

## اثر نانو الیسیطور سیلیس بر ترکیبات ضدالتهابی و برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی در گیاه زعفران

فرحناز توکلی<sup>۱</sup>، محمد رفیعی الحسینی<sup>۱</sup>، رودابه راوش<sup>۲\*</sup> و محمود رفیعیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، \*گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد و <sup>۳</sup>عضو

مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۲/۰۲)

### چکیده

این پژوهش به منظور ارزیابی محتوای متابولیت‌های ثانویه و صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران تحت تأثیر غلظت ۲ میلی‌مولار نانو الیسیطور سیلیس، در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار در گلخانه اجرا گردید. نتایج نشان داد، بیشترین میزان کروسین، پیکروکروسین، کروستین و سافرانال در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس به ترتیب با ۲۹/۶۵، ۲۴/۶۲، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ درصد حاصل گردید. بیشترین قدرت مهارکنندگی IC50 مربوط به تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس بود. بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس و کمترین در تیمار شاهد مشاهده گردید. بیشترین میزان هیدروژن پراکسید در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس با میزان ۱۹/۸۵ (میکرومول بر گرم) مشاهده شد. بیشترین میزان پرولین با ۵۷/۲۰  $\mu\text{mol/g}$  و بیشترین میزان هیدروژن پراکسید با ۶۸/۵۷ درصد در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس نشان داده شد. بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل به ترتیب با ۹/۷۸، ۲/۹۱ و ۱۳/۰۲ میلی‌گرم در گرم در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس حاصل گردید. به طور کلی کاربرد نانو سیلیس در افزایش متابولیت‌های ثانویه و بهبود خصوصیات بیوشیمیایی گیاه زعفران تأثیرگذار بود که می‌تواند از نظر اقتصادی حائز اهمیت باشد.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پیکروکروسین، پرولین، سافرانال، رنگدانه‌های فتوسنتزی، کروسین

### مقدمه

اثرات دارویی و آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مؤثره کاروتنوئیدی موجود در کلاله زعفران عمدتاً کروسین (ترکیب اصلی مسئول رنگ زعفران) معطوف شده است (Sanchez *et al.*, 2011; Sanchez-Vioquea *et al.*, 2012). ترکیبات مؤثره زعفران شامل پیکروکروسین (پیش‌ساز سافرانال)، کروسین (متعلق به کاروتنوئیدها و استر گلیکوزیدی کروستین) و سافرانال (ترکیب فرار) است (Amin *et al.*, 2012). عامل اصلی قدرت رنگی کلاله‌های زعفران ترکیبی به نام کروسین و مشتق آن کروستین است. کروسین یکی از چند کاروتنوئید محدود موجود در

متابولیت‌های ثانویه گیاهان یک منبع منحصر به فرد برای تهیه داروها هستند که اغلب هنگامی که گیاهان در معرض تنش‌های گوناگون مانند الیسیطورها و یا مولکول‌های پیام‌رسان قرار گیرند، تولید می‌شوند (Holkova *et al.*, 2010). زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. از تیره زنبقیان است که قسمت‌های مورد استفاده این گیاه، انتهای خامه و کلاله‌ی سه شاخه آن است که به نام زعفران مشهور است و دارای بوی معطر با طعم کمی تلخ است (Linardaki *et al.*, 2013). عمده مطالعات به

طبیعت است که به آسانی در آب حل می‌شود.

عوامل رنگ (کروسین آلدئید) و بو (سافرانال) در زعفران توسط شکست اکسایشی زنازانتین به‌وسیله آنزیم ۷ و ۸ زنازانتین کلیواژ داکسیژناز به‌وجود می‌آید (Gomez-Gomez *et al.*, 2017). به‌نظر می‌رسد تنظیم رونویسی بیان ژن‌های کاروتنوئید سازوکار مهمی است که با استفاده از آن، بیوستنز و انباشت کاروتنوئیدهای خاص و یا مشتقات آنها در طی رشد گل و رسیدگی زعفران تنظیم می‌شود. بیوستنز مشتقات کاروتنوئیدی اصلی زعفران شامل کروسین، پیکروکروسین و سافرانال به‌وسیله تجزیه اکسیداتیو زنازانتین و بتاکاروتن رخ می‌دهد (Ulbricht *et al.*, 2011; Lautenschlager *et al.*, 2015). زعفران ممکن است از طریق تأثیر بر پراکسیداسیون لیپید، آنتی‌اکسیدان‌ها و سامانه‌های سم‌زدایی از اثر ژنوتوکسیک ناشی از داروهای ضدتومور پیشگیری نماید (Aliakbarzadeh *et al.*, 2016).

استفاده از الیستورها یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه است (Patel *et al.*, 2013). سیگنال دریافتی توسط سلول‌های گیاهی بیان ژن‌های مرتبط در مسیر را تحریک می‌کنند و موجب سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شوند (Kavianifar *et al.*, 2018; Parsa *et al.*, 2016). همچنین الیستورها ممکن است ژن‌های جدیدی را فعال کنند که آنزیم‌ها و درنهایت مسیرهای بیوستنزی مختلفی را راه‌اندازی کنند و باعث تشکیل متابولیت‌های ثانویه شوند (Sharma *et al.*, 2015). نانو ذرات عناصر اساسی و پایه‌ای در چارچوب نانو فناوری هستند (Vanaja and Annadurai, 2013). نانو ذرات جز محرک‌های غیرزیستی و موادی هستند که به‌طور غیرمستقیم موجب القای تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Marslin *et al.*, 2017). افزایش در رشد و نمو گیاه توسط ترکیبات نانو سیلیس به افزایش فعالیت‌های فتوسنتزی، بهبود سرعت خالص‌سازی فتوستنز، هدایت روزنه‌ای، فعالیت فتوسیستم II، میزان تعرق، میزان انتقال الکترون و بهبود فرآیندهای فیتوشیمیایی نسبت داده شده است (Siddiqui *et al.*, 2014; Tripathi *et al.*, 2017). بنا بر نتایج حاصل از

بررسی‌های انجام‌شده، سیلیسیم باعث بهبود تعادل آبی گیاه، تغییرات ساختاری در برگ (Anjum *et al.*, 2012) و مقاومت به تنش‌های محیطی (Havir *et al.*, 1987; Jiang and Huang, 2001) می‌گردد. وجود سیلیسیم جهت تولید آنزیم روبیسکو در برگ لازم است. این آنزیم کارآیی تثبیت دی‌اکسید کربن توسط گیاهان را افزایش داده و درنهایت منجر به بهبود فتوستنز در گیاه می‌شود (Madhumitha *et al.*, 2009). با توجه به تأثیر نانو سیلیس بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاهان، در این پژوهش اثر مصرف نانو سیلیس بر متابولیت‌های ثانویه و برخی از خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاه زعفران مورد ارزیابی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

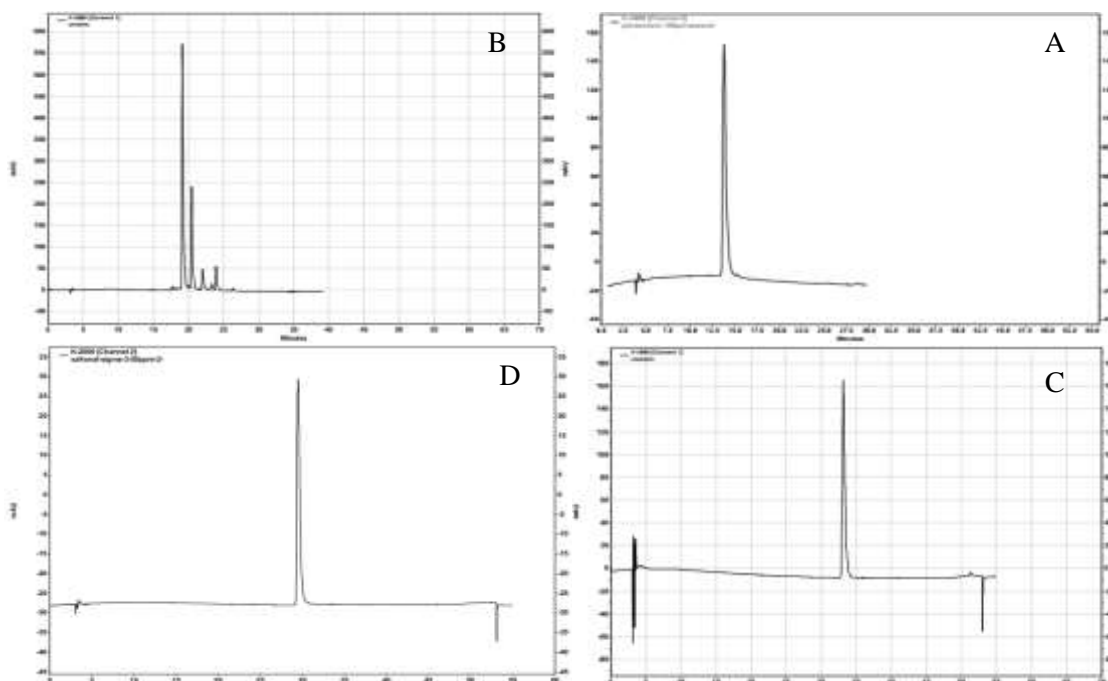
پژوهش حاضر به صورت گلدانی در سال ۱۳۹۷ در قالب طرح کاملاً تصادفی و در پنج تکرار در گلخانه دانشگاه شهرکرد اجرا گردید. بدین منظور پیازهای یکنواخت زعفران برای کشت از استان خراسان رضوی تهیه و قبل از کشت با استفاده از اتانول ۷۰ درصد و هیپوکلریت سدیم یک درصد به‌مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه ضدعفونی شد و بعد از آن سه مرتبه توسط آب مقطر شست و شو داده شد. بستر کشت مورد استفاده در این پژوهش خاک لمون رسی شنی با  $\text{pH}=7-8$  بود که قبل از کشت توسط اتوکلا استریل شد. پس از آماده‌سازی بستر پیازها در گلدان‌هایی با ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و در عمق ۵ تا ۶ سانتی‌متر کشت گردید. سپس گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۱۸- ۲۲ درجه سانتی‌گراد و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شد. تیمار نانو سیلیس دو هفته قبل از گلدهی به همراه آب‌مقطر به بستر کشت اعمال گردید. در پایان آزمایش نیز از بافت‌های برگ و گل از هر تیمار برداشت و جهت اندازه‌گیری صفات به آزمایشگاه منتقل گردید.

**صفات مورد ارزیابی:** جهت استخراج متابولیت‌های ثانویه، ۱۰ تا ۶۰ میلی‌گرم زعفران پودر شده با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط گردید و بیش از ۱۵ دقیقه سونیکاسیون به‌طور جداگانه برای تعیین کروسین، پیکروکروسین و سافرانال در

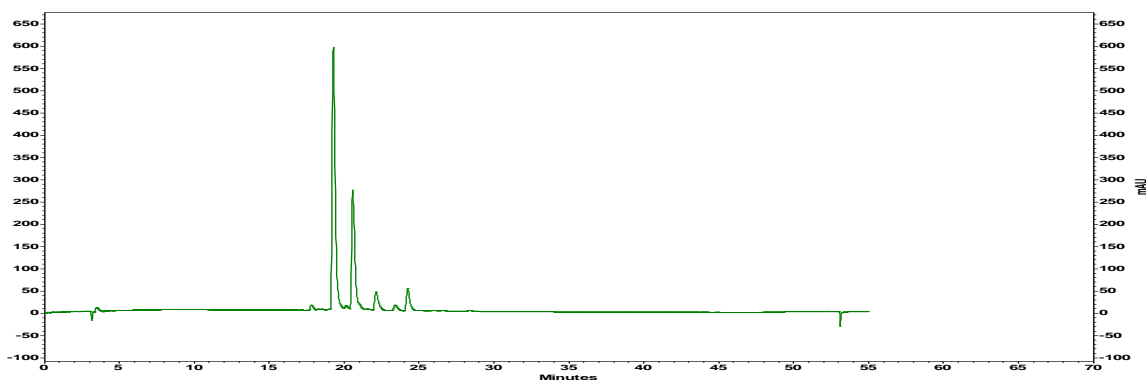
ریوفلاوین یک میلی مولار به آن اضافه و مخلوط واکنش به مدت ۱۵ دقیقه زیر نور قرار داده شد. میزان جذب نور در طول موج ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای ارزیابی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، ۲۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۱ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با  $\text{pH}=7$  حاوی  $0.5$  میلی مولار آسکوربات اضافه و در نهایت به منظور آغاز واکنش  $\text{H}_2\text{O}_2$   $0.5$  میلی مولار افزوده و کاهش در آسکوربات به مدت یک دقیقه ثبت شد. ضریب خاموشی  $2/8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  برای محاسبه آسکوربات پراکسیداز استفاده و میزان آن براساس کاهش آسکوربات برحسب میلی مولار در یک گرم برگ تازه در مدت زمان یک دقیقه بیان شد (Asada et al., 1978). فعالیت آنزیم کاتالاز بر طبق روش تغییر یافته Havir و McHale (۱۹۸۷) اندازه گیری شد. در این روش حدود ۲۵ تا ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۳ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با  $\text{pH}=7$  حاوی  $\text{H}_2\text{O}_2$  ۲۰ میلی مولار اضافه و کاهش جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت گردید. ضریب خاموشی  $36 \times 3 - 10 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  برای محاسبه کاتالاز استفاده و مقدار آن برحسب میلی مولار  $\text{H}_2\text{O}_2$  اکسید شده در گرم وزن تازه برگ در مدت یک دقیقه بیان شد. برای ارزیابی میزان پراکسید هیدروژن طبق روش Alexieva و همکاران (۲۰۰۱)،  $0.25$  برگ زعفران در هاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر تری کلرو استیک  $0.1$  درصد ساییده و مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و در نهایت جذب آن در ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. میزان پرولین نیز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر از طریق جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری و برحسب میلی گرم بر میلی لیتر وزن تر گزارش شد (Daneshmand, 2014). درصد محتوای نسبی آب (RWC) از طریق رابطه  $(W_f - W_d) / (W_i - W_d) = \text{RWC}$  ( $100 \times$ ) محاسبه شد (Khan et al., 2007). میزان کلروفیل کل با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل D 6320) و از طریق جذب نوری محلول به دست آمده در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر صورت گرفت (Bates et al., 1973).

محیطی تاریک قرار داده شد. بعد از این مرحله نمونه ها سانتریفیوژ شد و مایع رویی برای کروماتوگرافی مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مدل Knauer ساخت کشور آلمان استفاده شد (Kavianifar et al., 2018). ردیاب به ترتیب در حداکثر طول موج های مختلف از جمله ۲۵۰ نانومتر، ۳۰۸ نانومتر، ۴۴۰ نانومتر برای مطالعه سافرانال، پیکروکروسین و کروسین ها تنظیم شد. نوع ترکیبات ضدالتهابی در عصاره گل گیاه زعفران با مقایسه زمان بازداری پیک های نمونه با استانداردهای ترکیبات کروسین، پیکروکروسین، سافرانال و کروسین مشخص شد و مقدار هر یکی از ترکیبات با محاسبه سطح زیر پیک به دست آمد (شکل ۱، ۲، ۳ و ۴).

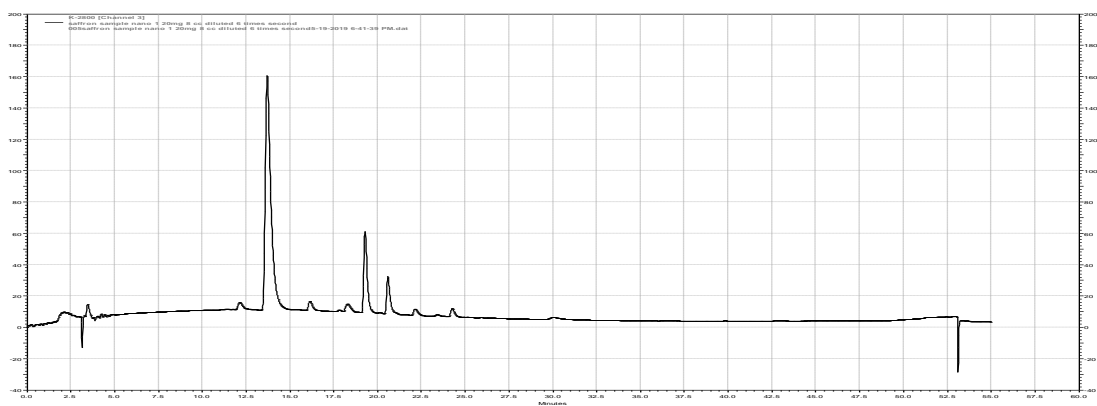
برای تعیین درصد مهار رادیکال DPPH توسط عصاره از رابطه  $(\text{DPPH} = (\text{ODc} / (\text{ODc} - \text{ODs}) - \text{ODc}) \times 100)$  استفاده گردید: در این رابطه ODc و ODs به ترتیب جذب کنترل و میزان جذب نمونه هستند. به منظور تهیه عصاره آنزیمی از روش تغییر یافته Elavarthi and Martin (۲۰۱۰) برگرفته از (Gao et al., 2005) استفاده شد. نمونه های بافت برگ از گیاهان کنترل و تیمار شده تهیه شد. ۲۰۰ میلی گرم از نمونه ها توسط ازت مایع به خوبی ساییده و  $1/2$  میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم با  $\text{pH}=7/8$  حاوی  $0.1$  میلی مولار EDTA به آن اضافه شد. نمونه ها به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و روشناور حاصل جدا شده و مجدداً ۸۰۰ میکرولیتر بافر به بافت برگی باقی مانده اضافه و دو مرتبه سانتریفیوژ و روشناور حاصل جدا شد. عصاره آنزیمی حاصل تا زمان اندازه گیری آنزیم های آنتی اکسیدان درون فریزر با دمای  $-80$  درجه سانتی گراد نگهداری شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از تیوباربتوریک اسید (NBT) به روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۲) اندازه گیری شد. ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با  $\text{pH}=7/8$  شامل ۲ میلی مولار EDTA، ال-متیونین  $9/9$  میلی مولار، نیتروبلو تترازولیوم ۵۵ میکرومولار و  $0.25$  درصد تربیتون X-100 اضافه و در نهایت در تاریکی ۲۰ میکرولیتر



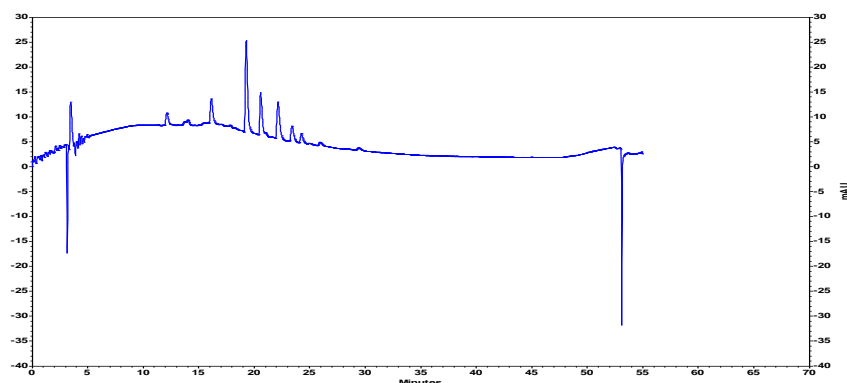
شکل ۱- کروماتوگرام‌های استاندارد کروسین ثبت شده در طول موج ۴۴۰ نانومتر (A)، پیکروکروسین ثبت شده در طول موج ۲۵۰ نانومتر (B)، سافرانال ثبت شده در طول موج ۳۰۸ نانومتر (C) و کروسین ثبت شده در طول موج ۴۴۰ نانومتر (D)



شکل ۲- کروماتوگرام نمونه زعفران (کروسین و کروسین) تحت تیمار نانوسیلیس ثبت شده در طول موج ۴۴۰ نانومتر



شکل ۳- کروماتوگرام نمونه زعفران (پیکروکروسین) تحت تیمار نانوسیلیس ثبت شده در طول موج ۲۵۰ نانومتر



شکل ۴- کروماتوگرام نمونه زعفران (سافرانال) تحت تیمار نانوسیلیس ثبت شده در طول موج ۳۱۰ نانومتر

۰/۰۵ درصد کمترین میزان این ترکیبات را نشان داد (شکل ۵).  
**قدرت مهارکنندگی IC50:** با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تیمارهای مورد بررسی بر قدرت مهارکنندگی IC50 در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). نتایج نشان داد، بیشترین قدرت مهارکنندگی مربوط به تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس با میزان ۰/۶۸ Units/mg بود. کمترین میزان نیز در گروه شاهد با ۰/۴۲ Units/mg مشاهده شد (شکل ۶).

**آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی:** بر طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تیمارهای مورد بررسی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه زعفران در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از معنی‌دار شدن اثر تیمارهای نانو سیلیس و شاهد بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سطح پنج درصد آزمون LSD بود. به طوری که، بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس با میزان ۰/۵۷ Units/mg و کمترین میزان در تیمار شاهد با ۰/۲۸ Units/mg مشاهده شد. همچنین بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس با میزان ۱۲/۷۲ Units/mg و کمترین میزان در تیمار شاهد با ۵/۹۶ Units/mg مشاهده گردید. علاوه بر آن تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس بیشترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز را با ۱۸/۶۵ Units/mg نشان داد، کمترین فعالیت این آنزیم نیز در گروه شاهد با ۲/۴۵ Units/mg مشاهده گردید (شکل ۶).

**تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:** تجزیه واریانس داده‌های حاصل از پژوهش توسط نرم‌افزار آماری SAS، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 صورت پذیرفت.

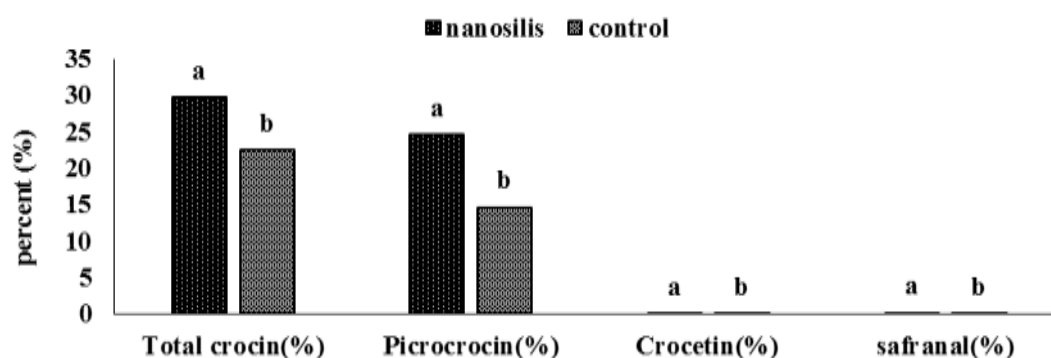
## نتایج

**متابولیت‌های ثانویه:** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است اثر تیمارهای مورد بررسی بر میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه زعفران شامل کروسین، پیکروکروسین، کروسنتین و سافرانال در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). بر طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها بین تیمارهای نانو سیلیس و شاهد تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده گردید، اعمال غلظت ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس سبب افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاه زعفران در مقایسه با گروه شاهد شد. کروسین و پیکروکروسین بیشترین میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه زعفران را نشان دادند، بیشترین میزان کروسین و پیکروکروسین در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس به ترتیب با میزان ۲۹/۶۵ و ۲۴/۶۲ درصد و کمترین میزان در گروه شاهد به ترتیب با میزان ۲۲/۴۸ و ۱۴/۵۸ درصد حاصل گردید. ترکیب‌های کروسنتین و سافرانال نیز کمترین میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه زعفران را نشان دادند، بیشترین میزان کروسنتین و سافرانال در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس به ترتیب با میزان ۰/۰۶ و ۰/۰۸ درصد مشاهده شد، در حالی که، گروه شاهد به ترتیب با میزان ۰/۰۳ و

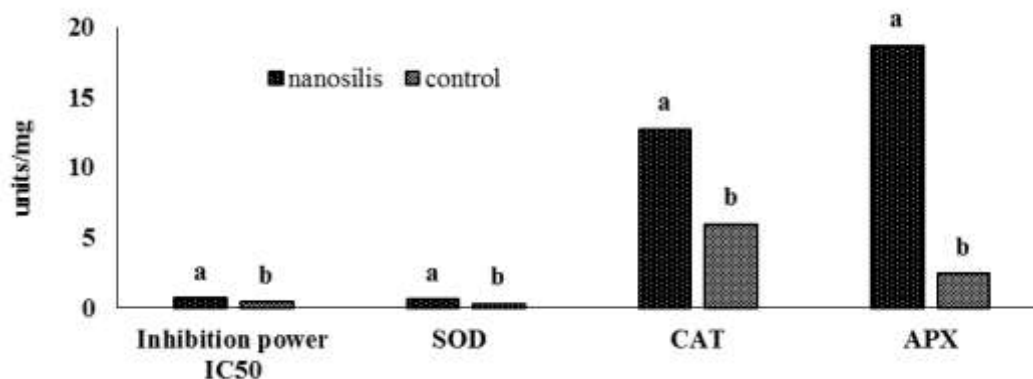
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار نانوسیلیس بر متابولیت‌های ثانویه گیاه زعفران

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییرات
سافراناال	کروستین	پیکروکروسین	کروسین		
۰/۰۰۲**	۰/۰۰۱**	۲۵۲/۰۰**	۱۲۸/۳۰**	۱	تیمار
۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۴	۰/۰۲	۰/۰۹	۸	خطا
۶/۲۳	۴/۱۷	۰/۷۸	۱/۱۵		CV

\*\* معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۵- اثر تیمارهای مورد بررسی بر میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاه زعفران، در هر ترکیب میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی داری ندارند.



شکل ۶- اثر تیمارهای مورد بررسی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه زعفران، در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی داری ندارند.

میلی‌مولار نانو سیلیس با میزان  $19/85 \mu\text{mol/g}$  (میکرومول بر گرم) و کمترین میزان در تیمار شاهد با میزان  $14/38 \mu\text{mol/g}$  مشاهده شد (جدول ۳).

پرویلین: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر

هیدروژن پراکسید: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است، اثر تیمارهای مورد بررسی بر میزان هیدروژن پراکسید گیاه زعفران در سطح یک درصد معنی دار گردید (جدول ۳).

نتایج نشان داد، بیشترین میزان هیدروژن پراکسید در تیمار ۲

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمار نانو سیلیس بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و برخی خصوصیات بیوشیمیایی در گیاه زعفران

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		Inhibition power	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	هیدروژن پراکسید
محتوای نسبی آب	پرویلین	محتوای نسبی آب	پرویلین	محتوای نسبی آب	پرویلین	محتوای نسبی آب
تیمار	۱	۰/۱۶**	۰/۲۱**	۱۴۴/۴۴**	۱/۹۰**	۷۴/۹۵**
خطا	۸	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۱	۰/۷۳	۰/۰۰۶	۱/۰۱
CV		۵/۱۳	۱۰/۳۲	۹/۱۴	۹/۹۳	۵/۸۷

\*\* معنی دار در سطح احتمال یک درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تیمار نانو سیلیس بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی در گیاه زعفران

تیمارهای مورد بررسی	هیدروژن پراکسید (μmol/g)	پرویلین	محتوای نسبی آب (%)
شاهد	۱۴/۳۸ <sup>b</sup>	۴۸ <sup>b</sup>	۴۱/۸۶ <sup>b</sup>
نانو سیلیس (۲ میلی‌مولار)	۱۹/۸۵ <sup>a</sup>	۵۷/۲۰ <sup>a</sup>	۶۸/۵۷ <sup>a</sup>

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر تیمار نانو سیلیس بر رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه زعفران

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		کلروفیل a	کلروفیل b
تیمار	خطا	کلروفیل کل	کلروفیل کل
تیمار	۱	۲۱/۴۳**	۲/۲۱**
خطا	۸	۰/۲۲	۰/۰۱
CV		۵/۷۱	۴/۳۶

\*\* معنی دار در سطح احتمال یک درصد

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر تیمار نانو سیلیس بر رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه زعفران

تیمارهای مورد بررسی	کلروفیل a (mg/l)	کلروفیل b (mg/l)	کلروفیل کل
شاهد	۶/۸۵ <sup>b</sup>	۱/۹۶ <sup>b</sup>	۹/۴۵ <sup>b</sup>
نانو سیلیس (۲ میلی‌مولار)	۹/۷۸ <sup>a</sup>	۲/۹۱ <sup>a</sup>	۱۳/۰۲ <sup>a</sup>

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

۴۸ μmol/g مشاهده شد (جدول ۳).

محتوای نسبی آب: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است، اثر تیمارهای مورد بررسی بر محتوای نسبی آب گیاه زعفران در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). نتایج

تیمارهای مورد بررسی بر میزان پرویلین گیاه زعفران در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). نتایج نشان داد، بیشترین میزان پرویلین در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس با میزان ۵۷/۲۰ μmol/g و کمترین میزان در تیمار شاهد با میزان

Madvar et al., 2014). متابولیت‌های ثانویه از گروه شیمیایی ترپن‌ها هستند یا منشأ ترپنی دارند که واحدهای سازنده آنها نیاز شدیدی به NADPH و ATP دارند. بین متابولیت‌های ثانویه و رنگیزه‌های فتوسنتزی رابطه مستقیم وجود دارد (Mohammadnejad et al., 2017). کاربرد الیسیتور نانو سیلیس باعث افزایش استحکام برگ و غلظت کلروفیل در واحد سطح و بهبود سنتز آنزیم ریبولوز بی‌فسفات در برگ می‌شود، همچنین باعث فعال‌شدن پروموتورهای مرتبط با ژن‌های CYP می‌شود که فعالیت فتوسیستم II را بهبود می‌بخشد و باعث استحکام کلروپلاست و واکوئل‌های گیاه شده و منجر به بهبود نگهداری و انتقال کروموسین در گیاه زعفران می‌گردد (Mohsenzadeh et al., 2006).

هنگامی که گیاه تحت تأثیر الیسیتور قرار می‌گیرد پاسخ‌های بیوشیمیایی سریع از جمله اتصال الیسیتور به پذیرنده غشا پلاسمایی، تغییرات سریع در الگوی فسفریلاسیون پروتئین، فعال‌شدن پروتئین کیناز، پروتئین کیناز فعال‌شده توسط میتوزن و G- پروتئین، ممانعت یا فعالیت مسیرهای بین سلولی و تغییرات در استرس اسموتیکی، کاهش pH سیتوزول، تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید و پراکسید هیدروژن، تغییرات ساختاری در دیواره سلول به‌عنوان پیام‌برهای ثانویه اتفاق می‌افتد که در سنتز متابولیت‌های ثانویه تأثیرگذار است (Ghorbanpour et al., 2015; Tripathi et al., 2017). انتقال الیسیتورها یا سیگنال‌ها در سلول‌های گیاهی می‌تواند مکانیسم‌های سودمندی در تولید متابولیت‌های ثانویه را القا کند (Tang et al., 2011). در این مکانیسم‌ها پیامبرهای ثانویه-ای تولید می‌شوند که منجر به فعال‌سازی آبشارهای پروتئین کیناز می‌شوند که آنها نیز به نوبه خود قادرند توانایی بیوسنتزی تولیدات گیاهی خاصی را فعال کنند (Linardaki et al., 2013). علاوه بر آن، الیسیتورها ممکن است با تغییر و تنظیم میزان بیوسنتز، تجمع و یا تبادل مواد ذخیره‌شده در واکوئل‌ها، تبدیل و یا تجزیه متابولیت‌های ثانویه آنها را تحت تأثیر قرار دهند (Rombola et al., 2005). اثر الیسیتورهای زیستی و غیرزیستی بر میزان تولید برخی آکالوئیدها و مواد آنتی-

نشان داد، بیشترین میزان محتوای نسبی آب در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس با میزان ۶۸/۵۷ درصد و کمترین میزان در تیمار شاهد با ۴۱/۸۶ درصد مشاهده شد (جدول ۳).

#### رنگدانه‌های فتوسنتزی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان

داد، اثر تیمارهای مورد بررسی بر میزان کلروفیل a، b و کل گیاه زعفران در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس با میزان ۹/۷۸ میلی‌گرم در گرم و کمترین میزان در تیمار شاهد با میزان ۶/۸۵ میلی‌گرم در گرم مشاهده شد (جدول ۴). همچنین بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس با میزان ۲/۹۱ میلی‌گرم در گرم و کمترین میزان در تیمار شاهد با میزان ۱/۹۶ میلی‌گرم در گرم مشاهده شد (جدول ۵). بیشترین میزان کلروفیل کل نیز در تیمار ۲ میلی‌مولار نانو سیلیس با میزان ۱۳/۰۲ میلی‌گرم در گرم و کمترین میزان در تیمار شاهد با میزان ۹/۴۵ میلی‌گرم در گرم مشاهده شد (جدول ۵).

#### بحث

پاسخ گیاهان به نانوذرات براساس نوع گونه، مرحله رویشی، سن و ماهیت نانوذرات متفاوت است؛ با این وجود، آثار مثبت برخی نانوذرات در برخی گیاهان اثبات شده است. همچنین غلظت الیسیتور نقش مهمی در فرآیند تحریک دارد و عامل مؤثری بر شدت پاسخ است و برحسب گونه گیاهی متفاوت است (Bahabadi et al., 2012). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، کاربرد نانو سیلیس سبب افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه در مقایسه با گروه شاهد شد. متابولیت‌های ثانویه به گونه‌ای تحت تأثیر ذرات نانو قرار می‌گیرند و نانو ذرات به‌عنوان الیسیتورهایی هستند که باعث غنی‌شدن تولیدات گیاهی می‌گردند (Siddiqui et al., 2014). الیسیتورها برای گیاه یک سری از پیام‌های شیمیایی را می‌فرستند که سبب ره‌اشدن پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی می‌شود. طی پاسخ به سیگنال الیسیتور، سیستم دفاعی گیاه فعال می‌شود و در نتیجه بیان ژن‌های دفاعی، متابولیت‌های ثانویه تجمع می‌یابند (Riahi-



پلی فنول اکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز هستند (Debona *et al.*, 2014). افزایش فعالیت کاتالاز تحت تأثیر تیمار نانو سیلیس یک پاسخ سازشی برای غلبه بر آسیب‌های ناشی از سطوح سمی و احیاکنندگی  $H_2O_2$  است که طی متابولیسم سلول تولید می‌گردد (Vanaja and Annadurai 2013).

نتایج پژوهش‌های Moghadam و همکاران (۲۰۱۶) روی گیاه همیشه‌بهار نشان داد نانوذرات تیتانیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز شد. همچنین Salehi و Tamaskani (۲۰۰۸) گزارش کردند محلول‌پاشی نانو ذرات نیترا نقره سبب افزایش ترکیبات پلی‌فنولی در گیاه گل گاوزبان شد. در گزارشی بیان شده است تیمار گیاه دارویی پریوش با نانو اکسید روی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز می‌شود (Amirjani *et al.*, 2014). در سنجش میزان و فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، ممکن است نانو سیلیس سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده باشد و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش می‌تواند به عنوان 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 (Kabiri *et al.*, 2017). پرولین با تحت تأثیر قراردادان حلالیت پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلف از تغییر ماهیت آنها جلوگیری می‌کند. نتایج حاضر از این پژوهش با نتایج پژوهش Amirjani و همکاران (۲۰۱۴) که بیان کردند افزایش غلظت‌های نانو اکسید روی میزان پرولین را در اندام‌های هوایی گیاه دارویی پریوش افزایش می‌دهد مطابقت دارد. همچنین محتوای نسبی آب برگ شاخصی برای نشان دادن وضعیت آبی گیاه است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، کاربرد نانو سیلیس سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه زعفران گردید که با نتایج Bayazidi Aghdam همخوانی دارد. نانو ذرات در گیاهان از طریق افزایش فعالیت نیترا ردوکتاز و گلوکاتامات دهیدروژناز بر متابولیسم نیتروژن اثر

اکسیدانتهی برخی گیاهان از جمله بادرنجبویه (Salehi and Tamaskani, 2008)، بذرالبنج (Lautenschlager *et al.*, 2015)، نعناع فلغلی (Kheiry *et al.*, 2017) گزارش شده است. شواهد بسیاری حاکی از آن است که ROS به‌واسطه نانو ذرات می‌تواند به‌عنوان سیگنال برای تولید متابولیت‌های ثانویه و یا دیگر پیام‌رسان‌ها فعالیت کنند (Fazeli-Nasab *et al.*, 2018).

همچنین Ghorbanpour و همکاران (۲۰۱۵) بیان نمودند، کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در گیاه دارویی مریم‌گلی میزان فلاونوئید کل را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش داد (Ayoub mazarie *et al.*, 2019) که این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. از این رو به نظر می‌رسد نانو سیلیس با تأثیر مستقیم بر کلروفیل و سایر عوامل مؤثر بر فتوسنتز و تأثیر غیرمستقیم بر افزایش سطح فتوسنتزی باعث افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه می‌شود (Salehi and Tamaskani, 2008) و این افزایش ظرفیت فتوسنتزی سبب افزایش گلوکز می‌گردد. از آنجا که گلوکز پیش‌ماده مناسب سنتز اسانس و به‌ویژه مونوترپن است مواد غذایی بیشتری به مسیرهای ساخت ترپن-ها اختصاص می‌یابد، از این رو فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی ارتباط مستقیمی با تولید متابولیت‌های ثانویه دارند (Parsa *et al.*, 2016). در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه زعفران نظیر کروسین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز دخیل هستند. بیان شده است که کروسین داخل پلاستیدها سنتز می‌شوند و قبل از تجمع در داخل وزیکول‌های پلاستیدها به واکوئل‌ها حمل می‌شوند و در آنجا کروسین ذخیره می‌گردد (Haghighi *et al.*, 2012). سیلیسیم در گیاهان یک عامل فعال‌کننده است. کاربرد سیلیسیم محلول جهت تولید غلظت‌های بالاتر آنزیم ریبولوز بیوفسففات کربوکسیلاز در برگ لازم است. این آنزیم سوخت و ساز دی‌اکسید کربن را تنظیم نموده و در نتیجه کارایی تثبیت دی‌اکسید کربن توسط گیاهان را افزایش می‌دهد و در نهایت منجر به بهبود فتوسنتز در گیاه می‌شود (Dhindsa *et al.*, 1982; Liu *et al.*, 2009). سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی و آنزیمی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز،

گذاشته و باعث افزایش رشد و میزان فتوسنتز می‌شود (Yousefi et al., 2016).

### نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اهمیت اقتصادی متابولیت‌های گیاهی و افزایش تقاضا، محققین به دنبال روش‌هایی به منظور تولید هر چه بیشتر این ترکیبات هستند. به نظر می‌رسد ترکیبات فعال الیسیتورهای زیستی نقش مؤثری در القای پاسخ‌های دفاعی و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه دارند. به طور کلی، نانوسیلیس میزان کلروفیل را با افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی افزایش داد، همچنین با فعال کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی گیاه و با حفظ تعادل آبی سلول و افزایش محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی نظیر پرولین سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاه زعفران شد. از نتایج به دست آمده از

### منابع

این پژوهش چنین استنباط می‌شود که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با اعمال نانو سیلیس از آثار فعالیت آنزیمی گیاه زعفران جهت کنترل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که مانع آسیب‌های اکسیداتیو و کاهش رشد می‌شود. ممکن است نانو ذرات به طور مستقیم برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته باشند و با پاک‌سازی این گونه‌های فعال اکسیژن از افزایش فعالیت آنزیم جلوگیری کند، بنابراین می‌توان گفت گیاه دارویی زعفران با دارابودن سیستم آنزیمی قدرتمند و تولید آنزیم‌های اکسیداتیو در سطوح بالا می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و شرایط ادامه حیات را فراهم نماید. همچنین، با توجه به مزایای نانو ذرات می‌توان با تحقیقات بیشتر به افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی با راهکارهای مقرون به صرفه نظیر استفاده از نانو ذرات امیدوار بود.

- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment* 24: 1337-1344.
- Aliakbarzadeh, G., Sereshti, H. and Parastar, H. (2016) Pattern recognition analysis of chromatographic fingerprints of *Crocus sativus* L. secondary metabolites towards source identification and quality control. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 408: 3295-3307.
- Amin, B. and Hosseinzadeh, H. (2012) Evaluation of aqueous and ethanolic extracts of saffron, *Crocus sativus* L., and its constituents, safranal and crocin in allodynia and hyperalgesia induced by chronic constriction injury model of neuropathic pain in rats. *Fitoterapia* 83: 888-895.
- Amirjani, M., Askari, M. and Askari, F. (2014) Effect of nano zinc oxide on alkaloids, enzymatic and antienzymatic antioxidant contents and some physiological parameters of catharantus roseus. *Journal of Cell and Tissue (JCT)* 5: 173-183.
- Anjum, S.A., Farooq, M., Xie, X.Y., Liu, X.J. and Ijaz, M.F. (2012). Antioxidant defense system and proline accumulation enables hot pepper to perform better under drought. *Scientia Horticulture*. 140: 66-73.
- Asada, K. and Nakano, Y. (1978). Affinity for oxygen in photoreduction of molecular oxygen and scavenging of hydrogen peroxide in spinach chloroplasts. *Photochemistry and Photobiology*. 28: 917-920.
- Ayoub Mazarie, S. M. M. and Ahmad Ghanbari, L. F. (2019) Effect of different spraying concentrations of jasmonic acid and titanium dioxide nanoparticles on some physiological traits and antioxidant system activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). *Iranian Journal of Plant Biology* 11: 11-23.
- Bahabadi, S. E., Sharifi, M., Behmanesh, M., Safaie, N., Murata, J., Araki, R., Yamagaki, T. and Satake, H. (2012) Time-course changes in fungal elicitor-induced lignan synthesis and expression of the relevant genes in cell cultures of *Linum album*. *Journal of Plant Physiology* 169: 487-491.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Daneshmand, F. (2014) Response of antioxidant system of tomato to water deficit stress and its interaction with ascorbic acid. *Journal of Plant Biology* 6: 2008-8264.
- Debona, D., Rodrigues, F., Rios, J., Nascimento, K. and Silva, L. (2014) The effect of silicon on antioxidant metabolism of wheat leaves infected by *Pyricularia oryzae*. *Plant Pathology* 63: 581-589.
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. L. and Reid, D. M. (1982) Leaf senescence and lipid peroxidation: Effects of some phytohormones, and scavengers of free radicals and singlet oxygen. *Physiologia Plantarum* 56: 453-457.
- Elavarthi, S. and Martin, B. (2010). Spectrophotometric assays for antioxidant enzymes in plants. *Methods in Molecular Biology*. 639: 273-281.

- Fazeli-Nasab, B., Sirousmehr, A. R. and Azad, H. (2018) Effect of titanium dioxide nanoparticles on essential oil quantity and quality in *Thymus vulgaris* under water deficit. *Journal of Medicinal Plants and By-product* 7: 125-133.
- Gao, X., Zou, C., Wang, L. and Zhang, F. (2005). Silicon improves water use efficiency in maize plants. *Journal of Plant Nutrition*. 27: 1457-1470.
- Ghorbanpour, M. (2015) Major essential oil constituents, total phenolics and flavonoids content and antioxidant activity of *Salvia officinalis* plant in response to nano-titanium dioxide. *Indian Journal of Plant Physiology* 20: 249-256.
- Gomez-Gomez, L., Parra-Vega, V., Rivas-Sendra, A., Segui-Simarro, J., Molina, R., Pallotti, C., Rubio-Moraga, A., Diretto, G., Prieto, A. and Ahrazem, O. (2017) Unraveling massive crocins transport and accumulation through proteome and microscopy tools during the development of saffron stigma. *International Journal of Molecular Sciences* 18: 76-79.
- Haghighi, M., Afifipour, Z. and Mozafarian, M. (2012) The effect of N-Si on tomato seed germination under salinity levels. *Journal of Biological and Environmental Sciences* 6: 87-90.
- Havir, E. A. and McHale, N. A. (1987) Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology* 84: 450-455.
- Holkova, I., Bezakova, L., Bilka, F., Balazova, A., Vanko, M. and Blanarikova, V. (2010) Involvement of lipoxygenase in elicitor-stimulated sanguinarine accumulation in *Papaver somniferum* suspension cultures. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 887-892.
- Jiang, Y. and Huang, B. (2001) Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science* 41: 436-442.
- Kabiri, M., Rezadoost, H. and Ghassempour, A. (2017) A comparative quality study of saffron constituents through HPLC and HPTLC methods followed by isolation of crocins and picrocrocin. *LWT* 84: 1-9.
- Kavianifar, S., Ghodrati, K., Naghdi Badi, H. and Etminan, A. (2018) Effects of nano elicitors on callus induction and mucilage production in tissue culture of *Linum usitatissimum* L. *Journal of Medicinal Plants* 3: 45-54.
- Khan, M. N., Siddiqui, M. H., Mohammad, F., Khan, M. and Naeem, M. (2007) Salinity induced changes in growth, enzyme activities, photosynthesis, proline accumulation and yield in linseed genotypes. *World Journal of Agricultural Sciences* 3: 685-695.
- Kheiry, A., Tori, H. and Mortazavi, N. (2017) Effects of drought stress and jasmonic acid elicitors on morphological and phytochemical characteristics of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 33: 268-280.
- Lautenschlager, M., Sendker, J., Huwel, S., Galla, H., Brandt, S., Dufer, M., Riehemann, K. and Hensel, A. (2015) Intestinal formation of trans-crocin from saffron extract (*Crocus sativus* L.) and in vitro permeation through intestinal and blood brain barrier. *Phytomedicine* 22: 36-44.
- Linardaki, Z. I., Orkoula, M. G., Kokkosis, A. G., Lamari, F. N. and Margarity, M. (2013) Investigation of the neuroprotective action of saffron (*Crocus sativus* L.) in aluminum-exposed adult mice through behavioral and neurobiochemical assessment. *Food and Chemical Toxicology* 52: 163-170.
- Liu, H. X., Guo, Z. G., Guo, X., Zhou, X., Hui, W. and Wang, K. (2009) Effect of addition of silicon on water use efficiency and yield components of alfalfa under the different soil moisture. *Acta Ecologica Sinica* 29: 3075-3080.
- Madhumitha, G. and Saral, A. M. (2009) Free radical scavenging assay of *Thevetia nerifolia* leaf extracts. *Asian Journal of chemistry* 21: 2468-2470.
- Marslin, G., Sheeba, C. J. and Franklin, G. (2017) Nanoparticles alter secondary metabolism in plants via ROS burst. *Frontiers in Plant Science* 8: 832-828.
- Moghadam, E., Sourestani, M., Ramazani, Z., Firoozi, A. and Eskandari, F. (2016) Effects of iron foliar application on the number and size of glandular trichomes and essential oil content and composition of holy basil (*Ocimum sanctum* L.) at first and second harvests. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 32: 44-51.
- Mohammadnejad Ganji, S.M., Moradi, H., Ghanbari, A. and Akbarzadeh, M. (2017). Quantity and quality of secondary metabolites in lavender plant under the influence of ecological factors. *Nova Biologica Reperta*. 4: 166-172.
- Mohsenzadeh, S., Malboobi, M., Razavi, K. and Farrahi-Ashtiani, S. (2006) Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae) to water deficit. *Environmental and Experimental Botany* 56: 314-322.
- Parsa, M. and Zeinali, A. (2016) Effects of salicylic acid elicitor on the production of tropane alkaloids (atropine and scopolamine) in hairy roots and in vitro roots cultures of *Hyoscyamus niger* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 32: 34-43.
- Patel, H. and Krishnamurthy, R. (2013) Elicitors in plant tissue culture. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2: 60-65.
- Riahi-Madvar, A., Yousefi, K. and Nasiri-Bezenjani, M. (2014) Positive effect of Cu and yeast extract elicitors on the content of rosmarinic acid in *Melissa officinalis* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 30: 714-723.

- Rombola, A. D., Gogorcena, Y., Larbi, A., Morales, F., Baldi, E., Marangoni, B., Tagliavini, M. and Abadia, J. (2005) Iron deficiency-induced changes in carbon fixation and leaf elemental composition of sugar beet (*Beta vulgaris*) plants. *Plant and Soil* 271: 39-45.
- Salehi, M. and Tamaskani, F. (2008) Pretreatment effect of nanosilver on germination and seedling growth of wheat under salt stress In: Proceeding of the 11<sup>th</sup> Iranian Congress in seed sciences and echnology, Gorgan, Iran.
- Sanchez, A. M., Carmona, M., Jaren-Galan, M., Minguez Mosquera, M. I. and Alonso, G. L. (2011) Picrocrocin kinetics in aqueous saffron spice extracts (*Crocus sativus* L.) upon thermal treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 249-255.
- Sanchez-Vioque, R., Rodriguez-Conde, M., Reina-Urena, J., Escolano-Tercero, M., Herraiz-Penalver, D. and Santana-Meridas, O. (2012) In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus* L.). *Industrial Crops and Products* 39: 149-153.
- Sharma, M., Ahuja, A., Gupta, R. and Mallubhotla, S. (2015) Enhanced bacoside production in shoot cultures of *Bacopa monnieri* under the influence of abiotic elicitors. *Natural Product Research* 29: 745-749.
- Siddiqui, M. H. and Al-Whaibi, M. H. (2014) Role of nano-SiO<sub>2</sub> in germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* seeds Mill.). *Saudi Journal of Biological Sciences* 21: 13-17.
- Tang, Z., Rao, L., Peng, G., Zhou, M., Shi, G. and Liang, Y. (2011) Effects of endophytic fungus and its elicitors on cell status and alkaloid synthesis in cell suspension cultures of *Catharanthus roseus*. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 2192-2200.
- Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, V. P., Prasad, S. M., Dubey, N. K. and Chauhan, D. K. (2017) Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 110: 70-81.
- Ulbricht, C., Conquer, J., Costa, D., Hollands, W., Iannuzzi, C., Isaac, R., Jordan, J. K., Ledesma, N., Ostroff, C. and Serrano, J. M. G. (2011) An evidence-based systematic review of saffron (*Crocus sativus*) by the Natural Standard Research Collaboration. *Journal of Dietary Supplements* 8: 58-114.
- Vanaja, M. and Annadurai, G. (2013) Coleus aromaticus leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles and its bactericidal activity. *Applied Nanoscience* 3: 217-223.
- Yousefi, K. and Riahi Madvar, A.A.B. (2016). Effect of flavone synthase gene expression and elicitor silver and copper on some biochemical parameters in seedlings of native Iranian cumin (*Cuminum cyminum* L). *Journal of Plant (Iranian Journal of Biology)*. 28: 210-223.

## Effect of Nano silis elicitor on Anti-inflammatory compounds and some morphophysiological characteristics in saffron

Farahnaz Tavakoli<sup>1</sup>, Mohammad Rafieiohossaini<sup>1</sup>, Rudabeh Ravash<sup>2\*</sup>, Mahmoud Rafieian-kopaei<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekod, Iran.

<sup>2</sup> Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekod, Iran.

<sup>3</sup> Center of Medical Plants Research, Shahrekord University of Medical Sciences, Sharekord, Iran  
(Received: 31/12/2019, Accepted: 21/04/2020)

### Abstract

The application of nanotechnology is a novel way of plant nutrition and a valuable technique to reduce environmental hazards by increasing yields in different agricultural sectors. In order to evaluate the content of secondary metabolites and some physiological traits of saffron, a completely randomized design with 5 replications was conducted in a greenhouse, under the influence of 2 mM nano elicitor of silica concentration. The results showed that the highest amounts of crocin, picrocrocin, crocetin and safranal were obtained by nano silica treatment with 29.65%, 24.62%, 0.06% and 0.08%, respectively. The most value of inhibitory power of IC50 was due to the application of nano-silica treatment. The highest activity of superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase was observed in nano silica and the lowest in the control. The highest amount of hydrogen peroxide was observed in 2 mM nano silica treatment with 19.85 ( $\mu\text{mol/g}$ ). The highest proline content was 57.20  $\mu\text{mol/g}$  and the highest amount of hydrogen peroxide was 68.57% in 2 mM nano silica. The highest amounts of chlorophyll a, b and total were obtained with 9.78, 2.91, and 13.02 mg / g in 2 mM nano silica, respectively.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Picrocrocin, Proline, Safranal, Photosynthetic pigments, Crocin

Corresponding author, Email: r.ravash@gmail.com