

تاثیر نانو کود آهن بر خصوصیات جوانه زنی و الگوی پروتئینی دو گونه از تیره نعناعیان

داریوش طالعی^{۱*}، نسرين سرتیپ نیا^۲، فاطمه فراهانی^۳

۱- استادیار مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- استادیار دانشکده زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر، اسلامشهر، ایران

۳- کارشناس ارشد دانشکده زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر، اسلامشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۰۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۱۵

چکیده

گیاهان بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) و بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) از تیره نعناع به علت وجود ترکیبات دارویی، به ویژه اسانس‌های روغنی از اهمیت و ارزش اقتصادی بالایی برخوردار هستند. در این تحقیق تاثیر سطوح مختلف نانوکود کلات آهن بر خصوصیات جوانه‌زنی و مقدار کمی و کیفی پروتئین در آزمایشی با دو فاکتور در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بررسی شد. فاکتورها شامل: نانوکود آهن با پنج سطح (۱۶، ۱۲، ۸، ۴، ۰) و توده‌های ژنتیکی با ۳ سطح (بادرشبو مشهد و نیشابور و بادرنجبویه اصفهان) بودند. بذور در غلظت‌های مختلف نانوکود کلات آهن خیسانده شدند و درصد جوانه‌زنی بذور روزانه بمدت ۱۴ روز یادداشت برداری و شاخص‌های جوانه‌زنی محاسبه و الگوی نوارهای پروتئینی بذور جوانه زده به روش SDS-PAGE مورد تجزیه قرار گرفتند. نتایج نشان داد تیمارهای مختلف اثر معنی‌داری روی خصوصیات جوانه‌زنی و مقدار کمی و کیفی پروتئین داشت. بیشترین سرعت جوانه‌زنی و بیشترین نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه به ترتیب در غلظت ۸ mg/L و ۴ mg/L نانوکود آهن در توده بادرنجبویه مشاهده شد. نتایج الکتروفورز تعداد ۹ نوع نوار پروتئینی با وزن مولکولی بین ۱۰ تا ۱۵۰ کیلوالتون بین توده‌های ژنتیکی نشان داد که ۳ پروتئین از بین آنها پلی مورفیسم بودند. با افزایش میزان نانوکود آهن مقدار کمی پروتئین کل افزایش یافت و بیشترین محتوای پروتئین در تیمار ۱۶ mg/L بدست آمد، در حالیکه در مقدار کمی پروتئین‌ها تغییری مشاهده نشد. نتایج نشان داد که مقدار کمی پروتئین توده بادرنجبویه نسبت به دو توده بادرشبو بیشتر بود.

کلید واژه‌ها: بادرنجبویه، بادرشبو، SDS-PAGE، پروتئین کل، نانوکود آهن، جوانه‌زنی.

مقدمه

می‌رود. با توجه به این که خاک اغلب اراضی زراعی و باغی کشور ایران آهنی است، استفاده از کود نانو آهن، به دلیل سبک و کوچک بودن ذرات و واکنش پذیری زیاد، در محیط‌های مختلف می‌تواند به عنوان یک راه حل مناسب مطرح باشد (Frohar, 1999).

در بررسی اثر کود آهن و نانوکود آهن در گیاه ریحان، تفاوت معنی‌داری در میانگین محتوای پروتئین برگ‌های ریحان مشاهده شده است (پیوندی و همکاران، ۲۰۱۱). کاربرد پودر اکسید آهن نانو نسبت به اکسید آهن معمولی در افزایش غلظت آهن گیاه تاثیر بیشتر و معنی‌داری داشت که احتمالاً به دلیل خاصیت نانوذرات و حلالیت بیشتر آنها می‌باشد، همچنین، شاید شناس بر خورد ریشه‌ها به ذرات نانو نسبت به ذرات اکسید آهن معمولی بیشتر است (Mazaheri nia, 2009).

آهن بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیاء است و به عنوان عامل اکسایش و کاهش در بخشی از ساختمان ناقلائی که در ترانفرستی الکترون دخالت دارند، نظیر سیتوکروم‌ها و پروتئین‌های غیر هم که در فتوسنتز، تنفس و تثبیت ازت نقش دارند، وجود دارد و برای سنتز کلروفیل مورد نیاز است (تایز و زایگر، ۲۰۰۲). با استفاده از تکنیک سدیم دودسیل سولفات پلی‌اکریل آمید ژل الکتروفورز (SDS-PAGE) می‌توان میزان بیان پروتئین‌ها و کیفیت آنها را بررسی نمود. SDS-PAGE در میان روش‌های بیوشیمیایی به دلیل سادگی، تکرارپذیری و اعتبار به طور گسترده‌ای استفاده می‌شود، زیرا پروتئین‌ها حاصل بیان DNA ژنومی می‌باشند (Radwan, et al., 2013). این تحقیق با هدف بررسی تاثیر سطوح مختلف نانوکود آهن بر عملکرد گیاه دارویی بادرنجبویه و بادرشبو جهت تعیین غلظت مناسب نانوکود آهن برای افزایش کارایی مصرف کودهای شیمیایی و بررسی کمی و کیفی پروتئین آنها انجام شد.

تیره نعناع یکی از تیره‌های مهم گیاهی می‌باشد که ۲۰۰ جنس و ۴۰۰۰ گونه را در خود جای‌داده‌است. یکی از جنس‌های این خانواده بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) می‌باشد که گیاهی علفی و پایا بوده و بیشترین پراکنش آن در مناطق مدیترانه و نواحی شمال ایران قرار دارد. مهمترین اندام مورد استفاده بادرنجبویه برگ‌های بدون دمبرگ و سرشاخه‌های جوان آن است (زرگری، ۱۳۷۶). بیشترین ترکیب اسانس آن را سیترونال، ژرانیول، ژرانیل استات، لینالول، لینالیل استات و لیمونین تشکیل داده است (Klimek, 1998). این گیاه دارای خواص دارویی از جمله آرام بخش، ضدنفخ، ضد باکتری، ضد ویروس، ضد قارچ و آنتی‌اکسیدان می‌باشد (Fritz-weiss and Fintelmann, 2000). جنس دیگر از این تیره، بادرشبو یا بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) می‌باشد که اثراتی مشابه بادرنجبویه ولی خفیف‌تر دارد. این گیاه علفی، یکساله و به حالت خودرو در بعضی نواحی جنوب اروپا، جزیره سیسیل، مولداوی و جنوب غربی آسیا و در ایران در جنگل‌های مرطوب مازندران، یزد، تبریز، ارومیه مشاهده می‌شود (زرگری، ۱۳۷۶).

یکی از عوامل دستیابی به عملکرد بالا در واحد سطح درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرها و استقرار گیاهچه‌های حاصل از بذور کشت شده است که در بین مراحل زندگی گیاهان، جوانه‌زنی اولین مرحله نموی گیاه و به عنوان مرحله کلیدی در سبز شدن گیاهچه در نظر گرفته می‌شود (De-Villiers, et al., 1994).

رشد و نمو و عملکرد گیاهان دارویی، مانند سایر گیاهان متاثر از عوامل مختلف ژنتیکی و محیطی است. در گیاهان دارویی وجود ماده موثره حائز اهمیت است و شرایط محیطی و حاصلخیزی خاک عامل تغییر در میزان ماده موثره و اسانس بوده که نقش عناصر کم مصرف در خاک مهم می‌باشد (فرزانه، ۱۳۶۹). آهن یکی از عناصر ضروری کم مصرف و کم تحرک برای گیاهان به شمار

مواد و روش‌ها

این مطالعه بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور و سه تکرار در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد تهران در سال ۱۳۹۲ انجام شد. فاکتورها شامل نانوکود آهن با پنج سطح (۱۶ mg/L، ۱۲، ۸، ۴، ۰) و توده‌های ژنتیکی با سه سطح (بادرشبو مشهد و نیشابور و توده بادرنجبویه اصفهان) بودند.

جوانه‌زنی و اعمال تیمار: بذور ابتدا با هیپوکلرید سدیم ۱۰٪ ضد عفونی و ۳ بار با آب مقطر شستشو شدند (طالعی و همکاران، ۲۰۱۱). تعداد ۵۰ بذر در هر ظروف پتری‌دیش روی کاغذ صافی به طور یکنواخت قرار داده شدند. سپس بذور با غلظت‌های مختلف کود نانو کلات آهن محلول‌پاشی شدند. پتری‌دیش‌ها به مدت ۱۴ روز درون اتاقک رشد در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۵ درصد قرار گرفتند. درصد جوانه‌زنی روزانه بمدت ۱۴ روز محاسبه و بعد از پایان دوره صفاتی از جمله طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه (R/S)، سرعت جوانه‌زنی (RG) به روش Bajji (۲۰۰۲)، میانگین جوانه‌زنی روزانه (MDG) به روش خوشخوی (۱۳۷۵)، میانگین روز جوانه‌زنی به روش Elis and Roberts (1981)، سرعت جوانه‌زنی روزانه (DGS) به روش Hanter (1984) و شاخص ویگنور به روش Agrawal (2004) محاسبه گردید.

استخراج پروتئین محلول برگ: یک گرم از نمونه‌های برگ‌های اولیه بذور توده‌های ژنتیکی پس از ۱۴ روز تیمار نانوکود آهن با استفاده از ازت مایع به خوبی پودر شد، سپس ۲/۵ میلی لیتر از بافر استخراج HEPES/KOH به هر نمونه اضافه و پروتئین‌ها به روش Talei et al (2013) استخراج و مقدار کمی پروتئین توسط دستگاه Lambda 25 uv/vis در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از معرف برادفورد اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976).

تفکیک پروتئین‌ها با استفاده از SDS-PAGE: الکتروفورز یک بعدی بر اساس روش Iamli (1970) انجام

شد. از هر نمونه به مقدار 20µg/µL پروتئین در بافر نمونه 4X حل شد، و نمونه‌ها درون چاهک‌های ژل جداسازی پلی‌اکریل آمید ۱۲٪ بارگذاری شد. الکتروفورز در 90V برای 90 دقیقه با استفاده از سیستم الکتروفورز Bio-Rad به انجام رسید. ژل‌ها با استفاده از محلول کوماسی بلو رنگ‌آمیزی و سپس با متانول ۴۰٪ و استیک اسید ۷٪ رنگ-بری شد. امتیازدهی نوارها بر اساس الگوی صفر و یک (به ترتیب حضور و عدم حضور) انجام شد و ماتریس داده‌های حاصل برای تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار SPSS در سطح احتمال $P \leq 0.01$ انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوکود آهن اختلاف معنی‌داری روی طول ریشه‌چه در سطح احتمال ۱ درصد و برای سرعت جوانه‌زنی، میانگین روز جوانه‌زنی و نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری داشت. بین توده‌های ژنتیکی از لحاظ میانگین جوانه‌زنی و نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ و بر اساس سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۵٪ مشاهده شد. اما اثر متقابل نانوکود آهن و توده‌های ژنتیکی فقط روی نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۱).

نتایج نشان داد که بیشترین سرعت جوانه‌زنی در توده بادرنجبویه اصفهان (۲۶/۱۸) و کمترین آن در توده بادرشبو (۲۲/۳۴) مشاهده شد. همچنین، بیشترین (۸۱٪) و کمترین (۵۴٪) نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه به ترتیب در توده بادرنجبویه اصفهان و توده بادرشبو نیشابور بدست آمد، اما بیشترین میانگین روز جوانه‌زنی در توده بادرشبو مشهد (۳/۰۵) و کمترین میزان در توده بادرنجبویه اصفهان (۲/۵) حاصل شد (جدول ۲). بیشترین سرعت

جوانه‌زنی در تیمار ۶ mg/L و کمترین سرعت جوانه زنی در تیمار ۸mg/L مشاهده شد. طول ریشه‌چه با افزایش مقدار نانوکود آهن تا ۸mg/L کاهش یافت، که بیشترین آن تیمار شاهد (صفر) و کمترین آن تیمار ۸mg/L بود. همچنین، کمترین نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه در تیمار نانوکود ۸mg/L دیده شد. در حالیکه بیشترین میانگین روز جوانه‌زنی در تیمار ۸mg/L بدست آمد (جدول ۲).

جدول ۱. تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی بذور گیاهان دارویی بادرنجوبیه و بادرشبو تحت غلظت‌های مختلف نانوکود آهن
Table 1. Analysis of variance of germination characteristics in *Melissa officinalis* and *Dracocephalum moldavica* under Nano-Fe fertilizer treatment.

میانگین مربعات Mean square					منابع تغییرات
میانگین روز جوانه‌زنی	میانگین جوانه‌زنی روزانه	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه‌زنی	درجه آزادی	
Mean germination time	Mean day germination	Germination rate	Germination	df	Source of variance
1.34**	0.854ns	72.08*	144.27ns	2	توده Accession
0.93*	0.469ns	57.80*	79.24ns	4	نانوکود آهن Nano-Fe fertilizer
0.10ns	0.645ns	7.97ns	109.04ns	8	نانوکود آهن × توده Nano-Fe × Accession
0.24	0.788	20.72	133.24	30	خطای آزمایش Test error

ns غیر معنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪
ns, ** and * are non-significant and significant at the 0.01 and 0.05, respectively.

ادامه جدول ۱.

میانگین مربعات Mean square					منابع تغییرات
ریشه‌چه / ساقه‌چه	شاخص ویگور	طول گیاهچه	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	
Root/radical	Vigor index	Seedling length	Root length	Radical length	Source of variance
0.36**	487090.60ns	52.95ns	0.08ns	53.90ns	توده Accession
0.91*	42820.70ns	50.81ns	0.45**	44.30ns	نانوکود آهن Nano-Fe fertilizer
0.09**	376405.80ns	40.54ns	0.95ns	43.90ns	نانوکود آهن × توده Nano-Fe × Accession
0.03	373475.50	42.54	0.05	42.40	خطای آزمایش Test error

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر ساده توده‌های ژنتیکی و تیمار نانوکود آهن بر خصوصیات جوانه‌زنی بادرنجبویه و بادرشبو

Table 2. Mean comparison of accessions and Nano-Fe fertilizer on germination characteristics in *Melissa officinalis* and *Dracocephalum moldavica*.

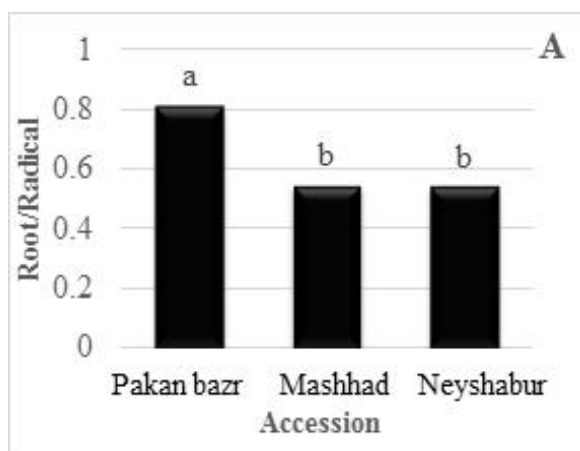
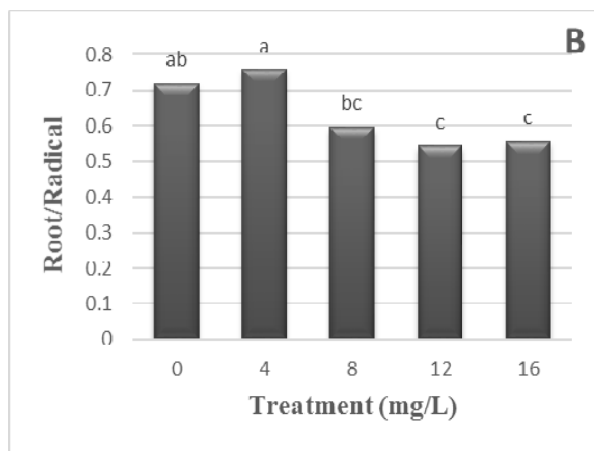
تیمارها	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	میانگین جوانه‌زنی روزانه	میانگین روز جوانه‌زنی	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	طول گیاهچه	شاخص ویگور	ریشه‌چه / ساقه‌چه
Treatments	Germination (%)	Germination rate (%)	Mean day germination (%)	Mean germination time (day)	Radical length (cm)	Root length (cm)	Seedling length (cm)	Vigor index	Root/radical
اصفهان Esfahan	92.53 ^a	26.18 ^a	7.11 ^a	2.50 ^b	1.82 ^a	1.44 ^a	3.27 ^a	3.53 ^a	0.81 ^a
توده ژنتیکی Mashhad Accession	98.66 ^a	22.43 ^b	7.58 ^a	3.05 ^a	2.56 ^a	1.40 ^a	3.96 ^a	3.91 ^a	0.54 ^b
نیشابور Neyshabur	96.40 ^a	22.34 ^a	7.41 ^a	3.01 ^a	5.42 ^a	1.39 ^a	6.81 ^a	6.50 ^a	0.54 ^b
نانوکود آهن	0	23.31 ^{ab}	7.05 ^a	2.80 ^b	7.23 ^a	1.69 ^a	8.92 ^a	8.37 ^a	0.72 ^{ab}
4	4	24.38 ^a	7.50 ^a	2.93 ^{ab}	2.16 ^a	1.62 ^a	3.84 ^a	3.75 ^a	0.76 ^a
6	6	25.79 ^a	7.60 ^a	2.72 ^b	2.21 ^a	1.25 ^b	3.61 ^a	3.38 ^a	0.60 ^{bc}
8	8	19.45 ^b	7.48 ^a	3.35 ^a	2.33 ^a	1.24 ^b	3.57 ^a	3.47 ^a	0.54 ^c
12	12	25.33 ^a	7.21 ^a	2.48 ^b	2.39 ^a	1.26 ^b	3.66 ^a	3.44 ^a	0.56 ^c

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین تیمارهاست.

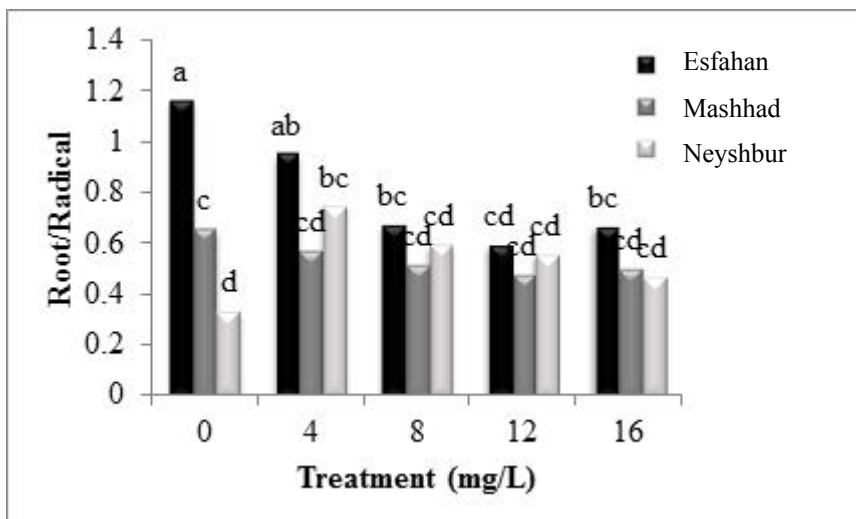
Different letters indicate significant difference between the values of pairs of treatment within columns at $P < 0.01$ according Duncan's multiple comparisons test.

پروتئین کل افزایش یافت و تیمار ۱۶ mg/L بیشترین محتوای پروتئین را دارا بود. همچنین، توده اصفهان مقدار کمی پروتئین بیشتر نسبت به هر دو توده بادرشبو نشان داد (شکل ۱، ۲ و ۳).

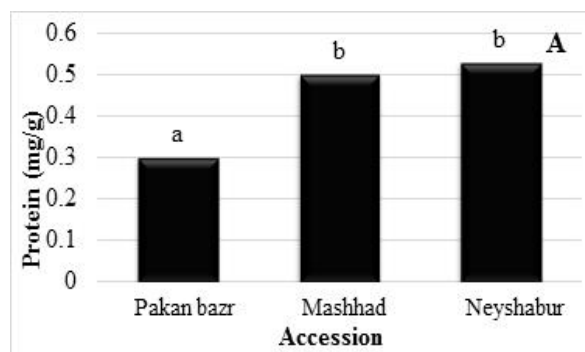
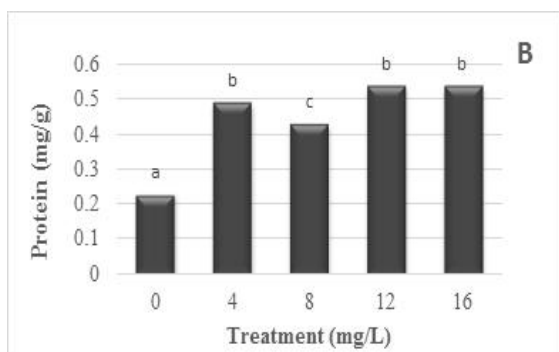
در اثرات متقابل تیمار نانوکود آهن و توده‌های ژنتیکی، بیشترین مقدار را توده اصفهان و تیمار شاهد (صفر mg/L) و کمترین مقدار را همان تیمار در توده بادرشبو نیشابور نشان داد (شکل ۲). با افزایش میزان نانوکود آهن محتوای



شکل ۱. مقایسه میانگین نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه در توده‌های ژنتیکی (A) و غلظت‌های مختلف نانوکود آهن (B)



شکل ۲. مقایسه میانگین نسبت ریشه چه به ساقچه در توده‌های ژنتیکی تحت غلظت‌های مختلف نانوکود آهن



شکل ۳. مقایسه میانگین مقدار کمی پروتئین در توده‌های ژنتیکی (A) و غلظت‌های مختلف نانوکود آهن (B)

پروتئین‌ها (نوع نوار پروتئینی) تغییری مشاهده نشد، اما شدت برخی نوارهای پروتئینی با افزایش نانوکود آهن افزایش پیدا کرد. نتایج نشان داد که، توده بادرنجبویه، مقدار پروتئین بیشتری نسبت به دو توده بادرشبو داشت. این مطالعه نشان داد که تیمار کود نانوکلات آهن باعث افزایش برخی خصوصیات جوانه‌زنی شد، عوامل خاکی برای گیاهان دارویی اهمیت زیادی دارند، که در بین عوامل مربوط به خاک، نقش عناصر غذایی از اهمیت بیشتری برخوردار است زیرا این عوامل به راحتی تغییرپذیر هستند و می‌توان با تغییر آنها، تغییرات قابل توجهی را در کمیت و

نتایج SDS-PAGE پروتئین‌های برگهای اولیه بذور توده‌های ژنتیکی پس از ۱۴ روز تیمار نانوکود آهن تعداد ۹ نوع نوار پروتئینی با وزن مولکولی بین ۱۰ تا ۱۵۰ کیلو دالتون بین توده‌های ژنتیکی نشان داد که توده‌های ژنتیکی در اکثر نوارهای پروتئینی مشابه بودند و فقط ۳ پروتئین از بین آنها پلی‌مورفیسم بودند. پروتئین‌های پلی‌مورفیسم شامل پروتئین‌های با وزن مولکولی ۵۰، ۳۷ و ۲۵ کیلودالتون بودند. با افزایش میزان نانوکود آهن مقدار کمی پروتئین کل افزایش یافت و بیشترین محتوای پروتئین در تیمار ۱۶ mg/L بدست آمد، در حالیکه در مقدار کیفی

در تحقیقی تأثیر غلظت‌های مختلفی از کود کلات آهن و نانوکلات آهن بر پارامترهای رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مقدار پروتئین در گیاه ریحان مورد بررسی قرار گرفته و گزارش شده است که پارامترهای رشد در گیاهان تیمار شده با بیشترین غلظت کود آهن و کمترین غلظت نانوکود آهن، نسبت به شاهد افزایش یافته است. فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی در حضور کود آهن بیشتر از تیمارهای نانوکود آهن بود. همچنین، نانو کود آهن سبب کاهش محتوی پروتئین در مقایسه با کود آهن گردید. افزایش در محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی در تیمارهایی که تحت نانوکود کلات آهن با بیشترین غلظت بودند، دیده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که جایگزینی کود آهن می‌تواند سبب افزایش رشد کمی و کیفی گیاه ریحان شود (Peyvandi et al., 2011).

نتیجه گیری

با توجه به نقش پروتئین‌ها در فرآیند رشد و نمو گیاه، افزایش شدت نوارهای پروتئینی با افزایش کود نانو می‌تواند مقاومت گیاه را در مواجه شدن با استرس محیطی و غیر محیطی افزایش داده و از کاهش میزان عملکرد و ترکیبات موثره تحت استرس ممانعت بعمل آید. بطور کلی کاربرد نانوکود آهن نقش موثری در افزایش رشد کمی و کیفی گیاه بادرنجبویه و بادرشبو خواهد داشت. بنابراین، استفاده از نانوکود آهن در کشت این گیاهان قابل توصیه می‌باشد.

کیفیت گیاهان دارویی ایجاد نمود (امید بیگی، ۱۳۷۹). بر اساس مطالعه‌ای، عملکرد و کیفیت محصول گیاه دارویی بادرشبو با کاربرد کودهای زیستی در کلیه صفات در مقایسه با شاهد برتری معنی‌داری داشت (رحیم زاده، ۱۳۹۰).

افزایش غلظت نانوکود آهن باعث افزایش میزان محتوای پروتئین کل و افزایش نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه در این گیاهان شد که می‌تواند به علت نقش آهن در فعالیت کاتالیزوری آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز باشد (تایز و زایگر، ۲۰۰۲). در خاکهای آهنی به دلیل کاهش جذب، در بعضی از موارد کلروز ناشی از آهنک، در ارتباط با پائین‌تر بودن میزان جذب و انتقال آهن به برگها اتفاق می‌افتد (Fregoni and Bavaresco, 1992) و در موارد دیگر غیر فعال شدن مقادیر بالایی از آهن به عنوان دلیل کمبود آهن مطرح می‌گردد (Morales et al., 1998). در مطالعات انجام گرفته در گیاهان متعددی، مشاهده گردیده که کمبود آهن و مس، سبب تاخیر آغاز گلدهی می‌گردد که خود تحت تاثیر دوره نوری در گیاهان می‌باشد (Bernier, 1985).

برای معالجه کلروز آهن روش‌های مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است که از جمله آنها استفاده از نمک‌های معدنی آهن، مواد اصلاحی اسیدزا، زباله‌ها و تولیدات جنبی صنایع، کلات‌های آهن ترکیبات آلی (Hogstrom, 1984)، از بین ترکیبات بکار رفته کلات‌های مصنوعی آهن موثرترین آنها بوده است (Mortvedt, 1986).

منابع

- امید بیگی، ر. ۱۳۷۹. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. طراحان نشر. ۳۷۹ صفحه.
- پیوندی، م، پرنده، ه، و م. میرزاد، ۱۳۹۰. مقایسه تأثیر نانوکلات آهن با کلات آهن بر پارامترهای رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ریحان (*Ocimum basilicum*) فصلنامه تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی، شماره ۴، صص ۸۹-۹۵.
- تایز ل، زایگر ا، فیزیولوژی گیاهی، خانه زیست‌شناسی (ویرایش سوم) تهران، ۲۰۰۲، صفحه ۷۸۰
- خوشخوی، م. ۱۳۷۵. گیاه‌افزایی (ازدیاد نباتات) مبانی و روش‌ها. (ترجمه)، جلد اول. انتشارات دانشگاه شیراز. صفحه ۳۷۳.

رحیم‌زاده، س.، سهرابی، ی.، حیدری، غ. م.، عیوضی، ع. ر. و حسینی، ط.، ۱۳۹۰. تاثیر کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی بر عملکرد و درصد اسانس گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica L*). فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، شماره ۱، صص ۸۱-۹۶.

زرگری، ع.، ۱۳۷۶. گیاهان دارویی (جلد چهارم). انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۹۶۹ صفحه.

سلطانی، ابوالقاسم، دایره‌المعارف طب سنتی (گیاهان دارویی)، ۱۳۸۳، ارجمند، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی، شماره ۲، صص ۵۲۴.

فرزانه، ه.، ۱۳۶۹، آگروشیمی (ترجمه)، انتشارات آوای نور.

Agrawal RL. 2004. Seed Technology. New Dehli, Oxford IBH pub;pp:104-6.

Bajji, M., J.m. kinet., S. Lutts. 2002. Osmotic and ionic effects of nacl on germination,early seeding growth,and ion content of Atriplex halimus (*Chenopodiaceae*). Canadian Journal of Botany 80, 297-304.

Bavaresco, L., Fregoni, M. (1992). Investigation on some physiological parameters involved in chlorosis occurrence in grapevine. Plant Nutr, Vol, 15, PP. 1791-1807.

Bemier, G., Kinet, J M., and Sachs, R M. (1985). The physiology of flowering. CRC press. Inc., Flirida. PP. 13-20.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry. 72:248-254.

De Villires, A J., Van Rooyrn, M W., Theron, G K., and Van Deventer, HA. (1994). Germination of three Namaqualand pioneer species, as in fluenced by salinity, temperature and light. Seed Science Technology 22: 427 – 433

Ellis RH, Roberts EH. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science Technology 9:373-409

Hogstrom, G R. (1984). Correct management practices for correcting iron deficiency in plants with emphasis on soil

Huntr, E A., Glasbey C A., and Naylov, R E L. (1984). The analysis of data from germination tests. Journal of Agricultural Science ,Cambridge.102:207-213.

Klimek, B., Majda, T., and Patora, J. (1998). Investigation of essential oil and phenolic compounds of essential oil and phenolic compounds of lemon balm (*Melissa officinalis L.*) cultivated in Poland. Vth Conference on the Application of Chromatographic Methods in phytochemical and Biomedical Research Lublin, Poland. Herbpolonica .44: 4, 324- 331

Laemmli, U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 1970. 227(5259): p. 680-685.

Mazaherinia, S., Astaraei, A.R., Fotovat, A., Monshi, A., 2010. Nano iron oxide particles efficiency on Fe, Mn, Zn and Cu concentrations in wheat plant. World Appl. Sci. J. 7(1), 36- 40 .

Morales, F., Grasa, R., Abadia A., and Abadia, J. (1998). Iron chlorosis paradox in fruit trees. Journal of Plant Nutrition. Vol. 21, PP. 815-825.

Mortvedt, J J. (1986). Iron sources and management practices for correcting iron chlorosis problems. Journal of Plant Nutrition, Vol. 9, PP. 961-974.

Radwan, S A., El-Koly, A S., and Sammaour, R H. (2013). Genetic variation among accessions of Lathyrus inconspicuous (L.) as revealed by SDS Polyacrylamide Gel Electrophoresis, Acta agriculturae Slovenica, 21 – 30, 1.01.

- Talei, D., Mihdzar, A.K., Khanif, M.Y., Saad, M.S., Valdiani, A.R. (2011). Effects of different surface sterilizers on seed germination and contamination of king of bitters (*Andrographis paniculata nees.*). American-Eurasian journal of agricultural and environmental sciences 10:639-643.
- Talei, D., Valdiani, A., Puad, M. (2013). An effective protein extraction method for two-dimensional electrophoresis in the anticancer herb (*Andrographis paniculata Nees.*). Biotechnology and Applied Biochemistry, 2013. doi: 10.1155/2013/319047.
- Weitzel C, Petersen M. 2011. Cloning and characterization of rosmarinic acid synthase from *Melissa officinalis* L. *Phytochemistry* 72, 572 - 578

Impact of Nano-Fe fertilizer on germination traits and protein pattern of three *Melissa officinalis* species

Daryush Talei^{1*}, Nasrin Sartipnia², Fatemeh Farahani²

1- Medicinal Plants Research Center, Shahed University, Tehran

2- College of Biology, Islamic Azad University, Islamshahr Branch

*Corresponding Author: Daryush Talei

Email: d.talei1348@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Genera of Lemon balm (*Melissa officinalis* L) and Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica*) belong to the Lamiaceae family. The plants due to its medicinal compounds, particularly essential oils; are very important for cultivation and quality improvement. The aim of this study was to investigate the effect of Nano-Fe fertilizer rates on seed germination indices.

Material and Methods: The experiment was carried out based on factorial complete randomized design with two factors and three replicates at Medicinal Plants Research Center, Shahed University in 2013. The factors were Nano-Fe with five levels (0, 4, 8, 12 and 16 mg/L) and genetics of the plants with three levels (D. moldavica of Mashhad and Neyshabur accessions) and M. officinalis of Esfahan accession).

Results: The results showed that different levels of Nano-Fe had high significant effect on germination rate, mean of germination day and root to shoot ratio among genetic accessions. The interaction was significant only in terms of root to shoot ratio. The Nano-Fe fertilizer significantly improved the root length. The highest germination rate was obtained in treatment of 8 mg/L and M. officinalis genus. The highest root to shoot ratio was achieved in 4 mg/L of Nano-Fe fertilizer and M. officinalis genus. According to the electrophoresis results of nine types of protein band of the molecular weight between 10 to 150 kDa among the genetic masses (breeds), three proteins were polymorphism.

Conclusion: The increase of Nano-Fe fertilizer led to the small increase of total protein and 16 mg/L treatment had the highest protein content, while, no alteration was discovered in the protein quality (protein band type). Moreover, it was found that the mass of *Melissa officinalis* L. had a bit higher protein content in comparison to two *Dracocephalum moldavica* ones.

Keywords: *Melissa officinalis* L., *Dracocephalum moldavica*, Germination traits, Electrophorese, Nano-Fe fertilizer.