علوم و تحقیقات بذر ایران
سال دهم/ شماره دوم/ ۱۴۰۲ (۶۵ - ۴۹)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2023.7608

بهبود جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت با کاربرد نانواکسید مس سنتز شده از گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*)

مهدی افروز[۱]، پریسا شیخ‌زاده مصدق[*۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۷

چکیده

به‌منظور بررسی تاثیر نانواکسید مس سنتز شده از گیاه اکالیپتوس بر جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل غلظت‌های مختلف نانواکسید مس در پنج سطح (شاهد (صفر)، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) و روش‌های کاربرد در دو سطح (پیش تیمار کردن و افزودن به بستر کاشت) بودند. نتایج نشان داد که در هر دو روش کاربرد نانوذره (افزودن به بستر کاشت و پیش‌تیمار نمودن بذر)، کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید مس موجب افزایش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، شاخص همزمانی جوانه‌زنی، شاخص قدرت، طول و وزن خشک گیاهچه‌های ذرت و کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت گردید. در بین روش‌های کاربرد نانوذره، پیش‌تیمار نمودن بذرها با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس و افزودن غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره به بستر کاشت بیش‌ترین تاثیر را در بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص همزمانی بذر، طول و وزن خشک گیاهچه و شاخص قدرت و کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی بذر داشت. کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید مس در هر دو روش کاربرد موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز و محتوی اسیدآمینه پرولین نسبت به تیمار شاهد گردید. به‌طور کلی کاربرد غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌روش پیش‌تیمار بذر و افزودن غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره به بستر کاشت جهت بهبود جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پیش‌تیمار بذر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سنتز سبز، نانوذره

۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
mehdiafrooz2ch@gmail.com
۲- دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
sheikhzadehmp@gmail.com
*نویسنده مسئول: sheikhzadehmp@gmail.com

مقدمه

ذرت با نام علمی *Zea mays* L.، یکی از مهم‌ترین غلات بوده که به‌دلیل داشتن ترکیبات نشاسته، سلولز، مواد چربی، پروتئینی و معدنی، نقش مهمی در تأمین غذای انسان، دام و طیور داشته، و در نتیجه افزایش تولید ذرت و بهبود خصوصیات کیفی دانه‌ی آن از اولویت خاصی برخوردار است (Choukan, 2012). جوانه‌زنی بذر نقش بسیار مهمی در رشد گیاه و تولید محصول در یک اکوسیستم کشاورزی دارد، بنابراین مرحله جوانه‌زنی بذر و استقرار گیاهچه از مراحل مهم و حساس در جریان رشد یک گیاه است (Zhang *et al*., 2021). استفاده از بذرهای با کیفیت بالا در گیاهان زراعی از جمله ذرت این امکان را برای کشاورزان فراهم می‌کند که بذرهای کشت شده، از بالاترین درصد و سرعت سبز شدن برخوردار بوده و گیاهچه‌ها نیز استقرار مطلوب و یکنواختی در مزرعه داشته باشند که این امر منجر به تولید بوته‌های قوی با راندمان تولید بالا می‌شود (Li *et al*., 2021). در واقع با توجه به کاربرد گیاه ذرت در صنایع گوناگون و پیشرفت‌های حاصل شده در تکنولوژی بذر و مدیریت زراعی، استفاده از راهکارهایی که ضمن اقتصادی و مقرون به‌صرفه بودن، کارایی مناسبی در تولید بذرهای با کیفیت بالا داشته باشد، دارای اهمیت کلیدی است. یکی از این روش‌ها، پیش‌تیمار نمودن بذرها با عناصر کم‌مصرف می‌باشد. عناصر کم‌مصرف عناصری هستند که گیاه به میزان کمی به آن‌ها نیاز داشته و به‌منظور بهبود کمی و کیفی محصولات کشاورزی استفاده می‌شوند (Mimmo *et al*., 2014).

عنصر مس از عناصر مهم و ضروری برای گیاهان زراعی مختلف نظیر ذرت می‌باشد، زیرا در ساختار برخی پروتئین‌ها و آنزیم‌های دخیل در غشای سلولی، مسئول شرکت در برخی واکنش‌های داخل سلولی به‌عنوان کوفاکتور آنزیمی (سیتوکروم اکسیداز و آمین اکسیداز)، حضور به‌عنوان یک ناقل الکترون در فسفریلاسیون اکسیداتیو و فتوسنتز شرکت می‌نماید (Wilhelm *et al*., 2007). پژوهش‌ها نشان داده است که پیش‌تیمار نمودن بذرهای نخود فرنگی نانواکسید مس سنتز شده منجر به افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، بنیه بذر و خصوصیات رشدی نخودفرنگی گردید (Singh *et al*., 2017). در مقابل غلظت‌های بالای مس در بافت‌های گیاهی می‌تواند به‌عنوان یک عنصر سمی در نظر گرفته شود که منجر به مهار رشد گیاهان نیز می‌گردد. در واقع، علاوه بر این‌که مس، عنصری کم‌مصرف و ضروری برای همه گیاهان عالی است اما با این حال اگر غلظت آن تا حد مجاز فراتر رود اثر سمی برای گیاه داشته و منجر به جلوگیری رشد در گیاهان می‌شود (Subpiramaniyam *et al*., 2021). پژوهشگران گزارش کردند که کاربرد نانوذرات اکسید مس در غلظت‌های کم منجر به افزایش جوانه‌زنی بذر سویا و نخود شد، درصورتی‌که در کاربرد ppm ۲۰۰۰ نانو اکسید مس منجر به جلوگیری و کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های سویا و نخود شد (Adhikari *et al*., 2012). از سویی دیگر در تحقیقات صورت گرفته بر روی تاثیر سولفات مس در بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی گندم مشخص گردید که مس هیچ نقشی در افزایش خصوصیات جوانه‌زنی گندم نداشته است (Yadavi *et al*., 2019) در مقابل مطالعات پژوهش-های دیگر نشان داد که استفاده از نانوذرات مس منجر به افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و ویژگی‌های رشدی ریحان شده است (Yusefzaee *et al*., 2017). بنابراین با توجه به نقش موثر عنصر مس در بهبود خصوصیات جوانه-زنی و رشد گیاهچه‌های ذرت، استفاده از تکنیک‌هایی که موجب جذب و یا دسترسی بیش‌تر گیاهان به عنصر مس شود، از ارزش بالایی برخوردار است (Wang *et al*., 2012b).

روش‌های متعددی به‌منظور سنتز نانوذرات موجود است، اما روش سنتز نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهان که سنتز سبز نامیده می‌شود، یک روش نوین، بسیار ساده، اقتصادی و دوست‌دار محیط زیست است. در واقع، سنتز سبز با کاهش و حذف مواد سمی و ضایعات خطرناک، به محیط زیست کمک می‌کند (Mehta *et al*., 2017). طی نتایج به‌دست آمده از تحقیقات پیشین، غالب گیاهان مورد استفاده برای استخراج نانوذرات به‌صورت سنتز سبز، گیاهان دارویی مانند گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) از خانواده موردیان می‌باشند. این گیاه منبع غنی از پلی‌فنل‌ها و ترپنوئیدها بوده و به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فیتوشیمیایی شناسایی شده در گل‌های اکالیپتوس از جمله کامالدولنسیس سبب شده تا از این گیاه جهت سنتز سبز استفاده شود (Babayi *et al*., 2004). از طرفی کاربرد نانوذرات به‌صورت پیش‌تیمار روی

بذرها، به‌دلیل نفوذپذیری سریع‌تر و راحت‌تر به‌درون غشای سلولی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Jahagirdar *et al*., 2020). پژوهش‌ها نشان داده است که استفاده از نانواکسید مس سنتز شده منجر به افزایش طول و وزن خشک گیاهچه، سرعت و درصد جوانه‌زنی بذر و کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی در بذرهای گندم (Kausar *et al*., 2022)، عدس (Sarkar *et al*., 2020)، برنج (Wang *et al*., 2020a)، ماش (Singh *et al*., 2017) و نخودفرنگی (Nair and Chung, 2015) شد.

با توجه به اهمیت ذرت به‌عنوان یکی از محصولات استراتژیک کشور و همچنین به‌دلیل نقش موثر نانواکسید مس بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها به‌عنوان یکی از عناصر ریزمغذی موجب شد تا اثر این نانوذره به‌صورت پیش‌تیمار و افزودن به بستر کاشت در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر نانواکسید مس سنتز شده به‌روش سنتز سبز از عصاره آبی گیاه اکالیپتوس بر جوانه‌زنی، رشد و صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی جوانه‌زنی بذر، رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت با کاربرد نانواکسید مس سنتز شده از گیاه اکالیپتوس، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۰، در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل غلظت‌های نانواکسید مس سنتز شده در پنج سطح (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) و روش‌های کاربرد نانوذره در دو سطح (پیش‌تیمار کردن و افزودن به بستر کشت) بودند. منبع گیاهی مورد استفاده در این مطالعه، برگ‌های خشک شده گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) تهیه شده از مرکز گیاهان دارویی وابسته به پارک علم و فناوری استان اردبیل بود.

جهت بیو سنتز نانواکسید مس از برگ‌های اکالیپتوس به‌روش آبی، ابتدا برگ‌های خشک شده را آسیاب و سپس عمل عصاره‌گیری انجام گرفت. به‌این ترتیب که ابتدا مقدار ۱۰ گرم از پودر خشک شده برگ گیاه به ده میلی‌لیتر آب اضافه و به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد. سپس مایع رویی برداشته و درون فالکون ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد. جهت جداسازی کامل محلول از باقی‌مانده‌های گیاهی، محلول در دور rmp ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت محلول مورد نظر در یخچالی با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Patiño-Ruiz *et al*., 2020). در ادامه برای بیوسنتز نانواکسید مس، ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر از عصاره آبی برگ‌های اکالیپتوس به ۸۰ میلی‌لیتر محلول سولفات مس ۰/۰۱۷ مولار اضافه شد، سپس به مدت ده دقیقه دیگر هم زده شد تا از مخلوط شدن کامل اطمینان حاصل شود. در انتها، محلول دو بار در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا اکسید مس به‌دست آید. زمانی که رنگ محلول از سبز به زرد کهربایی تغییر کرد، نانوذرات آماده شده‌اند. نانوذرات سنتز شده برای تجزیه و تحلیل بیش‌تر در آون و با دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک شدند. انتهای کار، از دستگاه‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) به‌منظور بررسی خصوصیات مورفولوژیک نانوذرات مس استفاده شد.

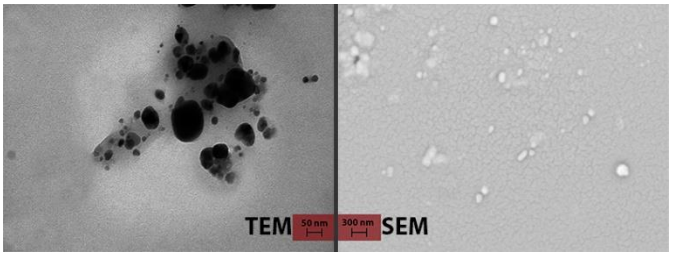
بعد از سپری کردن این مراحل، بذرهای ذرت گواهی شده (رقم هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ تهیه شده در سال ۱۳۹۹ از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل) به‌صورت تصادفی به دو قسمت تقسیم شدند. یک قسمت از بذرها تا زمان انجام آزمون جوانه‌زنی در یخچال با دمای ۳ تا ۴ نگهداری شدند و قسمت دیگر بذرها با غلظت‌های مختلف نانواکسید مس سنتز شده (صفر (شاهد)، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر)، پیش‌تیمار شدند. قبل از پیش‌تیمار نمودن، بذرهای ذرت با محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد به‌مدت یک دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر به‌طور کامل شسته شدند. سپس مقدار مشخص شده نانوذره در یک لیتر آب ریخته و برای تهیه سوسپانسیون یکنواخت به‌مدت ۳۰ دقیقه در هموژنایزر فراصوت (اولترا سونیک) قرار داده شد (Esper Neto *et al*., 2021). در ادامه بذر های ذرت به‌مدت دو ساعت در محلول‌های تهیه شده با غلظت‌های مختلف نانواکسید مس، قرار داده شدند. جهت اعمال تیمار شاهد (غلظت صفر نانواکسید مس) از آب مقطر استفاده

شد. در انتها، بذرهای پیش‌تیمار شده تا رسیدن به رطوبت اولیه در محیط آزمایشگاه خشک شدند.

برای انجام آزمون جوانه‌زنی استاندارد، به‌صورت تصادفی سه تکرار ۵۰ بذری از هر تیمار (بذرهای پیش‌تیمار شده و بذرهای بدون پیش‌تیمار) جدا گردید و درون پتری‌دیش به روش بالای کاغذ کشت شدند. برای تیمارهای افزودن محلول به بستر کشت، مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از محلول‌های نانواکسید مس تهیه شده با غلظت‌های ذکر شده به پتری‌دیش‌ها اضافه شدند. لازم به ذکر است، برای بذرهای پیش‌تیمار شده، از آب مقطر به مقدار ۱۵ میلی‌لیتر استفاده گردید. پس از انتقال نمونه‌ها به ژرمیناتوری با دمای ۲۵ درجه سلسیوس، شمارش بذور هر ۱۲ ساعت یک‌بار به‌مدت هفت روز انجام گردید. خروج دو میلی‌متری ریشه‌چه از پوسته‌ی بذر، به‌عنوان بذور جوانه‌زده در نظر گرفته شدند (ISTA, 2017). در پایان این آزمون، تعداد گیاهچه‌های نرمال شمارش و درصد جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی (Ellis and Roberts, 1981)، متوسط جوانه‌زنی روزانه (Hunter *et al.*, 1984)، سرعت جوانه‌زنی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی (Yari *et al.*, 2012)، شاخص همزمانی جوانه‌زنی (Ranal and Santana, 2006)، شاخص قدرت بذر (Vashisth and Nagarajan, 2010)، طول و وزن خشک گیاهچه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی ابتدا گیاهچه‌های نرمال هفت روزه انتخاب و عصاره آنزیمی (Chang and Koa, 1998) از نمونه‌های گیاهی برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان شامل کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز تهیه گردید. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌روش چانس و ماهلی (Chance and Maehly, 1955)، فعالیت آنزیم کاتالاز به‌روش ابی (Aebi, 1984) و فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز توسط روش کار و میشرا (Kar and Mishra, 1976) تعیین شد. اندازه‌گیری محتوای پرولین به‌روش بیتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. کلیه تجزیه‌های آماری داده‌ها پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) تجزیه شده و از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج در صد برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد. رسم شکل‌ها با بهره‌گیری از نرم‌افزار Excel انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

اندازه ذرات نانواکسید مس: تصاویر TEM و SEM، نشان‌دهنده مورفولوژی و اندازه نانواکسید مس سنتز شده می‌باشد (شکل ۱). با توجه به تصاویر به‌دست آمده از SEM، ذرات نانواکسید مس سنتز شده به‌صورت دایره‌ای و کروی هستند. همچنین می‌توان سایز و اندازه‌ی نانوذرات را با توجه به تصاویر خروجی از هر دو نوع میکروسکوپ بین ۲۰ تا ۸۰ نانومتر تخمین زد، که این در محدوده‌ی مشخصه‌ی نانوذرات سنتز شده در پژوهش‌های همسو می‌با شد (Ahmadi Nouraldinvand *et al.*, 2022). با توجه به تصاویر ثبت شده توسط دستگاه TEM که برای تعیین کیفیت و ویژگی‌های نانوذرات استفاده می‌شود، ثابت شد که نانواکسیدمس سنتز شده نمونه، در بزرگنمایی ۵۰ نانومتر، در حدود ۳۷ نانومتر می‌باشد که در محدوده اندازه نانوذرات است.



شکل ۱- تصاویر TEM و SEM نانواکسید مس (CuO)

Figure 1. TEM and SEM images of copper oxide nanoparticles (CuO)

درصد جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای نانواکسید مس و روش‌های کاربرد و اثرمتقابل نانواکسید مس × روش‌های کاربرد بر صفت درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت معنی‌دار بود (جدول ۱). در هر دو روش کاربرد نانوذره، با کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید مس، درصد جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر

از تیمار شاهد بود (شکل ۲a). به‌نظر می‌رسد افزایش جوانه‌زنی بذرها در این پژوهش نتیجه تأثیر مستقیم نانواکسید مس به‌کار برده شده در فعالیت‌های آنزیمی باشد، که احتمالاً استفاده از نانواکسید مس با تأثیر بر ساخت پروتئین‌ها و تولید آنزیم‌های هیدرولیزکننده و سایر سیستم‌های سلولی که برای انتقال مواد اندوخته‌ای دانه مورد استفاده قرار می‌گیرد، موجب افزایش درصد جوانه‌زنی شده است (Da Costa and Sharma, 2016). از طرفی گزارش‌ها نشان داده است که نانواکسید مس به دلیل تمایل به نفوذ به پوشش بذر منجر به افزایش جوانه‌زنی بذر می‌شود (Singh *et al*., 2017). در بین روش‌های کاربرد نانوذره، افزودن نانواکسید مس در بستر کاشت با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر سبب شد تا بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت به‌دست آید که با روش کاربرد نانواکسید مس به‌صورت پیش‌تیمار با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نداشت. کاربرد غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌روش افزودن به بستر کاشت و غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌روش پیش‌تیمار نمودن موجب افزایش درصد جوانه‌زنی به‌ترتیب در حدود ۲۸/۲۱ و ۲۱/۲۳ درصد نسبت به شاهد گردید (شکل ۲a). همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانواکسید مس درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت روند کاهشی را داشته است. به عبارت دیگر غلظت‌های بالاتر نانواکسید مس تأثیر کم‌تری بر افزایش درصد جوانه‌زنی ذرت داشته است، به‌طوری‌که درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت با کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌روش پیش‌تیمار نسبت به کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به همین روش در حدود ۱۶/۱۶ درصد و کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس در روش افزودن به بستر کاشت نسبت به کاربرد ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به همین روش در حدود ۱۶/۳۴ درصد کم‌تر بود. با این حال درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت با کاربرد غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو روش کاربرد به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از درصدجوانه‌زنی بذرهای شاهد بود (شکل ۲a). در این‌خصوص پژوهشگران گزارش کردند که کاربرد نانواکسید مس در غلظت‌های کم منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی بذر سویا (Gautam *et al*., 2016)، برنج (Da Costa and Sharma, 2016) و نخود شد (Adhikari *et al*., 2012) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

جدول ۱- تجزیه واریانس خصوصیات جوانه‌زنی بذرهای ذرت تحت تأثیر نانواکسید مس و روش‌های کاربرد

Table 1. Analysis of variance of germination characteristics of corn seeds affected by copper oxide nanoparticles (Nano-CuO) and application methods (AM)

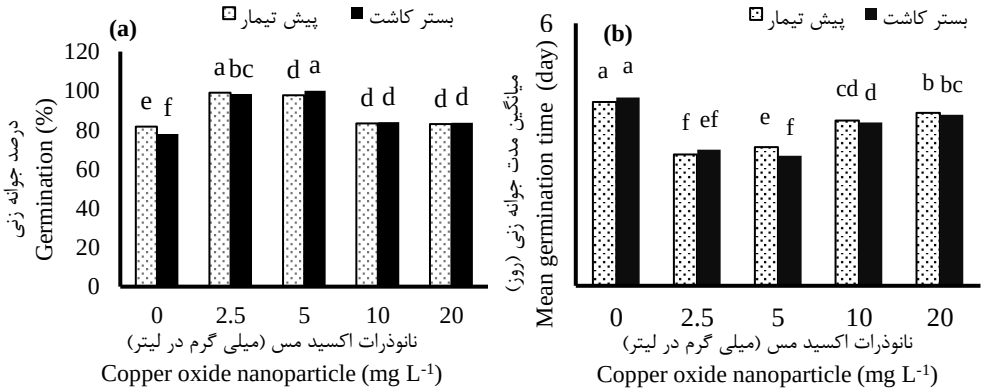
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of square					
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	میانگین مدت جوانه‌زنی Mean germination time	شاخص همزمانی جوانه‌زنی Germination synchrony Index	میانگین جوانه‌زنی روزانه Mean daily germination	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	زمان تا ۵۰درصد جوانه‌زنی D50
نانواکسید مس Nano-CuO (A)	4	496.28**	1.67**	0.0028**	5.61**	44.007**	0.558**
روش‌های کاربرد Application Methods (B)	1	0.133**	0.0016 ns	0.000013 ns	0.171 ns	1.545 ns	0.021**
A×B	4	13.21**	0.026**	0.00073**	0.478**	1.60*	0.0091**
خطای آزمایش Error	20	0.66	0.0066	0.000060	0.103	0.458	0.0012
ضریب تغییرات CV (%)	-	0.91	2.26	4.61	5.53	2.82	1.70

ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد می‌باشند.

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

میانگین مدت جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نانواکسید مس و اثر متقابل نانواکسید مس × روش‌های کاربرد بر این صفت تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). با توجه به نتایج شکل ۲b مشخص گردید که در هر دو روش کاربرد نانوذره (افزودن به بستر کاشت و پیش‌تیمار نمودن بذر)، کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید مس

سبب کاهش معنی‌دار میانگین مدت جوانه‌زنی بذرهای ذرت در مقایسه با تیمار عدم کاربرد نانوذره گردید (شکل ۲b). در بین تیمارهای مختلف کم‌ترین میانگین مدت جوانه‌زنی بذر ذرت (۲/۹۷ روز) با کاربرد غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید آهن به‌روش اضافه کردن به بستر کاشت به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با تیمار کاربرد غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس در هر دو روش نداشت (شکل ۲b). کاربرد غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌روش پیش‌تیمار موجب کاهش ۲۸/۵۷ درصدی و کاربرد غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌روش افزودن به بستر کاشت سبب کاهش ۳۰/۹۳ درصدی میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای ذرت نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین در پژوهش حاضر مشخص شد که افزایش غلظت نانواکسید مس از ۵ میلی‌گرم در لیتر به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر سبب شد تا میانگین مدت جوانه‌زنی نسبت به غلظت‌های پایین‌تر کاهش داشته باشد، با این حال، کاربرد غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس هم موجب کاهش معنی‌دار میانگین مدت جوانه‌زنی در مقایسه با تیمار شاهد گردید. میانگین مدت جوانه‌زنی بذرهای ذرت با کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس در هر دو روش کاربرد پیش‌تیمار و افزودن به بستر کاشت به‌ترتیب در حدود ۵/۹۵ و ۹/۰۶ درصدی نسبت به تیمار شاهد کم‌تر بود (شکل ۲b). به‌نظر می‌رسد استفاده از نانواکسید مس در غلظت‌های پایین باعث کاهش بیش‌تر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی در بذر ذرت شده که این امر نیز دلالت بر سرعت یافتن تکمیل فرآیند جوانه‌زنی در اثر تیمارهای مورد بحث می‌باشد. کاهش میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذر با کاربرد نانواکسید مس در بذرهای برنج (Wang *et al*., 2020a)، ماش (Singh *et al*., 2017) و نخود فرنگی (Nair and Chung, 2015) نیز گزارش شده است.

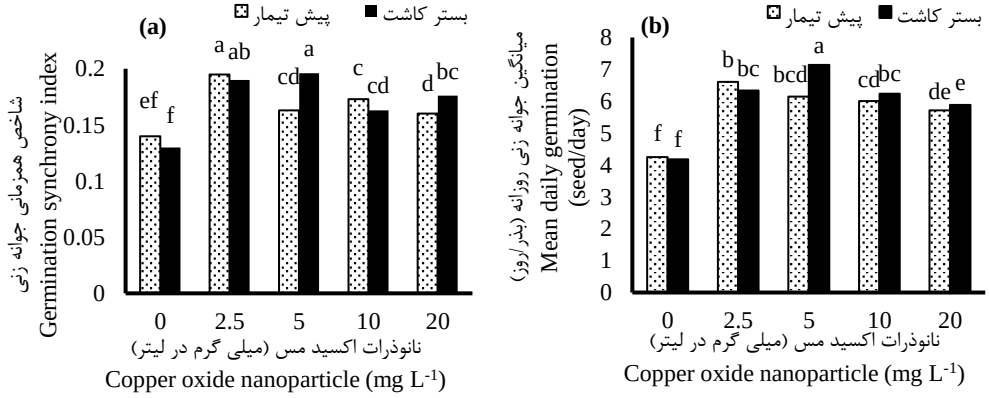


شکل ۲- تاثیر تیمارهای نانواکسید مس و روش‌های کاربرد بر درصد جوانه‌زنی (a) و میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (b) بذرهای ذرت

Figure 2. The effects of copper oxide nanoparticles and application methods treatments on germination percentage (a) and mean germination time (b) of corn seeds

شاخص همزمانی جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس در این آزمایش نشان‌دهنده تاثیر معنی‌داری اثر تیمار غلظت‌های مختلف نانواکسید مس و اثر متقابل نانواکسید مس × روش‌های کاربرد در ارتباط با صفت شاخص همزمانی جوانه‌زنی بود، درصورتی‌که اثر تیمار روش‌های کاربرد نانوذره بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف نانواکسید مس در هر دو روش کاربرد نانوذره، منجر به بهبود شاخص همزمانی جوانه‌زنی نسبت به تیمار عدم کاربرد شده است، به‌طوری‌که بیش‌ترین شاخص همزمانی جوانه‌زنی با کاربرد غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌روش افزودن به بستر کاشت به‌دست آمد که با تیمارهای کاربرد غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌روش پیش‌تیمار نمودن بذرها و کاربرد غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به افزودن به بستر کاشت اختلاف معنی‌داری نداشت، درصورتی‌که کم‌ترین شاخص همزمانی جوانه‌زنی در تیمار شاهد حاصل شد (شکل ۳a). پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس سبب شد تا شاخص همزمانی جوانه‌زنی در مقایسه با تیمار شاهد در حدود ۳۹/۲۸ درصد افزایش داشته باشد. از طرفی در روش اضافه کردن به بستر کاشت، غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس منجر به افزایش ۵۰/۷۶

درصدی شاخص همزمانی جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد گردید (شکل ۳a). از آن‌جایی که جوانه‌زنی بذر به‌طور کلی به‌صورت همزمان نیست، بنابراین در این پژوهش استفاده از کاربرد نانواکسید مس به بستر کاشت و پیش‌تیمار کردن بذرها منجر به بهبود همزمانی در جوانه‌زنی بذرها گردید. در واقع چنین به‌نظر می‌رسد که پیش‌تیمار نمودن بذرها و افزودن نانوذره به بستر کاشت سبب شده تا با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک (Jahagirdar *et al*., 2020)، فرایند جوانه‌زنی بهبود یافته و در نتیجه منجر به بهبود شاخص همزمانی جوانه‌زنی گردد. در این راستا محققان اظهار داشتند کاربرد نانواکسید مس در بذرهای گندم (Buazar *et al*., 2019) و برنج (García-Gómez and Fernández, 2019) منجر به افزایش همزمانی جوانه‌زنی گردید که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. کاربرد غلظت‌های بالای نانواکسید مس منجر به کاهش همزمانی جوانه‌زنی نسبت به غلظت‌های پایین آن گردید، اما در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری در همزمانی جوانه‌زنی مشاهده گردید. احتمالاً نانواکسید مس در غلظت-های بالا نیز اثرات مثبت خود را به‌عنوان عناصر ریزمغذی در بذرهای ذرت اعمال کرده، اما به‌دلیل بهینه نبودن غلظت‌های مورد استفاده تأثیر کم‌تری نسبت به سطوح پایین‌تر داشته است.



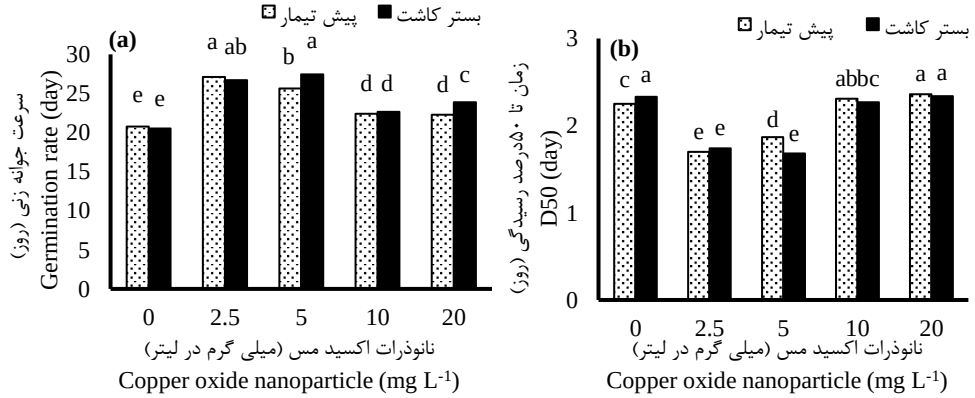
شکل ۳- تاثیر تیمارهای نانواکسید مس و روش‌های کاربرد بر شاخص همزمانی جوانه‌زنی (a) و متوسط جوانه‌زنی روزانه (b) بذرهای ذرت

Figure 3. The effects of copper oxide nanoparticles and application methods treatments on germination synchrony index (a) and mean daily germination (b) of corn seeds

متوسط جوانه‌زنی روزانه: با بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشخص گردید که متوسط جوانه‌زنی روزانه به‌طور معنی‌داری تحت‌تاثیر تیمارهای نانواکسید مس و اثر متقابل نانواکسید مس × روش‌های کاربرد آن قرار گرفت، درصورتی‌که تیمار روش‌های کاربرد نانوذره تاثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت (جدول ۱). کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید مس در هر دو روش کاربرد منجر به بهبود جوانه-زنی روزانه بذور ذرت نسبت به عدم کاربرد نانواکسید مس گردید. نتایج شکل ۳b نشان داد که بیش‌ترین متوسط جوانه‌زنی روزانه (۷/۱۴ روز) با کاربرد غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌روش افزودن به بستر کاشت به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد از افزایش ۷۰/۸۱ درصدی برخوردار بود. همچنین در روش پیش‌تیمار نمودن بذرها با نانواکسید مس بیش‌ترین متوسط جوانه‌زنی روزانه (۶/۶۱ روز) با کاربرد غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد از افزایش ۵۵/۵۳ درصدی برخوردار بود (شکل ۳b). با توجه به نتایج به‌دست آمده مشخص گردید که پیش‌تیمار نمودن بذر و همچنین روش افزودن نانوذره به بستر کاشت به‌ترتیب در غلظت‌های ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس بیش‌ترین تاثیر را در بهبود متوسط جوانه‌زنی روزانه داشته است. به نظر می-رسد افزودن نانوذره به بستر کاشت و پیش‌تیمار نمودن بذرها با نانواکسید مس از طریق افزایش متوسط جوانه‌زنی روزانه منجر به کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی (شکل ۲a) شده است. در تحقیقی نشان داده شد که پیش‌تیمار نمودن بذرهای کاهو با نانواکسید مس تأثیر مثبت و معنی‌داری بر متوسط جوانه‌نی روزانه داشت (Pelegrino *et al*., 2020) که مطابق با نتایج تحقیق حاضر است. همچنین تأثیر مثبت استفاده از نانو اکسید مس بر متوسط جوانه‌زنی روزانه بر بذور ذرت و برنج (Yang *et al*., 2015) و عدس (Sarkar *et al*., 2020) گزارش شده است.

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در روش کاربرد نانوذره در بستر کاشت افزایش غلظت نانواکسید مس از ۵ به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به کاهش معنی‌دار متوسط جوانه‌زنی روزانه شد، در حالی که این کاهش در روش پیش-تیمار نمودن بذرها با نانواکسید مس معنی‌دار نبود (شکل ۳b). با وجود کاهش متوسط جوانه‌زنی روزانه در غلظت‌های بالای نانواکسید مس، بین غلظت‌های مختلف نانواکسید مس با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (شکل ۳b).

سرعت جوانه‌زنی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی و متقابل فاکتورهای آزمایشی بر این صفت معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۲۷/۴۲ روز) از تیمار افزودن ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به بستر کاشت حاصل شد که اختلاف معنی‌داری با پیش‌تیمار نمودن ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس نداشت (شکل ۴a). افزودن ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به بستر کاشت و پیش‌تیمار نمودن بذرها با ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به-ترتیب منجر به افزایش ۳۳/۷۵ و ۳۰/۴۶ درصدی سرعت جوانه‌زنی بذرهای تیمارشده نسبت به تیمار شاهد گردید (شکل ۴a). افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرهای ذرت، در هر دو روش کاشت مؤید آن است که در روش پیش‌تیمار نمودن بذرها با نانوذره، جوانه‌زنی سریع بذور در نتیجه تکمیل فعالیت‌های متابولیکی پیش از جوانه‌زنی اتفاق افتاده است که موجب آماده ساختن دانه برای خروج ریشه‌چه شده و در روش افزودن نانوذره به بستر کاشت به‌دلیل تأمین نیازهای کامل بذرهای ذرت به نانواکسید مس افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرها مشاهده شده است (Thakur *et al*., 2021). در این راستا محققان گزارش کردند که کاربرد نانواکسید مس منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی بذور جو شد (Rajput *et al*., 2018). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که سرعت جوانه‌زنی بذور ذرت در غلظت‌های بالای نانواکسید مس (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) کاهش یافت. با وجود کاهش سرعت جوانه‌زنی بذرها در غلظت‌های بالا نسبت به غلظت‌های کم‌تر (۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) کاربرد نانواکسید مس، بین تیمارهای کاربرد غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. سرعت جوانه‌زنی بذرهای ذرت در تیمار کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به روش پیش‌تیمار نمودن و افزودن به بستر کاشت به‌ترتیب در حدود ۷/۱۷ و ۱۶/۳۹ درصد نسبت به تیمار شاهد بیش‌تر بود (شکل ۴a). این نتایج گویای آن است که سرعت جوانه‌زنی بذرها با افزایش غلظت نانواکسید مس کاهش یافت، اما تأثیر استفاده از آن‌ها نسبت به تیمار شاهد بهتر بوده و تا حدودی منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی گردید. در بذرهای جو (Rajput *et al*., 2018) و برنج (Wang *et al*., 2020a) نیز افزایش غلظت نانواکسید مس تاثیر کم‌تری بر افزایش سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه داشت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.



شکل ۴- تاثیر تیمارهای نانواکسید مس و روش‌های کاربرد بر سرعت جوانه‌زنی (a) و زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی (b) بذرهای ذرت

Figure 4. The effects of copper oxide nanoparticles and application methods treatments on germination rate (a) and D50 (b) of corn seeds

زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی: طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، صفت زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذر تحت‌تاثیر تیمارهای نانواکسید مس و روش‌های کاربرد و اثرمتقابل نانواکسید مس × روش‌های کاربرد قرار گرفت (جدول ۱).

با کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید مس زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نسبت به تیمار عدم کاربرد کاهش یافت، به‌طوری‌که نتایج نشان داد که کم‌ترین زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرهای ذرت با افزودن غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس در بستر کاشت به‌دست آمد، که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای کاربرد غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس در هر دو روش نداشت (شکل 4b). پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس و افزودن غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به بستر کاشت به‌ترتیب منجر به کاهش ۲۴/۴۵ و ۲۷/۹۰ درصدی زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرها نسبت به تیمار شاهد شد. به‌نظر می‌رسد استفاده از هر دو روش کاربرد نانواکسید مس به‌دلیل جذب عنصر ریزمغذی مس توسط بذر از طریق افزایش سرعت جوانه‌زنی (شکل 4a)، کوتاه شدن میانگین مدت جوانه‌زنی (شکل 2b) و افزایش متوسط جوانه‌زنی روزانه (شکل 3b) منجر به کاهش زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی گردید. در واقع هر چه این زمان کوتاه‌تر باشد، سرعت جوانه‌زنی بذر نیز به مراتب افزایش خواهد یافت. از طرفی با توجه به نتایج به‌دست آمده از شکل 4b مشخص گردید که کاربرد غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس منجر به افزایش این صفت شدند که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند.

طول گیاهچه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی و متقابل فاکتورهای آزمایشی بر طول گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل 5a) نشان داد که کاربرد غلظت‌های ۲/۵ تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس در هر دو روش کاربرد به‌صورت معنی‌داری منجر به افزایش طول گیاهچه ذرت شد. از آن‌جا که، طویل شدن سلول‌ها از مهم‌ترین اثرات هورمون اکسین است، بنابراین به‌نظر می‌رسد مس به‌عنوان یک عنصر ضروری و کم‌مصرف با تأثیر بر تنظیم و تعدیل اکسین بر افزایش طول گیاهچه مؤثر است (Muhammad *et al*., 2015). در روش پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با نانواکسید مس بیش‌ترین طول گیاهچه با میانگین ۴۹/۲۳ سانتی‌متر با کاربرد غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌دست آمد و در روش افزودن به بستر کاشت، کاربرد غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس طویل‌ترین گیاهچه‌ها را تولید کرد (شکل 5a).

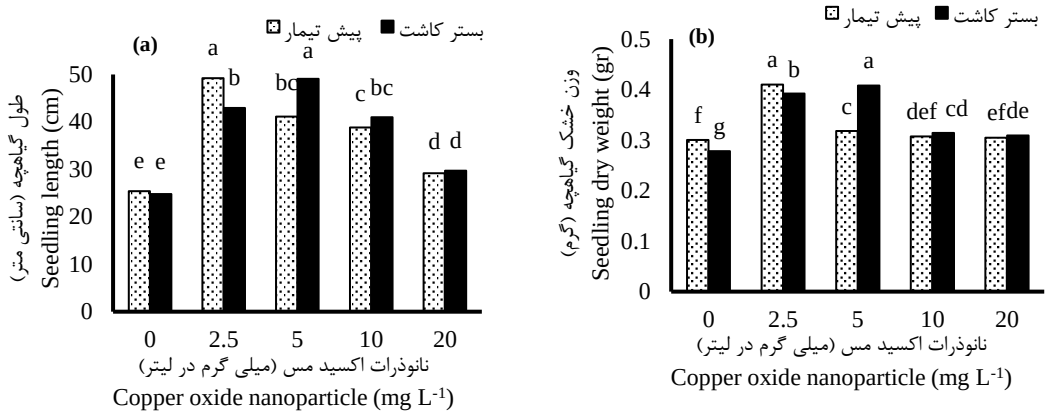
جدول ۲- تجزیه وایانس خصوصیات رشد و صفات بیوشیمیایی گیاهچه ذرت تحت تأثیر نانواکسید مس و روش‌های کاربرد آن

Table 2. Analysis of variance of growth characteristics and biochemical treits of corn Seedling under the influence of copper oxide nanoparticles (Nano-CuO) and its application methods (AM)

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	Mean of squares						
		طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص قدرت Vigor index	محتوای پرولین Proline content	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	پلی فنول اکسیداز Polyphenol oxidase
نانواکسید مس Nano-CuO	4	532.74**	0.012**	796624.85**	23.61**	171.17**	368.39**	1313.43**
روش‌های کاربرد Application methods	1	4.339 ns	0.0010**	44576.91ns	2.10**	147.03**	1.77ns	1845.33**
Nano-CuO× AM	4	39.45**	0.0030**	477179.21**	0.65**	2.42**	16.68**	123.81**
خطای آزمایش Error	20	1.73	0.0000020	11887.55	0.01	0.235	1.54	2.23
ضریب تغییرات CV (%)	-	3.54	1.36	3.24	1.67	1.16	2.66	2.66

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

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



شکل ۵- تاثیر تیمارهای نانواکسید مس و روش‌های کاربرد بر طول گیاهچه (a) و وزن خشک گیاهچه‌های (b) ذرت

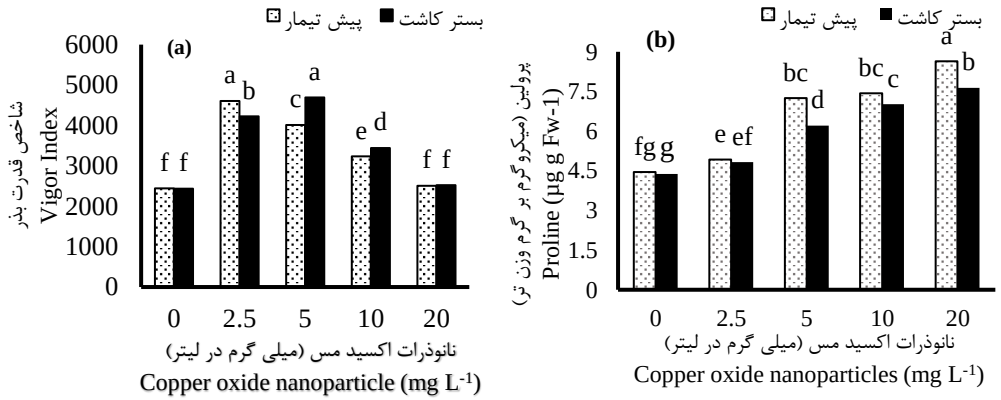
Figure 5. The effects of copper oxide nanoparticles and application methods treatments on seedling dry (a) and seedling length (b) of corn

پیش‌تیمار نمودن بذرها با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس منجر به افزایش ۹۳/۸۲ درصدی و کاربرد غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به بستر کاشت منجر به افزایش ۹۷/۸۲ درصدی طول گیاهچه‌های ذرت نسبت به تیمارهای شاهد گردید (شکل ۵a). به‌نظر می‌رسد، افزایش طول گیاهچه‌های ذرت در اثر استفاده از نانواکسید مس را می‌توان به بهبود سرعت جوانه‌زنی (شکل ۴a) نسبت داد که این موضوع سبب شده تا گیاهچه‌ها سریع‌تر رشد کرده و در مقایسه با تیمار شاهد طویل‌تر باشند.

در روش افزودن نانوذره به بستر کاشت، با افزایش غلظت نانوذره از ۵ میلی‌گرم در لیتر به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس و در روش پیش‌تیمار نمودن بذر، افزایش غلظت نانوذره از ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر روند کاهشی در میزان افزایش طول گیاهچه مشاهده شد. با این وجود، طول گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده و تیمارهای کاربرد نانوذره در بستر کاشت با غلظت‌های بالا به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار عدم کاربرد نانوذره بود (شکل ۵a). به‌نظر می‌رسد تاثیر نانواکسید مس در غلظت‌های بالا بر طول گیاهچه‌ها کم‌تر از غلظت‌های پایین است که این نتایج با یافته‌های سایر محققان همسو است (Subpiramaniyam *et al*., 2021; Sarkar *et al*., 2020).

وزن خشک گیاهچه: اثر فاکتورهای نانواکسید مس و روش کاربرد و اثرمتقابل نانواکسید مس × روش‌های کاربرد بر صفت وزن خشک گیاهچه ذرت معنی‌دار بود (جدول ۲). در روش پیش‌تیمار بذر، میانگین وزن خشک گیاهچه‌های ذرت با کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید مس به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد بود. با توجه به نتایج مشخص شد در این روش کاربرد، بیش‌ترین وزن خشک گیاهچه با میانگین ۰/۴۱۰ گرم در تیمار کاربرد غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود. در روش افزودن نانوذره به بستر کاشت نیز کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید مس موجب افزایش وزن خشک گیاهچه‌های حاصل گردید، به‌طوری‌که در بین تیمارها بیشترین وزن خشک گیاهچه در تیمار غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود (شکل ۵b). پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم و افزودن غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به بستر کاشت منجر به افزایش ۳۶/۶۷ و ۴۶/۷۶ درصدی وزن خشک گیاهچه‌ها نسبت به تیمارهای شاهد شد (شکل ۵b). برتری گیاهچه‌های تیمار شده با نانواکسید مس در هر دو روش کاربرد از نظر وزن خشک گیاهچه را می‌توان به سرعت بالای جوانه‌زنی بذر آن‌ها (شکل ۴a) نسبت داد. به‌عبارت دیگر، نانواکسید مس موجب شده تا بذرهای ذرت سریع‌تر در مقایسه با تیمار عدم کاربرد نانوذره جوانه‌زده در نتیجه فرصت بیش‌تری برای رشد گیاهچه داشته باشند که این امر منجر به افزایش وزن خشک گیاهچه شده است. افزایش طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه با کاربرد مس به فرم نانوذره در بذر کلم (Wang *et al*., 2020c) و برنج (García-Gómez and Fernández, 2019) نیز گزارش شده است.

شاخص قدرت بذر: جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای نانواکسید مس و اثر متقابل نانواکسید مس × روش‌های کاربرد تاثیر معنی‌داری بر صفت شاخص قدرت بذر داشت درصورتی‌که اثر روش‌های کاربرد نانوذره تاثیر معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین شاخص قدرت بذر (۴۶۹۳/۳۳) در تیمار افزودن ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به بستر کاشت حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود، اما اختلاف معنی-داری با تیمار کاربرد نانوذره به‌روش پیش‌تیمار نمودن بذر با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نداشت. کم‌ترین شاخص قدرت بذر در تیمار عدم کاربرد نانوذره مس (۲۴۳۴/۴) به‌دست آمد. افزودن ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به بستر کاشت و پیش‌تیمار نمودن ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به‌ترتیب موجب موجب افزایش ۴۷/۱۵ و ۴۸/۱۳ درصدی شاخص قدرت بذر نسبت به تیمار عدم کاربرد گردید (شکل ۶a). در واقع کاربرد نانواکسید مس در هر دو روش کاربرد از طریق افزایش درصد جوانه‌زنی (شکل ۲a) و طول گیاهچه (شکل ۵a) موجب بهبود شاخص قدرت بذر گردید. به‌عبارتی روش‌های به‌کار برده برای اعمال تیمار نانواکسید مس نه‌تنها سرعت جوانه‌زنی (شکل ۴a) و متوسط جوانه‌زنی روزانه (شکل ۳b) را بهبود بخشید و موجب کاهش مدت زمان جوانه‌زنی (شکل ۲b) گردید، بلکه قدرت گیاهچه‌ها را از طریق افزایش طول گیاهچه‌ها (شکل ۵a) افزایش داد. افزایش شاخص قدرت بذر با کاربرد نانواکسید مس در بذرهای گندم (Ortega-Ortiz *et al*., 2022)، ذرت (Yang *et al*., 2015) و جو (Rajput *et al*., 2018) نیز گزارش شده است. از طرفی نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در روش افزودن نانوذره به بستر کاشت، شاخص قدرت بذور ذرت با افزایش غلظت نانوذره از ۵ میلی‌گرم در لیتر به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس روند کاهشی داشت، اما این کاهش در روش پیش‌تیمار نمودن بذر، با افزایش غلظت نانوذره از ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. با کاربرد غلظت‌های ۲/۵ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس سبب افزایش معنی‌دار شاخص قدرت بذر در مقایسه با تیمار شاهد گردید. با کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس در هر دو روش (پیش‌تیمار نمودن و افزودن به بستر کاشت) منجر به افزایش شاخص قدرت بذر به‌ترتیب در حدود ۳/۰۳ و ۳/۴۷ درصد نسبت به تیمار شاهد گردید (شکل ۶a). این نتایج نشان می‌دهد که کاربرد غلظت‌های بالای نانواکسید مس تأثیر کم‌تری بر روی خصوصیات رشدی و جوانه‌زنی بذر ذرت داشته ولی با این وجود توانسته بنیه بذر را افزایش دهد که این نتایج با یافته‌های گوتام و همکاران (Gautam *et al*., 2016) در بذر سویا مطابقت دارد.



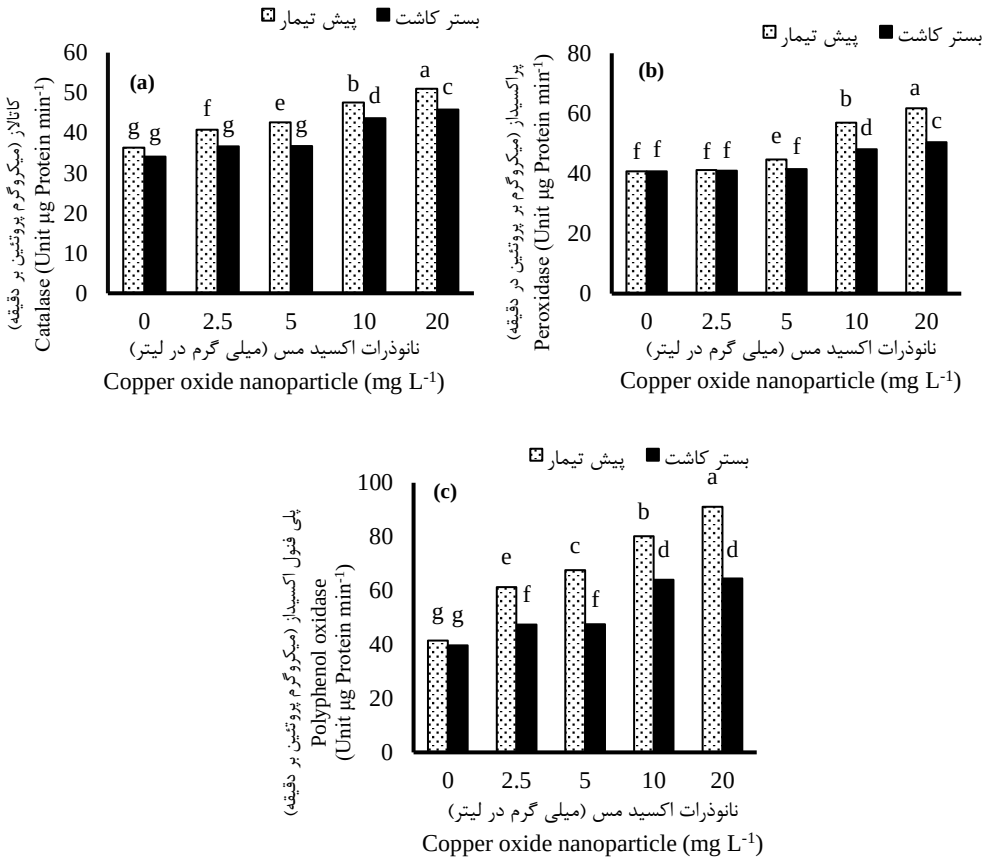
شکل ۶- تاثیر تیمارهای نانواکسید مس و روش‌های کاربرد بر شاخص قدرت (a) و محتوای پرولین (b) گیاهچه‌های ذرت
Figure 6. The effects of copper oxide nanoparticles and application methods treatments on vigor index (a) and proline content (b) of corn seedlings

محتوای پرولین: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر فاکتورهای نانواکسید مس و روش کاربرد و اثرمتقابل نانواکسید مس × روش‌های کاربرد بر محتوای پرولین گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۲). در هر دو روش کاربرد نانوذره، استفاده از غلظت‌های مختلف نانواکسید مس منجر به افزایش محتوای پرولین گیاهچه‌های ذرت نسبت به تیمار عدم کاربرد گردید. همان‌طور که در شکل

۶b مشاهده می‌شود، محتوای پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانواکسید مس به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد بود. با توجه به نتایج مشخص شد در این روش، بیش-ترین محتوای پرولین در تیمار کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از محتوای پرولین گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد و سایر تیمارهای مورد مطالعه بود. روش پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس منجر به افزایش ۹۴/۱۵ درصدی محتوای پرولین گیاهچه‌ها شد. در روش افزودن نانوذره به بستر کاشت، کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس منجر به افزایش ۷۴/۴۲ درصدی محتوای پرولین گیاهچه‌ها گردید (شکل ۶b). با توجه به نتایج به‌دست آمده از این مطالعه مشخص گردید که علاوه بر این‌که مس از عناصر ریز مغذی در گیاهان است که در حفظ متابولیسم طبیعی و رشد گیاه دارای اهمیت اساسی می‌باشد، اما با این حال مصرف بیش از اندازه آن نیز بر بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیک اثر بازدارندگی دارد. پرولین یکی از آنتی-اکسیدان‌های غیر آنزیمی است که باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود و در نتیجه منجر به بهبود جوانه‌نی و رشد گیاهچه می‌شود. در واقع ذخیره پرولین در بافت‌های گیاهی به‌دلیل کاهش تجزیه پرولین و افزایش بیوسنتز آن است (Wang *et al*., 2020c). بعضی از عناصر مانند روی (Zn)، کادمیوم (Cd) و مس (Cu) که در غلظت‌های بهینه برای رشد گیاه الزامی هستند در غلظت‌های بالا می‌توانند مانع رشد و متابولیسم گردند (Shaw and Hossain, 2013) که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. همچنین نتایج محققین نشان داد که پیش‌تیمار نمودن بذرهای برنج با نانواکسید مس باعث افزایش محتوای پرولین شده که دلیل این افزایش اثرات منفی نانواکسید مس در غلظت‌های بالا گزارش شده است که منجر به تنش فلزات سنگین شده و این امر محتوای پرولین گیاهچه‌های برنج را افزایش داد (Da Costa and Sharma 2016) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز): طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر فاکتورهای آزمایشی و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۲). فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان گیاهچه‌های حاصل از بذرهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانواکسید مس بیش‌تر از فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شاهد بود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز در گیاه باعث حذف گونه‌های فعال اکسیژن شده در نتیجه با محافظت از گیاهچه‌ها در برابر پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو فسفولیپیدهای غشایی باعث حفظ کیفیت و قدرت بذر می‌شود (Pawar and Laware, 2018; Ahmadi Nouraldinvand *et al*., 2021). در بین روش‌های کاربرد نانوذره، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانواکسید مس به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های حاصل از بذرهایی بود که نانوذره به بستر کاشت آن‌ها اضافه شده بود (شکل‌های ۷a، ۷b و ۷c).

در روش افزودن نانوذره به بستر کاشت، با افزایش غلظت نانواکسید مس میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز گیاهچه‌ها افزایش یافت اما بین غلظت‌های کم‌تر نانواکسید مس (۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس) و تیمار شاهد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، درحالی‌که بین تیمار شاهد و تیمارهای کاربرد غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس اختلاف معنی‌داری از نظر میزان فعالیت این آنزیم‌ها وجود داشت (شکل‌های ۷a و ۷b). کاربرد نانواکسید مس به‌صورت پیش‌تیمار بذر، با افزایش غلظت نانواکسید مس فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان کاتالاز و پلی‌فنول‌اکسیداز گیاهچه‌ها را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیش‌تیمار شده با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گیاهچه‌های حاصل از بذور شاهد و سایر تیمارها بود (شکل‌های ۷a، ۷b و ۷c).



شکل ۷- تأثیر تیمارهای نانواکسید مس و روش‌های کاربرد بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (a)، پراکسیداز (b) و پلی‌فنول-اکسیداز (c) گیاهچه‌های ذرت

Figure 7. The effect of copper oxide nanoparticles and application methods treatments on Catalase (a), peroxidase (b), and polyphenol oxidase enzymes activity (c) of corn seedling

به‌طوری‌که، با کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به روش پیش‌تیمار بذر به ترتیب منجر به افزایش ۴۰/۴۰ و ۵۱/۷۵ درصدی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد گردید (شکل‌های ۷a و ۷b). به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی با کاربرد غلظت‌های مختلف نانواکسید مس موجب شد تا محتوای پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی کاهش یافته و این امر منجر به بهبود جوانه‌زنی (شکل ۲a)، رشد گیاهچه (شکل ۵b) و بهبود شاخص قدرت بذر (شکل ۵a) شده است. نتایج یافته‌های این پژوهش با نتایج دیگر محققان همخوانی دارد (Rui *et al*., 2018; Shaw and Hossain, 2013).

نتیجه‌گیری کلی: به‌طور کلی در این پژوهش سعی شده است تا تأثیر غلظت و روش‌های کاربرد نانواکسید مس بر بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر، رشد و فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت سنجیده شود. در بین تیمارهای مورد استفاده، پیش‌تیمار نمودن بذرهای ذرت با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس و افزودن ۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید مس به بستر کشت موثرترین تیمارها برای بهبود جوانه‌زنی بذر و شاخص‌های رشدی گیاهچه‌های ذرت بودند. زیرا استفاده از این تیمارها منجر به افزایش خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گردید. از طرفی محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی تحت تأثیر نانواکسید مس و روش‌های کاربرد آن قرار گرفت و با افزایش غلظت نانواکسید مس در هر دو روش کاربرد آن منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز و همچنین افزایش محتوای اسید آمینه پرولین در گیاهچه‌های ذرت گردید. در بین روش‌های کاربرد نانوذره، پیش تیمار نمودن بذر با نانوذره در مقایسه با روش افزودن به بستر کشت مقدار کمتری از نانوذره مورد استفاده قرار می‌گیرد، بنابراین کاربرد نانواکسید مس به‌صورت پیش‌تیمار بذر از لحاظ زیست محیطی و اقتصادی می‌تواند روش مناسب‌تری باشد.

همچنین، در مطالعه حاضر نشان داده شد که غلظت نانواکسید مس نیازمند این است که در سطح پایین‌تری نگه‌داشته شود، زیرا این عنصر با توجه به مشخصه‌های اکسایشی-احیایی‌اش می‌تواند برای گیاه خاصیت سمی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه مسئول محترم آزمایشگاه بیوتکنولوژی و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی کمال تشکر را داریم.

منابع

Adhikari, T., Kundu, S., Biswas, A.K., Tarafdar, J.C. and Rao, A.S. 2012. Effect of copper oxide nano particle on seed germination of selected crops. Journal of Agricultural Science and Technology. A, 2(6A), p. 815. **(Journal)**

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126. **(Journal)**

Ahmadi Nouraldinvand, F., Seyed Sharifi, R., Siadat, S.A. and Khalilzadeh, R. 2021. Effect of water limitation and application of bio-fertilizer and nano-silicon on yield and some biochemical traits of wheat. Cereal Research, 10(4): 285-298. (In Persian) **(Journal)**

Ahmadi-Nouraldinvand, F., Afrouz, M., Elias, S.G. and Eslamian, S. 2022. Green synthesis of copper nanoparticles extracted from guar seedling under Cu heavy-metal stress by Trichoderma harzianum and their bio-efficacy evaluation against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Environmental Earth Sciences, 81(2): 1-10. **(Journal)**

Babayi, H., Kolo, I., Okogun, J.I. and Ijah, U.J.J. 2004. The antimicrobial activities of methanolic extracts of Eucalyptus camaldulensis and Terminalia catappa against some pathogenic microorganisms. Biokemistri, 16(2): 106-111. **(Journal)**

Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207. **(Journal)**

Buazar, F., Sweidi, S., Badri, M. and Kroushawi, F. 2019. Biofabrication of highly pure copper oxide nanoparticles using wheat seed extract and their catalytic activity: A mechanistic approach. *Green* Processing and Synthesis, 8(1): 691-702. **(Journal)**

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

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

Choukan, R., Heidary, A., Tashakori, A. and Kalantari, H. 2012. Hybrids (*Zea mays* L.) effects of different levels of drought stress on yield and yield components of corn. Journal of water and soil, 25(6): 1250- 1263. (In Persian)**(Journal)**

Da Costa, M.V.J. and Sharma, P.K. 2016. Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*. Photosynthetica, 54(1): 110-119. **(Journal)**

Ellis, R.H. and Roberts. E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science Technological, 9: 373-409. **(Journal)**

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

García-Gómez, C. and Fernández, M.D. 2019. Impacts of metal oxide nanoparticles on seed germination, plant growth and development. In Comprehensive Analytical Chemistry. Elsevier, 84: 75-124. **(Journal)**

Gautam, S., Misra, P., Shukla, P.K. and Ramteke, P.W. 2016. Effect of copper oxide nanoparticle on the germination, growth and chlorophyll in soybean (*Glycine max* L.). Vegetos, 29: 157-160. **(Journal)**

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

International Seed Testing Association (ISTA). 2017. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland. **(Handbook)**

Jahagirdar, A.S., Shende, S., Gade, A. and Rai, M. 2020. Bioinspired synthesis of copper nanoparticles and its efficacy on seed viability and seedling growth in mungbean (*Vigna radiata* L.). Current Nanoscience, 16(2): 246-252. **(Journal)**

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

Kausar, H., Mehmood, A., Khan, R.T., Ahmad, K.S., Hussain, S., Nawaz, F. and Ullah, T.S. 2022. Green synthesis and characterization of copper nanoparticles for investigating their effect on germination and growth of wheat. Plos one, 17(6): e0269987. **(Journal)**

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

Mehta, B.K., Chhajlani, M. and Shrivastava, B.D. 2017. Green synthesis of silver nanoparticles and their characterization by XRD. In Journal of Physics*:* Conference Series, 836 (1): 1-4. **(Journal)**

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

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

Nair, P.M.G. and Chung, I.M. 2015. The responses of germinating seedlings of green peas to copper oxide nanoparticles. Biologia Plantarum, 59(3): 591-595. **(Journal)**

Ortega-Ortiz, H., Gaucin-Delgado, J.M., Preciado-Rangel, P., Fortis-Hernandez, M., Hernandez-Montiel, L.G., La Cruz-Lazaro, E.D. and Liliana, L.C. 2022. Copper oxide nanoparticles biosynthetized improve germination and bioactive compounds in wheat sprouts. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 50(1): 12657-12657. **(Journal)**

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

Pawar, V.A. and Laware, S.L. 2018. Seed priming: A critical review. International Journal of Scientific Research in Biological Sciences, 5(5): 94-101. **(Journal)**

Pelegrino, M.T., Kohatsu, M.Y., Seabra, A.B., Monteiro, L.R., Gomes, D.G., Oliveira, H.C., Rolim, W.R., de Jesus, T.A., Batista, B.L. and Lange, C.N. 2020. Effects of copper oxide nanoparticles on growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings and possible implications of nitric oxide in their antioxidative defense. Environmental Monitoring and Assessment, 192(4): 1-14. **(Journal)**

Rajput, V., Minkina, T., Fedorenko, A., Sushkova, S., Mandzhieva, S., Lysenko, V., Duplii, N., Fedorenko, G., Dvadnenko, K. and Ghazaryan, K. 2018. Toxicity of copper oxide nanoparticles on spring barley (*Hordeum sativum distichum*). Science of the Total Environment, 645: 1103-1113. **(Journal)**

Ranal, M.A. and Santana, D.G.D. 2006. How and why to measure the germination process. Brazilian Journal of Botany, 29: 1-11. **(Journal)**

Rui, M., Ma, C., White, J.C., Hao, Y., Wang, Y., Tang, X., Yang, J., Jiang, F., Ali, A., Rui, Y. and Cao, W. 2018. Metal oxide nanoparticles alter peanut (*Arachis hypogaea* L.) physiological response and reduce nutritional quality: a life cycle study. Environmental Science: Nano, *5*(9): 2088-2102. **(Journal)**

Sarkar, J., Chakraborty, N., Chatterjee, A., Bhattacharjee, A., Dasgupta, D. and Acharya, K. 2020. Green synthesized copper oxide nanoparticles ameliorate defence and antioxidant enzymes in Lens culinaris. Nanomaterials, 10(2): 312. **(Journal)**

Shaw, A.K. and Hossain, Z. 2013. Impact of nano-CuO stress on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Chemosphere, 93(6): 906-915. **(Journal)**

Singh, A., Singh, N.B., Hussain, I., Singh, H. and Yadav, V. 2017. Synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles and its impact on germination of *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek. Tropical Plant Research, 4(2): 246-253. **(Journal)**

Subpiramaniyam, S., Hong, S.C., Yi, P.I., Jang, S.H., Suh, J.M., Jung, E.S., Park, J.S. and Cho, L.H. 2021. Influence of sawdust addition on the toxic effects of cadmium and copper oxide nanoparticles on Vigna radiata seeds. Environmental Pollution, 289: 117311. **(Journal)**

Thakur, N., Chrungoo, S., Rana, S., Kaur, S., Kaur, S. and Pathak, A. 2021. Effect of copper nanoparticles on In-vitro seed germination of Wheat (*Triticum Aestivum* L.) varieties. IJPSR, 12(8): 4307-4313. **(Journal)**

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

Wang, W., Liu, J., Ren, Y., Zhang, L., Xue, Y., Zhang, L. and He, J. 2020 a. Phytotoxicity Assessment of Copper Oxide Nanoparticles on the Germination, Early Seedling Growth, and Physiological Responses in *Oryza sativa* L. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 104(6): 770-777. **(Journal)**

Wang, W., Ren, Y., He, J., Zhang, L., Wang, X. and Cui, Z. 2020c. Impact of copper oxide nanoparticles on the germination, seedling growth, and physiological responses in *Brassica pekinensis* L. Environmental Science and Pollution Research, 27(25): 31505-31515. **(Journal)**

Wang, Z., Xie, X., Zhao, J., Liu, X., Feng, W., White, J.C. and Xing, B. 2012 b. Xylem-and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). Environmental science and technology, 46(8): 4434-4441. **(Journal)**

Wilhelm, M., Eberwein, G., Hölzer, J., Gladtke, D., Angerer, J., Marczynski, B., Behrendt, H., Ring, J., Sugiri, D. and Ranft, U. 2007. Influence of industrial sources on children's health–hot spot studies in North Rhine Westphalia, Germany. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 210(5): 591-599. **(Journal)**

Yadavi, A., Maghsoodi, E. and Janzadeh Deh Sheikh, J. 2019. The effect of copper sulphate on germination indices and morphophysiological characteristics of four wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Iranian Journal of Seed Sciences and Research, 6(1): 107-119. (In Persian)**(Journal)**

Yang, Z., Chen, J., Dou, R., Gao, X., Mao, C. and Wang, L. 2015. Assessment of the phytotoxicity of metal oxide nanoparticles on two crop plants, maize (*Zea mays* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). International Journal of Environmental Research and Public Health, 12(12): 15100-15109. **(Journal)**

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

Yusefzaee, F. and Pourakbar, L. 2017. The Effect of copper Nanoparticles and Copper chloride solution On Germination and solution some morphological and physiological factors *Ocimum basilicum* L. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 30(1): 221-231. (In Persian). **(Journal)**

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

Improvement of seed germination, growth and biochemical characteristics of corn seedlings via the application of copper oxide nanoparticles synthesized from eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*)

Mehdi Afrouz[1], Parisa Sheikhzadeh*[2]

Received: June 17, 2023 Accepted: August 29, 2023

Abstract

In order to evaluate the effect of copper oxide nanoparticles synthesized from eucalyptus plant on seed germination, growth and biochemical characteristics of corn seedlings, and an experiment was carried out in a randomized complete block design with three replications at the University of Mohaghegh Ardabili in 2021. Experimental factors included synthesized copper oxide nanoparticles (0, 2.5, 5, 10, and 20 mg L-1) and the application methods of copper oxide nanoparticles (seed priming and adding to the planting medium). The results showed that in both methods of nanoparticle application (adding to the planting medium and priming), with the use of different concentrations of copper oxide nanoparticles, there was a significant increase in the percentage and speed of germination, average daily germination, germination synchronization index, strength index, length and dry weight. Corn seedlings and the reduction of the average germination time, the time for the germination of corn seeds to 50%. Among the methods of nanoparticle application, pretreating seeds with a concentration of 2.5 mg L^{-1} of copper oxide nanoparticles and adding a concentration of 5 mg L^{-1} of nanoparticles to the planting medium has the greatest effect on improving the percentage and speed of germination, seed synchronization index, length and dry weight. Seedlings and vigor index and decreased average seed germination time. The use of different concentrations of copper oxide nanoparticles in both application methods increased the activity of catalase, peroxidase, polyphenol oxidase and amino acid proline content compared to the control treatment. In general, it is recommended to use a concentration of 2.5 mg L^{-1} of copper oxide nanoparticles as a seed priming method and add a concentration of 5 mg L^{-1} of nanoparticles to the planting medium to improve seed germination, growth and biochemical characteristics of corn seedlings.

Keywords: Antioxidant enzyme activity; Green Synthesis; Nanotechnology; Seed priming

How to cite this article
Afrouz, M. and Sheikhzadeh, P. 2023. Improvement of seed germination, growth and biochemical characteristics of corn seedlings via the application of copper oxide nanoparticles synthesized from eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*). Iranian Journal of Seed Science and Research, 10(2): 49-65. (In Persian)(Journal)
DOI: 10.22124/jms.2023.7608

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. Ph.D student of Crop Physiology, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. mehdiafrooz2ch@gmail.com
2. Associate Professor, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. sheikhzadehmp@gmail.com
*Corresponding author: sheikhzadehmp@gmail.com