

Improvement of salinity tolerance in *in vitro* culture of Desert Willow (*Chilopsis linearis*) using nano-chelate nitrogen

Sajede Karimpour 

*Corresponding Author: Assistant Professor, Department of Horticultural Science and Landscape Design, Shirvan Faculty of Agriculture, University of Bojnord, Bojnord, Iran. Email address: sa.karimpour@ub.ac.ir

Parniya Khalili Rad

BSc Student, Department of Horticultural Science and Landscape Design, Shirvan Faculty of Agriculture, University of Bojnord, Bojnord, Iran. Email address: parniya.khalilirad2004@gmail.com

Mohammad Paseban

BSc Student, Department of Horticultural Science and Landscape Design, Shirvan Faculty of Agriculture, University of Bojnord, Bojnord, Iran. Email address: mohammad.pasban.83@gmail.com

Abstract

Objective

Salinity is one of the most important abiotic stresses limiting plant growth and shoot regeneration in *in vitro* culture. Desert willow (*Chilopsis linearis*) is a drought-tolerant tree species, but little information is available regarding its tolerance to salinity and the role of nano-chelate nitrogen in mitigating salt stress. The aim of this study was to investigate the intrinsic tolerance of desert willow to sodium chloride and the effect of nano-chelate nitrogen on growth traits, browning, and rooting under *in vitro* conditions.

Materials and Methods

This experiment was conducted as a factorial arrangement in a completely randomized design with two factors. The first factor was nitrogen source at two levels (10.3 mM ammonium nitrate and 2.6 mM nano-chelate nitrogen), and the second factor was sodium chloride at five levels (0, 50, 100, 150, and 200 mM). Shoot explants of desert willow were cultured on half-strength MS medium. After four weeks, traits including number of activated node, leaf number, percentage of stem browning, rooting percentage, root number, root length, and shoot fresh and dry weight were

evaluated. Data were analyzed using SAS software, and means were compared using Duncan's multiple range test at a 5% probability level.

Results

The results showed that desert willow did not exhibit a significant reduction in leaf number, root number, and root length up to 100 mM sodium chloride, but at 150 and 200 mM concentrations, more than 89% reduction in these traits was observed. Nano-chelate nitrogen significantly increased activated node number by 63%, root number by 64%, and root length by 236% compared to ammonium nitrate. Furthermore, nano-chelate nitrogen reduced stem browning by approximately 88% at 50 and 100 mM salinity levels. The interaction effect of nano-chelate nitrogen $\times$ sodium chloride was significant for browning and rooting, such that at 200 mM salinity, nano-chelate nitrogen completely inhibited rooting.

Conclusion

Desert willow is a moderately salt-tolerant species to salinity, exhibiting relative tolerance up to 100 mM sodium chloride. Nano-chelate nitrogen is a superior nitrogen source compared to ammonium nitrate under in vitro conditions of this plant and can reduce salinity-induced browning and improve rooting under mild to moderate salinity. However, at very high salinity (200 mM), its application is not advisable.

Keywords: Salinity, Stem browning, Rooting, NaCl.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Karimpour S, Khalili Rad P, Paseban M (2025) Improvement of salinity tolerance in *in vitro* culture of Desert Willow (*Chilopsis linearis*) using nano-chelate nitrogen. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 2 (3), 29-52.

Journal of Genetics and Plant Breeding 2 (3), 29-52.

DOI: 10.22103/gpb.2025.5691

Received: June 11, 2025.

Received in revised form: August 9, 2025.

Accepted: August 9, 2025.

Published online: September 25, 2025.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production,
Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and
Iranian Genetics Society.



© the authors

بهبود تحمل به شوری در کشت درون شیشه‌ای بید بیابان (*Chilopsis linearis*) با استفاده از نانوکلات نیتروژن

ساجده کریم‌پور 

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران.

رایانامه: sa.karimpour@ub.ac.ir

پرنیا خلیلی‌راد

دانشجوی مقطع کارشناسی، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران.

رایانامه: parniya.khalilrad2004@gmail.com

محمد پاسبان

دانشجوی مقطع کارشناسی، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران.

رایانامه: mohammad.pasban.83@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۲۱ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۴/۰۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۸

چکیده

هدف: شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی محدودکننده رشد و باززایی گیاهان در کشت درون شیشه‌ای است. بید بیابان (*Chilopsis linearis*) گونه‌ای درختی مقاوم به خشکی می‌باشد، اما اطلاعات اندکی درباره تحمل آن به شوری و نقش نانوکدهای نیتروژن در تعدیل تنش شوری وجود دارد. هدف این پژوهش بررسی مقاومت پایه بید بیابان به کلرید سدیم و تأثیر نانوکلات نیتروژن بر صفات رشدی، قهوه‌ای شدن و ریشه‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای بود.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور انجام شد. فاکتور اول منبع نیتروژن در دو سطح (نیترات آمونیوم ۱۰/۳ میلی‌مولار و نانوکلات نیتروژن ۲/۶ میلی‌مولار) و فاکتور دوم کلرید سدیم در پنج سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) بود. ریزنمونه‌های شاخه بید بیابان در محیط کشت یک‌دوم MS کشت شدند. پس از چهار هفته، صفات تعداد گره فعال شده، تعداد برگ، درصد قهوه‌ای شدن ساقه، درصد ریشه‌دهی، تعداد ریشه، طول ریشه و وزن تر و خشک

ساقه مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌ها با نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس شدند و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که بید بیابان تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم کاهش معنی‌داری در تعداد برگ، تعداد ریشه و طول ریشه نشان نداد، اما در غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کاهش شدید (بیش از ۸۹ درصد) در این صفات مشاهده گردید. نانوکلات نیتروژن به‌طور معنی‌داری تعداد گره فعال شده را ۶۳ درصد، تعداد ریشه را ۶۴ درصد و طول ریشه را ۲۳۶ درصد نسبت به نیترات آمونیوم افزایش داد. همچنین نانوکلات نیتروژن قهوه‌ای شدن ساقه را در سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار حدود ۸۸ درصد کاهش داد. اثر متقابل نانوکلات × شوری برای قهوه‌ای شدن و ریشه‌دهی معنی‌دار بود، به‌طوری‌که در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار، نانوکلات ریشه‌دهی را به صفر رساند.

نتیجه‌گیری: بید بیابان گونه‌ای نیمه‌مقاوم به شوری است و تحمل نسبی تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم دارد. نانوکلات نیتروژن نسبت به نیترات آمونیوم منبع برتر نیتروژن برای کشت درون‌شیشه‌ای این گیاه محسوب می‌شود و می‌تواند قهوه‌ای شدن ناشی از شوری را کاهش داده و ریشه‌دهی را در شوری‌های ملایم تا متوسط بهبود بخشد. با این حال، در شوری بسیار بالا (۲۰۰ میلی‌مولار)، کاربرد نانوکلات نیتروژن برای ریشه‌دهی توصیه نمی‌شود.

کلیدواژه‌ها: شوری، قهوه‌ای شدن ساقه، ریشه‌دهی، کلرید سدیم.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: کریم‌پور ساجده، خلیلی‌راد پرنیا، پاسبان محمد (۱۴۰۴) بهبود تحمل به شوری در کشت درون‌شیشه‌ای بید بیابان (*Chilopsis linearis*) با استفاده از نانوکلات نیتروژن. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۲(۳)، ۵۲-۲۹.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production,

Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and

Iranian Genetics Society

© the authors



مقدمه

تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی و رشد گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان از جمله ایران به شمار می‌رود (Singh et al. 2024b) و از دو طریق تنش اسمزی و سمیت یونی ناشی از تجمع یون‌های سدیم و کلر، به فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان آسیب می‌زند. این وضعیت با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و مختل کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، رشد رویشی و زایشی گیاه را به شدت کاهش می‌دهد (Munns & Tester 2008; Parida & Das 2005; Zhu 2001). در پاسخ به این تنش، گیاهان از سازوکارهایی مانند حفظ هموستازی یونی (به‌ویژه نسبت

پتاسیم به سدیم)، تنظیم فشار اسمزی با تجمع اسمولیت‌های سازگار، و فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند (Hasegawa et al. 2000). با این حال، در شرایط شوری شدید و طولانی‌مدت، اغلب این سازوکارهای ذاتی کارایی لازم را ندارند. از سوی دیگر، تأمین غذای پایدار برای جمعیت روبه‌رشد جهان نیازمند افزایش ۷۰ درصدی تولیدات کشاورزی همراه با گسترش زمین‌های زراعی، حفاظت از اکوسیستم‌ها و کاهش گازهای گلخانه‌ای است (Hunter et al. 2017; Molotoks et al. 2018; Raj & Nadarajah 2022). با وجود این ضرورت، مصرف نامتعادل و بیش‌ازحد نیتروژن (با کارایی مصرف تنها ۳۰-۴۰ درصد در اغلب شرایط کشاورزی) منجر به تلفات نیتروژن از طریق آبشویی نترات، تبخیر آمونیاک، انتشار N_2O و آلودگی گسترده محیط‌زیست می‌شود (Chaudhuri et al. 2023; Giday 2019; Govindasamy et al. 2023). بنابراین، به‌کارگیری راهکارهایی که ضمن افزایش کارایی مصرف نیتروژن، بتوانند تحمل گیاهان به تنش شوری را نیز بهبود بخشند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

عناصر معدنی، علاوه بر تغذیه گیاه، به‌عنوان مولکول‌های سیگنالی در شرایط تنش غیرزیستی عمل می‌کنند (Houmani & Corpas 2024; Li et al. 2023). نیتروژن نقشی حیاتی در متابولیسم، کلروفیل، پروتئین‌ها و عملکرد دانه دارد (Barker & Pilbeam 2007). همچنین گونه‌های نیتروژن واکنش‌پذیر (RNS) مانند گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) در پاسخ به تنش، نقش سیگنالی ایفا می‌کنند (Parwez et al. 2022). نیتروژن عمدتاً به شکل نترات (NO_3^-) و آمونیوم (NH_4^+) جذب می‌شود و هر دو شکل در اکوسیستم‌ها محدود هستند (Crawford & Forde 2002). رقابت این یون‌ها با سایر یون‌ها در غشای پلاسمایی تحمل گیاه به تنش‌هایی مانند شوری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Zhu 2016). افزایش جذب نیتروژن تحمل به تنش قلیایی را افزایش می‌دهد، هرچند مکانیسم آن نامشخص است (Zhao et al. 2020). نیتروژن با اثرات تنظیم اسمزی به کاهش عواقب شوری کمک می‌کند (Lorenzo et al. 2001)؛ مثلاً استفاده از آمونیوم (NH_4^+) به‌عنوان تنها منبع نیتروژن، تحمل به شوری را بهبود می‌بخشد. بنابراین بررسی برهمکنش تغذیه نیتروژنی و تنش شوری می‌تواند به بهبود رشد گیاه در شرایط تنش غیرزیستی کمک کند (Liu et al. 2020).

محیط کشت MS به‌دلیل غلظت بالای نترات آمونیوم (NH_4NO_3)، در کشت بافت بسیاری از گونه‌ها تنش ایجاد می‌کند و افزایش فشار اسمزی و مسمومیت آمونیومی از جمله عوارض آن است (Britto & Kronzucker 2002; Esteban et al. 2016; Sarasketa et al. 2016). همچنین غلظت بالای نمک‌های نیتروژنی و عدم تعادل نسبت NH_4^+/NO_3^- از عوامل مؤثر در بروز ناهنجاری شیشه‌ای شدن، افزایش آب‌گرفتگی بافت‌ها و ایجاد اندام‌های شکننده در کشت بافت هستند (Polivanova & Bedarev 2022). در نتیجه، کاهش غلظت نمک‌های محیط کشت MS یا استفاده از محیط‌های کشت جایگزین، یکی از راهکارهای پیشنهادی برای کاهش تنش و بهبود رشد در کشت بافت است (Mazri et al. 2016; Phillips & Garda 2019; Polivanova & Bedarev 2022). نیتروژن از سه طریق بر کشت بافت تأثیر می‌گذارد: (۱) تنظیم ریخت‌زایی با نسبت بهینه NO_3^-/NH_4^+ که بسته به گونه و محیط کشت متفاوت است (Britto & Kronzucker 2002)، (۲) انرژی‌زایی کمتر در جذب

NH_4^+ در مقایسه با NO_3^- (Britto & Kronzucker 2002; Xu et al. 2012) و (۳) کنترل سمیت با جلوگیری از تجمع درون‌سلولی NH_4^+ از طریق مسیر GS/GOGAT (Bittsánszky et al. 2015; Esteban et al. 2016). چالش دیگر، نوسان شدید pH محیط است، بدین‌صورت که جذب NO_3^- محیط را قلیایی و جذب NH_4^+ محیط را اسیدی می‌کند (Sarasketa et al. 2016). جذب غالب NH_4^+ موجب کاهش pH محیط کشت و اسیدی شدن آن می‌شود. کاهش pH می‌تواند جذب آمونیوم را محدود کرده و سهم نسبی جذب نیترات را افزایش دهد. این پویایی، اهمیت تأمین هم‌زمان و متعادل هر دو شکل نیتروژن را برای حفظ پایداری pH محیط، کاهش سمیت آمونیوم و بهبود رشد گیاه نشان می‌دهد (Britto & Kronzucker 2002; Vessey et al. 1990). از این رو، نیاز به اشکال نوین نیتروژن با پایداری pH بالاتر و ظرفیت جذب بیشتر در غلظت‌های پایین‌تر وجود دارد (Xu et al. 2012). طیف گسترده‌ای از نانوکودها برای تحویل هوشمند مواد مغذی به گیاهان در حال توسعه هستند. استفاده از این نانوکودهای هوشمند با رهش آهسته (اندازه کوچک، نسبت سطح به حجم بالا، تحویل کنترل‌شده، جذب آسان و واکنش‌پذیری بالا)، یک رویکرد دوستدار محیط زیست و نوآورانه برای جایگزینی کودهای شیمیایی حجیم با افزایش کارایی مصرف، کاهش هزینه تولید و در عین حال کاهش ردپای زیست‌محیطی است (Gade et al. 2023; Shalaby et al. 2022).

اگرچه مطالعاتی در مورد اثرات مفید نانوفرمولاسیون‌های Cu, Ti, Zn, C, Ag, Mg, Fe در کشت بافت گیاهی با هدف کنترل آلودگی‌های میکروبی و همچنین تولید کالوس، ریخت‌زایی (مورفوژن)، پرآوری شاخساره و ریشه وجود دارد (Jan et al. 2026)، اما در ارتباط با کاربرد نانو-نیتروژن و سایر عناصر درشت مغذی در فرم نانو گزارشی منتشر نشده است. در مطالعه حاضر، افزون بر ارزیابی پاسخ‌های رشدی گیاه بید بیابان (*C. linearis*) به تنش شوری، امکان‌سنجی جایگزینی نیترات آمونیوم (NH_4NO_3) با نانوکلات نیتروژن (NNC) در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین، اثر تعدیل‌کنندگی (یا مهارکنندگی) این منبع نیتروژنی نوین در کاهش پیامدهای تنش شوری در شرایط درون‌شیشه ارزیابی می‌گردد.

مواد و روش‌ها

ماده گیاهی: بذرهای گیاه بید بیابان (*C. linearis*) به‌صورت درون‌شیشه‌ای در محیط کشت MS (Murashige & Skoog 1962) با یک‌چهارم غلظت، ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۸ گرم بر لیتر آگار کشت شدند و در اتاقک رشد تحت دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای 24 ± 1 درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از ۴۵ روز، ریزنمونه‌های حاوی چهار گره (به‌طول تقریبی ۳ سانتی‌متر) از هر گیاهچه جدا شدند. جوانه انتهایی و برگ‌ها حذف گردیدند و ریزنمونه‌ها در ظروف کشت ۲۲۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت MS ۱/۲ همراه با تیمارهای مختلف کشت شدند. این آزمایش در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه بجنورد، شیروان به‌اجرا درآمد.

سنتز نانوکلات نیتروژن: نانوکلات نیتروژن مورد استفاده در این مطالعه از شرکت صدور احرار شرق تهیه گردید که با استفاده از یک پروتکل خودآرایی پیشرفته شرح داده شده در ثبت اختراع دفتر ثبت اختراعات و علائم تجاری ایالات متحده (USPTO) به شماره US8288587 سنتز می شود (Nazaran 2012). بر اساس مشخصات ارائه شده توسط تولیدکننده و نتایج آنالیزهای فیزیکوشیمیایی، این ترکیب حاوی ۱۷ درصد نیتروژن (w/v) بوده و اندازه ذرات آن عمدتاً حدود ۳۱ نانومتر است. بررسی های ریخت شناسی وجود ساختارهای لایه ای متراکم با آرایش ورقه ای را نشان داده است. همچنین، حضور گروه های عاملی حاوی نیتروژن و اکسیژن در ساختار این نانوکلات تأیید شده که در پایداری و عملکرد کلات کنندگی آن نقش دارند.

اعمال تیمارهای نوع نیتروژن و شوری: نیترات آمونیوم در محیط کشت MS ۱/۲ معادل ۱۰/۳ میلی مولار استفاده شد. در محیط های کشت حاوی نانوکلات نیتروژن (NNC)، مقدار ۲/۶ میلی مولار نانوکلات نیتروژن (تولید شرکت دانش بنیان صدور احرار شرق) جایگزین نمک نیترات آمونیوم گردید. برای اعمال تیمارهای شوری، از نمک NaCl در پنج سطح صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار استفاده شد. سایر اجزای محیط کشت (عناصر ریزمغذی، درشت مغذی، ویتامین ها، ساکارز ۳۰ گرم بر لیتر، آگار ۸ گرم بر لیتر) در تمام تیمارها یکسان بود و پس از تنظیم pH در حدود ۵/۸، به وسیله اتوکلاو استریل شدند. صفات تعداد گره فعال شده، تعداد برگ، درصد قهوه ای شدن ساقه، درصد ریشه دهی، تعداد و طول ریشه و همچنین وزن تر و خشک ساقه و ریشه، پس از چهار هفته مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آنالیز آماری: طرح به صورت فاکتوریل با دو فاکتور نوع نیتروژن (۲ سطح: نیترات آمونیوم و نانوکلات نیتروژن) و شوری (۵ سطح: صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار NaCl) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و در هر تکرار ۱۰ ریز نمونه اجرا شد. داده ها توسط نرم افزار آماری SAS (SAS Institute Inc. 2013) تجزیه واریانس شدند. داده های درصدی پیش از تجزیه، تبدیل آرک سین (زاویه ای) شدند. مقایسه میانگین ها توسط آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر نوع نیتروژن (نیترات آمونیوم و نانوکلات نیتروژن) بر صفات تعداد گره های فعال شده، وزن خشک ساقه و تعداد ریشه ($p \leq 0.05$)، قهوه ای شدن و ریشه دهی ساقه ($p \leq 0.01$) و اثر کلرید سدیم (NaCl) بر صفات تعداد برگ ($p \leq 0.05$)، قهوه ای شدن ساقه، ریشه دهی، تعداد ریشه و طول ریشه ($p \leq 0.01$) معنی دار شد. همچنین اثر متقابل $NaCl \times NNC$ تنها برای دو صفت قهوه ای شدن ساقه ($p \leq 0.01$) و ریشه دهی ($p \leq 0.05$) معنی دار بود که نشان دهنده وابستگی پاسخ نوع نیتروژن به سطح شوری برای این صفات می باشد. سایر صفات از جمله وزن تر ساقه، وزن تر و خشک ریشه تحت تأثیر هیچ یک از فاکتورها قرار نگرفتند.

ارزیابی صفات ساقه شامل تعداد گره فعال شده، وزن خشک ساقه، تعداد برگ و قهوه‌ای شدن ساقه:

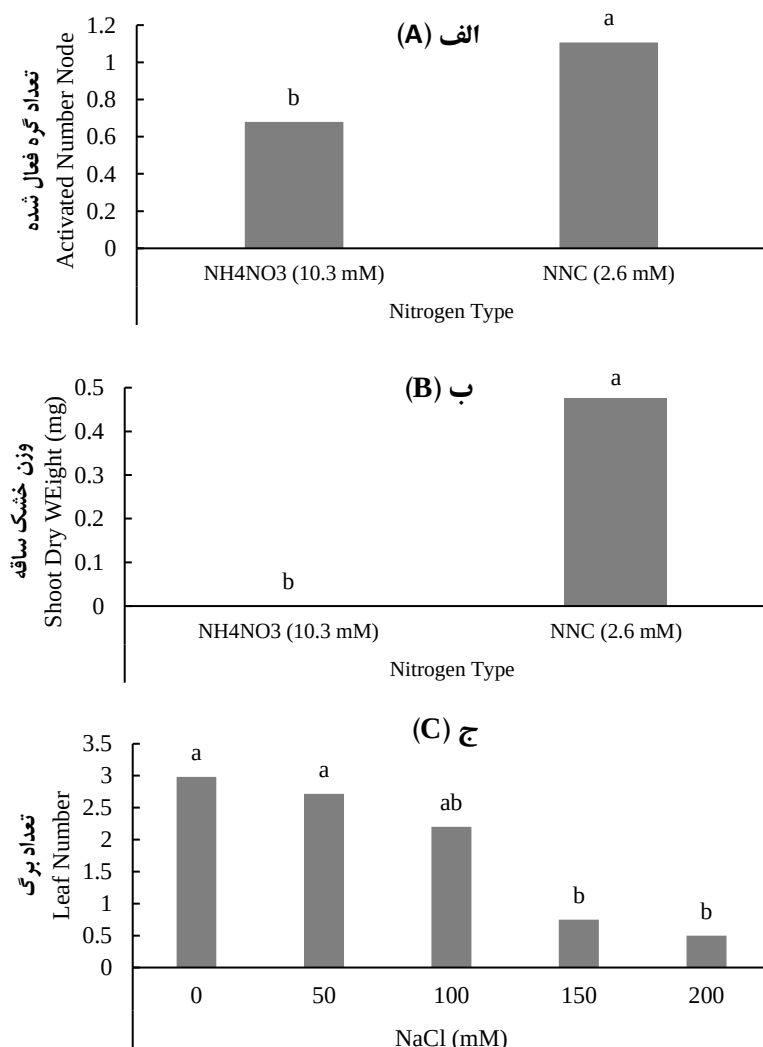
تعداد گره فعال شده: اثر ساده کاربرد نوع نیتروژن (صرف‌نظر از سطح شوری) نشان داد که کاربرد نانوکلات نیتروژن (۲/۶ میلی‌مولار) به‌طور معنی‌داری تعداد گره فعال شده را افزایش داد. تعداد گره در تیمار NH_4NO_3 برابر ۰/۶۸ بود که با افزودن نانوکلات نیتروژن، این مقدار به ۱/۱۱ رسید. بر این اساس، نانوکلات نیتروژن موجب افزایش حدود ۶۳ درصدی تعداد گره فعال شده نسبت به NH_4NO_3 گردید. این نتایج نشان می‌دهد که نانوکلات نیتروژن به‌طور مؤثری توانسته است صرف‌نظر از حضور یا عدم حضور شوری توانایی فعال‌سازی گره‌ها را در ریزنمونه‌های شاخه بید بیابان بهبود بخشد (شکل ۱، الف).

وزن خشک ساقه: در تیمار NH_4NO_3 ، میانگین وزن خشک ساقه برابر صفر ثبت شد که نشان‌دهنده عدم انباشت ماده خشک قابل اندازه‌گیری در ساقه ریزنمونه‌ها است اما با افزودن نانوکلات نیتروژن، وزن خشک ساقه به ۰/۴۷۵ گرم رسید. این نتیجه به‌وضوح نشان می‌دهد که تأمین نیتروژن به شکل نانوکلات برای رشد و انباشت زیست‌توده ساقه در بید بیابان ضروری بوده است (شکل ۱، ب).

تعداد برگ: تعداد برگ در غلظت‌های صفر و ۵۰ میلی‌مولار NaCl ، (به‌ترتیب ۲/۹۸ و ۲/۷۲) تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار، میانگین تعداد برگ به ۲/۲ کاهش یافت. در غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار، تعداد برگ به‌ترتیب به ۰/۷۵ و ۰/۵ رسید. بر این اساس، در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار شوری، تعداد برگ ۱۹ درصد کاهش یافته اما این کاهش معنی‌دار نبود. نسبت به بهترین تیمار (صفر میلی‌مولار NaCl)، کاهش در ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار به‌ترتیب حدود ۷۵ و ۸۳ درصد بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که بید بیابان تا ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl کاهش معنی‌دار در تعداد برگ نشان نمی‌دهد، اما شوری بالای ۱۰۰ میلی‌مولار به‌شدت برگ‌زایی را مهار می‌کند (شکل ۱، ج).

قهوه‌ای شدن ساقه: اثر متقابل نوع نیتروژن $\times$ کلرید سدیم بر درصد قهوه‌ای شدن ساقه در شکل ۲ ارائه شده است. در تیمارهای حاوی NH_4NO_3 ، با افزایش شوری از صفر به ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl ، قهوه‌ای شدن ساقه به تدریج بدون تفاوت معنی‌دار از ۱۵/۲۵ به ۱۷/۷۸ درصد افزایش یافت. در مقابل، در حضور نانوکلات نیتروژن (۲/۶ میلی‌مولار)، قهوه‌ای شدن ساقه در همه سطوح شوری به‌شدت کاهش یافت. در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl ، به‌ترتیب مقادیر صفر، ۱/۹۱ و ۱/۹۱ درصد ثبت شد که با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری، قهوه‌ای شدن به ۵/۷۴ درصد رسید و در ۲۰۰ میلی‌مولار به ۹/۲۷ درصد افزایش یافت. به‌طور کلی، کاربرد نانوکلات نیتروژن قهوه‌ای شدن ساقه را در همه سطوح شوری به‌طور چشمگیری کاهش داد؛ به‌طوری‌که در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl کاهش حدود ۸۸ درصدی، در ۱۵۰ میلی‌مولار کاهش ۶۴ درصدی و در شدیدترین سطح شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) همچنان کاهش ۴۸ درصدی حاصل شد. بیشترین اثر محافظتی در غیاب

شوری مشاهده گردید که نشان‌دهنده رفع کامل کمبود نیتروژن است. با افزایش شوری، کارایی نسبی نانوکلات کاهش یافت، اما حتی در بالاترین غلظت نمک نیز توانست بیش از نیمی از قهوه‌ای شدن را مهار کند.

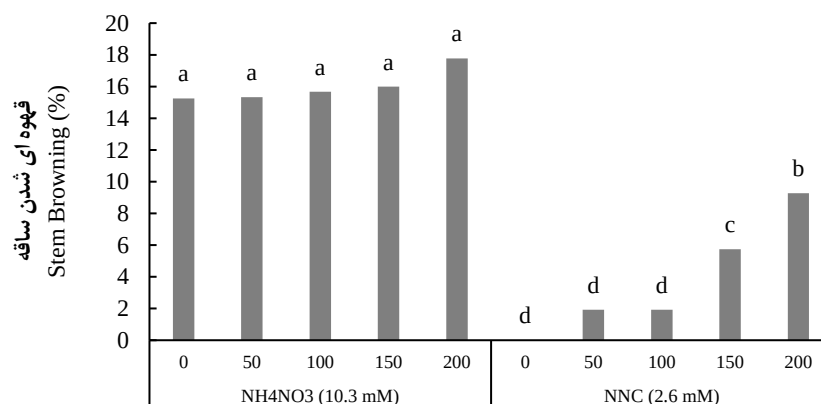


شکل ۱. تاثیر کاربرد نانوکلات نیتروژن (NNC) بر تعداد گره فعال شده (الف) و وزن خشک ساقه (ب) و تاثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (NaCl) بر تعداد برگ (ج) در ساقه گیاه بید بیابان (*C. linearis*) در شرایط درون شیشه‌ای

Figure 1. Effect of nitrogen nano-chelate (NNC) on the number of activated nodes (A) and stem dry weight (B), and the effect of different concentrations of sodium chloride (NaCl) on leaf number (C) in the stem of desert willow (*C. linearis*) under *in vitro* conditions (DMRT, $p \leq 0.05$).

به‌طور کلی، در حالی که گیاه بید بیابان (*C. linearis*) تحمل نسبی به سطوح متوسط شوری (تا ۱۰۰ میلی‌مولار) دارد، کاربرد نانوکلات نیتروژن به‌طور معنی‌داری توانست اثرات منفی تنش شدیدتر را کاهش داده و شاخص‌های رشد را بهبود بخشد.

گزارش شده است که گیاه بید بیابانی در خاک‌های با زهکشی خوب بهترین عملکرد را دارد، اما می‌تواند شرایط خاک اسیدی و قلیایی را تحمل کرده و در بیشتر خاک‌ها از جمله رسی، لومی و شنی رشد کنند (Fryer 2022; Gilman & Watson 2003).



شکل ۲. اثر متقابل کاربرد نوع نیتروژن × غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (NaCl) بر میزان قهوه‌ای شدن

ساقه گیاه بید بیابان (*C. linearis*) در شرایط درون شیشه‌ای

Figure 2. Interaction effect of nitrogen type × different concentrations of sodium chloride (NaCl) on stem browning (%) in desert willow (*C. linearis*) under *in vitro* conditions (DMRT, $p \leq 0.05$).

کاهش شدید تعداد برگ در سطوح ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، حاکی از وجود یک آستانه بحرانی برای این گونه در غلظت‌های بالای شوری است. تأثیر چشمگیر نانوکلات نیتروژن در غلظت‌های بالای شوری به روشنی نشان می‌دهد که منبع نیتروژن، نقش حیاتی در تعیین توانایی گیاه برای مقابله با شوری دارد. بهبود رشد ریزنمونه‌ها در محیط فاقد NH_4NO_3 و دارای نانوکلات نیتروژن و انباشت ماده خشک ممکن است به دلیل کاهش سمیت آمونیوم، بهبود جذب و متابولیسم نیتروژن و کاهش فشار اسمزی و اکسیداتیو باشد (Babu et al. 2022; Bhardwaj et al. 2022; Verma et al. 2022). کارایی بالاتر نانوکلات نیتروژن نسبت به NH_4NO_3 در این مطالعه، با ماهیت فیزیوشیمیایی این کود در مقیاس نانو قابل توجیه است. نانوکودها به دلیل اندازه بسیار کوچک و نسبت سطح به حجم بالا، دارای ویژگی‌هایی مانند ظرفیت جذب سطحی بالا و رهایش کنترل شده هستند که باعث کاهش تثبیت و آبشویی نیتروژن می‌شود (Kottegoda et al. 2017; Verma et al. 2022). این ویژگی‌ها به‌ویژه در شرایطی که سیستم ریشه در اثر شوری دچار اختلال عملکرد شده است، باعث افزایش چشمگیر کارایی مصرف نیتروژن می‌شود. نانوذرات با تغییر سازمان برگ و تنظیم توسعه دسته‌های آوندی در برگ‌ها (Yuan et al. 2018) باعث رشد رویشی بیشتر شده و رشد گیاه را ارتقا می‌دهند. این یافته‌ها با نتایج مطالعات پیشین همخوانی دارد که نشان داده‌اند کاربرد نانوعناصر غذایی، از جمله نانو-NPK و نانو-روی، رشد رویشی و صفات ریخت‌شناختی گیاه را بهبود می‌بخشد. به‌ویژه، در گندم تحت شرایط کنترل شده، استفاده از ۷۵ درصد کود NPK همراه با نانوعناصر غذایی (N, P, K و Zn) موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه شد (Mehta & Bharat

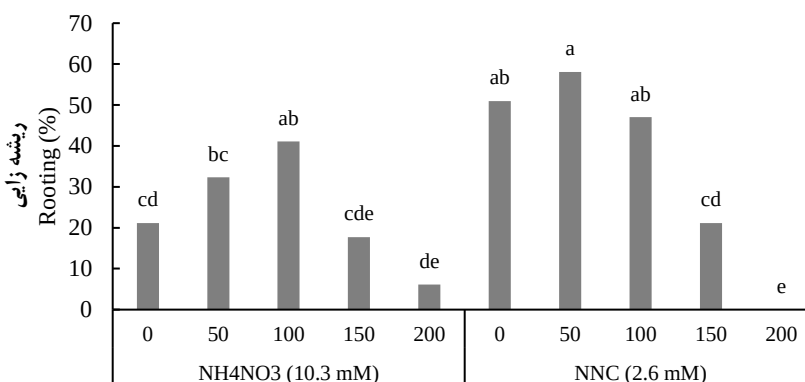
(2019; Munir et al. 2020; Singh et al. 2022). گیاهانی که در شرایط تنش رشد می‌کنند، یون‌های سمی را در خود انباشته می‌کنند. به‌نظر می‌رسد نانوکلات نیتروژن، چه به‌صورت محلول و چه به‌صورت یونی، با حفظ هموستازی یونی و کاهش اثرات نامطلوب یون‌های مضر، مکانیسم‌های سلولی مفیدی را در سلول گیاهی فعال می‌کند. اثر افزایشی نانوکودهای روی و آهن نیز بر صفات ریخت‌سنجی مانند ارتفاع گیاه، طول سنبله، وزن تر و خشک ریشه-شاخساره و وزن دانه در گندم گزارش شده است (Rizwan et al. 2019). این را می‌توان به افزایش غلظت IAA از طریق افزایش تنظیم ژن‌های مرتبط با اکسین نسبت داد که بیوسنتز و انتقال اسید ایندول استیک (IAA) را در بافت‌های گندم تسریع می‌بخشد و در نتیجه رشد گیاه را پس از کاربرد نانوذرات کیتوزان آهن افزایش می‌دهد (Li et al. 2021). در مطالعه حاضر نیز، افزایش معنی‌داری در تعداد گره فعال شده و وزن خشک ساقه با جایگزینی NH_4NO_3 محیط کشت MS با نانو کلات نیتروژن مشاهده شد (شکل ۱، به‌ترتیب، الف و ب) که یک دستاورد شاخص است. گره‌زایی یک فرآیند متابولیکی پرهزینه از نظر انرژی و متکی به نیتروژن است. با فراهم کردن نیتروژن به شکلی کارآمدتر، نانوکلات ممکن است تعادل کربن و نیتروژن گیاه را بهبود بخشیده و با تأمین پیش‌ماده‌های لازم برای سنتز پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، منجر به فعال‌سازی مریستم‌ها و تقسیم سلولی در گره‌ها شود (Subramanian et al. 2015; Verma et al. 2022) که ممکن است به‌دلیل جذب بیشتر نانو کلات نیتروژن از طریق ساقه باشد. کاربرد نانو کلات نیتروژن، در دسترس بودن سریع و طولانی‌مدت نیتروژن را در داخل سلول گیاهی تضمین کرد که تحریک فعال شدن جوانه‌ها در هر گره را با تولید پروتئین‌های لازم برای توسعه سلولی، تقسیم سلولی و همچنین سنتز مواد فتوسنتزی و وزن خشک ساقه تسریع بخشید. نیتروژن یک جزء ضروری کلروفیل است و رابطه‌ای شناخته شده بین نرخ فتوسنتز اشباع از نور و وضعیت نیتروژن برگ‌ها وجود دارد، زیرا نیتروژن در ساختار پروتئین‌ها و پروتئین‌های اسید آمینه که مسئول انجام واکنش‌های فتوشیمیایی و بیوسنتزی ضروری فتوسنتز هستند، ادغام می‌شود. بنابراین، استفاده نانو‌کودها منجر به تجمع و انتقال بیشتر فتوسنتز به بخش‌های اقتصادی گیاه می‌شود و در نتیجه عملکرد بالاتری حاصل می‌شود که عمده‌تأ به‌دلیل افزایش قدرت منبع و مخزن از طریق توزیع یکنواخت نانو-نیتروژن از طریق آوند آبکش است (Upadhyay et al. 2023). نانوفرمولاسیون، تغذیه مورد نیاز را با ره‌ایش طولانی‌مدت و آهسته در محل هدف تأمین می‌کند که به صفت سبز ماندن در شرایط تنش کمک می‌کند. تقریباً همه گیاهان قادر به تنظیم اسمزی از طریق بیوسنتز اسمولیت‌های سازگار به قیمت ۱۰ برابر تقاضای انرژی هستند که با افزایش نوع تنش، این مقدار بیشتر می‌شود. کاربرد برون‌زای نانو-نیتروژن ممکن است تا حدی اثرات ناشی از شوری را با تأمین مداوم نیتروژن، که جزء جدایی‌ناپذیر پروتئین‌ها است، تعدیل کرده و در نتیجه پایداری سلولی را حفظ کند.

یافته‌های این پژوهش، بینش مهمی را در مورد نقش نانوکلات نیتروژن در تعدیل تنش شوری در گیاه بید بیابان (C. linearis) ارائه می‌دهد. قهوه‌ای شدن بافت ساقه در کشت درون‌شیشه‌ای معمولاً به‌عنوان شاخصی از تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء ناشی از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در نظر گرفته می‌شود. در این مطالعه، اگرچه در غیاب نانوکلات نیتروژن افزایش شوری باعث افزایش عددی قهوه‌ای شدن شد، اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. این مشاهده

نشان می‌دهد که خود گیاه بید بیابان در شرایط بدون نیتروژن اضافی، قهوه‌ای شدن پایه نسبتاً بالایی (حدود ۱۵ درصد) دارد که با شوری بیشتر تغییری نمی‌کند. به عبارت دیگر، شوری به‌تنهایی آسیب اکسیداتیو را تشدید نمی‌کند مگر اینکه نیتروژن قابل جذب کافی در دسترس نباشد. این نکته بسیار مهمی است که کمبود نیتروژن خود عامل قهوه‌ای شدن بوده و شوری اثر افزایشی چندانی بر آن نداشته است. با افزودن نانوکلات نیتروژن، قهوه‌ای شدن در غیاب شوری به صفر رسید (کاهش ۱۰۰ درصدی) که نشان‌دهنده رفع کمبود نیتروژن و ترمیم سلامت بافت است. در حضور شوری، نانوکلات نیتروژن همچنان قهوه‌ای شدن را به شدت کاهش داد (حدود ۸۸ درصد در ۵۰-۱۰۰ میلی‌مولار و ۶۴ و ۴۸ درصد در سطوح بالاتر). اثر محافظتی نانوکلات را می‌توان به چند مکانیسم نسبت داد: ۱) تأمین نیتروژن برای سنتز آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی از آنجا که نیتروژن جزو اصلی آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز است و در دسترس بودن نیتروژن به شکل نانوکلات با رهايش تدریجی، امکان سنتز مداوم این آنزیم‌ها را فراهم کرده و گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از شوری را خنثی می‌کند، ۲) کاهش جذب سدیم به دلیل اینکه نیتروژن کافی از طریق بهبود رشد ریشه و تنظیم انتقال‌گرهای یونی، می‌تواند نسبت سدیم به پتاسیم را کاهش دهد و سمیت یونی را کم کند و ۳) افزایش سنتز اسمولیت‌های سازگار، چرا که پرولین و گلیسین‌بتائین که هر دو حاوی نیتروژن هستند، با شوری بالا به عنوان محافظ اسمزی عمل کرده و از دنا توره شدن پروتئین‌ها و آسیب غشاء جلوگیری می‌کنند. همچنین مطالعات پیشین نشان داد که کاربرد برون‌زای نانوفرم پتاسیم همراه با نیتروژن و فسفر به عنوان نانوکود، شاخص میتوزی (تقسیم سلولی) و تحمل به شوری را با کاهش ناهنجاری‌های کروموزومی در گیاه نخود فرنگی بهبود می‌بخشد (El-Hefnawy 2020). نکته قابل توجه اینکه با افزایش شوری به ۲۰۰ میلی‌مولار، قدرت محافظتی نانوکلات نسبی کاهش یافت که این نشان می‌دهد در شوری بسیار شدید، حتی نانوکلات نیتروژن نیز نمی‌تواند به طور کامل از قهوه‌ای شدن ساقه جلوگیری کند و احتمالاً تنش اسمزی و یونی از آستانه تحمل گیاه فراتر می‌رود.

ارزیابی صفات ریشه شامل ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه:

ریشه‌زایی: اثر متقابل نوع نیتروژن $\times$ کلرید سدیم بر میزان ریشه‌دهی نشان داد که در کاربرد NH_4NO_3 ، پایین‌ترین میزان تولید ریشه در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار (۶/۱۵ درصد) و بالاترین آن در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار (۴۱/۰۹ درصد) مشاهده شد. در حضور نانوکلات نیتروژن، بهترین نتیجه در شوری ۵۰ میلی‌مولار با ۵۸/۱۱ درصد ریشه‌دهی حاصل گردید و پس از آن شوری صفر با ۵۰/۹۶ درصد و شوری ۱۰۰ میلی‌مولار با ۴۷/۰۳ درصد قرار داشتند. در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار و کاربرد نانوکلات نیتروژن، درصد ریشه‌دهی به صفر رسید که حتی از تیمار بدون نانوکلات در همان شوری (۶/۱۴۸ درصد) نیز ضعیف‌تر بود. در تیمار NH_4NO_3 ، بیشترین ریشه‌دهی در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار (۴۱/۰۹۱ درصد) رخ داد که نشان می‌دهد مقدار متوسط شوری به طور غیرمنتظره‌ای ریشه‌زایی را تحریک کرده است، اما با افزودن نانوکلات نیتروژن، پیک ریشه‌دهی، به شوری ۵۰ میلی‌مولار منتقل شد و مقدار آن به ۵۸ درصد رسید.



شکل ۳. اثر متقابل نوع نیتروژن × غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (NaCl) بر میزان ریشه‌زایی ساقه گیاه بید

بیابان (*C. linearis*) در شرایط درون شیشه‌ای

Figure 3. Interaction effect of nitrogen type × different concentrations of sodium chloride (NaCl) on rooting (%) in desert willow (*C. linearis*) shoot under *in vitro* conditions (DMRT, $p \leq 0.05$).

تعداد ریشه: اثر سطوح مختلف شوری بر تعداد ریشه نشان داد که در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl، تعداد ریشه به‌ترتیب و بدون تفاوت معنی‌دار برابر ۰/۶۳۳، ۰/۹۱۷ و ۰/۷۸۳ بود. با افزایش شوری به ۱۵۰ میلی‌مولار، تعداد ریشه به‌شدت کاهش یافت (۰/۰۶۷) و در ۲۰۰ میلی‌مولار به ۰/۰۱۷ رسید. محاسبه درصد تغییرات نسبت به تیمار شاهد (بدون شوری) نشان می‌دهد که در غلظت ۵۰ میلی‌مولار، تعداد ریشه ۴۵ درصد افزایش (غیرمعنی‌دار) و در ۱۰۰ میلی‌مولار ۲۴ درصد افزایش (غیرمعنی‌دار) نشان داد. در مقابل، در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کاهش ۸۹/۵ درصدی و در ۲۰۰ میلی‌مولار کاهش ۹۷/۴ درصدی نسبت به شاهد رخ داد که هر دو معنی‌دار بودند (شکل ۴، الف). اثر نوع نیتروژن بر تعداد ریشه نشان داد که منبع نیتروژن تأثیر معنی‌داری بر این صفت دارد. در تیمار حاوی نیترات آمونیوم، میانگین تعداد ریشه برابر ۰/۳۶۷ بود. در مقابل، با استفاده از نانوکلات نیتروژن، تعداد ریشه به ۰/۶ افزایش یافت. محاسبه درصد افزایش نشان می‌دهد که نانوکلات نیتروژن نسبت به نیترات آمونیوم، تعداد ریشه را به میزان ۶۳/۶ درصد به‌طور معنی‌داری افزایش داده است (شکل ۴، ب).

طول ریشه: اثر سطوح مختلف شوری بر طول ریشه نشان داد که در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl، طول ریشه به‌ترتیب و بدون تفاوت معنی‌دار برابر ۲/۷۶، ۲/۷۳ و ۲/۹۳ سانتی‌متر بود. در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، طول ریشه به ۱/۱۹ سانتی‌متر کاهش یافت و با تیمارهای شاهد و ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌دار نداشت اما با تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار (۰/۲۲۹۵ سانتی‌متر) تفاوت معنی‌داری نشان داد. بنابراین طول ریشه نسبت به شاهد در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl، ۶/۲ درصد افزایش (غیرمعنی‌دار)، و در شوری‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار، به‌ترتیب ۵۷ و ۹۲ درصد کاهش مشاهده شد (شکل ۴، ج). یافته‌ها نشان داد

که نوع نیتروژن تأثیر بسیار معنی‌داری بر طول ریشه دارد. در تیمار حاوی NH_4NO_3 ، طول ریشه برابر 0.90 سانتی‌متر بود، در مقابل، با استفاده از نانوکلات نیتروژن، طول ریشه به $3/03$ سانتی‌متر افزایش یافت. بدین صورت نانوکلات نیتروژن نسبت به NH_4NO_3 ، طول ریشه را به‌میزان 236 درصد (بیش از سه برابر) به‌طور معنی‌داری افزایش داده است (شکل ۴، د).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر نانوکلات نیتروژن و کلرید سدیم (NaCl) بر صفات رشد درون‌شیشه‌ای

ریزنمونه شاخه بید بیابان (*C. linearis*)

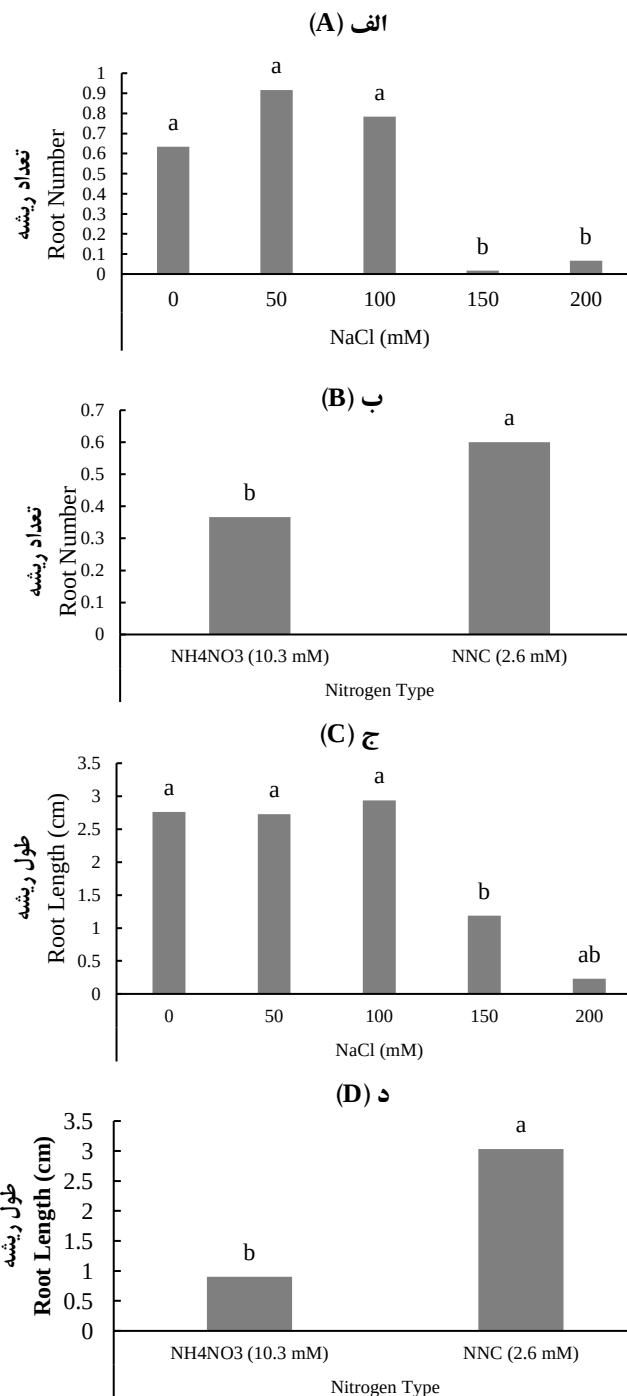
Table 1. ANOVA for the effect of nano-chelate nitrogen (NNC) and sodium chloride (NaCl) on *in vitro* growth traits of desert willow (*C. linearis*) shoot explants

منابع تغییر S.O.V	درجه df	میانگین مربعات Mean Square									
		تعداد گره فعال شده	تعداد برگ	وزن تر ساقه	وزن خشک	قهوه ای شدن ساقه	ریشه دهی	تعداد ریشه	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک
		Activated Node Number	Leaf Number	Shoot Fresh Weight	Shoot Dry Weight	Stem Browning	Rooting	Root Number	Root Length	Root Fresh Weight	Root Dry Weight
		Number									
نوع نیتروژن N Type	1	1.365*	5.896 ^{ns}	255.324 ^{ns}	1.693*	1122.460**	1038.14**	0.408*	34.052**	192.328 ^{ns}	0.383 ^{ns}
کلرید سدیم NaCl	4	0.443 ^{ns}	7.783*	657.256 ^{ns}	0.528 ^{ns}	23.738**	1952.17**	1.037**	8.664**	667.600 ^{ns}	8.018 ^{ns}
نوع نیتروژن*کلرید سدیم N Type*NaCl	4	0.174 ^{ns}	3.639 ^{ns}	94.805 ^{ns}	0.528 ^{ns}	20.911**	354.90*	0.137 ^{ns}	4.731 ^{ns}	191.555 ^{ns}	2.663 ^{ns}
خطا Error	20	0.181	2.235	256.631	0.248	4.123	104.99	0.078	1.810	296.666	4.769
کل Total	29										

* و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ^{ns}: عدم معنی‌داری

* and **: significant at 5 and 1% of probability levels, and ^{ns}: non-significant

ریشه‌زایی در کشت درون‌شیشه‌ای یکی از حساس‌ترین مراحل به تنش‌های محیطی از جمله شوری و کمبود عناصر غذایی است و الگوی پیچیده‌ای دارد. در این آزمایش مشخص شد که در کاربرد NH_4NO_3 ، شوری 100 میلی‌مولار باعث افزایش دو برابری ریشه‌دهی نسبت به شاهد (صفر میلی‌مولار NaCl) شد. این پدیده که "تنش ملایم تحریک‌کننده" نامیده می‌شود (Erofeeva 2022)، گاهی در غلظت‌های پایین تا متوسط شوری مشاهده می‌گردد.



شکل ۴. تاثیر نوع نیتروژن و غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (NaCl) بر تعداد ریشه (به ترتیب، الف و ب) و

طول ریشه (به ترتیب، ج و د) در ساقه گیاه بید بیابان (*C. linearis*) در شرایط درون شیشه‌ای

Figure 4. Effect of Nitrogen type and different concentrations of sodium chloride (NaCl) on root number (A and B, respectively) in length (C and D, respectively) of desert willow (*C. linearis*) stem under *in vitro* conditions (DMRT, $p \leq 0.05$).

ممکن است شوری ملایم با ایجاد تنش اسمزی، تولید اتیلن یا اکسین را تحریک کرده و تمایز ریشه را افزایش دهد، اما شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در حضور نانوکلات نیتروژن، افزایش چندانی نسبت به حالت NH_4NO_3 نشان نداد. این نتایج نشان می‌دهد که اثر تحریکی شوری در حضور نیتروژن کافی از بین می‌رود. علاوه بر این، نانوکلات نیتروژن در شوری‌های صفر و ۵۰ میلی‌مولار به‌طور چشمگیری ریشه‌دهی را بهبود بخشید. این یافته با نقش کلیدی نیتروژن در سنتز اکسین (که پیش‌ماده آن تربیتوفان از مسیر متابولیسم نیتروژن تأمین می‌شود) همخوانی دارد. نانوکلات با رهایش تدریجی نیتروژن، جذب پایدار آن را فراهم کرده و احتمالاً بیان ژن‌های مؤثر در ریشه‌زایی مانند AUX1 و PIN را افزایش داده است. همچنین، کاهش کامل ریشه‌دهی به صفر در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار همراه با نانوکلات و ریشه‌دهی ۶/۱۴ درصدی در همان شوری با NH_4NO_3 ، خلاف انتظار اولیه اثر مثبت نانوکلات در همه شرایط است. توجیه فیزیولوژیک احتمالی این است که ترکیب شوری بسیار بالا و نیتروژن اضافی (به شکل نانوکلات) ممکن است باعث انباشت یون سدیم در مریستم‌های ریشه به همراه عدم تعادل نیتروژن شده و تمایز ریشه را به‌طور کامل متوقف سازد. همچنین نانوذرات نیتروژن در غلظت بسیار بالای یون‌های نمک ممکن است دچار تجمع و سمیت شوند.

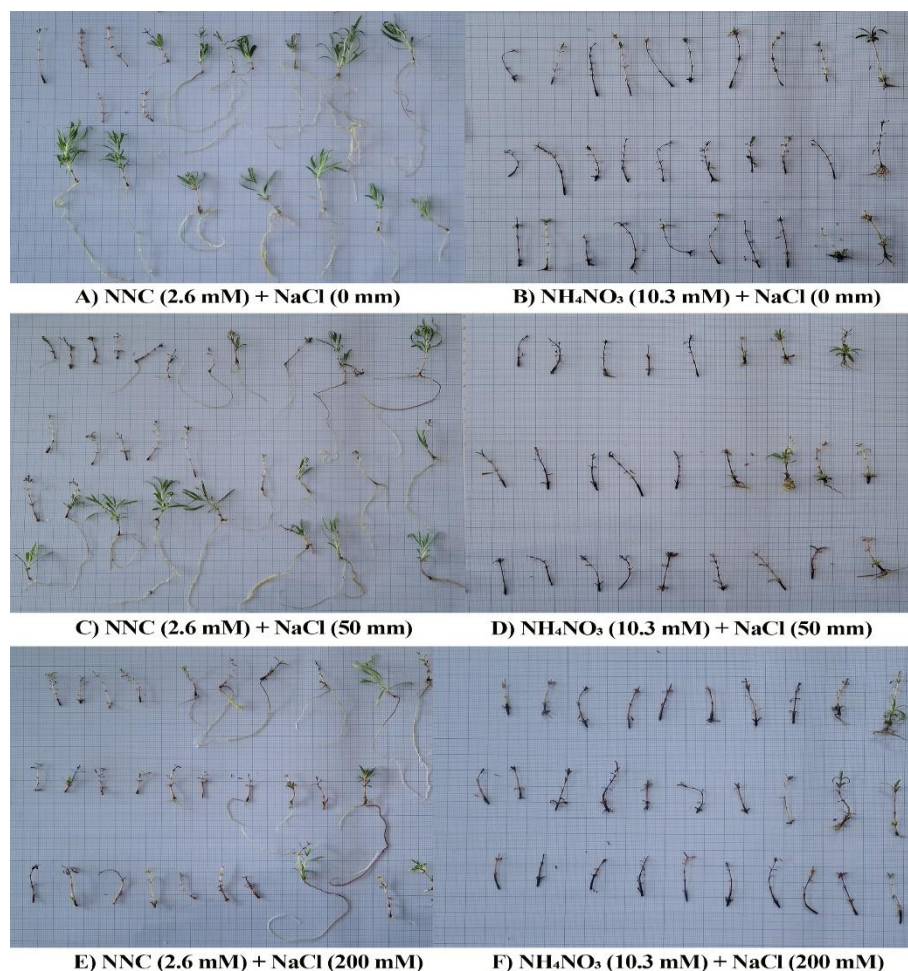
از سوی دیگر، در تیمار بدون نانوکلات نیتروژن، گیاه در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار به‌دلیل کمبود مفرط نیتروژن احتمالاً وارد حالت سکون شده و درصد بسیار کمی ریشه تولید کرده است. جایگزین کردن NH_4NO_3 با نانوکلات نیتروژن در این شرایط، به‌جای کمک، با افزایش جذب سدیم (به‌دلیل بهبود متابولیسم و باز شدن روزنه‌های یونی) آسیب را تشدید کرده است. نانوکلات نیتروژن در شوری‌های ملایم تا متوسط (صفر تا ۱۰۰ میلی‌مولار) به‌ویژه در ۵۰ میلی‌مولار، ریشه‌زایی را به‌طور مؤثری افزایش می‌دهد و می‌تواند در پروتکل‌های باززایی ریشه گیاه بید بیابان در شرایط شور و برون شیشه‌ای توصیه شود. اما در شوری شدید (۲۰۰ میلی‌مولار) کاربرد نانوکلات نیتروژن به‌هیچ وجه توصیه نمی‌شود و حتی مضر است. بنابراین اثر مثبت نانوکلات بر تحمل به شوری برای صفت ریشه‌دهی وابسته به سطح شوری بوده و در شوری پایین اثر مثبت و در شوری بسیار بالا اثر منفی دارد. تعداد و طول ریشه از مهم‌ترین شاخص‌های ارزیابی توانایی استقرار و توسعه سیستم ریشه در شرایط تنش شوری محسوب می‌شوند و مطابق با یافته‌های این پژوهش هر دو منبع نیتروژن و سطوح مختلف شوری تأثیر معنی‌داری بر این صفات دارند. نانوکلات نیتروژن نسبت به نترات آمونیوم باعث افزایش معنی‌دار تعداد ریشه (۶۳/۶ درصد) و به‌ویژه طول ریشه (۲۳۶ درصد) گردید. این تفاوت چشمگیر را می‌توان به ماهیت نانوذرات نسبت داد. در مقابل، نترات آمونیوم به‌سرعت در محیط آزاد شده و ممکن است قبل از جذب توسط ریزنمونه، دچار تبخیر یا تبدیل شود.

نیتروژن کافی و پایدار، پیش‌ماده ضروری برای سنتز اکسین (IAA) است که نقش کلیدی در القای تمایز پریموردیوم‌های ریشه (افزایش تعداد ریشه) و نیز طویل‌شدن سلول‌های مریستمی (افزایش طول ریشه) ایفا می‌کند. بنابراین، تأمین مؤثر نیتروژن توسط نانوکلات، از طریق مسیر بیوسنتز اکسین، هر دو صفت ریشه را به‌طور قابل توجهی بهبود بخشیده است. شوری تا ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl تأثیر منفی معنی‌داری بر تعداد و طول ریشه بید بیابان ندارد. در این سطوح شوری، تعداد ریشه حتی افزایشی

غیرمعنی‌دار (۴۵ درصد در ۵۰ میلی‌مولار) و طول ریشه نیز افزایش جزئی (۶ درصد در ۱۰۰ میلی‌مولار) نشان داد. این پدیده در برخی گیاهان مقاوم به شوری گزارش شده است. به نظر می‌رسد بید بیابان با افزایش تولید ریشه‌های ناخواسته و طولی شدن آن‌ها در سطوح پایین تا متوسط شوری، تلاش می‌کند تا جذب آب و مواد معدنی را به منظور مقابله با تنش اسمزی اولیه افزایش دهد. اما در غلظت‌های بالای شوری (۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl)، کاهش شدید و معنی‌دار در هر دو صفت مشاهده گردید. این کاهش شدید را می‌توان به سه مکانیسم اصلی شامل تنش اسمزی (کاهش پتانسیل آب و کاهش تورژسانس سلول‌های مریستمی)، سمیت یونی (تجمع سدیم و تداخل با آنزیم‌های کلیدی)، و عدم تعادل تغذیه‌ای (کاهش رقابتی جذب پتاسیم و کلسیم ضروری برای تقسیم و طولی شدن سلول) نسبت داد.

عدم معنی‌داری اثر متقابل نانوکلات و شوری (جدول ۱) نشان می‌دهد که نانوکلات نیتروژن نتوانسته است به طور خاص اثرات منفی شوری را بر تعداد و طول ریشه تعدیل کند. به عبارت دیگر، اگرچه نانوکلات به طور کلی (در همه سطوح شوری) تعداد و طول ریشه را افزایش داده است، اما این افزایش به گونه‌ای نبوده که گیاه را در برابر شوری‌های بالا مقاوم‌تر کند. طولی شدن ریشه عمدتاً به فشار تورژسانس وابسته است و شوری با کاهش پتانسیل آب، مستقل از تأمین نیتروژن، این فرآیند را مهار می‌کند. در مقابل، تعداد ریشه (شروع تمایز پریموردیوم‌های ریشه) بیشتر به متابولیسم نیتروژن وابسته است که نانوکلات آن را بهبود بخشیده، اما این بهبود نتوانسته است اثر مهاری شوری شدید را خنثی کند. اثر متقابل نوع نیتروژن $\times$ سطوح شوری بر درصد ریشه‌زایی منطبق بر مطالعات پیشین است که نشان داده‌اند ریشه گیاهان در شرایط درون‌شیشه‌ای نسبت به شاخساره به تنش شوری حساستر هستند و شوری می‌تواند فرآیند ریشه‌زایی را مهار کند (Martini & Papafotiou 2020; Vaurasi & Kant 2016).

شکل ظاهری ریزنمونه‌ها در شکل ۵ نشان داده شده است. در تیمار حاوی نانوکلات نیتروژن بدون شوری (شکل ۵، A)، ریزنمونه‌ها دارای ساقه‌های سبز و شاداب با تعداد گره فعال متعدد و سیستم ریشه‌ای توسعه‌یافته و بلند هستند. در مقابل، تیمار حاوی نیتрат آمونیوم بدون شوری (شکل ۵، B) با کاهش چشمگیر در رشد ساقه، عدم توسعه ریشه و علائم قهوه‌ای شدن خفیف همراه است. در سطوح شوری ۵۰ میلی‌مولار، تیمار نانوکلات نیتروژن (شکل ۵، C) همچنان ریشه‌زایی و رشد ساقه مطلوبی نشان می‌دهد، در حالی که تیمار نیترات آمونیوم (شکل ۵، D) دچار کاهش معنادار در رشد و قهوه‌ای شدن بیشتر ساقه شده است. در شدیدترین سطح شوری (۲۰۰ میلی‌مولار)، تیمار نانوکلات نیتروژن (شکل ۵، E) علی‌رغم حفظ نسبی سبزیگی ساقه، فاقد هرگونه ریشه‌زایی است، در حالی که تیمار نیترات آمونیوم (شکل ۵، F) هر دو اندام ساقه و ریشه را با کاهش شدید رشد و قهوه‌ای شدن گسترده نشان می‌دهد. این مشاهدات بصری، اثر محافظتی نانوکلات نیتروژن بر ساقه را در سطوح پایین تا متوسط شوری و همچنین اثر مهاری این تیمار را بر ریشه‌زایی در شوری بسیار بالا تأیید می‌کند.



شکل ۵. مقایسه رشد، قهوه‌ای شدن و ریشه‌زایی ریزنمونه‌های شاخه بید بیابان (*C. linearis*) در ترکیب‌های مختلف منبع نیتروژن (NH_4NO_3 و NNC) و شوری (NaCl) پس از چهار هفته کشت درون شیشه‌ای.

Figure 5 – Comparison of growth, browning, and rooting of desert willow (*C. linearis*) shoot explants under different combinations of nitrogen source (NH_4NO_3 and NNC) and salinity (NaCl) after four weeks of *in vitro* culture.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که جایگزینی نیترات آمونیوم با نانوکلات نیتروژن به‌طور معنی‌داری شاخص‌های رشد گیاه بید بیابان (*C. linearis*) را در شرایط کشت درون شیشه‌ای بهبود بخشید. نانوکلات نیتروژن تعداد گره فعال شده را ۶۳ درصد، تعداد ریشه را ۶۷ درصد و طول ریشه را بیش از سه برابر افزایش داد و همچنین موجب انباشت ماده خشک در ساقه گردید که در تیمار NH_4NO_3 مشاهده نشد. بررسی تنش شوری نشان داد که این گونه تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم تحمل نسبی داشته و کاهش معنی‌دار در صفات مورفولوژیک نشان نمی‌دهد، اما غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار به‌ترتیب موجب کاهش ۷۵ تا

۸۳ درصدی تعداد برگ و ۹۰ تا ۹۷ درصدی تعداد ریشه گردید که بیانگر وجود آستانه بحرانی تحمل در محدوده ۱۰۰ تا ۱۵۰ میلی مولار است. مهم ترین یافته این پژوهش، اثر محافظتی چشمگیر نانوکلات نیتروژن در کاهش قهوه ای شدن ساقه (شاخص تنش اکسیداتیو) بود؛ به طوری که در سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار، قهوه ای شدن حدود ۸۸ درصد و در شدیدترین سطح شوری (۲۰۰ میلی مولار) نیز ۴۸ درصد کاهش یافت. با این حال، در شوری بسیار بالا (۲۰۰ میلی مولار)، کاربرد نانوکلات نیتروژن ریشه زایی را به طور کامل متوقف کرد. این پدیده می تواند ناشی از افزایش فشار اسمزی، سمیت یون سدیم، یا تداخل احتمالی نانوذرات با فرآیندهای تقسیم سلولی باشد (Munns 2002; Munns & Tester 2008). مطالعات پیشین نشان داده اند که نانوذرات در شوری شدید ممکن است با القای تنش اکسیداتیو اضافی، اثرات مضاعفی بر گیاه داشته باشند (Etesami et al. 2021; Singh et al. 2024a). با این حال، تأیید قطعی این مکانیسم ها نیازمند اندازه گیری های تکمیلی نظیر سنجش نسبت یونی K^+/Na^+ (Mahmood et al. 2024)، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و ارزیابی تجمع نانوذرات در بافت های گیاهی است (Aazami et al. 2021; Mahmood et al. 2024). درک کامل تعامل نانوذرات و شوری در گیاهان همچنان نیازمند پژوهش های بیشتر است (Etesami et al. 2021). بر اساس یافته های این پژوهش، نانوکلات نیتروژن می تواند به عنوان جایگزینی مناسب برای نیترات آمونیوم در محیط های کشت بافت گیاهی مطرح باشد، چراکه ضمن دستیابی به خصوصیات رشدی برتر در گیاه، کارایی مصرف نیتروژن را به طور چشمگیری افزایش می دهد. به عبارت دیگر، با مصرف غلظت کمتری از نیتروژن، عملکرد رشدی بهتری حاصل می شود که این امر بار زیست محیطی ناشی از آبشویی نیترات و همچنین هزینه های تولید را کاهش می دهد. در شوری های ملایم، کاربرد نانوکلات نیتروژن سبب بهبود صفات رشدی می شود، اما در شوری های شدید، استفاده از این کود به تنهایی مؤثر نیست و نیاز به بررسی ترکیب آن با سایر تعدیل کننده های تنش وجود دارد.

References

- Aazami, M. A., Rasouli, F., & Ebrahimzadeh, A. (2021). Oxidative damage, antioxidant mechanism and gene expression in tomato responding to salinity stress under in vitro conditions and application of iron and zinc oxide nanoparticles on callus induction and plant regeneration. *BMC Plant Biology*, 21(1), 597. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03379-7>
- Babu, S., Singh, R., Yadav, D., Rathore, S. S., Raj, R., Avasthe, R., Yadav, S. K., Das, A., Yadav, V., Yadav, B., Shekhawat, K., Upadhyay, P. K., Yadav, D. K., & Singh, V. K. (2022). Nanofertilizers for agricultural and environmental sustainability. *Chemosphere*, 292, 133451. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133451>
- Barker, A. V., & Pilbeam, D. J. (2007). *Handbook of Plant Nutrition*. CRC Press.
- Bhardwaj, A. K., Arya, G., Kumar, R., Hamed, L., Pirasteh-Anosheh, H., Jasrotia, P., Kashyap, P. L., & Singh, G. P. (2022). Switching to nanonutrients for sustaining agroecosystems

- and environment: The challenges and benefits in moving up from ionic to particle feeding. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-01177-9>
- Bittsánszky, A., Pilinszky, K., Gyulai, G., & Komives, T. (2015). Overcoming ammonium toxicity. *Plant Science*, 231, 184–190. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.12.005>
- Britto, D. T., & Kronzucker, H. J. (2002). NH₄⁺ toxicity in higher plants: A critical review. *Journal of Plant Physiology*, 159(6), 567–584. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-0774>
- Chaudhuri, S., Roy, M., McDonald, L. M., & Emendack, Y. (2023). Land Degradation–Desertification in Relation to Farming Practices in India: An Overview of Current Practices and Agro-Policy Perspectives. *Sustainability*, 15(8), 6383. <https://doi.org/10.3390/su15086383>
- Crawford, N. M., & Forde, B. G. (2002). Molecular and Developmental Biology of Inorganic Nitrogen Nutrition. *The Arabidopsis Book*, 1, e0011. <https://doi.org/10.1199/tab.0011>
- El-Hefnawy, S. (2020). Nano NPK and Growth Regulator Promoting Changes in Growth and Mitotic Index of Pea Plants Under Salinity Stress. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 11(9), 263–269. <https://doi.org/10.21608/jacb.2020.118213>
- Esteban, R., Ariz, I., Cruz, C., & Moran, J. F. (2016). Review: Mechanisms of ammonium toxicity and the quest for tolerance. *Plant Science*, 248, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.04.008>
- Etesami, H., Fatemi, H., & Rizwan, M. (2021). Interactions of nanoparticles and salinity stress at physiological, biochemical and molecular levels in plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 225, 112769. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112769>
- Fryer. (2022). *Chilopsis linearis*, desert-willow (Fire Effects Information System (FEIS)). U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. <https://research.fs.usda.gov/feis/species-reviews/chilin>
- Gade, A., Ingle, P., Nimbalkar, U., Rai, M., Raut, R., Vedpathak, M., Jagtap, P., & Abd-Elsalam, K. A. (2023). Nanofertilizers: The Next Generation of Agrochemicals for Long-Term Impact on Sustainability in Farming Systems. *Agrochemicals*, 2(2), 257–278. <https://doi.org/10.3390/agrochemicals2020017>
- Giday, O. (2019). Effect of type and rate of urea fertilizers on nitrogen use efficiencies and yield of wheat (*Triticum aestivum*) in Northern Ethiopia. *Cogent Environmental Science*, 5(1), 1655980. <https://doi.org/10.1080/23311843.2019.1655980>
- Gilman, E., & Watson, D. (2003). *Chilopsis linearis*: Desert Willow: ENH318/ST159, 10/2003. *EDIS*, 2003(10). <https://doi.org/10.32473/EDIS-ST159-1993>

- Govindasamy, P., Muthusamy, S. K., Bagavathiannan, M., Mowrer, J., Jagannadham, P. T. K., Maity, A., Halli, H. M., G. K., S., Vadivel, R., T. K., D., Raj, R., Pooniya, V., Babu, S., Rathore, S. S., L., M., & Tiwari, G. (2023). Nitrogen use efficiency—A key to enhance crop productivity under a changing climate. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1121073. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1121073>
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J.-K., & Bohnert, H. J. (2000). PLANT CELLULAR AND MOLECULAR RESPONSES TO HIGH SALINITY. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51(1), 463–499. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.51.1.463>
- Houmani, H., & Corpas, F. J. (2024). Can nutrients act as signals under abiotic stress? *Plant Physiology and Biochemistry*, 206, 108313. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108313>
- Hunter, M. C., Smith, R. G., Schipanski, M. E., Atwood, L. W., & Mortensen, D. A. (2017). Agriculture in 2050: Recalibrating Targets for Sustainable Intensification. *BioScience*, 67(4), 386–391. <https://doi.org/10.1093/biosci/bix010>
- Jan, S., Jan, N., Singh, S., Shah, M. A., & Bhat, I. A. (2026). Nanotechnology in plant tissue culture: A review. *Horticultural Plant Journal*, 12(2), 237–256. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2025.02.019>
- Kottegoda, N., Sandaruwan, C., Priyadarshana, G., Siriwardhana, A., Rathnayake, U. A., Berugoda Arachchige, D. M., Kumarasinghe, A. R., Dahanayake, D., Karunaratne, V., & Amaratunga, G. A. J. (2017). Urea-Hydroxyapatite Nanohybrids for Slow Release of Nitrogen. *ACS Nano*, 11(2), 1214–1221. <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b07781>
- Li, J., Jiang, Y., Zhang, J., Ni, Y., Jiao, Z., Li, H., Wang, T., Zhang, P., Guo, W., Li, L., Liu, H., Zhang, H., Li, Q., & Niu, J. (2021). Key auxin response factor (ARF) genes constraining wheat tillering of mutant *dmc*. *PeerJ*, 9, e12221. <https://doi.org/10.7717/peerj.12221>
- Li, S., Yang, L., Huang, X., Zou, Z., Zhang, M., Guo, W., Addo-Danso, S. D., & Zhou, L. (2023). Mineral Nutrient Uptake, Accumulation, and Distribution in *Cunninghamia lanceolata* in Response to Drought Stress. *Plants*, 12(11), 2140. <https://doi.org/10.3390/plants12112140>
- Liu, R., Jia, T., Cui, B., & Song, J. (2020). The expression patterns and putative function of nitrate transporter 2.5 in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 15(12), 1815980. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1815980>
- Lorenzo, H., Siverio, J. M., & Caballero, M. (2001). Salinity and nitrogen fertilization and nitrogen metabolism in rose plants. *The Journal of Agricultural Science*, 137(1), 77–84. <https://doi.org/10.1017/S0021859601001150>

- Mahmood, M. Z., Odeibat, H. A., Ahmad, R., Gatasheh, M. K., Shahzad, M., & Abbasi, A. M. (2024). Low apoplastic Na⁺ and intracellular ionic homeostasis confer salinity tolerance upon Ca₂SiO₄ chemigation in *Zea mays* L. under salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1268750. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1268750>
- Martini, A. N., & Papafotiou, M. (2020). In Vitro Propagation and NaCl Tolerance of the Multipurpose Medicinal Halophyte *Limoniastrum monopetalum*. *HortScience*, 55(4), 436–443. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14584-19>
- Mehta, S., & Bharat, R. (2019). Effect of Integrated Use of Nano and Non-Nano Fertilizers on Yield and Yield Attributes of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(12), 598–606. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.812.078>
- Molotoks, A., Stehfest, E., Doelman, J., Albanito, F., Fitton, N., Dawson, T. P., & Smith, P. (2018). Global projections of future cropland expansion to 2050 and direct impacts on biodiversity and carbon storage. *Global Change Biology*, 24(12), 5895–5908. <https://doi.org/10.1111/gcb.14459>
- Munir, T., Latif, M., Mahmood, A., Malik, A., & Shafiq, F. (2020). Influence of IP-injected ZnO-nanoparticles in *Catla catla* fish: Hematological and serological profile. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393(12), 2453–2461. <https://doi.org/10.1007/s00210-020-01955-6>
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment*, 25(2), 239–250. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nazaran, M. H. (2012). *Chelate compounds* (Patent No. US8288587B2). <https://patents.google.com/patent/US8288587B2/en>
- Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3), 324–349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
- Parwez, R., Aftab, T., Gill, S. S., & Naeem, M. (2022). Absciscic acid signaling and crosstalk with phytohormones in regulation of environmental stress responses. *Environmental and Experimental Botany*, 199, 104885. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104885>

- Polivanova, O. B., & Bedarev, V. A. (2022). Hyperhydricity in Plant Tissue Culture. *Plants*, 11(23), 3313. <https://doi.org/10.3390/plants11233313>
- Raj, S. R. G., & Nadarajah, K. (2022). QTL and Candidate Genes: Techniques and Advancement in Abiotic Stress Resistance Breeding of Major Cereals. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 6. <https://doi.org/10.3390/ijms24010006>
- Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hussain, A., Zia Ur Rehman, M., & Waris, A. A. (2019). Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat. *Chemosphere*, 214, 269–277. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.120>
- Sarasketa, A., González-Moro, M. B., González-Murua, C., & Marino, D. (2016). Nitrogen Source and External Medium pH Interaction Differentially Affects Root and Shoot Metabolism in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00029>
- SAS Institute Inc. (enter as a single-field corporate author by checking “Use as a single field”). (2013). *SAS/STAT® 9.4 User’s Guide*. SAS Institute Inc. <https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/stat/>
- Shalaby, T., Bayoumi, Y., Eid, Y., Elbasiouny, H., Elbehiry, F., Prokisch, J., El-Ramady, H., & Ling, W. (2022). Can Nanofertilizers Mitigate Multiple Environmental Stresses for Higher Crop Productivity? *Sustainability*, 14(6), 3480. <https://doi.org/10.3390/su14063480>
- Singh, A., Rajput, V. D., Agrawal, S., Ghazaryan, K., Minkina, T., Al Tawaha, A. R. M., Chauhan, A., Mandzhieva, S. S., Singh, R. K., Papadakis, M., & Alexiou, A. (2024a). Nanoparticles Mediated Salt Stress Resilience: A Holistic Exploration of Physiological, Biochemical, and Nano-omics Approaches. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 262(1), 19. <https://doi.org/10.1007/s44169-024-00070-4>
- Singh, B. V., Singh, S., Verma, S., Yadav, S. K., Mishra, J., Mohapatra, S., & Gupta, S. P. (2022). Effect of Nano-nutrient on Growth Attributes, Yield, Zn Content, and Uptake in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Environment and Climate Change*, 2028–2036. <https://doi.org/10.9734/ijecc/2022/v12i1131193>
- Singh, N., Maurya, V., Singh, H., Sharma, S., Sharma, I., Kumar, R., & Sharma, A. (2024b). Salinity stress in crop plants: Effects and eco-friendly management. In *Advances in Food Security and Sustainability* (Vol. 9, pp. 103–143). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.af2s.2024.07.001>
- Subramanian, K. S., Manikandan, A., Thirunavukkarasu, M., & Rahale, C. S. (2015). Nano-fertilizers for Balanced Crop Nutrition. In M. Rai, C. Ribeiro, L. Mattoso, & N. Duran

- (Eds.), *Nanotechnologies in Food and Agriculture* (pp. 69–80). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14024-7_3
- Upadhyay, P. K., Singh, V. K., Rajanna, G. A., Dwivedi, B. S., Dey, A., Singh, R. K., Rathore, S. S., Shekhawat, K., Babu, S., Singh, T., Kumar, Y., Singh, C., Rangot, M., Kumar, A., Sarkar, S., Dash, S., & Rawat, S. (2023). Unveiling the combined effect of nano fertilizers and conventional fertilizers on crop productivity, profitability, and soil well-being. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 7, 1260178. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1260178>
- Vaurasi, V., & Kant, R. (2016). Effects of Salinity and Plant Growth Media on in Vitro Growth and Development of Taro (*Colocasia Esculenta* L.) Varieties. *Acta Horticulturae et Regiotecturae*, 19(1), 17–20. <https://doi.org/10.1515/ahr-2016-0005>
- Verma, K. K., Song, X.-P., Joshi, A., Rajput, V. D., Singh, M., Sharma, A., Singh, R. K., Li, D.-M., Arora, J., Minkina, T., & Li, Y.-R. (2022). Nanofertilizer Possibilities for Healthy Soil, Water, and Food in Future: An Overview. *Frontiers in Plant Science*, 13, 865048. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.865048>
- Xu, G., Fan, X., & Miller, A. J. (2012). Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 63(1), 153–182. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532>
- Yuan, J., Chen, Y., Li, H., Lu, J., Zhao, H., Liu, M., Nechitaylo, G. S., & Glushchenko, N. N. (2018). New insights into the cellular responses to iron nanoparticles in *Capsicum annum*. *Scientific Reports*, 8(1), 3228. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18055-w>
- Zhao, W., Shan, Z., Li, J., & Li, Y. (2020). Effects of fertigation splits through center pivot on the nitrogen uptake, yield, and nitrogen use efficiency of winter wheat grown in the North China Plain. *Agricultural Water Management*, 240, 106291. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106291>
- Zhu, J. K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*, 6(2), 66–71. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01838-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01838-0)
- Zhu, J. K. (2016). Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. *Cell*, 167(2), 313–324. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>