

بررسی اثرات محلول‌پاشی نانوذره آهن و ملاتونین بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژی و بیوشیمیایی شنبلیله

علی اصغر خالقی رستمکلائی^۱، مهیار گرامی^۱، پرستو مجیدیان^۲ و حمیدرضا قربانی^{۲*}

^۱ گروه زیست‌شناسی، مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری، ایران

^۲ بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

چکیده

به کارگیری نانوذرات و مولکول‌های خارجی بر تولید مواد مؤثره گیاهان دارویی نقش مؤثری دارند. با توجه به این مهم، در پژوهش حاضر به مطالعه بررسی تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات آهن و ملاتونین بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum L.*) پرداخته شد. این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۲ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی باغ کلا در شهرستان نکا اجرا شد. تیمارها شامل نانوذرات آهن در چهار سطح (صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰ پی‌پی‌ام) و ملاتونین در چهار سطح (صفر، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵ میکرومولار) اعمال گردیدند. صفات مورد نظر در مرحله رشد رویشی (چهار برگی) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج پژوهش نشان داد که اثرات ساده تیمارهای نانوذره آهن و ملاتونین بر صفات تعداد شاخه، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد از نظر آماری دارای تفاوت معنی‌داری بودند. اثر برهمکنش این دو تیمار بر برخی صفات بیوشیمیایی شامل (محتوای قند محلول، آنزیم پراکسیداز، آنزیم کاتالاز و محتوای کلروفیل a) و صفات مورفولوژیکی شامل (وزن خشک و تر اندام هوایی، تعداد برگ و ارتفاع بوته) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. نتایج این تحقیق حاکی از روند افزایشی میزان برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی با افزایش تیمارهای مورد نظر بود. برای مثال، تیمار M2NF2 (ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار و نانوذره آهن ۴۰ پی‌پی‌ام) منجر به ایجاد بیشترین مقدار ارتفاع بوته، کلروفیل a، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و قند محلول شد. در حالیکه بیشترین میزان وزن خشک و تر اندام هوایی و تعداد برگ توسط تیمار MINF2 (ملاتونین ۷۵ میکرومولار و نانوذره آهن ۴۰ پی‌پی‌ام) بدست آمد. به‌طور کلی، غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام از نانوذره آهن و غلظت ۱۵۰ میکرومولار از ملاتونین بیشترین تأثیر را بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه شنبلیله نشان دادند که از این تیمارها می‌توان جهت بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه در سایر گونه‌های گیاهی بهره برد.

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۵/۰۵، بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۳۱، پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۲، اولین انتشار: ۱۴۰۵/۰۲/۱۲

* نویسنده مسئول، رایانامه: ghorbani@areeo.ac.ir



حق انتشار این مستند، متعلق به انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران است. © ۱۴۰۳

این مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط بر استناد صحیح به مقاله و با رعایت شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است:

Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

واژه‌های کلیدی: محرک، گیاه دارویی، نانوتکنولوژی، متابولیت‌های ثانویه

مقدمه

گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) از گیاهان دارویی مهم و پرکاربرد در طب سنتی و مدرن است. این گیاه بومی مناطق مدیترانه‌ای و آسیای جنوبی است و به خاطر خواص دارویی و تغذیه‌ای خود شناخته می‌شود. شنبلیله دارای ترکیبات متعددی از جمله فیتواستروژن‌ها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و آلکالوئیدها است که به آن خواص دارویی می‌بخشند (Bhandari et al., 2019). این ترکیبات می‌توانند در بهبود سلامت عمومی و درمان بیماری‌های مختلف از جمله دیابت، آرتریت، انواع سرطان‌ها و تقویت سیستم ایمنی بدن مؤثر باشند (Mansoori et al., 2015).

ملاتونین یکی از ترکیبات موجود در گیاهان است که به عنوان یک محرک زیستی شناخته شده و نقش‌های متعددی در رشد گیاه و دفاع در برابر عوامل محیطی را ایفا می‌کند. همچنین باعث بهبود در پاسخ‌های گیاه به تنش‌هایی همچون خشکی، شوری، سرما و حمله پاتوژن‌ها می‌شود (عزیزی و همکاران، ۱۳۹۸). ملاتونین (N-استیل-۵-متوکسی تریپتامین) هورمونی از نوع ایندول آمین و مشتق از تریپتوفان است که در گیاهان عالی در کلروپلاست‌ها سنتز شده و به دلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالا دارای نقش‌های متعددی در رشد و دفاع گیاه در برابر عوامل نامساعد محیطی است (Li et al., 2018). ملاتونین اولین بار در سال ۱۹۹۵ شناسایی شد و تحقیقات بیشماری در خصوص آن در سیستم‌های گیاهی موجود است (Erland et al., 2018). ملاتونین در اندام‌های مختلف مخصوصاً ریشه قابل انتشار است و به تازگی این باور پذیرفته شده که میتوکندری و کلروپلاست مکان‌های اولیه تولید آن در گیاه هستند (Janas and Posmyk, 2013). همچنین به علت آنکه ملاتونین به عنوان خط دفاعی بر علیه تولید تنش اکسیداتیو در گیاه استفاده می‌شود، بسیاری از محققین تولید ملاتونین را توسط این دو اندام تأیید می‌کنند. گیاهان محتوی مقادیر زیادی از ملاتونین هستند که بخشی از

طریق جذب ریشه و بخش بزرگتر آن توسط خود گیاه سنتز می‌شود (Tan et al., 2013). گزارش‌ها حاکی از آن است که ملاتونین در بهبود جوانه‌زنی بذر، تولید زیست‌توده، رسیدن میوه، فتوسنتز، پیری برگ، تنظیم فشار اسمزی و تنش‌های زیستی و غیرزیستی تأثیرگذار است (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2015).

یکی از مواردی که در تغذیه گیاهان و بهبود خواص آنها تأثیر دارد، استفاده از کودهای آلی است که باعث بهبود عملکرد و تسریع جوانه‌زنی بذر، افزایش جمعیت میکروب‌های مفید خاک و افزایش تبادل کاتیونی و همچنین بهبود ساختار ریشه و افزایش مقاومت گیاه در مقابل تنش‌ها می‌شود (Waqas et al., 2014). در بیشتر خاک‌ها مخصوصاً خاک‌های آهکی کمبود آهن یک مشکل بالقوه است. عواملی که می‌توانند در کمبود این عنصر در گیاهان دخیل باشند شامل کمبود آهن در خاک، مصرف زیاد فسفر، وجود مقادیر زیاد فلزات سنگین، درجه حرارت کم یا زیاد، آلودگی‌های ریشه و تهویه ضعیف هستند (Lucena and Chaney, 2007). تحقیقات نشان دادند که مقدار اندکی از عناصر غذایی به خصوص آهن، روی و منگنز که از طریق محلول پاشی به گیاهان داده شود، موجب افزایش معنی‌داری در عملکرد گیاهان می‌شود. عنصر آهن در بسیاری از فعالیت‌های حیاتی گیاه از قبیل فتوسنتز، تنفس و تثبیت مولکولی نیتروژن نقش دارد و همچنین آهن در ساختمان پروتئین‌های گیاه به کار رفته که این ترکیبات پیش نیاز ساخت کلروفیل می‌باشند (Shahrood, 2018). در تحقیقی گزارش شده است که در وضعیت کمبود آهن، جذب و تجمع فلزات سنگین افزایش می‌یابد، زیرا فلزات سنگین قابلیت جذب آهن در ریشه و بخش‌های هوایی گیاه را کاهش می‌دهند (Tafvizi et al., 2014). وجود برخی فلزات از جمله آهن در خاک برای رشد طبیعی گیاهان ضروری است. غلظت‌های بالای این عناصر از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد سمی و القاء تنش اکسیداتیو می‌تواند عاملی برای بازدارندگی

رشد و ایجاد علائم سمیت در گیاه شود. محلول پاشی زمانی مورد توجه قرار می‌گیرد که رفع کمبود عناصر غذایی از طریق ریشه امکان‌پذیر نباشد که در این حالت کودهای مایع بر روی برگ گیاهان به طور مستقیم جذب بافت و اندام گیاه می‌شود (Suh et al., 2002).

در سال‌های اخیر، استفاده از نانوذرات به عنوان یک روش نوین در کشاورزی جهت بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان مورد توجه قرار گرفته است. نانوذرات به دلیل اندازه کوچک و سطح ویژه بالا، قابلیت جذب بالایی دارند و می‌توانند به عنوان یک عامل محرک در رشد گیاه عمل کنند. نانوذرات آهن به دلیل نقش کلیدی خود در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان می‌توانند به بهبود رشد و توسعه گیاهان کمک کنند (Khan et al., 2021).

از مهمترین و جدیدترین فناوری‌ها، فناوری نانو است که می‌توان در جنبه‌های مختلفی از جمله کشاورزی از آن بهره برد. استفاده از نانوکودها برای تغذیه گیاهان به صورت کپسول کودی یا آغشته کردن کود با ذرات کوچک نانو باعث تنظیم رهاسازی عناصر غذایی می‌شود (Liu et al., 2016). استفاده از نانوذرات آهن نسل جدیدی از فناوری پاکسازی محیط است که می‌تواند راه حل اقتصادی برای رفع مشکلات بوجود آمده از آلاینده‌ها باشد. محلول پاشی نانوذره آهن بر شاخ و برگ گیاهان با تأثیرگذاری بر کلروفیل و فتوسنتز گیاه منجر به افزایش عملکرد و همچنین کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی از طریق استفاده از کودها و کشاورزی مقرون به صرفه از نظر اقتصادی می‌شود (Zhang, 2005). با توجه به نقش نانوذرات و محرک‌ها در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی و اهمیت خواص دارویی گیاه شنبلیله، هدف از این آزمایش بررسی اثر ملاتونین و نانوذره آهن بر ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شنبلیله در مرحله رشد رویشی بود.

مواد و روش‌ها

مکان و زمان آزمایش: این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی واقع در ایستگاه تحقیقات کشاورزی بایع در کل تابع مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران جهت بررسی اثر محلول پاشی ملاتونین و نانوذره آهن بر برخی ویژگی‌های زراعی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شنبلیله در سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ انجام شد. ارتفاع محل آزمایش از سطح دریا ۴ متر، طول جغرافیایی آن ۵۳ درجه و ۱۳ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی آن ۳۶ درجه و ۴۶ دقیقه شمالی می‌باشد. میانگین بارندگی سالانه ایستگاه ۵۱۴ میلی‌متر است و منطقه مورد آزمایش جز مناطق خزری محسوب می‌شود که طبق آمار هواشناسی حداقل و حداکثر دما طی ۱۰ سال اخیر به ترتیب ۱۲/۴۳ و ۲۱/۶ درجه سانتی‌گراد گزارش شده است. در جدول ۱ ویژگی‌های عناصر موجود در خاک مزرعه مورد آزمایش آورده شده است. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح ملاتونین (صفر، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵ میکرومولار) و چهار سطح نانوذره آهن (صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ پی‌پی‌ام) بودند که در قالب یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تعداد تیمارها ۱۶ و تعداد کل کرت‌های آزمایش ۴۸ کرت بود. هر کرت آزمایشی به مساحت ۴ مترمربع در ابعاد ۲×۲ متر تهیه و و بذرها در عمق ۳ سانتی‌متری خاک کشت شدند. اعمال تیمارهای مورد مطالعه به صورت محلول پاشی در فاز رویشی گیاه (در مرحله چهار برگی) به صورت اسپری برگی انجام گرفت. آماده‌سازی زمین و عملیات کاشت طبق عرف منطقه اعم از شخم، دیسک‌زدن و غیره انجام شد. زمانی که ارتفاع گیاه به حدوداً ۲۰ سانتی‌متر رسید، نمونه‌های لازم جهت بررسی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه تهیه و به آزمایشگاه برده شد.

سنجش شاخص‌های رشدی: با حذف اثر حاشیه، پنج نمونه از هر کرت برداشت و نمونه‌ها از مزرعه به آزمایشگاه منتقل شدند. طول گیاه با خط‌کش اندازه‌گیری شد. تعداد ساقه‌های فرعی در هر نمونه برداشت شده از مزرعه در فاز رویشی جداگانه شمرده شد و یادداشت گردید. وزن تر و

جدول ۱- نتایج تجزیه شیمیایی خاک مزرعه مورد آزمایش قبل از کاشت

عمق زمین (سانتیمتر)	میزان شوری (دسی زیمنس بر متر)	pH	بافت خاک	سولفات			آهن	روی	منگنز	فسفر	پتاسیم	نیترژن (درصد)
				(میلی اکی والان بر لیتر)	(میلی گرم بر کیلوگرم)	(میلی گرم بر کیلوگرم)						
۳۰-۰	۰/۵۷	۷/۷۳	سیلت- رس	۷/۷۵	۱۲/۰۰	۲/۰۰	۸/۸۰	۶/۲۰	۴۲۶	۰/۱۲		

حاصل به نسبت ۱ به ۵ با کلروفورم مخلوط شد و بعد از ورتکس به مدت ۵ دقیقه به حال سکون رها شد. فاز بالایی عصاره بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. قسمت شفاف بالایی جدا و برای اندازه گیری قند محلول استفاده گردید. اندازه گیری قند با اندازه گیری به وسیله آنترن بر طبق روش McCready و همکاران (۱۹۵۰) انجام پذیرفت. ۳ میلی لیتر محلول آنترن به ۲۰۰ میکرولیتر عصاره اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد و پس از سرد شدن نمونه‌ها میزان جذب آن‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه گیری شد.

جهت سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Luck (۱۹۶۵) استفاده شد. ۴۹۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۲۲۵ میلی مولار و ۴۹۰ میکرولیتر محلول گایاکول ۴۵ میلی مولار در دمای پایین (ظرف حاوی یخ) با هم مخلوط گردید و به آن ۲۴ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد. تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط کوت کوارتز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. در محلول بلانک به جای عصاره آنزیمی، بافر فسفات ۵۰ میلی مولار استفاده و فعالیت آنزیم با استفاده از قانون بیر-لامبرت و ضریب خاموشی محصول کاتالیز گایاکول پراکسیداز محاسبه شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Luck (۱۹۷۴) استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با ۹۸۰ میکرولیتر بافر فسفات حاوی آب اکسیژنه ۲ میلی مولار مخلوط شدند و تغییرات جذب آن‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد.

خشک نمونه گیاهی برداشت شده با ترازو Shimatzu، اندازه گیری و یادداشت شد. پس از انتقال نمونه‌های برداشت شده از مزرعه به آزمایشگاه، تعداد برگچه‌های هر نمونه با دست و با دقت شمرده و ثبت گردید.

سنجش شاخص‌های فیزیولوژیکی: اندازه گیری میزان کلروفیل براساس روش Arnon (۱۹۴۹) از برگ‌های کاملاً رشد یافته انجام شد. ابتدا ۰/۵ گرم از هر نمونه برگ در ۵ میلی لیتر استون ۸۰٪ هموژن شد و بعد از انجام سانتریفیوژ با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه مایع رویی برداشته و حجم آن به ۱۰ میلی لیتر رسید. سپس میزان جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به ترتیب در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (کلروفیل a)، ۶۴۵ نانومتر (کلروفیل b و کل) و ۴۸۰ نانومتر (کاروتنوئید) برحسب میلی گرم/گرم بافت تر تعیین شد و غلظت رنگدانه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر بدست آمد:

$$\text{Chl a} = (12.7 \times (A663) - 2.69 \times (A645)) \times V/W \times 1000$$

$$\text{Chl b} = (22.9 \times (A645) - 4.68 \times (A663)) \times V/W \times 1000$$

$$\text{Chl t} = (20.2 \times (A645) - 8/02 \times (A663)) \times V/W \times 1000$$

$$\text{Car} = ((A480) - 1.82 \times \text{Chl a} - 85.02 \times \text{Chl b} / 198) \times V/W \times 1000$$

جهت سنجش میزان قند محلول، ۰/۱ گرم بافت تازه را با ۵ میلی مولار اتانول ۸۰٪ گرم در هاون چینی خرد و ۱۵ دقیقه در بن ماری قرار داده شد. بعد از آن، عصاره الکلی حاوی قند محلول را جدا و قسمت پایینی همراه با ۵ میلی مولار اتانول ۸۰ درصد دوباره برای تکرار عصاره گیری به حمام آب جوش منتقل گردید. عمل استخراج با اتانول چهار بار تکرار شد. بعد از استخراج به منظور تبخیر الکل، عصاره بدست آمده در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. برای حذف کلروفیل، عصاره

تجزیه و تحلیل داده‌های جمع‌آوری شده شامل تجزیه واریانس و نیز مقایسه میانگین صفات به روش LSD در سطح احتمال یک و پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. خروجی حاصل از نرم افزار در اکسل به صورت نمودار ترسیم شد.

نتایج و بحث

اثر ساده ملاتونین و اثر ساده نانوذره آهن بر برخی از خصوصیات مورفولوژیکی (ارتفاع، تعداد شاخه، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی) در گیاه شنبلیله در سطح یک درصد معنی‌دار بودند. همچنین اثرات متقابل ملاتونین و نانوذره آهن نیز بر برخی از صفات مورفولوژیکی (ارتفاع، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی) در سطح یک درصد معنی‌دار گزارش گردید (جدول ۲). نتایج تحقیقات بر روی مریم‌گلی (Sheikhalipour et al., 2024) نشان داد که اثر ملاتونین بر روی صفات رشدی گیاه و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تنش شوری معنی‌دار شد. به علاوه، در آزمایشی که توسط (Tariverdizadeh et al., 2021) بر روی گیاه شنبلیله انجام شد، اثر محلول‌پاشی نانوذره آهن و زینک بر روی صفات وزن تر و خشک اندام هوایی معنی‌دار بود که با نتایج پروژه حاضر مطابقت داشت.

اثر ساده ملاتونین و اثر ساده نانوذره آهن بر محتوای رنگدانه‌های کلروفیلی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) در گیاه شنبلیله در سطح یک درصد معنی‌دار بودند. همچنین اثرات متقابل ملاتونین و نانوذره آهن فقط بر مقدار کلروفیل a در سطح پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). در تحقیقی، Askari و همکاران (۲۰۲۳) بیان کردند که اثر ملاتونین بر روی صفات مرتبط با رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه نخود در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. همچنین در تحقیقی که توسط (Gao et al., 2024) بر روی برنج انجام شد، نتایج حاکی از اثر معنی‌دار نانوذره آهن بر روی صفات فیزیولوژیکی از جمله رنگدانه‌های فتوسنتزی بود.

تجزیه واریانس اثر ساده ملاتونین و اثر ساده نانوذره آهن

بر مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) در گیاه شنبلیله در سطح یک درصد معنی‌دار بودند. همچنین اثرات متقابل ملاتونین و نانوذره آهن بر مقادیر آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سطح پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). تجزیه واریانس اثر ساده ملاتونین و اثر ساده نانوذره آهن و اثرات متقابل ملاتونین و نانوذره آهن بر مقدار قند محلول در گیاه شنبلیله در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). در آزمایشی Sardar و همکاران (۲۰۲۳) بیان کردند که اثر محلول‌پاشی نانوذره آهن و متیل جاسمونیک بر روی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در آزمایشی که توسط (Amiri-Maleki et al., 2024) بر روی گیاه *Acorus calamus* انجام شد، اثر محلول‌پاشی ملاتونین و اسید سالیسیلیک بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و قند محلول تحت تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

مقایسه میانگین اثرات متقابل ملاتونین و نانوذره آهن بر ارتفاع گیاه شنبلیله در مرحله رشد رویشی نشان داد که تیمار M2NFe2 (سطح ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین و سطح ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن) و تیمار MINFe2 (سطح ۷۵ میکرومولار ملاتونین و سطح ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن) به ترتیب منجر به افزایش ۳۲/۹۶٪ و ۲۷/۰۷٪ ارتفاع گیاه نسبت به نمونه شاهد شد (جدول ۵). در تحقیقی، Eghlima و همکاران (۲۰۲۵) بیان کردند که محلول‌پاشی ملاتونین بر روی گیاه آویشن منجر به افزایش ارتفاع بوته به میزان ۲۹/۲۰ سانتی‌متر و قطر ساقه به میزان ۳۹/۰۶ سانتی‌متر نسبت به گیاه شاهد شد. نتایج تحقیق بر روی گیاه علف‌طلایی (Ahmed et al., 2023) نشان داد که در اثر محلول‌پاشی نانوذره آهن با غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین رشد گیاه و محتوای عناصر آلی در حاصل شد. تحقیقات مختلفی نشان داده است که نانوذره آهن نقش مهمی در تنظیم فعالیت و اثربخشی هورمون اکسین که هورمون ضروری برای رشد و توسعه گیاه است، ایفاء می‌کند (Kulus et al., 2025). در واقع نانوذره آهن دسترسی زیستی هورمون اکسین با استفاده از کپسوله‌کردن آن و اطمینان از رهاسازی مداوم و پایدار به بافت‌های هدف همچون ریشه‌ها و اندام‌های هوایی را افزایش می‌دهد (Butova et al., 2023). ملاتونین نیز

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر ملاتونین و نانوذره آهن بر برخی صفات مورفولوژیکی در گیاه شنبلیله در مرحله رشد رویشی

تیمارها	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن خشک گرم	وزن تر گرم	تعداد برگ	تعداد شاخه
تکرار	۲	۰/۱۶ ^{ns}	۱/۰۳ ^{ns}	۶۸۶/۴۳ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}
ملاتونین (A)	۳	۰/۷۲ ^{**}	۱۷/۳۴ ^{**}	۲۷۳۲/۴۰ ^{**}	۷/۲۵ ^{**}
نانوذره آهن (B)	۳	۱/۲۲ ^{**}	۲۷/۴۲ ^{**}	۳۱۱۷/۲۹ ^{**}	۷/۱۹ ^{**}
B × A	۹	۱/۵۰ ^{**}	۲۵/۱۴ ^{**}	۲۰۱۴/۹۲ ^{**}	۰/۷۳ ^{ns}
خطا	۳۰	۰/۱۲	۲/۱۱	۲۶۳/۳۴	۰/۶۹
ضریب تغییرات		۱۰/۶۹	۱۰/۴۰	۱۶/۴۰	۱۹/۱۰

ns. * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر ملاتونین و نانوذره آهن بر صفات رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه شنبلیله در مرحله رشد رویشی

تیمارها	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کاروتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل <i>b</i>
تکرار	۲	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۶ ^{ns}
ملاتونین (A)	۳	۰/۰۰۳۲ ^{**}	۰/۱۶۳ ^{**}	۰/۰۲۰۸ ^{**}
نانوذره آهن (B)	۳	۰/۰۰۱۹ ^{**}	۰/۱۷۳ ^{**}	۰/۰۲۶۴ ^{**}
B × A	۹	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۱۶ [*]
خطا	۳۰	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۷
ضریب تغییرات		۶/۹۵	۷/۰۱	۱۹/۹

ns. * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر ملاتونین و نانوذره آهن بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه شنبلیله در مرحله رشد رویشی

تیمارها	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		قند محلول	سوپراکسید دیسموتاز	پراکسیداز
تکرار	۲	۲۹/۱۰ ^{ns}	۰/۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}
ملاتونین (A)	۳	۶۵۰۷/۳۲ ^{**}	۰/۰۰۲ ^{**}	۰/۳۹ ^{**}
نانوذره آهن (B)	۳	۱۶۸۱۸/۷۰ ^{**}	۰/۰۰۸ ^{**}	۰/۲۶ ^{**}
B × A	۹	۶۰۸/۵۲ ^{**}	۰/۰۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۳ [*]
خطا	۳۰	۱۶۹/۴۴	۰/۰۰۰۷	۰/۰۱
ضریب تغییرات		۷/۵۲	۹/۷۰	۱۲/۰۷

ns. * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

یک مولکول سیگنال دهنده پلپروتروپیک محسوب می شود که اثرات تنش های غیرزیستی را کاهش و رشد و عملکرد فیزیولوژیکی بسیاری از گونه های گیاهی را افزایش می دهد. مطالعات اخیر، نقش محوری ملاتونین را در تنظیم عملکرد

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل نانوذره آهن و ملاتونین بر برخی صفات مورفولوژیکی گیاه شبلیله در مرحله رشد رویشی

ردیف	تیمارها	ارتفاع (سانتی متر)	تعداد برگ	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)
۱	M0NFe0	۲۹/۹۰ ^f	۷۶/۰۰ ^{ef}	۱۱/۵۵ ^{ghi}	۲/۵۴ ^{fg}
۲	M0NFe1	۳۲/۳۰ ^{def}	۸۲/۳۳ ^e	۱۲/۵۳ ^{ei}	۲/۹۳ ^{ef}
۳	M0NFe2	۳۲/۵۶ ^{cdef}	۱۰۰/۰۰ ^{cde}	۱۵/۴۰ ^{bc}	۳/۶۸ ^{bcd}
۴	M0NFe3	۳۱/۷۶ ^{ef}	۵۳/۰۰ ^f	۱۱/۸۵ ^{fi}	۲/۵۵ ^{fg}
۵	M1NFe0	۳۰/۶۶ ^f	۸۲/۰۰ ^e	۱۱/۵۱ ^{ghi}	۲/۲۹ ^g
۶	M1NFe1	۳۰/۳۶ ^f	۸۶/۶۷ ^{de}	۱۴/۰۲ ^{cf}	۳/۱۲ ^{def}
۷	M1NFe2	۴۱/۰۰ ^{ab}	۱۶۷/۰۰ ^a	۲۲/۱۲ ^a	۴/۶۱ ^a
۸	M1NFe3	۲۹/۶۶ ^f	۸۰/۳۳ ^{ef}	۱۵/۰۰ ^{bcd}	۳/۰۶ ^{ef}
۹	M2NFe0	۳۷/۶۶ ^{bcd}	۱۰۱/۰۰ ^{cde}	۱۳/۵۶ ^{ch}	۳/۳۶ ^{cde}
۱۰	M2NFe1	۳۷/۴۳ ^{bcd}	۸۷/۳۳ ^{de}	۱۲/۸۱ ^{di}	۳/۲۰ ^{cde}
۱۱	M2NFe2	۴۷/۷۰ ^a	۱۳۴/۰۰ ^b	۱۶/۵۰ ^b	۴/۰۰ ^b
۱۲	M2NFe3	۳۲/۹۳ ^{def}	۷۹/۶۷ ^{ef}	۱۱/۳۶ ^{hi}	۲/۷۸ ^{efg}
۱۳	M3NFe0	۳۱/۲۶ ^f	۱۱۳/۳۳ ^{bcd}	۱۴/۴۵ ^{bd}	۳/۷۴ ^{bc}
۱۴	M3NFe1	۳۹/۱۰ ^{abc}	۱۱۷/۰۰ ^{bc}	۱۳/۸۵ ^{eg}	۳/۷۲ ^{bc}
۱۵	M3NFe2	۳۰/۲۳ ^f	۸۹/۶۷ ^{cde}	۱۰/۷۲ ⁱ	۲/۵۵ ^{fg}
۱۶	M3NFe3	۴۰/۲۶ ^{ab}	۱۳۳/۶۷ ^b	۱۵/۵۶ ^b	۴/۰۱ ^b

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک و پنج درصد ندارند. M0، M1، M2، M3 به ترتیب برابر با غلظت صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میکرومولار از ملاتونین و NF0، NF1، NF2 و NF3 به ترتیب برابر با غلظت صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ پی‌پی‌ام از نانوذره آهن را نشان می‌دهد.

(جدول ۵). تحقیقات نشان داده‌اند که ملاتونین با عملکردهای فیزیولوژیکی متعدد از جمله تنظیم رشد گیاهان ریشه‌زایی، تأخیر در پیری برگ و ریزش گل، افزایش تعداد برگ در شاخه‌های جانبی به بهبود عملکرد گیاهان کمک می‌کند. در مطالعه‌ای، Ahmad و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که تیمارهای مختلف ملاتونین منجر به افزایش تعداد و سطح برگ در گیاه ذرت تحت تنش خشکی گردید. به علاوه، تحقیقات مختلف اثر مثبت نانوذره آهن بر روی ویژگی‌های رشدی گیاهان را گزارش کرده‌اند. همچنین، تحقیق Thomas و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد که کلات آهن منجر به توسعه بیشتر و بهتر تشکیل برگ‌ها، افزایش تعداد گره‌ها و کاهش طول میانگره و در نهایت سبب افزایش تعداد برگ‌ها شد. براساس نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین اثرات متقابل

رشد محصول نشان داده‌اند (Sheshadri et al., 2018). به علاوه، ملاتونین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی نقش‌های مختلفی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه همچون جوانه‌زنی (Zhang et al., 2017)، طویل شدن ریشه (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2019)، فتوسنتز (Li et al., 2017) و پیری برگ (Wang et al., 2022) ایفاء می‌کند.

نتایج این آزمایش نشان داد که در سطح ۷۵ میکرومولار ملاتونین، با کاربرد سطوح ۲۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن روند افزایشی در تعداد برگ مشاهده شد. اما در سطح ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین، فقط در غلظت ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن روند افزایشی ۲۴/۶۳٪ نسبت به شاهد ثبت گردید. همچنین سطح ۲۲۵ میکرومولار ملاتونین و غلظت ۶۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن (M3NFe3) منجر به افزایش تعداد برگ به میزان ۶۰/۳۵٪ شد

می‌بخشد (Sadak et al., 2020).

بر اساس نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین اثرات متقابل ملاتونین و نانوذره آهن بر مقدار کلروفیل a در گیاه شنبليله در مرحله رویشی، اثر سطوح مختلف ملاتونین با افزایش غلظت‌های نانوذره آهن بر مقدار کلروفیل a نسبت به نمونه شاهد روند افزایشی داشت (جدول ۶). غلظت‌های ۴۰ و ۶۰ پی‌پی‌ام نانوذره در هر سطح مورد مطالعه ملاتونین، بیشترین مقدار کلروفیل a را نشان دادند. در این بررسی، بیشترین مقدار کلروفیل a اختصاص به تیمار M2NFe2 برابر با افزایش ۳۸٪/۸۹ نسبت به تیمار شاهد بدست آمد. در تحقیق محمدزاده و همکاران (۱۳۹۰) بیشترین مقادیر کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید در تیمار ۹ کیلوگرم در هکتار محلول پاشی نانو کود کلات آهن در دو مرحله (قبل از گلدهی، شروع غلاف‌دهی) در گیاه لوبیا چیتی مشاهده شد. در مطالعه‌ای، Nemati و همکاران (۲۰۱۸) تأکید کردند که غلظت ۱/۵ گرم بر لیتر نانوذره آهن منجر به افزایش محتوای کلروفیل در گیاه نعنای فلفلی شد. محتوای کلروفیل به عنوان شاخص حیاتی در تعیین ظرفیت فتوسنتز و سلامت گیاه محسوب می‌شود. تغییرات در سطح کلروفیل در بین گونه‌های مختلف می‌تواند نشان‌دهنده تفاوت در سازگاری آنها با شرایط محیطی باشد. اغلب نانوذرات و ملاتونین تأثیر قابل توجهی بر ساختار و عملکرد دستگاه فتوسنتزی گیاه دارند. با این حال، طیف عمل آنها بسته به نوع نانوذرات، غلظت مورد استفاده و نوع گونه گیاهی به طور قابل توجهی متفاوت است (Kalisz et al., 2023). در ارتباط با اثر ملاتونین Qi و همکاران (۲۰۲۱) نشان داده شد که کاربرد ملاتونین باعث حفظ و یکپارچگی کلروپلاست در گل داوودی و مهار فتوسنتز در دمای بالا شد. همچنین، تغییر در سطوح پارامترهای فتوسنتزی بعد از اعمال تیمارهای ملاتونین حاکی از اثربخشی این ماده در بهبود سیستم انتقال الکترون‌های فتوسنتزی در گیاه گوجه‌فرنگی بود (Dou et al., 2025).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین مشخص شد که در سطوح مختلف ملاتونین، با افزایش غلظت نانوذره آهن، مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی روند افزایشی را نسبت به نمونه شاهد

ملاتونین و نانوذره آهن بر وزن تر گیاه شنبليله، بیشترین مقدار وزن تر به تیمار M1NFe3 (سطح ۷۵ میکرومولار ملاتونین و سطح ۶۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن) اختصاص داشت که نسبت به نمونه شاهد ۳۰/۳۲ درصد افزایش را نشان داد. در سطوح دیگر ملاتونین، با افزایش غلظت نانوذره آهن روند منظمی مشاهده نشد، اما تیمارهای M2NFe2 (سطح ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین و سطح ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن) و M3NFe3 (سطح ۲۲۵ میکرومولار ملاتونین و سطح ۶۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن) بیشترین مقدار وزن تر به ترتیب با ۱۶/۵ و ۱۶/۵۶ گرم را نشان دادند (جدول ۵). قاسمی فسایی و همکاران (۱۳۸۵) به این نتیجه رسیدند که محلول پاشی آهن وزن خشک در گیاه سویا را افزایش داد بطوریکه کاربرد ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک به ترتیب به میزان ۴۵/۳ و ۹۸/۷ درصد نسبت به نمونه شاهد گردید.

مقایسه میانگین اثرات متقابل ملاتونین و نانوذره آهن بر وزن خشک گیاه شنبليله حاکی از آن بود که تیمارهای M1NFe2 (سطح ۷۵ میکرومولار ملاتونین و سطح ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن)، M2NFe2 (سطح ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین و سطح ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن) و M3NFe3 (سطح ۲۲۵ میکرومولار ملاتونین و سطح ۶۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن) به ترتیب بیشترین مقدار وزن خشک اندام هوایی به میزان ۵۰/۳۳٪ و ۴۲/۷۵٪ را در میان تیمارهای مورد مطالعه نشان دادند (جدول ۵). نتایج آزمایش حاضر با نتایج تحقیقات نیک‌پور محمدجانلو و همکاران (۱۳۹۰) بر روی گیاه سیب زمینی مطابقت داشت. تحقیقات نشان داده‌اند که نانوذرات مسئول انتقال و جابه‌جایی مواد مغذی مختلف از ریشه به شاخ و برگ و همچنین حرکت مواد فتوسنتزی در سراسر گیاهان هستند که ممکن است بر قدرت مخزن (sink) تأثیر بگذارد. به دلیل وجود این مکانیسم، عملکرد و اجزای عملکرد می‌تواند بعد از کاربرد نانوذرات آهن افزایش یابد (Liu and Lal, 2014). همچنین، اثر ملاتونین به عنوان مولکول سیگنال‌دهنده انتقال مواد فتوسنتزی از منبع به مخزن شناسایی شده است که در نهایت عملکرد گیاه بالاخص در شرایط تنش بهبود

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل ملاتونین و نانوذره آهن بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شنبلیله در مرحله رویشی

ردیف	تیمارها	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	کاتالاز (میکروگرم پروتئین در دقیقه)	پراکسیداز (میکروگرم پروتئین در دقیقه)	قند محلول (میکروگرم پروتئین در دقیقه)
۱	M0NFe0	۰/۳۷ ^{ijk}	۱۱۴/۵۰ ^f	۰/۶۲ ^g	۱/۴۱ ^f
۲	M0NFe1	۰/۳۳ ^k	۱۲۸/۴۷ ^{ef}	۰/۶۶ ^g	۱/۸۶ ^e
۳	M0NFe2	۰/۴۲ ^{fi}	۱۵۲/۵۵ ^{cd}	۰/۸۹ ^{ef}	۲/۲۲ ^{de}
۴	M0NFe3	۰/۴۰ ^{hi}	۱۸۳/۸۱ ^b	۰/۹۵ ^{def}	۲/۵۳ ^{cd}
۵	M1NFe0	۰/۳۵ ^{jk}	۱۱۷/۱۴ ^f	۰/۶۴ ^g	۱/۸۴ ^e
۶	M1NFe1	۰/۴۱ ^{ghi}	۱۲۴/۳۲ ^{ef}	۰/۸۰ ^{fg}	۲/۰۵ ^e
۷	M1NFe2	۰/۴۸ ^{bcd}	۱۸۶/۸۶ ^b	۱/۱۷ ^{bc}	۲/۹۳ ^{abc}
۸	M1NFe3	۰/۴۴ ^{eh}	۲۲۲/۳۳ ^a	۱/۰۶ ^{bcd}	۲/۶۱ ^{bcd}
۹	M2NFe0	۰/۴۰ ^{hij}	۱۴۳/۳۹ ^{de}	۰/۹۶ ^{cf}	۲/۷۰ ^{bc}
۱۰	M2NFe1	۰/۴۵ ^{dg}	۱۷۰/۴۰ ^{bc}	۱/۱۱ ^{bcd}	۲/۶۳ ^{bcd}
۱۱	M2NFe2	۰/۵۴ ^a	۲۲۸/۸۵ ^a	۰/۴۱ ^a	۳/۲۶ ^a
۱۲	M2NFe3	۰/۴۷ ^{cde}	۲۲۵/۶۴ ^a	۱/۱۰ ^{bcd}	۲/۸۶ ^{abc}
۱۳	M3NFe0	۰/۴۱ ^{ghi}	۱۵۱/۵۱ ^{cd}	۱/۰۹ ^{bc}	۲/۶۸ ^{bc}
۱۴	M3NFe1	۰/۴۶ ^{df}	۱۸۴/۲۸ ^b	۱/۱۴ ^{bcd}	۲/۹۰ ^{abc}
۱۵	M3NFe2	۰/۵۲ ^{ab}	۲۱۷/۱۴ ^a	۱/۲۰ ^b	۳/۰۲ ^{ab}
۱۶	M3NFe3	۰/۵۰ ^{abc}	۲۱۵/۲۵ ^a	۱/۱۷ ^b	۲/۹۷ ^{ab}

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک و پنج درصد ندارند. M0، M1، M2، M3 به ترتیب برابر با غلظت صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میکرومولار از ملاتونین و NF0، NF1، NF2، NF3 به ترتیب برابر با غلظت صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ پی‌پی‌ام از نانوذره آهن را نشان می‌دهد.

باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شدند که با نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت داشت (Amirinejad et al., 2016). Yin و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که آهن از مهمترین اجزای تشکیل‌دهنده آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز است که واکنش‌های تبدیل آب اکسیژنه به آب و اکسیژن را به عهده دارد و از سمیت آب اکسیژنه جلوگیری می‌کند. برای تشکیل ساختمان ظریف کلروفیل وجود آهن الزامی می‌باشد و کمبود آن تعداد و اندازه کلروپلاست را کاهش می‌دهد. Yuan و همکاران (۲۰۱۸) اشاره کردند که استفاده از نانوذرات، جذب مواد مغذی، فعالیت

داشتند به گونه‌ای که در سطح ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین و ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره (M2NFe2) مقدار آنزیم کاتالاز برابر با ۲۲۸/۸۵ میکروگرم پروتئین در دقیقه (افزایش ۹۹/۵۶٪ نسبت به تیمار شاهد) و مقدار آنزیم پراکسیداز برابر با ۱/۴۱ میکروگرم پروتئین در دقیقه (افزایش ۱۸۵/۳۷٪ نسبت به تیمار شاهد) بیشترین مقادیر را در میان تیمارهای مختلف دیگر به ثبت رساندند (جدول ۶). نتایج مطالعات هاشمی و همکاران (۱۳۸۸) نشان داد استفاده از این ترکیب باعث افزایش میزان فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و گایاکول پراکسیداز در گیاه چای ترش شد. در پژوهشی بر روی گیاه دارویی زیره سبز مشاهده شد که محلول پاشی آهن و روی

نیترا ردوکتاز و جذب نیتروژن را افزایش می دهد که به نوبه خود باعث بهبود سنتز پروتئین ها و اسیدهای آمینه می شود. همچنین، نانوذرات راندمان مصرف آب را افزایش می دهند که منجر به افزایش در جذب عناصر غذایی و رشد گیاه می گردد. توانایی ملاتونین در القاء فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی نقش مهمی در ویژگی های آنتی اکسیدانی آن بازی می کند. Zhang و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی همچون سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز و آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی نظیر آسکوربات، گلوکاتایون و کاروتنوئید با استفاده از ملاتونین در پاسخ به تنش های محیطی مختلف افزایش می یابند.

در این آزمایش، اثر نانوذره آهن بر مقدار قند محلول در گیاه شنبلله نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره آهن، مقدار این صفت روند افزایشی داشت به گونه ای که در غلظت ۶۰ پی پی ام بیشترین مقدار قند محلول برابر با ۱۸۳/۸ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ نسبت به نمونه شاهد با ۱۱۴/۵ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ (افزایش ۱۳۱/۲۱٪ نسبت به شاهد) مشاهده شد (جدول ۶). همچنین، نتایج مقایسه میانگین برهمکنش این دو تیمار حاکی از آن بود که در سطح ۷۵ میکرومولار ملاتونین، با افزایش نانوذره آهن، مقدار قند محلول روند افزایشی معنی داری داشت به گونه ای که در تیمارهای $M1NFe3$ (سطح ۷۵ میکرومولار ملاتونین و سطح ۶۰ پی پی ام نانوذره آهن) با ۲۲۲/۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ نسبت به نمونه شاهد ۸۹/۷ درصد روند افزایشی داشت. در میان تیمارهای مورد مطالعه، تیمار $M2NFe2$ (سطح ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین و سطح ۴۰ پی پی ام نانوذره آهن) بیشترین مقدار قند محلول با ۲۲۸/۸ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ گزارش شد (جدول ۶). در تحقیقی، Rezayian و همکاران (۲۰۲۳) بیان کردند که نانوذره آهن منجر به افزایش محتوای قند محلول در گیاه کلزا شد.

آهن به عنوان کوفاکتور تنظیمی آنزیم های مختلف می تواند بر تمام متابولیسم های گیاه تأثیر بگذارد (Vadivel et

al., 2012). نانوذرات آهن در مقایسه با فلز آهن می تواند سریع تر و کامل تر توسط گیاهان جذب شود که سبب می شود گیاهان بتوانند از مواد مغذی موجود در آن استفاده کنند و رشد پربارتری داشته باشند (Askary et al., 2017). بر این اساس، به نظر می رسد که نانوذرات اکسید آهن می توانند آهن مورد نیاز را برای واکنش های آنزیمی درگیر در متابولیسم قندها و نیتروژن در دسترس گیاه قرار دهند و متابولیسم قند و پروتئین را افزایش دهند. به طور مشابه، افزایش قند و محتوای پروتئین در پاسخ به نانوذرات اکسید آهن نیز توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده است (Sheykhbaglou et al., 2018). به علاوه، طبق تحقیقات انجام شده قبلی، ملاتونین به طور مؤثری قابلیت افزایش سطح آسکوربیک اسید، قند محلول و فنول کل در گیاه را دارد. در مطالعه دیگر، Liu و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که کاربرد ۱۰۰ میکرومول بر لیتر ملاتونین در گیاه گلابی منجر به افزایش محتوای قند محلول در طی دوره رسیدگی شد.

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بکارگیری غلظت های مختلف نانوذره آهن باعث افزایش برخی از صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله تعداد شاخه، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و آنزیم پراکسیداز در مرحله رشد رویشی در گیاه شنبلله گردید. همچنین استفاده از غلظت های مختلف ملاتونین بخصوص غلظت های بالای این محرک (۱۵۰ و ۲۲۵ میکرومولار) نیز منجر به افزایش تعداد شاخه، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و آنزیم پراکسیداز شد. همچنین اثر متقابل ملاتونین و نانوذره آهن بر برخی از صفات شامل میزان قند محلول، فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز، محتوای کلروفیل a، وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد برگ و ارتفاع گیاه حاکی از آن بود که در سطوح مختلف ملاتونین، با افزایش غلظت های مختلف نانوذره آهن، مقادیر این صفات روند افزایشی داشت. همین طور، براساس نتایج

می توان جهت افزایش کمی و کیفی صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در سایر گونه های مشابه استفاده کرد.

بدست آمده از پژوهش حاضر می توان پیشنهاد کرد که ترکیب تیماری ۲۰ و ۴۰ پی پی ام از نانوذره آهن و ۱۵۰ میکرومولار از محرک ملاتونین می تواند بهترین تأثیر را جهت بهبود صفات مذکور در گیاه شنبلیله داشته باشد که از این ترکیب تیماری

منابع

عزیزی، فاطمه، امیری، حمزه، و اسماعیلی، احمد (۱۳۹۸). اثر ملاتونین بر برخی ویژگی های مورفوفیزیولوژیکی گیاه لوبیا رقم صدری تحت تنش شوری. *مجله پژوهش های گیاهی*، ۳۲(۳)، ۶۴۸-۶۳۶.

قاسمی فسایی، رضا، رونقی، عبدالمجید، مفتون، منوچهر، و کریمیان، نجفعلی (۱۳۸۵). تأثیر آهن بر عملکرد و ترکیب شیمیایی دانه ژنوتیپ های سویا. *مجله علمی کشاورزی*، ۲۹(۲)، ۱-۱۳.

محمدزاده، آرش، مجیدی دیزج، حسن، مجنون حسینی، ناصر، و بقایی، ناصر (۱۳۹۰). بررسی تأثیر کود نانو کلاته آهن بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چیتی. *کنفرانس کنگره علوم خاک ایران، تبریز، ایران*.

نیک پور محمد جانلو، لطف اله، قلی پوری، عبدالقیوم، توبه، احمد، و حسن پناه، داوود (۱۳۹۰). تأثیر سطوح مختلف کودهای آهن، نیتروژن و پتاسیم بر روی عملکرد و برخی خصوصیات کمی سیب زمینی رقم آگریا. اولین کنگره ملی علوم فناوری های نوین کشاورزی. دانشگاه زنجان، ایران.

هاشمی، محمد هادی، مدن دوست، مهدی، و دژم، محمود (۱۳۸۸). بررسی اثرات محلول پاشی سولفات روی و آهن بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه کلزا. *مجموعه مقالات دومین همایش منطقه ای علوم کشاورزی و صنایع غذایی*. دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا، ایران.

- Ahmad, S., Muhammad, I., Wang, G. Y., Zeeshan, M., Yang, L., Ali, I., & Zhou, X. B. (2021). Ameliorative effect of melatonin improves drought tolerance by regulating growth, photosynthetic traits and leaf ultrastructure of maize seedlings. *BMC Plant Biology*, 21(1), 368.
- Ahmed, M. A., Shafiei-Masouleh, S. S., Mohsin, R. M., & Salih, Z. K. (2023). Foliar application of iron oxide nanoparticles promotes growth, mineral contents, and medicinal qualities of *Solidago virgaurea* L. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23(2), 2610-2624.
- Amiri-Maleki, A., Ranjbar, G. A., Kazemitabar, S. K., Ghasemi-Omran, V., & Hosseini, S. J. (2024). The effects of salicylic acid and melatonin elicitors on the antioxidant enzymes activity and morphological characteristics of *Acorus calamus* under drought stress. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 12(2), 117-132.
- Amirinejad, M., Akbari, G. H., Baghizadeh, A., Allahdadi, A., Shahbazi, M., & Naimi, M. (2016). Effects of drought stress and foliar application of zinc and iron on some biochemical parameters of cumin. *Journal of Crop Improvement*, 17, 855-866.
- Arnao, M. B., & Hernandez-Ruiz, J. (2015). Functions of melatonin in plants: A review. *Journal of Pineal Research*, 59(2), 133-150.
- Arnao, M. B., & Hernandez-Ruiz, J. (2019). Melatonin: A new plant hormone and/or a plant master regulator? *Trends Plant Science*, 24, 38-48.
- Arnon, P. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
- Askari, M., Hamid, N., Abideen, Z., Zulfiqar, F., Moosa, A., Nafees, M., & El-Keblawy, A. (2023). Exogenous melatonin application stimulates growth, photosynthetic pigments and antioxidant potential of white beans under salinity stress. *South African Journal of Botany*, 160, 219-228.
- Askary, M., Talebi, S. M., Amini, F., Dousti, A., & Bangan, B. (2017). Effects of iron nanoparticles on *Mentha piperita* L. under salinity stress. *Biologija*, 63, 65-75.
- Bhandari, P., Kaur, R., & Kaur, G. (2019). Pharmacological properties of *Trigonella foenum-graecum*: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 245, 112158.
- Butova, V. V., Bauer, T. V., Polyakov, V. A., & Minkina, T. M. (2023). Advances in nanoparticle and organic formulations for prolonged controlled release of auxins. *Plant Physiology and Biochemistry*, 201, 107808.

- Dou, J., Tang, Z., Yu, J., Wang, G., An, W., Zhang, Y., & Yang, Q. (2025). Effects of exogenous melatonin on the growth and photosynthetic characteristics of tomato seedlings under saline-alkali stress. *Scientific Reports*, 15(1), 5172.
- Eghlima, G., Aghamir, F., Hajizadeh, H. S., & Zarbakhsh, S. (2025). Role of melatonin in promoting growth attributes, thymol, rosmarinic acid and biochemical properties in *Thymus vulgaris* L. under water deficiency. *BMC Plant Biology*, 25(1), 603.
- Erland, L. A. E., Shukla, M. R., Singh, A. S., Murch, S. J., & Saxena, P. K. (2018). Melatonin and serotonin: Mediators in the symphony of plant morphogenesis. *Journal of Pineal Research*, 64, e12452.
- Gao, D., Zhao, S., Huang, R., Geng, Y., & Guo, L. (2024). The effects of exogenous iron on the photosynthetic performance and transcriptome of rice under salt-alkali stress. *Agronomy*, 14(6), 1253.
- Janas, K. M., & Posmyk, M. M. (2013). Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 3285-3292.
- Kalisz, A., Kornas, A., Skoczowski, A., Oliwa, J., Jurkow, R., Gil, J., ... & Caruso, G. (2023). Leaf chlorophyll fluorescence and reflectance of oakleaf lettuce exposed to metal and metal (oid) oxide nanoparticles. *BMC Plant Biology*, 23(1), 329.
- Khan, Y., Ullah, N., & Khan, M. I. (2021). Nanoparticles in agriculture: A review on their potential applications and effects on plants. *Journal of Nanobiotechnology*, 19(1), 1-16.
- Kulus, D., Tymoszek, A., Goscinna, K., & Osial, M. (2025). Enhancing germination and growth of chrysanthemum synthetic seeds through iron oxide nanoparticles and indole-3-acetic acid: Impact of treatment duration on metabolic activity and genetic stability. *Nanotechnology, Science and Applications*, 139-155.
- Li, J., Zeng, L., Cheng, Y., Lu, G., Fu, G., Ma, H., Liu, Q., Zhang, X., Zou, X., & Li, C. (2018). Exogenous melatonin alleviates damage from drought stress in *Brassica napus* L. (rapeseed) seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40, 43.
- Liu, J. L. (2019). Regulatory function of exogenous melatonin on fruit development, postharvest fruit quality and ring rot disease resistance in pears. Doctor Thesis, Northwest A & F University, Yangling, China.
- Liu, R., & Lal, R. (2014). Synthetic apatite nanoparticles as a phosphorus fertilizer for soybean (*Glycine max*). *Scientific Reports*, 4, 5686.
- Liu, W., Zhang, Y., Yuan, X., Xuan, Y., & Yan, Y. (2016). Exogenous salicylic acid improves salinity tolerance of *Nitraria tangutorum*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(1), 132-142.
- Lucena, J. J., & Chaney, R. L. (2007). Response of cucumber plants to low doses of different synthetic iron chelates in hydroponic. *Journal of Plant Nutrition*, 30, 795-809.
- Luck, H. (1965). Peroxidase. *Methods of Enzymatic Analysis*, 895-897.
- Luck, H. (1974). *Methods in Enzymatic Analysis*. Academic Press. New York.
- Mansoori, A., Mohammadi, R., & Mohammadi, S. (2015). Anti-inflammatory effects of fenugreek in the treatment of arthritis. *Journal of Ethnopharmacology*, 174, 626-634.
- Mc Cready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V., & Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, 22(9), 1156-1158.
- Nemati Lafmejani, Z., Jafari, A. A., Moradi, P., & Ladan Moghadam, A. (2018). Impact of foliar application of iron-chelate and iron nano particles on some morpho-physiological traits and essential oil composition of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(5), 1374-1384.
- Qi, X. Y., Wang, W. L., Hu, S. Q., Liu, M. Y., Zheng, C. S., & Sun, X. Z. (2021). Effects of exogenous melatonin on photosynthesis and physiological characteristics of chry-santhemum seedlings under high temperature stress. *The Journal of Applied Ecology*, 32(7), 2496-2504.
- Rezayian, M., Niknam, V., & Arabloo, M. (2023). Iron nanoparticle regulate succinate dehydrogenase activity in canola plants under drought stress. *Scientific Reports*, 13(1), 9628.
- Sadak, M. S., Abdalla, A. M., Abd Elhamid, E. M., & Ezzo, M. I. (2020). Role of melatonin in improving growth, yield quantity and quality of *Moringa oleifera* L. plant under drought stress. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1), 18.
- Sardar, T., Ishtiaq, M., Mazhar, M. W., Maqbool, M., Moussa, I. M., Zaman, W., & Mahmoud, E. A. (2023). Methyl jasmonate and iron oxide nanoparticles act as elicitors to stimulate production of bioactive antioxidants and metabolites in the in vitro callus cultures of *Bergenia ciliata* (haw.) Sternb. *South African Journal of Botany*, 162, 201-210.
- Shahrood, I. (2018). Iron chelate and Rhizobacteria changed growth, grain yield, and physiological characteristics in maize. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 49(4), 245-254.
- Sheikhalipour, M., Kulak, M., Mohammadi, S. A., Esmailpour, B., Nouraein, M., Kocak, M. Z., & Vita, F. (2024). Foliar application of either melatonin or sodium nitropoprusside regulates the antioxidant status, and the morpho-physiological attributes and essential oil production in sage (*Salvia officinalis* L.) under salinity stress. *Scientia Horticulturae*, 323, 112526.

- Sheshadri, S., Nishanth, M., Yamine, V., & Simon, B. (2018). Effect of melatonin on the stability and expression of reference genes in *catharanthus roseus*. *Scientific Reports*, 8, 1-11.
- Sheykhbaglou, R., Sedghi, M., & Fathi Achachlouie, B. (2018). The effect of ferrous nano-oxide particles on physiological traits and nutritional compounds of soybean (*Glycine max* L.) seed. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90(1), 485-494.
- Suh, H., Kim, C. H., Lee, J., & Jung, J. (2002). Photodynamic effect of iron on photosystem II function in pea plants. *Photochemistry and Photobiology*, 75, 513-18.
- Tafvizi, M., Moteszarehadeh, B., & Savaghebi, G. (2014). Investigating the effects of lead contamination and foliar application of iron on some physiological characteristics in two forage corn (*Zea mays* L.) hybrids in calcareous soil. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 45, 213-226.
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Liu, X., Rosales-Corral, S. A., Acuna-Castroviejo, D., & Reiter, R. J. (2013). Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: A hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. *Journal of Pineal Research*, 54, 127-138.
- Tariverdizadeh, N., Mohebodini, M., Chamani, E., & Ebadi, A. (2021). Iron and zinc oxide nanoparticles: An efficient elicitor to enhance trigonelline alkaloid production in hairy roots of fenugreek. *Industrial Crops and Products*, 162, 113240.
- Thomas, P., Mythili, J. B., & Shivashankara, K. S. (2000). Effect of photo oxidative loss of FeNa₂EDTA and of higher iron supply on chlorophyll content, growth and propagation rate in triploid water melon cultures. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 36, 537-542.
- Vadivel, N., Yuvakkumar, R., Suriyaprabha, R., & Rajendran, V. (2012). Catalytic effect of iron nanoparticles on heterocyst, protein and chlorophyll content of *Anabaena* sp. *International Journal of Green Nanotechnology*, 4(3), 326-338.
- Wang, K., Xing, Q., Ahammed, G. J., & Zhou, J. (2022). Functions and prospects of melatonin in plant growth, yield and quality. *Journal Experimental Botany*, 5928-5946.
- Waqas, M., Ahmad, B., Arif, M., Munsif, F., Khan, A. L., Amin, M., Kang, S. M., Kim, Y. H., & Lee, I. J. (2014). Evaluation of humic acid application methods for yield and yield components of mungbean. *American Journal of Plant Sciences*, 5, 2269-2276.
- Yin, W., Wu, J., Li, P., Wang, X., Zhu, N., Wu, P., & Yang, B. (2012). Experimental study of zero-valent iron induced nitrobenzene reduction in groundwater: The effects of pH, iron dosage, oxygen and common dissolved anions. *Chemical Engineering Journal*, 184, 198-204.
- Yuan, L., Richardson, C. J., Ho, M., Willis, C. W., Colman, B. P., & Wiesner, M. R. (2018). Stress responses of aquatic plants to silver nanoparticles. *Environmental Science and Technology*, 52(5), 2558-2565.
- Zhang, W. (2005). Nanoparticle iron particle for environmental remediation. *Journal of Nanoparticle*, 5, 323-332.
- Zhang, N., Zhang, H. J., Sun, Q. Q., Cao, Y. Y., Li, X., & Zhao, B. (2017). Proteomic analysis reveals a role of melatonin in promoting cucumber seed germination under high salinity by regulating energy production. *Scientific Reports*, 7, 1-15.
- Zhang, M., He, S., Qin, B., Jin, X., Wang, M., Ren, C., ... & Zhang, Y. (2020). Exogenous melatonin reduces the inhibitory effect of osmotic stress on antioxidant properties and cell ultrastructure at germination stage of soybean. *PLoS One*, 15(12), e0243537.

Evaluation the effect of foliar application of iron nanoparticle and melatonin on morpho-physiological and biochemical traits in fenugreek (*Trigonella foenum L.*)

Ali Asghar Khaleghi Rostamkolai¹, Mahyar Gerami¹, Parastoo Majidian², Hamid Reza Ghorbani^{2*}

¹ Biology Department, Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran

² Crop and Horticultural Science Research Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran

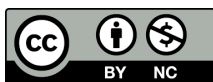
Abstract

Application of nanoparticles and elicitors in medicinal plants have important roles in traditional medicare. The aim of this study was to assess the effect of foliar application of iron nanoparticle and melatonin on morphological and physiological properties of fenugreek. This study was carried out based on completely randomized block design with three replications at Bayeh-Kola agricultural research station in Neka city in 2023. The treatments contain 4 levels of iron nanoparticle (0, 20, 40, and 60 ppm) and 4 levels of melatonin (0, 75, 150, and 225 μ M). The morphological and physiological traits were analyzed at vegetative growth stage. The results of this study showed that the simple effect of iron nanoparticle and melatonin on number of branch, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid and peroxidase enzyme were significant at 1% probability. The interaction effect of the treatments on some physiological traits including (soluble sugar content, peroxidase enzyme, catalase enzyme and chlorophyll a content) and morphological traits contains (shoot wet and dry weight, leaf number and plant height) were significant at 1% probability. The results of the present study indicated the significant increase of some morphological and physiological traits at vegetative growth stage with increment of iron nanoparticle and melatonin. The M2NF2 (150 μ M melatonin and 40 ppm iron nanoparticle) treatment caused the highest level of plant height, chlorophyll a, catalase and peroxidase and soluble sugar. While, the highest amount of shoot wet and dry weight and leaf number was obtained by M1NF2 (75 μ M melatonin and 40 ppm iron nanoparticle). In total, the concentrations of 20 and 40 ppm of iron nanoparticle and 150 μ M melatonin exhibited the most effect on morpho-physiological traits of fenugreek exhibiting their use in other similar species.

Keywords: Elicitor, Medicinal plant, Nanotechnology, Secondary metabolite

Received: Jul. 27, 2025; Revised: Sep. 22, 2025; Accepted: Oct. 14, 2025; Published Online: May. 02, 2026

*Corresponding Author: h.ghorbani@areeo.ac.ir



Copyright © 2025 Iranian Society of Plant Physiology, Published by Isfahan University of Technology press. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.