



علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هشتم / شماره سوم / ۱۴۰۰ (۲۷۴ - ۲۵۹)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2021.5229



مقایسه شاخص‌های جوانه‌زنی، صفات مورفو-فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بذور و گیاهچه‌های گوار و نخود تحت کاربرد سطوح مختلف نانوذرات روی و آهن

سید حمیدرضا رمضانی^۱، مهدی الهرسانی^۲

تاریخ پذیرش: ۹۹/۴/۱۶

تاریخ دریافت: ۹۹/۲/۲۴

چکیده

بهمنظور بررسی اثر نانوذرات و غلظت‌های مختلف آن‌ها بر مراحل جوانه‌زنی، رشد و نمو گیاهان زراعی، آزمایش‌هایی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بر بذور گوار و نخود در کشت پتری دیش و گلدانی صورت گرفت. در کشت پتری-دیش، اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات روی و آهن (شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و در کشت گلدانی اثرات غلظت‌های مذکور نانوذرات روی و آهن بر صفات رشدی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهچه‌های گوار و نخود بررسی شدند. نتایج آزمایش پتری دیش نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی، مقاومت ریشه‌چه و کمترین زمان رسیده به ۵۰ درصد جوانه‌زنی تحت برهمکنش نخود \times نانوذره آهن \times ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حاصل شد. همچنین، بیشترین سرعت جوانه‌زنی برای بذور گوار و نخود تحت غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره آهن حاصل شد. نتایج آزمایش گلخانه‌ای نیز نشان داد که بیشترین طول ساقه، وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه برای گیاه گوار تحت غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره روی به دست آمد. همچنین، محتوای کلروفیل a ، کلروفیل b و پروتئین برگ تحت کاربرد ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره روی افزایش یافت. از طرفی، میزان کلروفیل $a+b$ کاروتینوئیدها تحت غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره آهن بیشتر شد. به‌طور کلی، نتیجه‌گیری می‌شود که نانوذرات روی و آهن در محدوده غلظت‌های ۱۰۰-۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر دارای اثراً مثبتی بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشدی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بذور و گیاهچه‌های گوار و نخود می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: پروتئین برگ، جوانه‌زنی بذر، رنگیزه‌های گیاهی، گوار، نانوتکنولوژی، نخود

۱- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی سرایان، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
hrramazani@birjand.ac.ir

۲- کارشناس ارشد اگرواکولوژی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
alahresani.mahdi@gmail.com

*نویسنده مسئول: hrramazani@birjand.ac.ir

مقدمه

طوری که نگرانی‌های زیادی را در خصوص انباسته‌شدن و آزادسازی آن‌ها در سطح کره زمین و اثرات این ذرات بر محیط زیست، سلامت انسان و موجودات زنده به وجود آورده است (Daughton and Ternes, 1999; Tadayon and Norouzi, 2015). پژوهش‌های مثبت و منفی متعددی در خصوص اثر نانوذرات بر گیاهان انجام شده است. گزارشی از اثر منفی این ذرات بر رشد گیاهچه‌های دان‌سیاه توسط اسکندری‌نسب و همکاران (Eskandarinasab *et al.*, 2019) گزارش شد، پژوهشگران فوق نشان دادند که میزان درصد، سرعت و متوسط جوانه‌زنی روزانه گیاهچه‌ها با افزایش غلظت نانوذرات دی‌اسکسید تیتانیوم، دی‌اسکسید سیلیسیوم و نانوتیوب کربن کاهش یافت. همچنین، لین و زینگ (Lin and Xing, 2007) به بررسی تأثیر ۵ نوع از ذرات نانو (نانوتیوب‌های کربنی چند جداره، آلومینیوم، اسکسید آلومینیوم، روی و اسکسید روی) بر جوانه‌زنی و رشد ریشه شش گونه گیاهی تربچه، کلزا، تلخه، کاهو، ذرت و چاودار پرداختند. نتایج این گروه تحقیقاتی نشان داد که مهار متفاوت بود. به علاوه، پژوهشگران دیگری نیز نشان دادند که تأثیر غلظت‌های مختلف نانوتیوب‌های کربنی تک‌جداره بر رشد ریشه شش گونه گیاهی، وابسته به گونه و کاملاً اختصاصی بود به طوری که در گوجه‌فرنگی طول ریشه کاهش یافت و در هویج و کلم پیچ تأثیر معنی‌داری مشاهده نشد (Canas *et al.*, 2008). از سوی دیگر، چندین گزارش از اثرات مثبت این ذرات بر رشد گیاه اسفناج نیز وجود دارد (Hong *et al.*, 2005; Gao *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2006). همچنین، پژوهشگران فوق اظهار داشتند که نانوذرات می‌توانند فعالیت چندین آنزیم را افزایش داده و باعث تسريع جذب نیترات می‌شوند. مهدی‌نژاد و همکاران (Mahdi Nezhad *et al.*, 2019) نشان دادند که نانوذرات آهن و روی دارای اثرات مثبتی بر گیاه بابونه کبیر بودند و سبب افزایش محتوای کلروفیل‌ها، کاروتونئیدها، کربوهیدرات‌ها، و فلاونوئیدها شدند. در این رابطه، برخی پژوهشگران اظهار دارند که نانوذراتی از قبیل آهن، به علت کوچک‌بودن و حلالیت بالا، با سرعت بالایی توسط گیاهان جذب می‌شوند و با کاربرد این مواد می‌توان شرایط بهینه‌ای برای رشد گیاهان ایجاد و از ایجاد هرگونه شرایط تنشی در گیاه جلوگیری کرد

خانواده بقولات نقش‌های مهمی در حفظ حاصلخیزی خاک و افزایش مواد غذایی آن دارند و بدليل همزیستی با باکتری رزوبیوم جزء مهمی از تمایی سیستم‌های کشاورزی در جهان می‌باشد (Graham and Vance, 2000; O'Hara *et al.*, 2000). گیاه گوار (*Cyamopsis tetragonoloba*), گیاهی چند منظوره از خانواده لگوم، یک‌ساله، بهاره-تابستانه و رشد نامحدود است که دارای مقاومت به خشکی، شوری، دمای‌های بالا و خرابی بافت و ساختمان خاک می‌باشد و به عنوان سبزی جهت مصرف انسان، کود سبز، بهبود باروری خاک، علوفه برای حیوانات و کاربردهای صنعتی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sij *et al.*, 2002; Sharma *et al.*, 2011; Das *et al.*, 2018; Suthar *et al.*, 2018). از دیگر گیاهان این خانواده، گیاه نخود (*Cicer arietinum*) می‌باشد که توانایی تثبیت نیتروژن، ریشه‌دهی عمیق و استفاده موثر از نزولات جوی را دارد که به همین خاطر نقش مهمی در ثبات تولید نظام‌های زراعی در کشاورزی پایدار ایفا می‌کند و در برخی نقاط دنیا نیز جایگزینی حبوبات به جای آیش در سیستم‌های زراعی گندم-آیش موفقیت‌های مطلوبی داشته است (Gangeali *et al.*, 2008; Amiri *et al.*, 2015). همچنین، گزارش شده است که هر دو گیاه فوق از عملکرد مطلوبی برخوردار نمی‌باشند و با ایستی راهکارهایی جهت افزایش عملکرد در آن‌ها صورت گیرد (Amiri *et al.*, 2015; Loggale, 2018). پژوهش‌ها گزارش شده است که جوانه‌زنی بذر و استقرار اولیه گیاهچه از مهم‌ترین مراحل رشد، نمو و عملکرد گیاهان محسوب می‌شوند (Mazaheri Tirani *et al.*, 2019; Mansouri Gandomani *et al.*, 2019). از طرفی، علی‌رغم این‌که استفاده از نانوذرات و نانوتکنولوژی در جهان به سرعت در حال پیشرفت می‌باشد، پژوهش‌های محدودی اثر این مواد را بر زیست‌شناسی گیاهان مورد بررسی قرار داده است (Aslani *et al.*, 2014; Sayedena *et al.*, 2019). در برخی پژوهش‌ها اظهار شده است که ویژگی‌های منحصر به فرد نانوذرات، از قبیل بالابودن نسبت سطح به حجم واکنش‌پذیری بسیار بالا، و همچنین استفاده وسیع از این ذرات در تولید محصولات متعدد، ضمن تخریب و فرسودگی وسایل و محصولات، سبب ورود این ذرات به آب، هوا و خاک شده است، به-

میانگین زمان جوانه‌زنی و T_{50} (زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Davis *et al.*, 1993).

$$GP = \frac{n}{N} \times 100 \quad (رابطه ۱)$$

GP = درصد جوانه‌زنی، n = تعداد بذرهاي جوانه‌زده و

N = تعداد کل بذرها

$$MGT = \frac{(N_1 T_1) + (N_2 T_2) + \dots + (N_t T_t)}{n} \quad (رابطه ۲)$$

MGT = میانگین زمان جوانه‌زنی، N_1, N_2, \dots = تعداد

بذرهاي جوانه‌زده در روز اول، دوم، T_1, T_2, \dots = مجموع

شمارش کلي تا روز شمارش و n = تعداد کل بذرهاي

جوانه‌زده

$$GR = \frac{n}{t} \quad (رابطه ۳)$$

GR = سرعت جوانه‌زنی، n = تعداد بذرهاي جوانه‌زده تا

زمان t و t = تعداد روز تا شمارش مورد نظر

$$G_{50} = \frac{(t_2 - t_1) \times 50 + (p_2 t_1 - p_1 t_2)}{p_2 - p_1} \quad (رابطه ۴)$$

G_{50} = ۵۰ درصد زمان جوانه‌زنی، t_1, t_2 = بهترتبیب زمانی

که درصد جوانه‌زنی کمتر و بیشتر از ۵۰ درصد بودند، p_1

و p_2 = درصد جوانه‌زنی رخداده در زمان‌های t_1 و t_2

شاخص مقاومت ریشه نیز در پایان روز دهم با استفاده

از رابطه زیر اندازه‌گیری شد (Barrena *et al.*, 2009)

$$RRP = \frac{L_s}{L_c} \times 100 \quad (رابطه ۵)$$

RRP ، درصد شاخص مقاومت ریشه، L_s = طول ریشه

در تیمار و L_c = طول ریشه در شاهد

آزمایش گلدانی

در این آزمایش، بذرهاي گوار و نخود پس از ضدغوفونی

و شستشوی کامل با آب مقطر بهمدت ۴۸ ساعت در

محلول‌های نانو آهن و نانو روی و تیمار شاهد در آب مقطر

خیسانده شدند. سپس، ۲۵ عدد بذر از هر گیاه به گلدان-

های پلاستیکی (به ارتفاع ۲۷، قطر دهانه ۲۴ سانتی‌متر و

ظرفیت ۸ کیلوگرم خاک) حاوی پرلیت منتقل گردیدند و

بهمدت یک ماه با محلول غذایی هوگلندر تغذیه شدند (هر

۲-۳ روز یکبار). سپس گیاهچه‌ها جهت اندازه‌گیری‌های

بعدی برداشت شدند. قابل ذکر است که محلول غذایی

هوگلندر استفاده در پژوهش حاضر، دارای نمک‌های

ماکرو و میکرو مطابق با جدول یک بود. به همین منظور،

ابتدا محلول یک مولار (استوک) از نمک‌های ماکرو و

میکرو مطابق با جدول یک تهیه شدند. سپس به مقدار

لازم، از هر یک از استوک‌های مذکور با آب مقطر به حجم

(Mohamadipoor *et al.*, 2013). بر همین اساس، علیرغم این‌که در سال‌های اخیر استفاده از مواد نانو در تولید گیاهان زراعی رو به گسترش می‌باشد، لیکن اطلاعاتی مبنی بر اثرات غلظت‌های مختلف نانوذرات روی و آهن بر بذور و گیاهچه‌های گوار و نخود در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای گزارش نشده است. بر همین اساس، هدف از این پژوهش بررسی اثرات نانوذرات و غلظت‌های مختلف نانوذرات روی و آهن بر بخش شاخص‌های جوانه‌زنی، صفات رشدی، مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بذور و گیاهچه‌های گوار و نخود در شرایط آزمایشگاهی (پتری‌دیش) و گلخانه‌ای (گلدانی) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، ارقام RGC1031 گوار و بینالود نخود که قابل کشت در بیرجند می‌باشند، در معرض کاربرد چهار غلظت صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (Tadayon *et al.*, 2013) از نانوذرات روی و آهن (تهیه شده از شرکت بهگران صنعت شیمی) در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه گیاه‌شناسی و گلخانه‌ای تحقیقاتی دانشکده کشاورزی سرایان از دانشگاه بیرجند قرار گرفتند. بر همین اساس، ابتدا بذرها به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد (آب ژاول) قرار گرفته و ضدغوفونی شدند، سپس بذور مذکور با آب مقطر چند بار شسته شدند تا در Tadayon *et al.*, (۲۰۱۳) نانوذرات بر اساس غلظت‌های آزمایشی بهطور مستقیم به آب مقطر اضافه گردیدند و توسط ارتعاش اولتراسونیک (۱۰۰ وات، ۴۰ هرتز) ساخت شرکت Heilscher آلمان بهمدت ۳۰ دقیقه پراکنده شدند به‌طوری‌که سوسپانسیون‌هایی از نانوذرات مورد بررسی در پژوهش حاضر تهیه شدند.

آزمایش شاخص‌های جوانه‌زنی بذر

۱۵ عدد بذر از هر گیاه به پتری‌دیش‌های ۱۰۰ × میلی‌متری حاوی کاغذ صافی منتقل شدند (Yazdani *et al.*, 2011) و ۱۵ میلی‌لیتر از سطوح مختلف محلول‌های نانوذرات مذکور به هر پتری‌دیش‌ها اضافه گردید. پتری‌دیش‌ها در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند و بهمدت ۱۰ روز و بهطور روزانه، تعداد بذرهاي جوانه‌زده شمارش و شاخص‌های جوانه‌زنی (نظیر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی،

یک لیتر رسانده شدند. سپس، pH محلول غذایی حاصل بهوسیله سود در محدوده ۶-۸ تنظیم شد.

جدول ۱- نوع و مقدار نمک‌های ماکرو و میکرو در محلول هوگلند

Table 1. Type and amount of macro and micro solutes in Hoagland solution

نمک‌های ماکرو	استوک (گرم/لیتر) Standard solution (g.l ⁻¹)	حجم در هر لیتر محلول استوک (میلیلیتر) Volume per liter of standard solution (ml)
Potassium nitrate (1M) نیترات پتاسیم (یک مولار)	101.1	6
Calcium nitrate (1M) نیترات کلسیم (یک مولار)	236.16	4
Ammonium dihydrogen phosphate (1M) مونوآمونیومفسفات (یک مولار)	115.08	1
Magnesium sulfate (1M) سولفات منیزیم (یک مولار)	246.46	2
Iron chelate کلات آهن	1	1-5
نمک‌های میکرو		
Boric acid بوریک اسید	2.86	1
Manganese Chloride کلرید منگنز	1.81	1
Zinc sulfate روی سولفات	0.22	1
Copper sulfate مس سولفات مس	0.08	1
Molybdcic acid ۸۵% درصد مولیدیک اسید	0.02	1

طبق معادلات زیر بر حسب میلیگرم در هر گرم وزن ترافت گیاهی محاسبه شد.

$$Chlorophyl a = \frac{[(12.7 \times D663) - (2.69 \times D645)] \times V}{1000 \times W} \quad (رابطه ۶)$$

$$Chlorophyl b = \frac{[(22.9 \times D645) - (4.93 \times D663)] \times V}{1000 \times W} \quad (رابطه ۷)$$

$$Total chl. = \frac{[(20.2 \times D645) - (8.02 \times D663)] \times V}{1000 \times W} \quad (رابطه ۸)$$

$$CAR = \frac{(1000 \times D470) - (1.82 \times Chl.a) - (85.02 \times Chl.b)}{198} \quad (رابطه ۹)$$

=V= حجم عصاره به دست آمده، W= وزن تر برگ، D=

طول موج قرائت شده و CAR= کاروتینوئیدها

میزان پروتئین نیز مطابق روش برادفورد (Bradford, 1976

ستجش شد. بر همین اساس، به ۱۰۰ میلیلیتر

بافر تریس ۰/۵ مولار، ۲ گرم SDS افزوده و حل گردید.

۲۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج به نمونه‌های تازه برگ-

های نخود اضافه شد و به طور کامل محلول گردید. سپس

محلول‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفیوز

شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره فوق به ۵ میلیلیتر

محلول برادفورد اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه در شرایط

آزمایشگاه، جذب عصاره فوق در طول موج ۵۹۵ نانومتر

اندازه گیری و مقدار پروتئین بر حسب میلیگرم بر گرم

بافت تر برگ محاسبه گردید. با حل نمودن یک میلیگرم

پودر BSA درون ۵ میلیلیتر آب مقطر دو بار تقطیر،

محلول استاندارد پروتئین تهییه شد. ۵ میلیلیتر محلول

برادفورد و حجم‌های تعیین شده‌ای از ۲۰ تا ۲۰۰

میکرولیتر از محلول BSA استاندارد به ترتیب درون لوله

پس از سپری شدن دوره تیمار، اندام هوایی و ریشه گیاهچه‌ها از یکدیگر جدا شدند و طول بوته‌ها و وزن خشک این اندام‌ها به طور جداگانه اندازه گیری شد. عمل خشک کردن نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سلسیوس آون به مدت ۷۲ ساعت انجام گرفت و وزن خشک اندام‌ها با استفاده از ترازو با دقت یک هزارم گرم اندازه گیری شد. اندازه گیری کلروفیل با روش آرونون (Arnon, 1949) و کاروتینوئیدها با روش لیچتنتالر (Lichtenthaler, 1987) انجام گرفت. بر همین اساس، ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه پهنهک برگ‌های جوان از قسمت میانی برگ دوم گیاه وزن شده و سپس به کمک استون ۸۰ درصد در هاون چینی روی یخ و به دور از نور مستقیم سائیده شد. عصاره حاصل توسط کاغذ صافی و قیف درون بالن ژوژه صاف گردید. تفاله به دست آمده مجدداً با استون ۸۰ درصد سائیده و صاف شد. این عمل تا زمانی که تفاله برگی سفید رنگ شود، تکرار گردید. سپس حجم عصاره به دست آمده با استون ۸۰ درصد به ۱۰ میلیلیتر رسانده شد. بلا فاصله مقداری از عصاره به کوت منتقل گردید و جذب محلول با اسپکتروفوتومتر مدل 6300 (Jenway) در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. قبل ذکر است که از استون ۸۰ درصد به عنوان محلول بلانک استفاده شد. سپس میزان کلروفیل a, b, کلروفیل کل و کاروتینوئیدها

درصد تحت تاثیر تیمار غلظت نانوذرات و برهمکنش‌های بذور × نانوذرات و بذور × نانوذرات × غلظت نانوذرات قرار گرفت. از طرفی، شاخص سرعت جوانه‌زنی به ترتیب در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد متاثر از تیمارهای نوع بذر، غلظت نانوذرات و برهمکنش نانوذرات × غلظت نانوذرات بود. نتایج نیز نشان داد که هیچ‌کدام از تیمارهای مورد بررسی در پژوهش حاضر و برهمکنش‌های بین آن‌ها اثرات معنی‌داری را بر میانگین زمان جوانه‌زنی ایجاد نکردند، ولی شاخص ۵۰ درصد زمان جوانه‌زنی فقط تحت تاثیر برهمکنش سه‌گانه بذر × نانوذرات × غلظت نانوذرات قرار گرفت. علاوه بر موارد فوق، نتایج جدول ۲ حاکی از اثرات معنی‌دار ۱ درصد تیمار غلظت نانوذرات و برهمکنش‌های دو‌گانه بذر × نانوذرات و سه‌گانه بذور × نانوذرات × غلظت نانوذرات بر شاخص مقاومت ریشه‌چه در بذور گوار و نخود بود.

جدول ۲- آنالیز واریانس (میانگین مربعات) اثرات تیمارهای نانوذرات روی و آهن و غلظت آن‌ها بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور گوار و نخود

Table 2. Analysis of variance (Mean Squares) of the effects of Zn and Fe nanoparticles and their concentrations on seed germination indices of guar and chickpea

منبع تغییرات Source of Variations	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Speed of germination	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean time to germination	جوانه‌زنی T_{50}	شاخص مقاومت Root tolerance index
بذر (S)	1	133.33 *	4.44 *	0.005 ns	0.82 ns	228.45 ns
نانوذرات (N)	1	48 ns	1.35 ns	0.45 ns	0.06 ns	12.96 ns
غلظت نانوذرات nanoparticles (CoN)	3	105.78 **	6.92 **	0.29 ns	1.08 ns	2116.53 **
N × S	1	341.33 **	2.20 ns	0.001 ns	1.31 ns	1562.44 **
S × CoN	3	4.44 ns	0.90 ns	0.02 ns	0.16 ns	40.24 ns
CoN × N	3	29.33 ns	1.90 *	0.15 ns	0.14 ns	46.02 ns
CoN × N × S	3	272.89 **	1.12 ns	0.02 ns	1.84 *	1110.20 **
خطای آزمایش Error	32	22.33	0.61	0.13	0.56	118.45
ضریب تغییرات (%) C.V.		5.58	10.25	8.75	18.67	9.15

ns, *, ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد

ns, *, and **: non-significant, and significant at $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively

شده است. با توجه به نتایج مذکور مشاهده می‌شود که زمان لازم برای رسیدن بذور به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (T_{50}) در برهمکنش بذر گوار × نانوذره آهن × غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر صفت مذکور (معادل ۵/۳۸ روز) بود که به عنوان بیشترین زمان محاسبه شد. از طرفی، کمترین زمان برای بذور گوار کشت شده در پژوهش حاضر مشاهده شد. نتایج میانگین مربعات (میانگین مربعات) اثرات تیمارهای نانوذرات × نانوذره آهن × غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد. نتایج نیز نشان می‌دهند که بیشترین شاخص

های آزمایش ریخته و با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میکرومتر رسانده شدند. سپس جذب هر محلول رنگی در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Jenway 6300) (قرائت شد).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. شکل‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

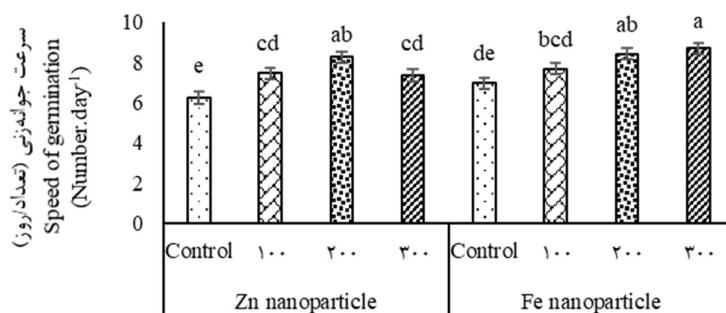
نتایج و بحث

شاخص‌های جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی (جدول ۲) نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذور در سطح احتمال ۵ درصد تحت تاثیر تیمار بذور گیاهی و در سطح احتمال ۱

درین درصد جوانه‌زنی (۹۳/۳۳ درصد) تحت برهمکنش بذر نخود × نانوذره آهن × غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حاصل شد. از طرفی، کمترین درصد جوانه‌زنی (برابر با ۸۰ درصد) در تیمار شاهد (عدم کاربرد هیچ‌کدام از نانوذرات) بذور گوار کشت شده در پژوهش حاضر مشاهده شد. نتایج محاسبات آماری برهمکنش‌های مرتبط با ۵۰ درصد زمان جوانه‌زنی و شاخص مقاومت ریشه در جدول ۳ نشان داده

بذور گوار و نخود، در برهمکنش بذر نخود × نانوذره آهن غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود ولی اختلاف معنی‌داری با سرعت جوانه‌زنی بذور تحت برهمکنش ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذره آهن (۸/۴۲ تعداد/ روز) مشاهده نشد. از طرفی، کمترین سرعت جوانه‌زنی (۶/۲۳ تعداد/ روز) تحت برهمکنش نانوذره روی × غلظت صفر (شاهد) به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با سرعت جوانه‌زنی تحت برهمکنش نانوذره آهن × غلظت صفر (۶/۹۵ تعداد/ روز) نداشت.



شکل ۱- برهمکنش نانوذرات × غلظت نانوذرات بر درصد جوانه‌زنی

Figure 1. Interaction of nanoparticles × concentration of nanoparticles on speed of germination.

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Means of each column followed by the non-similar letters have significantly difference at $p<0.05$

بر شاخص درصد مقاومت ریشه‌چه نیز برخی پژوهشگران نشان دادند که غلظت‌های مختلفی از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، دی‌اکسید سیلیسیوم و نانوتیوب کربن می‌تواند سبب افزایش درصد مقاومت ریشه‌چه در گیاه‌های دان-سیاه شود (Eskandarinasab *et al.*, 2019).

در ارتباط با نحوه اثر نانوذرات و پاسخ‌های گیاهی به نانوذرات، اظهار شده است که علت تفاوت پاسخ گیاهان مختلف و حتی ارقام متفاوت یک گونه به غلظت‌های فلزات سنگین، می‌تواند مربوط به درجه نفوذپذیری پوشش بذر نسبت به فلزات سنگین باشد. برخی محققین نشان داده‌اند که اثرات مثبت و منفی نانو ذرات بر رشد و نمو گیاهی به ترکیب تاثوژره، غلظت نانوذره، اندازه و خواص فیزیکی و شیمیایی نانوذره و همچنین نوع گونه گیاهی بستگی دارد (Ma *et al.*, 2010). همچنین، اظهار شده است که پوشش بذر نقش مهمی در محافظت از جنین بذر در برابر عوامل خارجی و همچنین خاصیت نفوذپذیری انتخابی نسبت به عناصر مختلف دارد. ممکن است این تئوری در مورد نانوذرات نیز صحت داشته باشد.

مقاومت ریشه (۱۵۱/۳۷ درصد)، نسبت به تیمارهای شاهد × غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر وجود داشت ولی اختلاف معنی‌داری با مقادیر به دست آمده تحت برهمکنش‌های بذر نخود × نانوذره آهن × غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ۳۰۰ (۱۳۵/۱۵ درصد) و بذر گوار × نانوذره آهن × غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۱۴۰/۳۳ درصد) نداشت.

در بررسی اثرات برهمکنش نانوذرات × غلظت نانوذرات (شکل ۱) مشاهده شده که بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۸/۶۸ تعداد/ روز) در برهمکنش نانوذره آهن ×

اکثر مطالعات مرتبط با کاربرد نانوذرات، بر اساس جوانه‌زنی و طول ریشه برخی گیاهان و در موارد اندکی بررسی تغییرات زیست‌توده گیاه انجام شده است (Monica and Cremonini, 2009). از طرفی، بهدلیل این‌که بذر و ریشه‌چه اولین ساختارهای گیاهی می‌باشند که در معرض فلزات سنگین قرار می‌گیرند، جوانه‌زنی و بررسی طول ریشه، روش‌هایی مناسب برای بررسی سمیت نانو ذرات هستند، همچنین، این روش‌ها دارای مزیت‌هایی از قبیل حساسیت، سادگی، هزینه کم و مناسب برای مواد شیمیایی یا نمونه‌های نایاب‌دار می‌باشند (Kapustka and Reporter, 1993). علاوه بر این، از آن جا که ریشه‌ها اولین اندام‌های گیاهی هستند که عناصر با آن‌ها تماس داشته و از سطح خاک جذب می‌کنند، عقیده بر آن است که شاخص مقاومت ریشه به عنوان مهم‌ترین شاخص برای نمایش ژنتوپیپ‌ها و گونه‌ها، در تحمل به فلزات می‌باشد (Rout and Das, 2002). بنابراین، شاخص مقاومت ریشه ممکن است شاخص مناسبی برای سنجش مقاومت گیاهان به نانو ذرات هم باشد. بر اساس این پژوهش می‌توان چنین استنباط کرد که نخود، گیاهی مقاوم به نانوذراتی مثل آهن می‌باشد. در تایید اثرات مثبت نانوذرات

جدول ۳- برهمکنش سه‌گانه بذور × نانوذرات × غلظت نانوذرات بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور و صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه‌چه‌های گوار و نخود

Triple interaction of seeds × nanoparticles × concentration of nanoparticles on germination indices of seeds and morphological and biochemical seedlings of guar and chickpea

منبع تغییرات Source of Variations	Nanoparticle	Concentration	درصد جوانه- زمان (درصد) جوانه‌زنی (%)	شاخص مقاومت ریشه- چه (%)	طول ریشه (سانتی- متر)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	کاروتینیدها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	رگ (میلی- گرم وزن تر برگ)	
			Dr. ۵۰ Germination percentage (%)	T ₅₀ (Day)	Root tolerance index (%)	Root length (cm)	Chlorophyll a (mg.g ⁻¹ FW)	Chlorophyll b (mg.g ⁻¹ FW)	Total chlorophyll (mg.g ⁻¹ FW)	Carotenoids (mg.g ⁻¹ FW)	
	روی Zn	آهن Fe	Control	Control	Control	Control	Control	Control	Control	Control	
	روی Zn	Control	80 de	4.25 ab	100 g	16.54 c	5.18 gh	0.3 g	5.48 fg	1.98 g	0.86
	روی Zn	100	82.67 d	4.5 ab	121.93cde	21.29 b	6.44 ef	0.37 ef	6.81 e	1.93 g	1.05
	Zn	200	85.33 bcd	3.52 b	129.52bcd	24.37 a	9.21 ab	0.5 bc	9.71 ab	3.33 de	1.1 a
	Zn	300	90.67 abc	3.52 b	140.33 ab	26.53 a	9.35 a	0.47 c	9.82 a	3.72 bc	1.23
	آهن Fe	Control	80 de	4.25ab	100 g	16.6 c	4.69 h	0.32 fg	5.01 g	1.95 g	0.89
	آهن Fe	100	82.67 d	4.14 ab	118.54cdef	19.47 b	6.97 def	0.44 cd	7.41 de	2.73 f	0.99
	Fe	200	90.67 abc	3.63 b	123.44bcde	24.28 a	9.43 a	0.47 c	9.9 a	3.7 bc	1.04
	Fe	300	72 f	5.38 a	103.58 f	21.15 b	6.14 fg	0.49 bc	6.63 ef	2.8 f	0.94
	روی Zn	Control	84 cd	4.06 b	100 g	15.99cd	6.2 fg	0.4 de	6.6 ef	2.78 f	0.39
	روی Zn	100	86.67 abcd	3.69 b	123.71 bcde	19.92 b	7.56 bcd	0.47 c	8.03 cd	3.39 cde	0.51
	Zn	200	86.67 abcd	3.68 b	131.97 bcd	13.81 de	8.39 abc	0.48 bc	8.87 abc	3.75 b	0.77
	Zn	300	73.33 ef	4.63 ab	107.9 efg	13.05 e	6.35 fg	0.38 def	6.73 e	3.48 bcd	0.69
	آهن Fe	Control	84 cd	4.06 b	100 g	15.7 cd	6.16 fg	0.42 de	6.58 ef	2.8 f	0.31
	آهن Fe	100	90.67 abc	3.92 b	118.54 cdef	20.14 b	8.05 bcd	0.48 bc	8.53 bcd	3.06 ef	0.69
	Fe	200	92 ab	3.51 b	135.15 abc	20.57 b	8.27 abc	0.54 ab	8.81 abc	3.31 de	0.76
	Fe	300	93.33a	3.45b	151.37a	21.01b	9.24a	0.57a	9.81a	4.27a	0.78
	LSD		7.85	1.25	18.10	2.50	1.19	0.06	1.18	0.34	0.1

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Means of each column followed by the non-similar letters have significantly difference at p<0.05

سبب افزایش شاخص مقاومت ریشه‌چه، درصد جوانهزنی و سرعت جوانهزنی بذور شد، ولی کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذره نقره اثرات منفی بر شاخص‌های مذکور داشت.
طول ساقه و ریشه، وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه

براساس نتایج مندرج در جدول ۴، مشاهده می‌شود که طول ساقه در سطح احتمال ۱ درصد تحت تاثیر تیمارهای نوع بذر و غلظت نانوذرات و در سطح احتمال ۵ درصد تحت تاثیر برهmeknesh‌های بذر × نانوذرات و بذر × غلظت نانوذرات قرار گرفت و اختلاف معنی‌داری را نشان داد لیکن با بررسی اثرات تیمار نانوذرات و برهmeknesh‌های نانوذرات × غلظت نانوذرات و بذر × نانوذرات × غلظت نانوذرات بر صفت ارتفاع ساقه گیاهچه‌های گوار و نخود، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. از طرفی، نتایج نشان می‌دهند که کاربرد تیمارهای بذر و غلظت نانوذرات و همچنین برهmeknesh‌های بذر × نانوذرات، بذر × غلظت نانوذرات و بذر × نانوذرات × غلظت نانوذرات در سطح احتمال ۱ درصد و تیمار نانوذرات و برهmeknesh نانوذرات × غلظت نانوذرات در سطح احتمال ۵ درصد بر صفت طول ریشه اثرات معنی‌داری را ایجاد کردند. علاوه بر این، در بررسی اثرات تیمارها بر وزن خشک اندام‌های هوایی و وزن خشک ریشه مشاهده می‌شود که کاربرد تیمارهای بذر، غلظت نانوذرات و برهmeknesh بذر × غلظت نانوذرات در سطح احتمال ۱ درصد برای صفت وزن خشک اندام‌های هوایی و تیمارهای بذر و غلظت نانوذرات در سطح احتمال ۱ درصد و برهmeknesh بذر × غلظت نانوذرات در سطح احتمال ۵ درصد برای صفت وزن خشک ریشه اختلاف معنی‌داری را ایجاد کردند (جدول ۴).

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از برهmeknesh بذر × نانوذرات و بذر × غلظت نانوذرات بر طول ساقه گیاهچه‌های گوار و نخود (شکل ۲ الف و ب، به ترتیب) نشان داد که میزان این صفت در بذور گوار و نخود و غلظت‌های مختلف نانوذرات مورد بررسی در پژوهش حاضر متفاوت بود. نتایج شکل ۲-الف حاکی از این است که تحت برهmeknesh بذر × نانوذرات، بیشترین و کمترین طول ساقه (۲۰/۴۵ و ۱۳/۶۴ سانتی‌متر) به ترتیب تحت برهmeknesh‌های گیاهچه گوار × نانوذره روی و گیاهچه نخود × نانوذره روی حاصل شد.

فضاهای درون سلولی ریز موجود در پارانشیم پوشش بذر با اندازه کمتر از ۱۰ میکرومتر، ممکن است با محلول آبی اطراف بذر پوشانیده شده و بدین ترتیب باعث تسهیل ورود مواد محلول و کوچک به درون جنبه شوند (Van Dongen *et al.*, 2003). بر این اساس، احتمال داده می‌شود که ذرات نانو قادر به نفوذ از پوشش بذر و تاثیر بر جوانهزنی آن باشند. احتمالاً نانوآهن با توجه به اندازه کوچک ذرات می‌تواند توسط گیاه جذب و بر روند رشد و نمو آن تاثیر بگذارد. همچنین، اظهار شده است که فاصله زمانی کاشت تا سبزشدن و استقرار گیاهچه، اثر معنی‌داری بر رشد و نمو گیاهان دارد. از طرفی، با توجه به این‌که بذرها پس از مرحله کاشت، یک دوره نسبتاً طولانی را در خاک صرف جذب آب می‌کنند، اگر این زمان به حداقل برسد، جوانهزنی بذرها و سبزشدن گیاهچه‌ها به طور معنی‌داری تسريع پیدا کرده و آسیب‌پذیری در برابر تنفس‌های Dastborhan *et al.*, 2019) با توجه به نتایج جدول ۳ مشاهده می‌شود که شاخص T_{50} در بذور گوار و نخود تحت کاربرد نانوذرات روی و آهن به حداقل رسیده و درصد جوانهزنی افزایش پیدا کرده است. بر همین اساس، می‌توان احتمال داد که نانوذرات روی و آهن از طریق نفوذ به بذر، سبب افزایش فعالیت‌های آنزیمی و تسريع در جوانهزنی بذور شده‌اند. در پژوهشی با استفاده از نانوذرات آهن پوشیده شده با TMA-OH بر روی رشد گیاهان ذرت مشخص شد که غلظت‌های کم نانوذره باعث تسريع رشد ذرت شده در حالی که غلظت‌های بالا دارای اثر سمی بوده‌اند (Racuciu and Creanga, 2007). همچنین، اثرات سطوح مختلف نانوذره آهن صفر ظرفیتی بر شاخص‌های جوانهزنی بذور چاودار، جو و کتان مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که از غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذره فوق به بالا، اثرات مهار جوانهزنی در غلظت‌های ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر وجود داشت (El-Temsah and Joner, 2012) علاوه بر این، تدین و همکاران (Tadayon *et al.*, 2013) اثرات سطوح مختلف (شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) نانوتیوب کربن چندجداره و نانوذره نقره را بر شاخص‌های جوانهزنی گیاهچه‌های باقلاء مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوتیوب کربن چندجداره

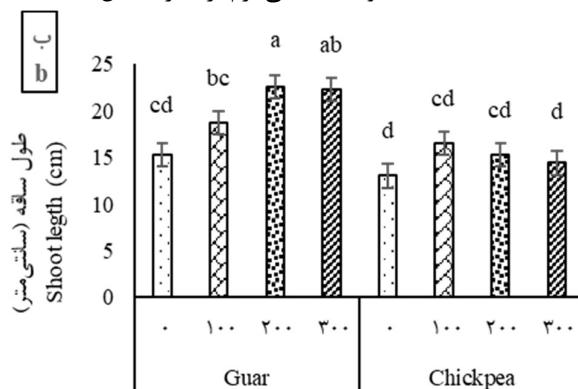
جدول ۴- آنالیز واریانس (میانگین مربعات) اثرات نانوذرات روی و آهن و غلظت آن‌ها بر شاخص‌های رشدی گیاهچه‌های نخود و گوار

Table 4. Analysis of variance (Mean Squares) of the effects of Zn and Fe nanoparticles and their concentrations on growth indices of guar and chickpea

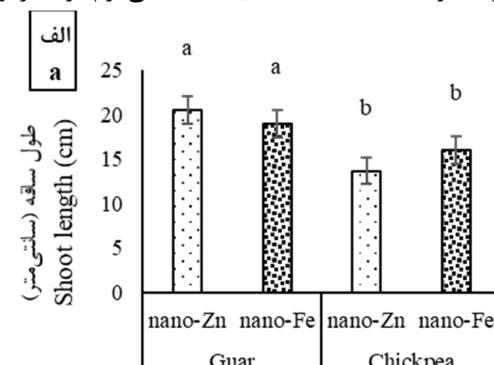
منبع تغییرات Source of Variations	درجه آزادی df	طول ساقه Shoot length	طول ریشه Root length	وزن خشک هوایی Dry weight of the aerial parts	وزن خشک ریشه Dry weight of the root	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتینوئیدها Carotenoids	برگ Leaf	تئین protein
Seed (S) بذر	1	285.33**	169.3**	0.79**	0.14**	1.52 ns	0.028**	1.96**	4.08**	1.84	
Nanoparticles (N) نانوذرات	1	1.84 ns	10.38 *	0.00001 ns	0.0003 ns	0.02 ns	0.024**	0.08 ns	0.01 ns	0.01	
concentrations غلظت نانوذرات of nanoparticles (CoN)	3	54.41**	55 **	0.59**	0.08**	22.22**	0.047**	24.27**	4.10**	0.21	
N × S	1	44.83 *	89.59**	0.16 ns	0.0006 ns	7.25**	0.0051 ns	7.64**	0.01 ns	0.08	
S × CoN	3	28.73 *	41.51**	0.29**	0.02*	3.28**	0.0054 *	3.49**	0.48**	0.022	
CoN × N	3	14.68 ns	10.01 *	0.04 ns	0.0004 ns	0.34 ns	0.0055*	0.33 ns	0.06 ns	0.013	
CoN × N × S	3	15.72 ns	27.31**	0.13 ns	0.008 ns	6.98**	0.008**	7.35**	1.22**	0.02	
Error خطای آزمایش	32	8.94	2.25	0.06	0.005	0.52	0.001	0.50	0.04	0.00	
C.V. (%) ضریب تغییرات		17.35	7.34	20.73	11.27	9.76	8.50	9.10	6.66	9.45	

ns, *, ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد
ns, *, and **: non-significant, and significant at p<0.05 and p<0.01, respectively

شاهد حاصل شدند. در طرف مقابل، بیشترین و کمترین طول ساقه در گیاهچه‌های نخود (۱۶/۵۲ متر) تحت غلظت‌های ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و شاهد به دست آمدند. به طور کلی، بر اساس محاسبات آماری شکل ۲-۱ استنتاج می‌شود که در برهمکنش گوار × غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بهترین افزایشی معادل ۴۷/۳۸ متر است. در صورتی که در برهمکنش گوار × غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بهترین افزایشی معادل ۴۷/۲۹ متر باشد، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حاصل شد.



محاسبات آماری نتایج مذکور نشان می‌دهند که طول ساقه گیاهچه‌های مورد بررسی تحت برهمکنش گوار × نانو روی در مقایسه با برهمکنش‌های گوار × نانو آهن، نخود × نانو روی و نخود × نانو آهن بهترین افزایشی معادل ۲۸/۱۳ و ۴۹/۹۳ متر است. در صورت داشت (شکل ۲-۲). نتایج شکل ۲-۲ نشان می‌دهند که طول ساقه گیاهچه‌های گوار با افزایش غلظت نانوذرات تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رابطه مستقیم و معنی‌داری دارد، به طوری که بیشترین و کمترین طول ساقه گوار (۲۲/۵۲ و ۱۵/۲۸ متر) بهترین ترتیب تحت غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و



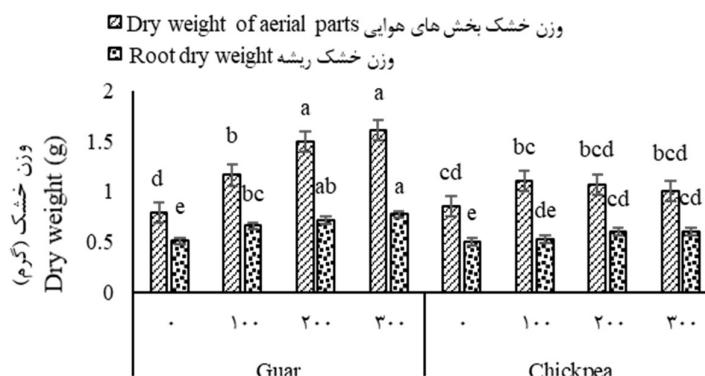
شکل ۲- اثرات برهمکنش‌های بذر × نانوذرات (الف) و بذر × غلظت نانوذرات (ب) بر طول ساقه گیاهچه‌های گوار و نخود
Figure 2. Effects of interactions of seed × nanoparticles (a) and seed × nanoparticle concentrations (b) on shoot length index of guar and chickpea seedlings

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Means of each column followed by the non-similar letters have significantly difference at $p<0.05$

بر لیتر (۱/۶۱ گرم) و گوار × تیمار شاهد (۰/۰۷۹ گرم) و بیشترین و کمترین وزن حشك ریشه بهترین ترتیب تحت برهمکنش‌های گوار × ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۰/۰۷۹ گرم) و گوار × تیمار شاهد (۰/۰۵۱ گرم) حاصل شد. محاسبات آماری شکل ۳ حاکی از این است که برهمکنش گوار × ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در مقایسه با برهمکنش‌های گوار × شاهد، گوار × ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، گوار × ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، نخود × شاهد، نخود × ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، نخود × ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و نخود × ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بهترین افزایشی معادل ۱۰۳/۸۰، ۵۰/۹۸، ۲۸/۷۹، ۳۸/۷۹، ۴۵/۰۵، ۵۱/۸۹، ۴۵/۰۵، ۵۷/۴۱ و ۵۱/۸۷ متر است. در صورتی که بیشترین وزن خشک اندام‌های هوایی و افزایشی معادل ۱۶/۶۷، ۵۰/۹۸، ۲۸/۳۳ و ۲۸/۰۸ متر باشد، ۰/۰۵۴ در صورت داشت (شکل ۳).

بررسی اثر برهمکنش بذر × نانوذرات × غلظت نانوذرات بر طول ریشه (جدول ۳) نشان داد که بیشترین طول ریشه (۲۶/۵۳ متر) در برهمکنش گوار × نانو روی × غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حاصل شد، لیکن اختلاف معنی‌داری با طول ریشه در برهمکنش‌های گوار × نانو روی × غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۲۴/۳۷ متر) و گوار × نانو آهن × غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۲۴/۲۸ متر) نداشت. از طرفی، از طرفی، کمترین طول ریشه (۱۳/۰۵ متر) که اختلاف معنی‌داری با طول ریشه در سایر برهمکنش‌ها داشت، تحت برهمکنش نخود × نانو روی × غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد (جدول ۳). در بررسی اثرات برهمکنش بذر × غلظت نانوذرات بر وزن حشك اندام‌های هوایی و ریشه (شکل ۳)، نتایج نشان می‌دهند که بیشترین و کمترین وزن خشک اندام‌های هوایی بهترین ترتیب تحت برهمکنش‌های گوار × ۳۰۰ میلی‌گرم



شکل ۳- اثرات برهمکنش بذر × غلظت نانوذرات بر وزن خشک بخش‌های هوایی و ریشه گیاهچه‌های گوار و نخود

Figure 3. Effects of interactions of seed \times nanoparticle concentrations on dry weight of aerial parts and root indices of guar and chickpea seedlings

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Means of each column followed by the non-similar letters have significantly difference at $p<0.05$

Mahmoodzadeh and Aghili (2014) نیز افزایش وزن خشک پیاز تحت کاربرد نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم را ناشی از اثرات مثبت این نانوذره در گیاه پیاز گزارش کردند.

رنگیزه‌های کلروفیلی، کاروتونوئیدها و پروتئین برگ
نتایج تجزیه واریانس مندرج در جدول ۴ نشان داد که تیمار غلظت نانوذرات و برهمکنش‌های بذر \times نانوذرات، بذر \times غلظت نانوذرات و بذر \times نانوذرات \times غلظت نانوذرات در سطح احتمال ۱ درصد بر محتوای کلروفیل a اثرات معنی‌داری را ایجاد کردند. علاوه بر این، مشاهده می‌شود که محتوای کلروفیل b در سطح احتمال ۱ درصد تحت تاثیر تیمارهای بذر، نانوذرات، غلظت نانوذرات و برهمکنش سه‌گانه بذر \times نانوذرات \times غلظت نانوذرات و در سطح احتمال ۵ درصد تحت تاثیر برهمکنش‌های بذر \times غلظت نانوذرات و نانوذرات \times غلظت نانوذرات قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس تیمارها بر محتوای کلروفیل کل نشان داد که تیمارهای بذر و غلظت نانوذرات به همراه برهمکنش‌های بذر \times غلظت نانوذرات و بذر \times نانوذرات \times غلظت نانوذرات در سطح احتمال ۱ درصد بر صفت مذکور اثرگذار بودند و سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار شدند. علاوه بر موارد فوق، اثرات معنی‌دار تیمارهای بذر و غلظت نانوذرات و برهمکنش‌های بذر \times نانوذرات و بذر \times غلظت نانوذرات در سطح احتمال ۱ درصد و برهمکنش بذر \times نانوذرات \times غلظت در سطح احتمال ۵ درصد بر محتوای پروتئین برگ قابل مشاهده می‌باشد (جدول ۴).

در پژوهش حاضر مشاهده شد که نانوذره روی در گیاهچه‌های گوار و نانوذره آهن در گیاهچه‌های نخود (شکل ۲-الف)، غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در گیاهچه‌های گوار و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در گیاهچه‌های نخود سبب افزایش طول ساقه شدند. همچنین، در جدول ۲ مشاهده شد که برهمکنش گوار \times نانو روی \times غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش طول ریشه گردید. علاوه بر این، برهمکنش بذر \times غلظت نانوذرات سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار وزن خشک بخش‌های هوایی و ریشه گردید (شکل ۳). در ارتباط با اثرات نانوذرات بر گیاهان، نتایج به دست آمده از آزمایش Yang (et al., 2006) نشان دادن که نانواکسید تینانیوم باعث افزایش وزن تر و خشک گیاهچه‌های اسفناج در مقایسه با تیمار شاهد شد و اظهار داشتند که افزایش وزن گیاهچه‌ها می‌تواند ناشی از افزایش جذب مواد ریزمندی گیاهی و افزایش سوخت و ساز گیاهی توسط ترکیبات نانوذرات باشد. علاوه بر این، در این پژوهش، افزایش رشد و وزن خشک گیاهچه‌های نخود تحت کاربرد نانوذره آهن می‌تواند ناشی از افزایش میزان پروتئین و کلروفیل باشد که با نتایج پژوهش Mahdi Nezhad et al., 2019 (Niezad et al., 2019) مطابق است. اثرات سطوح مختلف نانوتیوب کربن چندجباره (شاهد، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) را بر گیاه گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که کاربرد سطوح فوق از نانوتیوب کربن سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک گبه نسبت به تیمار شاهد شد (Khodakovskaya et al., 2009).

کاروتوئیدها در سطوح بالای نانوذره روی در گیاه نخود، این احتمال وجود دارد که کاهش مذکور ناشی از اثرات منفی غلظت‌های بالای نانوذرات حاوی عنصر روی بر گیاهچه‌های نخود باشد و سبب بروز تنفس‌های اکسیداتیو در نخود شوند (Burman *et al.*, 2013). بر همین اساس، نقش کاروتوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدانت در تنفس‌های اکسیداتیو مشهود می‌شود (Zheng *et al.*, 2005). افزایش میزان پروتئین (شکل ۵) می‌تواند به علت افزایش فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند آنزیم‌های هیدرولیزکننده قندها و یا به خاطر سنتز پروتئین‌ها و پلی‌پپتیدهای درگیر در سیستم دفاعی سلول در برابر یون mRNA (Fediuc and Laszlo Erdei, 2002)، افزایش (Hirt *et al.*, 1989) و به طبع آن، افزایش مقدار کل پروتئین باشد. در پژوهش (Mahajan *et al.*, 2011) نیز مشخص گردید که نانوذرات می‌توانند از طریق فعال‌سازی فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، میزان جوانهزنی و رشد گیاهان نخود و ماش را افزایش دهند. علاوه بر این، در برخی پژوهش‌ها مشخص شده است که بسیاری از آنزیم‌ها برای فعال‌سازی خود نیاز به آهن دارند (Kafi *et al.*, 2008). نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داد که برخی نانوذرات در سطوح پایین سبب افزایش محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتوئیدها شده ولی در غلظت‌ها بالا اثرات معکوسی دارند که با نتایج پژوهش حاضر در ارتباط با غلظت‌های بالای نانوذرات روی و آهن مطابقت دارد. یکی از دلایل کاهش محتوای کلروفیل‌ها و کاروتوئیدها در سطوح بالا می‌تواند ایجاد تنفس اکسیداتیو ناشی از فلزات نانوی و تخریب ساختمان آن‌ها به‌وسیله انواع مختلف Hediafat and Salama, 2012; Rico *et al.*, 2017 اکسیژن فعال باشد (Esparham *et al.*, 2011) با انجام آزمایش‌ها و تصاویر میکروسکوپی حاصل از آن‌ها، آسیب به غشا، دیواره سلولی و رنگیزه‌های گیاهی ناشی از کاربرد نانوذرات را به اثبات رساند.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی، نتیجه‌گیری می‌شود که کاربرد غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذرات آهن و روی مورد استفاده در پژوهش حاضر اثرات مشتی بر شاخص‌های جوانهزنی بدور و همچنین ارتفاع گیاه، وزن خشک اندام‌های هوایی، کلروفیل‌های a، b، کل و پروتئین

مقایسه میانگین برهمنکنش سه‌گانه بذر × نانوذرات × غلظت نانوذرات بر محتوای کلروفیل a و کل (جدول ۳) نشان می‌دهند که بیشترین و کمترین مقدار برای کلروفیل a (به ترتیب معادل ۹/۴۳ و ۴/۶۹ میلی‌گرم بر ۵/۰۱ و ۹/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) به ترتیب تحت برهمنکنش‌های غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذره آهن بر گیاهچه‌های گوار و عدم کاربرد نانوذره آهن (تیمار شاهد) در گیاه گوار حاصل شد. علاوه بر این، بیشترین محتوای کلروفیل b (۰/۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تحت برهمنکنش نخود × نانوذره آهن × غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حاصل شد لیکن با محتوای کلروفیل b تحت برهمنکنش نخود × نانوذره آهن × غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۰/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) اختلاف معنی‌داری نداشت. از طرفی، کمترین میزان کلروفیل b (۰/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تحت برهمنکنش گوار × نانوذره روی × تیمار شاهد به دست آمد، ولی اختلاف معنی‌داری با محتوای کلروفیل b تحت برهمنکنش گوار × نانوذره آهن × شاهد (۰/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) نداشت. نتایج جدول ۳ نیز نشان می‌دهند که بیشترین و کمترین میزان کاروتوئید به ترتیب معادل ۴/۲۷ و ۱/۹۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بودند که تحت برهمنکنش‌های نخود × نانوذره آهن × ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و گوار × نانوذره روی × شاهد (۱/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) مقدار پروتئین برگ (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) تحت برهمنکنش گوار × نانوذره روی × ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ثبت رسید، ولی اختلاف معنی‌داری با محتوای پروتئین برگ تحت برهمنکنش گوار × نانوذره روی × ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۱/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) نداشت. در نقطه مقابل، کمترین مقدار غیرمعنی‌دار پروتئین برگ که معادل ۰/۳۱ و ۰/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بوند، به ترتیب تحت برهمنکش‌های نخود × نانوذره آهن × شاهد و نخود × نانوذره روی × شاهد به دست آمدند. نتایج این پژوهش نشان داد که در حضور غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره روی، محتوای کلروفیل a، کلروفیل کل و پروتئین برگ افزایش یافت. از طرفی، میزان کلروفیل b و کاروتوئیدها با افزایش غلظت نانوذره آهن تا سطح ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشتر شد (جدول ۳). با توجه به کاهش محتوای رنگیزه‌ها و

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین آزمایشگاه گیاه‌شناسی و گلخانه‌های تحقیقاتی دانشکده کشاورزی سرایان از دانشگاه بی‌جند قدردانی می‌شود.

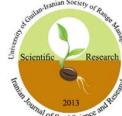
برگ گیاهچه‌های گوار و نخود داشتند. بر همین اساس، به‌نظر می‌رسد که کاربرد غلظت‌های فوق از نانوذرات مورد بررسی در پژوهش حاضر در افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد، نمو و عملکرد گیاهان گوار و نخود قابل توصیه باشد.

منابع

- Amiri, S.R., Parsa, M., Bannayan Aval, M., Nassiri Mahallati, M. and Deihimfard, R. 2015. Effect of irrigation and nitrogen fertilizer levels on yield and yield components of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under Mashhad climatic conditions. Iranian Journal of Pulses Research, 6(1): 66-77. (In Persian)(Journal)
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15. (Journal)
- Aslani, F., Bagheri, S., Julkapli, N.M., Juraimi, A.S., Hashemi, F.S. and Baghdadi, A. 2014. Effects of engineered nanomaterials on plants growth. The Scientific World Journal, 10: 1-29. (Journal)
- Barrena, R., Casals, E., Colon, J., Font, X., Sanchez, A. and Puntes, V. 2009. Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles. Chemosphere, 75: 850-857. (Journal)
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Plant Physiology, 72: 248-254. (Journal)
- Burman, U., Saini, M. and Kumar, P. 2013. Effect of zinc oxide nanoparticles on growth and antioxidant system of chickpea seedlings. Toxicological and Environmental Chemistry, 95(4): 605-612. (Journal)
- Canas, J.E., Long, M.Q., Nations, S., Vadan, R., Dai, L. and Luo, M.X. 2008. Effects of functionalized and nonfunctionalized singlewalled carbon nanotubes on root elongation of select crop species. Environmental Toxicology and Chemistry, 27: 1922-1931. (Journal)
- Dastborhan, S., Ghassemi-Golezani, K. and Yeganehpoor, F. 2019. Changes in germination and growth indices of borage (*Borago officinalis* L.) in response to seed priming and different irrigation intervals. Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(1): 1-18. (In Persian)(Journal)
- Daughton, C.G. and Ternes, T.A. 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change. Environmental Health Perspectives, 107: 907-938. (Journal)
- Davis, J.G., Hossner, L.R. and Persaud, N. 1993. Elemental toxicity effects on the germination and growth of pearl millet seedlings. Journal of Plant Nutrition, 16: 1957-1968. (Journal)
- El-Temsah, Y.S. and Joner, E.J. 2012. Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil. Environmental Toxicology, 27: 42-49. (Journal)
- Eskandarinab, M., Rafieiolhossaini, M., Roshandel, P. and Tadayon, M.R. 2019. Investigation of Seed Germination Indices and Anthocyanin Content of Niger (*Guizotia abyssinica*) Seedling under the Effect of Three Nanoparticles. Iranian Journal of Seed Research, 5(2): 73-89. (In Persian)(Journal)
- Esparham, E., Saeidisar, S., Mahmoodzadeh, H. and Hadi, M.R. 2017. The Effects of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles on the Germination, Biochemical and Ultrastructural Cell Characteristics of *Ricinus communis*. Journal of Cell and Tissue, 8(2): 151-165. (In Persian)(Journal)
- Fediuc, E. and Laszlo Erdei, A. 2002. Physiological and biochemical aspects of cadmium toxicity and protective mechanisms induced in phragmites Australia and *Typha latifolia*. Plant Physiology, 5: 129-132. (Journal)
- Ganjeali, A., Joveynipour, S., Porsa, H. and Bagheri, A. 2011. Selection for drought tolerance in Kabuli chickpea genotypes in Nishapur region. Iranian Journal of Pulses Research, 2: 27-38. (In Persian)(Journal)
- Gao, F.Q., Hong, F.S., Liu, C., Zheng, L., Su, M.Y., Wu, X., Yang, F., Wu, C. and Yang, P. 2006. Mechanism of nanoanatase TiO₂ on promoting photosynthetic carbon reaction of spinach: inducing complex of Rubisco-Rubisco activase. Biological Trace Element Research, 11: 239-254. (Journal)

- Hediat, M. and Salama, H. 2012. Effect of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) and corn (*Zea mays L.*). Research Journal of Biotechnology, 3(10):190-197. **(Journal)**
- Hirt, H., Casari, G. and Barta, A. 1989. Cadmium enhanced gene expression in suspension culture cells of tobacco. *Planta*, 179: 414-426. **(Journal)**
- Hong, F., Zhou, J., Liu, C., Yang, F., Wu, C., Zheng, L. and Yang, P. 2005. Effect of nano-TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. *Biological Trace Element Research*, 105: 269-279. **(Journal)**
- Kafi, M., Zand, A., Kamkar, B., Abbasi, F., Mahdavi Damghani, M. and Sharifi, H.R. 2008. Plant physiology (4th Ed.). Jahad Daneshgahi Mashhad Press. (In Persian) **(Book)**
- Kapustka, L.A. and Reporter, M. 1993. Terrestrial Primary Producers. In: Ecotoxicology. Blackwell Scientific Publications (Ed.p.Calow), London. **(Book)**
- Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F. and Biris, A.S. 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. American Chemical Society, 3(10): 3221-3227. **(Journal)**
- Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology*, 148: 350-382. **(Journal)**
- Lin, D. and Xing, B. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 20: 1-8. **(Journal)**
- Loggale, L.B. 2018. Responses of guar to supplemental irrigation in heavy clay soils of Abu Naama. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*; 11(9): 12-16. **(Journal)**
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y. and Kolmakov, A. 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment*, 408(16): 3053-3061. **(Journal)**
- Mahajan, P., Dhoke, S.K. and Khanna, A.S. 2011. Effect of Nano-ZnO particle suspension on growth of mung (*Vigna radiata*) and gram (*Cicer arietinum*) seedlings using plant agar method. *Journal of Nanotechnology*, 2011: 1-7. **(Journal)**
- Mahdi Nezhad, N., Mousavi, H., Fakheri, B. and Heidari, F. 2019. The assessment of the effects of the nanoparticles on some physiological traits changes, photosynthetic pigments and the prthenolide of chamomile plant (*Tanacetum parthenium*) under Water deficit stress. *Journal of Plant Process and Function*, 8 (29): 219-227. **(Journal)**
- Mahmoodzadeh, H. and Aghili, R. 2014. Effect on germination and early growth characteristics in wheat plants (*Triticum aestivum L.*) seeds exposed to TiO₂ nanoparticles. *Journal of Chemical Health Risks*, 4(1): 29-36. **(Journal)**
- Mansouri Gandomani, V., Omidi, H. and Bostani, A.A. 2019. Study on effects of pretreatment nanoparticle silicon dioxide (SiO₂) on seed germination and biochemical indicate of soybean (*Glycine max L.*) cultivars Williams under salinity. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 6(3): 299-315. (In Persian) **(Journal)**
- Mazaheri Tirani, M., Madadkar Haghjou, M. and Ismaili, A. 2019. Effect of bulk and nano zinc oxide on seed germination and growth indices in tobacco (*Nicotiana tabacum L.*) seedlings. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 6(3): 369-380. (In Persian) **(Journal)**
- Mohamadipoor, R., Sedaghathoor, Sh. and Mahboub-Khomami, A. 2013. Effect of application of iron fertilizers in two methods 'foliar and soil application' on growth characteristics of *Spathiphyllum illusion*. *European Journal of Experimental Biology*, 3: 232-240. **(Journal)**
- Monica, C.R. and Cremonini, R. 2009. Nanoparticles and higher plants. *Cariologia*, 62: 161-165. **(Journal)**
- Racuciu, M. and Creanga, D. 2007. TMA-OH coated magnetic nanoparticles internalized in vegetal tissue. *Romanian Journal of Physics*, 52: 395-402. **(Journal)**
- Rout, G.R. and Das, P. 2002. Rapid hydroponic screening for molybdenum tolerance in rice through morphological and biochemical analysis. *Rostlinna Vyroba*, 48: 505–512. **(Journal)**
- Sayedena, S.V., Pilehvar, B., Abrari-vajari, K., Zarafshar, M. and Eisvand, H.R. 2019. Effects of TiO₂ Nanoparticles on Germination and Primary Growth of Mountain Ash (*Sorbus luristanica*). *Iranian Journal of Seed Research*, 6(1): 173-184. (In Persian) **(Journal)**

- Tadayon, M.R. and Norouzi, S. 2015. Effect of nano titanium oxide, nano zinc and multiwall carbon nano tube on yield and yield components of green gram (*vigna radiata* L.). Journal of Crop Improvement, 17(1): 169-182. (In Persian)(Journal)
- Tadayon, M.R., Falah, S., Fadaei Tehrani, A.A and Norouzi, S. 2013. Effects of multi wall carbon nanotube and nanosilver on some physiological and morphological traits of faba bean (*Vicia faba* L.). Journal of Plant Process and Function, 2(5): 61-72. (In Persian)(Journal)
- Van Dongen, J.T., Ammerlaan, A.M.H., Wouterlood, M., Van Aelst, A.C.V. and Borstlap, A.C. 2003. Structure of the developing pea seed coat and the post-phloem transport pathway of nutrients. Annals of Botany, 91: 729-737. (Journal)
- Xiong, Z.T. 1998. Lead uptake and effects on seed germination land plant growth in a Pb hyperaccumulator *Brassica pekinensis* Rupr. Bulletin Environmental Contamination and Toxicology, 60: 285-291. (Journal)
- Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C. and Yang, P. 2006. Influence of nano-anatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. Biological Trace Element Research, 110: 179-190. (Journal)
- Yazdani Biuki, R.R., Rezvani Moghaddam, P., Khazaie, H.R., Ghorbani, R. and Astaraei, A.R. 2011. Effects of salinity and drought stresses on germination characteristics of milk thistle (*Silybum marianum*). Iranian Journal of Field Crops Research, 8(1): 12-19. (In Persian)(Journal)
- Zheng, L. Hong, F., Lu, S. and Liu, C. 2005. Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. Biological Trace Element Research, 104: 83-91. (Journal)



Comparison of germination indices, morpho-physiological and biochemical traits of seeds and seedlings of guar and chickpea under the application of different concentrations of zinc and iron nanoparticles

Seyed HamidReza Ramazani^{*1}, Mahdi Alahresani²

Received: May 13, 2020

Accepted: July 6, 2020

Abstract

In order to investigate the effects of nanoparticles and their concentrations on the stages of germination, growth and development of crop plants, experiments were performed using a factorial experiment based on the completely randomized design on guar and chickpea seeds as the Petri dish and pot. In the present study, the effects of different concentrations of zinc and iron nanoparticles (control, 100, 200, and 300 mg.l⁻¹) were examined on seed germination indices in petri dish cultivation and growth, physiological and biochemical traits of the mentioned plants in pot cultivation. The results of the Petri dish experiment showed that the highest percentage of germination, root resistance, and the lowest T50 were obtained under the interaction of chickpeas, iron nanoparticles, 300 mg.l⁻¹. Also, the highest germination rate was obtained for guar and chickpea seeds at a concentration of 300 mg.l⁻¹ of the iron nanoparticle. The results of the pot experiment also showed that the maximum shoot length, dry weight of aerial part and root were achieved for the plant exposed to a concentration of 300 mg.l⁻¹ of zinc nanoparticle. Also, the content of chlorophyll a, total chlorophyll and leaf protein increased by 300 mg.l⁻¹ of zinc nanoparticle. On the other hand, the amount of chlorophyll b and carotenoids increased under a concentration of 300 mg.l⁻¹ of the iron nanoparticle. In general, it is concluded that zinc and iron nanoparticles in the range of concentrations of 100-300 mg.l⁻¹ had positive effects on germination, growth, physiological and biochemical indices of seeds and seedlings of guar and chickpea in these conditions.

Keywords: Chickpea; Guar; Leaf protein; Nanotechnology; Plant pigments; Seed germination

How to cite this article

Ramazani, H.R. and Alahresani, M. 2021. Comparison of germination indices, morpho-physiological and biochemical traits of seeds and seedlings of guar and chickpea under the application of different concentrations of zinc and iron nanoparticles. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 8(3): 259-274.
(In Persian)(Journal)

DOI: 10.22124/jms.2021.5229

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit <http://jms.guilan.ac.ir/>

1. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Faculty of Sarayan, University of Birjand, Birjand, Iran. hramazani@birjand.ac.ir
2. Master of Agriculture and Plant Breeding, Agricultural Faculty of University of Birjand, Birjand, Iran. alahresani.mahdi@gmail.com

*Corresponding author: hramazani@birjand.ac.ir