

## پاسخ صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کلزا (*Brassica napus L*) به کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده تحت تنش شوری

آزاده کاشانی<sup>۱</sup>، همت‌اله پیردشتی<sup>۲\*</sup>، پوریا بی‌پروا<sup>۳</sup> و سید مصطفی عمادی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، <sup>۲</sup> گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، <sup>۳</sup> گروه علوم پایه، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، <sup>۴</sup> گروه خاکشناسی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۷/۰۴)

### چکیده

به منظور مطالعه تأثیر نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کلزا (*Brassica napus L.*) رقم هایولا ۴۰۱ تحت تنش شوری، پژوهشی در شرایط کنترل شده به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. در مرحله اول نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده سنتز و در مرحله دوم غلظت بهینه آن تعیین شد. در مرحله سوم نیز اثر سه سطح کودی شاهد، نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده در غلظت بهینه و کی‌لیت (شلات) آهن در سطوح مختلف شوری (صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار با استفاده از نمک کلرید سدیم) در شرایط هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل از مرحله مقدماتی تیمار ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر به عنوان غلظت بهینه نانوذرات آهن صفرظرفیتی سنتز شده تعیین شد. به علاوه معادلات رگرسیونی برازش داده نشان داد که پس از کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده با افزایش سطح شوری شیب کاهشی طول ریشه‌چه، قطر ساقه، وزن خشک گیاه، وزن خشک ریشه‌چه و کلروفیل  $a+b$  و شیب افزایشی نشت الکترولیت نسبت به شاهد و کی‌لیت آهن کمتر بود. همچنین شیب افزایشی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز بیشتر از شاهد و کی‌لیت آهن بود به‌گونه‌ای که طی کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده فعالیت کاتالاز (GPX) و گاباکول پراکسیداز (CAT) در سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار تا دو برابر افزایش به ترتیب نسبت به شاهد و کی‌لیت آهن نشان داد. در مجموع، نتایج بیانگر اثربخشی مثبت نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده همراه با افزایش سطح شوری در بهبود رشد گیاه کلزا در مقایسه با شاهد و کی‌لیت آهن بود.

کلید واژه: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، رگرسیون، کلزا، کی‌لیت، نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده و هیدروپونیک

### مقدمه

مهمترین و متداول‌ترین تنش محیطی در سطح جهان و از جمله ایران است که از یک سو سبب کاهش عملکرد و از سوی دیگر سبب بروز مشکلات در توسعه کشت گیاهان از جمله کلزا می‌شود (فتحی و زاهدی، ۱۳۹۳؛ Moheb et al.,

بر اساس برآوردها، بیش از ۷۷ میلیون هکتار (پنج درصد) از زمین‌های قابل کشت در سراسر جهان با مشکل شوری مواجه هستند (Moheb et al., 2012). شوری پس از خشکی،

\*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: pirdasht@yahoo.com

ترکیبات بسیاری از آنزیم‌ها (نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز) و پروتئین‌ها و نقش این عنصر در تثبیت نیتروژن بیشترین کاربرد را در بخش کشاورزی دارند (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Buu et al., 2013). گزارش‌های متعددی در زمینه تأثیر مثبت نانوذرات آهن در تعدیل اثرات تنش و افزایش مقاومت در برابر تنش در برخی گیاهان از جمله ریحان و مرزه (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰)، زعفران (بقایی و ملکی فراهانی، ۱۳۹۲) آفتابگردان (ترابیان و زاهدی، ۱۳۹۲)، سیب زمینی (برقی و همکاران، ۱۳۹۳)، ذرت (فتیحی و زاهدی، ۱۳۹۳)، کلزا (بیاتی و همکاران، ۱۳۹۳)، لوبیا چشم‌بلبلی (Monsef Afsar et al., 2012)، اسفناج (Ladan Moghadam et al., 2012) و سویا (Buu et al., 2013) وجود دارد. از آنجا که نانوتکنولوژی بسیار نوظهور بوده و هنوز آگاهی اندکی نسبت به آن وجود دارد، انجام تحقیقات گسترده پیرامون اثرات این فناوری‌ها بر محیط و جایگاه واقعی آن برای رسیدن به کشاورزی پایدار، امری ضروری است. از این رو پژوهش حاضر با هدف سنتز و تعیین غلظت بهینه نانوذرات آهن صفر ظرفیتی و بررسی آن در مقایسه با کی‌لیت آهن بر بهبود رشد و تحمل کلزا در برابر تنش شوری انجام شده است.

#### مواد و روش‌ها

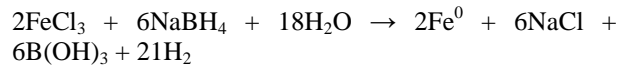
این پژوهش در سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طی سه مرحله (الف: سنتز نانوذرات آهن صفر ظرفیتی، ب: آزمایش مقدماتی و ج: کشت هیدروپونیک) به اجرا درآمد.

**سنتز نانوذرات آهن صفر ظرفیتی:** در مرحله اول جهت بررسی اثر تیمار نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده بر شرایط رشد گیاه تحت تنش شوری، ابتدا نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده با اسید آسکوربیک (AAS – ZVIN) در دمای محیط از طریق احیای کلرید آهن ( $FeCl_3$ ) توسط سدیم بر هیدرات ( $NaBH_4$ ) بر اساس معادله ۱ سنتز شد (Savasari et al., 2015).

کلزا یا کانولای یک ساله یک گیاه دانه روغنی خوراکی، متعلق به خانواده *Brassicaceae* با نام علمی *Brassica napus* L. است. بذره‌های این گیاه بیش از ۴۰ درصد روغن داشته و پس از استحصال روغن از دانه‌ها، کنجاله باقی مانده حدود ۴۳-۳۸ درصد پروتئین دارد (Moheb et al., 2012). شوری خاک سبب کاهش حلالیت عناصر کم-مصرف (آهن، منگنز، مس، روی و مولیبدن) و کاهش جذب این عناصر توسط گیاه کلزا شده و در نتیجه سبب کاهش رشد ریشه و ظهور برگ‌ها و در صورت تداوم روند شوری در مراحل بعدی رشد موجب کاهش در ارتفاع گیاه، تعداد غلاف و تعداد دانه در غلاف می‌شود (بایبوردی و همکاران، ۱۳۸۹؛ عباس‌زاده و رضایی، ۱۳۹۱؛ ترابیان و زاهدی، ۱۳۹۲؛ فتیحی و زاهدی، ۱۳۹۳؛ Pessarakli, 1999؛ Kaya et al., 2013؛ Rasheed et al., 2014). بر همین اساس، کارایی تولید کلزا در خاک‌های شور یا آبیاری با آب‌های شور، در معرض خطر گرفته است (فتیحی و زاهدی، ۱۳۹۳؛ Rasheed et al., 2014).

نتایج مطالعات حاکی از آن است که تحت شرایط کمبود عناصر ریز مغذی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش یافته و لذا حساسیت گیاهان به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Helaly et al., 2014). اگرچه کودهای شیمیایی، نقش اساسی در جبران کمبود عناصر کم‌مصرف گیاه ایفا می‌کنند اما غلظت بسیار کمی از عناصر موجود در آن‌ها، بسیار کمتر از حداقل غلظت مورد نیاز گیاه، به مکان هدف می‌رسد و بخش زیادی به واسطه‌ی فتولیز، هیدرولیز و فعالیت‌های میکروبی تخریب می‌شوند. از این رو به‌کارگیری نانوذرات‌ها به عنوان جایگزین کودهای شیمیایی (به‌منظور به حداقل رسیدن اثرات منفی ناشی مصرف بیش از حد آن‌ها و کاهش تعداد دفعات کاربریشان) می‌تواند یکی از راه‌های مؤثر در رفع نیاز غذایی گیاهان به‌ویژه کلزا به عناصر کم‌مصرف و افزایش جذب این عناصر باشد (Siddiqui et al., 2015). از بین نانوذرات عناصر کم‌مصرف، نانوذرات آهن به علت حضور فعال در فرآیندهای اکسیداسیون و حضور در

معادله (۱)



ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول، شامل مخلوط ۰/۱۶ مولار سدیم برهیدرات و ۰/۱ مولار سود (NaOH) در آب دی‌یونیزه آماده شد. سپس به‌طور جداگانه ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول (۳۰ میلی‌لیتر اتانول و ۷۰ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه) حاوی مخلوط ۰/۱ مولار اسید آسکوربیک و کلرید آهن ۰/۱ مولار تهیه شد. در مرحله بعد سدیم برهیدرات حل شده با سود را داخل بورت ریخته و به صورت قطره قطره (یک قطره در هر دو ثانیه) به محلول کلرید آهن اضافه گردید. در طول ساخت نانوذرات آهن صفرفریتی پایدارشده محلول به‌صورت یکنواخت و با سرعت ثابت توسط همزن برقی همزده و در پایان برای اطمینان کامل از شرایط احیا و اتمام واکنش، محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه روی همزن برقی باقی ماند. به منظور تعیین اندازه نانوذرات آهن صفرفریتی پایدارشده نیز از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده گردید (شکل ۱).

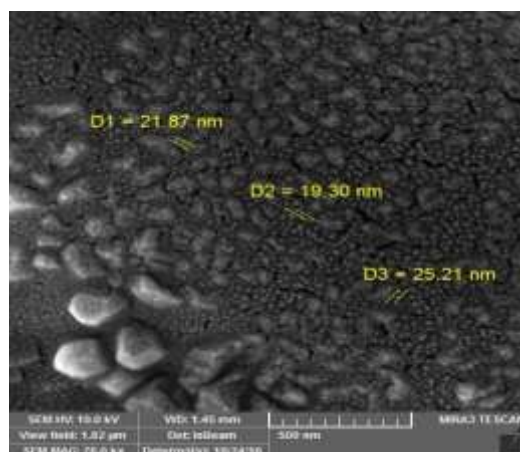
**آزمایش مقدماتی:** در این مرحله آزمایش‌های مربوط به تعیین غلظت بهینه نانوذرات انجام شد. برای این منظور مقادیر صفر، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸ میلی‌گرم در لیتر در نظر گرفته شد. سپس بذره‌های گیاه کلزا (رقم هایولا ۴۰۱) تهیه شده از شرکت توسعه و کشت دانه‌های روغنی در محیط هیدروپونیک کشت شدند. ابتدا بذرها جهت جوانه‌زنی پس از ضدعفونی با هیپوکلرید سدیم یک درصد به مدت ده دقیقه و شست و شو با آب مقطر در داخل حوله کاغذی مرطوب قرار گرفتند. سپس بعد از جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌های حاصل (۱۰ روزه) به محیط کشت هیدروپونیک حاوی محلول هوگلند (Hoagland, 1950) در گلخانه با شرایط کنترل شده (دمای ۲۰ درجه با رطوبت ۷۰ درصد) انتقال داده شدند. محلول هوگلند موجود در محیط کشت هیدروپونیک هر هفته تعویض شده و اسیدیته-ی محلول نیز هر دو روز یک‌بار روی ۶/۵ تنظیم گردید. نانوذرات آهن در زمان دو برگی (کد ۱۲ به روش Lancashire و همکاران، ۱۹۹۱) به داخل محیط کشت افزوده شد. جهت

تعیین غلظت بهینه نانوذرات آهن صفرفریتی پایدارشده برداشت کلزا در زمانی انجام شد که اختلاف ظاهری بین تیمارها مشخص گردید (شکل ۲) و صفاتی نظیر ارتفاع گیاهچه، طول ریشه‌چه، قطر ساقه‌چه، وزن تر و خشک گیاهچه و وزن تر و خشک ریشه‌چه اندازه‌گیری گردید.

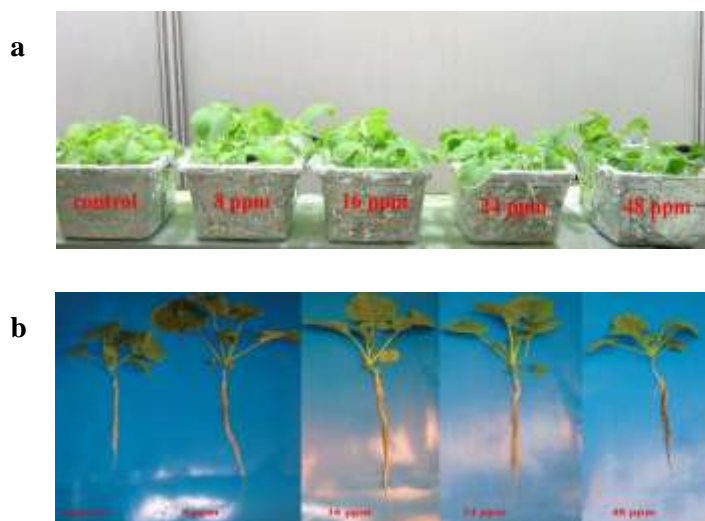
**آزمایش هیدروپونیک:** بعد از مشخص شدن غلظت بهینه نانوذرات آهن، اثرات سه سطح کودی (شاهد، نانوذرات آهن صفرفریتی پایدارشده و کی‌لیت آهن) در سطوح مختلف شوری (صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار با استفاده از نمک کلرور سدیم) بر میزان تحمل کلزا به تنش شوری در شرایط هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت. مراحل کشت گیاهچه‌های کلزا در محلول هوگلند نظیر آزمایش مقدماتی انجام شد. تیمارهای کودی (شاهد، نانوذرات آهن صفرفریتی پایدارشده (غلظت بهینه) و کی‌لیت آهن) در زمان دو برگی (کد ۱۲ به روش Lancashire و همکاران، ۱۹۹۱) به داخل محیط کشت افزوده شد. یک هفته بعد از استقرار گیاهچه‌ها در محیط کشت هیدروپونیک، سطوح شوری (صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار) نیز در محیط کشت هیدروپونیک اعمال گردید. برداشت گیاه کلزا در زمان نه برگی (کد ۱۹ به روش Lancashire و همکاران، ۱۹۹۱) جهت اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (Aebi, 1984)، آسکوربات پراکسیداز (Yoshimura et al., 2000) و گایاکول پراکسیداز (Tang and Newton, 2005) انجام شد. در این مرحله صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع بوته (با استفاده از خط‌کش)، قطر ساقه (با استفاده از کولیس دیجیتالی)، طول ریشه (با استفاده از خط‌کش)، وزن خشک گیاه و ریشه (با استفاده از ترازوی یک هزارم گرم) و صفات فیزیولوژیکی شامل محتوی نسبی آب برگ (Ritchie and Nguyen, 1990)، نشت الکترولیت (Lutts et al., 1995)، کلروفیل a+b و کاروتنوئید (Porra et al., 1989) بر اساس معادلات ۲ تا ۷ محاسبه گردید.

معادله (۲)

$$\text{محتوی نسبی آب برگ} = \frac{(Fw - Dw)}{(Tw - Dw)} \times 100$$



شکل ۱- اندازه نانوذرات آهن صفزرپیتی پایدارشده با دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)



شکل ۲- نمایی از کاشت هیدروپونیک کلزا (a) گیاهچه‌های رشد یافته (b) تعیین غلظت بهینه نانوذرات آهن صفزرپیتی پایدارشده

$$1000 A_{470} - 1063 Ca - 104.96 Cb/221 = \text{کاروتنوئید}$$

(میکروگرم برگرم وزن تر)

که در این معادلات Fw:وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه برداری، Dw: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و Tw: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر می‌باشد. همچنین به منظور ثبت فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از کمپلکس واکنشی شامل ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (pH=7)، ۰/۵ میلی‌لیتر از پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استفاده شد که با افزودن پراکسید هیدروژن واکنش آغاز و کاهش در جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت ۱ دقیقه ثبت

$$\text{معادله (۳)} = (C_1/C_2) \times 100 = \text{نشت الکترولیت از غشا (درصد)}$$

$$\text{معادله (۴)}$$

$$16.72 A_{665.2} - 9.16 A_{652.4} = \text{کلروفیل a (میکروگرم برگرم}$$

وزن تر)

$$\text{معادله (۵)}$$

$$34.09 A_{652.4} - 15.28 A_{665.2} = \text{کلروفیل b (میکروگرم برگرم}$$

وزن تر)

$$\text{معادله (۶)}$$

$$\text{کلروفیل a} + \text{کلروفیل b} = \text{کلروفیل a+b (میکروگرم برگرم}$$

وزن تر)

$$\text{معادله (۷)}$$

فاز معادله و  $b_1$  و  $b_2$  شیب تغییرات صفات (کاهشی یا افزایشی) به ترتیب در فاز یک و دو معادله هستند.

### نتایج

**آزمایش مقدماتی:** نتایج تجزیه رگرسیونی اثر مقادیر مختلف نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده بر صفات مورفولوژیکی کلزا (جدول ۱) نشان داد که روند تغییرات ارتفاع گیاهچه، طول ریشه‌چه، قطر ساقه‌چه، وزن تر و خشک گیاهچه و وزن تر و خشک ریشه‌چه در پاسخ به افزایش غلظت نانوذرات از رابطه دوتکه‌ای تبعیت نمود. به طوری که با افزایش غلظت نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده (از صفر به ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر) صفات مورد بررسی به ترتیب با شیب ۱/۲۰۲۵، ۱/۰۲۱۳، ۰/۲۱۱۵، ۰/۳۸۹، ۰/۰۲۵، ۰/۰۸۹ و ۰/۰۰۵۵ واحد افزایش و سپس با افزایش غلظت نانوذرات از ۱۶ به ۴۸ میلی‌گرم بر لیتر با شیب ملایمی کاهش نشان دادند. از این رو به دلیل کاهش رشد گیاه کلزا در غلظت‌های بالاتر از ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده به عنوان غلظت بهینه تعیین شد.

**آزمایش هیدروپونیک:** معادلات رگرسیونی به دست آمده از برازش بر روند پاسخ صفات مورفولوژیکی کلزا (ارتفاع بوته، قطر ساقه، طول ریشه‌چه، وزن خشک گیاه و وزن خشک ریشه‌چه) در هر یک از تیمارهای کودی (شاهد، کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده) در برابر سطوح مختلف شوری، نشان از پیروی روند کاهشی این صفات (به‌غیر از ارتفاع گیاه در تیمار کودی کی‌لیت آهن و وزن خشک ریشه‌چه در تیمار نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده) به صورت معادله خطی بود (شکل ۳ و جدول ۲). عکس‌العمل گیاه به کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده در سطوح مختلف شوری می‌تواند بیانگر حساسیت بیشتر طول ریشه‌چه نسبت به ارتفاع گیاه در سطوح پایین شوری (صفر تا ۳۰ میلی‌مولار) و برعکس حساسیت بیشتر ارتفاع گیاه به طول ریشه‌چه در سطوح بالای شوری (۶۰ تا ۱۲۰ میلی‌مولار) باشد چرا که ارتفاع گیاه طی کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی

گردید (Aebi, 1984). ضریب خاموشی (E) برای پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر  $(\text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1})$  است. به‌علاوه میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با استفاده از ضریب خاموشی  $(\text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1})$  ۲/۸ در طول موج ۲۹۰ نانومتر (Yoshimura *et al.*, 2000) با کمپلکس واکنشی (۱ میلی‌لیتر) شامل ۲۵۰ میکرولیتر از محلول بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۲۵۰ میکرولیتر از آسکوربات ۱ میلی‌مولار ۲۵۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۴ میلی‌مولار، ۱۹۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر، ۱۰ میکرولیتر از پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بدست آمد. ثبت میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) نیز با استفاده از ضریب خاموشی  $(\text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1})$  ۲۶/۶ در طول موج ۴۷۰ نانومتر (Tang and Newton, 2005) با کمپلکس واکنشی (۲ میلی‌لیتر) شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۲۵۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۱ میلی‌لیتر گایاکول ۵ میلی‌مولار، ۱ میلی‌لیتر پراکسید ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده حاصل شد. در نهایت، آزمون نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۴) با روش کولموگروف - اسمیرنوف انجام شد و برای تجزیه و تحلیل صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز از SAS نسخه ۹٫۴ (سلطانی، ۱۹۹۱) استفاده شد. برای کمی‌سازی اثرات تنش و تیمارهای کودی بر صفات رویشی، فیزیولوژی و آنتی‌اکسیدانی نیز از تجزیه رگرسیونی و برازش معادلات خطی (معادله ۸) و دو تکه‌ای (معادله ۹) پیشنهاد شده توسط بخشنده و همکاران (۲۰۱۲) استفاده گردید. برای رسم نمودارهای رگرسیونی نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

$$y = b_1x + a \quad \text{معادله (۸)}$$

$$\text{معادله (۹)}$$

$$y = b_1x + a \quad \text{if } x \leq x_0$$

$$y = (b_1x_0 + a) + b_2(x - x_0) \quad \text{if } x > x_0$$

در این معادلات  $y$ : مقدار پیش‌بینی شده برای صفات مورد نظر،  $a$ : مقدار ثابت در سطح صفر شوری (نمک کلرید سدیم)،  $x$ : سطوح مختلف شوری،  $x_0$ : نقطه چرخش بین دو

جدول ۱- برآورد مقادیر پارامترهای مربوط به معادلات برازش داده شده (دوتکه‌ای) بر صفات رویشی کلزا در غلظت‌های مختلف نانوذرات آهن صفرظرفیتی

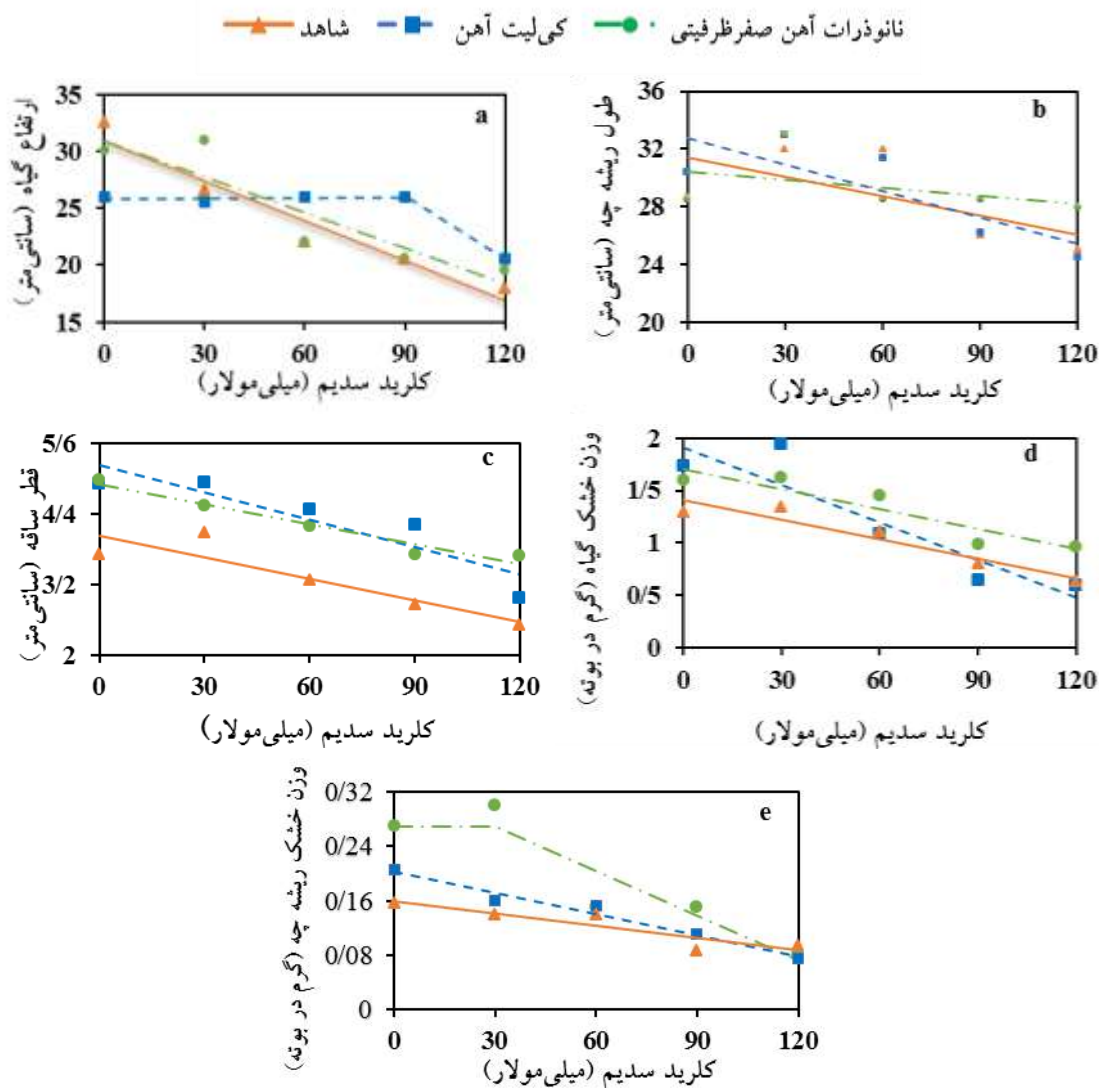
صفات	a ± SE	b <sub>1</sub> ± SE	b <sub>2</sub> ± SE	x <sub>0</sub> ± SE	R <sup>2</sup>	RMSE	CV	Sig
ارتفاع گیاه	۱۴/۸۸±۲/۵۳	۱/۲۰۲۵±۰/۴۴۷۲	-۰/۲۶۵۹±۰/۱۰۷۴	۸/۷۷±۲/۶۱	۰/۹۳۰	۱/۴۰۸	۷/۰۹	۰/۰۰۸
طول ریشه‌چه	۱۹/۳۳±۵/۷۱	۱/۰۲۱۳±۱/۰۱۰۲	-۰/۲۹۹۳±۰/۲۴۲۷	۹/۶۳±۶/۸۷	۰/۷۱۷	۲/۷۹۵	۱۱/۹۸	۰/۰۰۷
قطر ساقه	۲/۸۶±۰/۰۶	۰/۲۱۱۵±۰/۰۰۹۳	-۰/۰۲۴۸±۰/۰۰۲۰	۸/۰۰±۰/۰	۰/۹۹۶	۰/۰۴۹	۱/۲۶	۰/۰۰۰۱
وزن تر گیاهچه	۴/۰۷±۱/۳۰	۰/۳۸۹±۰/۲۳۰۱	-۰/۱۵۹۸±۰/۰۵۵۳	۱۲/۹۵±۴/۶۳	۰/۹۲۱	۰/۷۲۱	۱۱/۷۳	۰/۰۰۹
وزن خشک گیاهچه	۰/۲۸±۰/۰۹۸۱	۰/۰۲۵±۰/۰۱۷	-۰/۰۰۹۴±۰/۰۰۴۱	۱۲/۲۹±۵/۳۳	۰/۸۸۲	۰/۰۵۳	۱۳/۰۳	۰/۰۰۶
وزن تر ریشه‌چه	۰/۸۱۸±۰/۳۸۹۷	۰/۰۸۹±۰/۰۶۸	-۰/۰۱۷۴±۰/۰۱۶۵	۸/۲۳±۵/۴۱	۰/۷۳۵	۰/۱۹۲	۱۶/۳۳	۰/۰۱۷
وزن خشک ریشه‌چه	۰/۰۳۸۰±۰/۰۱۸۸	۰/۰۰۵۵±۰/۰۰۳۳	-۰/۰۰۱۱±۰/۰۰۰۸	۱۳/۱۳±۵/۶۰	۰/۸۹۱	۰/۰۱۰	۱۲/۹۸	۰/۰۱۵

a: عرض از مبدأ در سطح بدون نانوذرات (غلظت صفر نانوذرات آهن صفرظرفیتی). b<sub>1</sub> و b<sub>2</sub>: شیب تغییرات صفت به ترتیب در مرحله ۱ و ۲. x<sub>0</sub>: نقطه چرخش بین دو مرحله. R<sup>2</sup>: ضریب تبیین. RMSE: جذر میانگین مربعات خطا. CV: ضریب تغییرات. Sig: معنی‌داری مدل. SE: خطای استاندارد.

ساقه) و ۰/۰۰۶۴- (وزن خشک گیاه) واحد کاهش کم‌ترین و کی‌لیت آهن با ۰/۰۱۵- (قطر ساقه) و ۰/۰۱۱۹- (وزن خشک گیاه) واحد کاهش بیش‌ترین شیب تغییرات را داشتند (شکل c و d و جدول ۲). همچنین معادلات رگرسیونی بدست آمده نشان داد که به واسطه کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده وزن خشک ریشه‌چه در سطوح پایین شوری (صفر تا ۳۰ میلی‌مولار) با شیب بسیار ملایم ۰/۰۰۰۰۳- واحد و در سطوح بالای شوری (از ۳۰ تا ۱۲۰ میلی‌مولار) با شیب ۰/۰۰۲۲- واحد کاهش یافت. البته این کاهش در وزن خشک ریشه‌چه بسیار کمتر از کاهش در شاهد و تیمار کی‌لیت آهن بود (شکل e و جدول ۲).

نتایج رگرسیون از برازش بر روند پاسخ تیمارهای کودی (شاهد، کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده) در برابر سطوح مختلف شوری بیانگر روند خطی و دوتکه‌ای پاسخ صفات فیزیولوژیکی کلزا (نشت الکترولیت، محتوی آب نسبی، کلروفیل a+b و کاروتنوئید) بود (شکل ۴ و جدول ۳) به گونه‌ای که نشت الکترولیت در هر سه تیمار کودی (شاهد،

پایدارشده در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار نسبت به سطح صفر شوری ۴۱ درصد (با شیب ۰/۱۰۵- واحد) کاهش نشان داد در حالیکه طول ریشه‌چه با کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار (با شیب ملایم ۰/۰۱۸۳- واحد) در مقایسه با سطح صفر شوری دو درصد کمتر شد (شکل a و جدول ۲). از طرف دیگر، عکس‌العمل گیاه به کاربرد کی‌لیت آهن در سطوح مختلف شوری با پیروی از معادله دوتکه‌ای (ارتفاع گیاه) و خطی (طول ریشه‌چه) بیانگر حساسیت کمتر ارتفاع گیاه نسبت به طول ریشه‌چه در سطوح شوری ۳۰ تا ۱۲۰ میلی‌مولار بود (شکل a و b و جدول ۲). این نتایج خود حاکی از آن بود که کی‌لیت آهن نتوانست نسبت به نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده حساسیت طول ریشه‌چه را به سطوح بالای شوری کاهش دهد. قطر ساقه و وزن خشک گیاه در هر سه تیمار کودی (شاهد، کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده) با افزایش سطح شوری کاهش نشان دادند که در این میان تیمار نانوذرات آهن صفرظرفیتی با ۰/۰۱۱- (قطر



شکل ۳- روند تغییرات ارتفاع گیاه (a)، طول ریشه چه (b)، قطر ساقه (c)، وزن خشک گیاه (d) و وزن خشک ریشه چه (e) گیاه کلزا در پاسخ به هر یک از تیمارهای کودی (شاهد، کی لیت آهن و نانوذره آهن صفر ظرفیتی) در برابر سطوح مختلف شوری با استفاده از مدل خطی و دو تکه ای

شاهد و کی لیت آهن افزایش نشان داد (شکل a ۴ و جدول ۳). از طرف دیگر، محتوی آب نسبی برگ در هر سه تیمار کودی (شاهد، کی لیت آهن و نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده) با افزایش سطح شوری کاهش نشان داد به گونه ای که تیمار شاهد در سطوح شوری پایین (۳۰ میلی مولار) با شیب  $-0/521$  واحد بیشترین روند تغییرات را به خود اختصاص داد. نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده و کی لیت آهن نیز با پیروی از معادله خطی به ترتیب با شیب  $-0/227$  و  $-0/151$  واحد کاهش نشان دادند (شکل b ۴ و جدول ۳).

کی لیت آهن و نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده) با افزایش سطح شوری افزایش یافت. نشت الکترولیت در گیاهان شاهد در سطوح شوری صفر تا ۶۰ میلی مولار ابتدا با شیب ۲۰ ملایم  $0/27$  واحد و سپس با افزایش سطح شوری تا ۱۲۰ میلی مولار با شیب بیشتری ( $0/283$  واحد) افزایش یافت. این مؤلفه در تیمار کی لیت آهن نیز با افزایش سطح شوری با شیب  $0/248$  واحد افزایش یافت. در حالیکه در تیمار نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده با افزایش سطح شوری روند تغییرات نشت الکترولیت با شیب ملایم تری ( $0/0743$  واحد) نسبت به

جدول ۲- برآورد مقادیر پارامترهای مربوط به معادلات برازش داده شده (خطی و دوتکه‌ای) بر پاسخ صفات رویشی کلزا نسبت به تیمارهای شاهد، کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صف‌زرفیتی پایدارشده در سطوح مختلف کلرید سدیم

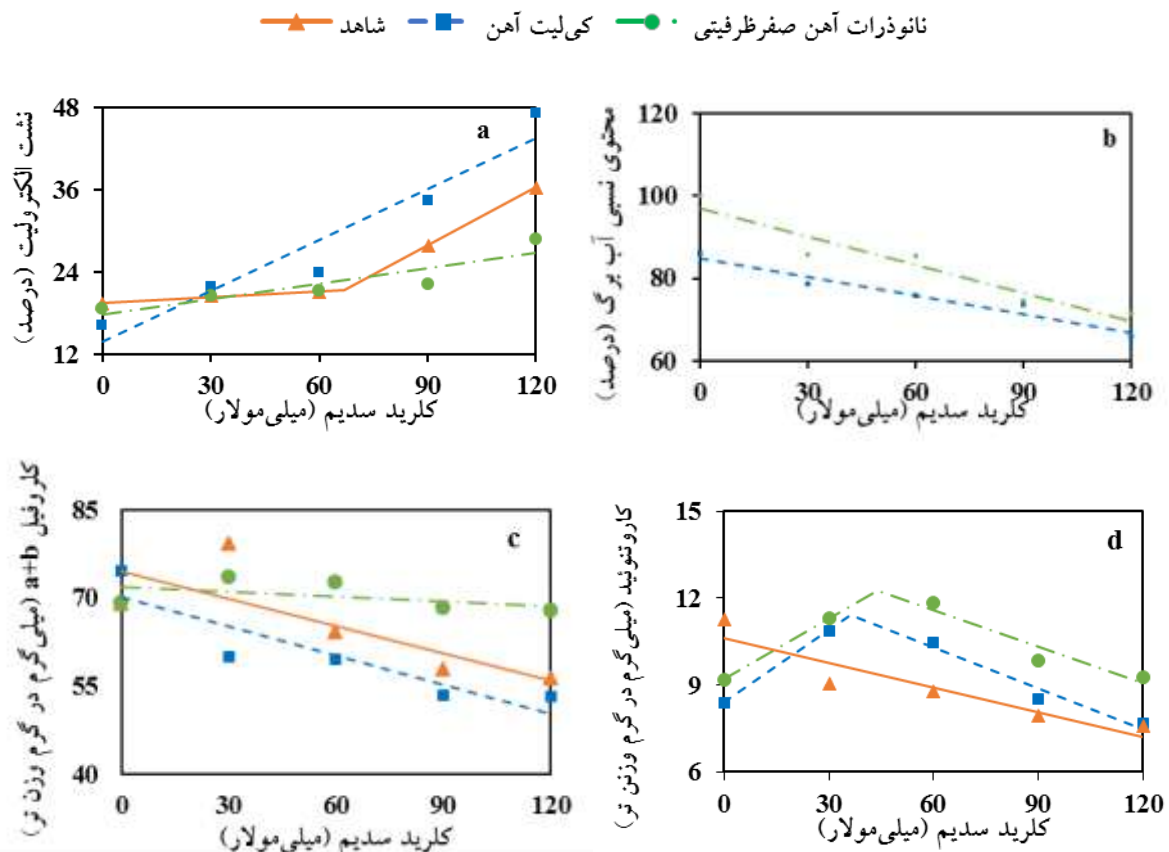
صفات	$a \pm SE$	$b_1 \pm SE$	$b_2 \pm SE$	$x_0 \pm SE$	$R^2$	RMSE	CV	Sig
ارتفاع گیاه	شاهد	$30/90 \pm 1/281$	$-0/117 \pm 0/017$		$0/937$	$1/652$	$6/91$	$0/007$
	کی‌لیت آهن	$25/80 \pm 0/247$	$-0/001 \pm 0/004$	$90/00 \pm 0/0$	$0/992$	$0/240$	$0/97$	$0/0003$
	نانوذرات آهن	$30/90 \pm 2/024$	$-0/105 \pm 0/028$		$0/829$	$2/612$	$10/62$	$0/032$
طول ریشه‌چه	شاهد	$31/40 \pm 2/23$	$-0/044 \pm 0/030$		$0/416$	$0/490$	$1/70$	$0/24$
	کی‌لیت آهن	$32/87 \pm 1/87$	$-0/62 \pm 0/025$		$0/662$	$0/307$	$1/05$	$0/094$
	نانوذرات آهن	$30/40 \pm 1/69$	$-0/018 \pm 0/023$		$0/175$	$0/693$	$2/36$	$0/48$
قطر ساقه	شاهد	$4/02 \pm 0/24$	$-0/012 \pm 0/003$		$0/823$	$0/310$	$9/43$	$0/033$
	کی‌لیت آهن	$5/23 \pm 0/304$	$-0/015 \pm 0/004$		$0/823$	$0/392$	$9/11$	$0/033$
	نانوذرات آهن	$4/92 \pm 0/106$	$-0/011 \pm 0/001$		$0/955$	$0/138$	$3/26$	$0/004$
وزن خشک گیاهیچه	شاهد	$1/406 \pm 0/086$	$-0/006 \pm 0/001$		$0/903$	$0/110$	$10/59$	$0/013$
	کی‌لیت آهن	$1/912 \pm 0/222$	$-0/012 \pm 0/003$		$0/838$	$0/286$	$23/95$	$0/029$
	نانوذرات آهن	$1/706 \pm 0/111$	$-0/006 \pm 0/002$		$0/856$	$0/145$	$10/96$	$0/024$
وزن خشک ریشه‌چه	شاهد	$0/204 \pm 0/007$	$-0/001 \pm 0/000$		$0/973$	$0/020$	$16/24$	$0/002$
	کی‌لیت آهن	$0/162 \pm 0/010$	$-0/0006 \pm 0/000$		$0/876$	$0/030$	$21/35$	$0/019$
	نانوذرات آهن	$0/27 \pm 0/044$	$-0/00003 \pm 0/001$	$30/00 \pm 0/0$	$0/88$	$0/034$	$18/08$	$0/018$

a: عرض از مبدأ در سطح بدون نانوذرات (غلظت صفر نانوذرات آهن صف‌زرفیتی).  $b_1$  و  $b_2$ : شیب تغییرات صفت به ترتیب در مرحله ۱ و ۲.  $x_0$ : نقطه چرخش بین دو مرحله.  $R^2$ : ضریب تبیین. RMSE: جذر میانگین مربعات خطا. CV: ضریب تغییرات. Sig: معنی داری مدل. SE: خطای استاندارد.

کی‌لیت آهن با پیروی از معادله دوتکه‌ای ابتدا افزایش و سپس با افزایش سطح شوری کاهش نشان داد هر چند کاهش در تیمار نانوذرات آهن صف‌زرفیتی پایدارشده کمتر بود. در مقایسه، روند تغییرات در گیاهان شاهد به صورت معادله خطی با شیب  $-0/0028$  واحد به صورت کاهشی بود (شکل ۴ d و جدول ۳)

معادلات رگرسیونی بدست آمده از برازش بر روند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) در هر یک از تیمارهای کودی (شاهد، کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صف‌زرفیتی پایدارشده) در برابر

کلروفیل a+b در هر سه تیمار کودی (شاهد، کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صف‌زرفیتی پایدارشده) با افزایش سطح شوری به صورت خطی کاهش نشان داد که در این میان نانوذرات آهن صف‌زرفیتی پایدارشده (با شیب  $-0/0027$  واحد) کمترین میزان شیب تغییرات را به خود اختصاص داد. به گونه‌ای که با کاربرد نانوذرات آهن صف‌زرفیتی پایدارشده در سطوح بالای شوری کلروفیل a+b نسبت به شاهد و کی‌لیت آهن به ترتیب میزان ۲۳ و ۳۷ درصد بیشتر شد (شکل ۴ c و جدول ۳). همچنین نتایج نشان داد، روند تغییرات کاروتنوئید در پاسخ به افزایش سطح شوری در دو تیمار کودی نانوذرات آهن و



شکل ۴- روند نشست الکترولیت (a)، محتوی آب نسبی برگ (b)، کلروفیل a+b (c)، کاروتنوئید (d) گیاه کلزا در پاسخ به هر یک از تیمارهای کودی (شاهد، کیلیت آهن و نانوذره آهن صفر ظرفیتی) در برابر سطوح مختلف شوری با استفاده از مدل خطی و دو تکه‌ای.

روند تغییرات آنزیم کاتالاز (CAT) نیز در پاسخ به افزایش سطح شوری در شاهد و تیمار نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پدیدار شده با پیروی از معادله دو تکه‌ای ابتدا به صورت افزایشی و سپس با افزایش سطح شوری (از ۹۰ به ۱۲۰ میلی‌مولار) به صورت کاهش بود. که البته این کاهش در فعالیت CAT در تیمار نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پدیدار شده با شیب ملایم تری (۰/۰۰۳- واحد) نسبت به شاهد رخ داد. از طرف دیگر روند تغییرات CAT طی کاربرد تیمار کیلیت آهن ابتدا تا سطح شوری ۳۰ میلی‌مولار به صورت افزایشی و سپس با افزایش سطح شوری تا ۱۲۰ میلی‌مولار به صورت کاهش بود (شکل b و جدول ۴). همچنین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) نیز در شاهد و تیمار نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پدیدار شده با پیروی از معادله دو تکه‌ای ابتدا افزایش و سپس کاهش نشان داد و این در حالی بود که در

سطوح مختلف شوری (صفر تا ۱۲۰ میلی‌مولار) بیانگر روند تغییرات به صورت معادله خطی و دو تکه‌ای بود (شکل ۵ و جدول ۴). به گونه‌ای که طی کاربرد نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پدیدار شده میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با پیروی از معادله دو تکه‌ای در سطح پایین شوری (۳۰ میلی‌مولار) ابتدا با شیب زیاد (۰/۰۱۳ واحد) و سپس همراه با افزایش سطح شوری (۳۰ تا ۱۲۰ میلی‌مولار) با شیب ملایم ۰/۰۰۱۸ واحد افزایش نشان داد. در حالیکه با کاربرد کیلیت آهن APX ابتدا در سطح شوری ۳۰ میلی‌مولار با شیب ۰/۰۰۸۴ واحد افزایش و سپس با افزایش سطح شوری (۳۰ تا ۱۲۰ میلی‌مولار) با شیب ملایم ۰/۰۰۲۸- واحد کاهش یافت. در گیاهان شاهد نیز APX طی افزایش سطح شوری با پیروی از معادله خطی از روند کاهش با شیب ۰/۰۰۲۵- واحد برخوردار بود (شکل a و جدول ۴). همچنین، نتایج نشان داد

جدول ۳- برآورد مقادیر پارامترهای مربوط به معادلات برازش داده شده (خطی و دوتکه‌ای) بر پاسخ صفات فیزیولوژیکی کلزا نسبت به تیمارهای شاهد، کی‌لیت آهن و نانو ذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده در سطوح مختلف کلرید سدیم

صفات	a ± SE	b <sub>1</sub> ± SE	b <sub>2</sub> ± SE	x <sub>0</sub> ± SE	R <sup>2</sup>	RMSE	CV	Sig
شاهد	۱۹/۰±۴۹/۱۳۴	۰/۰۲۷±۰/۰۰۳	۰/۲۸۲±۰/۰۰۶	۶۶/۱±۸۴/۲۶	۰/۹۹۹	۰/۰۸۴	۰/۳۴	۰/۰۰۰۱
نشست الکترولیت	۸۱/۶±۳/۰۱۹ ۱۳	۰/۲۴۸±۰/۰۴۱			۰/۹۲۴	۳/۸۹	۱۳/۵۸	۰/۰۰۹
نانوذرات آهن	۸۱/۸±۱/۴۷۶ ۱۷	۰/۰۷۴±۰/۰۲۰			۰/۸۲۹	۱/۹۰۵	۸/۵۵	۰/۰۳۴
شاهد	۰/۰±۱/۳۲۰ ۱۰۰	-۰/۵۲۱±۰/۰۵۷	-۰/۱۹۲±۰/۰۱۹	۳۰/۰±۰/۰۰	۰/۹۹۴	۱/۰۸۱	۱/۳۴	۰/۰۰۰۲
محتوی نسبی آب	۸۵/۱۳±۱/۵۱۶	-۰/۱۵۲±۰/۰۲۱			۰/۹۴۷	۱/۹۵۷	۲/۵۷	۰/۰۰۵
برگ آهن	۹۰/۳۳±۰/۷۲۴	-۰/۱۸۸±۰/۰۱۰			۰/۹۹۲	۰/۹۳۴	۱/۱۲	۰/۰۰۰۱
شاهد	۷۴/۵۱±۵/۰۴۹	-۰/۱۵۵±۰/۰۷			۰/۶۳۰	۶/۵۱	۱۰/۰۰	۰/۱۰۹
کلروفیل a+b	۷۰/۰۶±۳/۴۴۸	-۰/۱۶۶±۰/۰۵			۰/۸۰۶	۴/۴۵	۷/۴۶	۰/۰۳۹
نانوذرات آهن	۷۱/۸۶±۲/۱۰۲	-۰/۰۲۶±۰/۰۰۳			۰/۲۲۴	۲/۷۱	۳/۸۷	۰/۴۲۱
شاهد	۶۲/۸±۰/۴۶۳ ۱۰	-۰/۰۲۸±۰/۰۰۶			۰/۸۷۰	۰/۰۶۳	۷/۰۹	۰/۰۲۰
کاروتنوئید نانوذرات آهن	۸/۴۰±۰/۰۴۹	۰/۰۸۳±۰/۰۰۲	-۰/۰۴۷±۰/۰۱۱	۳۶/۱۵±۶/۹۸	۰/۹۶۹	۰/۰۸۴	۳/۰۲	۰/۰۰۲
	۹/۲۰±۰/۵۳۰	۰/۰۷±۰/۰۲۵	-۰/۰۴۲±۰/۰۱۲	۴۳/۷۳±۹/۳۳	۰/۹۴۹	۰/۰۸۹	۲/۸۹	۰/۰۰۴

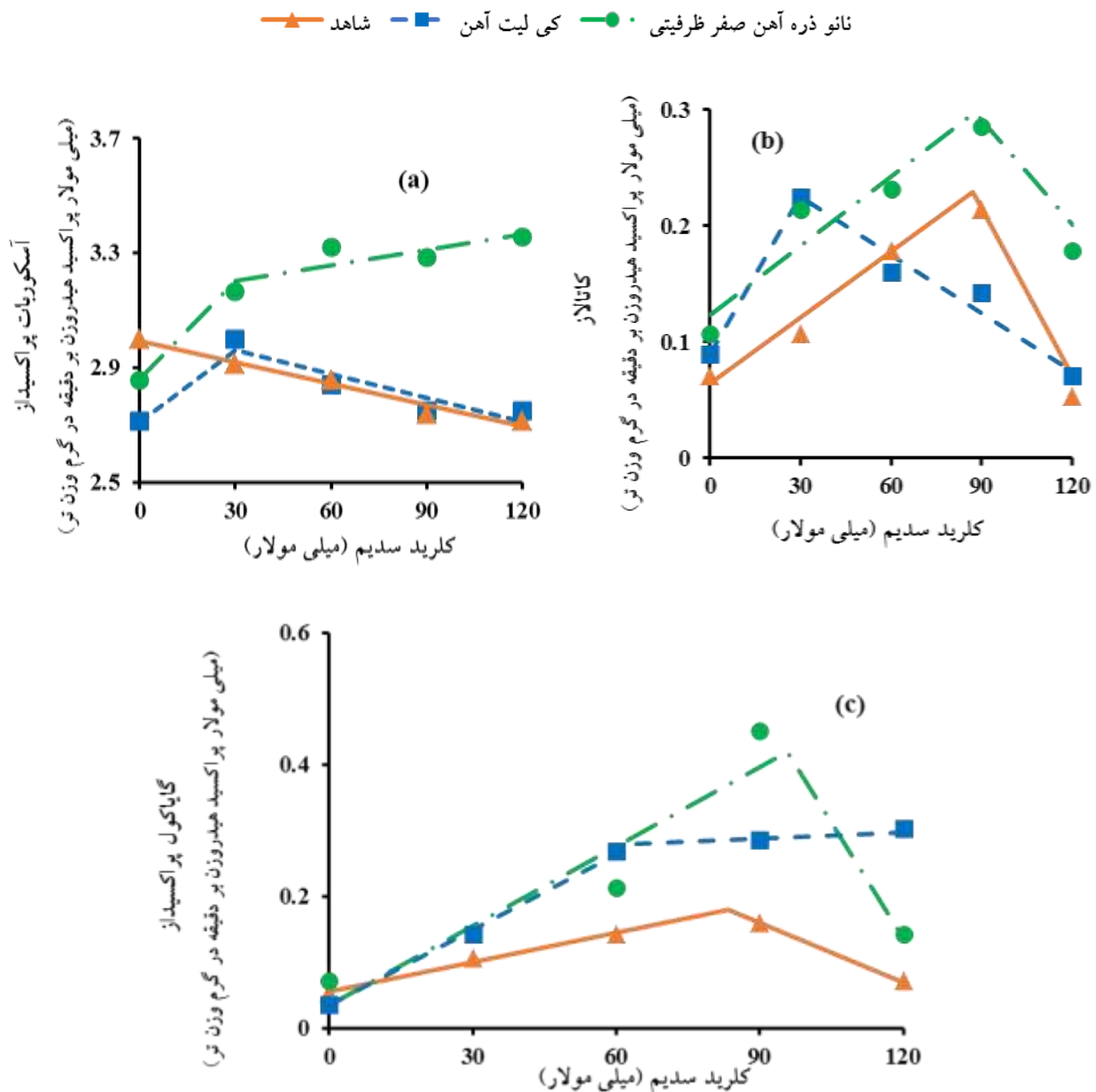
a: عرض از مبدأ در سطح بدون نانوذرات (غلظت صفر نانوذرات آهن صفرظرفیتی). b<sub>2</sub> و b<sub>1</sub>: شیب تغییرات صفت به ترتیب در مرحله ۱ و ۲. x<sub>0</sub>: نقطه چرخش بین دو مرحله. R<sup>2</sup>: ضریب تبیین. RMSE: جذر میانگین مربعات خطا. CV: ضریب تغییرات. Sig: معنی داری مدل. SE: خطای استاندارد.

به کی‌لیت آهن به میزان ۵۸ درصد افزایش یافت (شکل c و ۵ و جدول ۴).

#### بحث

افزایش غلظت نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده از صفر تا ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر اثر مثبتی بر ارتفاع گیاهچه، طول ریشه‌چه، قطر ساقه‌چه، وزن تر و خشک گیاهچه و وزن تر و خشک ریشه‌چه کلزا داشت در حالیکه در غلظت‌های بالاتر (۲۴ و ۴۸

تیمار کی‌لیت آهن GPX با افزایش سطح شوری تا ۶۰ میلی مولار ابتدا با شیب ۰/۰۰۳۸ واحد و سپس با افزایش سطح شوری (از ۶۰ تا ۱۲۰ میلی‌مولار) با شیب بسیار کمی (۰/۰۰۰۳۳ واحد) افزایش یافت. در این میان طی کاربرد تیمار نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده (با شیب ۰/۰۰۴ واحد) بیشترین فعالیت GPX حاصل شد. به‌گونه‌ای که فعالیت GPX در سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار در تیمار نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده نسبت به شاهد تقریباً دو برابر و نسبت



شکل ۵- روند آنزیم آسکوربات پراکسیداز (a)، آنزیم کاتالاز (b) و آنزیم گاباکول پراکسیداز (c) گیاه کلزا در پاسخ به هر یک از تیمارهای کودی (شاهد، کی لیت آهن و نانوذره آهن صفر ظرفیتی) در برابر سطوح مختلف شوری با استفاده از مدل خطی و دو تکه ای.

جذب آن توسط گیاه افزایش یافته و موجب سمیت می شود. پیوندی و همکاران (۱۳۹۰) در پژوهش خود به نقل از Alvareza و همکاران (۲۰۰۲) و Bhattacharjee (۲۰۰۵) بیان داشتند که با افزایش جذب آهن توسط گیاه، غلظت آهن در گیاه بالا رفته و موجب سمیت آهن و تولید انواع اکسیژن های فعال در گیاه می شود و تنش اکسیداتیو را در گیاه القاء می کند.

میلی گرم بر لیتر) به دلیل ایجاد سمیت در گیاه سبب کاهش این پارامترها شد. اندازه نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده کمتر از ۱۰۰ نانومتر بوده (شکل ۱) و انرژی سطحی زیاد و واکنش پذیری بالای آن به دلیل سطح ویژه بالا سبب افزایش توان جذب آن توسط گیاه می گردد (Sun et al., 2006). از این رو با افزایش غلظت نانوذرات آهن صفر ظرفیتی پایدار شده میزان

جدول ۴- برآورد مقادیر پارامترهای مربوط به معادلات برازش داده شده (خطی و دوتکه‌ای) بر پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلزا نسبت به تیمارهای شاهد، کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده در سطوح مختلف کلرید سدیم

Sig	CV	RMSE	R <sup>2</sup>	x <sub>0</sub> ± SE	b <sub>2</sub> ± SE	b <sub>1</sub> ± SE	a ± SE	صفات
۰/۰۰۲	۰/۶۱	۰/۰۱۷	۰/۹۷۵			-۰/۰۰۲۵±۰/۰۰	۲/۹۹±۰/۰۱۷	آنزیم شاهد
۰/۰۱۸	۱/۵۴	۰/۰۴۳	۰/۸۸	۳۰/۰۰±۰/۰	-۰/۰۰۲±۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۸±۰/۰۰۰۲	۲/۷۱±۰/۰۰۵۶	آنزیم کی‌لیت آهن
۰/۰۰۲	۱/۳۱	۰/۰۴۲	۰/۹۶۶	۳۰/۰۰±۰/۰	۰/۰۰۱۸±۰/۰۰۰۷	۰/۰۱۱۵±۰/۰۰۰۲	۲/۸۶±۰/۰۰۵۲	آنزیم نانوذرات آهن
۰/۰۰۳	۵/۶۸	۰/۱۲۴	۰/۹۸۹	۸۷/۲۰±۳/۱۳	-۰/۰۰۵±۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۱±۰/۰۰۰۲	۰/۰۶۵±۰/۰۱۱	شاهد کاتالاز
۰/۰۰۲	۹/۲۰	۰/۱۲۷	۰/۹۶۸	۳۰/۰۰±۰/۰	-۰/۰۰۱±۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۴±۰/۰۰۰۶	۰/۰۹±۰/۰۱۵	آنزیم کی‌لیت آهن
۰/۰۰۶	۸/۹۵	۰/۰۱۸	۰/۹۳۹	۸۷/۶۴±۱۰/۵۴	-۰/۰۰۳±۰/۰۰۱۵	۰/۰۰۲±۰/۰۰۰۷	۰/۱۲±۰/۰۲۹	آنزیم نانوذرات آهن
۰/۰۰۱	۶/۶۱	۰/۰۰۷	۰/۹۸۲	۸۳/۳۳±۵/۰۶	-۰/۰۰۳±۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۱±۰/۰۰۰۲	۰/۰۵±۰/۰۱۱	شاهد گایاکول
۰/۰۰۱	۳/۳۹	۰/۰۰۷	۰/۹۹۷	۶۴/۲۸±۷/۹۵	۰/۰۰۰۳±۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۳±۰/۰۰۰۲	۰/۰۳±۰/۰۱۱	آنزیم کی‌لیت آهن
۰/۰۱۳	۲۵/۲۴	۰/۰۵	۰/۹۰	۹۵/۸۶±۰/۰	-۰/۰۱۱۷±۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۴±۰/۰۰۰۹	۰/۰۳±۰/۰۵۵	آنزیم نانوذرات آهن

a: عرض از مبدأ در سطح بدون نانوذرات (غلظت صفر نانوذرات آهن صفرظرفیتی). b<sub>2</sub> و b<sub>1</sub>: شیب تغییرات صفت به ترتیب در مرحله ۱ و ۲. x<sub>0</sub>: نقطه چرخش بین دو مرحله. R<sup>2</sup>: ضریب تبیین. RMSE: جذر میانگین مربعات خطا. CV: ضریب تغییرات. Sig: معنی داری مدل. SE: خطای استاندارد.

فتوستتوز و تنفس و در نهایت کاهش رشد گیاه اشاره داشت (بابوردی و همکاران، ۱۳۸۹؛ بالاورد و همکاران، ۱۳۹۱؛ عباس‌زاده و رضایی، ۱۳۹۱؛ Kaya et al., 2013؛ Rasheed et al., 2014). مطابق با موارد گفته شده در این پژوهش نیز مشخص گردید که با افزایش سطح شوری روند تغییرات در بیشتر صفات مورد بررسی به صورت کاهشی بود اما با کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده و کی‌لیت آهن تغییرات مورفولوژیکی بارزی بین رشد گیاه تیمار شده و شاهد مشاهده شد. به طوری که با افزایش سطح شوری ارتفاع گیاه کلزا (شکل a ۳) در شاهد (عدم مصرف تیمارهای کودی) به میزان ۴۵ درصد کاهش نشان داد حال آنکه در تیمارهای کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده کاهش در ارتفاع گیاه کمتر بود هر چند کاهش در ارتفاع گیاه در تیمار نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده به میزان ۲۳ درصد نسبت به کی‌لیت آهن بیشتر بود. به نظر می‌رسد آهن به عنوان عامل اکسایش و

تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت آهن در گیاه سبب کاهش در میزان پروتئین‌ها، قندهای محلول، کلروفیل شده و صدمات برگشت ناپذیری به غشای زیستی و اسیدهای نوکلئیک وارد می‌کند و در نتیجه منجر به کاهش رشد و یا حتی توقف رشد در گیاه می‌گردد (Romheld and Nikolic., 2007). بر این اساس در مرحله مقدماتی تیمار ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر به عنوان غلظت بهینه نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدارشده تعیین شد. از سوی دیگر، شوری ناشی از کلرید سدیم با کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه موجب تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی وسیعی در گیاهان می‌شود. از جمله این تغییرات می‌توان به کاهش فشار اسمزی (خشکی فیزیولوژیک)، بر هم خوردن تعادل عناصر غذایی به دلیل افزایش غلظت سدیم و کلر، کاهش فشار تورژسانس، کاهش تقسیم سلولی و طویل شدن سلولی، کاهش سطح برگ و جمع شدن برگ (به منظور کاهش سطح تبخیر آب) و همچنین بسته شدن روزنه‌ها، کاهش

نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری میان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز و کاتالاز با تحمل به شوری در ارقام کلزا را مشاهده نمود. از این رو می‌توان یکی از دلایل روند کاهش ضعیف طول ریشه‌چه طی کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدار شده را نسبت به کی‌لیت آهن و شاهد افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه دانست. به علاوه آهن کی‌لیت شده حلالیت زیادی در آب دارد و تمایل آن به حلال پوششی توسط مولکول‌های آب بیشتر است اما نانوذرات اساساً ذرات غیر یونی بوده و جذب سطحی بسیار بالایی نسبت به هر ساختار دیگری دارند، بنابراین در آب به ریشه چسبیده و آرام آرام توسط گیاه به میزان لازم به صورت یون‌های اکسید شده  $Fe^{2+}$  و  $Fe^{3+}$  جذب می‌شود. بر این اساس، به نظر می‌رسد یکی دیگر از دلایل روند کاهش ضعیف طول ریشه‌چه طی کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدار شده نسبت به کی‌لیت آهن و شاهد جذب بهتر آهن توسط ریشه باشد.

همچنین نتایج این پژوهش نشان داد به واسطه کاربرد تیمارهای کودی کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدار شده قطر ساقه (در تمامی سطوح شوری)، وزن خشک گیاه و وزن خشک ریشه‌چه (تا سطح ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) نسبت به شاهد افزایش یافت که این افزایش در صفات مذکور به واسطه کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدار شده نسبت به کی‌لیت آهن بیشتر بود. در همین زمینه، ترابیان و زاهدی (۱۳۹۲) طی تحقیقات خود در گیاه آفتابگردان بیان نمودند که محلول‌پاشی سولفات آهن به شکل نانو ذرات در مقایسه با شکل معمول آن تأثیر مثبت بیشتری بر رشد آفتابگردان دارد. به‌طوریکه با کاربرد سولفات آهن به شکل نانو ذرات وزن خشک گیاه تا هفت درصد افزایش یافت. فتحی و زاهدی (۱۳۹۳) نیز طی پژوهش خود دریافتند که محلول‌پاشی آهن به شکل نانوذرات وزن خشک اندام هوایی ذرت را افزایش داده و همچنین کاربرد نانوذرات آهن سبب کاهش اثرات شوری در گیاه ذرت شد. به علاوه پیوندی و همکاران (۱۳۹۰) نیز در پژوهش خود روی گیاه ریحان به نقل از ساجدی و اردکانی (۱۳۸۷) اعلام کردند که کودهای دارای

کاهش در بخشی از سیستم زنجیره انتقال الکترون گیاهان نظیر سیتوکروم‌ها و پروتئین‌های غیرهم در فتوسنتز، تنفس و تثبیت نیتروژن (کافی و همکاران، ۱۳۸۸) مانع از تخریب ساختمان کلروپلاست و از بین رفتن کلروفیل می‌شود (بقایی و ملکی فراهانی، ۱۳۹۲؛ بیاتی و همکاران، ۱۳۹۳). بیاتی و همکاران (۱۳۹۳) طی پژوهش خود بیان نمودند کلزا به کمبود آهن حساس بوده و کاربرد آهن و نانوذرات آهن در مقایسه با عدم کاربرد آن (شاهد) در مراحل اولیه رشد سبب بهبود فتوسنتز جاری برگ و در نتیجه سبب افزایش ارتفاع گیاه می‌شود. ترابیان و زاهدی (۱۳۹۲) نیز در پژوهش خود اظهار داشتند که با افزایش سطح شوری از صفر تا ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ارتفاع گیاه آفتابگردان و محتوای کلروفیل برگ به ترتیب به میزان ۱۰ و ۲۵ درصد کاهش نشان داد. حال آنکه با محلول‌پاشی سولفات آهن به شکل معمول و نانوذرات با وجود افزایش سطح شوری تا ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ارتفاع گیاه آفتابگردان نسبت به شاهد افزایش یافت. اما از آنجاکه افزایش سطح شوری سبب چروکیدگی و جمع شدن برگ، نکروزه شدن برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز کل در گیاه می‌شود، با وجود مصرف کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدار شده ارتفاع گیاه روند کاهشی را نشان داد.

از طرف دیگر، نتایج بدست آمده نشان داد به‌واسطه کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدار شده با افزایش سطح شوری طول ریشه‌چه نسبت به شاهد و کی‌لیت آهن از روند کاهشی کمتری برخوردار بود (شکل b ۳). در این زمینه، برخی محققین (Lin et al., 2005; Yruela., 2005) بیان نمودند که یون‌های فلزی نظیر آهن به عنوان کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مشارکت دارند و نقش این عنصر در تثبیت نیتروژن و فعالیت برخی آنزیم‌ها، نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز به خوبی به اثبات رسیده است (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰). Sinha and Saxena (2006) با بررسی اثر آهن روی نوعی گیاه دارویی باتلاقی به نام *Bacopa monnieri* دریافتند که با کاربرد آهن فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه افزایش و در برگ‌ها کاهش یافت. فرهودی (۱۳۹۲)

عناصر کم‌مصرف بیشتر در فعالیت‌های متابولیکی اثرگذار بوده و به‌طور غیرمستقیم سبب افزایش سرعت رشد گیاه، سطح برگ، دوام برگ و فتوسنتز، وزن خشک گیاه و وزن خشک ریشه می‌شوند. همچنین در پژوهش حاضر محتوای آب نسبی برگ با افزایش سطح شوری در هر سه تیمار کودی کاهش یافت (شکل b ۴). افزایش سطح شوری سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ، بسته شدن روزنه‌ها و در نتیجه پایین آمدن جذب دی‌اکسید کربن و کاهش میزان فتوسنتز می‌گردد. از این رو کنترل محتوای آب نسبی برگ سبب مقاومت به شرایط شور می‌شود (بایوردی و همکاران، ۱۳۸۹؛ بالورد و همکاران، ۱۳۹۱). کاربرد نانوذرات آهن سبب افزایش جذب پتاسیم شده و از آن‌جا که جذب سدیم و پتاسیم در گیاه حالت رقابتی دارد لذا با افزایش غلظت پتاسیم در گیاه از میزان سدیم آن کاسته شده و در نتیجه سبب بهبود تنظیم فشار اسمزی سلول و مقاومت گیاه به تنش شوری می‌گردد (برقی و همکاران، ۱۳۹۳). در پژوهش حاضر نیز طی کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدار شده محتوای آب نسبی برگ نسبت به شاهد و کی‌لیت آهن بیشتر شد (شکل b ۴). به‌طور مشابهی، برقی و همکاران (۱۳۹۳) بیان نمودند کاربرد نانوآکسید آهن سبب افزایش جذب پتاسیم و کاهش جذب سدیم در گیاه سبب زمینی شد. همچنین Ladan Moghadam و همکاران (۲۰۱۲) نیز طی پژوهشی روی اسفناج نشان دادند که کاربرد نانوکلات‌های آهن در گیاه اسفناج با افزایش جذب پتاسیم و کاهش سدیم منجر به کاهش نسبت سدیم به پتاسیم برگ و در نتیجه بهبود مقاومت گیاه به شوری گردید. ترابیان و زاهدی (۱۳۹۲) نیز بیان نمودند که با کاربرد نانوسولفات آهن غلظت سدیم در اندام هوایی آفتابگردان در هر دو محیط شور و غیرشور نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول پاشی) کمتر بود.

تنش شوری علاوه بر کاهش محتوای نسبی آب برگ، با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل سبب پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌های غشای سلولی شده و با آسیب به غشای پلاسمایی سلول تراوایی

غشای سلولی را افزایش داده و منجر به نشت الکترولیت‌های داخل سلول به بیرون سلول می‌شود (Pessarakli., 1999). عمواقایی و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی اثر شوری بر کلزا دریافتند شوری موجب القای تنش اکسیداتیو ثانویه شده و با تولید گونه‌های اکسیژن فعال سبب تخریب غشاء و افزایش نشت الکترولیت می‌گردد به طوری که با افزایش سطح شوری از صفر تا ۲۰۰ میلی مولار، نشت الکترولیت در بالاترین سطح شوری ۲/۶ برابر نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در پژوهش حاضر نیز با افزایش سطح شوری نشت الکترولیت در هر سه تیمار کودی (شاهد، کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صفرظرفیتی) افزایش یافت اما به دلیل نقش آهن در افزایش فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز، طی کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی پایدار شده میزان گونه‌های اکسیژن فعال کاهش یافته و در نتیجه نشت الکترولیت با شیب بسیار ملایم ۰/۰۷۴ واحد افزایش نشان داد.

با توجه به نتایج پژوهش حاضر افزایش سطح شوری موجب کارایی ضعیف برگ‌ها در انجام فتوسنتز و تشدید صدمات تنش شده و به‌دنبال آن سبب کاهش کلروفیل a+b و کاروتنوئید در هر سه تیمار کودی گردید. در برخی تحقیقات انجام شده (بالورد و همکاران، ۱۳۹۱؛ عمواقایی و همکاران، ۱۳۹۳) افزایش غلظت یون‌های سمی از جمله سدیم در بافت برگ در اثر افزایش سطح شوری از طریق افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز (با متلاشی کردن ساختار کلروپلاست) باعث کاهش میزان کلروفیل و عدم ثبات در کمپلکس پروتئین رنگدانه‌ها، تخریب کلروفیل a و b و تغییر در کمیت و ترکیب کاروتنوئیدها شد. همچنین، یکی دیگر از دلایل کاهش کلروفیل رقابت و پیشی گرفتن آنزیم گلوتامیل کیناز به هنگام تنش شوری از آنزیم گلوتامات لیگاز (اولین آنزیم مسیر بیوستز کلروفیل) است که سبب می‌شود تا پیش ساز گلوتامات بیشتر به مصرف پرولین برسد و بنابراین بیوستز کلروفیل با محدودیت مواجه شود (بایوردی و همکاران، ۱۳۸۹). از طرف دیگر، نتایج نشان داد بیشترین میزان کلروفیل a+b و کاروتنوئید مربوط به کاربرد نانوذرات آهن صفرظرفیتی

پایدارشده بود. وجود عنصر آهن به عنوان عامل اکسایش و کاهش در بخشی از سیستم زنجیره انتقال الکترون مانع از تخریب ساختمان کلروپلاست و از بین رفتن کلروفیل می شود (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). نتایج سایر محققان روی مرزه (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰)، ریحان (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۱)، آفتابگردان (ترابیان و زاهدی، ۱۳۹۲)، زعفران (بقایی و ملکی فراهانی، ۱۳۹۲) و سویا (Buu et al., 2013) نیز بیانگر افزایش کلروفیل a, b و کلروفیل کل به واسطه کاربرد نانوذرات آهن بود.

از تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی که در پاسخ به شوری ممکن است رخ دهد، محصولات اکسیژن‌های واکنشگر (ROS)، مانند رادیکال‌های سوپراکسیداز ( $O_2^-$ ) و اکسیژن منفرد ( $O_1^-$ )، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) و همراه با آنها تشکیل می‌باشد.  $H_2O_2$  می‌باشد. اکسیژن‌های واکنشگر (ROS) بر تعدادی از ترکیبات سلولی اثر گذاشته و باعث صدمه به غشاء و ساختارهای سلولی شده و مانع از رشد منظم گیاه می‌شود (Jaspers and Kangasja, 2010). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت برای پالایش رادیکال‌های آزاد کافی بوده و آن‌ها را به متابولیت‌های بی ضرر تبدیل می‌کنند. در این بین کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیداز دیسموتاز کارآمدترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هستند. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها باعث افزایش مقاومت به تنش‌ها از جمله تنش شوری می‌شود (قربانلی و همکاران، ۱۳۹۱). کاتالاز، یکی از انواع پراکسیدازهاست که ظاهراً در کلروپلاست وجود ندارد و  $H_2O_2$  را به آب و مولکول  $O_2$  می‌شکند (Kaku et al., 2000)، در حالیکه پراکسیدازها  $H_2O_2$  را با اکسید نمودن یک سوبسترای همراه نظیر ترکیبات فنلی و یا سایر آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر آسکوربات تجزیه می‌کنند (Lee et al., 2007). اما نکته‌ای که وجود دارد این است که در تمامی گیاهان همه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در طی اعمال تنش شوری افزایش پیدا نمی‌کنند بلکه بسته به گونه گیاهی، مرحله رشد، غلظت و نوع نمک دسته خاصی از این آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش می‌یابند (حیدری و مصری، ۱۳۸۹). در پژوهش حاضر نیز به واسطه کاربرد

نانوذرات آهن صفرفریتی پایدارشده با افزایش سطح شوری میزان فعالیت هر سه آنزیم کاتالاز (تا سطح ۱۲۰ میلی‌مولار)، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز (تا سطح ۹۰ میلی‌مولار) نسبت به شاهد و کی‌لیت آهن افزایش یافت. در حالیکه با کاربرد کی‌لیت آهن تنها فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش یافت و میزان فعالیت دو آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تنها تا سطح شوری ۳۰ میلی‌مولار افزایش داشته و از آن پس از میزان فعالیت آن‌ها کاسته شد. یکی از دلایل این امر را می‌توان حضور فعال نانوذرات آهن به عنوان کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دانست (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰).

### نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش با توجه به روند تغییرات کاهش صفات مورفولوژیکی کلزا به مقادیر بالاتر از ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات آهن صفرفریتی پایدارشده (۲۴، ۴۸ میلی‌گرم در لیتر)، غلظت ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر به عنوان غلظت بهینه تعیین شد. همچنین در پژوهش حاضر پاسخ صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه کلزا به کاربرد نانوذرات آهن صفرفریتی پایدارشده و کی‌لیت آهن در سطوح مختلف شوری به صورت دو مدل دو تکه‌ای (۱۴ پارامتر) و خطی (۲۲ پارامتر) توصیف گردید. صفات رویشی (ارتفاع بوته، قطر ساقه، طول ریشه، وزن خشک گیاه و وزن خشک ریشه) و صفات فیزیولوژیکی (محتوی آب نسبی، کلروفیل a+b، کاروتنوئید، APX، CAT و GPX) با افزایش سطح شوری در هر سه تیمار کودی (شاهد، کی‌لیت آهن و نانوذرات آهن صفرفریتی) کاهش و نشت الکترولیت افزایش نشان داد. اما کاهش در صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه تیمار شده با نانوذرات آهن صفرفریتی پایدارشده بسیار کمتر از شاهد و کی‌لیت آهن بود. در مجموع، کاربرد نانوذرات آهن صفرفریتی پایدارشده به دلیل ایجاد سازوکارهای مناسب‌تر و جلوگیری از تخریب کلروفیل، رنگیزه‌های درگیر در فتوسنتز، حفاظت بیشتر از غشا با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی

اکسیدانی و حفظ محتوای نسبی آب برگ سبب ایجاد شرایط  
 بهتر برای رشد گیاه کلزا در سطوح مختلف شوری شد.  
 پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان به  
 خاطر حمایت‌های مالی جهت انجام این پژوهش تشکر و  
 قدردانی می‌گردد. همچنین از آقای دکتر پویان مهربان به دلیل  
 کمک‌های ارزنده در انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

### سپاسگزاری

بدین‌وسیله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و

### منابع

- بالاورد، م.، مسکرباشی، م. و نبی‌پور، م. (۱۳۹۱) تأثیر تنوع ترکیبات یونی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی دو رقم کلزا. تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی) ۳۵: ۱۰۳-۱۱۵.
- بایبوردی، ا.، طباطبایی، س. ج. و احمداف، ع. (۱۳۸۹) تأثیر تنش شوری ناشی از کلرور سدیم بر خصوصیات فیزیولوژیکی، کمیت و کیفیت ارقام پاییزه کلزا. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۴: ۳۳۴-۳۴۶.
- برقی، ع.، قلیپوری، ع. ا.، توبه، ا.، جهانبخش، س. و جماعتی، ش. (۱۳۹۳) بررسی اثر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن بر جذب عناصر غذایی در غده سیب زمینی. مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی جلد ۶: ۱-۱۲.
- بقایی، ن. و ملکی فراهانی، س. (۱۳۹۲) ارزیابی مقایسه کود کلات آهن با بنیان‌های نانو و میکرو بر عملکرد کمی و تخصیص مواد فتوسنتزی زعفران زراعی (*Crocus sativus L.*). نشریه پژوهش‌های زعفران جلد ۲: ۱۵۶-۱۶۹.
- بیاتی، ف.، آینه‌بند، ا. و فاتح، ا. (۱۳۹۳) بررسی تأثیر مقادیر و زمان‌های کاربرد کود آهن نانو بر عملکرد و اجزای عملکرد کلزا (*Brassica napus L.*). نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۱۲: ۸۰۵-۸۱۲.
- پیوندی، م.، پرنده، ه. و میرزا، م. (۱۳۹۱) مقایسه تأثیر نانو ذرات کلات آهن با کلات آهن بر پارامترهای رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ریحان (*Ocimum basilicum*). مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی ۴: ۸۹-۹۹.
- پیوندی، م.، کمالی جامکانی، ز. و میرزا، م. (۱۳۹۰) تأثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مرزه (*Satureja hortensis*). مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی ۲: ۲۵-۳۲.
- تربیان، ش. و زاهدی، م. (۱۳۹۲) تأثیر تغذیه برگ‌گی سولفات آهن به دو شکل معمول و نانو ذرات بر رشد ارقام آفتابگردان تحت تنش شوری. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ۴۴: ۱۰۹-۱۱۸.
- حیدری، م. و مصری، ف. (۱۳۸۹) بررسی سطوح مختلف شوری بر واکنش فیزیولوژیکی و جذب عناصر سدیم و پتاسیم در گندم. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۳: ۸۳-۹۴.
- سلطانی، ا. (۱۳۹۱) کاربرد نرم‌افزار SAS در تجزیه‌های آماری. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- عباس‌زاده، ف. و رضایی سوخت‌آبدانی، ر. (۱۳۹۱) بررسی تأثیر سطوح مختلف شوری بر خصوصیات جوانه‌زنی ارقام مختلف کلزا. مجله علوم و تکنولوژی بذر ۲: ۲۳-۳۴.
- عموآقایی، ر.، قربان‌نژاد نی‌ریزی، ه. و مستاجران، ا. (۱۳۹۳) بررسی اثر شوری بر رشد گیاهچه، میزان کلروفیل، محتوای نسبی آب و پایداری غشا در دو رقم کلزا. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۷: ۲۵۶-۲۶۸.
- فتحی، ع. و زاهدی، م. (۱۳۹۳) تأثیر محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید آهن و روی بر رشد و محتوای یونی دو ژنوتیپ ذرت در شوری‌های متفاوت خاک. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۱۲: ۱۱۰-۱۱۷.
- فروودی، ر. (۱۳۹۲) بررسی تأثیر محلول‌پاشی آبسیزیک اسید بر تحمل تنش شوری ارقام کلزا (*Brassica napus L.*). نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۱۱: ۲۳۴-۲۴۰.

قربانلی، م.، احمدی، ف.، منفرد، ا. و بخشی خانیکی، غ. م. (۱۳۹۱) اثر تنش شوری و برهم کنش آن با آسکوربات بر میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پرولین و مالون دی آدئید در گیاه زیره سبز (*Cuminum cyminum L.*) چهار هفته بعد از جوانه زنی. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۸: ۱۴-۲۷.

تایز، ل. و زایگر، ا. (۱۳۸۸) فیزیولوژی گیاهی ترجمه کافی، م.، زند، ا.، کامکار، ب.، شریفی، ح. ر. و گلدانی، م. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Method of Enzymology* 105: 121-126.
- Bakhshandeh, E., Soltani, A., Zeinali, E., and Kallate-Arabi, M. (2012) Prediction of plant height by allometric relationships in field-grown wheat. *Cereal Research Communications* 40: 487-496.
- Buu, N. Q., Chau, N. H., Hien, D. T., Tin, T. X., Duong, K. T., Van, N. T. and Ha, H. T. (2013) Effects of nano metal powders (Fe, Co, Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (Vietnamese hybrid species DT-51). *Proceedings of IWNA* 14: 1-4.
- Helaly, M. N., El-Metwally, M. A., El-Hoseiny, H., Omar, S. A. and El-Sheery, N. I. (2014) Effect of nanoparticles on biological contamination of in vitro cultures and organogenic regeneration of banana. *Australian Journal of Crop Science* 8:612-624.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. I. (1950) The water-culture method for growing plants without soil. *Journal of California Agricultural Experiment Station* 347: 1-32.
- Jaspers, P. and Kangasja, J. (2010) Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. *Physiologia Plantarum* 138: 405-413.
- Kaku, N., Hibino, T., Tanaka, Y., Ishikawa, H., Araki, E., Takabe, T. and Takabe, T. (2000) Effects of overexpression of *Escherichia coli* katE and bet genes on the tolerance for salt stress in a freshwater cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942. *Plant Science* 159: 281-288.
- Kaya, C., Ashraf, M. and Dikilitas, M. (2013) Alleviation of salt stress-induced adverse effects on maize plants by exogenous application of indole acetic acid (IAA) and inorganic nutrients-Aield trial. *Australian Journal of Crop Science* 7: 249-254.
- Ladan Moghadam, A., Vattani, H., Baghaei, N. and Keshavarz, N. (2012) Effect of different levels of fertilizer nano iron chelates on growth and yield characteristics of two varieties of Spinach (*Spinacia oleracea L.*): Varamin 88 and Viroflay. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology* 4: 4813-4818.
- Lancashire, P. D., Bleiholder, H., Langeluddecke, P., Stauss, R., van den Boom, T., Weber, E. and Witzenberg, A. (1991) An uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology* 119: 561-601.
- Lee, Y. P., Kim, S. H., Bang, J. W., Lee, H. S., Kwak, S. S. and Kwon, S. Y. (2007) Enhanced tolerance to oxidative stress in transgenic tobacco plants expressing three antioxidant enzymes in chloroplasts. *Plant Cell Reports* 26: 591-598.
- Lin, C. C., Chen, L. M. and Liu, Z. H. (2005) Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. *Plant Sciences* 168: 855-861.
- Lutts S., Kinet, J. M. and Bouharmont, J. (1995) Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa L.*) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany* 46: 1843-1852.
- Moheb, T. S., El-Sarkassy, N. M. and Fuller, M. P. (2012) Osmoregulators proline and glycine betaine counteract salinity stress in canola. *Agronomy for Sustainable Development* 32: 747-754.
- Monsef Afsar, R., Hadi, H. and Pirzad, A. (2012) Effect of spraying nano-iron on characteristics qualitative and quantitative of cowpea, under drought stress end of season. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences* 3:1709-1717.
- Pessaraki, M. (1999) Handbook of plant and crop stress. Copyright by Marcel Dekker 1198 Pp.
- Porra, R. J., Thompson, W. A. and Kriedemann, P. E. (1989) Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectrometry. *Photosynthesis Research* 975: 384-394.
- Rasheed, R., Ashraf, M. A., Parveen, S., Iqbal, M. and Iqbal, H. (2014) Effect of salt stress on different growth and biochemical attributes in two canola (*Brassica napus L.*) cultivars. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 45: 669-679.
- Ritchie, S. W. and Nguyen, H. T. (1990) Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 30: 105-111.
- Romheld, V. and Nikolic, M. (2007) Iron. In: *Handbook of Plant Nutrition* (eds. Baker, A.V. and Pilbeam, D. J.) Pp. 662. Boca Raton, FL: CRC Press / Taylor & Francis Group.
- Savasari, M., Emadi, M., Bahmanyar, M. A. and Biparva, P. (2015) Optimization of Cd (II) removal from aqueous solution by ascorbic acidstabilized zero valent iron nanoparticles using response surface methodology. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 21: 1403-1409.

- Siddiqui, M. H., Al-Wahaibi, M. H. Firoz, M. and Al-Khaishany, M. Y. (2015) Role of nanoparticles in plant. *Nanotechnology and Plant Sciences* 19-33.
- Sinha, S. and Saxena, R. (2006) Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidant and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri*. *Chemosphere* 62: 134-135.
- Sun, Y. P., Li, X. Q., Cao, J. S., Zhang, W. X. and Wang, H. P. (2006) Characterization of zero-valent iron nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science* 120: 47-56.
- Tang, W., and Newton, R. J. (2005) Peroxidase and catalase activities are involved in direct adventitious shoot formation induced by thidiazuron in eastern white pine (*Pinus strobus* L.) zygotic embryos. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 43: 730-769.
- Yoshimura, K., Yabuta, Y., Ishikawa, T., and Shigeoka, S. (2000) Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Journal of Plant Physiology* 123: 223-233.
- Yruela, I. (2005) Copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 145-146.

## Response of morphological and physiological traits of canola (*Brassica napus* L.) to application of stabilized zero-valent iron nanoparticles under salinity stress

Azadeh Kashani<sup>1</sup>, Hemmatollah Pirdashti<sup>2</sup>, Pौरya Biparva<sup>3</sup>, Seiyed Mostafa Emadi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

<sup>2</sup>Department of Agronomy and Plant Breeding Department, Genetic and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan; Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

<sup>3</sup>Department of Basic Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

<sup>4</sup>Department of Soil Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

(Received: 13/03/2017, Accepted: 26/09/2018)

### Abstract

In order to study the effect of zero-valent iron nanoparticles on morphological and physiological traits of canola (*Brassica napus* L. cv. 'Hayola 401') under salinity stress, a research was conducted under controlled conditions in factorial experiment based on completely randomized design in three replicates. In the first phase, the zero-valent iron nanoparticles were synthesized and in the second phase, their optimal concentration was determined. In the third phase, the application effect of zero-valent iron nanoparticle in the optimum concentration along with iron chelates and control were evaluated under different levels of salinity (0, 30, 60, 90 and 120 mM NaCl). According to the results of preliminary phase, 16 mg L<sup>-1</sup> of zero-valent iron nanoparticle was determined as the optimum concentration. In addition, the results of regression equations showed that when salinity increased, plants treated by zero-valent iron nanoparticle had lower reducing slopes for root length, stem diameter, plant dry weight, root dry weight and chlorophyll a + b and lower increasing slope for electrolyte leakage compared to both the control and iron chelates. Also, increasing slope for antioxidant enzymes was greater than control and iron chelates in a way that with using zero-valent iron nanoparticle in 90 mM, activity of the catalase (CAT) and guaiacol peroxidase (GPX) were twice greater than control and iron chelates, respectively. Overall, our findings indicated that the application of zero-valent iron nanoparticles under salinity stress had a positive effect on canola growth and performance as compared with the control and iron chelates.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Regression, Canola, Chelates, Zero-valent iron nanoparticles, Hydroponic.

Corresponding author, Email: pirdasht@yahoo.com