

اثر برخی نانو ذرات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد پارتنولید گیاه دارویی بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium* L.) تحت تنش کم‌آبی

نقیسه مهدی‌نژاد^{۱*}، حدیث موسوی^۲، برانعلی فاخری^۳، فروزان حیدری^۴

۱. استادیار دانشگاه زابل، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه زابل، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

۳. استاد دانشگاه زابل، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

۴. مربی دانشگاه زابل، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۷

چکیده

به‌منظور بررسی اثر نانو کلات آهن، سنتز شیمیایی و سنتز سبز نانو ذرات نقره بر فعالیت آنزیمی، پروتئین کل و درصد پارتنولید گیاه بابونه کبیر تحت تنش خشکی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل اجرا شد. تیمارها شامل فاکتور اول یعنی تنش کم‌آبی در دو سطح (عدم تنش و تنش ملایم یعنی پنجاه درصد ظرفیت زراعی) و فاکتور دوم شامل محلول‌پاشی نانو ذرات در سه سطح نانو کلات آهن با نسبت دو در هزار میلی‌لیتر، نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی و سنتز سبز با غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام و یک سطح محلول‌پاشی با آب مقطر به‌عنوان شاهد بود. جهت بررسی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی‌فنول اکسیداز، پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و پروتئین کل بعد از اعمال آخرین محلول‌پاشی، نمونه‌برداری از برگ‌های کاملاً جوان و گسترده انجام و موردسنجش قرار گرفت. برای اندازه‌گیری درصد پارتنولید عصاره گیاه از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. نتایج نشان داد که تغذیه برگ‌های نانو ذرات و تنش کم‌آبی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی، پروتئین کل و درصد پارتنولید در مقایسه با تیمار شاهد گردید. می‌توان اظهار داشت محلول‌پاشی نانو نقره سنتز شیمیایی تحت تنش کم‌آبی باعث افزایش آنزیم‌های اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز (به ترتیب ۳/۴۲۶۶ و ۰/۲۸۷۳ واحد در گرم وزن تر در دقیقه) و نانو کلات آهن در شرایط تنش کم‌آبی باعث افزایش آنزیم گایاکول پراکسیداز و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (به ترتیب ۰/۵۴۵۲ و ۱/۲۳۷۳ واحد در گرم وزن تر در دقیقه) شده است. همچنین میزان پروتئین کل با محلول‌پاشی نانو نقره سنتز شیمیایی و نانو کلات آهن بدون اعمال تنش کم‌آبی و عملکرد اقتصادی گیاه بابونه کبیر (مقدار پارتنولید) با محلول‌پاشی نانو نقره سبز تحت تنش کم‌آبی افزایش یافته است. به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که گیاه دارویی بابونه کبیر با دارا بودن سیستم آنزیمی قدرتمند و تولید آنزیم‌های اکسیداتیو در سطوح بالا، می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و شرایط ادامه حیات را در شرایط تنش رطوبتی فراهم کند.

واژه‌های کلیدی: پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، نانو کلات آهن، نانو نقره

مقدمه

لوله‌های و به رنگ زرد و واقع در ناحیه وسط است. منشأ اصلی آن در آسیای صغیر بوده است ولی امروزه در منطقه وسیعی از اروپا و آسیا پراکندگی دارد (Blumenthal, 1998). گیاه بابونه کبیر غنی از سزکویی‌ترین‌ها هست. سزکویی‌ترین لاکتون‌ها از فراوان‌ترین ترکیب‌های گیاه بوده و میان آن‌ها پارتنولید که جزء ژرمارکونولیدها است تا

گیاه بابونه کبیر با نام علمی *Tanacetum parthenium* L. گیاهی است دو یا چندساله، دارای ساقه‌های مستقیم با شیارهای طولی به ارتفاع ۳۰ تا ۸۰ سانتی‌متر که برگ‌هایی نرم به رنگ سبز روشن، دم برگ طویل، پهنک تخم‌مرغی و منقسم‌شانه‌ای است. کاپیتول‌های آن مرکب از دو نوع گل، یکی زبانه‌ای و به رنگ سفید، واقع در حاشیه و دیگری

معرفی فناوری‌های جدید برای افزایش رشد گیاهان و بررسی قابلیت آن‌ها برای غلبه بر تنش‌های محیطی امری ضروری است و موجب پیشرفت‌های گسترده در بخش کشاورزی و منابع طبیعی می‌شود. از فناوری‌های جدید که به سرعت در حال پیشرفت است و به‌زودی به یک صنعت تریلیون دلاری تبدیل می‌شود، فناوری نانو است (Ma et al., 2010). فناوری نانو دست کاری یا مجتمع کردن اتم‌های منفرد، مولکول‌ها یا توده‌های مولکولی منفرد به ساختارهایی با ویژگی‌ها و صفات جدید بسیار متفاوت است (Feizi et al., 2012). جایگزینی کودها و مکمل‌های شیمیایی با تیمارهای فیزیکی و مواد نانو، میزان سموم را در مواد خام گیاهی کاهش داده و باعث افزایش سلامت غذا و محیط می‌گردد (Aladjadjiyan, 2007). یکی از انواع ذرات نانو که به‌تازگی مورد استفاده قرار گرفته است، نانو ذرات نقره هست. نانو ذرات نقره ذراتی آب‌دوست، با خواص ویژه و کاربرد فراوان در تکنولوژی می‌باشند. این ذرات از جمله مواد شیمیایی بازدارنده عمل اتیلن هستند که روی پذیرنده اتیلن قرار گرفته و مانع از اتصال اتیلن به پذیرنده آن شده و در نتیجه از عمل اتیلن و به عبارتی پیری گیاه جلوگیری می‌کند. همچنین این نانو ذرات در گیاهان از طریق افزایش فعالیت نیترات رداکتاز^۷ و گلوتامات دهیدروژناز^۸ بر متابولیسم نیتروژن اثر گذاشته و باعث افزایش رشد و میزان فتوسنتز می‌شود (Yang et al., 2008). تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره بر روی صفات شاخص‌های اندام هوایی و زمینی گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) تحت سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری داشت و باعث افزایش مقاومت آن‌ها به شوری شد (Ekhtiari et al., 2011). محققین اثر نانو ذرات نقره را بر روی متابولیسم رشد گیاه نخودی یا باکوپا مونیری (*Bacopa munnieri*) در شرایط کشت هیدروپونیک دریافتند و متوجه شدند که نانو ذرات نقره اثر قابل توجهی بر جوانه‌زنی، القای سنتز پروتئین، کربوهیدرات، کاهش محتویات فنل کل و فعالیت کاتالاز^۹ و پراکسیداز نشان می‌دهد (Krishnaraj et al., 2012). نانو ذرات نقره^{۱۰} مشخصات رشدی گیاه (طول ساقه و ریشه و سطح برگ) و ویژگی‌های بیوشیمیایی (محتویات

۸۵ درصد محتوی سزکوئی‌ترین گیاه را تشکیل داده و مسئول فعالیت‌های بیولوژیکی گیاه است. پارتنولید مانع تجمع پلاکت‌ها و ترشح سروتنین و سایر ترکیب‌های التهاب‌زا از پلاکت‌ها می‌گردد. این ترکیب همچنین اثر ضد اسپاسم داشته و حساسیت و واکنش عضلات صاف دیواره رگ‌های خونی مغز را نسبت به بعضی ترکیب‌ها از جمله سروتنین و پروستاگلندین‌ها از بین می‌برد که در نتیجه همه این اثرات باعث بروز اثر پیشگیری‌کننده از میگرن می‌شوند (Der marderosian, 2001).

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که باعث کاهش رشد گیاهان و در نتیجه عملکرد آن‌ها می‌شود (Sharma and Dubey, 2005). گیاهان می‌توانند تنش‌های محیط را شناسایی کنند، به آن‌ها پاسخ دهند و مانند دیگر موجودات زنده، در واکنش به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، رادیکال‌های فعال تولید کنند، در گیاهان تولید گونه‌های فعال اکسیژن^۱ برای تطابق و سازگاری و تحمل آن‌ها به انواع تنش‌های زنده و غیرزنده به شمار می‌روند و در این میان، فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز^۲ پراکسیداز^۳ و پلی فنل اکسیداز^۴ موجب خنثی‌سازی فعالیت ROS تولیدشده در سلول‌ها می‌گردد (Dat et al., 2000) و مانع آسیب‌های اکسیداتیو به چربی‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، آنزیم‌ها و پیگمان‌های فتوسنتزی، متابولیسم‌های طبیعی می‌شود (Salehi Shanjani, 2005). افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز^۵، آسکوربات پراکسیداز^۶، کاتالاز و پراکسیداز در گیاهان مختلف تحت تنش دیده شده است (Sakr and Arafa, 2009; Tuna et al. 2008). اگرچه تاکنون تحقیقات وسیعی در رابطه با اثر تنش خشکی بر روی گیاهان زراعی انجام شده، اما رفتار گیاهان دارویی و معطر تحت شرایط کمبود آب به‌خوبی مطالعه نشده است. هرچند برخی گزارش‌ها آثار سودمند تنش خشکی بر مواد مؤثره دارویی در بسیاری از گیاهان دارویی اشاره شده است (Letchamo et al., 1994; Misra and Srivastava, 2000).

⁶Ascorbate peroxidase (APX)

⁷Nitrate Reductase (NR)

⁸Glutamate Dehydrogenase (GDH)

⁹Catalase (CAT)

¹⁰Nanoparticles (NPs)

¹ Reactive Oxygen Species (ROS)

² Catalase (CA)

³ Peroxidase (POD)

⁴ Polyphenol oxidase (PPX)

⁵ Superoxide dismutase (SOD)

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل واقع در چاه نیمه (با موقعیت جغرافیایی ۶۱ درجه و ۴۱ دقیقه طول شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی و ارتفاع ۴۸۱ متر از سطح دریا) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد تیمارهای آزمایش ترکیبی از ۲ سطح تنش خشکی شامل (آبیاری نرمال بر اساس ۱۰۰ درصد نیاز تأمین آبی بایون کبیر به عنوان شاهد و با توجه به آستانه تحمل بایون کبیر آبیاری با تأمین ۵۰ درصد نیاز آبی به عنوان تنش کم آبی)، چهار سطح نانو (شاهد یا عدم استفاده از نانو، نانو کلات آهن، نانو ذرات نقره سنتز سبز و سنتز شیمیایی با غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام) بودند. در این تحقیق از نانو ذرات نقره سنتز سبز در ابعاد ۱۳ نانومتر، نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی در ابعاد ۲۰ نانومتر و نانو کلات آهن در ابعاد ۱۰۰ نانومتر استفاده شد. بعد از تهیه غلظت مذکور از این نانو ذرات، برای دقت کار در موقع اسپری گیاهان اطراف با پوشش پلاستیکی پوشانده شدند. برای سطح شاهد یعنی عدم استفاده از نانو محلول پاشی با آب مقطر صورت گرفت. نشاء بایون کبیر از شرکت زرین ارومیه تهیه شد و سپس گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی با بستر کشت، شامل ۱۰٪ ماسه، ۳۵٪ کوکو پیت، ۳۵٪ درصد پرلیت و ۱۰٪ خاک مزرعه، منتقل شدند. روش اعمال تیمار آبیاری کامل و تنش کم آبی به صورت وزنی بود. به منظور تعیین منحنی رطوبتی، دو نمونه از خاک مورد نظر به آزمایشگاه منتقل شد، نمونه‌های خاک اشباع روی صفحات اشباع شده دستگاه فشاری قرار داده شد. با ایجاد مکش توسط دستگاه صفحات فشاری، خاک تحت تنش قرار گرفت. بدین ترتیب در دو نمونه خاک، پتانسیل‌های آبی مدنظر ایجاد گردید. بعد از ۲۴ ساعت نمونه‌ها به دستگاه اون برده شده و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. بدین گونه در دو پتانسیل، درصد رطوبت وزنی خاک با استفاده از فرمول زیر تعیین شد.

$$\text{درصد رطوبت وزنی} = (\text{وزن خشک} - \text{وزن مرطوب}) / \text{وزن خشک} \times 100 \quad [1]$$

در یک دستگاه محور مختصات مقادیر رطوبت و پتانسیل نسبت به یکدیگر رسم و بدین ترتیب منحنی رطوبتی خاک

کلروفیل، کربوهیدرات و پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) در خردل برگی (*Brassica juncea* L.)، لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) و ذرت (*Zea mays* L.) را افزایش داده است (Salama, 2012; Sharma et al., 2012).

نانو کلات آهن نیز با پایه هیدروکربنی ساده بدون پیوند اتیلنی، بدون هورمون، با پایداری بالا و رهايش تدریجی عنصر آهن در pH وسیع ۳ تا ۱۱ می‌تواند یک منبع غنی و مطمئن برای تأمین آهن دو ظرفیتی برای گیاه عنوان گردد (Baghaie et al., 2012). آهن از عناصر ضروری و کم مصرف در گیاهان است. نقش این عنصر در تثبیت ازت و فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز^{۱۱} به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است (Alvarez et al., 2002). در تحقیقی گیاهانی که هیچ نوع ریزمغذی آهن دریافت نکرده‌اند فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز^{۱۲} و کاتالاز نسبت به گیاهان شاهد به ترتیب ۵۱ و ۴۲/۳۲ درصد افزایش یافتند، اما در گیاهان تحت غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید آهن تغییر معنی‌داری در فعالیت این آنزیم‌ها نسبت به گیاهان شاهد مشاهده نشده است (Taleh Ahmad et al., 2010). همچنین برخی محققین گزارش نمود که تحت کمبود عناصر ریزمغذی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش یافته و لذا حساسیت گیاه به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد (Cakmak et al., 2010).

از این رو با توجه به اهمیت نقش آنزیم‌های ضد اکسند در محافظت سلول‌های گیاهی در مقابل تنش اکسند ناشی از شرایط نامساعد محیطی نحوه فعالیت گروهی از این آنزیم‌ها در مرحله قبل از گلدهی بررسی گردید و از آنجایی که هدف نهایی در کشت گیاهان دارویی افزایش مواد مؤثره و متابولیت‌های ثانویه در واحد وزن گیاه است، بررسی و به دست آوردن بهترین شرایط محیط کشت که بتواند منجر به گیاهی با بیشترین درصد متابولیت ثانویه گردد از مهم‌ترین اهداف این تحقیق تحت تأثیر تنش خشکی ملایم و محلول پاشی نانو ذرات نقره و نانو کلات آهن است.

¹¹ Cytochrome oxidase

¹² Gayacol peroxidase (GPOX)

خاموشی مولی این واکنش که برابر ۳۶ مول بر سانتی‌متر است تقسیم شد و فعالیت آنزیمی برحسب واحد (Unit=U) در گرم وزن تر در دقیقه بیان شد (Beers and Sizer, 1992).

برای سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی، ۸۰۰ میکرو لیتر بافر سدیم، ۰/۲ میکرو لیتر EDTA، ۵۰ میکرو لیتر گایاکول، ۷۹۹/۸ آب به لوله آزمایش اضافه شد و ۳۰۰ میکرو لیتر آب اکسیژنه به آن اضافه گردید و بلافاصله در دستگاه طیف‌سنج نوری با طول موج ۴۷۰ نانومتر میزان جذب آن قرائت گردید و پس از سپری شدن مدت یک دقیقه دوباره میزان جذب ثبت گردید. تغییرات جذب به‌دست‌آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی که برابر ۲۶/۶ میلی مول بر سانتی‌متر است تقسیم شد و فعالیت آنزیمی برحسب واحد در گرم وزن تر در دقیقه بیان شد (Nakano and Asada, 1981).

برای سنجش آنزیم پلی فنول اکسیداز از ۲/۸ میلی لیتر بافر فسفات سدیم (pH=۶/۸)، ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی و ۱۰۰ میکرو لیتر پیروگالول اضافه گردید. تغییرات جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. تعیین فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز بر اساس تولید پورپوروگالین محاسبه می‌شود که ضریب خاموشی این تبدیل برابر ۲/۴۷ میلی مول بر سانتی‌متر است (Kar and Mishra, 1976).

به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش مک آدام (Mac-Adam, 1992) استفاده شد. در این روش کمپلکس واکنشی شامل ۲۵۰ میکرو لیتر از محلول بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار pH=7، ۲۵۰ میکرو لیتر از آسکوربات یک میلی مولار، ۲۵۰ میکرو لیتر از EDTA ۰/۴ میلی مولار، ۱۹۰ میکرو لیتر آب دو بار تقطیر، ۱۰ میکرو لیتر از پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی مولار و ۵۰ میکرو لیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. فعالیت آنزیم به مدت ۱ دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ۲/۸ میلی مول بر سانتی‌متر تعیین گردید.

ارزیابی میزان کل پروتئین قابل‌حل در عصاره شامل تهیه منحنی استاندارد با استفاده از پروتئین استاندارد (آلبو من سرم گاوی) مطابق با روش برادفورد (Bradford, 1976) انجام گرفت، به این منظور مقدار ۲۰ میکرو لیتر عصاره هر نمونه با سه میلی لیتر معرف برادفورد در یک لوله آزمایش کوچک مخلوط و سپس میزان جذب نور

ترسیم گردید. تا ۲۰ روز پس از کاشت، گلدان‌ها به مقدار مساوی آبیاری گردیدند و از این مرحله به بعد، برای محاسبه میزان آب مورد نیاز هر گلدان از روش توزین گلدان‌ها و تعیین میانگین آن به‌عنوان آب مصرفی تیمارها، استفاده گردید (Daneshmandi and Azizi, 2009). در طول دوره رشد، هرروزه گلدان‌ها با ترازوی حساس توزین و هر گلدان در وزن تیمار مربوطه ثابت نگاه‌داشته شد. در مرحله ۴ برگی، ۸ برگی و مرحله قبل از گلدهی (حدوداً ۱۵ سانتی‌متر ارتفاع) اعمال تیمارها برحسب تغییر رطوبت خاک انجام پذیرفت. اسپری نانو ذرات در هر سه مرحله بعد از تنش در هنگام غروب آفتاب انجام شد تا جذب محلول بهتر صورت بگیرد و تبخیر محلول به حداقل برسد. همچنین محلول پاشی تا زمانی که کل گیاهان با محلول آغشته شود، ادامه داشت. حدود ۶ هفته پس از شروع تیمارهای تنش صفات موردنظر اندازه‌گیری شد

سنجش فعالیت آنزیم

جهت محاسبه و ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی فنول اکسیداز پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز بعد از اعمال آخرین محلول پاشی نمونه‌برداری از برگ‌های کاملاً جوان و گسترده صورت گرفت و در ظروف عایق پر از یخ قرار داده شد و سپس به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت عصاره‌گیری نمونه‌ها برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پروتئین، ابتدا ۰/۵ گرم نمونه برگ در ازت مایع کاملاً خرد و سپس ۲ میلی لیتر بافر استخراج (حاوی، ۰/۶۰۷ گرم تریس، ۰/۰۵ گرم پلی‌وینیل پیرولیدین و ۱۰ میلی لیتر اسیدکلریدریک ۶ نرمال در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر) به آن اضافه و در داخل هاون چینی کاملاً هموژنیزه گردید. مخلوط حاصل را به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ نموده و پس از آن فاز بالایی جهت اندازه‌گیری آنزیم‌ها استفاده گردید.

برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی، ۶۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات سدیم (pH=7)، ۰/۱۵ میکرو لیتر EDTA، ۵۴۹/۸۵ میکرو لیتر آب مقطر را در تیوب ریخته و ۳۰۰ میکرو لیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد و بلافاصله در دستگاه طیف‌سنج نوری با طول موج ۲۴۰ نانومتر میزان جذب آن ثبت گردید و پس از سپری شدن زمان یک دقیقه دوباره میزان جذب یادداشت گردید. تغییرات جذب به‌دست‌آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب

و سوپر اکسید اثرات مخربی بر ماکرو مولکول‌هایی مثل لیپیدها، پروتئین و غیره داشته و سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و تخریب این ترکیبات و در نهایت اختلال در وضعیت اکسیداسیون و احیاء سلول و یا سایر فرآیندهای متابولیسمی شده است. نتایج نشان داد که کاربرد نانو کلات آهن باعث افزایش پروتئین شده است. بیشترین میزان پروتئین در برهمکنش نانو کلات آهن در شرایط آبیاری کامل و استفاده از نانو کلات آهن در شرایط تنش کم آبی به ترتیب با میانگین ۰/۱۴۰۸ و ۰/۰۷۳۲ واحد در گرم وزن تر در دقیقه دیده شده است. مارشنر (Marschner, 1995) اعلام کرد که عنصر آهن نقش بسیار مهمی در سنتز پروتئین و کربوهیدرات‌ها، اعمال متابولیسمی سلول، محافظت غشاء در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر فرآیندهای مرتبط با سازگاری گیاهان به تنش‌ها دارد. در این آزمایش نیز به گیاهی که نانو کلات آهن اعمال شد میزان فعالیت پروتئین آن گیاه افزایش یافت. نتایج پژوهشی تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین برگ گیاه مرزه در مقایسه با شاهد نشان داد و کاربرد کودهای نانو کلات آهن و کلات آهن موجب افزایش محتوای پروتئین شد (Peyvandi et al., 2011).

آنزیم کاتالاز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر اثرات ساده و اثرات دوجانبه تنش در نانو در سطح احتمال ۵ درصد قرار گرفت (جدول ۱). در آبیاری کامل، مصرف نانو ذرات موجب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شد. ولی در تنش خشکی مصرف نانوذره نقره سنتز شیمیایی موجب افزایش فعالیت این آنزیم و مصرف سایر نانو ذرات سبب کاهش آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد گردید (جدول ۲).

بالاترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی همراه با تنش خشکی با میانگین ۳/۴۲ واحد در گرم وزن تر در دقیقه و کمترین تیمار نانو کلات آهن همراه تنش خشکی با میانگین ۰/۹۰۰ واحد در گرم وزن تر در دقیقه مشاهده شد (جدول ۲). کاتالاز، یکی از انواع پراکسیدازها است که شکستن پراکسید هیدروژن^{۱۳} را کاتالیز می‌نماید. کاتالاز که ظاهراً در کلروپلاست وجود ندارد H₂O₂ را به آب

در طول موج 595 نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Unico UV- 2100) قرائت گردید. برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد و غلظت پروتئین میلی‌گرم بر گرم بافت تازه و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

برای ارزیابی و اندازه‌گیری میزان پارتنولید از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شد. بدین منظور ۱۰ میکرو لیتر عصاره استخراجی به ستون دستگاه از نوع phenomenex luna-C18 به طول ۲۵ میلی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر با ذرات دارای قطر ۵ میکرومتر تزریق شد. فاز متحرک مخلوط استونیتریل (۵۵ درصد) و آب دیونیزه (۴۵٪) بود که با سرعت ۱/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه از ستون عبور نمود و دستگاه در طول موج ۲۱۰ نانومتر تنظیم شده بود. ماده‌ی پارتنولید بر اساس پیک استاندارد و مقایسه سطح زیر منحنی نمونه با نمونه استاندارد تعیین هویت و مقدار گردید. محلول استاندارد این ماده به غلظت ۱۰ میکروگرم در ۱۰ میلی‌لیتر متانول حل شده بود (Fonseca et al., 2005). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ صورت گرفت.

نتایج و بحث

پروتئین کل

میزان پروتئین کل علاوه بر اثرات اصلی، تحت تأثیر اثرات دوگانه نیز در سطح ۱ درصد قرار گرفتند (جدول ۱). تغییرات میزان پروتئین کل در اثر تنش و نانو ذرات متفاوت بود. تنش کم آبی موجب کاهش میزان پروتئین کل شد. به نظر می‌رسد کاهش محتوای پروتئین کل تحت شرایط تنش کم آبی به دلیل واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییر اسید آمینه، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین، کاهش سنتز پروتئین و همچنین تجمع اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین مرتبط باشد (Ranjan et al., 2001). در آبیاری کامل، مصرف نانو ذرات موجب کاهش میزان پروتئین شد. به نظر می‌رسد نانو ذرات از قبیل نانو نقره همانند سایر تنش‌ها سبب القاء و بروز شرایط اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند. به‌طور کلی، اثر نانو نقره ممکن است به دلیل آزادسازی یون‌ها و رادیکال‌های آزاد باشد. همچنین نانو ذرات نقره از طریق فعال‌سازی و تحریک تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن از قبیل هیدروکسید

¹³ Peroxide hydrogen (H₂O₂)

افزایش غلظت کود کلات آهن و نانو آهن از میزان فعالیت آنزیم‌ها کاسته می‌شود (Naderi et al., 2017). کریشناراج و همکاران (Krishnaraj et al., 2012) نشان داده‌اند که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه *Bacopa monnieri* تحت تیمار نانو ذرات نقره در غلظت 10 ppm افزایش می‌یابد. در سنجش میزان و فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز، شاید نانوذره نقره سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده‌اند و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نظر گرفته شود و سیستم آنتی‌اکسیدان گیاه با حذف گونه‌های فعال اکسیژن، سبب کاهش خسارت‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Jiang and Huang, 2001).

و مولکول O_2 می‌شکند درحالی‌که پراکسیدازها H_2O_2 را با اکسید نمودن یک سوبسترای همراه نظیر ترکیبات فنلی و یا سایر آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر آسکوربات تجزیه می‌کنند (Sudhakar et al., 2001; Sofò et al., 2015). افزایش فعالیت کاتالاز یک پاسخ سازشی برای غلبه بر آسیب‌های ناشی از سطوح سمی و احیاکننده‌ی H_2O_2 هست که طی متابولیسم سلول تولید می‌گردد (Van loon et al., 2006). در بررسی‌های انجام‌شده توسط فتحی و همکاران (Fathi et al., 2012) محلول‌پاشی نانو ذرات آهن و روی بر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گندم (*Triticum aestivum* L.) نشان داد که تأثیر این محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز معنی‌دار بوده است. در بررسی دیگری نشان داده شد که در بین گروه‌های شاهد، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و در تیمارهای نانو کود کلات آهن و کلات آهن اعمال‌شده افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نسبت به شاهد مشاهده شده است؛ اما با

جدول ۱. تجزیه واریانس ویژگی‌های کیفی بابونه کبیر تحت تنش خشکی و نانو ذرات

Table 1. Analysis of variance of quality characteristics of chamomile under drought stress and nanoparticles

منابع تغییرات Source of Variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات means of squares					
		آنزیم کاتالاز Catalase	آنزیم پراکسیداز Peroxidase	آنزیم گایاکول پراکسیداز Gayacol Peroxidase	آنزیم پلی فنل اکسیداز Polyphenol Oxidase	پروتئین کل Total Protein	پارتنولید Parthenolide
تنش خشکی Drought Strees	1	0.79315**	0.08720**	0.00241**	0.18441**	0.04066**	0.03300**
نانو Nano	3	1.90952**	0.06695**	0.14440**	0.15234**	0.00339**	0.16135**
نانو×تنش خشکی Nano×Drought Strees	3	2.07796**	0.01173**	0.01118**	0.40485**	0.00149**	0.00029**
خطا Error	16	0.03362	0.00059	0.00016	0.00276	0.00012	0.00004
ضریب تغییرات (%) CV (%)	-	11.38	12.56	9.63	7.51	14.125	1.42

ns: NS و * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns: Not significant and * , ** Significant at 5 and 1% level of probability, respectively

پایین‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار شاهد (عدم نانو و عدم تنش) با میانگین ۰/۰۹۱۶ واحد در گرم وزن تر در دقیقه مشاهده شد (جدول ۲). در شرایط خشکی، در زنجیره انتقال الکترون، الکترون‌هایی که راهی برای رسیدن به مقصد نهایی خود را برای احیا اکسیژن مولکولی و تشکیل CO_2

آنزیم پراکسیداز

برهمکنش تنش خشکی در نانو در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. به طوری که بالاترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار تنش خشکی همراه با اعمال نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی با میانگین ۰/۳۷۸ واحد در گرم وزن تر در دقیقه و

ROS تشکیل و افزایش می‌یابد و سیستم آنتی‌اکسیدانی با کنترل غلظت درون سلولی ROS از سلول‌ها محافظت می‌کند و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند پراکسیداز و کاتالاز با اعمال تنش خشکی افزایش یافت. البته مقاومت یا حساسیت گیاهان به تنش خشکی با پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی آن‌ها ارتباط دارد.

در بررسی اثر آهن در گیاهان دارای ارزش دارویی بر روی گیاه *Bacops monnieri* استفاده از آهن سبب افزایش فعالیت پراکسیداز در ریشه و کاهش فعالیت پراکسیداز در برگ‌ها شده است (Sinha and Saxena, 2006).

ندارند، سوپر اکسید و هیدروژن پر اکسید هدایت می‌کنند. گیاهان با استفاده از آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز در کلروپلاست‌ها یک سیستم کارآمد برای تجزیه انواع اکسیژن پراکسیدازهای گیاهی فعال دارند (Ozkur et al., 2009). بر اساس تحقیق انجام‌شده روی جو (*Hordeum vulgare* L.) مشخص شد با اعمال تنش خشکی فعالیت آنزیم پراکسیداز در این گیاه افزایش یافته است که نشان‌دهنده افزایش بیان ژن کد کننده آنزیم در پاسخ به تنش اکسیداتیو هست (Amini et al., 2008). نیر و همکاران (Nair et al., 2008) نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) را تحت تنش خشکی قرار دادند و نتایج نشان داد که تحت تنش خشکی

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات برای برهمکنش دوجانبه تیمارهای تنش خشکی و نانو ذرات

Table 2. Mean comparison of treats for interactions between drought stress and nanoparticles

تنش خشکی	Drought Stress	نانو	میانگین						
			آنزیم پراکسیداز Peroxidase	آنزیم کاتالاز Catalase	آنزیم گایاکول پراکسیداز Gayacol Peroxidase	آنزیم پلی فنل اکسیداز Polyphenol Oxidase	پروتئین کل Total Protein	پارتنولید Parthenolide	
تنش خشکی	Drought Stress	عدم تنش خشکی	عدم نانو	1.6381* cb	0.0916 e	0.0616 d	0.5404 c	0.1322 a	0.073 d
		نانو نقره شیمیایی	Chemical Silver Nano	1.3233 cbd	0.1862 cbd	0.1058 c	0.4618 c	0.1400 a	0.266 b
		نانو نقره سبز	Green Silver Nano	1.2441 cbd	0.1180 ed	0.0863 dc	0.1366 d	0.0726 b	0.483 a
		نانو آهن	Iron Celate Nano	1.3969 cbd	0.1366 ced	0.2800 a	1.2882 a	0.1408 a	0.256 c
تنش خشکی	Drought Stress	عدم تنش خشکی	عدم نانو	1.7438 b	0.1950 cb	0.0759 dc	0.5404 c	0.0206 c	0.166 d
		نانو نقره شیمیایی	Chemical Silver Nano	3.4266 a	0.3782 a	0.0646 d	0.17710 d	0.0352 c	0.326 b
		نانو نقره سبز	Green Silver Nano	1.2023 cd	0.2332 b	0.1058 c	1.0553 b	0.0276 c	0.556 a
		نانو آهن	Iron Celate Nano	0.9000 d	0.2082 b	0.2545 a	1.3732 a	0.0732 b	0.326 c

*: در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارها می‌باشد.

*: The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the mean of the treatments.

آنزیم گایاکول پراکسیداز

اعمال نانو کلات آهن به ترتیب با میانگین ۰/۲۵۴۵ و ۰/۲۸۰۰ واحد در گرم وزن‌تر در دقیقه و کمترین مقدار در تیمار شاهد (عدم نانو و عدم تنش) و تیمار تنش خشکی همراه با اعمال نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی به ترتیب با میانگین ۰/۰۶۱۶ و ۰/۰۶۴۶ واحد در گرم وزن‌تر در دقیقه

اختلاف میانگین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برهمکنش تیمارهای نانو و تنش معنی‌دار شده است به طوری که بیشترین مقدار در تیمار تنش خشکی همراه با اعمال نانو کلات آهن و تیمار عدم تنش خشکی همراه با

داده است که این آنزیم‌ها در فعالیت دفاعی و واکنش به تنش-ها و بیماری‌ها دخالت دارند. این آنزیم‌ها به‌طور طبیعی در گیاهان پس از زخمی شدن هم افزایش می‌یابد و در قهوه‌ای شدن بافت‌های زخمی، تشکیل ملانین و تشکیل سدهای دفاعی در مقابل عوامل بیماری‌زا نقش دارند (Mohammadi and Kazemi, 2002). در آزمایشی نشان داده شد که تحریک گیاهان خیار (*Cucumis sativus* L.) با استفاده از نانو ذرات سیلیکا^{۱۴} و نقره^{۱۵}، *T. harzianum*، *T. viride* و اثر متقابل آن‌ها نسبت به شاهد سالم و آلوده سبب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز شد (Abdi, 2015). افزایش قابل توجه فنل‌ها و آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز به‌طور هماهنگ در مقاومت بسیاری از گیاهان مشاهده شده است (Mayer, 2006).

میزان پارتنولید

نتایج این تحقیق حاکی از این است که میزان پارتنولید تحت تأثیر اثرات ساده و اثرات دوجانبه تنش در نانو در سطح احتمال معنی‌داری ۵ درصد قرار گرفت (جدول ۱). تنش کم‌آبی باعث افزایش تولید پارتنولید (۰/۱۶۶ میلی‌گرم در وزن تازه) نسبت به حالت آبیاری کامل (۰/۰۷۳ میلی‌گرم در وزن تازه) شده است. در آبیاری کامل، مصرف نانو ذرات موجب افزایش میزان پارتنولید نسبت به شاهد شد. به‌طوری‌که بیشترین مقدار در محلول‌پاشی نانو نقره سنتز سبز (۰/۴۸۳ میلی‌گرم در وزن تازه) به دست آمد. همچنین در تنش خشکی نیز مصرف نانوذره نقره سنتز سبز موجب افزایش میزان پارتنولید نسبت به شاهد گردید (جدول ۲) و بالاترین میزان پارتنولید در تیمار نانو ذرات نقره سنتز سبز همراه با تنش خشکی با میانگین ۰/۵۵۶ میلی‌گرم در وزن تازه مشاهده شد (جدول ۲).

یکی از پاسخ‌های عمومی و رایج گیاهان به تغییرات پتانسیل اسمزی که در اثر تنش‌های خشکی، شوری، گرما و سرما ایجاد می‌شود، تجمع ترکیبات متابولیتی با وزن مولکولی و قابلیت حلالیت بالا است. در این رابطه دستمالچی و همکاران (Dastmalchi et al., 2007) در مطالعه‌ای بر روی گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) عنوان نمودند که تنش کم‌آبی ملایم باعث افزایش متابولیت‌های

هست (جدول ۲). آنزیم گایاکول پراکسیداز با فعالیت آنتی-اکسیدانی خود باعث خنثی‌سازی و کاهش انواع اکسیژن فعال می‌شود (Ashraf and Harris, 2004). در گیاه پرپوش (*Catharanthus roseus*)، افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و کاتالاز را در مقایسه با گیاهانی که هیچ نوع ریزمغذی آهن دریافت نکرده بودند گزارش کردند (Askari et al., 2017). در آزمایشی افزایش فعالیت دو آنزیم گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در پیاز تحت تنش فلزات سنگین مشاهده شد (Achary, 2008). در آزمایشی اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی عناصر کم‌مصرف بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و جذب عناصر غذایی در آفتابگردان (*Helianthus anuns* L.) به این نتیجه رسیدند که به‌جز منگنز اثر متقابل تنش خشکی و عناصر کم‌مصرف از قبیل آهن و روی معنی‌دار بود (Rahimizadeh et al., 2007). همچنین نانو ذرات نقره با افزایش غلظت سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز شد. توجه به این مسئله نیز ضروری است که نانو ذرات از نظر میزان مسمومیت یکسان نیستند.

آنزیم پلی فنل اکسیداز

اثرات دوجانبه تنش در نانو ذرات در سطح ۱ درصد بر فعالیت پلی فنل اکسیداز دارای تفاوت آماری معنی‌داری بودند (جدول ۲). نتایج نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در برهمکنش تنش خشکی همراه با محلول‌پاشی نانو کلات آهن و برهمکنش آبیاری کامل همراه اعمال نانو کلات آهن به ترتیب با میانگین ۱/۳۷۳۲ و ۱/۲۸۸۲ واحد در گرم وزن تر در دقیقه و پایین‌ترین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در برهمکنش تنش خشکی همراه با مصرف نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی و برهمکنش آبیاری کامل همراه با محلول‌پاشی نانو ذرات نقره سنتز سبز به ترتیب با میانگین ۰/۱۷۷۱ و ۰/۱۳۶۶ واحد در گرم وزن تر در دقیقه مشاهده شد (جدول ۲). پلی فنول اکسیدازها گروهی از آنزیم‌ها هستند که در اکسیداسیون فنول‌ها به کینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی نقش مهمی دارند (Mayer, 2006). در ارتباط با امکان مؤثر بودن فعالیت آنزیم‌های پلی فنول اکسیداز در واکنش‌های دفاعی گیاه، تحقیقات نشان

¹⁵ Silver

¹⁴ Silica

نتیجه‌گیری کلی

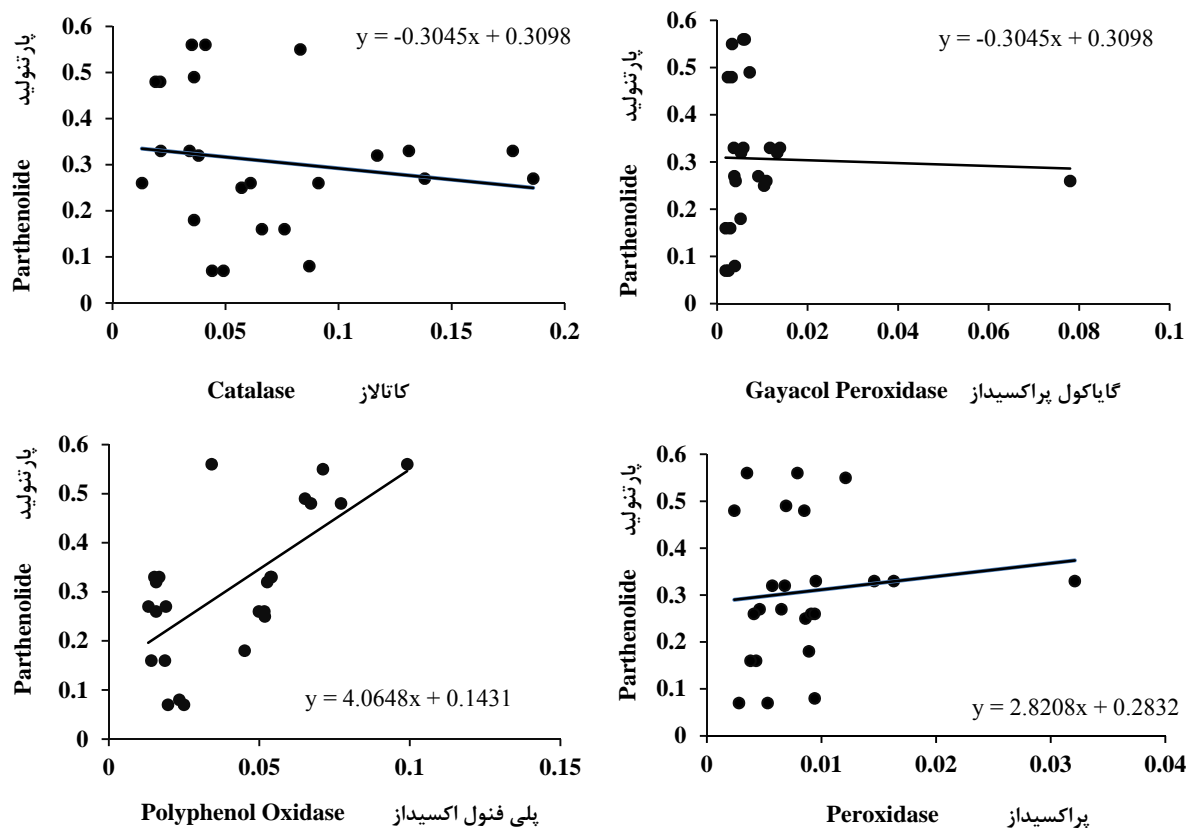
به‌طور کلی از نتایج به‌دست‌آمده چنین استنباط می‌شود که افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم پراکسیداز تحت تنش خشکی همراه با اعمال نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی و افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تنش خشکی همراه با اعمال نانو کلات آهن از آثار فعالیت آنزیمی گیاه بابونه کبیر جهت کنترل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن هست که مانع آسیب‌های اکسیداتیو و کاهش رشد می‌شود. کاهش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است نتیجه‌ای از غیرفعال شدن آنزیم، از طریق مولکول‌های تأثیرگذار مرتبط با تنش باشد؛ که این امر در مورد فعالیت بعضی آنزیم‌ها مشاهده شد. از طرفی احتمال دارد که کاهش فعالیت این آنزیم‌ها به دلیل نیاز کمتر سلول‌ها برای متابولیسم آنتی‌اکسیداتیو پس از اعمال تیمار با نانو ذرات باشد. همچنین تغییرات القای شده در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌شدت و مدت تیمار و همچنین گونه و سن گیاه وابسته هست. همچنین ممکن است نانو ذرات به‌طور مستقیم برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته باشد و با پاک‌سازی این گونه‌های فعال اکسیژن، از افزایش فعالیت آنزیم جلوگیری کند؛ بنابراین می‌توان گفت گیاه دارویی بابونه کبیر با دارا بودن سیستم آنزیمی قدرتمند و تولید آنزیم‌های اکسیداتیو در سطوح بالا می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و شرایط ادامه حیات را در شرایط تنش رطوبتی فراهم کند. همچنین بیشترین میزان پارتنولید بعد از کاهش رژیم آبیاری مشاهده شد. زمانی که به گیاه تنش وارد می‌شود با کاهش رشد گیاه خیلی از کربن‌ها برای ایجاد متابولیسم ثانویه قابل‌دسترس می‌شوند و در نتیجه باعث القای تولید مواد فیتوشیمیایی می‌شود. گیاهان تحت تنش آبی افزایش ABA را نشان می‌دهند که باعث تغییر در ترکیبات ترپنی و سزکویی ترپنی می‌شود (Ghorbanli and Kiapour, 2012).

ثانویه در گیاهان دارویی می‌شود اما با افزایش شدت تنش، میزان مواد مؤثره به‌شدت کاهش می‌یابد.

با توجه به مزایای نانو ذرات از یک‌طرف و پیچیدگی‌ها و دشواری‌های اعمال تنش خشکی از طرف دیگر، می‌توان با تحقیقات بیشتر به افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی با راهکارهای مقرون‌به‌صرفه نظیر استفاده از نانو ذرات امیدوار بود. از طرفی نانو ذرات نقره سبز تولیدشده توسط گیاهان دارویی با ریسک کمتری می‌تواند در موارد متعددی از جمله محلول‌پاشی بر روی گیاهان کاربرد داشته باشد و همچنین به دلیل ارزان و سهل‌الوصول بودن روش‌های زیستی مخصوصاً گیاهی نسبت به سایر روش‌ها از منظر اقتصادی نیز می‌تواند حائز اهمیت باشد (Mohanpuria et al., 2008). بدین منظور برای اولین بار نانو نقره سنتز شده با استفاده از بستر گیاهی رزماری (*Rosmarinus officinalis*) که یک روش نوظهور و طبق اصول شیمی سبز است، در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. کمالی‌زاده و همکاران (Kamalizadeh et al., 2013) در تحقیقی نشان دادند که استفاده از نانوذره تیتانیوم تا غلظت ۳۰ پی پی‌ام، باعث افزایش میزان رزمارینیک اسید و نیز افزایش بیان ژن‌های درگیر در مسیر بیوسنتزی این ترکیب به‌خصوص رزمارینیک اسید سنتتاز در گیاه بادرشبو شده است

عملکرد اقتصادی پارتنولید

روش‌های مختلفی برای مطالعه پایداری عملکرد استفاده‌شده است که روش رگرسیون خطی بیشترین کاربرد را داشته است هرچند که تلفیق پایداری با عملکرد برای گزینش ژنوتیپ‌های پایدار پر محصول مناسب‌تر است (Leon, 1988). نتایج پیش‌بینی عملکرد پارتنولید نشان داد مقدار پلی فنل اکسید از و پراکسیداز بیشترین سهم را در پیش‌بینی عملکرد اقتصادی دارد. تغییرات مقدار این آنزیم‌ها با عملکرد از نوع خطی است و افزایش پلی فنل اکسید از می‌تواند موجب افزایش عملکرد پارتنولید و افزایش پروتئین و کاتالاز موجب کاهش عملکرد پارتنولید شود (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج رگرسیون تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با پارتنولید گیاه بابونه کبیر تحت محلول‌پاشی نانو ذرات و تنش کم آبی
Fig. 1. Results of regression of changes in activity of antioxidant enzymes with Parthenolide of Feverfew plant under nanoparticles and water deficit stress

منابع

- Abdi, H., 2015. Effect of silica and silver nanoparticles and biological agent's includes: *Trichoderma viride* and *Trichoderma harzianum* in cucumber resistance to *Fusarium oxysporum* sp. *radicis-cucumerinum* pathogen. MSc dissertation, Faculty of Plant Pathology, University of Zabol, Iran. [In Persian with English Summary].
- Achary, V.M.M., Jena, S., Panda, K.K., Panda, B.B., 2008. Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 70, 300–310.
- Aladadjijan, A., 2007. The use physical method for plant growing stimulation in bulgari. *Journal of Central European Agriculture*. 8, 369-380.
- Alvarez, A., Sierra, M.A., Lucena, J.J., 2002. Reactivity of synthetic Fe chelates with soils and soil components. *Plant and Soil*. 241, 129-137.
- Amini, Z., Hadad, R., Moradi, F., 2008. Effects of water stress on the activities of antioxidant enzymes in the reproductive growth stages of barley (*Hordeum vulgare*). *Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources*. 12(46), 65-74. [In Persian with English Summary].
- Ashraf, M., Harris, P.J.C., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*. 166, 3–16.
- Askari M, Amirjani M, Saberi T., 2014. Evaluation of the effects of iron nanofertilizer on leaf growth, antioxidants and carbohydrate contents of *catharanthus roseus*. *Journal of Plant Process and Function*. 3(7), 43-56. [In Persian with English Summary].
- Baghai, N., Keshavarz, N., Amini Dehaghani, M., Nazaran, M.H., 2012. Effect of Nano iron chelate fertilizer on yield and yield components of Cumin (*Cuminum cyminum*) under different irrigation intervals. *National Congress on*

- Medicinal Plants, Kish Island, Iran. [In Persian with English Summary].
- Beers, G.R., Sizer, I.V., 1952. Aspectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Biological Chemistry*. 195,133-140.
- Blumenthal, M., 1998. *The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines*. Tansy Flower and Herb. Unapproved Herbs, American Botanical Council/Integrative Medicine Communications, Austin, TX/Boston, MA: 379-380.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principal of protein - dye binding, *Analytical Biochemistry*. 72, 248-254.
- Cakmak, T., Atici, O., Agar, G., Sunar, S., 2010. Natural aging-related biochemical change in alfalfa (*Medicago sativa*) seeds stored for 42 years. *International Research Journal of Plant Science*. 1(1), 1-6.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranová, E., Van Montagu, M., Inzé, D., Van Breusegem, F., 2000. Dual action of active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Science*. 57,779-795.
- Dastmalchi, K., Damien Dorman, H., Koşar, M., Hiltunen, R., 2007. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. *Food Science and Technology*. 40(2), 239-48.
- Der marderosian, A., 2001. *A Guid to Popular Natural Products. Facts and Comparisons A* Wolters Kluwer Company, 90-92pp.
- Ekhtiari, R., Mohebi, H. R., Mansouri, M., 2011. Investigating the effects of nanosilver particles on salinity tolerance of fennel (*Foeniculumvulgare* Mill.) In early growth at laboratory conditions. *Journal of Plant and Ecosystem*. 7(27), 55-62. [In Persian with English Summary].
- Fathi, A. R., Zahedi, M., Torabian, sh., 2012. Effect of iron and zinc nanoparticles on the activity of some antioxidant enzymes of wheat under salinity stress. *The First National Conference on Sustainable Development, Tehran*. [In Persian with English Summary].
- Feizi, H., Moghaddam, P.R., Shahtahmassebi, N., Fotovat, A., 2012. Impact of bulk andnanosized titanium dioxide (TiO₂) on wheat seed germination and seedling growth. *Biological trace element research*. 146(1), 101-106.
- Ghorbanli. M., Kiapour. A., 2012. Induced changes on pigments and activity of non-enzymatic and enzymatic defence systems in *Portulaca oleracea* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 28(2), 235-247. [In Persian with English Summary].
- Jiang, Y., Huang, B., 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*. 41(2), 436-442.
- Kar, M., Mishra, D., 1976. Catalase, Peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*. 57, 315-319.
- Kamalizadeh, M., Bihamta, M., Peyghambari, S.A., Hadian, J., 2013. Expression of genes involved in rosmarinic acid biosynthesis pathway in dragonhead affected by nanoparticles. *Genetics in the 3rd Millennium*, 12(1), 3428-3436. [In Persian with English Summary].
- Krishnaraj, C., Jagan, E., Ramachandran, R., Abirami, S., Mohan, N., Kalaichelvan, P., 2012. Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism. *Process Biochemistry*. 47(4), 651-658.
- Letchamo, W., R. Marquard, J. Holzal and Gosselin, A., 1994. Effects of water supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. *Angewandete Botanic* 68: 83-88.
- Leon, J., 1988 Methods of simultaneous estimation of yield and yield stability. pp. 299-308. In: *Biometrics in Plant Breeding. Proceedings of the Sixth Meeting of Eucarpia Section, Birmingham*. U. K.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., Kolmakov, A., 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment*. 408(16), 3053-3061.
- Mac Adam, J.W., Nelson, C.J., Sharp, R.E., 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiology*. 99, 294-278.
- Marschner, H., 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd Academic Press. Ltd. London.

- Mayer, A.M., 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi. *Phytochemistry*. 67, 2318-2331.
- Mohammadi, M., Kazemi, H., 2002. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. *Plant Science*. 162, 491-498. [In Persian with English Summary].
- Mohamadipoor, R., Sedaghatoor, S., Mahboub-Khomami, A., 2013. Effect of application of iron fertilizers in two methods 'foliar and soil application' on growth characteristics of *Spathyphyllum illusion*. *European Journal of Experimental Biology*, 3: 232-240.
- Naderi, M.R., DaneshShahreki, A.R., 2017. Application of nanotechnology to optimize the formation of chemical fertilizers. *Nanotechnology Monthly*. 4(165), 20-22. [In Persian with English Summary].
- Nair, A., Abraham, T.K., Jaya, D.S., 2008. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in drought stress induced cowpea (*Vigna unguiculata L.*) varieties. *Journal of Environmental Biology*. 29, 689-691.
- Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*. 22, 867-880.
- Ozkuur, O., Ozdemir, F., Bor, M., Turkan, I., 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. *Environmental and Experimental Botany*. 66, 487-492.
- Peyvandi M, Mirza M, KamaliJamakani Z., 2011. The Effect of Nano Fe Chelate and Fe Chelate on the Growth and Activity of some Antioxidant enzymes in *Satureja hortensis*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. 2(5), 25-32. [In Persian with English Summary].
- Rahimizadeh, M., Madani, H., Habibi, D. 2007. Effect of micro nutrient iron, zinc, copper, manganese and boron in persistence drought stress sunflower. 10th Soil Science Congress of Iran. [In Persian with English Summary].
- Ranjan, R., Bohra, S.P., Jeet, A.M., Book of Plant Senescence. Jodhpur. Agro bios New York. pp. 18-42.
- Sakr, M., Arafat, A., 2009. Effect of some antioxidants on canola plants growth under soil salt stress condition. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 12(7), 582-588.
- Salama, H.M.H., 2012. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) and corn (*Zea mays L.*). *International Research Journal of Biotechnology*. 3(10), 190-197.
- Salehi Shanjani, P., 2005. Isozyme diversity of Menadien reductase, isocitrate dehydrogenase and malate dehydrogenase of *Fagus orientalis* Lipsky in beech forests of Iran. *Iranian Journal of Biology*. 17, 402-420. [In Persian with English Summary].
- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M.G., Saradhi, P.P., Khanna, P.K., Arora, S., 2012. Silver nanoparticle mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 167, 2225-2233.
- Sharma, P., Dubey, R.S., 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*. 46, 209-221.
- Sinha, S., Saxena, R., 2006. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidant and bacoside -A content in medicinal plant *Bacopa monnieri L.* *Chemosphere*. 62(8), 134-135.
- Sofa, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., Vitti, A., 2015. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Science*. 16, 13561-13578.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A., Giridarakumar, S., 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba L.*) under NaCl salinity. *Plant Science*. 141, 613-619.
- Taleh Ahmad, S., Hadad, R., 2010. Effect of silicon on the activity of antioxidant enzymes and content of osmotic regulation in two genotypes of bread wheat under drought stress conditions. *Seed and Plant Production Journal*. 26(2), 207-225. [In Persian with English Summary].
- Tuna, A., Kaya, C., Dikilitas, M., Higgas, D., 2008. The combined effects of gibberellin acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. *Environmental and Experimental Botany*. 62, 1-9.

Van Loon, L.C., Rep, M., Pieterse, C.M.J., 2006. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *The Annual Review of Phytopathology*. 44, 135-162.

Yang, H., Sun, CH., Zhang, Q., Zou, J., Liu, G. Smith, S.C., 2008. Anatase TiO₂ single crystals with a large percentage of reactive facets. *Nature*. 453, 638-641.