



<https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en>

Journal of Plant Biological Sciences

E-ISSN: 3041-9603

Vol. 18, Issue 2, No. 68, 2026, pp. 1- 22

Received: 03/06/2026 Accepted: 20/07/2026

(Research Paper)

Effect of Iron Nanoparticles and Putrescine on Morphophysiological and Biochemical Traits of Medicinal Plant *Salvia officinalis* L. under Salinity Stress

Eshagh Sadati¹, Mahyar Gerami^{ID}*², Mohadeseh Amiri³

¹ Department of Horticultural Sciences, Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran

² Department of Biology, Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran

³ Department of Range and Watershed Management, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Abstract

To investigate the effect of foliar application of iron nanoparticles and putrescine (Put) on morphological, physiological, and biochemical traits of the medicinal plant *Salvia officinalis* L. under salinity stress, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design. The treatments included salinity at three levels (0, 75, and 150 mM sodium chloride), iron nanoparticles at four levels (0, 50, 100, and 200 ppm), and putrescine at three levels (0, 0.5, and 1 mM). The results showed that salinity stress significantly reduced morphological traits (plant height, leaf number, shoot fresh and dry weight) and chlorophyll content, while increasing the content of carotenoids, soluble sugars, proline, flavonoids, and the activity of catalase (CAT) and peroxidase (POD) enzymes. Application of iron nanoparticles (particularly at 200 ppm) and putrescine (1 mM) significantly mitigated the negative effects of salinity and enhanced all studied traits compared to the control treatment. The highest increase in shoot fresh and dry weight, total chlorophyll content, and antioxidant enzyme activity was observed in the combined treatment of iron nanoparticles (200 ppm) plus putrescine (1 mM). Based on the findings, the application of iron nanoparticles and putrescine can ameliorate the adverse effects of salinity stress in sage plants by improving growth, physiological, and biochemical traits.

Keywords: Antioxidant enzymes, Iron nanoparticles, Photosynthetic pigments, Putrescine, *Salvia officinalis* L., Salinity stress

*Corresponding Author: dr.mahyar.gerami@gmail.com



Introduction

Salvia officinalis L. is a valuable medicinal plant from the Lamiaceae family, widely used in pharmaceutical, food, and cosmetic industries due to its phenolic compounds, flavonoids, and essential oils. However, its cultivation faces salinity stress, which limits growth by inducing osmotic stress, causing ion imbalance, reducing photosynthesis, and increasing ROS production. The use of nanoparticles as nutritional elicitors and polyamines such as putrescine as growth regulators constitutes a novel strategy to enhance abiotic stress tolerance. Iron nanoparticles (Fe-NPs) reduce oxidative damage by enhancing the activity of antioxidant enzymes and chlorophyll synthesis. Putrescine contributes to osmotic adjustment, stabilizes membranes, and neutralizes free radicals. Despite previous studies, there is a lack of comprehensive data on their synergistic effects on *Salvia officinalis* under salinity. Thus, this study evaluated individual and combined effects of Fe-NPs and putrescine on improving salinity tolerance in *Salvia officinalis*.

Materials and Methods

A completely randomized factorial design with three replications was conducted in a greenhouse in 2025. Disinfected *Salvia officinalis* seeds were germinated, and uniform seedlings were transplanted into pots with perlite to peat moss (1:1 v/v) and irrigated with Hoagland solution (pH 5.5–5.7). Treatments included salinity (NaCl: 0, 75, 150 mM) applied via irrigation; Fe-NPs (0, 50, 100, 200 ppm); and putrescine (0, 0.5, 1 mM), with foliar sprays applied at five-day intervals (three total applications). Sampling was performed four weeks after the last treatment. Morphological traits—height, leaf number, shoot fresh weight, and dry weight (48 h at 75°C)—were recorded. Photosynthetic pigments were extracted from 0.5 g fresh leaf in 80% acetone, measured at 663, 645, and 470 nm, and calculated via Arnon's formulas. Soluble sugars were determined using the anthrone method at 620 nm with a glucose standard curve. Proline content was determined using the Bates method with ninhydrin reagent, and absorbance was read at 520 nm after toluene extraction. Total flavonoids were measured by aluminum chloride colorimetry at 506 nm using a catechin standard curve. Antioxidant enzymes were extracted from 0.5 g tissue in phosphate buffer containing EDTA. Catalase activity was assayed by monitoring the decrease in H₂O₂ absorbance at 240 nm according to Luck's method. Peroxidase activity was measured by monitoring tetraguaiacol formation at 470 nm according to Tang & Newton's method. DPPH scavenging activity was measured at 517 nm. All assays were performed with three replicates. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) using SAS 9.2, and means were compared by Duncan's multiple range test at the 5% significance level. Normality and homogeneity of variances were confirmed by Kolmogorov–Smirnov and Levene's tests, respectively.

Results and Discussion

Salinity significantly reduced all morphological traits and photosynthetic pigment contents ($p < 0.01$). At 150 mM salinity, height decreased from 22.71 to 16.78 cm (26%), leaf number decreased from 9.67 to 6.25 (35%), fresh weight decreased from 1.01 to 0.70 g (31%), dry weight decreased from 0.21 to 0.13 g (38%), and total chlorophyll decreased from 2.72 to 2.20 mg/g FW (19%). These reductions resulted from impaired water and nutrient uptake, reduced turgor, chloroplast degradation, and decreased anabolic enzyme activity. Conversely, Fe-NPs at 200 ppm increased height by 36.26%, leaf number by 27.42%, fresh weight by 20.73%, and dry weight by 18.75%. Putrescine at 1 mM similarly increased height (20.92 cm), leaf number (8.30), fresh weight (0.94 g), and dry weight (0.19 g). The interaction between Fe-NPs and putrescine was significant for fresh and dry weight ($p < 0.01$), with the highest values in the NFe3Pu2 treatment (200 ppm Fe-NPs and 1 mM putrescine). For photosynthetic pigments, Fe-NPs at 100 and 200 ppm increased total chlorophyll by 20.45% and 20% over the control, respectively, while putrescine (1 mM) increased it by 12.28%. Salinity increased carotenoids by 20% (to 0.12 mg/g FW at 150 mM), indicating their protective role against oxidative stress. The Fe-NPs $\times$ salinity interaction showed that at 150 mM salinity, 200 ppm Fe-NPs raised total chlorophyll by 25% over the control, confirming the role of iron (supplied via Fe-NPs) in preserving chloroplast integrity. Biochemically, salinity elevated soluble sugars (11.67%), proline (12.68%), flavonoids (20.78%), catalase

(28.33%), peroxidase (20.53%), and DPPH (10.04%), indicating activation of the plant's defense system. Fe-NPs and putrescine, individually or in combination, further enhanced these parameters. The NFe3Pu2 treatment exhibited the highest soluble sugars (172.91 mg/g FW), proline (38 µg/g FW), flavonoids (30.29 mg quercetin/g FW), catalase (18.09 ΔA/mg protein/min), and peroxidase (4.28 U/mg protein/min), corresponding to increases of 13.4%, 19.7%, 31.4%, 41%, and 24% over the control, respectively. The putrescine × salinity interaction was also significant for sugars, proline, and flavonoids; at 150 mM salinity, 1 mM putrescine increased soluble sugars by 13%. These increases can be attributed to iron-mediated activation of catalase and peroxidase, which neutralizes ROS, and to putrescine-induced membrane stabilization, which prevents lipid peroxidation and enhances osmotic regulation through proline and sugar accumulation. The synergistic effect is attributed to complementary mechanisms—enhanced antioxidant defense by iron and membrane protection by putrescine—leading to improved water uptake, enhanced photosynthesis, reduced oxidative damage, and increased secondary metabolite production.

Conclusion

Salvia officinalis showed relative tolerance to salinity up to 75 mM, whereas growth was severely restricted at 150 mM NaCl. The combined treatment of Fe-NPs (200 ppm) and putrescine (1 mM) was the most effective strategy to mitigate salinity stress, improving morphological traits, photosynthetic pigments, enzymatic and non-enzymatic antioxidants, and compatible metabolites (proline and soluble sugars), which ultimately increased biomass. Considering the medicinal value of *Salvia officinalis* and the extensive saline lands in Iran, this combined treatment is recommended for integration into nutritional and stress management programs for cultivation in saline areas. Further field-scale studies, along with investigations into essential oil quantity and quality, are recommended.

تأثیر نانوذره آهن و پوترسین بر صفات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تنش شوری

اسحاق ساداتی^۱، مهیار گرامی^{۲*}، محدثه امیری^۳

^۱ گروه علوم باغبانی، مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری، ایران

^{۲*} گروه زیست شناسی، مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری، ایران

^۳ گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

چکیده

جهت بررسی تأثیر محلول پاشی نانوذره آهن و پوترسین بر صفات ریخت شناسی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی شامل شوری در سه سطح (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم)، نانوذره آهن در چهار سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام) و پوترسین در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) بودند. نتایج نشان دادند تنش شوری سبب کاهش معنی دار صفات ریخت شناسی (ارتفاع، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی) و محتوای کلروفیل شد، در حالی که میزان کاروتنوئید، قند محلول، پرولین، فلاونوئید و فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت. کاربرد نانوذره آهن (به ویژه در غلظت ۲۰۰ پی پی ام) و پوترسین (یک میلی مولار) به طور معنی داری اثرات منفی شوری را کاهش داده و مقادیر همه صفات مورد پژوهش را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. بیشترین افزایش در وزن تر و خشک اندام هوایی، کلروفیل کل و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در تیمار ترکیبی نانوذره آهن (۲۰۰ پی پی ام) همراه با پوترسین (یک میلی مولار) مشاهده شد. بر اساس یافته ها، کاربرد نانوذرات آهن و پوترسین می تواند با بهبود فاکتورهای رشد، صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، اثرات سوء تنش شوری را در گیاه مریم گلی تعدیل نماید. آنزیم های آنتی اکسیدانی، پوترسین، رنگیزه های فتوسنتزی، شوری، مریم گلی، نانوذره آهن

واژه های کلیدی: آنزیم های آنتی اکسیدانی، پوترسین، رنگیزه های فتوسنتزی، شوری، مریم گلی، نانوذره آهن

*Corresponding Author: dr.mahyar.gerami@gmail.com



مقدمه

گیاهان دارویی از محصولات مهم اقتصادی با کاربرد وسیع در طب سنتی و مدرن به صورت خام یا فرآوری شده هستند. استفاده روزافزون از آنها به عدم امکان سنتز صنعتی بسیاری از مواد مؤثره طبیعی، عوارض جانبی داروهای شیمیایی و نیاز به اسانس‌ها و مواد مؤثره طبیعی در تولید سایر ترکیبات شیمیایی نسبت داده می‌شود (Madady et al., 2025). مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) از خانواده نعنائیان، در طب سنتی جایگاه ویژه‌ای داشته و برگ‌های آن حاوی ترکیباتی نظیر دیترپن، سالوین، فلاونوئیدهای دی‌ترپنی، اسیدهای فنولیک و تانن‌هاست (Salimpour et al., 2014). این گیاه برای ضدعفونی و ترمیم زخم، کاهش قند خون در افراد سالم و بیماران دیابتی، تسکین دردهای مفصلی، سرگیجه، میگرن و بی‌نظمی قاعدگی کاربرد داشته و به واسطه داشتن آنتی‌اکسیدان‌های غنی از کلسیم، منیزیم، روی و پتاسیم گشادکننده عروق هستند (Kalvandi et al., 2014).

تولید مواد مؤثره در گیاهان دارویی نه تنها تابع عوامل ژنتیکی است، بلکه متأثر از شرایط محیطی نیز می‌باشد. رشد و بازدهی گیاهان همواره توسط تنش‌های زنده و غیرزنده محیطی محدود می‌شود (Ghorbani et al., 2018). از میان تنش‌های غیرزنده، تنش شوری به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل کاهنده رشد و عملکرد گیاه شناخته می‌شود. انباشت یون‌ها در بافت‌های گیاهی منجر به تنش اسمزی، اختلال در تعادل یونی و جذب عناصر غذایی، و در نهایت کاهش رشد گیاه می‌شود (Vojodi Mehrabani, 2023). در شرایط شوری، روزنه‌ها بسته شده و فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه با اختلال مواجه می‌شوند (Türkan & Demiral, 2009). تداوم تنش شوری سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و گونه‌های فعال نیتروژن شده و گیاه با فعال‌سازی سامانه‌های دفاعی آنزیمی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموناز، پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز) و غیرآنزیمی (تجمع ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، آسکوربیک اسید، گلوکاتیون و کاروتنوئیدها) از خود مقاومت نشان می‌دهد (Pérez-Labrada et al., 2019).

امروزه به منظور کاهش اثرات زیان‌بار شوری و افزایش تحمل گیاهان در خاک‌های شور، استفاده از محرک‌های زیستی و غیرزیستی توصیه می‌شود. در این میان، نانوذرات به علت سطح ویژه بالا و ابعاد خاص خود، کاربرد گسترده‌ای یافته‌اند (Cao et al., 2018). نفوذ سریع و آسان تر نانوذرات به درون غشای سلولی، توجه بسیاری از پژوهشگران را به

خود جلب کرده است (Narimani et al., 2024). پوشش‌دهی کودها با ذرات نانو، آزادسازی کنترل‌شده عناصر غذایی را فراهم کرده و از تثبیت آنها جلوگیری می‌کند (Vanacker et al., 1995).

آهن عنصر ضروری برای سلامت گیاه است که در فعالیت‌های آنزیمی فتوسنتز و تنفس نقش کلیدی دارد (Bhatia et al., 2025). کاربرد برون‌زای آهن با القای تولید گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو، محرکی قوی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه است (Adabavazeh et al., 2023). بنابراین، نانوکود آهن منبعی قابل اطمینان و غنی از آهن دوظرفیتی برای گیاهان محسوب می‌شود (Rezaiean Joybari et al., 2024).

در سال‌های اخیر، استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد نظیر پلی‌آمین‌ها نیز به‌عنوان راهکاری نوین برای تعدیل اثرات مخرب تنش‌های محیطی در گیاهان مطرح شده است. این ترکیبات در فرآیندهایی نظیر رشد، نمو و پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده نقش مؤثری دارند (Gerami et al., 2019). پلی‌آمین‌ها با انباشت در بافت گیاهی به مولکول‌های آنیونی نظیر پروتئین‌ها، فسفولیپیدهای غشایی و پلی‌ساکاریدهای پکتینی متصل شده و از DNA در برابر تجزیه آنزیمی و آسیب رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در شرایط تنش محافظت می‌کنند (El-Lethy et al., 2010). پوترسین با خاصیت آنتی‌اکسیداتیوی خود تعادل کاتیون-آنیون را برقرار کرده و از کاهش شدید عناصر غذایی حتی در شرایط تنش شدید جلوگیری می‌کند. همچنین، با خنثی‌سازی اثرات منفی سدیم و کلر، شدت شوری را کاهش و تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (Mohseni Mohammadjanlou et al., 2023). پژوهش‌های پیشین نشان دادند اثرات نانوذره آهن و پوترسین در شرایط تنش به عواملی مانند غلظت، اندازه، واکنش‌پذیری، ساختار شیمیایی و گونه گیاهی وابسته است. از جمله این پژوهش‌ها می‌توان به بررسی اثر پوترسین بر رشد، فتوسنتز و ترکیبات آلکالوئیدی گیاه تاتوره (*Datura stramonium* L.) در پاسخ به شوری تحت شرایط هیدروپونیک (Niakan et al., 2015)، پاسخ صفات مورفوفیزیولوژیک کلزا (*Brassica napus* L.) به کاربرد نانوذرات آهن تحت تنش شوری (Kashani et al., 2019)، تأثیر سلنیوم و نانوذره آهن بر رشد و عملکرد شمعدانی عطری تحت تنش شوری (Vojodi Mehrabani et al., 2022)، و اثر محرک‌های نانوذره آهن و پوترسین بر صفات عملکردی و فیزیولوژیک گیاه کاملینا

فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و درصد مهار رادیکال آزاد) اندازه گیری شدند.

ارزیابی صفات ریخت‌شناسی

تعداد برگ در هر گلدان شمارش و ارتفاع گیاهان با خط کش بر حسب سانتیمتر اندازه گیری شد. همچنین وزن تر اندام هوایی با ترازو تعیین شد. برای سنجش وزن خشک (بیوماس)، نمونه‌های تر به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد قرار گرفته و سپس با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند.

ارزیابی صفات فیزیولوژیک

سنجش رنگی‌های فتوسنتزی: میزان رنگی‌های فتوسنتزی با روش Arnon (1949) تعیین شد. بدین منظور، ۰/۵ گرم از برگ جوان در ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شده و عصاره صاف شده در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل SPECORD®200، شرکت Analytik Jena، آلمان) خوانده شد. مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد:

رابطه ۱:

$$\text{Chl a} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) V / 100W$$

رابطه ۲:

$$\text{Chl b} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) V / 100W$$

رابطه ۳:

$$\text{Car} = (1000A_{470} - 1.82\text{Chla} - 85.02 \text{Chlb}) / 198$$

که در آن، V حجم استون استفاده شده، W وزن نمونه گیاهی و A جذب نوری عصاره به میلی‌گرم بر لیتر است.

بررسی صفات بیوشیمیایی

اندازه‌گیری میزان قند محلول: برای استخراج قند محلول، ۰/۱ گرم بافت تازه در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد خرد شده و به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری قرار داده شد. عمل استخراج توسط اتانول ۴ بار تکرار شد. عصاره‌های الکلی جمع‌آوری و در ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا الکل تبخیر شود. برای حذف کلروفیل، عصاره به نسبت ۱:۵ با کلروفرم مخلوط شده و پس از ورتکس و سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه، ۱۰۰۰ دور در دقیقه)، فاز شفاف بالایی جدا شد.

(Rezaiean Joybari et al., 2024) اشاره کرد.

با وجود پژوهش‌های پیشین، شکاف علمی همچنان در دو حوزه باقی مانده است. نخست آنکه بیشتر پژوهش‌ها به‌صورت مجزا به بررسی اثر نانوذرات آهن یا پوترسین پرداخته‌اند و اطلاعات اندکی در مورد اثرات متقابل و هم‌افزایی این دو ماده وجود دارد. همچنین علی‌رغم ارزش دارویی و اقتصادی بالای گیاه مریم گلی، تاکنون هیچ پژوهشی به بررسی تأثیر هم‌زمان نانوذره آهن و پوترسین بر بهبود تحمل به شوری در این گیاه نپرداخته است. این شکاف علمی، ضرورت انجام پژوهش حاضر را توجیه می‌نماید. نوآوری این پژوهش در بررسی هم‌زمان نانوذره آهن به‌عنوان محرک تغذیه‌ای و آنتی‌اکسیدانی و پوترسین به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد و محافظ غشاء بر پاسخ‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مریم گلی تحت تنش شوری است. ترکیب این دو ماده توسط سازوکارهای مکمل، یعنی تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی توسط آهن و تثبیت غشاء توسط پوترسین، می‌تواند اثرات هم‌افزایی ایجاد کرده و تحمل به شوری بیش از کاربرد جداگانه هر یک افزایش دهد. بدین منظور، تأثیر جداگانه و توأم دو ماده نانوذرات آهن و پوترسین بر صفات ریخت‌شناسی، میزان سبزی‌نگی و برخی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم گلی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی مؤسسه آموزش عالی سنا واقع در شهرستان ساری در سال ۱۴۰۴ اجرا شد. بذور مریم گلی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و پس از جوانه‌زنی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های حاوی پرلیت و پیت‌ماس منتقل و با محلول هوگلند (pH: ۵/۵-۵/۷) تغذیه شدند. تیمارها شامل شوری در سه سطح (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) به صورت آبیاری، نانوذره آهن در چهار سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) و پوترسین در سه سطح (۰، ۵/۵ و ۱ میلی‌مولار) به صورت محلول‌پاشی بودند. چهار هفته پس از اعمال تیمارها، صفات ریخت‌شناسی (ارتفاع، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی)، فیزیولوژیک (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) و بیوشیمیایی (قند محلول، پرولین، فلاونوئید،

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

استخراج محلول آنزیمی: برای استخراج آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز، ۰/۵ گرم از نمونه برگ در هاون چینی کاملاً سرد همراه با نیتروژن مایع سائیده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات سرد (pH=۷) حاوی ۰/۵ میلی‌مولار EDTA به آن اضافه شد. هموژن‌های حاصل به لوله‌های آزمایش منتقل شده و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. برای جلوگیری از اثرات مخرب انجماد و ذوب مکرر، محلول آنزیمی تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Sairam et al., 2002).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز با اندازه‌گیری افزایش جذب در ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه در مخلوط واکنش شامل بافر فسفات، EDTA، پراکسید هیدروژن و عصاره آنزیمی تعیین شد. فعالیت بر اساس تشکیل تتراگایاکول و ضریب خاموشی ۶/۲۶ میلی‌مول بر سانتی‌متر طبق رابطه (۶) محاسبه شد (Tang & Newton, 2005). یک واحد فعالیت به عنوان مقدار آنزیمی تعریف می‌شود که یک میکرومول تتراگایاکول در دقیقه به ازای هر میکروگرم پروتئین تشکیل دهد.

رابطه ۶

$$\text{Activity} = \frac{\Delta A_{470} \times V_t \times 10^6}{26.6 \times V_s \times C_p \times t}$$

که در آن، ΔA_{470} تغییرات جذب در دقیقه در طول موج ۴۷۰ نانومتر، V_t حجم کل محلول واکنش و V_s حجم عصاره آنزیمی مورد استفاده بر حسب میلی‌لیتر، C_p غلظت پروتئین عصاره و t زمان یک دقیقه است.

فعالیت آنزیم کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Luck (1974) اندازه‌گیری شد (Aebi, 1974). بدین‌منظور، ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با ۹۸۰ میکرولیتر بافر فسفات حاوی ۲ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن مخلوط شد. کاهش جذب ناشی از تجزیه پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر اسپکتروفوتومتر طی یک دقیقه ثبت شد. محلول جذب زمینه برای دستگاه شامل تمامی موارد مورد استفاده به جز عصاره آنزیمی استخراج شده بود. میزان پراکسید هیدروژن تجزیه شده توسط ضریب خاموشی ۳۹/۴ میلی‌مول بر سانتی‌متر محاسبه و فعالیت آنزیم کاتالاز بر حسب تغییرات جذب پراکسید هیدروژن بر میکروگرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

اندازه‌گیری قند توسط روش آنترون بر اساس روش McCready et al. (1950) انجام شد. بدین‌منظور، ۲۰۰ میکرولیتر عصاره با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از سرد شدن، جذب در طول موج ۶۲۰ نانومتر توسط رابطه (۴) اندازه‌گیری شد. برای تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر معرف آنترون، ابتدا ۷۶ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد با ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شد و پس از سرد شدن، ۱۵۰ میلی‌گرم آنترون در آن حل گردید. این معرف در ظرف کهربایی نگهداری شد. رابطه ۴:

$$SS = \frac{C \times V_{\text{extract}} \times D}{W \times 1000}$$

که در آن، C معادله خط ($C=a \times A+b$) یا غلظت قند حاصل از منحنی استاندارد بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر، V_{extract} حجم نهایی عصاره پس از استخراج و تبخیر الکل بر حسب میلی‌لیتر، D ضریب رقت، W وزن بافت تر معادل ۰/۱ گرم است.

اندازه‌گیری غلظت پرولین: نیم گرم برگ تازه گیاه با اسید سولفوسالسیلیک سه درصد هموژن شد. به ۲ میلی‌لیتر از هموژن، ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین افزوده و به مدت یک ساعت در حمام آب جوش با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. واکنش با قرار دادن نمونه‌ها در یخ متوقف شد. سپس، ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد و جذب فاز رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد و رابطه مربوطه بر مبنای وزن تر محاسبه و با ضریب تبیین ۰/۹۸۳۹ بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر (C) محاسبه شد (Bates et al., 1973).

رابطه ۵:

$$y=0.0075x+0.0429$$

سنجش مقدار فلاونوئید کل: فلاونوئید کل با روش کالری‌متری آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری شد (Du et al., 2009). برای انجام آن، ۱۵۰ میکرولیتر عصاره با اتانول ۳۰ درصد، نیتريت سدیم و کلرید آلومینیوم مخلوط شده و پس از ۵ دقیقه، هیدروکسید سدیم یک میلی‌مولار اضافه شد. پس از ۱۰ الی ۱۵ دقیقه، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۰۶ نانومتر خوانده شد. مقدار فلاونوئید کل توسط منحنی استاندارد کاتچین به معادله خط $y = 0.0022x + 0.024$ با ضریب تبیین ۰/۹۸۷ محاسبه و بر حسب میلی‌گرم کاتچین در گرم وزن تازه بیان شد.

آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد و داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد گزارش شدند.

نتایج

تأثیر نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر صفات مورفولوژیک گیاه مریم گلی: نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر صفات ریخت‌شناسی مورد بررسی (ارتفاع، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی) در سطوح یک و پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین، اثر متقابل نانوذره آهن و پوترسین بر وزن تر و خشک اندام هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار شد. در مقابل، اثرات متقابل دوگانه (نانوذره آهن $\times$ شوری و پوترسین $\times$ شوری) و سه گانه تیمارها بر صفات ریخت‌شناسی معنی‌دار نبود (جدول ۱).

درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH): جهت اندازه‌گیری مهار رادیکال آزاد، ۲ میلی‌لیتر از عصاره با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۰۰۴ درصد) مخلوط شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد قرائت شد. درصد مهار رادیکال آزاد (%I) هر نمونه با رابطه ذیل (Miliauskas et al., 2004) محاسبه شد:

رابطه ۷:

$$\%I = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 10$$

آنالیز آماری

پیش از تجزیه و تحلیل، نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کلموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس خطاهای آزمایشی با آزمون لون بررسی شد. داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه در نرم‌افزار SAS 9.2 تحلیل شدند. مدل آماری شامل اثر ثابت تیمارها بود. در صورت معنی‌دار شدن اثر تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد، مقایسه میانگین‌ها با

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر برخی صفات ریخت‌شناسی گیاه مریم گلی

Table 1-ANOVA of iron nanoparticle, putrescine, and salinity effects on some morphological traits of *Salvia officinalis*

Source of variations	df	Mean of squares			
		Height	Number of leaves	Wet weight of arial parts	Dry weight of arial parts
Iron nanoparticle (I)	3	43.63**	7.71**	19.90**	6.51**
Putrescine (Pu)	2	7.16**	3.15*	16.44**	11.71**
I $\times$ Pu	6	0.87 ^{ns}	1.19 ^{ns}	6.27**	3.69**
Salinity (S)	2	67.10**	48.37**	76.16**	52.81**
I $\times$ S	6	0.36 ^{ns}	0.40 ^{ns}	0.71 ^{ns}	0.23 ^{ns}
Pu $\times$ S	4	0.66 ^{ns}	1.18 ^{ns}	1.64 ^{ns}	1.41 ^{ns}
I $\times$ Pu $\times$ S	12	0.50 ^{ns}	0.08 ^{ns}	1.17 ^{ns}	0.86 ^{ns}
Error	72	2.181	1.475	0.111	0.033
CV (%)		10.984	8.305	12.718	11.315

** معنی‌دار در سطح یک درصد، * معنی‌دار در سطح پنج درصد، ^{ns} غیر معنی‌دار

** Significant at the level of 1%, * Significant at the level of 5%, ^{ns} non-significant

نشان دادند. بیشترین ارتفاع (۲۰/۹۲ سانتی‌متر) و تعداد برگ (۸/۳۰ عدد) در غلظت یک میلی‌مولار پوترسین ثبت شد. همچنین وزن تر و خشک اندام هوایی در همین سطح به ترتیب با ۱۸/۹۸ و ۲۶/۶۶ درصد افزایش نسبت به شاهد، بیشترین مقادیر را به خود اختصاص دادند. با افزایش غلظت شوری، کلیه صفات ریخت‌شناسی روند کاهشی داشتند و بیشترین کاهش در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد (جدول ۲)

مقایسه میانگین اثر ساده نانوذره آهن بر صفات ریخت‌شناسی گیاه مریم گلی نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره آهن، تمامی این صفات روند افزایشی داشتند. بیشترین مقادیر ارتفاع (۲۶/۳۶ درصد افزایش)، تعداد برگ (۲۷/۴۲ درصد)، وزن تر (۲۰/۷۳ درصد) و وزن خشک (۱۸/۷۵ درصد) اندام هوایی نسبت به شاهد، در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن مشاهده شد. با افزایش سطح پوترسین نیز صفات ریخت‌شناسی روند افزایشی

جدول ۲- مقایسه میانگین برخی صفات ریخت‌شناسی گیاه مریم گلی تحت سطوح مختلف نانوذره آهن، پوترسین و شوری

Table 2- Mean comparisons of some morphological traits of *Salvia officinalis* under different levels of iron nanoparticle, putrescine, and salinity

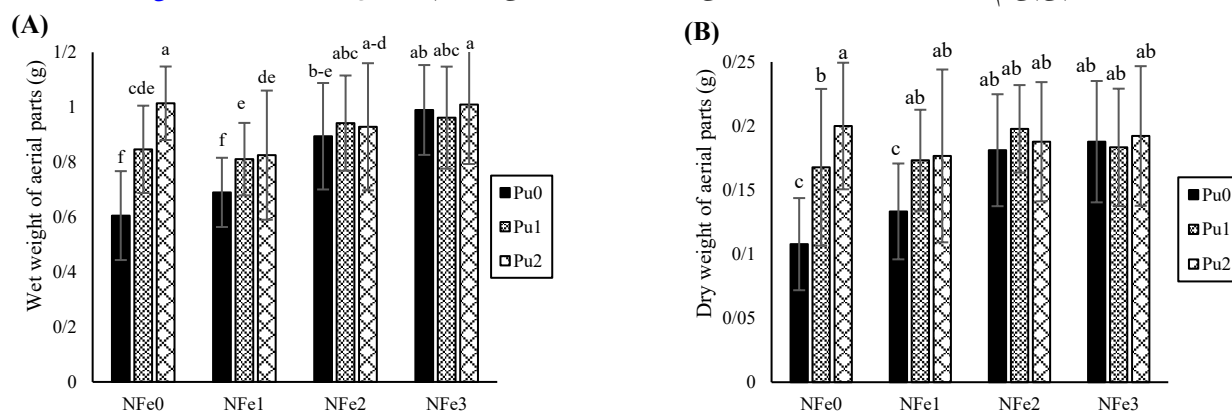
Treatment	Height	Number of leaves	Wet weight of arial parts	Dry weight of arial parts
NFe0	16.85±3.43 ^d	7.00±1.92 ^c	0.82±0.22 ^c	0.16±0.06 ^b
NFe1	18.33±3.45 ^c	7.85±1.89 ^b	0.77±0.17 ^c	0.16±0.05 ^b
NFe2	21.30±3.23 ^b	7.89±2.21 ^b	0.92±0.19 ^b	0.19±0.04 ^a
NFe3	22.96±3.02 ^a	8.92±1.94 ^a	0.99±0.18 ^a	0.19±0.05 ^a
LSD	4.759	1.05	0.08	0.02
Pu0	19.00±3.85 ^b	7.44±1.89 ^b	0.79±0.22 ^c	0.15±0.05 ^b
Pu1	19.67±4.12 ^b	8.00±2.10 ^{ab}	0.89±0.17 ^b	0.18±0.04 ^a
Pu2	20.92±4.03 ^a	8.30±2.21 ^a	0.94±0.21 ^a	0.19±0.05 ^a
LSD	1.230	0.832	0.063	0.019
S0	22.71±3.12 ^a	9.67±1.77 ^a	1.01±0.17 ^a	0.21±0.05 ^a
S1	20.08±3.37 ^b	7.83±1.46 ^b	0.92±0.16 ^b	0.19±0.04 ^b
S2	16.78±3.26 ^c	6.25±1.40 ^c	0.70±0.15 ^c	0.13±0.03 ^c
LSD	1.230	0.832	0.063	0.019

در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means with at least one letter are not significantly different at the 5% level. NFe0–NFe3 correspond to 0, 50, 100, and 200 ppm, respectively; Pu0–Pu2 are 0, 0.5, and 1 mM; and S0–S2 are 0, 75, and 150 mM.

پوترسین نسبت به شاهد، روند افزایشی در این صفات نشان داد. بیشترین مقادیر وزن تر و خشک اندام هوایی در تیمار ترکیبی NFe3Pu2 (۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن و یک میلی‌مولار پوترسین) مشاهده شد (شکل ۱).

مقایسه میانگین اثر متقابل نانوذره آهن و پوترسین نشان داد که در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن، افزایش غلظت پوترسین منجر به افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی شد. در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره نیز تیمار یک میلی‌مولار



شکل ۱- اثر متقابل سطوح مختلف نانوذره آهن و پوترسین بر وزن تر و وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه مریم گلی. در هر تیمار حرف یا حروف مشترک نشانه عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

Figure 1- The interaction effects of different levels of iron nanoparticles and putrescine on the wet weight and dry weight of aerial parts in *Salvia officinalis*. In each treatment, common letters indicate non-significant differences at the 5% level. NFe0–NFe3 correspond to 0, 50, 100, and 200 ppm, respectively; Pu0–Pu2 are 0, 0.5, and 1 mM.

کاروتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار شد. علاوه بر این، اثر متقابل نانوذره آهن و شوری و همچنین اثر متقابل سه گانه (نانوذره آهن، پوترسین و شوری) تنها برای صفات کلروفیل b و کلروفیل کل معنی‌دار بود (جدول ۳).

تأثیر نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه مریم گلی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر تمامی رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل نانوذره آهن و پوترسین نیز بر کلیه رنگیزه‌ها به جز

جدول ۳- تجزیه واریانس شد ANOVA اثر نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه مریم گلی

Table 3- ANOVA of iron nanoparticle, putrescine, and salinity effects on photosynthetic pigments content of *Salvia officinalis*

Source of variations	df	Mean of squares			
		Chlorophyll <i>a</i>	Chlorophyll <i>b</i>	Total chlorophyll	Carotenoid
Iron nanoparticle (I)	3	65.86**	8.04**	132.71**	27.96**
Putrescine (Pu)	2	44.51**	3.80**	88.56**	6.44**
I × Pu	6	9.28**	14.83**	34.46**	1.20 ^{ns}
S	2	95.63**	44.45**	283.44**	51.25**
I × S	6	0.68 ^{ns}	2.87*	3.43**	0.55 ^{ns}
Pu × S	4	1.34 ^{ns}	1.30 ^{ns}	0.61 ^{ns}	0.55 ^{ns}
I × Pu × S	12	1.08 ^{ns}	2.22*	2.30*	0.51 ^{ns}
Error	72	0.112	0.082	0.095	0.011
CV (%)		6.222	12.004	3.811	10.195

** معنی‌دار در سطح یک درصد، * معنی‌دار در سطح پنج درصد، ^{ns} غیرمعنی‌دار

** Significant at the level of 1%, * Significant at the level of 5%, ^{ns} non-significant.

شد. غلظت یک میلی‌مولار پوترسین بیشترین مقادیر را به خود اختصاص داد، به‌طوری‌که کلروفیل کل در این سطح نسبت به شاهد ۱۲/۲۸ درصد افزایش یافت. همچنین با افزایش سطوح شوری، مقادیر کلروفیل روند کاهشی داشت و بیشترین کاهش در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد. در مقابل، میزان کاروتنوئید با افزایش شوری روند افزایشی نشان داد و بیشترین مقدار آن (۲۰ درصد افزایش نسبت به شاهد) در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری ثبت شد (جدول ۴).

مقایسه میانگین اثر ساده نانوذره آهن بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه مریم گلی نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره، مقادیر این صفات نسبت به شاهد روند افزایشی داشت. بیشترین افزایش کلروفیل کل در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب با ۲۰/۴۵ و ۲۰ درصد نسبت به نمونه شاهد ثبت شد. همچنین، بیشترین مقدار کاروتنوئید (۰/۱۲ میلی گرم بر گرم بافت تر) در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن مشاهده شد که نسبت به شاهد ۲۰ درصد افزایش نشان داد. سطوح مختلف پوترسین موجب افزایش مقادیر کلروفیل

جدول ۴- مقایسه میانگین محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه مریم گلی تحت سطوح مختلف نانوذره آهن، پوترسین و شوری

Table 4- Mean comparisons of photosynthetic pigments content in *Salvia officinalis* under different levels of iron nanoparticle, putrescine, and salinity

Treatment	Chlorophyll <i>a</i>	Chlorophyll <i>b</i>	Total chlorophyll	Carotenoid
NFe0	1.58±0.28 ^c	0.62±0.14 ^b	2.20±0.36 ^c	0.10±0.02 ^c
NFe1	1.75±0.21 ^b	0.72±0.17 ^a	2.47±0.31 ^b	0.10±0.02 ^c
NFe2	1.94±0.18 ^a	0.71±0.14 ^a	2.65±0.25 ^a	0.11±0.01 ^b
NFe3	1.94±0.22 ^a	0.69±0.11 ^a	2.64±0.28 ^a	0.12±0.01 ^a
LSD	0.080	0.059	0.068	0.008
Pu0	1.68±0.33 ^c	0.67±0.15 ^b	2.36±0.34 ^c	0.10±0.02 ^b
Pu1	1.80±0.22 ^b	0.67±0.12 ^b	2.47±0.28 ^b	0.10±0.02 ^b
Pu2	1.93±0.19 ^a	0.72±0.16 ^a	2.65±0.26 ^a	0.11±0.01 ^a
LSD	0.063	0.046	0.054	0.006
S0	1.94±0.24 ^a	0.79±0.09 ^a	2.72±0.27 ^a	0.10±0.02 ^b
S1	1.88±0.22 ^b	0.67±0.11 ^b	2.55±0.25 ^b	0.10±0.01 ^b
S2	1.59±0.23 ^c	0.60±0.17 ^c	2.20±0.31 ^c	0.12±0.01 ^a
LSD	0.063	0.046	0.053	0.006

در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means with at least one letter are not significantly different at the 5% level.

NFe0–NFe3 correspond to 0, 50, 100, and 200 ppm, respectively; Pu0–Pu2 are 0, 0.5, and 1 mM; and S0–S2 are 0, 75, and 150 mM.

میلی‌مولار شوری، بیشترین مقادیر کلروفیل کل در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره به ترتیب با ۲/۳۶ و ۲/۳۲ میلی گرم بر گرم بافت تر ثبت شد که نسبت به شاهد به ترتیب ۲۶/۸۸ و ۲۴/۷۳ درصد افزایش داشت (جدول ۵).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل نانوذره آهن و شوری نشان داد که در سطوح مختلف شوری (۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار)، افزایش غلظت نانوذره آهن منجر به افزایش مقادیر کلروفیل *b* و کلروفیل کل نسبت به شاهد شد. در سطح ۱۵۰

جدول ۵- اثر متقابل سطوح مختلف نانوذره آهن و شوری بر مقدار کلروفیل b، کلروفیل کل و فعالیت کاتالاز در گیاه مریم گلی

Table 5- The interaction effects of different levels of iron nanoparticle and salinity on chlorophyll b, total chlorophyll, and catalase activity in *Salvia officinalis*

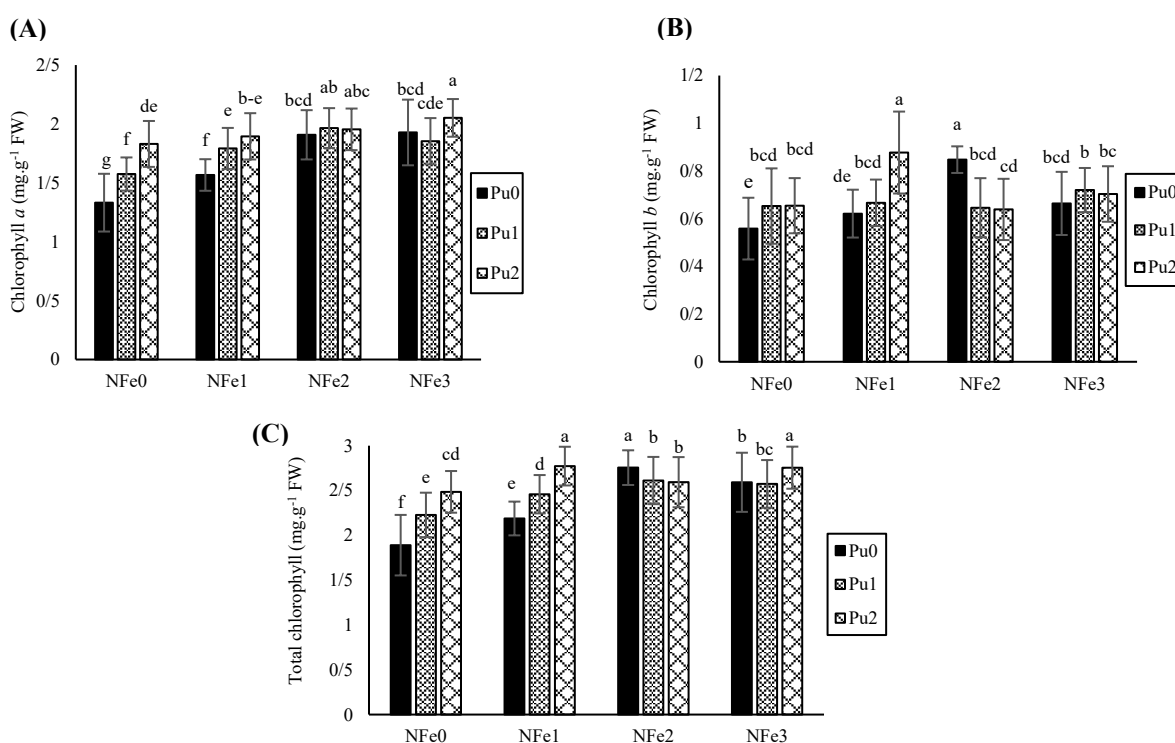
Salinity (mM)	Iron nanoparticle (ppm)	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Catalase
0	0	0.73 ^{bcd}	2.42 ^{cd}	11.50 ^f
	50	0.81 ^{ab}	2.67 ^b	12.64 ^c
	100	0.78 ^{abc}	2.87 ^a	13.78 ^d
	200	0.82 ^a	2.93 ^a	15.34 ^c
75	0	0.66 ^{ef}	2.32 ^{ef}	12.13 ^{ef}
	50	0.67 ^{def}	2.49 ^c	13.04 ^{de}
	100	0.72 ^{cde}	2.73 ^b	13.94 ^d
	200	0.64 ^{ef}	2.67 ^b	15.77 ^c
150	0	0.48 ^g	1.86 ^g	15.02 ^c
	50	0.68 ^{def}	2.26 ^f	15.18 ^c
	100	0.63 ^f	2.36 ^{de}	17.78 ^b
	200	0.63 ^f	2.32 ^{ef}	20.33 ^a

در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means with at least one letter are not significantly different at the 5% level.

شاهد ۶/۷۷ درصد افزایش نشان داد (شکل ۲A). در سطوح ۵۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن، افزایش غلظت پوترسین موجب افزایش کلروفیل b و کلروفیل کل نسبت به شاهد شد. بیشترین مقادیر این دو صفت در تیمار NFe1Pu2 (۵۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن همراه با یک میلی‌مولار پوترسین) مشاهده شد (شکل ۲B و ۲C).

نتایج نشان داد که در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن، افزایش غلظت پوترسین منجر به افزایش کلروفیل a شد. در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن، تنها تیمار یک میلی‌مولار پوترسین (NFe3Pu2) روند افزایشی نسبت به شاهد داشت. بیشترین مقدار کلروفیل a (۲/۰۵ میلی‌گرم بر گرم بافت تر) در تیمار NFe3Pu2 ثبت شد که نسبت به



شکل ۲- اثر متقابل سطوح مختلف نانوذره آهن و پوترسین بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در گیاه مریم گلی. در هر تیمار حرف یا حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

Figure 2- Interaction effects of varying iron nanoparticle and putrescine levels on chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll content in *Salvia officinalis*. In each treatment, common letter(s) indicate non-significant differences at the 5% level.

NFe0–NFe3 correspond to 0, 50, 100, and 200 ppm, respectively; Pu0–Pu2 are 0, 0.5, and 1 mM.

تأثیر نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر صفات**بیوشیمیایی گیاه مریم گلی: نتایج تجزیه واریانس**

نشان داد که اثرات ساده نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر کلیه صفات بیوشیمیایی (قند محلول، پرولین و فلاونوئید) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) و DPPH در سطح یک درصد معنی‌دار بود.

اثر متقابل نانوذره آهن و پوترسین بر تمامی صفات بیوشیمیایی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به جز DPPH

معنی‌دار گزارش شد. اثر متقابل نانوذره آهن و شوری تنها بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح یک درصد معنی‌دار بود. همچنین، اثر متقابل پوترسین و شوری فقط بر صفات بیوشیمیایی مورد بررسی در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. در مقابل، اثر متقابل سه‌گانه (نانوذره آهن، پوترسین و شوری) بر هیچ‌یک از صفات بیوشیمیایی و آنزیمی معنی‌دار نبود (جدول ۶).

جدول ۶- تجزیه واریانس ANOVA اثر تیمارهای نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر صفات بیوشیمیایی ارزیابی شده در گیاه مریم گلی تحت سطوح

مختلف نانوذره آهن و پوترسین

Table 6- ANOVA of the effects of iron nanoparticles, putrescine and salinity on biochemical traits evaluated in *Salvia officinalis* under different levels of iron nanoparticle and putrescine

Source of variations	df	Mean of squares					
		Soluble sugar	Proline	Flavonoid	Catalase	Peroxidase	DPPH
Iron nanoparticle (I)	3	76.87**	90.05**	86.62**	100.81**	31.20**	4.89**
Putrescine (Pu)	2	11.68**	50.11**	67.82**	36.06**	21.67**	7.91**
I × Pu	6	3.78**	4.78**	9.41**	2.84*	5.09**	1.51 ^{ns}
S	2	102.25**	83.50**	158.49**	161.38**	53.36**	8.33**
I × S	6	1.60 ^{ns}	1.98 ^{ns}	1.90 ^{ns}	3.47**	0.90 ^{ns}	0.67 ^{ns}
Pu × S	4	2.74*	2.81*	2.51*	0.99 ^{ns}	0.83 ^{ns}	0.90 ^{ns}
I × Pu × S	12	0.91 ^{ns}	1.73 ^{ns}	1.83 ^{ns}	1.22 ^{ns}	1.22 ^{ns}	0.90 ^{ns}
Error	72	5.460	1.293	1.190	0.975	0.307	4.633
CV (%)		3.423	3.949	4.776	6.636	8.468	9.943

** معنی‌دار در سطح یک درصد، * معنی‌دار در سطح پنج درصد، ^{ns} غیر معنی‌دار

** Significant at the level of 1%, * Significant at the level of 5%, ^{ns} non-significant

با افزایش غلظت نانوذره آهن، کلیه صفات بیوشیمیایی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی روند افزایشی نشان دادند.

بیشترین مقادیر معنی‌دار این صفات در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن نسبت به شاهد مشاهده شد. افزایش

غلظت پوترسین موجب افزایش تمامی صفات مورد بررسی شد. در غلظت یک میلی‌مولار پوترسین، مقدار قند

محلول با ۱۶۲/۶۶ میلی‌گرم بر گرم، مقدار پرولین با ۳۴/۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، مقدار فلاونوئید با ۲۶/۸۰

میلی‌گرم کوئرستین بر گرم، فعالیت آنزیم کاتالاز با

۱۵/۸۳ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه، مقدار پراکسیداز با ۳/۸۹ واحد آنزیمی بر میکروگرم پروتئین در دقیقه و مقدار DPPH با ۴۹/۰۳ درصد، نسبت به شاهد به ترتیب ۳/۹۷، ۸/۳۱، ۱۲/۲۲، ۱۲/۲۶، ۱۳/۴۱ و ۶/۸۶ درصد افزایش نشان دادند. با افزایش سطوح شوری (۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار)، مقادیر تمامی صفات بیوشیمیایی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی روند افزایشی نشان داد. بیشترین مقادیر این صفات در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری ثبت شد (جدول ۷).

جدول ۷- مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی ارزیابی شده در گیاه مریم گلی تحت سطوح مختلف نانوذره آهن، پوترسین و شوری

Table 7- Mean comparisons of biochemical traits evaluated in *Salvia officinalis* under different levels of iron nanoparticle, putrescine, and salinity

Treatment	Soluble sugar	Proline	Flavonoid	Catalase	Peroxidase	DPPH
NFe0	150.85±11.86 ^c	31.16±3.14 ^c	23.03±3.28 ^c	12.88±2.11 ^d	3.34±0.45 ^c	44.70±5.05 ^c
NFe1	152.94±10.03 ^c	30.83±2.68 ^c	23.35±2.77 ^c	13.62±1.72 ^c	3.64±0.59 ^b	45.20±5.81 ^{bc}
NFe2	163.85±9.95 ^b	33.03±1.92 ^b	25.73±2.57 ^b	15.17±2.25 ^b	3.44±0.51 ^c	47.65±4.90 ^{ab}
NFe3	170.35±8.09 ^a	35.98±2.39 ^a	27.56±3.00 ^a	17.15±2.58 ^a	4.08±0.44 ^a	48.83±5.05 ^a
LSD	3.908	0.926	0.852	0.698	0.219	3.316
Pu0	156.44±13.24 ^c	31.86±3.22 ^b	23.88±3.36 ^b	14.10±2.59 ^b	3.43±0.49 ^b	45.88±5.68 ^b
Pu1	159.39±12.97 ^b	31.88±3.14 ^b	24.06±2.96 ^b	14.18±2.77 ^b	3.56±0.55 ^b	44.87±4.66 ^b
Pu2	162.66±11.59 ^a	34.51±2.76 ^a	26.80±3.20 ^a	15.83±2.48 ^a	3.89±0.58 ^a	49.03±5.13 ^a
LSD	3.080	0.729	0.671	0.550	0.173	2.613
S0	152.02±10.77 ^c	30.91±3.05 ^c	22.95±2.96 ^c	13.31±1.92 ^b	3.36±0.44 ^b	44.33±4.92 ^b
S1	156.70±11.48 ^b	32.51±3.04 ^b	24.08±2.71 ^b	13.72±1.76 ^b	3.46±0.54 ^b	46.67±5.48 ^a
S2	169.77±8.71 ^a	34.83±2.46 ^a	27.72±2.62 ^a	17.08±2.62 ^a	4.05±0.47 ^a	48.78±5.04 ^a
LSD	3.079	0.729	0.671	0.550	0.173	2.613

در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means with at least one letter are not significantly different at the 5% level. NFe0–NFe3 correspond to 0, 50, 100, and 200 ppm, respectively; Pu0–Pu2 are 0, 0.5, and 1 mM; and S0–S2 are 0, 75, and 150 mM.

مقایسه میانگین اثر متقابل نانوذره آهن و پوترسین بر مقادیر صفات قند محلول، پرولین و فلاونوئید گیاه مریم گلی حاکی از آن بود که در سطوح مختلف نانوذره آهن (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام)، افزایش غلظت پوترسین موجب افزایش مقادیر این صفات شد. بیشترین مقادیر قند محلول (۱۷۲/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، پرولین (۳۸ میکروگرم بر گرم وزن تر) و مقدار فلاونوئید (۳۰/۲۹ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم) در تیمار ترکیبی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن همراه با یک میلی‌مولار پوترسین مشاهده شد.

در سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن، افزایش غلظت پوترسین منجر به افزایش فعالیت کاتالاز شد. بیشترین مقادیر این آنزیم در غلظت یک میلی‌مولار پوترسین به ترتیب با ۱۴/۹۳، ۱۶/۰۸ و ۱۸/۰۹ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه ثبت شد. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار NFe3Pu2 (۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره آهن همراه با یک میلی‌مولار پوترسین) مشاهده شد که نسبت به نمونه شاهد ۲۴/۴۱ درصد افزایش نشان داد (جدول ۸).

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل نانوذره آهن و پوترسین بر برخی از صفات بیوشیمیایی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم گلی

Table 8- Mean comparisons of the interaction effects of iron nanoparticle, putrescine, and salinity on some biochemical traits and antioxidant enzymes in *Salvia officinalis*

Iron nanoparticle (ppm)	Putrescine (mM)	Soluble sugar	Proline	Flavonoid	Catalase	Peroxidase
0	0	152.93 ^{de}	31.75 ^{de}	23.91 ^{ef}	12.83 ^f	3.44 ^d
	0.5	148.87 ^c	29.31 ^f	21.61 ^g	11.60 ^g	3.24 ^{de}
	1	150.76 ^c	32.44 ^{cd}	23.58 ^{ef}	14.22 ^{de}	3.34 ^{de}
50	0	148.24 ^c	28.91 ^f	21.26 ^g	12.54 ^f	3.27 ^{de}
	0.5	151.51 ^c	30.54 ^e	22.92 ^f	13.38 ^{ef}	3.45 ^d
	1	159.07 ^c	33.03 ^c	25.86 ^c	14.93 ^d	4.19 ^a
100	0	157.21 ^{cd}	32.05 ^{cd}	24.38 ^{de}	14.84 ^d	3.14 ^e
	0.5	166.43 ^b	32.45 ^{cd}	25.35 ^{cd}	14.59 ^d	3.44 ^d
	1	167.91 ^{ab}	34.59 ^b	27.46 ^b	16.08 ^c	3.75 ^c
200	0	167.41 ^b	34.71 ^b	25.99 ^c	16.20 ^c	3.86 ^{bc}
	0.5	170.74 ^{ab}	35.23 ^b	26.38 ^{bc}	17.14 ^b	4.11 ^{ab}
	1	172.91 ^a	38.00 ^a	30.29 ^a	18.09 ^a	4.28 ^a

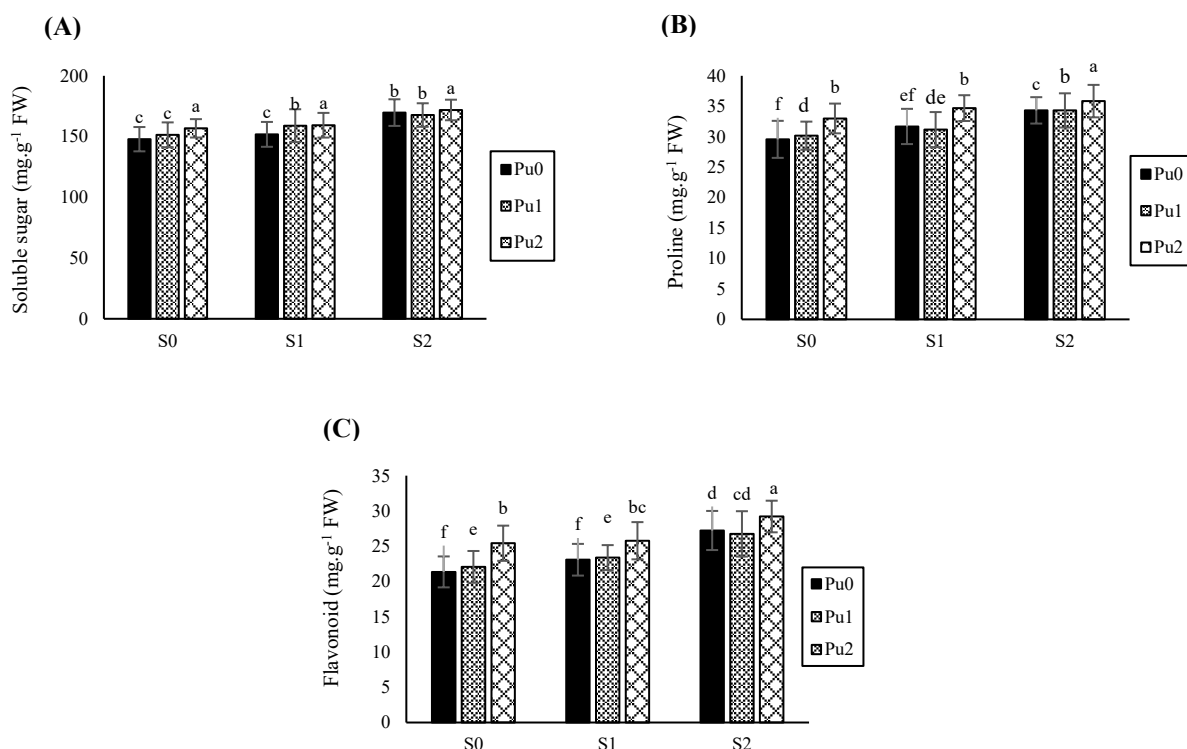
در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means with at least one letter are not significantly different at the 5% level.

در سطوح ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار شوری، افزایش غلظت این صفت (۱۷۱/۸۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ترکیبی ۱۵۰ میلی‌مولار شوری و یک میلی‌مولار پوترسین بیشترین مقدار

شد. در سطح ۱۵۰ میلی مولار شوری، تنها غلظت یک میلی مولار پوترسین مقدار فلاونوئید را نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۳C).

ثبت شد (شکل ۳A). با افزایش سطح شوری در غلظت یک میلی مولار پوترسین، مقدار پرولین نسبت به شاهد روند افزایشی نشان داد (شکل ۳B). در سطح ۷۵ میلی مولار شوری، افزایش غلظت پوترسین منجر به افزایش فلاونوئید

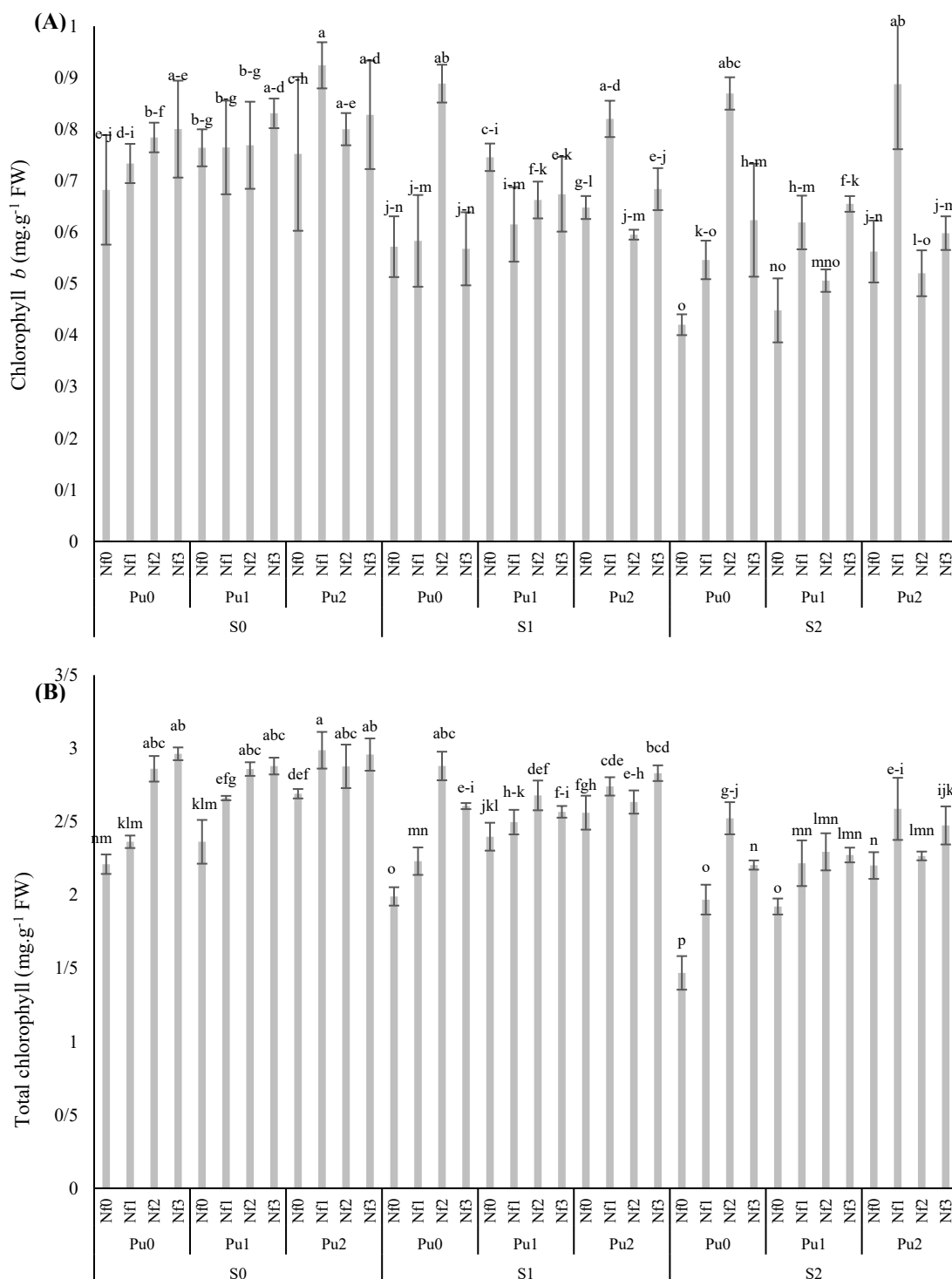


شکل ۳- اثر متقابل سطوح مختلف پوترسین و شوری بر میزان قند محلول، پرولین و فلاونوئید در گیاه مریم گلی. در هر تیمار حرف یا حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است.

Figure 3- The interaction effects of different levels of putrescine and salinity on soluble sugar, proline, and flavonoid content in *Salvia officinalis*. In each treatment, common letters indicate non-significant differences at the 5% level. Pu0-Pu2 are 0, 0.5, and 1 mM; and S0-S2 are 0, 75, and 150 mM.

(۵۰ پی پی ام نانوذره آهن، یک میلی مولار پوترسین و ۱۵۰ میلی مولار شوری) با مقدار ۰/۸ میلی گرم بر گرم بافت تر ثبت شد (شکل ۴A). مقایسه میانگین اثر متقابل نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر مقدار کلروفیل کل نیز نشان داد که در سطوح ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار شوری و سطوح مختلف پوترسین، افزایش غلظت نانوذره آهن موجب افزایش کلروفیل کل نسبت به شاهد شد (شکل ۴B).

مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه (نانوذره آهن، پوترسین و شوری) بر مقدار کلروفیل b حاکی از آن بود که در سطح ۷۵ میلی مولار شوری و غلظت یک میلی مولار پوترسین، کاربرد ۵۰ پی پی ام نانوذره آهن موجب افزایش این صفت نسبت به شاهد شد. در سطح ۱۵۰ میلی مولار شوری و سطوح ۰/۵ و یک میلی مولار پوترسین، افزایش غلظت نانوذره آهن منجر به افزایش کلروفیل b شد. بیشترین افزایش (۳۵/۷۶ درصد) در تیمار NFe₁Pu₂S₂



شکل ۴- اثر متقابل سطوح مختلف نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر محتوای کلروفیل b و کلروفیل کل در گیاه مریم گلی. در هر تیمار حرف یا حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است.

Figure 4- The interaction effects of different levels of iron nanoparticles, putrescine, and salinity on chlorophyll b and total chlorophyll content in *Salvia officinalis*. In each treatment, common letters indicate non-significant differences at the 5% level. NFe0–NFe3 correspond to 0, 50, 100, and 200 ppm, respectively; Pu0–Pu2 are 0, 0.5, and 1 mM; and S0–S2 are 0, 75, and 150 mM.

بحث

این صفات را کاهش داد که احتمالاً به کاهش محتوای

کلروفیلی مرتبط است. تنش شوری با ایجاد تغییرات متابولیکی، جذب آب و مواد غذایی را مختل کرده و با کاهش پتانسیل اسمزی و فشار تورژسانس، موجب کاهش

یافته‌های این پژوهش نشان داد که افزایش غلظت نانوذره آهن و پوترسین موجب بهبود صفات ریخت‌شناسی گیاه مریم گلی شد، در حالی که تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار)

آهن به عنوان منبع آهن، از سنتز کلروفیل پشتیبانی کرده و در بهبود زنجیره انتقال الکترون و فعالیت فتوفسفوریلاسیون نقش مهمی دارند. این ترکیبات با افزایش غلظت و سرعت جذب CO_2 درون سلولی، موجب افزایش سرعت فتوسنتز می‌شوند (Bakhshi et al., 2023). مطابق با نتایج این پژوهش، پژوهش‌های پیشین بر روی کلزا (Kashani et al., 2019)، اسطوخودوس (Vojodi Mehrabani, 2023) و گیاهچه‌های استبرق (Adabavazeh et al., 2023) نیز تأثیر مثبت نانوذرات آهن بر افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی را تأیید نموده‌اند. فراهمی بهینه عنصر آهن در ساختار نانو موجب فعال شدن فرآیندهای فیزیولوژیکی کلروفیل‌سازی و بهبود فرآیند فتوسنتز می‌شود (Baghai & Maleki Farahani, 2014). آهن نقش مهمی در تشکیل کلروفیل و فتوسنتز داشته و از اهمیت زیادی در سیستم آنزیمی و تنفس گیاهان برخوردار است. همچنین، موجب افزایش تنظیم‌کننده‌های رشد، افزایش سرعت فتوسنتز و انتقال مواد فتوسنتزی به مخازن اصلی گیاه نظیر دانه‌ها می‌شود (Bayati et al., 2015).

علاوه بر نانوذره آهن، برخی پژوهشگران بر استفاده از پوترسین به علت خواص آنتی‌اکسیدانی، جلوگیری از تخریب کلروفیل و حفاظت بیشتر از غشا در شرایط تنش شوری تأکید کرده‌اند (Gerami et al., 2019; Niakan et al., 2015). پوترسین با افزایش قابلیت دسترسی به مواد مغذی و بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک، اثرات ناشی از شوری را تعدیل می‌کند. افزایش بیوسنتز پلی‌آمین‌ها می‌تواند از گیاه در برابر شوری به وسیله حذف رادیکال‌های آزاد، تثبیت غشای تیلاکوئیدی و ساختارهای سلولی توسط کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها محافظت کند (Niakan et al., 2015). پلی‌آمین‌ها همچنین به طور مستقیم به گروه‌های اسیدی فسفولیپیدها روی لایه‌های غشای پلاسمایی متصل می‌شوند و از این طریق بر پایداری و خاصیت نفوذپذیری غشاءها تأثیر گذاشته و نشت یونی را کاهش می‌دهند. در

طول سلول‌ها و در نتیجه محدود شدن رشد گیاه و ارتفاع آن می‌شود. پژوهش‌های پیشین نیز کاهش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و تعداد برگ در گیاه ریحان (Gerami et al., 2024) و کاهش ارتفاع گندم (Narimani et al., 2024) را تحت تنش شوری گزارش کرده‌اند. این کاهش رشد به تجمع نمک در ریزوسفر، عدم تعادل عناصر غذایی و اختلال در متابولیسم طبیعی گیاه نسبت داده شده است (Dubey, 2016). در چنین شرایطی، محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی و محرک‌هایی مانند پوترسین می‌تواند مقاومت گیاه به شوری را افزایش دهد. پژوهش Rezaiean Joybari et al. (2024) نشان داد که کاربرد نانوذره آهن و پوترسین عملکرد گیاه کاملینا را بهبود بخشید. آهن به عنوان یک عنصر کلیدی در واکنش‌های اکسایش-احیاء و فتوسنتز، سبب افزایش رشد و زیست‌توده گیاه می‌شود (Rostami et al., 2020). همچنین پلی‌آمین‌هایی نظیر پوترسین در فرآیندهای رشد، تقسیم سلولی و تمایز نقش داشته و با افزایش جذب هیدروکربن در اندام هوایی، وزن تر و خشک گیاه را افزایش می‌دهند (Abdi & Jabbarzadeh, 2022).

نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش غلظت نانوذره آهن و پوترسین موجب افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. با افزایش سطح شوری، مقادیر کلروفیل کاهش، اما مقدار کاروتنوئید افزایش نشان داد. گزارش‌های مشابهی از کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش شوری در گیاه استویا وجود دارد (Gerami et al., 2019). در این رابطه، Elhakem (2020) بیان نمود که شوری با کاهش شاخص سبزیگی برگ، هدایت روزنه‌ای و محتوای نسبی آب، سرعت فتوسنتز و تولید مواد فتوسنتزی را کاهش می‌دهد. کاهش رنگیزه‌ها با افزایش شوری ممکن است به تخریب ساختمان کلروپلاست، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها یا واکنش با اکسیژن منفرد نسبت داده شود (Ashraf & Harris, 2013).

در مقابل اثرات مخرب شوری بر رنگیزه‌ها، نانوذرات

واقع، پلی آمین ها با حفظ ساختار تیلاکوئیدها و میزان کلروفیل توسط تعامل با بار منفی غشاءها اثر خود را اعمال می کنند (Abdi & Jabbarzadeh, 2022). تنش اسمزی حاصل از تنش شوری موجب کاهش محتوای آب سلول ها شده و طولیل شدن سلول ها با مشکل مواجه می شود (Rostami et al., 2020). پوترسین با اتصال به فسفولیپیدهای غشاء و پروتئین های غشایی، از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کرده و یکپارچگی غشا را در شرایط شوری حفظ می کند. این ترکیب همچنین با تنظیم اسمزی، به افزایش قدرت جذب آب در شرایط نامساعد محیطی کمک می کند (Rezaiean Joybari et al., 2024). با توجه به اینکه محتوای کلروفیل تحت تأثیر مدیریت تغذیه ای گیاه قرار داشته و نیتروژن نقش کلیدی در آن دارد، به نظر می رسد کاربرد پلی آمین ها به علت داشتن نیتروژن در ساختار خود، مقدار کلروفیل را تحت تأثیر قرار دهند. همچنین، پلی آمین ها با نقش حفاظتی در برابر غشای تیلاکوئید و از طریق برهمکنش با بار منفی غشاءها، مانع از تجزیه کلروفیل می شوند (Abdi & Jabbarzadeh, 2022; Mohseni et al., 2023).

افزایش میزان کاروتنوئیدها با افزایش غلظت شوری به این علت است که این رنگیزه ها علاوه بر ایفای نقش در جمع آوری نور و فتوسنتز، خاصیت آنتی اکسیدانی داشته و دستگاه فتوسنتزی را در برابر آسیب نوری-اکسیداتیو محافظت می کنند (Sperdouli & Moustakas, 2012). نتایج مشابهی مبنی بر افزایش محتوای کاروتنوئید با افزایش سطح شوری توسط Samsami et al. (2025) گزارش شد. همچنین درباره اثر متقابل نانوذره آهن و شوری مشخص شد که در سطوح مختلف شوری، افزایش غلظت نانوذره منجر به افزایش مقادیر کلروفیل b و کلروفیل کل نسبت به شاهد شد که نشان دهنده نقش تعدیل کنندگی نانوذره آهن در شرایط تنش شوری است.

تیمارهای مورد استفاده موجب افزایش معنی دار فعالیت

آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز و درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH) شدند. آنزیم کاتالاز از مهم ترین آنزیم های دخیل در جمع آوری و خنثی سازی گونه های فعال اکسیژن (ROS) است و در شرایط افزایش ROS ناشی از تنش، در سم زدایی شرکت می کند (Sunkar, 2020). این یافته ها با گزارش Azad et al. (2017) مبنی بر تأثیر مثبت نانوکلات آهن در افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در گیاه بابونه همخوانی دارد. پژوهشگران همچنین گزارش کرده اند که با افزایش سطح پوترسین، فعالیت این آنزیم ها روند صعودی معنی داری نشان می دهد. نانوذرات توانایی کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان را توسط افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش سطح ROS دارا هستند (Narimanzadeh et al., 2025). در پژوهش های دیگر، Hasanpournezhad & Ranjbar (2019) و Kashani et al. (2019) بیان نمودند که کاربرد پوترسین با بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی و حذف رادیکال های آزاد اکسیژن، موجب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی می شود. کاهش گونه های فعال اکسیژن و افزایش پایداری غشاء، موجب پایداری شاخص های فلورسانس کلروفیل و هدایت روزنه ای در گیاه متعاقب کاربرد پوترسین تحت تنش شوری می شود (Mohammadi Kale Sarlou et al., 2025). پلی آمین ها می توانند به عنوان غیرفعال کننده رادیکال های آزاد و نیز با اتصال به مولکول های پروتئین که در ساختار آنزیم ها تأثیر دارند، عمل کنند. پلی آمین ها به طور مستقیم یا از طریق کاهش گونه های فعال اکسیژن سبب افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی می شوند (Abdi & Jabbarzadeh, 2022). ماهیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات، احتمالاً مربوط به مهار آنزیم NADPH اکسیداز و ممانعت از تجمع رادیکال های سوپر اکسید است (Gerami et al., 2019).

اثرات ساده نانوذره آهن، پوترسین و شوری بر صفات بیوشیمیایی (قندهای محلول، پرولین و فلاونوئید) گیاه معنی دار بود و افزایش این تیمارها موجب افزایش مقادیر این

رادیکال‌های آزاد شده و از اکسیداسیون چربی‌های غشا جلوگیری می‌کند (Isah, 2019).

در بررسی اثر همزمان نانوذره آهن و پوترسین بر صفات بیوشیمیایی، با افزایش همزمان غلظت نانوذره آهن و پوترسین، مقادیر تمام صفات بیوشیمیایی مورد بررسی به جز DPPH افزایش یافت. Hasanpourneshad & Ranjbar (2019) دریافتند که کاربرد توأم سرب و پوترسین به‌عنوان القاگر موجب کاهش DPPH می‌شود. همچنین، گزارش شده که مقادیر قند محلول و پرولین (Vojodi Mehrabani, 2023)، فلاونوئید (Bakhshi et al., 2025) و DPPH (Bakhshi et al., 2025; Bakhshi et al., 2023; Gerami et al., 2019) در تمام غلظت‌های نانوذرات آهن و پوترسین نسبت به شاهد افزایش یافت که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. احتمالاً یکی از دلایل افزایش فلاونوئیدها در اثر محلول‌پاشی با نانوذره آهن، افزایش فتوسنتز و اختصاص کربوهیدرات بیشتر به مسیر اسیدشیکمیک باشد که نهایتاً موجب افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه می‌شود. بدین ترتیب، گیاه در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت می‌شود (Vojodi Mehrabani, 2023).

جمع‌بندی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنش شوری تأثیر منفی بر صفات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مریم گلی داشت. از سوی دیگر، کاربرد نانوذره آهن و پوترسین به‌طور معنی‌داری اثرات سوء شوری را کاهش داد. گیاه مریم گلی توانایی تحمل شوری تا سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم را نشان داد. بر اساس یافته‌ها، استفاده از تیمار ترکیبی نانوذره آهن (۲۰۰ پی‌پی‌ام) و پوترسین (یک میلی‌مولار) مؤثرترین راهکار برای تعدیل تنش شوری در این گیاه بود. توسعه پژوهش‌ها در این زمینه می‌تواند امکان کشت مریم گلی را در اراضی شور و غیرقابل کشت فراهم آورد.

صفات شد. در شرایط شوری، کاهش سرعت جذب CO_2 فتوسنتزی به دنبال کاهش ظرفیت فتوشیمیایی، موجب کاهش کلروفیل و آسیب به انتقال الکترون فتوسنتزی و در نتیجه کاهش تولید قند می‌شود (Rezaiean Joybari et al., 2024). در گزارش دیگری اعلام شد که شوری سبب افزایش قندهای نامحلول در میوه‌های تاتوره می‌شود، در حالی که محتوای قندهای محلول کاهش می‌یابد (Ali, 2000). نتایج پژوهش‌های متعدد حاکی از تأثیر مثبت کاربرد نانوذرات آهن (Adabavazeh et al., 2023) و پوترسین (Niakan et al., 2015) بر افزایش قندهای محلول در گیاهان تحت شرایط تنش است. به نظر می‌رسد با در دسترس قرار گرفتن آهن مورد نیاز برای واکنش‌های آنزیمی درگیر در متابولیسم قندها، متابولیسم قند و پروتئین افزایش می‌یابد (Adabavazeh et al., 2023). افزودن پوترسین نیز موجب حفظ آنزیم‌های کلیدی فتوسنتز از آسیب‌های ناشی از نمک و افزایش تولید قندهای محلول در گیاه می‌شود (Niakan et al., 2015).

تحت تنش شوری، بیان ژن آنزیم دلتا-۱-پرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) که نقش کلیدی در سنتز پرولین دارد، افزایش می‌یابد. در نتیجه، سنتز و تجمع پرولین در اندام‌های گیاه افزایش می‌یابد (Khosravian et al., 2022). افزایش سنتز پرولین در اثر تنش شوری ناشی از تحریک سنتز آن از اسیدگلوتامیک، کاهش انتقال آن از آوند آبکش و جلوگیری از اکسیداسیون پرولین طی تنش است (Zhang et al., 2021). به‌طور مشابه، افزایش غلظت پرولین در پاسخ به تنش شوری توسط پژوهشگرانی از جمله Samsami et al. (2025) گزارش شده است. علاوه بر این، در شرایط تنش شوری، گیاهان ترکیبات فلی مانند فلاونوئیدها را به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی آزاد می‌کنند. این ترکیبات از طریق گروه‌های هیدروکسیلی فراوان و نیز به‌عنوان عوامل فلززدا، موجب کاهش

References

- Abdi, R., & Jabbarzadeh, Z. (2022). Effect of putrescine and nitric oxide on morphological, biochemical and postharvest characteristics of Rose 'Avalanche'. *Journal of Horticultural Science*, 36(1), 193-212. <https://doi.org/10.22067/jhs.2021.69604.1036> [In Persian]
- Adabavazeh, F., Razavizadeh, R., Pourseyedi, S., Nadernejad, N., & Mozafari, H. (2023). Study of the effects of synthesized iron nanoparticle and salicylic acid on change of morphological and physiological characteristics of *Calotropis procera* seedlings. *Journal of Plant Biological Sciences*, 15(2), 27-50. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2024.139387.1336> [In Persian]
- Aebi, H. (1974). Catalase. In H. U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*. Verlag Chemie/Academic Press Inc., Weinheim/New York, 673-680. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-091302-2.50032-3>
- Ali, R. M. (2000). Role of putrescine in salt tolerance of *Atropa belladonna* plant. *Plant Science*, 152(2), 173-179. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00227-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00227-7)
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1-15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Ashraf, M., & Harris, P. J. C. (2013). Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica*, 51(2), 163-190. <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6>
- Azad, H., Fakheri, B., Mahdinezhad, N., & Parmoon, Q. (2017). The effect of foliar application of nano-iron chelated on antioxidant enzymes activity and flower yield of chamomile genotypes under drought stress condition. *Journal of Crops Improvement*, 19(2), 257-271. <https://doi.org/10.22059/jci.2017.60410> [In Persian]
- Baghai, N., & Maleki Farahani, S. (2014). Comparison of nano and micro-chelated iron fertilizers on quantitative yield and assimilates allocation of saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Saffron Research*, 1(2), 156-169. <https://doi.org/10.22077/jsr.2013.442> [In Persian]
- Bakhshi, A., Gerami, M., & Amiri, M. (2025). Effects of titanium dioxide nanoparticles and putrescine foliar application on some morphophysiological characteristics and activity of antioxidant enzymes in Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Journal of Crop Breeding*, 17(3), 74-87. <https://doi.org/10.61882/jcb.2024.1574> [In Persian]
- Bakhshi, S., Gerami, M., Shirdel Shahiri, F., Akbari Nodehi, D., & Mohammadi, S. M. (2023). Effect of iron oxide nanoparticle on some morpho-physiological characteristics of sport grass. *Plant Process and Function*, 12(57), 403-416. <https://doi.org/10.22034/12.57.403> [In Persian]
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bayati, F., Ayneband, A., & Fateh, E. (2015). Effects of different rates and application times of nano-iron on yield and yield components of canola (*Brassica napus* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 12(4), 805-812. <https://doi.org/10.22067/gsc.v12i4.27090> [In Persian].
- Bhatia, A., Khatri, A., Yadav, M., Kumari, A., Mona, S., & Bhateria, R. (2025). Potential of iron oxide nanoparticles in enhancing growth and development of plants: A review. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 139, 102746. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2025.102746>
- Cao, Z., Rossi, L., Stowers, C., Zhang, W., Lombardini, L., & Ma, X. (2018). The impact of cerium oxide nanoparticles on the physiology of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under different soil moisture conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(1), 930-939. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0501-5>
- Du, G., Li, M., Ma, F., & Liang, D. (2009). Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chemistry*, 113(2), 557-562. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.025>
- Dubey, R. S. (2016). Photosynthesis in plants under stressful condition. In M. Pessarakli (Ed.), *Photosynthesis* (3rd Edition ed., pp. 717-718). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420027877>

- El-Lethy, S. R., Ayad, H. S., & Talaat, I. M. (2010). Physiological effect of some antioxidants on flax plant (*Linum usitatissimum* L.). *World Journal of Agricultural Sciences*, 6, 622-629. <https://doi.org/10.3864/j.issn.0578-1752.2012.19.014>
- Elhakem, A. H. (2020). Growth, water relations, and photosynthetic activity are associated with evaluating salinity stress tolerance of wheat cultivars. *International Journal of Agronomy*, 2020, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2020/8882486>
- Gerami, M., Akbari Nodehi, D., Amiri, M., & Darvakh, E. (2024). Effects of calcium nano-particle on some physiologic and biochemical characteristics of *Ocimum basilicum* L. under salinity stress. *Medicinal and Aromatic Plants Research*, 40(2), 415-400. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2024.131551> [In Persian]
- Gerami, M., Mohammadian, A., & Akbarpour, V. (2019). The effect of putrescine and salicylic acid on physiological characteristics and antioxidant in *Stevia rebaudiana* B. under salinity stress. *Journal of Crop Breeding*, 11(29), 40-54. <http://dx.doi.org/10.29252/jcb.11.29.40> [In Persian]
- Ghorbani, M., Movahedi, Z., Kheiri, A., & Rostami, M. (2018). Effect of salinity stress on some morpho-physiological traits and quantity and quality of essential oils in Peppermint (*Mentha piperita* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 11(2), 413-420. <https://doi.org/10.22077/escs.2018.953.1188> [In Persian]
- Hasanpournezhad, F., & Ranjbar, M. (2019). Effect of lead and putrescine interactions on cress (*Lipidium sativum*) seedling physiological and biochemical factors. *Journal of Plant Ecophysiology*, 10(35), 38-51. <https://www.sid.ir/paper/188425/en> [In Persian]
- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, 52(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Kalvandi, R., Alimohammadi, S., Pashmakian, Z., & Rajabi, M. (2014). The effects of medicinal plants of *Melissa officinalis* and *Salvia officinalis* on primary dysmenorrhea. *Avicenna Journal of Clinical Medicine*, 21(2), 105-111. <http://sjh.umsha.ac.ir/article-1-89-en.html> [In Persian]
- Kashani, A., Pirdashti, H., Biparva, P., & Emadi, S. M. (2019). Response of morphological and physiological traits of canola (*Brassica napus* L.) to application of stabilized zero-valent iron nanoparticles under salinity stress. *Plant Process and Function*, 8(30), 95-113. <https://jispp.iut.ac.ir/article-1-822-fa.html> [In Persian]
- Khosravian, Z., Ranjbar, M., & Ahadi, A. M. (2022). Investigating the effect of chitosan on gene expression, p5cs enzyme activity, and proline content in rapeseed (*Brassica napus* L.) under salt stress. *Agricultural Biotechnology Journal*, 14(4), 181-200. <https://doi.org/10.22103/jab.2022.18349.1348> [In Persian]
- Madady, A., Mirshekari, B., & Hasanazadeh Ghorttapeh, A. (2025). Impact of different fertilizer sources on some morpho-physiological traits of Dragon's Head (*Lallemantia iberica* L.) under drought stress conditions. *Medicinal and Aromatic Plants Research*, 41(4), 682-707. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2025.360710.3384> [In Persian]
- McCready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V., & Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, 22(9), 1156-1158. <https://doi.org/10.1021/ac60045a016>
- Miliauskas, G., Venskutonis, R. P., & van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2), 231-237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.007>
- Mohammadi Kale Sarlou, S., Seyed Sharifi, R., & Sedghi, M. (2025). Effects of bio fertilizers and foliar application with nano zinc oxide and putrescine on chlorophyll fluorescence components and some physiological traits of barley (*Hordeum vulgare* L.) under salinity stress. *Plant Process and Function*, 14(65), 79-112. <https://doi.org/10.22034/14.65.79> [In Persian]
- Mohseni Mohammadjanlou, A. R., Seyed Sharifi, R., & Khomari, S. (2023). Effects of bio-fertilizer and putrescine on yield and some agrophysiological and biochemical traits of wheat under soil salinity stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*,

- 16(2), 501-515.
<https://doi.org/10.22077/escs.2023.4774.2067> [In Persian]
- Narimani, H., Seyed Sharifi, R., & Aghaei, F. (2024). Effect of nanoparticles (Zn and Si) and putrescine on yield and grain filling components of wheat under salinity stress. *Journal of Crops Improvement*, 26(2), 253-274.
<https://doi.org/10.22059/jci.2024.354129.2789> [In Persian]
- Narimanzadeh, A., Sheikhzadeh, P., Rostami hir, M., & Zare, N. (2025). The effect of nano-silicon and salicylic acid on antioxidant activity and photosynthetic pigments in Pinto Bean under water deficit. *Journal of Plant Biological Sciences*, 17(2), 1-24.
<https://doi.org/10.22108/ijpb.2025.146546.1420> [In Persian]
- Niakan, M., Rezapour Mahjoob, S., & Ghorbanli, M. (2015). Effect of exogenous putrescine on growth, photosynthesis and alkaloid compounds of *Datura (Datura stramonium L.)* in response to salinity stress under hydroponic conditions. *Journal of Soil and Plant Interactions*, 6(1), 111-123. <https://doi.org/10.18869/acadpub.ejgcst.6.1.111> [In Persian]
- Pérez-Labrada, F., López-Vargas, E. R., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., & Juárez-Maldonado, A. (2019). Responses of tomato plants under saline stress to foliar application of copper nanoparticles. *Plants*, 8(6), 151.
<https://doi.org/10.3390/plants8060151>
- Rezaiean Joybari, N., Gerami, M., Majidian, P., & Ghorbani, H. (2024). Investigating the effect of Iron nanoparticle and putrescine stimulants on some functional and physiological traits of *Camelina (Camelina sativa)*. *Journal of Crop Breeding*, 15(48), 178-188.
<https://doi.org/10.61186/jcb.15.48.178> [In Persian]
- Rostami, G., Ghasemi Pirbalouti, A., & Tehranifar, A. (2020). The effect of sulfate and nano particles of iron and zinc on biomass, content and compositions of peppermint (*Mentha piperita L.*) essential oil under salt stress. *Plant Research*, 33(3), 607-621.
https://plant.ijbio.ir/article_1541.html [In Persian]
- Sairam, R. K., Rao, K. V., & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163(5), 1037-1046.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00278-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00278-9)
- Salimpour, F., Mazooji, A., Mazhar, F., & Barzin, G. (2014). Comparative study of antibacterial properties of four species of *Salvia L.* as a medicinal plant. *Research in Medicine*, 37(4), 205.
<http://pejouhesh.sbmu.ac.ir/article-1-1250-en.html> [In Persian]
- Samsami, N., Jalilian, J., Gholinezhad, E., & Tahmasebi, R. (2025). The effect of salinity stress and different planting methods on physiological, biochemical traits and grain yield of *Galega officinalis*. *Plant Biological Sciences*, 17(2), 89-106.
<https://doi.org/10.22108/ijpb.2025.144796.1403> [In Persian].
- Sperdoulis, I., & Moustakas, M. (2012). Interaction of proline, sugars, and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. *Plant Physiology*, 169(6), 577-585.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.12.015>
- Sunkar, R. (2020). *Plant stress tolerance: methods and protocols* (First Edition ed.). Humana Totowa, NJ.
<https://doi.org/10.1007/978-1-60761-702-0>
- Tang, W., & Newton, R. J. (2005). Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regulation*, 46(1), 31-43.
<https://doi.org/10.1007/s10725-005-6395-0>
- Türkan, I., & Demiral, T. (2009). Recent developments in understanding salinity tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 2-9.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.05.008>
- Vanacker, S. A. B. E., Tromp, M. N. J. L., Haenen, G. R. M. M., Vandervijgh, W. J. F., & Bast, A. (1995). Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 214(3), 755-759.
<https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2350>
- Vojodi Mehrabani, L. (2023). The effect of NaCl salinity stress and foliar application of Cerium oxide and Nano Fe on growth and some physiological characteristics of

Lavandula officinalis L. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 16(1), 247-261. <https://doi.org/10.22077/escs.2022.4538.2039> [In Persian]

Vojodi Mehrabani, L., Anvari Gheshlagh, Y., & Motallebiazar, A. (2022). Foliar application of nano Fe and Se affected the growth and yield of *Pelargonium graveolens* under salinity stress. *Journal of Horticultural Science*, 36(1), 213-228.

<https://doi.org/10.22067/jhs.2021.69767.1041> [In Persian]

Zhang, G., Wang, Y., Wu, K., Zhang, Q., Feng, Y., Miao, Y., & Yan, Z. (2021). Exogenous application of chitosan alleviates salinity stress in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Horticulturae*, 7(10), 342. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100342>