مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۵ شماره ۲ صفحه‌های ۲۸۷ تا ۳۰۲ (۱۴۰۳)
مقاله پژوهشی

تاثیر نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر باززایی و برخی شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی گل‌راعی در شرایط کشت درون شیشه‌ای

Effect of Iron Nanoparticle and Salicylic Acid on Regeneration and Some Morphophysiological Indices of *Hypericum perforatum* L. *In Vitro*

موسی ترابی گیگلو، یونس پوربیرامی هیر*، اسماعیل چمنی، رقیه نبی‌پور سنجبد، مهتاب محمدی مسجدلو

۱- گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (younes_ph62@uma.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۲۱، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۲/۳

چکیده

گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) دارای ترکیبات مؤثره از جمله هایپریسین و هایپرفورین می‌باشد. نانوذرات و محرک‌ها موجب افزایش تولید متابولیت ثانویه و بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاهان می‌شوند. بنابراین، هدف از انجام این پژوهش، بررسی تاثیر کاربرد نانوذره آهن (عدم کاربرد نانوذره آهن و کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و اسید سالیسیلیک (عدم کاربرد اسید سالیسیلیک و کاربرد ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میکرومولار) بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی (درصد باززایی، وزن تر، ارتفاع گیاه، طول ریشه، تعداد ریشه، تعداد برگ، سطح برگ، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی) و فیتوشیمیایی (محتوای فنل کل، و محتوای فلاونوئید) گل راعی بود. نتایج نشان داد که برهمکنش نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر درصد باززایی، وزن‌تر، تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه، محتوای کلروفیل کل، محتوای فنل و فلاونوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در حالی‌که ارتفاع گیاه و تعداد ریشه غیر معنی‌دار بودند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین درصد باززایی و وزن تر به‌ترتیب در تیمار شاهد و ترکیب تیماری ۵۰ میکرومولار نانو ذره آهن و ۱۲۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. به‌طور کلی کاربرد همزمان نانوذرات آهن (۵۰ میکرومولار) و اسید سالیسیلیک (غلظت‌های ۴۰ و ۸۰ میکرومولار) تأثیر معنی‌داری بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گل راعی داشتند.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، باززایی، ترکیبات فنلی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، نانوذرات.

مقدمه

گیاهان دارویی یکی از مهم‌ترین منابع دارویی‌اند که از هزاران سال پیش مورد استفاده قرار گرفته‌اند. گل راعی با نام علمی *Hypericum perforatum* گیاهی علفی و پایا از خانواده‌ی Hypericaceae می‌باشد. این گیاه در سال اول دارای رشد رویشی و خزنده بوده و رشد مطلوب و گلدهی آن از سال دوم به بعد آغاز می‌شود. گل راعی به‌دلیل خواص ضدافسردگی بارز، یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی است (Zandavifard and Azizi, 2021). گل راعی حاوی دامنه وسیعی از متابولیت‌های ثانویه همچون فلاونوئیدها[۱]، پروانتوسیانیدین‌ها[۲]، نفتودیانترون‌ها (هایپریسین و سودوهایپریسین[۳])، آسیل فلوروگلوسینول‌ها (هایپرفورین[۴] و ادهایپرفورین) است (Kubin *et al.*, 2005). مواد مؤثره‌ی اصلی این گیاه شامل هایپرفورین و هایپریسین می‌باشد. هایپریسین ماده‌ای کینونی است و به‌عنوان مهم‌ترین ماده مؤثره گل راعی شناخته می‌شود که در نقطه‌های سیاه رنگی که روی اندام‌های مختلف گیاه تشکیل می‌شوند وجود دارد (Walker *et al.*, 2001).

۱- Flavonoids ۲- Proanthocyanidin ۳- Pseudohypericin ۴- Hyperforin

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

امروزه، استفاده از محرک[1]ها روش مناسبی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه است. این ترکیبات نقش مهمی در چرخه تولید متابولیت‌های ثانویه ایفا می‌کنند. اسیدسالیسیلیک به‌عنوان یک مولکول سیگنال دهی[2] قوی در گیاهان با تنظیم عملکردهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در مکانیسم‌های دفاعی نقش دارد و تأثیرات گوناگونی بر تحمل گیاه به عوامل زیستی و غیرزیستی دارد (Shah, 2003). اسیدسالیسیلیک[3] از ترکیبات فنلی[4] موجود در گیاهان بوده که فعال‌سازی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، تولید متابولیت‌های ثانویه، سنتز اسمولیت‌ها، بهینه‌سازی وضعیت مواد معدنی و حفظ تعادل مناسب بین فتوسنتز و رشد از نقش‌های اسیدسالیسیلیک در گیاهان می‌باشد که به تحمل شرایط تنش کمک می‌کند (Chen *et al*., 2009). گزارش شده است که اسید سالیسیلیک ژن‌های کدکننده چاپرون‌ها، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پروتئین‌های شوک حرارتی و چندین ژن دیگر را که در متابولیسم متابولیت‌های ثانویه دخیل هستند تنظیم می‌کند (Miura *et al.*, 2014). همچنین، Shah (Shah, 2003) اظهار داشت که تیمار اسیدسالیسیلیک منجر به تعویق سنتز اتیلن، بهبود فتوسنتز، افزایش محتوای کلروفیل و همچنین کاهش تعرق در گیاهان می‌شود.

کاربرد نانو ذرات ریزمغذی از جمله آهن نیز به‌دلیل سطح ویژه بسیار وسیعی که دارند موجب افزایش فعالیت شیمیایی آن‌ها می‌گردد. آهن نقش کلیدی در تشکیل کلروفیل و فتوسنتز داشته و از اهمیت زیادی در سیستم آنزیمی و تنفس گیاهان برخوردار می‌باشد. بنابراین کاربرد آن اثر مثبت بر تولید ماده خشک گیاه خواهد داشت. در مقابل از مهم‌ترین اثرات کمبود آهن، کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی است که نتیجه‌ی آن افزایش نسبی کارتنوئیدها در مقایسه با کلروفیل بوده که درنهایت سبزینگی برگ‌ها و توان فتوسنتزی آن‌ها را کاهش می‌دهد (Briat *et al*., 2007). گزارش شده است که آهن موجب افزایش تنظیم‌کننده‌های رشد و افزایش سنتز کلروفیل در برگ‌های جوان می‌شود و در نتیجه فتوسنتز افزایش می‌یابد و مواد فتوسنتزی بیشتری به نقاط مختلف گیاه از جمله ساقه وارد می‌شود و در نهایت ارتفاع افزایش می‌یابد (Heidarizade *et al*., 2016). در این راستا بابایی و همکاران (Babaei *et al*., 2017) بیان کردند که کاربرد نانوذرات از جمله نانوذره آهن از طریق بهبود وضعیت آبی، محتوای کلروفیل و شرایط فتوسنتزی موجب افزایش بهره‌وری گیاهان می‌شود.

روش‌های سنتی تکثیر غیرجنسی با مشکلات متعددی از جمله محدودیت گیاه مادری و بازدهی پایین مواجه است. وجود چنین محدودیت‌هایی در منابع طبیعی و غلظت پایین ترکیبات ثانویه در گیاهان دارویی، توجه محققین را به استفاده از فنون کشت بافت گیاهی و کاربرد محرک‌ها در شرایط کشت درون شیشه‌ای جلب کرده است. با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در زمینه کاربرد همزمان نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک به عنوان محرک بر گل راعی انجام نگرفته است، از این رو، در تحقیق حاضر، این دو محرک به منظور افزایش باززایی و سطوح ترکیبات فنولی گل راعی در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمارهای آزمایشی

به‌منظور بررسی تاثیر کاربرد نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر باززایی و برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل راعی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار در آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی و فضای سبز دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. بذور گل راعی از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری گردید. به منظور ضدعفونی سطحی، بذور با مایع ظرفشویی شسته شدند و به مدت ۱ ساعت زیر آب جاری قرار گرفتند. سپس بذور به وسیله الکل ۷۰ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و سپس هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شدند. بذرها پس از ضدعفونی، در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) کشت شدند. پس از ۶۰ روز از گیاهچه‌های رشد یافته، ریز نمونه‌های دوبرگی و چهاربرگی تهیه شدند و به محیط‌های کشت حاوی نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک انتقال یافتند. فاکتورهای مورد بررسی شامل کاربرد نانوذره آهن در سه سطح (عدم کاربرد نانوذره به‌عنوان شاهد ($FeSO_4$) و کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار نانوذره) و کاربرد اسید سالیسیلیک در چهار سطح (عدم کاربرد سالیسیلیک اسید به عنوان شاهد و کاربرد ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میکرومولار) بودند. پس از ۳ ماه داده برداری انجام شد و تمام اندام‌های گیاهی با نیتروژن مایع منجمد شدند و در یخچال ۸۰- برای آنالیزهای فیتوشیمیایی قرار

Elicitor - ۱ Signaling -۲ Salicylic acid -۳ Phenolic -۴

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

گرفتند. در کل متن مقاله، نمودارها و جداول، غلظت‌های ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار نانوذره آهن به‌صورت $FeSO_4$، NP50 و NP100 و غلظت‌های ۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک به صورت SA0، SA40، SA80 و SA120 ارائه شده است.

شاخص‌های مورفولوژیکی

ارتفاع گیاه و طول ریشه با استفاده از خط‌کش تعیین گردید. همچنین تعداد ریشه و تعداد برگ پس از خارج نمودن از ژل و شست و شو، شمارش شدند و سپس وزن‌تر گیاهچه‌ها با ترازوی دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شدند. در اندازه‌گیری وزن‌تر، از هر تکرار پنج گیاهچه توزین و میانگین آن‌ها تجزیه و تحلیل شد.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای سنجش کلروفیل a و b و کلروفیل کل از روش آرنون (Arnon, 1949) استفاده شد. به این منظور، ۱۰۰ میلی گرم برگ تازه گل راعی با ترازوی دیجیتال ۰/۰۰۰۱ گرم وزن و سپس در هاون چینی با استون ۸۰ درصد ساییده شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در g× ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس محلول شفاف جدا شد و جذب نوری کلروفیل a و b در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (HACH company, Loveland, USA) قرائت شد. در نهایت، مقدار کلروفیل a و b و کلروفیل کل بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تازه از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شد:

۱- a کلروفیل $= \frac{(12.7\times(A663)-2.69\times(A645))\times V}{1000\times W}$

۲- b کلروفیل $= \frac{(22.9\times(A645)-4.68\times(A663))\times V}{1000\times W}$

۳- کلروفیل کل $= \frac{(20.2\times(A645)-8.02\times(A663))\times V}{1000\times W}$

در فرمول‌های فوق الذکر، A عدد قرائت شده، V حجم استون استفاده شده (به میلی‌لیتر) و W وزن تر نمونه گیاهی (به گرم) است.

سنجش سطح برگ

اندازه گیری سطح برگ با استفاده از نرم‌افزار ImageJ انجام شد. به طور خلاصه، تصویر برگ و همچنین تصویر یک صفحه سفید (۱×۱ سانتی متر) با استفاده از دوربین دیجیتال به دست آمد و در فرمت JPEG ذخیره شد. تصاویر برگ از تصویر RGB به CIELAB تبدیل رنگ شدند. در نهایت سطح برگ با استفاده از مساحت صفحه سفید محاسبه شد (Chaudhary *et al.*, 2012).

سنجش محتوای فنول کل

سنجش محتوای فنول کل عصاره گیاهی بر اساس واکنش معرف Folin Ciocalteu's با کمی تغییر انجام شد. بر این اساس، ۱۰۰ میلی گرم نمونه برگ با ازت مایع ساییده شد و سپس ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد به آن اضافه و کاملا همگن شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت g× ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد و محلول رویی جدا شد. سپس، ۰/۱ میلی لیتر عصاره حاصل با ۱/۵ میلی لیتر معرف رقیق شده فولین سیوکالتیو (۱ به ۱۰) مخلوط شد. پس از گذشت ۵ دقیقه، ۱/۴ میلی لیتر سدیم کربنات (۷ درصد جرمی/حجمی) به آن اضافه گردید و هم زده شد. مخلوط به مدت نیم ساعت در تاریکی نگهداری شد و پس از آن، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. از اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده شد. به این منظور، ۰/۱ گرم اسید گالیک در متانول حل شد و غلظت‌های مختلف (۲۰۰-۲۰ پی‌پی‌ام) تهیه گردید. پس از رسم منحنی استاندارد اسید گالیک و به دست آوردن معادله خط مربوطه، محتوای فنل کل عصاره گیاهی بر حسب میکرو گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر محاسبه شد (Slinkard & Singleton, 1977).

سنجش محتوای فلاونوئید

سنجش فلاونوئیدها با استفاده از روش کریزک و همکاران (Krizek *et al.*, 1998) انجام شد. به این منظور ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی منجمد شده در درون هاون چینی با ۳ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول و اسید استیک به نسبت ۹۹ به ۱) ساییده شد. سپس عصاره حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفوژ شد. عصاره را از صافی عبور داده و به درون میکروتیوپ منتقل نموده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. میزان جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن توسط اسپکتروفتومتر در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر قرائت شدند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

آنالیز آماری

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

نتایج

تأثیر نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های مورفولوژیکی گل راعی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر ترکیب تیماری نانوذرات آهن و اسید سالیسیلیک بر درصد باززایی گیاه گل راعی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بیش‌ترین درصد باززایی گیاه گل راعی در غلظت صفر میکرومولار نانوذره آهن ($FeSO_4$) و در همه‌ی غلظت‌های اسید سالیسیلیک بود و کم‌ترین باززایی گیاه گل راعی در غلظت ۱۰۰ میکرومولار نانوذره آهن (NP100) و ۴۰ میکرومول اسید سالیسیلیک (SA40) مشاهده شد که با تیمارهای شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۱).

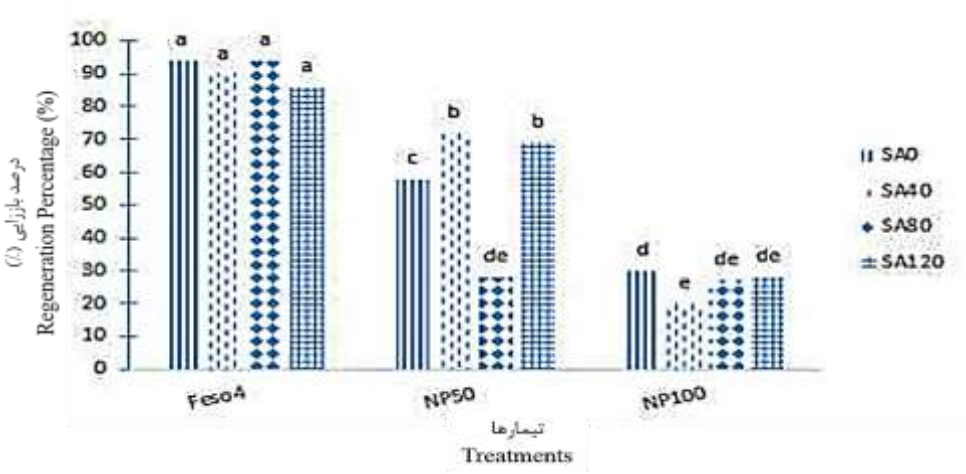
جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر نانوذره آهن و اسید سالسیلیک بر صفات مورفولوژیکی گل راعی

Table 1- Analysis of variance of iron nanoparticle and salicylic acid on morphological traits of *Hypericum perforatum* L.

منابع تغییر Source of variations	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares						
		درصد باززایی Regeneration percentage	وزن تر Fresh weight	ارتفاع گیاه Plant height	تعداد برگ Number of leaves	سطح برگ Leaf area	تعداد ریشه Number of roots	طول ریشه Root length
آهن (A) Fe (A)	2	20986.25**	0.73**	69.7**	590.8**	0.01ns	34.87**	276.91**
اسد سالیسیلیک (B) Salicylic acid (B)	3	463.33**	0.008ns	3.01ns	49.9 ns	0.44**	3.63ns	6.30ns
A×B	6	861.25**	0.052**	5.84ns	252.22**	1.12**	2.87ns	35.71**
خطا Errors	48	46.45	0.006	3.20	49.22	0.39	1.8	7.92
ضریب تغییرات (٪) CV (%)		11	30	16.5	14.5	8.2	24	20

** و ns به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

** and ns: significant at $p \leq 0.01$ and non-significant, respectively

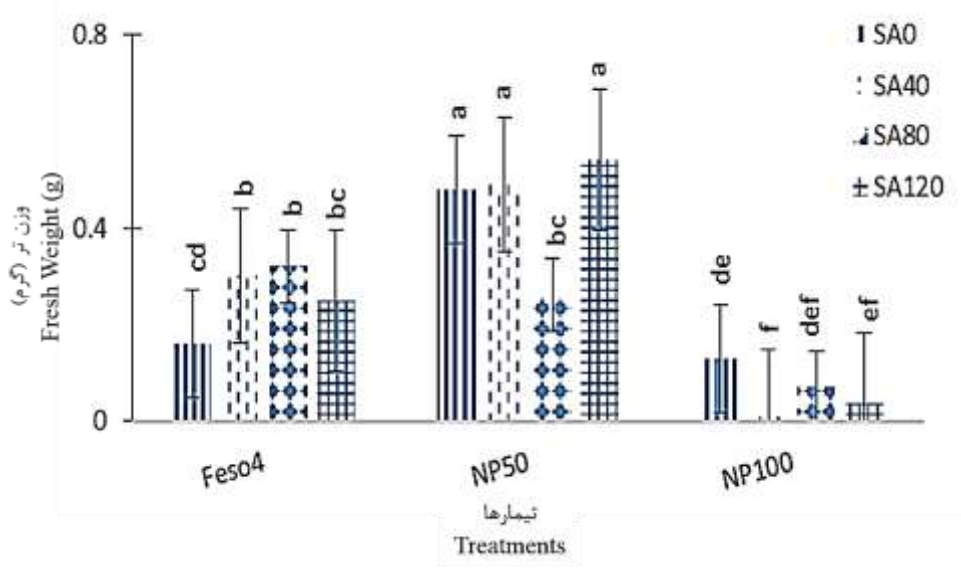


شکل ۱- تأثیر نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر درصد باززایی گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

Fig. 1. The effects of iron nanoparticle and salicylic acid on regeneration percentage of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

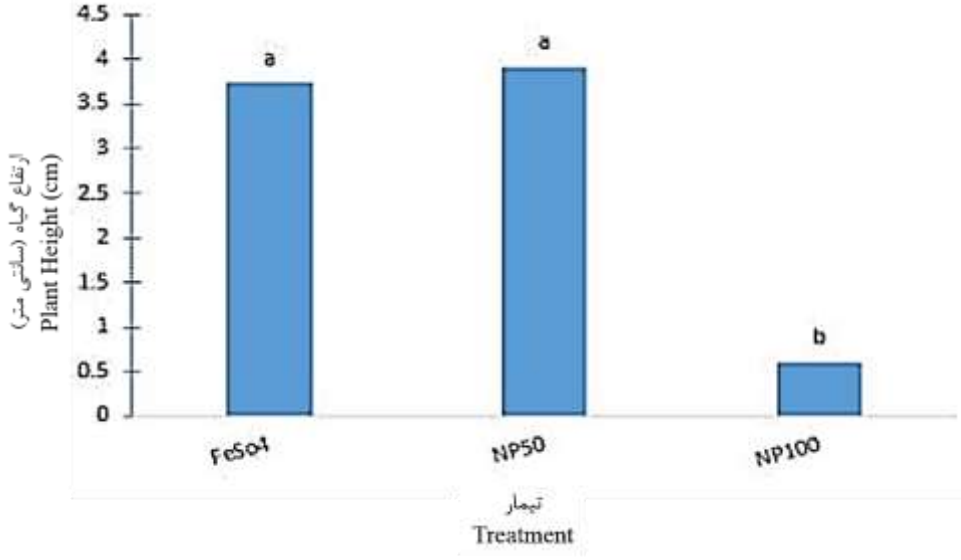
نتایج حاصل از تجزیه واریانس، برهمکنش نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر وزن تر گیاه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد را نشان داد (جدول ۱). مقایسه میانگین برهمکنش نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر شاخص وزن تر نیز نشان داد که بیش‌ترین وزن تر گیاه در ترکیب تیماری نانوذره آهن با غلظت ۵۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۲۰ میکرومولار و همچنین کم‌ترین وزن تر نیز مربوط به ترکیب تیماری نانوذره آهن با غلظت ۱۰۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک با غلظت ۴۰ میکرومولار مشاهده شد که با سایر ترکیب‌های تیماری اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۲).



شکل ۲- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر وزن تر گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

Fig. 2. The interaction effects of iron nanoparticle and salicylic acid on fresh weight of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر شاخص ارتفاع گیاه غیرمعنی‌دار بود. ولی اثر نانوذره آهن به‌تنهایی بر ارتفاع گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به مقایسه میانگین داده‌های فاکتور اول بیش‌ترین میزان ارتفاع گیاهچه مربوط به غلظت ۵۰ بود که تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان نداد (شکل ۳).

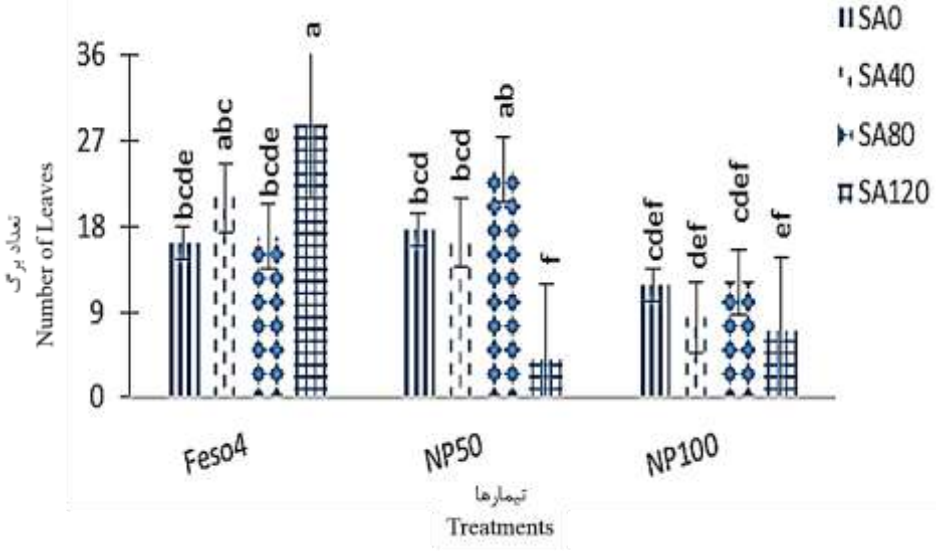


شکل ۳- تأثیر نانوذره آهن (میکرومول) بر ارتفاع گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

Fig. 3. The effects of iron nanoparticle on plant height of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

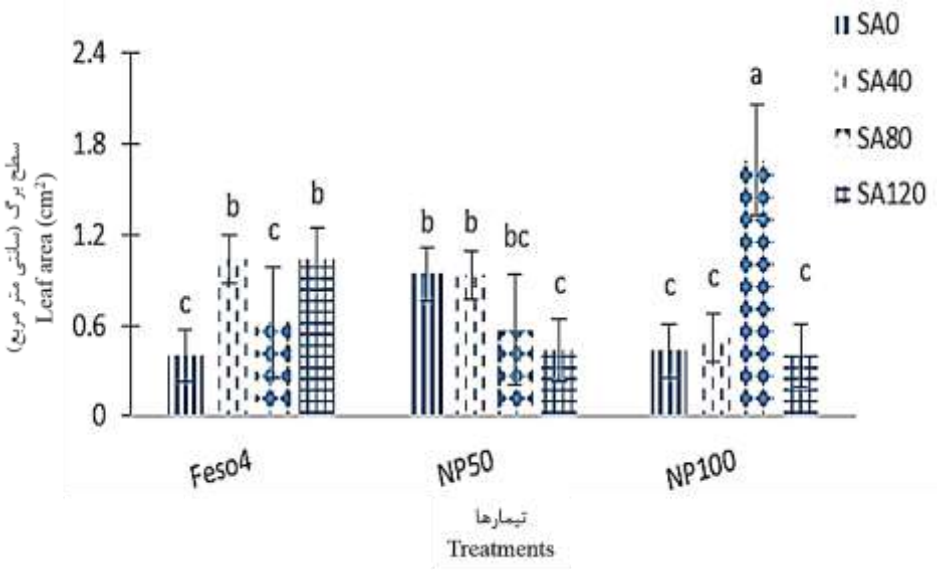
بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس برهمکنش نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر شاخص تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). به‌طور کلی بیش‌ترین تعداد برگ در تیمار شاهد ($FeSO_4$) به‌دست آمد و کم‌ترین تعداد برگ نیز مربوط به تیمار NP_{100} بود. مقایسه میانگین برهمکنش نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر شاخص تعداد برگ نشان داد که غلظت‌های صفر نانوذره آهن و ۱۲۰ اسید سالیسیلیک بهترین اثر را داشته است (شکل ۴).



شکل ۴- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر تعداد برگ گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

Fig. 4. The interaction effects of iron nanoparticle and salicylic acid on leaf number of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که استفاده‌ی همزمان از نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر شاخص سطح برگ گل راعی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). بیش‌ترین سطح برگ نیز در برهمکنش، نانوذره آهن با غلظت ۱۰۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک با غلظت ۸۰ میکرومولار مشاهده شد که با سایر ترکیب‌های تیماری اختلاف معنی‌داری داشتند (شکل ۵).

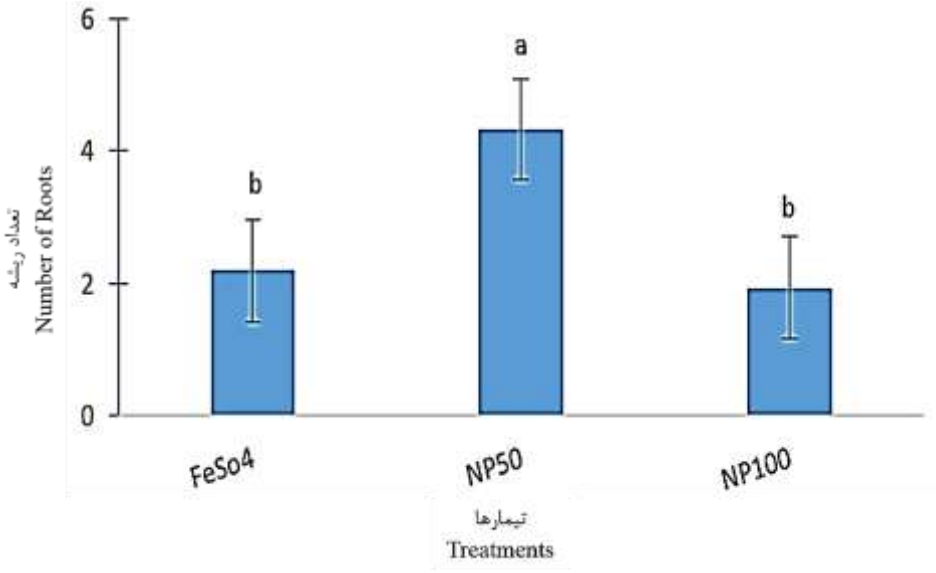


شکل ۵- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر سطح برگ گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

Fig. 5. The effects of iron nanoparticle and salicylic acid on leaf area of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

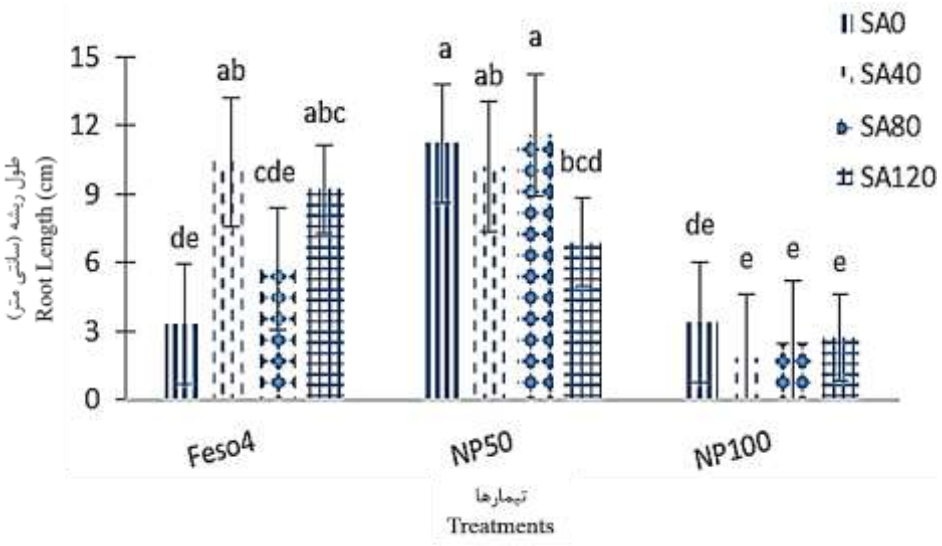
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک و اثر اسید سالیسیلیک به تنهایی بر شاخص تعداد ریشه گل راعی غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نانوذره آهن نیز نشان داد که بیش‌ترین تعداد ریشه در غلظت ۵۰ میکرومولار نانوذره آهن و کم‌ترین تعداد ریشه نیز در غلظت ۱۰۰ میکرومول نانوذره آهن بود که در مقایسه با سایر ترکیب‌های تیماری اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۶).



شکل ۶- تأثیر نانوذره آهن بر تعداد ریشه گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

Fig. 6. The effects of iron nanoparticle on roots number of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که ترکیب تیماری نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر شاخص طول ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بیش‌ترین طول ریشه در غلظت ۵۰ میکرومول نانوذره آهن و ۸۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و کم‌ترین طول ریشه در غلظت ۱۰۰ میکرومولار نانوذره آهن و ۴۰ میکرومول اسید سالیسیلیک بود که در مقایسه با سایر ترکیب‌های تیماری اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۷).



شکل ۷- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر طول ریشه گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

Fig. 7. The interaction effects of iron nanoparticles and salicylic acid on root length of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

تأثیر نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر صفات فیزیولوژیکی گل راعی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر میزان کلروفیل a در گل راعی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان کلروفیل a در ترکیب تیماری شاهد ($FeSO_4$) و اسید سالیسیلیک صفر میکرومول، کم‌ترین میزان کلروفیل a در ترکیب تیماری نانوذره آهن ۵۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک ۱۲۰ میکرومولار بود که با سایر ترکیبات تیماری اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۸).

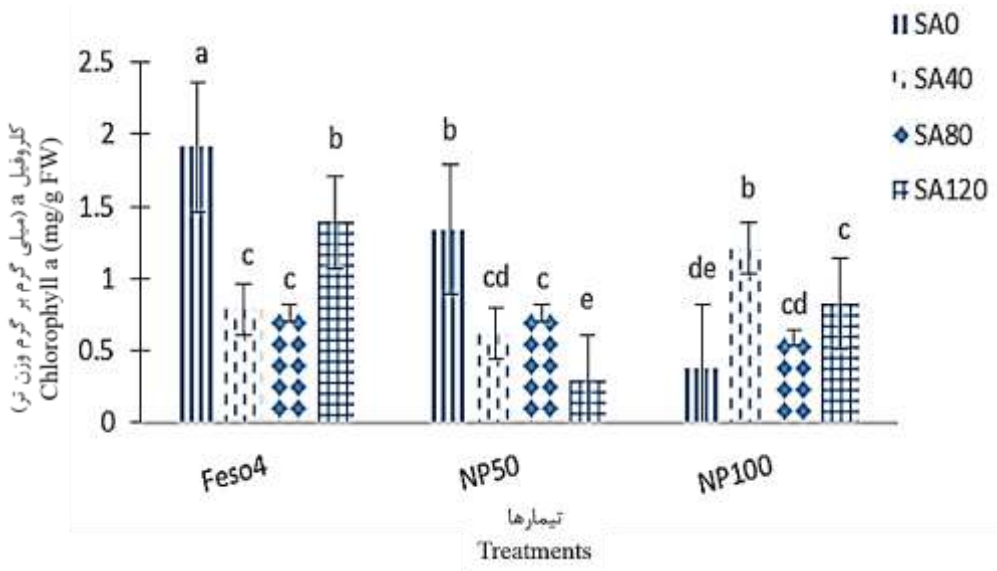
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره آهن و اسید سالسیلیک بر صفات فیزیولوژیکی گل راعی.

Table 2. Analysis of variance of the iron nanoparticle and salicylic acid concentration on physiological traits of *Hypericum perforatum* L.

منابع تغییر Source of variations	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square						
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	فنل کل Total phenol	فلاونوئید Flavonoids 270 nm	فلاونوئید Flavonoids 300 nm	فلاونوئید Flavonoids 330 nm
آهن (A) Fe (A)	2	1.41**	0.80**	4.25**	18994.14**	0.006**	0.008**	0.009**
اسید سالیسیلیک (B) Salicylic acid (B)	3	0.70**	0.36**	2.27**	3049.12**	0.004**	0.003**	0.001**
A×B	6	1.18**	0.77**	4.02**	2475.51**	0.003**	0.002**	0.003**
خطا Errors	48	0.39	0.29	0.135	10.33	0.00001	0.00002	0.00008
ضریب تغییرات (٪) CV (%)		30	34	22	3.21	10	12	22

** و ns به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

** and ns: significant at $p \leq 0.01$ and non-significant, respectively

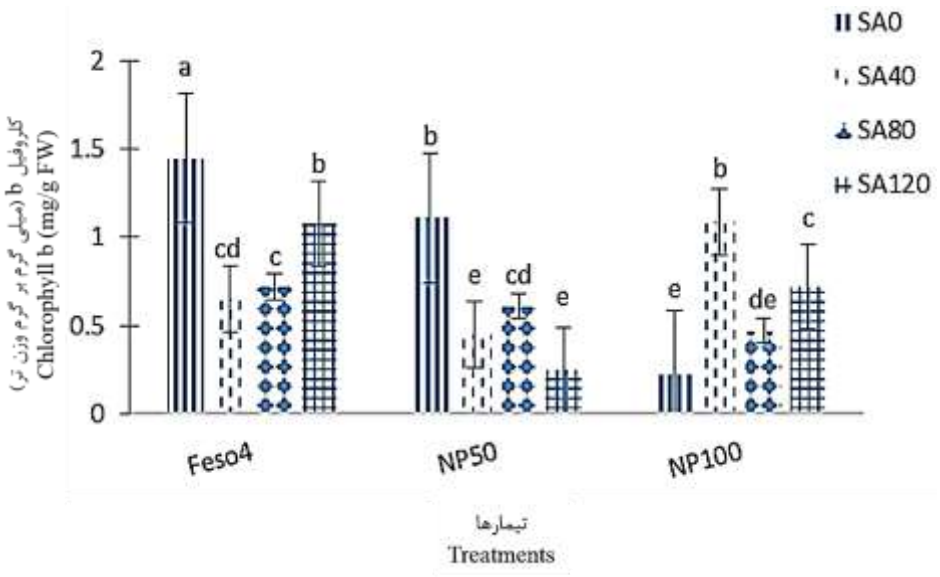


شکل ۸- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل a در گیاه گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

Fig. 8. The interaction effects of iron nanoparticle and salicylic acid on chlorophyll a content of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد تأثیر غلظت‌های نانوذرات آهن و اسید سالیسیلیک بر میزان کلروفیل b در گل راعی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). همچنین مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان کلروفیل b در ترکیب تیماری شاهد ($FeSO_4$) و اسید سالیسیلیک صفر میکرومولار و کم‌ترین میزان کلروفیل b نیز در ترکیب تیماری نانوذره آهن ۱۰۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک صفر میکرومولار مشاهده شد که در مقایسه با سایر ترکیبات تیماری اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۹).



شکل ۹- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل b در گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

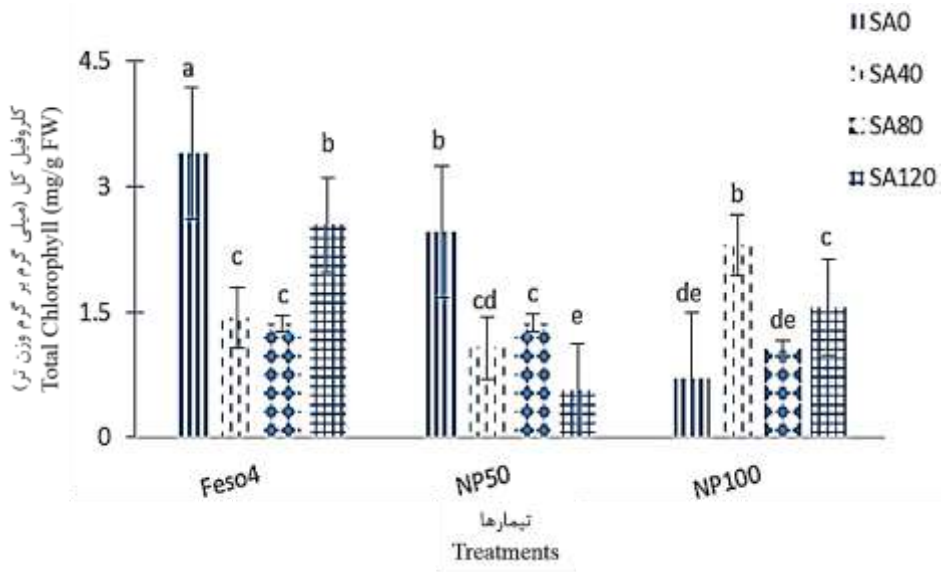
Fig. 9. The interaction effects of iron nanoparticle and salicylic acid on chlorophyll b content of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهمکنش نانوذرات آهن و اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). همچنین مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان کلروفیل کل در برهمکنش شاهد ($FeSO_4$) و اسید سالیسیلیک صفر میکرومولار و کم‌ترین میزان کلروفیل نیز در ترکیب تیماری نانوذرات ۵۰ میکرومول و اسید سالیسیلیک ۱۲۰ میکرومولار بود که در مقایسه با سایر ترکیبات تیماری اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۱۰).

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس برهمکنش نانوذرات آهن و اسید سالیسیلیک بر میزان فنل در گل راعی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۲). مقایسه میانگین برهمکنش نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر میزان فنل کل، بیش‌ترین مقدار را در غلظت‌های ۱۰۰ میکرومولار نانوذره آهن و ۴۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و کم‌ترین مقدار را در غلظت‌های بدون آهن و ۱۲۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک نشان داد (شکل ۱۱).

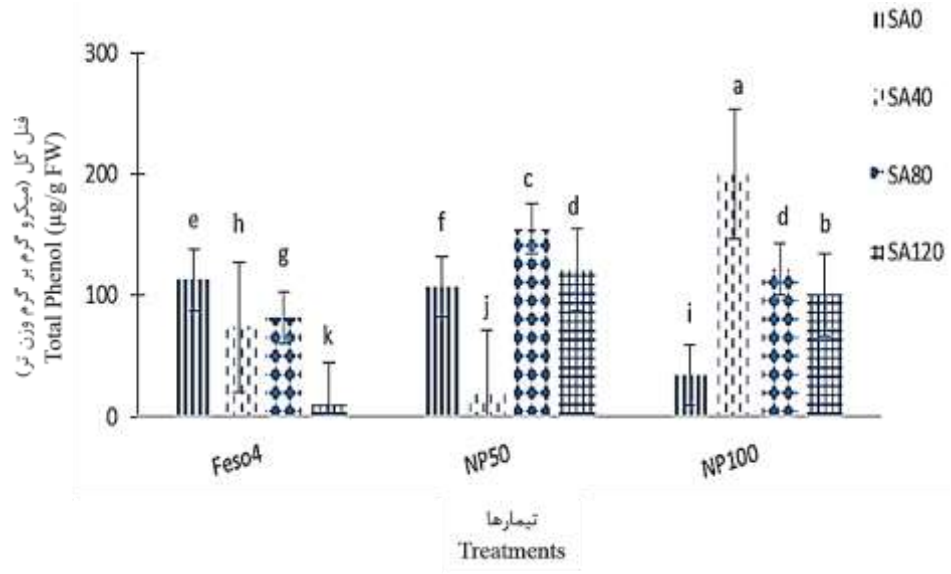
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک به‌صورت همزمان بر روی فلاونوئید گیاه گل راعی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان می‌دهد که بیش‌ترین میزان فلاونوئید طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ به‌ترتیب در ترکیب تیماری‌های ۱۰۰ میکرومولار نانوذره آهن و ۱۲۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک، شاهد ($FeSO_4$) و ۴۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و ۱۰۰ میکرومولار نانوذره آهن و۱۲۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک بود. همچنین کم‌ترین مقادیر نیز به‌ترتیب مربوط به ترکیب تیماری‌های ۵۰ میکرومولار نانوذره آهن و ۱۲۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک در هر سه طول موج بود که در مقایسه با سایر ترکیب‌های تیماری اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل‌های ۱۲، ۱۳ و۱۴).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]



شکل ۱۰- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل کل گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

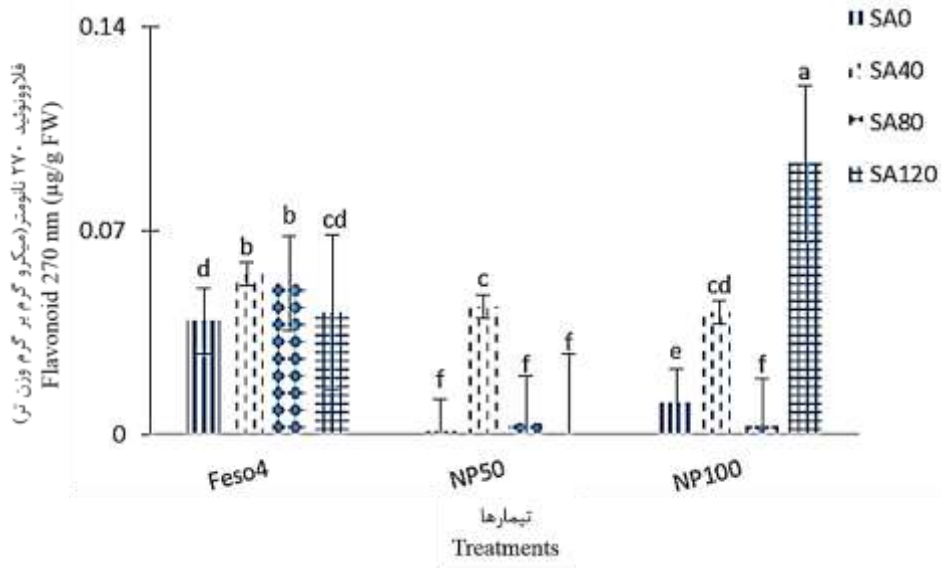
Fig. 10. The interaction effects of iron nanoparticle and salicylic acid on total Chlorophyll content of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.



شکل ۱۱- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر میزان فنل کل در گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

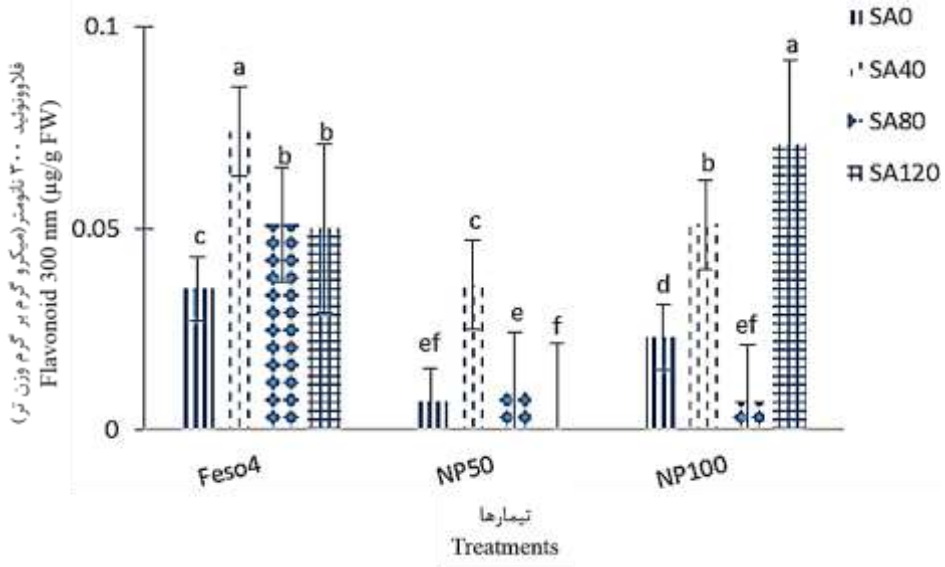
Fig. 11. The interaction effects of iron nanoparticle and salicylic acid on total phenol of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]



شکل ۱۲- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر میزان فلاونوئید ۲۷۰ نانومتر در گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

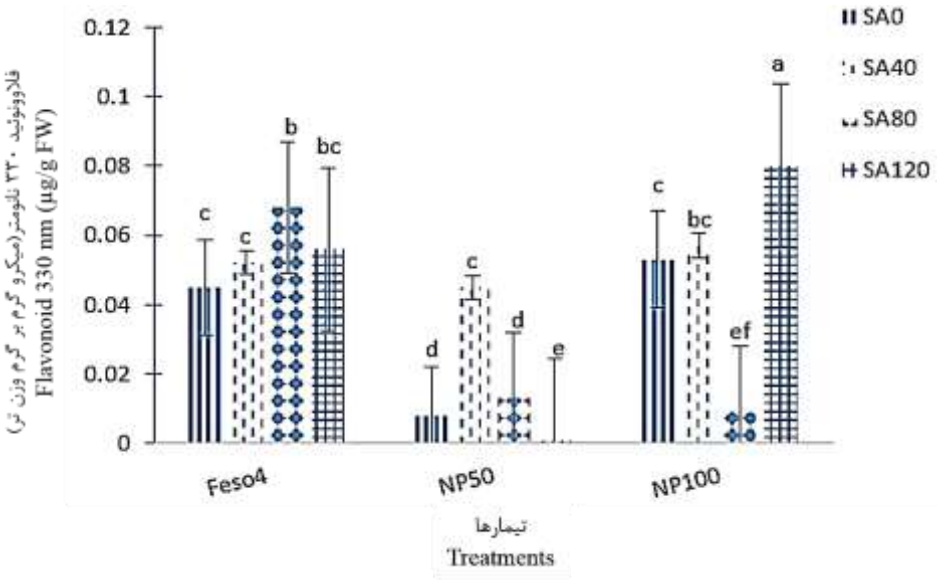
Fig. 12. The effects of iron nanoparticle and salicylic acid on flavonoids content 270 (nm) of the *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.



شکل ۱۳- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر میزان فلاونوئید ۳۰۰ نانومتر در گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

Fig. 13. The interaction effects of iron nanoparticle and salicylic acid on flavonoids content 300 (nm) of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]



شکل ۱۴- تأثیر متقابل نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر میزان فلاونوئید ۳۳۰ نانومتر در گل راعی. حروف مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

Fig. 14. The interaction effects of iron nanoparticle and salicylic acid on flavonoids content 330 (nm) of *Hypericum perforatum* L. Different letters indicate significant differences at $P \leq 0.01$.

بحث

درصد باززایی، ارتفاع گیاه و وزن تر

نانوذرات دارای ویژگی‌های متفاوتی نسبت به فرم اولیه خود هستند که این خصوصیات می‌تواند بر نحوه عملکرد آن‌ها مؤثر باشد. مطالعات پیشین نشان داده است که بیشترین ارتفاع گیاه، وزن تر در پایه نارنج، مربوط به محیط کشت MS حاوی نانوذرات آهن بدون پوشش و کمترین مقادیر مربوط به محیط MS کالت بدون آهن بود (Saeedi, 2016). مطالعات بسیار زیادی اثرات مثبت نانوذرات در القاء کالوس، باززایی و پرآوری شاخساره را نشان داده است. در آزمایش بررسی اثر نانو مواد بر کالوس‌زایی گل راعی، نانو ذرات اکسید روی در غلظت ppb ۱۰۰ بیش‌ترین اثر را بر میزان کالوس‌زایی داشت. این درحالی بود که نانو ذرات آهن در غلظت ppb ۱۰۰ کم‌ترین اثر را بر میزان کالوس‌زایی داشتند (Krizek *et al.*, 1993). در پژوهشی به‌منظور بررسی اثرات نانوذرات آهن و نقره بر صفات مورفولوژیکی گیاه گل گاوزبان اروپایی، مشاهده شده است که برهمکنش این دو فاکتور تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه داشته است، به‌طوری‌که بیش‌ترین ارتفاع در تیمار ppm ۴۰ نانوذره نقره توأم با ppm ۸۰ نانوذره آهن و کمترین ارتفاع در تیمار شاهد بوده است (Dahmardeh *et al.*, 2018).

اسید سالیسیلیک گسترش و تقسیم سلولی را تنظیم می‌کند. به عبارتی بین رشد و پیری به‌وسیله‌ی اسید سالیسیلیک تعادل ایجاد می‌شود. ممکن است که اسید سالیسیلیک به همراه مواد دیگر از قبیل اکسین طویل شدن و تقسیم سلولی را تنظیم کند (Popova *et al.*, 2003). همچنین به‌نظر می‌رسد که تیمار با اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک فرآیند مقاوم‌سازی عمل می‌نماید و با افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی سلول موجب محافظت بیشتر از غشای سلول و رنگدانه‌های فتوسنتزی شده و در نهایت باعث بهبود شاخص‌های رشدی می‌شود. مشاهداتی نیز وجود دارد که تا غلظت ۱۵۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک وزن تر گیاه بادرنجبویه روند افزایشی داشته است، اما در غلظت‌های ۲۲۵ میکرومولار از میزان این شاخص‌ها کاسته شده است (Pourakbar & Abedzadeh, 2014). اسید سالیسیلیک به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاهی در اکثر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه تأثیر مهمی دارد. سلول‌های گیاهی تحت تیمار این ترکیب رفتارهای رشدی یک سلول تحت تنش‌زا، از جمله افزایش مواد جامد قابل حل سلول، کاهش اندازه سلول و غلیظ کردن محلول سیتوپلاسمی ازخود نشان می‌دهند که از این جهت کاهش وزن توجیه پذیر است، که این نتایج با نتایج ما مطابقت داشت.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

سطح برگ و تعداد برگ

در آزمایشی به‌منظور بررسی تأثیر نوع آهن محیط کشت MS روی برخی صفات پایه نارنج[۱] تحت شرایط درون شیشه‌ای، بیش‌ترین سطح برگ و تعداد برگ از محیط حاوی نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش حاصل شده است. در حالیکه در محیط‌های دیگر (بدون آهن، MS کامل، MS همراه با FeEDDHA و MS حاوی نانوذرات اکسید آهن پوشش‌دار) نسبت به محیط حاوی نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش میزان این دو شاخص پایین بوده است (Saeedi *et al.*, 2016). اسید سالیسیلیک از ترکیبات فنلی موجود در گیاهان می‌باشد که رشد و نمو، فتوسنتز، تنفس، جذب و انتقال یون‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و تغییراتی را در ریخت‌شناسی برگ و ساختار کلروفیل ایجاد می‌کند (Popova *et al.*, 2003).

طول ریشه و تعداد ریشه

تحقیقات انجام گرفته در زمینه تأثیر نانوذرات آهن بر گیاهان، نشان داده است که آنچه بیش از هر عاملی بر عملکرد گیاه در حضور نانوذرات آهن مؤثر است، مکانیسم‌های عبور نانوذرات از غشاءهای سلولی و دیواره سلولی می‌باشد. به‌طوری‌که بعضی از این نانوذرات از دیواره سلولی بذر و ریشه به راحتی عبور می‌کنند و بر عملکرد گیاه از طریق ریشه و عملکرد بذر تأثیر می‌گذارند. در تحقیقی استفاده از نانو ذرات Fe_3O_4 در غلظت‌های ۳۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ پی پی ام در محیط رشد گیاه کدو و لیلیوم باعث افزایش رشد ریشه شده است، اما جذب آهن به ساقه صورت نگرفته است (Hu *et al.*, 2017). در آزمایشی به‌منظور بررسی تأثیر نوع آهن محیط کشت (بدون آهن (شاهد)، MS کامل، MS با FeEDDHA و MS به همراه نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش و پوشش‌دار) بر ریشه‌زایی رز مینیاتوری[۲] مشاهده شد که بیش‌ترین درصد ریشه‌زایی از محیط دارای نانوذرات اکسید آهن و کم‌ترین درصد ریشه‌زایی (صفر درصد) از تیمار شاهد گزارش شد (Jamzad far, 2001).

اسید سالیسیلیک می‌تواند به دلایلی مانند افزایش میزان تقسیم در مناطق مریستمی و رشد سلولی آثار تحریکی بر رشد گیاه داشته باشد و از دلایل دیگر آن نیز تأثیر این محرک بر دیگر هورمون‌های گیاهی است. اسید سالیسیلیک در سنتز پروتئین‌های خاصی ازجمله پروتئین کیناز نقش داشته که این پروتئین‌ها نیز نقش مؤثری در تنظیم، تقسیم، تمایز و ریخت‌زایی سلول دارند. به همین دلیل اثر این محرک بر افزایش طول ریشه در گیاهان مختلف مثبت بوده است. غلظت‌های بالاتر اسید سالیسیلیک، به‌علت سمیت اثر مهارکنندگی روی رشد سلول‌ها دارند و سلول‌ها به جای رشد و تکثیر، متابولیت‌های بیشتری تولید می‌کنند. همچنین مشاهده شده که غلظت‌های بالای این ترکیب، به‌علت ایجاد تنش و آسیب بافت سلول موجب ممانعت رشد و کاهش متابولیسم سلول‌ها شده است، همچنین غلظت‌های بالای اسید سالیسیلیک موجب کاهش وزن تر ریشه‌های مویین شابیزک شد (Sadeghian *et al.*, 2013).

محتوای کلروفیل

آهن به‌عنوان یک عنصر ضروری در سنتز کلروفیل نقش دارد و به‌عنوان یک عامل ضروری برای ساخت پروتوپورفرین که پیش‌ماده سنتز کلروفیل است، ضروری می‌باشد. تقریباً ۶۰ درصد محتوای آهن برگ در کلروپلاست موجود می‌باشد. به همین علت مقدار کم آهن بر میزان کلروفیل تأثیر گذاشته و باعث کلروز می‌گردد. بنابراین وجود آهن کافی، موجب بهبود کلروفیل‌سازی در گیاه می‌شود و وضعیت کلروفیل گیاه نیز در میزان فتوسنتز و رشد گیاه تأثیر می‌گذارد (Lombardi *et al.*, 2003). گرچه نانوذرات آهن از عوامل اصلی و تعیین‌کننده رشد نیستند ولی به دلیل داشتن خصوصیات شیمیایی و فیزیکی منحصر به فرد، قادر به تغییر قابلیت دسترسی عناصر غذایی به گیاه خواهند بود. به عبارت دیگر نانوذرات آهن به علت اندازه کوچک، سطح ویژه بسیار زیادی دارند که موجب افزایش فعالیت شیمیایی آن‌ها می‌شود. در پژوهشی به منظور ارزیابی تأثیر نانو ذرات آهن و نقره بر شاخص‌های رشدی گل گاوزبان اروپایی نشان داده شد که برهمکنش این دو نانو ذره بر محتوای کلروفیل گیاه معنی‌دار بوده و بیشترین تأثیر در تیمار ۸۰ پی پی ام نانو ذره آهن و ۸۰ پی پی ام نانو ذره نقره بوده است (Dahmardeh *et al.*, 2018).

تأثیر اسید سالیسیلیک بر افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان مختلفی ثابت شده است که علت آن کاهش سنتز اتیلن و تحریک دستگاه فتوسنتزی بیان گردیده است. اسید سالیسیلیک با افزایش وزن خشک برگ و کلروفیل کل به‌طور مستقیم سطح

۱- *Citrus aurantium*

۲- *Rosa chinensis*

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

فتوسنتز کننده و توان فتوسنتزی گیاه را افزایش داده و به‌دنبال آن مؤلفه‌های رشد از جمله عملکرد برگ، گل آذین و کل اندام هوایی افزایش یافته است. اسید سالیسیلیک بر مقدار رنگیزه‌ها تأثیرگذار است و این اثر بستگی به غلظت آن دارد. در تحقیقی افزایش غلظت اسید سالیسیلیک تا حدود ۲۰۰ میکرومولار باعث افزایش کلروفیل a و b در گیاه تربچه شده است (Munzuroghlu & Canakci, 2009).

محتوای فنل و فلاونوئید

ترکیبات فنولی با توجه به نقش آن‌ها در کاهش و یا مهار پراکسیداسیون لیپیدها، جاروب کردن رادیکالهای آزاد، از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان ضروری در مقابل اثرات منفی تنش اکسیداتیو در گیاهان به شمار می‌آیند. معمولاً در شرایط تنش به‌علت افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، میزان تولید ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها در گیاهان شوید (Mehr *et al*., 2012) و پامچال [1] (Jaafar *et al*., 2012) افزایش پیدا می‌کند.

در آزمایشی تأثیر سه نانو الیسیتور اکسید روی، اکسید سیلسیوم و نانو نقره بر سوسپانسیون سلولی ریشه گیاه شقایق ایرانی [2] بررسی شد و نشان داده شد که بیش‌ترین میزان مورفین در تیمار نانو نقره و بیش‌ترین میزان کدئین در تیمار نانو اکسید سیلسیوم، ۴۸ ساعت پس از اعمال تیمار به‌دست آمد (Asadollahi, 2014).

تحقیقات نشان داده است که اسید سالیسیلیک به عنوان مولکول پیام رسان همچون سایر محرک‌ها بیان ژن‌های مرتبط با تولید متابولیت‌های ثانویه را در گیاه القا می‌کند. در واقع اسید سالیسیلیک یک تنظیم کننده رشد گیاهی است که ترکیب پیام رسان کلیدی در فعالسازی پاسخ‌های دفاعی گیاهی محسوب می‌شود. اسید سالیسیلیک انگیزش و آغاز رونویسی ژن‌های درگیر در مکانیسم شیمیایی دفاعی در گیاهان را باعث می‌شود. پاسخ‌های دفاعی گیاه نیز به کاهش تولید مواد اولیه و بیوسنتز وتجمع انواع ترکیبات ثانویه گیاه می‌انجامد. با این حال ویژگی محرک، غلظت و زمان کاربرد آن، شرایط محیط کشت و مرحله رشد سلول‌ها بر فرآیند انگیزش و تولید متابولیت‌های ثانویه تأثیرگذار می‌باشد (Gao, 2007). بررسی اثر اسید سالیسیلیک بر محتوای فنلی کالوس در کنگر فرنگی نشان داد که میزان فنل کل تحت تأثیر اسید سالیسیلیک افزایش یافت، به‌طوری‌که با افزایش غلظت این ترکیب تا ۱۰۰ میکرومولار میزان محتوی فنلی افزایش معنی‌داری نشان داد. افزایش غلظت اسید سالیسیلیک تا سطح ۲۵۰ میکرومولار سبب افزایش محتوی فنلی و فلاونوئیدی شد (Samadi *et al*., 2015).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، جزئیات برهمکنش نانوذره آهن و اسید سالیسیلیک بر خصوصیات گیاهچه‌های گل راعی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشان داد که استفاده همزمان این دو ماده می‌تواند باعث افزایش شاخص‌های درصد باززایی، وزن تر، تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه، محتوای کلروفیل، محتوای فنل و فلاونوئید شود. همچنین کاربرد همزمان نانوذرات آهن و اسید سالیسیلیک اثر مثبتی روی درصد باززایی و ارتفاع گیاه نداشت. کاربرد به تنهایی نانوذرات آهن با غلظت صفر، ۵۰ میکرومول باعث افزایش تعداد ریشه و ارتفاع گیاه شد. با توجه به این پژوهش گیاه گل راعی درغلظت‌های ۵۰ میکرومولار نانوذره آهن و ۸۰ و ۱۲۰ میکرومول اسید سالیسیلیک بهترین نتیجه را نشان داد.

منابع

References

Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology, 24*(1), 1.

Asadollahi, E. (2014). Effect of some nano elicitors on active compound of *Papaver Bracteatum*. *Dissertation. University of Tehran. Department of Agronomy and Plant Breeding*. (In Persian).

Babaei, K., Seyed Sharifi, R., Pirzad A., & Khalilzade, R. (2017). Effects of bio fertilizer and nano Zn- Fe oxide on physiological traits, antioxidant enzymes activity and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. *Journal of Plant Interactions, 12*(1), 381-389.

۱- *Primula vulgaris*

۲- *Papaver Bracteatum*

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

Briat, J.-F., Curie, C., & Gaymard, F. (2007). Iron utilization and metabolism in plants. *Current Opinion in Plant Biology, 10*(3), 276-282.

Chen, Z., Zheng, Z., Huang, J., Lai, Z., & Fan, B. (2009). Biosynthesis of salicylic acid in plants. *Plant Signaling & Behavior, 4*(6), 493-496.

Chaudhary, P., Godara, S., Cheeran, A. N. & Chaudhari, A. K. (2012). A fast and accurate method for leaf area measurement. *International Journal of Computer Applications, 49*, 22-25.

Dahmardeh, M., Taji, R., Khammari, I., & Hadadi, T. (2018). Evaluation of the green synthesis iron and silver nanoparticles of green tea (*Camellia sinesis* L.) extract on morphological and physiological traits of borage (*Borago officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 34*(2), 330-345.

Heidarzade, A., Esmaeili, M., & Abbasi, R. (2016). Response of soybean to molybdenum and iron spray under well - watered and water deficit conditions. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, 4*, 37-46.

Hu, J., Guo, H., Li, J., Gan, Q., Wang, Y., & Xing, B. (2017). Comparative impacts of iron oxide nanoparticles and ferric ions on the growth of *Citrus maxima*. *Environmental Pollution, 221*, 199-208.

Jaafar, H.Z., Ibrahim, M.H., & Fakri, N.F.M. (2012). Impact of soil field water capacity on secondary metabolites, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), maliondialdehyde (MDA) and photosynthetic responses of *Malaysian Kacip* Fatimah (*Labisia pumila* Benth). *Molecules, 17*(6), 7305-7322.

Jamzad Far, M., Mosavi, M., & Ghafarian Mogharab, M.H. (2001). Investigation of the effect of iron oxide nanoparticles on shoot filling and rooting of miniature roses under tissue culture conditions. *First National Conference on Strategies for Achieving Sustainable Development, Tehran, Iran*.

Krizek, D.T., Britz, J.S., & Mirecki, R.M. (1998). Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire Lettuce. *Physiologia Plantarum, 103*(1), 1-7.

Kubin, A., Wierrani, F., Burner, U., Alth, G., & Grunberger, W. (2005). Hypericin-the facts about a controversial agent. *Current Pharmaceutical Design, 11*(2), 233-253.

Lombardi, L., Sebastiani, L., & Vitagliano, C. (2003). Physiological, biochemical, and molecular effects of *in vitro* induced iron deficiency in peach rootstock Mr. S 2/5. *Journal of Plant Nutrition, 26*(10-11), 2149-2163.

Mehr, Z., Khajeh, H., Bahabadi, S., & Sabbagh, S. (2012). Changes on proline, phenolic compounds and activity of antioxidant enzymes in *Anethum graveolens* L. under salt stress. *International Journal of Agronomy and Plant Production, 3*(Special Issue), 710-715.

Miura, K., & Tada, Y. (2014). Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Frontiers in Plant Science, 5*, 410.

Popova, L., Ananieva, E., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V., & Stoinova, Z. (2003). Salicylic acid-and methyl jasmonate-induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology, 29*(3-4), 133-152.

Pourakbar, L., & Abedzadeh, M. (2014). Effects of UV-B and UV-C radiation on antioxidative enzymes activity of *Melissa officinalis* and influences of salicylic acid in UV-stress ameliorations. *Iranian Journal of Plant Biology, 6*(21), 23-34. (In Persian)

Sadeghian, F., Hadian, J., Hadavi, M., Mohamadi, A., Ghorbanpour, M., & Ghafarzadegan, R. (2013). Effects of exogenous salicylic acid application on growth, metabolic activities and essential oil composition of Satureja khuzistanica Jamzad. *Journal of Medicinal Plants, 12*(47), 70-82.

Saeedi, S., Mousavi, M., & Ghaffarian Mogharab, M.H. (2016). The effect of Fe oxide nano particles to prevention Fe chlorosis ofrootstock (*Citrus aurantium*) *in vitro* condition. *Journal of Plant Ecophysiology, 7*(23), 225-233.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

Samadi, S., Ghasemnajad, A., & Alizadeh, M. (2015). Investigation on phenylalanine ammonia-lyase activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) affected by methyl jasmonate and salicylic acid in in-vitro conditions. *Journal of Plant Production Research, 21*(4), 135-148.

Shah, J. (2003). The salicylic acid loop in plant defense. *Current Opinion in Plant Biology, 6*(4), 365-371.

Slinkard, K., & Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, *28*(1), 49-55.

Walker, L., Sirvent, T., Gibson, D., & Vance, N. (2001). Regional differences in hypericin and pseudohypericin concentrations and five morphological traits among *Hypericum perforatum* plants in the northwestern United States. *Canadian Journal of Botany*, *79*(10), 1248-1255.

Zandavifard, Z., & Azizi, M. (2021). Influence of different light spectra on morphological traits and hypericin content in St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). *Journal of Horticultural Science*, *35*(3), 331-339. (In Persian)

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 25 (2):287-302 (2024)
Research article

Effect of Iron Nanoparticle and Salicylic Acid on Regeneration and Some Morphophysiological Indices of *Hypericum perforatum* L. *In Vitro*

Mousa Torabi Giglou, Younes Pourbeyrami Hir*, Esmaeil Chamani, Roghayeh Nabipour Sanjbod, Mahtab Mohammadi Masjedlo

Department of Horticultural Sciences and Landscape Designing. Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
* Corresponding author. younes_ph62@uma.ac.ir

St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) has effective compounds such as hypericin and hyperforin. Nanoparticles and elicitors increase secondary metabolite production and improve the physiological indicators of plants. Therefore, the purpose of this research is to investigate the effect of iron nanoparticle (no iron nanoparticle application and application of 50 and 100 µM) and salicylic acid (no application of salicylic acid and application of 40, 80 and 120 µM) on some morphophysiological indices (percent regeneration percentage, fresh weight, plant height, root length, root number, number of leaves, leaf area, content of photosynthetic pigments) and phytochemical (total phenolic and flavonoid content) of *Hypericum perforatum* L. The results indicated that the interaction effect of iron nanoparticles and salicylic acid on regeneration percentage, fresh weight, number of leaves, leaf area, root length, total chlorophyll content, phenol, and flavonoid content was significant at the probability level of 1%. In contrast, plant height and number of roots were insignificant. The comparison of the averages revealed that the highest percentage of regeneration and fresh weight was observed in the control treatment and the treatment combination of 50 µM iron nanoparticles and 120 µM salicylic acid, respectively. In general, the simultaneous application of iron nanoparticles (50 µM) and salicylic acid (40 and 80 µM) significantly positively affected the morphophysiological and phytochemical characteristics of *Hypericum perforatum* L.

Keywords: Nanoparticles, Phenolic compounds, Photosynthetic pigments, Regeneration, Salicylic acid.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-11-19]