

اثر محلول پاشی آهن و روی به فرم‌های سولفات‌ها و نانو ذرات بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تنش شوری

قادر رستمی^۱، محمد مقدم^{۲*}، عبدالله قاسمی پیربلوطی^۳، علی تهرانی‌فر^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳. استاد گروه گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

۴. استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۴/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۰۳

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر محلول پاشی آهن و روی به فرم‌های سولفات‌ها و نانو ذرات بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی نعناع فلفلی تحت تأثیر تنش شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. عامل اول شامل: تنش شوری در چهار سطح (صفر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ میلی‌مولار NaCl) و عامل دوم شامل: محلول پاشی کود در پنج سطح (شاهد (بدون کاربرد کود)، سولفات آهن ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، سولفات روی ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، نانو اکسید آهن ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نانو اکسید روی ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. نتایج نشان داد که تنش شوری بر شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی نعناع فلفلی تأثیر معنی‌داری داشت و سبب کاهش صفات مورد بررسی شد. همچنین بررسی اثر متقابل داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان شاخص‌های رشد و محتوای کلروفیل در تیمارهای شاهد (بدون تنش شوری) و تنش ملایم (۴۰ میلی‌مولار) همراه با محلول پاشی نانو کود آهن و روی حاصل شد. به‌طوری‌که بیشترین ارتفاع بوته (۷۸ سانتی‌متر)، تعداد شاخه‌فرعی (۳۶ شاخه در بوته) و طول برگ (۶ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد (بدون تنش شوری) و محلول پاشی نانو کود آهن بود. در حالی که بیشترین عرض برگ (۲/۱۶ سانتی‌متر) در تنش ملایم ۴۰ میلی‌مولار همراه با کاربرد نانو کود آهن به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با کاربرد کودهای نانو در تیمار شاهد نداشت. بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول با مقدار ۱/۲۸ و ۱/۱۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک به ترتیب در شرایط تنش شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار همراه با کاربرد نانو کود آهن به دست آمد. به‌طور کلی می‌توان گفت که مصرف نانو کود آهن و روی نسبت به شکل سولفات‌ها آن در شرایط تنش شوری ملایم (۴۰ میلی‌مولار) می‌تواند باعث افزایش رشد گیاه و بهبود خصوصیات بیوشیمیایی نعناع فلفلی شود.

واژه‌های کلیدی: نعناع فلفلی، شاخص‌های رشد، رنگبزه‌های فتوسنتزی، محلول پاشی

مقدمه

نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است. گیاهی علفی، چندساله و ریزوم‌دار با ساقه‌های چهارگوش و برگ‌های متقابل به رنگ سبز بسیار معطر، بیضی‌شکل، کمی پوشیده از کرک که حاشیه‌ی آن‌ها دندانه‌دار است. این گیاه گونه‌ای هیبرید است که از تلاقی دو گونه *Mentha* و *Mentha spicata* حاصل شده است (Ghahramani, 1993). نعناع فلفلی بومی مناطق معتدله دنیا به‌ویژه اروپا، آمریکای شمالی و شمال آفریقا است، اما امروزه در سراسر دنیا کشت می‌شود (Singh et al., 2015). مواد مؤثره نعناع فلفلی در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی، شیرینی‌سازی، نوشابه-

نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است. گیاهی علفی، چندساله و ریزوم‌دار با ساقه‌های چهارگوش و برگ‌های متقابل به رنگ سبز بسیار معطر، بیضی‌شکل، کمی پوشیده از کرک که حاشیه‌ی آن‌ها دندانه‌دار است. این گیاه گونه‌ای هیبرید است که از تلاقی دو گونه *Mentha* و *Mentha spicata*

مختلف وجود دارد. در آزمایش سعیدالاهل و محمود (Said- Al Ahl and Mahmoud, 2010) محلول‌پاشی روی با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر در گیاه ریحان در شرایط تنش شوری موجب افزایش وزن تر و خشک برگ و ساقه گردید. همچنین گیاهان دارویی برای رشد و تولید مواد مؤثره به مقادیر مناسبی از ریزمغذی‌ها نیاز داشته و در بین ریزمغذی‌ها، بیشترین نیاز را به آهن دارند (Kaffi et al., 1998). آهن یکی از عناصر ضروری، کم‌مصرف و کم‌تحرک برای گیاهان است. این عنصر بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیا بوده و برای ساخت کلروفیل موردنیاز است (Kaffi et al., 1998). عنصر روی نیز از عناصر کم‌مصرف بوده که در سنتز تریپتوفان، پیش ماده اکسین، طول عمر رنگ‌دانه‌های کلروفیل و پیری برگ، متابولیسم کربوهیدرات‌ها و ساخت پروتئین‌های گیاهان اثرگذار است (Hemant Ranjan, 1996).

به‌طور کلی فناوری نانو در زمره فناوری‌های جدیدی است که هنوز در مرحله آغازین رشد خود قرار دارد. تفاوت اصلی فناوری نانو با فناوری‌های دیگر در مقیاس مواد و ساختارهای است که در این فناوری مورد استفاده قرار می‌گیرند. در حقیقت تفاوت این فناوری با فناوری‌های دیگر، وجود عناصر پایه به‌عنوان یک معیار مهم است. حوزه کاربرد نانوذره‌ها تنوع بسیار زیادی دارد. نانو پودرها مخلوطی از ذره‌ها با ابعادی بین ۱ تا ۱۰ نانومتر هستند. در واقع علم نانو همه عرصه‌های دانش را تحت تأثیر قرار داده و علم کشاورزی نیز از این قاعده مستثنا نیست (Das et al., 2004; Schaller and Klimov, 2004). یکی از مهم‌ترین کاربردهای فناوری نانو در زمینه‌ها و گرایش‌های مختلف کشاورزی در بخش آب‌و‌خاک، استفاده از نانو کودها (Nano Fertilizers) برای تغذیه گیاهان است (Rezaei et al., 2011; Peyvandi et al., 2009). به دلیل اینکه دیواره سلول گیاهی به‌عنوان یک مانع برای ورود آسان هر عامل خارجی به داخل سلول‌های گیاهی عمل می‌کند، نانو ذرات که قطر منفذ کمتری نسبت به قطر منفذ دیواره سلولی دارند به‌راحتی می‌توانند از منافذ روی دیوار عبور کنند. نانو ذرات در سطح برگ از طریق منافذ روزنه‌ای و یا پایه‌ای کرک وارد گیاه می‌شوند و سپس به بافت‌های مختلف منتقل می‌گردند (Nair et al., 2010). گزارش‌های محدودی مبنی بر تأثیر مثبت مواد غذایی نانو بر رشد برخی از گیاهان از جمله بادام‌زمینی نخود، اسفناج و ریحان وجود دارد

سازی و صنایع ادویه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (Omidbeigi, 2000).

شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی است که باعث کاهش رشد، توسعه و تولید گیاهان در سراسر دنیا می‌شود (Sevengor et al., 2011). شوری موجب اختلال در تقسیم سلول و بزرگ شدن سلول‌ها شده و تمام واکنش‌های متابولیکی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. همچنین سبب کاهش فعالیت‌های متابولیکی گیاه از جمله فتوسنتز شده و از رشد گیاه در محیط‌های شور می‌کاهد و به‌علاوه سبب کاهش و به تأخیر افتادن جوانه‌زنی، کاهش رشد اندام‌های هوایی و کاهش تولید ماده خشک و گاهی اوقات نابودی رستنی‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌گردد (Abdmishani and Bushehri, 1992). در مطالعه سارانی و همکاران (Sarani et al., 2012) مشاهده شد که شوری سبب کاهش کلروفیل a و b در دو جنس بابونه شد. همچنین کایا و همکاران (Kaya et al., 2001) اظهار داشتند که شوری، رشد رویشی و زایشی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و بنابراین موجب کاهش وزن خشک و عملکرد گیاه می‌شود. در آزمایشی، نجفی و میرمعصومی (Najafi and Mirmasumi, 1998) گزارش کردند که با افزایش شوری (۱۰۰ میلی‌مولار)، پارامترهای رشدی و سرعت فتوسنتز در گیاه مرزه کاهش می‌یابد. در آزمایشی ارچنگی و همکاران (Archangi et al., 2012) نشان دادند که افزایش تنش شوری از ۸۰ تا ۱۶۰ میلی‌مولار باعث کاهش ارتفاع بوته، طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و تعداد برگ در گیاه دارویی شنبلیله (*Trigonella foenumgracum*) می‌شود. در خاک‌های زراعی ایران به دلیل بالا بودن pH، وجود آهک فراوان و مصرف بیش‌از‌حد کودهای فسفاتی، جذب عناصر کم‌مصرف نظیر آهن و روی عمومیت بیشتری دارد (Malakuti and Homaei, 2004). در چنین شرایطی محلول‌پاشی به‌عنوان یک روش مؤثر و باصرفه نسبت به مصرف کلات‌های آهن و روی در خاک شناخته شده است (Malakuti and Homaei, 2004).

مصرف عناصر کم‌نیاز (Fe, Zn, Mn) از طریق کاهش اثرات منفی یون‌های سمی می‌تواند مقاومت گیاهان را در برابر تنش افزایش دهد (El-Fouly et al., 2011). به‌طوری‌که گزارش‌های متعددی در رابطه با اثرهای محلول-پاشی عناصر آهن و روی بر افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش شوری و کاهش اثر زیان‌بار تنش شوری در گیاهان

تمام مواد مورد استفاده در درجه آنالیتیکال از شرکت مرک تهیه شد. جهت سنتز نانو ذرات روی یک محلول شاهد از استات روی دو آبه با غلظت ۰/۱ مولار در ۵۰ میلی‌لیتر متانول تحت چرخش درست شد. به این محلول ۲۵ میلی-لیتر محلول سدیم هیدروکسید در متانول با غلظت ۰/۲ مولار تحت چرخش شدید اضافه شد تا pH در ناحیه ۸-۱۱ قرار گیرد. این محلول به اتوکلاو تفلون محبوس در استیل منتقل شد و به مدت ۶ ساعت در دمای ۲۰۰ درجه سانتی-گراد قرار گرفت. در نهایت به‌طور طبیعی تا دمای محیط خنک شد. پس از اتمام واکنش محصول جامد سفیدرنگ با متانول شستشو داده شد و پس از صاف کردن در آن آزمایشگاهی در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. طبق شکل (۱) آنالیز توزیع قطر متوسط نانو ذرات، اندازه متوسط ۱۸ نانومتر را برای آن‌ها تأیید کرد (Radziejczak and Jesionowski, 2014).

سنتز نانو ذرات آهن

آهن (III) کلرید شش آبه، سدیم استات، تری سدیم سیترات، اتیلن گلیکول از شرکت سیگما آلدیج در درجه آنالیتیکال تهیه و بدون خالص‌سازی اضافی مورد استفاده قرار گرفت. آهن (III) کلرید شش آبه (۱/۶ گرم، ۶ میلی‌مول)، سدیم استات (۴ گرم، ۴۸/۸ میلی‌مول) و تری سدیم سیترات (۱/۵ گرم، ۵/۸ میلی‌مول) در ۷۵ میلی‌لیتر اتیلن گلیکول حل شدند. پس از چرخش شدید به مدت ۱ ساعت، محلول زردرنگ به دست آمده به اتوکلاو تفلون محبوس در استیل با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر منتقل شد و در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفت. اتوکلاو به‌طور طبیعی تا دمای محیط سرد شد. نانو ذرات مغناطیسی آهن سیاه‌رنگ با آهن‌ربا جمع‌آوری شد و چندین بار با آب و اتانول به‌طور جداگانه شستشو داده شد. در نهایت محصول تحت خلأ در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شد. طبق شکل (۲) آنالیز توزیع قطر متوسط نانو ذرات، اندازه متوسط ۳۹ نانومتر را برای آن‌ها تأیید کرد (Qi et al., 2010).

مواد گیاهی و اعمال تیمارها

ابتدا ریزوم‌های سالم نعنای فلفلی (۱۰ سانتی‌متر) در اواخر اسفندماه سال ۱۳۹۴ از مزرعه تحقیقات دانشگاه فردوسی مشهد جمع‌آوری شدند و پس از آن در هر گلدان (گلدان‌های

(Peyvandi and Mirza, 2011). همچنین در گیاه ریحان مصرف یک کیلوگرم در هکتار آهن به شکل نانو در مقایسه با شکل معمول آن باعث افزایش وزن خشک و تر اندام هوایی و محتوای کلروفیل آن شد (Peyvandi and Mirza, 2011). یادگاری و همکاران (Yadgari et al., 2014) در آزمایشی مشاهده کردند که کاربرد کود سولفات روی به‌ویژه به شکل نانو هم در شرایط تنش و هم غیرتنش محتوای قندهای محلول گیاه نخود را افزایش داد. در آزمایشی گزارش شد که در گیاه دارویی بابونه محلول پاشی هم‌زمان آهن و روی سبب افزایش کمیت و کیفیت گل نسبت به شاهد شد (Nasiri et al., 2010). بنابراین با توجه به این‌که بیشتر مناطق خاک کشور ما آهنی و قلیایی است و به خاطر حساسیت نعنای فلفلی به این نوع خاک‌ها و مشکل جذب عناصر ریزمغذی لذا هدف از این تحقیق بررسی تأثیر محلول پاشی این عناصر ریزمغذی به دو شکل سولفات و نانو بر رشد، نمو و خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی نعنای فلفلی تحت تنش شوری است.

مواد و روش‌ها

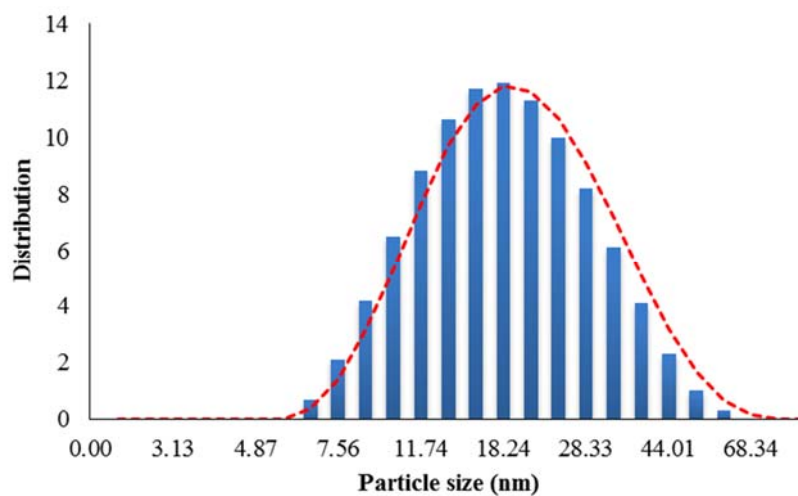
این تحقیق به منظور بررسی تأثیر محلول پاشی آهن و روی به فرم‌های سولفات و نانو ذرات بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی نعنای فلفلی (*Menthe piperita*) تحت تنش شوری در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. عامل اول شامل تنش شوری در چهار غلظت (۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار NaCl) و عامل دوم شامل محلول پاشی کود در پنج سطح (شاهد (بدون کاربرد کود)، سولفات آهن ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، سولفات روی ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، نانو اکسید آهن ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نانو اکسید روی ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. کودهای سولفات روی و آهن به ترتیب با خلوص ۲۲ و ۳۴ درصد از شرکت ایرانی دنا تهیه شد. نانو ذرات روی و آهن در آزمایشگاه شیمی آلی دانشکده شیمی دانشگاه فردوسی مشهد سنتز شدند.

سنتز نانو ذرات روی

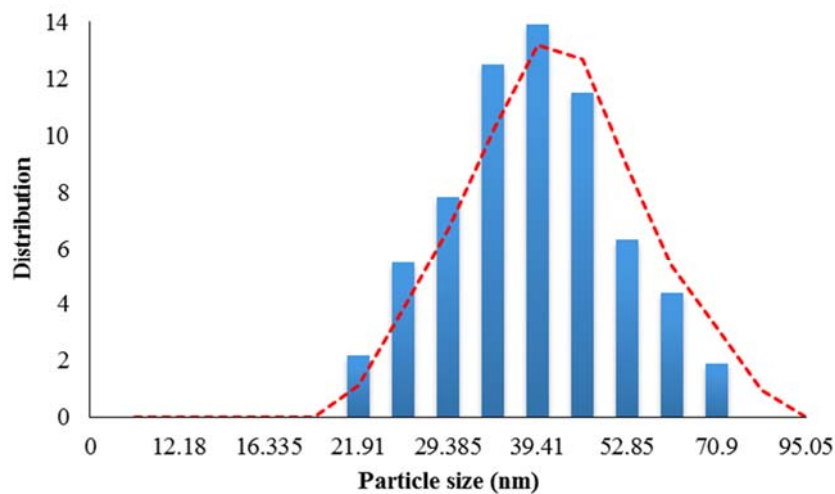
استات روی دو آبه ($Zn(OAc)_2 \cdot 2H_2O$) سدیم هیدروکسید (NaOH) در تهیه نانو ذرات روی استفاده شد.

گرفت که محتوای آب گلدان به حد ظرفیت زراعی برسد و آبشویی گلدان به‌منظور جلوگیری از تجمع نمک هر دو هفته یک‌بار انجام گرفت. محلول‌پاشی با عناصر ریزمغذی حدوداً ۳ بار انجام شد. اولین محلول‌پاشی یک هفته قبل از اعمال تنش شوری صورت گرفت و ۲ محلول‌پاشی هم بعد از انجام تنش بافاصله ۳ هفته از شروع تنش شوری انجام شد. فاکتورهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی ۸۰ روز بعد از نشاکاری در مرحله گلدهی اندازه‌گیری شدند.

با قطر دهانه ۳۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر) ۶ ریزوم به طول ۱۰ سانتی‌متر که دارای جوانه‌های سالمی بودند در اواخر اسفند در عمق ۵ سانتی‌متری خاک گلدان کاشته شدند. خاک گلدان‌ها (۱۰ کیلوگرم) از ترکیب یکسان خاک زراعی، ماسه و خاک‌برگ تشکیل شده بود (جدول ۱). گلدان‌ها در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد با میانگین دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد قرار داده شدند. با استقرار کامل گیاه در مرحله ۱۰- ۱۵ برگی آبیاری با آب‌شور هر دو روز یک‌بار به‌گونه‌ای انجام



شکل ۱. آنالیز توزیع قطر متوسط نانو ذرات اکسید روی (Zn)
Fig. 1. Analysis of the average diameter distribution of zinc oxide nanoparticles (Zn)



شکل ۲. آنالیز توزیع قطر متوسط نانو ذرات اکسید آهن (Fe)
Fig. 2. Analysis of the average diameter of iron oxide nanoparticles (Fe)

Table 1. Physico-chemical properties of soil

بافت خاک Soil texture	رس (Clay) (%)	لای (Lay) (%)	شن (Sand) (%)	اسیدیته کل اشباع (pH)	هدایت الکتریکی EC (dS/m)
لومی رسی Loomi clay	41	30	29	7.9	1.2

جدول ۱. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک

کربوهیدرات محلول

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول، پس از افزودن ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به ۰/۲ گرم بافت تازه نمونه و قرار دادن آن در حمام بن ماری به مدت یک ساعت، با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، ۱ میلی‌لیتر فنل ۰/۵ درصد و پنج میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد به یک میلی‌لیتر از این محلول اضافه شد و جذب آن در طول موج ۴۸۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. مقدار کربوهیدرات استخراجی بر اساس میلی‌گرم گلوکز بر گرم وزن تر نمونه و مطابق منحنی استاندارد گلوکز به دست آمد (Keles and Öncel, 2004).

شاخص‌های رشد

صفات مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌فرعی، تعداد پنجه، طول برگ، عرض برگ، وزن خشک برگ و خشک ساقه بود. طول اندام‌های هوایی برحسب سانتی‌متر و همچنین وزن خشک اندام هوایی (برگ و ساقه) با ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم سنجیده شد. برای به دست آوردن وزن خشک اندام هوایی، نمونه‌ها در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت و سپس برحسب گرم تعیین شد (Epstein and Rains, 1987).

محتوای کلروفیل

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید ابتدا ۰/۱ گرم برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته را جدا کرده و آن‌ها را در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۹۹٪ برای استخراج رنگ‌دانه‌ها ساییده، سپس به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت. سپس عصاره استخراج‌شده را برداشته و با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (Bio Quest, CE 2502, UK) میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر قرائت گردید. آنگاه با استفاده از روابط زیر محتوای کلروفیل محاسبه شد (Şükran et al., 1998).

$$CHLa = 15.65A_{666} - 7.340A_{653}$$

$$CHLb = 27.05 A_{653} - 11.21 A_{666}$$

$$CHLx+c = 1000 A_{470} - 2.860 CHLa - 129.2 CHLb$$

$$CHLt = CHLa + CHLb + CHLx+c$$

میزان کلروفیل a : CHLa، میزان کلروفیل b : CHLb،

کاروتنوئید کل: CHLx+c، کلروفیل کل: CHLt

شاخص سبزی‌نگی

شاخص سبزی‌نگی برگ (عدد اسپد کلروفیل) با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج (SPAD-502 Konica, Minolta, Tokyo) قرائت گردید.

تجزیه آماری

داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار Minitab17 مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که تأثیر نوع کود، تنش شوری و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر صفات ارتفاع گیاه، تعداد شاخه‌فرعی، تعداد پنجه، طول و عرض برگ، وزن خشک برگ و ساقه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۲). همچنین اثر ساده تنش شوری بر میزان کلروفیل a و b ، کاروتنوئید و کلروفیل کل، شاخص سبزی‌نگی و کربوهیدرات محلول در سطح احتمال یک درصد و اثر اصلی نوع کود بر میزان کلروفیل b و کاروتنوئید برگ در سطح احتمال ۵ درصد و در بقیه صفات در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری نشان داد. همچنین اثر متقابل تنش شوری و نوع کود به‌غیراز کربوهیدرات محلول در بقیه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳).

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی کودهای آهن و روی به‌صورت سولفات‌ها و نانو بر صفات مورفولوژیکی نعنای فلفلی تحت تنش شوری

Table 1. Analysis of variance for the effect of spraying sulfate and nano forms of iron and zinc fertilizers on morphological traits of peppermint under salinity stress

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	تعداد شاخه فرعی Number of branches	تعداد پنجه Number of tiller	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight
تنش شوری Salinity stress	3	1863.75**	436.46**	326.06**	72.22**	3**	15.86**	13.94**
کود Fertilizer	4	236.72**	71.54**	80.10**	3.41**	1.10**	7.03**	3.25**
تنش شوری × کود Salinity stress × Fertilizer	12	85.51**	78.41**	12.96**	1.68**	0.195**	4.55**	3.60**
خطا Error	40	3.78	2.56	1.71	0.18	0.08	0.48	0.60

^{ns}, **, * به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد
^{ns}, **, *: Not-significant, and significant at 1% probability levels, respectively

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی کودهای آهن و روی به‌صورت سولفات‌ها و نانو بر برخی صفات بیوشیمیایی گیاه نعنای فلفلی تحت تنش شوری

Table 3. Analysis of variance for the effect of spraying sulfate and nano forms of iron and zinc fertilizers on some biochemical traits of peppermint under salinity stress

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کارتنوئید Carotenoids	شاخص سبزیبندی SPAD	کربوهیدرات محلول Soluble carbohydrate
تنش شوری Salinity stress	3	97.01**	48.17**	265.49**	1.20**	2209.17**	0.367**
کود Fertilizer	4	32.41**	4.44*	58.97**	0.11*	369.76**	0.149**
تنش شوری × کود Salinity stress × Fertilizer	12	13.14**	12.59**	28.74**	0.142**	203.38**	0.038*
خطا Error	40	1.03	1.25	1.67	0.032	9.37	0.028

^{ns}, *, ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح ۵ و ۱ درصد
^{ns}, *, **: Not-significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

که بیشترین میزان وزن خشک ساقه در تیمار شاهد (عدم تنش شوری) و محلول‌پاشی نانو کود روی حاصل گردید. البته لازم به ذکر است که کمترین میزان شاخص‌های رشد نظیر ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌فرعی، تعداد پنجه، طول و عرض برگ، وزن خشک برگ و ساقه تحت تنش شوری شدید (۱۲۰ میلی‌مولار) و عدم کاربرد کود به دست آمد. از طرفی صفات مورفولوژیکی در تنش ملایم (۴۰ میلی‌مولار) با کاربرد کودهای نانو نسبت به تیمار شاهد (بدون کاربرد

شاخص‌های رشد

بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) اثرات متقابل تیمارهای شوری و ترکیبات کودی مورد استفاده (آهن و روی به‌صورت سولفات‌ها و نانو) بر شاخص‌های رشدی گیاه نعنای فلفلی، بیشترین ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌فرعی، تعداد پنجه، طول و عرض برگ در تیمار بدون تنش شوری و محلول-پاشی نانو کودها به‌ویژه نانو کود آهن مشاهده شد. همچنین مقایسه میانگین اثرات متقابل داده‌ها نشان داد (جدول ۴)

به این که اسید آمینه تریپتوفان به عنوان پیش ماده تولید اکسین عمل می‌کند، لذا با افزایش تولید اکسین، تشدید چیرگی رأسی و متعاقب آن افزایش رشد طولی شاخساره‌ها را خواهد داشت (Misra et al., 2005). همچنین در تحقیق حاضر کاربرد روی در شرایط تنش و غیرتنش موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشدی نسبت به گیاهان شاهد شد. محققین علت این امر را اثر مثبت کود روی بر ساختن اکسین طبیعی و در نتیجه فعال کردن تقسیم سلولی، جذب بهتر مواد معدنی و در نهایت افزایش رشد بیان داشتند (El-Tohamy and El-Greadly, 2007). با توجه به این که آهن یکی از عناصر مهم در واکنش‌های اکسایش- احیا در گیاهان است و همچنین نقشی که آن در فتوسنتز گیاهان دارد؛ استفاده از نانو کود آهن موجب افزایش رشد اندام‌های هوایی و متعاقب آن افزایش عملکرد وزن خشک اندام هوایی شده است. همچنین می‌توان انتظار داشت که استفاده از این ترکیبات ضمن فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، موجبات افزایش پیکرورویشی و تولید بیوماس را نیز فراهم آورده است (Gardner et al., 2011). نتایج آزمایشی نشان داد که مصرف مقادیر مختلفی از عناصر کم مصرف باعث افزایش وزن خشک گیاه ترخون شد (Glyn, 2002). همچنین بر طبق گزارشی محلول پاشی گیاه غلف لیمو با ترکیبات نانو کود آهن سبب افزایش عملکرد گیاه شد (Singh et al., 2015). همچنین نتایج تحقیق حاضر با گزارش ترابیان و زاهدی (Torabiyani and Zahedi, 2013) بر روی ارقام آفتابگردان که محلول پاشی آهن به دو شکل سولفات و نانو ذرات را به عنوان تیمار مؤثر در افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی اعلام نمودند؛ مطابقت دارد. نتایج تحقیق فتحی و زاهدی (Fathi and Zahedi, 2014) نشان می‌دهد محلول پاشی اکسید آهن به شکل نانو ذرات در مقایسه با شکل معمول آن‌ها تأثیر مثبت و بیشتری بر شاخص‌های رشد در گیاه ذرت داشته است. نتران و همکاران (Naturan et al., 2004) در بررسی نانو کود کلات آهن بر خصوصیات کمی و کیفی گندم دیم به این نتیجه رسیدند که محلول پاشی نانو کود آلی کلات آهن سبب افزایش صفات کمی و کیفی آن نسبت به تیمار شاهد شد.

کود دارای برتری بوده و سبب افزایش این صفات گردید. همچنین با افزایش تنش شوری به سطح ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کاهش چشمگیری در شاخص‌های رشدی اعم از ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌فرعی، تعداد پنجه، طول و عرض برگ و وزن خشک برگ و ساقه در شرایط عدم استفاده از کود مشاهده شد. در حالی که استفاده از کودها به ویژه نانو کود آهن و روی سبب جبران این خسارت گردید. رشد و ارتفاع بوته به شرایط محیطی که گیاه در آن رشد می‌کند وابسته است. یکی از این شرایط، فراهم بودن آب کافی برای گیاه است. در صورت عدم تأمین آب مورد نیاز گیاه، فشار تورژانس سلول‌ها کاهش می‌یابد و با اثر بر طول سلول‌ها، کاهش ارتفاع بوته رخ می‌دهد. تنش اسمزی حاصل از تنش شوری نیز موجب کاهش محتوای آب سلول‌ها می‌شود و طول سلول‌ها با مشکل مواجه می‌گردد (Mortezainajad et al., 2005). همچنین از آنجاکه در خاک‌های شور و آهکی حلالیت عناصر ریزمغذی (نظیر آهن، روی و مس و ...) کم است؛ گیاهان اغلب از نظر عناصر فوق دچار کمبود می‌باشند (Cramer et al., 1987). تغذیه برگی از راه‌های مؤثر در رفع نیاز غذای گیاهان به عناصر کم مصرف است. به طوری که مصرف عناصر کم نیاز از طریق کاهش اثرات منفی یون‌های سمی می‌تواند مقاومت گیاهان را در برابر تنش شوری افزایش دهد (El-Fouly et al., 2011). در آزمایشی آلپاسلان و همکاران (Alpaslan et al., 1999) گزارش کردند که در گیاهان کشت شده در خاک‌های شور، محلول پاشی روی با تأثیر بر فعالیت غشاء سلولی و نفوذپذیری انتخابی آن می‌تواند اثرهای زیان‌بار سمیت یون‌های سدیم و کلر را تعدیل نماید. همچنین در تحقیقی گزارش کردند که کاربرد روی با غلظت ۱۰۰ میلی-گرم بر لیتر باعث افزایش وزن تر و خشک برگ و نیز ارتفاع گیاه مریم‌گلی در شرایط تنش شوری گردید (Hendawy and Khalid, 2005). در آزمایشی عبدالعزیز و لیلان (Abd El-Aziz and Laila, 2007) گزارش کردند که محلول پاشی روی به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار در بسیاری از صفات رشدی گیاه *Salvia farinacea* گردید. در رابطه با تأثیر کاربرد روی در تنش شوری می‌توان بیان کرد که روی یکی از عامل‌های مهم تأثیرگذار در فعالیت آنزیم تریپتوفان سنتتاز است و با توجه

جدول ۴. مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری و محلول‌پاشی کود آهن و روی به دو شکل سولفات‌ها و نانو بر صفات مورفولوژیکی نعنای فلفلی

Table 4. Mean comparison of the interactions effects of salinity stress and foliar application of iron and zinc in the sulfate and nano forms on morphological traits of peppermint

تنش شوری (میلی‌مولار) Salinity stress (mM)	کود Fertilizer	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	تعداد شاخه فرعی (عدد) Number of branches	تعداد پنجه (عدد) Number of tiller	طول برگ (سانتی‌متر) Leaf length (cm)	عرض برگ (سانتی‌متر) Leaf width (cm)	وزن خشک برگ (گرم) Leaf dry weight (g)	وزن خشک ساقه (گرم) Stem dry weight (g)
Control	Control	66.33 ^b	30 ^{b-d}	21 ^{bc}	3.50 ^{bc}	1 ^{b-f}	5.52 ^{a-c}	3 ^{ef}
	Zn sulfate	64.66 ^{bc}	26 ^{c-e}	16 ^{d-f}	3.58 ^{bc}	1.50 ^{a-e}	2.44 ^{e-g}	3.50 ^{de}
	Fe sulfate	64.33 ^{bc}	32.33 ^{ab}	19 ^{cd}	3.50 ^{bc}	1.66 ^{a-d}	5.72 ^{ab}	3.81 ^{c-e}
	Nano-Zn	67.33 ^b	32.33 ^{ab}	24 ^{ab}	5 ^{ab}	1.73 ^{a-d}	2.91 ^{d-g}	7.20 ^a
	Nano-Fe	78 ^a	36.33 ^a	26 ^a	6 ^a	1.90 ^{a-c}	3.31 ^{b-f}	5.42 ^{ab}
40	Control	54 ^{ef}	29 ^{b-d}	18 ^{cd}	3.33 ^{cd}	1.16 ^{a-f}	3.72 ^{a-e}	3.94 ^{c-f}
	Zn sulfate	54.33 ^e	25.33 ^{c-e}	66.66 ^{c-e}	2.83 ^{de}	1.50 ^{a-e}	3.27 ^{b-f}	2.68 ^{ef}
	Fe sulfate	52.66 ^{d-f}	25.66 ^{c-e}	18 ^{cd}	3.50 ^{bc}	1.50 ^{a-e}	3.15 ^{b-f}	1.97 ^{fg}
	Nano-Zn	75.33 ^a	30.66 ^{a-c}	26 ^a	3.33 ^{cd}	1.66 ^{a-d}	4.17 ^{a-e}	5.25 ^b
	Nano-Fe	61.33 ^{b-d}	34 ^{ab}	24 ^{ab}	5.66 ^a	2.16 ^a	5.98 ^a	6.50 ^a
80	Control	47.33 ^{f-j}	29 ^{b-d}	13 ^{e-h}	1.83 ^{d-g}	0.80 ^{d-f}	2.13 ^{e-g}	2.60 ^{ef}
	Zn sulfate	46.33 ^{g-j}	24.66 ^{de}	13 ^{e-h}	2.33 ^{c-f}	1.16 ^{a-f}	2.02 ^{e-g}	3.84 ^{c-e}
	Fe sulfate	49 ^{f-i}	33.33 ^{ab}	17 ^{c-e}	2.16 ^{c-g}	0.90 ^{c-f}	2.97 ^{c-f}	2.93 ^{ef}
	Nano-Zn	51.33 ^{f-h}	29.66 ^{b-d}	17 ^{c-e}	2.50 ^{c-f}	1.16 ^{da-f}	5.22 ^{a-d}	4.78 ^{a-c}
	Nano-Fe	59 ^{c-e}	21.66 ^{ef}	15.33 ^{d-g}	2.33 ^{c-f}	2 ^{ab}	4.17 ^{a-e}	4.88 ^{bc}
120	Control	36 ^k	11 ^h	9 ^h	0.75 ^g	0.20 ^f	0.40 ^g	1.07 ^g
	Zn sulfate	43.33 ^{ij}	21.33 ^{ef}	11 ^{fg}	1.83 ^{d-g}	0.96 ^{b-f}	0.89 ^{f-g}	1.79 ^g
	Fe sulfate	45 ^{h-j}	30.33 ^{b-d}	11.33 ^{f-h}	1.83 ^{fd-g}	0.83 ^{c-f}	2.06 ^{e-g}	1.26 ^g
	Nano-Zn	46.66 ^{g-j}	17.33 ^{fg}	12.66 ^{e-h}	1.50 ^{e-g}	0.66 ^{d-f}	3 ^{c-f}	2.03 ^{fg}
	Nano-Fe	40.66 ^{jk}	15 ^{gh}	13 ^{e-h}	1 ^{f-g}	0.50 ^{e-f}	2.83 ^{d-g}	2.06 ^{fg}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

محلول‌پاشی کودهای سولفات روی ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، سولفات آهن ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، نانو اکسید روی ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نانو اکسید آهن ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر است.

* Means followed by similar letters in each column are not significantly different based on LSD test ($p \leq 0.01$).

Foliar application fertilizers of Zn-sulfate at 1500 mg.l⁻¹, Fe-sulfate at 1500 mg.l⁻¹, Zinc oxide nanoparticles at 300 mg.l⁻¹ and iron oxide nanoparticles at 300 mg.l⁻¹.

مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۵) در رابطه با اثرات متقابل

تنش شوری و نوع کود بر میزان کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و شاخص سبزیگی نعنای فلفلی، بیشترین میزان کلروفیل b، ۹/۲۴، ۹/۰۴ (میلی‌گرم/گرم وزن تر) و کلروفیل کل ۲۳/۳۱ (میلی‌گرم/گرم وزن تر)، شاخص سبزیگی ۶۹/۷۰، ۶۸/۷۵ و کارتنوئید ۱/۳۳، ۱/۳۱ (میلی‌گرم/گرم وزن تر) به ترتیب در تنش شوری ۴۰ میلی‌مولار و شرایط عدم تنش شوری تحت تیمار محلول‌پاشی نانو کود روی و آهن حاصل گردید. به طوری که اختلاف معنی‌داری بین دو سطح تنش ۴۰ میلی‌مولار و شاهد از نظر میزان محتوای کلروفیل مشاهده نشد. همچنین لازم به ذکر است که کمترین میزان محتوای کلروفیل، شاخص سبزیگی و

رنگیزه‌های فتوسنتزی

با توجه به اختلاف معنی‌دار ($p < 0.01$) اثر متقابل تنش شوری و نوع کود بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و شاخص سبزیگی) نعنای فلفلی، مقایسه میانگین اثر متقابل داده‌ها نشان داد که در بین سطوح مختلف اعمال تنش شوری و عدم آن و تیمارهای مختلف محلول‌پاشی، بالاترین میزان کلروفیل a (۱۴/۲۷ میلی‌گرم/گرم وزن تر) در شرایط بدون تنش و کاربرد نانو کود آهن مشاهده شد (جدول ۵). البته در بین سطوح مختلف تنش شوری نیز بیشترین میزان کلروفیل a (۱۱/۲۰ میلی‌گرم/گرم وزن تر) در تنش ۴۰ میلی‌مولار و محلول-پاشی نانو کود آهن دیده شد. همچنین برحسب نتایج

موجب کاهش تحرک عناصر روی و آهن در محلول خاک شده و با توجه به محدودیت رشد ریشه، گیاه به‌طور مضاعف با کمبود این عناصر مواجه می‌گردد که با محلول پاشی آن‌ها، کمبود این عناصر در گیاه جبران می‌شود (Cakmak, 2008). ترابیان و زاهدی (Torabiyani and Zahedi, 2013) گزارش کردند که محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل آفتابگردان تحت تیمار نانو کود آهن نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است. به نظر می‌رسد که محتمل‌ترین علت تأثیر نانو کودها نسبت به شکل معمول آن (سولفات) کوچک بودن قطر ذرات نانو، سرعت جذب، انتقال و تجمع ذرات نانو، بسیار بیشتر از ذرات معمول باشد. به این صورت که بالا بودن کارایی جذب در مقایسه با ذرات معمول، اثرگذاری بیشتر این ذرات را توجیه می‌کند. همچنین در آزمایشی در تنش شوری ۷۵ میلی‌مولار محلول پاشی کود کلات روی به‌ویژه به‌صورت نانو باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل در نخودفرنگی شد (Yadghari et al., 2014). از آنجاکه برای خنثی کردن اثر سمی گونه‌های فعال اکسیژن ایجادشده در شرایط تنش، به یک سیستم آنتی‌اکسیدان با کارایی بالا نیاز است. مشخص شده است که کاروتنوئیدها می‌توانند سیستم دریافت‌کننده نور دستگاه فتوسنتزی را از گزند مولکول‌های اکسیژن رادیکالی حفاظت نمایند (Ginzberg et al., 1998) همچنین کاروتنوئیدها می‌توانند مستقیماً اکسیژن یکتایی را خاموش و غیرفعال کنند و یا به‌وسیله اکسیژن یکتایی اکسید شوند؛ بنابراین به‌طور غیرمستقیم تولید گونه‌های اکسیژن را کاهش می‌دهند. از طرفی کاروتنوئیدها از طریق مکانیسمی که چرخه گزانتوفیل نامیده می‌شود، باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون می‌شوند (Koyro, 2006). در آزمایشی تحت تنش شوری، مقدار رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئیدهای گیاه هویج کاهش پیدا کرد (Eraslan et al., 2007). در رابطه با میزان کاروتنوئید در گیاه نعنای فلفلی، نتایج به‌دست‌آمده با یافته‌های گروپا و همکاران (Groppa et al., 2008) مطابقت دارد. آن‌ها نشان دادند که در مراحل اولیه تنش‌های محیطی میزان سنتز کاروتنوئیدها در برگ به علت نقش آن‌ها در حفاظت از ساختار کلروفیل‌ها در برابر اثرات تخریبی انواع اکسیژن فعال افزایش می‌یابد؛ اما با افزایش سطوح تنش، میزان کاروتنوئیدها کاهش پیدا می‌کند.

کارتنوئید در تنش شوری ۱۲۰ میلی‌مولار و عدم محلول‌پاشی با کودهای ریزمغذی حاصل گردید. همچنین جدول مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد (جدول ۵) که میزان کاروتنوئیدهای برگ نعنای فلفلی نیز تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت. به‌طوری‌که تنش شوری شدید موجب کاهش میزان کاروتنوئیدهای آن شد. بیشترین میزان کاروتنوئیدها در شرایط بدون تنش شوری و شوری ۴۰ میلی‌مولار همراه با محلول پاشی نانو کودهای روی و آهن حاصل شد. به‌طوری‌که بین این دو سطح تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی یک سری مولکول زیستی هستند که در فرآیند فتوسنتز نقش دارند و میزان آن‌ها در گیاهان زنده به‌عنوان یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است (Jiang and Huang, 2001). تنش شوری باعث تغییر در میزان این مولکول‌ها در سلول‌های گیاهی می‌شود. به این ترتیب که افزایش مقدار ترکیبات فعال اکسیژن طی تنش شوری باعث کاهش میزان کلروفیل‌ها می‌شود. موجودات هوای فتوسنتز کننده در طی حیات خود به‌طور دائم در معرض گونه‌های فعال اکسیژن قرار می‌گیرند و در شرایط نامناسب همچون تنش شوری، مسمومیت حاصل از اکسیژن جدی‌تر می‌شود، چراکه موجب کاهش تثبیت کربن و افزایش انتقال الکترون به اکسیژن و تشکیل رادیکال‌های سوپر اکسید می‌شود (Kubi, 2005). رادیکال‌های سوپر اکسید و محصول همراه آن‌ها یعنی پراکسید هیدروژن، می‌توانند باعث تجزیه رنگیزه‌های کلروفیل شوند و به دنبال تجزیه این مولکول‌ها ساختارهای تیلاکوئیدی در کلروپلاست ناپدید می‌گردد (Nasiri et al., 2010). در بعضی از گیاهان افزایش شوری تا یک حد متعادل باعث افزایش سنتز کلروفیل و سبزتر شدن برگ می‌گردد (Yadlariou and Majidi Heravan, 2008) که این تا حدودی با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. همچنین نتایج این تحقیق نیز گویایی افزایش رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی نعنای فلفلی تحت شرایط تنش شوری ملایم (۴۰ میلی‌مولار) است، به‌طوری‌که با محلول پاشی نانو کود آهن و روی، محتوای کلروفیل در تیمار تنش شوری ۴۰ میلی‌مولار حالت افزایشی نشان داد. از آنجاکه شوری به دلیل افزایش فشار اسمزی و با کاهش میزان رطوبت در دسترس گیاه

جدول ۵. مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری و محلول‌پاشی کود آهن و روی به دو شکل سولفات و نانو بر خصوصیات بیوشیمیایی نعنای فلفلی

Table 5. Mean comparison for the interaction effects of salinity stress and foliar application of iron and zinc in the sulfate and nano forms on biochemical characteristics of peppermint

تنش شوری (میلی‌مولار) Salinity stress (mM)	کود Fertilizer	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	شاخص سبزی‌نگی	کربوهیدرات محلول
		Chlorophyll l a (mg/g FW)	Chlorophyll l b (mg/g FW)	Total chlorophyll (mg/g FW)	Carotenoids (mg/g FW)	(SPAD)	Soluble carbohydrate (mg/g FW)
0	Control	3.69 ^{f-h}	4.84 ^{cd}	8.54 ^{d-g}	0.90 ^{bc}	39.37 ^{c-e}	0.36 ⁱ
	Zn sulfate	7.16 ^{c-f}	3.68 ^{d-f}	10.85 ^{c-f}	0.69 ^{b-g}	44.90 ^{bc}	0.52 ^{hi}
	Fe sulfate	9.99 ^{bc}	3.11 ^{d-g}	13.10 ^{b-d}	0.60 ^{d-i}	41.33 ^{cd}	0.60 ^{gh}
	nano-Zn	10.16 ^{bc}	3.05 ^{d-g}	13.21 ^{b-d}	0.81 ^{b-e}	54.93 ^b	0.74 ^{fg}
	nano-Fe	14.27 ^a	9	23.31 ^a	1.33 ^a	68.75 ^a	0.86 ^{d-f}
40	Control	5.31 ^{d-g}	2.43 ^{c-g}	7.74 ^{e-g}	0.71 ^{b-f}	43.76 ^{bc}	1.06 ^{bc}
	Zn sulfate	7.84 ^{b-e}	6.13 ^{bc}	13.98 ^{bc}	1.41 ^a	43.87 ^{bc}	0.94 ^{b-d}
	Fe sulfate	5.29 ^{d-g}	7.05 ^b	12.35 ^{c-e}	0.94 ^b	44.50 ^{bc}	0.75 ^{fg}
	nano-Zn	8.09 ^{b-d}	9.24 ^a	17.23 ^b	1.31 ^a	44.74 ^{bc}	0.88 ^{c-e}
	nano-Fe	11.20 ^{ab}	4.18 ^{de}	15.38 ^{bc}	0.88 ^{bc}	69.70 ^a	1.28 ^a
80	Control	5.22 ^{d-h}	2.41 ^{e-g}	7.63 ^{e-g}	0.53 ^{e-i}	33.73 ^{c-f}	1 ^{b-d}
	Zn sulfate	5 ^{d-h}	2.10 ^{fg}	7.10 ^{f-h}	0.67 ^{b-g}	36.50 ^{c-e}	0.72 ^{e-g}
	Fe sulfate	2.95 ^{g-h}	3.55 ^{d-f}	6.50 ^{f-h}	0.71 ^{c-f}	42.86 ^c	0.73 ^{e-g}
	nano-Zn	5.39 ^{d-g}	2.08 ^{fg}	7.48 ^{f-h}	0.56 ^{e-i}	35.43 ^{c-e}	0.89 ^{c-e}
	nano-Fe	4.15 ^{e-h}	2.09 ^{fg}	6.24 ^{f-h}	0.62 ^{c-h}	34.20 ^{c-e}	1.12 ^{ab}
120	Control	1.49 ^h	1.29 ^g	2.78 ^h	0.30 ⁱ	16.66 ^h	0.59 ^{gh}
	Zn sulfate	3.69 ^{f-h}	3.25 ^{def}	6.94 ^{f-h}	0.50 ^{f-i}	30.90 ^{d-g}	0.40 ⁱ
	Fe sulfate	4.63 ^{d-h}	1.96 ^{fg}	6.60 ^{f-h}	0.35 ^{hi}	22.83 ^{f-h}	0.61 ^{gh}
	nano-Zn	4.45 ^{d-h}	2.13 ^{fg}	6.58 ^{f-h}	0.46 ^{f-i}	29.76 ^{e-g}	0.53 ^{hi}
	nano-Fe	3.81 ^{f-h}	1.89 ^{fg}	5.70 ^{gh}	0.41 ^{g-i}	21.43 ^{gh}	0.68 ^{f-h}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

محلول‌پاشی کودهای سولفات روی ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، سولفات آهن ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، نانو اکسید روی ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نانو اکسید آهن ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر است.

* Means followed by similar letters in each column are not significantly different on LSD test ($p \leq 0.01$).

Foliar application fertilizers of Zn-sulfate at 1500 mg.l⁻¹, Fe-sulfate at 1500 mg.l⁻¹, Zinc oxide nanoparticles at 300 mg.l⁻¹ and iron oxide nanoparticles at 300 mg.l⁻¹.

در برگ نعنای فلفلی نسبت به تیمار شاهد شد (Gurmani et al., 2012).

به‌طورمعمول غلظت قندهای محلول تحت تنش یا افزایش می‌یابد یا بدون تغییر باقی می‌ماند (Pinheiro et al., 2001). علت افزایش قند محلول در شرایط تنش شوری، تخریب پروتئین‌ها نیز اعلام شده است. سلول‌های گیاهان عالی برای گریز از پلاسمولیز و برقراری تورژسانس در شرایط تنش شوری، مجبور به تبدیل و تجزیه قندهای پیچیده به ساده می‌باشند. بدین ترتیب، فشار اسمزی سلول افزایش می‌یابد. در برگ‌های مریم‌گلی لبه‌دار تنش محیطی منجر به افزایش تجمع قندهای محلول در محل سیتوزول و

کربوهیدرات‌های محلول

مقایسه میانگین اثرات متقابل داده‌ها نشان داد (جدول ۵) که مقادیر کربوهیدرات محلول در سطوح شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار همراه با محلول‌پاشی نانو کود آهن بیشترین میزان را نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش و محلول‌پاشی کود) نشان داد. همچنین کمترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در شرایط بدون تنش شوری (شاهد) مشاهده شده که نسبت به اعمال سطوح تنش ۱۲۰ میلی‌مولار و عدم محلول‌پاشی کودها اختلاف معناداری دیده نشد. به‌طوری‌که کاربرد کود آهن به شکل نانو در تنش شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار کربوهیدرات‌های محلول

نتیجه‌گیری کلی

در آزمایش حاضر مشاهده شد که کاربرد محلول پاشی روی و آهن به‌ویژه به‌صورت نانو در شرایط تنش شوری بر صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در نعنای فلفلی بسیار تأثیرگذار است. نتایج حاکی از آن است که کاربرد کود آهن و روی به‌صورت نانو در شرایط بدون تنش (شاهد) و همچنین در شرایط تنش شوری ملایم (۴۰ میلی‌مولار) در بهبود شاخص‌های رشدی و محتوای کلروفیل و کربوهیدرات‌های محلول گیاه نعنای فلفلی تأثیر مثبت داشته است. این نتایج نشان می‌دهد که محلول پاشی آهن و روی به شکل نانو ذرات در مقایسه با شکل سولفات آن‌ها تأثیر بیشتری بر عملکرد و تجمع ماده خشک نعنای فلفلی دارد و می‌توان اظهار داشت که مصرف نانو کود آهن و روی در شرایط شوری ملایم می‌تواند، باعث افزایش عملکرد نعنای فلفلی شود. با توجه به نقش و اهمیت آهن و روی در رشد گیاهان و گسترش روزافزون نانو کودها، نانو کود آهن و روی می‌تواند نقش بسزایی در تأمین این عناصر در گیاهان داشته باشد. البته ضرورت دارد که در آینده آزمایش‌هایی در خصوص سالم بودن استفاده از این ترکیبات و خطرات احتمالی آن‌ها برای سلامت انسان انجام شود.

کاهش پتانسیل آب برگ شده که می‌تواند در حفظ تورژسانس و تنظیم اسمزی نقش اصلی ایفا نماید (Cornic and Massacci, 1996). در این تحقیق محتوای کربوهیدرات‌های محلول برگ نعنای فلفلی در شرایط بدون تنش شوری (شاهد) و شوری ۱۲۰ میلی‌مولار نسبت به تنش شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار کاهش معنی‌داری یافت. به‌طوری‌که کاربرد کود آهن به‌ویژه به شکل نانو در تنش شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار کربوهیدرات‌های محلول نسبت به تیمار شاهد شد و وضعیت تنش را بهبود بخشید. بر طبق نتایج حاصل از پژوهش حاضر، کربوهیدرات‌های محلول در گیاه نعنای فلفلی در سطوح تنش شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. این یافته‌ها با نتایج لاهوتی (Lahooti, 1989) در گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia*) و جینبرگ و همکاران (Ginzberg et al., 1998) در گیاه یونجه مطابقت دارد. در آزمایشی کاربرد نانو کود روی باعث تجمع قندها در گوجه‌فرنگی و سیر شد که علت این امر را نقش مهم عنصر روی در کوفاکتورهای آنزیمی که در متابولیسم قندها شرکت دارند بیان شده است.

منابع

- Abd El-Aziz, N.G., Laila, B.K., 2007. Influence of tyrosine and zinc on growth, flowering and chemical constituents of *Salvia farinacea* plants. Journal of Applied Sciences Research. 3, 1479-1489.
- Archangi, A., Khoddambashi, M., Mohammad Khani, A., 2012. Effect of salinity on morphological characteristics and the amount of sodium potassium and calcium in fenugreek under hydroponic conditions. Science and Technology of Greenhouse Cultures. 10, 33-49 [In Persian with English Summary].
- Abdmishani, S., Bushehri, A., 1992. Supplementary Plant Breeding Course. Department of Agronomy and Plant Breeding Publication, Tehran University. 322 p. [In Persian].
- Alpaslan, M., Inal, A., Gunes, A., Cikili, Y., Oscan, H., 1999. Effect of zinc treatment on the alleviation of sodium and chloride injury in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) grown under salinity. Turkish Journal of Botany. 23, 1-6.
- Cakmak, I., 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification. Plant and Soil. 302, 1-17.
- Cornic, G., Massacci, A., 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. In: Photosynthesis and the Environment: Springer. 347-366.
- Cramer, G.R., Lynch, J., Läuchli, A., Epstein, E., 1987. Influx of Na⁺, K⁺, and Ca²⁺ into roots of salt-stressed cotton seedlings effects of supplemental Ca²⁺. Plant Physiology. 833, 510-516.
- Das, R., Kiley, P., Segal, M., Norville, J., Yu, A.A., Wang, L., Trammell, S.A., Reddick, L.E., Kumar, R., Stellacci, F., Lebedev, N., Schnur, J., Bruce, B.D., Zhang, S., Baldo,

- M., 2004. Integration of photosynthetic protein molecular complexes in solid-state electronic devices. *Nano Letters*. 4, 1053 - 1033.
- El-Fouly, M.M., Mobarak, Z.M., Salama, Z.A., 2011. Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum aestivum* L. *African Journal of Plant Science*. 5, 314-322.
- El-Tohamy, W., El-Greadly, N., 2007. Physiological responses, growth, yield and quality of snap beans in response to foliar application of yeast, vitamin E and zinc under sandy soil conditions. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 1, 294-299.
- Eraslan, F., Inal, A. Gunes, A., Alpaslan, M., 2007. Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*. 113(2), 120-128.
- Epstein, E., Rains, D.W., 1987. Advances in salt tolerance. *Plant and Soil*. 99, 17-29.
- Fathi, A., Zahedi, M., 2014. Effect of foliar application of iron oxide nanoparticles on the growth and ionic content in two maize genotypes differing in soil salinity. *Scientia Horticulturae*. 121, 110-117.
- Gardner, F., Piers, R., Michelle, L., 2011. *Physiology of crop plants*. Translation: Koocheki A, and Sarmadnia Gh: Mashhad SID Press. 327p.
- Ginzberg, I., Stein, H., Kapulnik, Y., Szabados, L., Strizhov, N., Schell, J., Koncz, C., Zilberstein, A., 1998. Isolation and characterization of two different cDNAs of $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthase in alfalfa, transcriptionally induced upon salt stress. *Plant Molecular Biology*. 38, 755-764.
- Glyn, M., 2002. Mineral nutrition, production and artemisin content in *Artemisia annua*. *Acta Horticulture*. 426, 721-728.
- Groppa, M., Rosales, E., Iannone, M., Benavides, M., 2008. Nitric oxide, polyamines and Cd-induced phytotoxicity in wheat roots. *Phytochemistry*. 69, 2609-2615.
- Gurmani, A.R., Khan, S.U., Andaleep, R., Waseem, K., Khan, A., 2012. Soil application of zinc improves growth and yield of tomato. *International Journal of Agriculture and Biology*. 14, 91-96.
- Gholami, R., Kashefi, B., Saeidi Sar, S., 2013. Effect salicylic acid on alleviation of salt stress on growth traits of *Salvia limbata* L. *Journal of Plant Eco-Physiology*. 15(5), 63-73 [In Persian with English Summary].
- Ghahramani, A., 1993. *Plant Systematics Cormophytes of Iran*. Academic Publishing Center. 364pp. [In Persian].
- Hemant Ranjan, A., 1996. Physiology and biochemical significance of zinc in plants. *Advant of Micro Research*. 151-178.
- Hendawy, S.F.K., Khalid, A., 2005. Response of sage *Salvia officinalis* L. plants to zinc application under different salinity levels. *Journal of Applied Sciences Rrsearch*. 1, 147-155.
- Jiang, Y., Huang, B., 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science Society of America*. 41, 436-442.
- Lahooti, M., 1989. *Biochemistry and Physiology of Plant Hormones*. University of Mashhad press. 360p. [In Persian].
- Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H., 2001. The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*. 27, 47-59.
- Keles, Y., Öncel, I., 2004. Growth and solute composition in two wheat species experiencing combined influence of stress conditions. *Russian Journal of Plant Physiology*. 51, 203-209.
- Koyro, H.W., 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany*. 56, 136-146.
- Kubi, J., 2005. The effect of exogenous spermidine on superoxide dismutase activity, H₂O₂ and superoxide radical level in barley leaves under water deficit conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*. 27, 289-295.
- Kaffi, M., Lahootizand, M., Sharefi, H.R., Goldani, M., 1998. *Plant Physiology*. Vol, 1. Iranian Academic Center for Education, Culture and Research Publication, Mashhad. 664 p. [In Persian].

- Misra, A., Srivastava, A., Srivastava, N., Khan, A., 2005. Zn-acquisition and its role in growth, photosynthesis, photosynthetic pigments, and biochemical changes in essential monoterpene oil (s) of *Pelargonium graveolens*. *Photosynthetica*. 43, 153-155.
- Mortezainajad, F., Khavarinajad, R.A., Emami, M., 2005. Evaluation of some performance parameters and proline rice varieties under salt stress. *New Agricultural Science*. 2(4), 65-70 [In Persian with English Summary].
- Malakuti, M.J., Homaei, M., 2004. Fertility of soils in arid and semi-arid regions, problems and solutions. University of Tarbiat Modares press 518p. [In Persian].
- Naderi, M., Danesh-Shahraki, A., 2013. Nanofertilizers and their roles in sustainable agriculture. *International Journal of Agriculture and Biology*. 5, 22-29.
- Nair, R., Varghese, S.H., Nair, B.G., Maekawa, T., Yoshida, Y., Kumar, D.S., 2010. Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science*. 179, 154-163.
- Nasiri, Y., Zehtab-Salmasi, S., Nasrullahzadeh, S., Najafi, N., Ghassemi-Golezani, K., 2010. Effects of foliar application of micronutrients (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*. 4, 1733-1737.
- Najafi, H., Mirmasumi, M., 1998. Evaluation the physiological reactions of soybean under salt stress. *Journal of Agricultural Sciences and Technology*. 1, 34-39.
- Natran, M., Khalaj, H., Labbafi Hossinabadi, M., Shams Abadi, M., Razlazi, A., 2004. The effect of foliar application of nano-iron chelate on the quantity and quality of wheat. 15-16 Mhr, conference hall and Seed Improvement Institute, Abstract Second National Conference on Application of Nanotechnology in Agriculture [In Persian].
- Omidbeigi, R., 2000. Approaches of Production and Process of Medicinal Plants. Volume 2. Tarahan Sabz Publishing, Tehran. 440p. [In Persian].
- Pinheiro, C., Chaves, M.M., Ricardo, C.P., 2001. Alterations in carbon and nitrogen metabolism induced by water deficit in the stems and leaves of *Lupinus albus* L. *Journal Experimental Bototany*. 52, 1063-1070.
- Peyvandi, M., Mirza, M., 2011. Comparison of the effect of iron nanoclay on growth parameters and activity of basaltic antioxidant enzymes (*Ocimum basilicum*). *Journal of Cellular Biotechnology – Molecular*. 1, 98-89.
- Pidvandi, M., Mirza, M., Kamali Jamakani, Z., 2011. The effect of nano Fe chelate and Fe chelate on the growth and some antioxidant enzymes activity of summary survey (*Satureja hortensis*). *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. 2, 25-32. [In Persian with English Summary]
- Qi, D., Zhang, H., Tang, J., Deng, C., Zhang, X., 2010. Facile synthesis of mercaptophenylboronic acid-functionalized core-shell structure Fe₃O₄@C@Au magnetic microspheres for selective enrichment of glycopeptides and glycoproteins. *Journal of Physologe Chemistry*. 114, 9221-9226.
- Rezaei, M., Hosseini S., Shaban Ali Fami, H., 2009. VassafaIdentifying and analyzing the barriers of nanotechnology development and technology in Iran's agricultural sector from the perspective of researchers. *Journal of Research Science and Technology Policy*. 2 (1), 17-26. [In Persian]
- Radzimska, A.K., Jesionowski, T., 2014. Zinc oxide—from synthesis to application: A review. *Journal of Materials*. 7, 2833-2881.
- Singh, R., Shushni, M. A., Belkheir, A., 2015. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*. 8, 322-328.
- Said-Al Ahl, H.A.H., Mahmoud, A.A., 2010. Effect of zinc and/or iron foliar application on growth and essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress. *Ozean Journal of Applied Sciences*. 3(1), 97-111.
- Şükran, D., GÜNEŞ, T., Sivaci, R., 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*. 22, 13-18.
- Sarani, S., Mostafa, M., Galoi, M., Syahsar, B.A., 2012. The effects of salinity and iron on the growth, photosynthetic pigments and electrophoretic bands of German chamomile (*Marticaria chamomilla* L.) and Roman chamomile (*Anthemis nobilis* L.). *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*.

- 29(4), 732-746 [In Persian with English Summary].
- Schaller, R.D., Klimov, V.I., 2004. High efficiency carrier multiplication in PbSe nanocrystals: implications for solar energy conversion. *Physical Review Letters*. 92(18): 186601-186604.
- Sevengor, S., Yasar, F., Kusvuran, S., Ellialtioglu, S., 2011. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidative enzymes of pumpkin seedling. *African Journal of Agricultural Research*. 6, 4920- 4924.
- Torabiyani, S.H., Zahedi, M., 2013. The effect of foliar feeding iron and zinc sulfate to the usual two forms of nanoparticles on the growth of sunflower cultivars under salt stress. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 44(1), 109-118 [In Persian with English Summary].
- Yadlari, L., Majidi Heravan, E., 2008. Evaluation of salinity stress on morphophysiological traits of four salinity tolerant wheat cultivars. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 1, 205-215 [In Persian with English Summary].
- Yadghari, R., Nyakan, M., Mosavat, A., 2014. The effect of nano and non-nano forms chelate zinc on growth, chlorophyll content and soluble sugar pea plants (*Cicer arietinum* L.) in different levels of salinity. *Iranian Journal of Plant Ecophysiology Research*. 9,137-150 [In Persian with English Summary].