، شاخص قدرت بذر و رشد گیاهچه با کاربرد غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید آهن حاصل شد. بین روش‌های کاربرد

نانواکسید آهن نیز از نظر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. در بین روش‌های کاربرد، پیش‌تیمار نمودن بذرها تأثیر بیشتری در بهبود جوانه‌زنی، رشد گیاهچه‌های و افزایش شاخص قدرت بذر ذرت و همچنین افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به روش اضافه کردن نانوذره به بستر کاشت داشته است. به نظر می‌رسد پیش‌تیمار نمودن بذرها با افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز موجب کاهش و جلوگیری از خسارات وارده توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده که این امر خود منجر به بهبود خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها گردیده است. بنابراین از آنجا که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند، بالا بودن فعالیت این آنزیم‌ها به معنی حذف بیشتر رادیکال‌های اکسیژن و در نتیجه کاهش مرگ سلولی و افزایش مقاومت گیاهچه‌ها است. به‌طور کلی با توجه به‌این که نوآوری مطالعه حاضر در سنتز و توسعه روشی جدید جهت تهیه نانواکسید آهن بصورت سنتز سبز با استفاده از عصاره آبی گیاه پونه کوهی بوده که در آن از مواد شیمیایی گران قیمت، سمی و مضر استفاده نشده، می‌توان آن را بعنوان یک روش اقتصادی و ارزشمند جهت تولید نانوذرات فلزی در مقیاس بزرگ به کار گرفت.

## منابع

## Reference

**Abbasi Khalaki, M., M. Moameri, B. Asgari Lajayer, and T. Astatkie. 2021.** Influence of nano-priming on seed germination and plant growth of forage and medicinal plants. Plant. Growth. Regul. 93(1): 13-28.

**Abbasifar, A., F. Shahrabadi, and B. ValizadehKaji. 2020.** Effects of green synthesized zinc and copper nano-fertilizers on the morphological and biochemical attributes of basil plant. J. Plant. Nutr. 43 (8): 1104-1118.

**Aebi, H. 1984.** Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105: 121-126.

**Ali, M., S. Afzal, A. Parveen, M. Kamran, M.R. Javed, G.H. Abbasi, Z. Malik, M. Riaz, S. Ahmad, M. S. Chattha, M. Ali, Q. Ali, M.Z. Uddin, M. Rizwan, and S. Ali. 2021.** Silicon mediated improvement in the growth and ion homeostasis by decreasing $Na^+$ uptake in maize (*Zea mays* L.) cultivars exposed to salinity stress. Plant. Physiol. Biol. 158: 208-218.

**Amodeo, G., R. Giacometti, F. Spagnoletti, P.R. Santagapita, and M. Perullini. 2022.** Eco-friendly routes for obtaining nanoparticles and their application in agro-industry. Pp 49-62. In M. Ghorbanpour and M. Adnan Shahid (eds.). Nano-enabled Agrochemicals in Agriculture, Academic Press, London.

**Aslani, M., and M.K. Souri. 2018.** Growth and quality of green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under foliar application of organic-chelate fertilizers. Open. Agric. 3 (1): 146-154. Doi: 10.1515/opag-2018-0015

**Babaei, K., M. Tajbakhsh, and A. Siosemardeh. 2019**. Effect of priming and sowing date of seed on growth indices of plant and yield and yield components of seed of maize single cross 260 (Fajr). Plant. Prod. Technol. 11 (2): 193-209. (In Persian, with English Abstract)

**Bolandi Amoghin, M., P. Sheikhzadeh, S. Khomary, and N. Zare. 2020**. Comparison the effects of different of seed priming techniques on improving germination and antioxidant enzymes activity in borage seedlings. Iranian. J. Seed. Sci. Res. 7 (3): 279-294. (In Persian, with English Abstract)

**Chance, B., and A.C. Maely. 1955**. Assay of catalase and peroxidase. Methods Enzymol. 2: 764-775.

**Chang, C.J., and C.H. Kao. 1998.** $H_2O_2$ metabolism during senescence of rice leaves: changes in enzyme activities in light and darkness. Plant. Growth. Regul. 25 (1): 11-15.

**Chojnowski, M., F. Corbineau, and D. Côme. 1997.** Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsequent drying, storage and aging. Seed. Sci. Res. 7 (4): 323-332.

**Ellis, R.H., and E.H. Roberts. 1981.** The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed. Sci. Technol. 9: 373-409.

**El-Temsah, Y.S., and E.J. Joner. 2012.** Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil. Environ. Toxicol. 27 (1): 42-49.

**Esper Neto, M., D.W. Britt, K.A. Jackson, C.F. Coneglian, T.T. Inoue, and M.A. Batista. 2021.** Early growth of corn seedlings after seed priming with magnetite nanoparticles synthetised in easy way. Acta. Agric. Scandi. Sec-B. Soil. Plant. Sci. 71(2): 91-97.

**Finch-Savage, W.E., and S. Footitt. 2017.** Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. J. Exp. Bot. 68 (4): 843-856.

**Golbashy, M., M. Ebrahimi, S. Khavari Khorasani, and R. Choukan. 2010.** Evaluation of drought tolerance of some corn (*Zea mays* L.) hybrids in Iran. Afr. J. Agric. Res. 5: 2714-2719.

**Golshahi, S., A. G. Ahangar, N. Mir, and M. Ghorbani. 2018.** A comparison of the use of different sources of nanoscale iron particles on the concentration of micronutrients and plasma membrane stability in sorghum. J. Soil. Sci. Plant. Nutr. 18 (1): 236-252.

**Guha, T., K.V.G. Ravikumar, A. Mukherjee, A. Mukherjee, and R. Kundu. 2018.** Nanopriming with zero valent iron (nZVI) enhances germination and growth in aromatic rice cultivar (*Oryza sativa* cv. Gobindabhog L.). Plant Physiol. Biol. 127: 403-413.

**Hoseinpur Askarian, E., A. Abbasi Surki, and Danesh Shahraki. A. 2019.** Effect of seed priming with $ZnSO_4$ and $FeSO_4$ on dormancy break optimization and germination traits of shallot (*Allium hirtifolium*). Iranian. J. Seed. Res. 6 (1): 33-49. (In Persian, with English Abstract)

**Hunter, E.A., C.A. Glasbey, and R.E.L. Naylor. 1984.** The analysis of data from germination tests. J. Agric. Sci. 102 (1): 207 -213.

**Jalil, S. B. M., and D. M. Movahedi. 2012.** Effect of zinc and iron foliar application on soybesn seed vigour grown under drought stress. Electron. J. Crop. Prod. 5 (1): 19-35. (In Persian, with English Abstract)

**Ju, W., L. Liu, X. Jin, C. Duan, Y. Cui, J. Wang, M. Dengke, W. Zhao, Y. Wang, and L. Fang. 2020.** Co-inoculation effect of plant-growth-promoting rhizobacteria and rhizobium on EDDS assisted phytoremediation of Cu contaminated soils. Chemosphere. 254 (126724): 1-13.

**Kar, M., and D. Mishra. 1976.** Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant. Physiol. 57 (2): 315-319.

**Karimi, N., M. Behbahani, G. Dini, and A. Razmjou. 2018.** Green synthesis of ZnO nanoparticles using extract of edible and medicinal plant (*Allium jesdianum*). Razi. J. Med. Sci. 25 (9): 1-7. (In Persian, with English Abstract)

**Kasote, D. M., J. H. J. Lee, G. K. Jayaprakasha, and B. S. Patil. 2019.** Seed priming with iron oxide nanoparticles modulate antioxidant potential and defense-linked hormones in watermelon seedlings. ACS Sustainable Chem. Eng. 7 (5): 5142-5151.

**Kornarzyński, K., A. Sujak, G. Czernel, and D. Wiącek. 2020.** Effect of $Fe_3O_4$ nanoparticles on germination of seeds and concentration of elements in *Helianthus annuus* L. under constant magnetic field. Sci. Rep. 10 (1): 1-10.

**Kouhbanani, M. A. J., N. Beheshtkhoo, S. Taghizadeh, A. M. Amani, and V. Alimardani. 2019.** One-step green synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using aqueous leaf extract of *Teucrium polium* and their catalytic application in dye degradation. Adv. Nat. Sci.: Nano. Sci. Nanotechnol. 10 (1): 1-6.

**Li, H., H. Yue, J. Xie, J. Bu, L. Li, X. Xin, Y. Zhao, H. Zhang, Li. Yang, J. Wang, and X. Jiang. 2021.** Transcriptomic profiling of the high-vigour maize (*Zea mays* L.) hybrid variety response to cold and drought stresses during seed germination. Sci. Rep. 11: 1-16.

**Lin, J., B. Su, M. Sun, B. Chen, and Z. Chen. 2018.** Biosynthesized iron oxide nanoparticles used for optimized removal of cadmium with response surface methodology. Sci. Total. Environ. 627: 314-321.

**Maharramov, A. M., U. A. Hasanova, I. A. Suleymanova, G. E. Osmanova, and N. E. Hajiyeva. 2019.** The engineered nanoparticles in food chain: Potential toxicity and effects. SN. Appl. Sci. 1 (11): 1362.

**Maswada, H. F., M. Djanaguiraman, and P. V. V. Prasad. 2018.** Seed treatment with nano-iron (III) oxide enhances germination, seeding growth and salinity tolerance of sorghum. J. Agron. Crop Sci. 204 (6): 1-11.

**Mezginezhad, Z., M. Ghaderi, Z. Alizde, and A. Izanloo. 2019.** Effect of Iron Oxide and Zinc Oxide Nanoparticles of on Callus Viability of Seedless Barberry. J. Crop. Breed. 11 (30): 198-205.

**Mehta, B. K., M. Chhajlani, and B. D. Shrivastava. 2017.** Green synthesis of silver nanoparticles and their characterization by XRD. Int. J. Phys.: Conf. Ser. 836 (1): 1-4.

**Mimmo, T., R. D. Del-Buono, N. Terzano Tomasi, G. Vigani, C. Crecchio, R. Pinton, G. Zocchi, and S. Cesco. 2014.** Rhizospheric organic compounds in the soil–microorganism–plant system: their role in iron availability. Eur. J. Soil. Sci. 65 (5): 629-642.

**Miri-Hesar, K., A. Dadkhodae, S. Dorostkar, and B. Heidari. 2019.** Differential activity of antioxidant enzymes and physiological changes in wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress. Not. Sci. Biol. 11 (2): 266-276.

**Mirshekari, B. 2012.** Seed priming with iron and boron enhances germination and yield of dill (*Anethum graveolens*). Turk. J. Agric. For. 36 (1): 27-33.

**Muhammad, I., M. Kolla, R. Volker, and N. Günter. 2015.** Impact of nutrient seed priming on germination, seedling development, nutritional status and grain yield of maize. J. Plant. Nutr. 38 (12): 1803-1821.

**Nair, A. S., T. K. Abraham, and D. S. Jaya. 2008.** Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in drought stress induced cowpea (*Vigna unguiculata* L.) varieties. J. Environ. Biol. 29 (5): 689-691.

**Najafi Disfani, M., A. Mikhak, M. Z. Kassaee, and A. Maghari. 2017.** Effects of nano Fe/$SiO_2$ fertilizers on germination and growth of barley and maize. Arch. Agron. Soil. Sci. 63 (6): 817-826.

**Nejadalimoradi, H., F. Nasibi, K. M. Kalantari, and R. Zanganeh. 2014.** Effect of seed priming with L-arginine and sodium nitroprusside on some physiological parameters and antioxidant enzymes of sunflower plants exposed to salt stress. Agric. Commun. 2 (1): 23-30.

**Nozohor, Y., M. H. Rasolifard, and N. Ghahremanigermi. 2018.** Evaluation of antibacterial properties of oregano essence on pathogenic bacteria isolated from hospital infections. J. Ilam. Univ. Med. Sci. 25 (5): 154-160. (In Persian, with English Abstract)

**Ocvirk, D., M. Špoljarević, M. Kristić, J. T. Hancock, T. Teklić, and M. Lisjak. 2021.** The effects of seed priming with sodium hydrosulphide on drought tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in germination and early growth. Ann. Appl. Biol. 178 (2): 400-413.

**Patiño-Ruiz, D., L. Sánchez-Botero, L. Tejeda-Benitez, J. Hinestroza, and A. Herrera. 2020.** Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Cymbopogon citratus* extract and sodium carbonate salt: Nanotoxicological considerations for potential environmental applications. Env. Nanotechnol., Monit. Manage. 14 (100377): 1-10.

**Pawar, V. A., and S. L. Laware. 2018.** Seed priming: A critical review. Int. J. Sci. Res. Biol. Sci. 5(5): 94-101.

**Rostamizadeh, E., A. Iranbakhsh, A. Majd, S. Arbabian, and I. Mehregan. 2020.** Green synthesis of $Fe_2O_3$ nanoparticles using fruit extract of *Cornus mas* L. and its growth-promoting roles in Barley. J. Nanostruct. Chem. 10 (2): 125-130.

**Saadat, F., and S. M. R. Ehteshami. 2016.** Effect of seed coating with growth promoting bacteria and micronutrients on germination characteristics of corn. Iranian. J. Seed Sci. Res. 3 (2): 81-94. (In Persian, with English Abstract)

**Seirafy, H., and S. Sobhanirad. 2017.** Effects of oregano (*Origanum vulgare*) and thyme (*Thymus vulgaris*) oils on growth performance and blood parameters in Holstein suckling calves. Iranian. J. Appl. Anim. Sci. 7 (4): 585-593. (In Persian, with English Abstract)

**Sheikhbaglu, R., M. Sedghi, H. Salehian, and S. Rahimzadeh. 2014.** Spraying effect of maternal plants with nano-iron oxide on germination indices and electrical conductivity of produced soybean seeds. Int. J. Biol. Sci. 5 (11): 22-27.

**Talei, D., N. Sartipnia, and F. Farahani. 2018.** Impact of Nano-Fe fertilizer rates on germination traits and protein pattern of three *Mellisa offisinalis* species. Hortic. Plant. Nutr. 1 (1): 59-68. (In Persian, with English Abstract)

**Tavosi, F., R. Ghafarzadegan, S. A. Mirshokraei, and R. Hajiaghaee. 2018.** Green synthesis of iron nano particles using *Mentha longifolia* L. extract. J. Med. Plant. 17 (66): 135-144. (In Persian, with English Abstract)

**Vashisth, A., and S. Nagarajan. 2010.** Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. J. Plant Physiol. 167 (2): 149-156.

**Waqas Mazhar, M., M. Ishtiaq, M. Maqbool, R. Akram, A. Shahid, S. Shokralla, H. Al-Ghobari, A. Alataway, A.Z. Dewidar, A. M. El-Sabrout, and H. O. Elansary. 2022.** Seed priming with iron oxide nanoparticles raises biomass production and agronomic profile of water-stressed flax plants. Agronomy. 12 (982): 1-18.

**Yari, L., A. Zareyan, S. Sheidaie, and F. Khazaei. 2012.** Influence of high and low temperature treatments on seed germination and seedling vigor of rice (*Oryza sativa* L.). World. Appl. Sci. J. 16 (7): 1015-1018.

**Zhang, M., Q. Qi, D. Zhang, S. Tong, X. Wang, Y. An, and X. Lu. 2021.** Effect of priming on *Carex Schmidtii* seed germination and seedling growth: Implications for tussock wetland restoration. Ecol. Eng. 171 (106389): 1-7.