

اثر زمان کاربرد نانوذرات تیتانیوم و متیل جاسمونات بر ویژگی‌های فیزیولوژیک، رشدی و بیوشیمیایی گیاه مرزه دناپی (*Satureja hortensis* L.)

بهناز کاظمی^۱، منیره رنجبر^{۱*}، زهرا رضایتمند^۱، علی محمد احدی^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد فلاورجان اصفهان، ایران

^۲ گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۳۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۸/۱۸)

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی متیل جاسمونات با غلظت‌های (صفر، ۰/۱، ۱ و ۱۰) میلی‌مولار و نانوذرات تیتانیوم با غلظت‌های (صفر، ۲۰، ۳۰ و ۴۰) میکرومولار بر شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه مرزه دناپی، آزمایش مزرعه‌ای در شهر اصفهان در تابستان ۱۳۹۸ به شکل فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی و سه تکرار با دو عامل در چهار سطح در دو زمان برداشت ۴۸ و ۲۴ اجرا شد. نتایج پژوهش نشان داد در مقایسه با تیمار شاهد، تیمارهای متیل جاسمونات باعث افزایش معنادار در سطح ۱٪ در سطح برگ، وزن تر برگ، وزن خشک برگ و طول بخش هوایی در ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار شده است. تیمارهای نانوذره تیتانیوم باعث افزایش معناداری در سطح ۱٪ در عرض برگ، سطح برگ، وزن خشک برگ، وزن تر برگ و طول بخش هوایی گیاه شدند و همچنین میزان فلاونوئید افزایش معناداری در غلظت ۳۰ میکرومولار در سطح ۱٪ داشت. در تیمارهای توأم در ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار، در وزن خشک برگ، سطح برگ، وزن تر برگ و طول بخش هوایی افزایش معنادار در سطح ۱٪ دیده شد و افزایش معناداری در سطح ۵٪ در میزان فلاونوئید و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مشاهده گردید. از پژوهش حاضر نتیجه‌گیری شد که زمان مناسب برداشت محصول ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمارها است و همچنین به کار بردن توأم غلظت‌های متیل جاسمونات ۱ یا ۰/۱ میلی‌مولار با نانوذره ۴۰ میکرومولار و متیل جاسمونات ۱۰ میلی‌مولار با نانوذره ۳۰ میکرومولار بر روی گیاه اثر مثبت داشته و می‌تواند باعث افزایش رشد و فاکتورهای بیوشیمیایی گیاه مرزه شود.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین، سطح برگ، فلاونوئید، نانوذره، وزن تر و خشک

مقدمه

مقرون به صرفه است که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد. با انتخاب عوامل محیطی و ارقام گیاهی مناسب می‌توان به حداکثر محصول دست یافت (جعفری و همکاران، ۱۳۸۶). در کشاورزی پیشرفته امروزی استفاده از مواد فعال و سازگار با محیط برای حفظ نباتات و افزایش رشد آنها امری ضروری برای کشاورزی مدرن

گیاه دارویی مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* L. گیاهان تیره نعناع است. عوامل محیطی باعث تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و در مقدار و کیفیت مواد مؤثره آنها (نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، اسانس‌ها) می‌گردد (امیدبیگی، ۱۳۸۸). محصول زراعی یک گیاه دارویی وقتی

* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ranjbar@iaufala.ac.ir

تعیین نقش متیل جاسمونات بر عملکرد فیزیولوژیک گیاه سویا مشخص شد متیل جاسمونات در غلظت‌های کم با افزایش توان دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش تنش اکسیداتیو موجب بهبود رشد گیاه سویا شد، درحالی‌که غلظت‌های بالای آن موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش رشد گیاه شد (کرامت و دانشمند، ۱۳۹۱) همچنین نشان داده شده است که متیل جاسمونات در شرایط تنش شوری باعث بهبود صفات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و رنگیزه‌های فتوسنتزی در ریحان شد (مقدم و طالبی، ۱۳۹۵). گزارش شده است متیل جاسمونات فرآیندهای فیزیولوژیکی متعددی نظیر جوانه‌زنی و توسعه نهال‌ها، توسعه گل، غده‌دهی، نحوه رشد پیچک، رشد ریشه، پیری برگ و رسیدن میوه را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند (Choi et al., 2005) و دارای آثار القایی بر تشکیل ریشه‌های نابجا است (Zhang et al., 2005)، تجزیه کلروفیل، پیری و ریزش برگ، انسداد روزنه‌ها، بیوستنز اتیلن و تحریک سیستم‌های دفاعی گیاه است (Rohwer and Erwin, 2008). نتایج پژوهش‌های معاونی و همکاران (۲۰۱۱) روی گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*) نشان دادند نانوذرات تیتانیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شوند. همچنین طی پژوهشی روی گیاه ذرت گزارش شد اثر نانوذرات تیتانیوم روی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز معنادار است (Moaveni et al., 2011). گونه‌های جنس مرزه از تیره نعنائیان و از گیاهان دارویی رایج در کشور هستند. گیاهان علفی چند ساله یا بوته‌ای یا علفی یکساله که به‌ندرت درختچه‌ای است. مرزه دارای ساقه‌ای منشعب با ارتفاع ۳۰-۱۰ سانتی‌متر به رنگ سبز متمایل به خاکستری، برگ‌های نرم و تقریباً بدون دم‌برگ، باریک، نوک تیز، پوشیده از کرک و دارای تارهای غده‌ای اسانس‌دار است (Hajhashemi et al., 2012). اسانس‌ها در غده‌های ترشحی که معمولاً به‌صورت نقاط کروی براق دیده می‌شود، عمدتاً روی برگ‌های گیاه وجود دارد. در رویشگاه‌های مختلف ایران در فاصله ماه‌های تیر تا شهریور به گل می‌نشیند. به‌طور کلی خواص ضد میکروبی، ضد اسپاسم، ضد التهاب، ضد-

محسوب می‌شود. یکی از روش‌هایی که به تازگی توجه پژوهشگران را به خود معطوف کرده است استفاده از فناوری‌های مدرنی مانند علم نانو فناوری است که جایگاه شاخصی در علوم مختلف از جمله علوم گیاهی و کشاورزی یافته است (Scrinis and Lyons, 2007). پاسخ گیاهان به نانوذرات براساس نوع گونه، مرحله رویشی، سن و ماهیت نانوذرات متفاوت است؛ با وجود این، آثار مثبت برخی نانوذرات از جمله دی‌اکسید تیتانیوم در برخی گیاهان اثبات شده است (Zhang et al., 2005). نانو دی‌اکسید تیتانیوم باعث بهبود جذب نور و فعالیت آنزیم رویسکو (Mingyu et al., 2007) افزایش جذب نترات (Yang et al., 2006) و تسریع تبدیل مواد غیرآلی به مواد آلی (Nair et al., 2010) گیاه می‌شود. دی‌اکسید تیتانیوم از طریق افزایش فتوسنتز و کاهش خسارت ناشی از آفت‌ها و بیماری‌ها باعث افزایش محصول تا ۳۰٪ می‌شود (Chao and Choi, 2005)؛ همچنین کاربرد آن در محلول غذایی و یا محلول‌پاشی روی برگ‌های گیاه باعث افزایش زیست‌توده و رشد گونه‌های مختلف گیاهی می‌شود (Nair et al., 2010). پژوهش درباره سازوکار نانو دی‌اکسید تیتانیوم نشان می‌دهد این ماده باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و کاهش تجمع رادیکال‌های اکسیژن و سطح مالون دی‌آلدید می‌شود (Hong et al., 2005). جاسمونیک اسید و مشتقات آن، که معمولاً با عنوان جاسمونات‌ها شناخته می‌شوند تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی پیچیده‌ای هستند که بر طیف وسیعی از واکنش‌های فیزیولوژیکی و نمو گیاه اثر می‌گذارند (Wasternack, 2007) و به‌عنوان ترکیبات پیش‌برنده پیری، بازدارنده رشد و محرک‌هایی برای متابولیسم ثانویه در گیاهان عالی شناخته شدند (Koo and Howe, 2009). جاسمونیک اسید ترکیبی است که از اسید چرب لینولئیک اسید مشتق می‌شود و ممانعت از پیری و ریزش برگ گیاه، مهم‌ترین نقش آن است (Rahman et al., 2009). این هورمون پس از زخم‌شدن گیاه به‌سرعت در بافت‌های زخمی و غیرزخمی تجمع می‌یابد (Yu et al., 2007). در آزمایشی به‌منظور بررسی

مواد و روش‌ها

نحوه کاشت و تیمار گیاه: در این پژوهش بذر گیاه مرزه دناپی (*Satureja hortensis* L.) از مرکز توزیع و پخش بذر (شرکت پاکان بذر) در شهر اصفهان تهیه شد و آزمایشات جهت بررسی تأثیر متیل جاسمونات (ALDRICH، شرکت شهرآزما، تهران) با غلظت‌های (صفر، ۰/۱، ۱ و ۱۰) میلی‌مولار و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (Houston, anatase/rutile, 20 nm) با غلظت‌های (صفر، ۲۰، ۳۰ و ۴۰) میکرومولار بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و صفات مورفولوژی و بیوشیمیایی گیاه مرزه به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در تاریخ ۱۹ شهریور ۱۳۹۸ در زمین کشاورزی به مساحت ۳۰ متر مربع در شهر ابریشم اصفهان انجام گرفت. ابتدا بذرها به مدت ۵ دقیقه درون اسید کلریدریک ۳-۲٪ استریل شد و ۳ الی ۴ بار با آب مقطر استریل شستشو داده و سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیسانده شد. بذرها در زمینی با خاک رس و ماسه کشت شد. شش روز اول روزی دو بار و بعد از جوانه‌زنی یک بار در روز با آب چاه آبیاری انجام شد. بعد از جوانه‌زنی به زمین کود پتاس اضافه شد. جهت تهیه غلظت‌های ذکر شده، ابتدا متیل جاسمونات مایع (جرم مولی ۲۲۴/۳ g/mol) و پودر نانوذره تیتانیوم (۷۹/۸۶۶ g/mol) به صورت جداگانه در آب مقطر حل شدند و براساس جرم مولی به حجم رسانده شد و غلظت‌های میلی‌مولار و میکرومولار تهیه گردید و در مرحله ۵ یا ۶ برگی (۲۰ روز بعد از جوانه‌زنی) به مدت دو هفته، هفته‌ای دو بار به وسیله آبیاش در بعد از ظهر بر روی برگ‌های گیاه محلول‌پاشی شد. بر روی برگ‌های گیاه شاهد آب مقطر اسپری شد. در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از آخرین تیمارها، برداشت گیاه در مرحله گیاهچه‌ای (۳۰) روزه انجام شد و سپس گیاهچه‌ها جهت ارزیابی پارامترهای مورد نظر از هر گروه مقداری جهت تهیه عصاره، در آون خشک و مقداری برای آزمایش‌هایی که نیاز به بافت تازه داشتند در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تهوع، ضداسهال، خلط‌آور و تقویت‌کننده معده برای این گیاه گزارش شده است. همچنین بخش‌های هوایی مرزه در صنایع غذایی و دارویی کاربرد فراوانی دارد و به‌عنوان یک آنتی-اکسیدان طبیعی توجه محققان را به خود معطوف کرده است (Vahidyan et al., 2012). این گیاه دارای تانن، مواد چرب، ترکیبات فنولی و اسانس است. عمده‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مرزه را تیمول، کارواکرول، آلفا و بتا پینن و پاراسمین تشکیل می‌دهند (Momtaz and Abdollah, 2010) و ممکن است تحت تأثیر شرایط خاک و آب‌وهوای رویشگاه در مناطق مختلف مقدار اسانس و اجزای آن تغییر نماید. جنس مرزه در ایران دارای ۱۷ گونه بومی است که ۱۱ گونه از آنها انحصاری ایران محسوب می‌شوند (جم‌زاده، ۱۳۸۸، ۱۳۹۱؛ Maroofi, 2010). انتشار جغرافیایی آن در ایران حوالی آذربایجان، کرمانشاه، خراسان، ارسباران و گیلان است (بقاییان، ۱۳۷۹). گونه‌های مختلف جنس مرزه به دلیل خواص دارویی در طب سنتی در کشورهای مختلف جهان مورد توجه بوده است. همچنین شباهت زیادی بین ترکیبات شیمیایی اسانس مرزه و آویشن وجود دارد. در جنس مرزه همانند آویشن، مهمترین ترکیبات شیمیایی اسانس مربوط به گروه منوترپنوئیدها است و از میان آنها دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول جز ترکیبات شاخص به حساب می‌آیند. در دهه اخیر طی مراجعه مکرر و مستمر به رویشگاه‌های مرزه‌های ایران کاهش بسیار واضح و شدید سطح رویشگاه و تعداد پایه‌های گیاهان مذکور مشاهده شده است. حفاظت از گونه‌های گیاهی به‌ویژه گیاهان دارویی و انحصاری ایران همواره از دغدغه‌های گیاه‌شناسان منابع طبیعی است (جم‌زاده، ۱۳۸۸، ۱۳۹۱؛ Maroofi, 2010). با توجه به اهمیت گیاه مرزه و مطالب یادشده درباره نقش جاسمونیک اسید و نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم در بهبود و افزایش رشد برخی گیاهان، در پژوهش حاضر اثر محلول‌پاشی جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم به‌طور مجزا و توأم روی برخی صفات‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی مرزه بررسی شد.

اندازه‌گیری وزن خشک، تر، طول، عرض و سطح برگ: ابتدا وزن تر برگ‌ها (برگ پنجم از رأس گیاه) و بخش‌های هوایی گیاه در مرحله رویشی با ترازوی دیجیتالی (۰/۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری شد. طول برگ‌ها از نوک تا نقطه تقاطع برگ با ساقه و عرض برگ‌ها از عرض‌ترین قسمت برگ با یک خط‌کش معمولی (۰/۱ سانتی‌متر) اندازه‌گیری شد. سطح هر برگ با استفاده از کاغذ شطرنجی و شمارش مربعات تعیین شد. سپس برگ‌ها گیاه برای اندازه‌گیری وزن خشک به آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند و پس از گذشت این زمان با ترازوی دیجیتالی (۰/۰۰۱ گرم) وزن شدند (کریمیان و همکاران، ۱۳۸۹).

نحوه تهیه عصاره برای سنجش ترکیبات فنلی و فلاونوئید: برگ‌های گیاه مرزه پس از برداشت با آب مقطر شستشو و در فویل‌های آلومینیومی مجزا قرار داده شدند. درون آون ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند تا خشک شوند. سپس آسیاب شده و مقدار ۱۰ گرم از پودر خشک‌شده نمونه‌های گیاه سویا را با ترازوی دیجیتالی حساس اندازه گرفته و به هر نمونه ۱۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در دستگاه شیکر قرار گرفت و پس از صاف کردن با کاغذ صافی با روش تبخیر خشک گردید و تا زمان آزمایش در یخچال دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Shimada et al., 1992).

سنجش میزان فلاونوئید و میزان فلاونول کل به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم و برحسب استاندارد روتین اندازه‌گیری شد (Pourmorad et al., 2006; Miliuskas et al., 2004).

ابتدا محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از روتین در متانول ۶۰٪ تهیه و آنگاه یک میلی‌لیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۲٪ به آن اضافه گردید. سپس ۶ میلی‌لیتر از محلول ۵٪ استات پتاسیم به آن افزوده شد و میزان جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر پس از ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر برای استاندارد فلاونوئید خوانده و بر این اساس نمودار استاندارد

رسم گردید. سپس ۰/۰۱ گرم از نمونه خشک‌شده عصاره‌ها را در متانول ۶۰٪ حل کرده و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانیده و براساس رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم میزان فلاونوئید کل تعیین گردید، با این تفاوت که بجای محلول استاندارد، از محلول عصاره‌ها استفاده شد. نمونه بلانک در این آزمایش متانول ۶۰٪ است. میزان جذب خوانده‌شده را در نمودار استاندارد قرار داده و مقدار فلاونوئید کل برحسب میلی‌گرم بر گرم عصاره محاسبه گردید. تمامی آزمایش‌ها سه بار تکرار و مقادیر متوسط حاصل از سه مرتبه تکرار با استفاده از میانگین و انحراف معیار گزارش شدند.

سنجش ترکیبات فنلی: میزان ترکیبات فنلی، براساس روش رنگ‌سنجی فولین سیوکالیتو و برحسب اسید گالیک اندازه‌گیری شد (Sumaya-Martinez et al., 2011; Sharafati- Chaleshtori et al., 2011).

محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۶، ۰/۰۸ و ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از اسید گالیک در متانول ۶۰٪ تهیه شد. و به آنها یک میلی‌لیتر از محلول ۱۰٪ واکنشگر فولین سیوکالیتو اضافه و پس از ۳ الی ۸ دقیقه به آن یک میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۷٪ اضافه گردید. آنگاه لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و پس از آن میزان جذب نوری به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و بر این اساس نمودار استاندارد رسم گردید. سپس ۰/۰۱ گرم از نمونه خشک‌شده عصاره را در متانول ۶۰٪ حل کرده و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و براساس روش فولین سیوکالیتو میزان فنل کل تعیین گردید، با این تفاوت که بجای محلول استاندارد، از محلول عصاره‌ها اضافه شد. نمونه بلانک در این آزمایش متانول ۶۰٪ است. سپس جذب خوانده‌شده را در نمودار استاندارد قرار داده و به این ترتیب مقدار فنل کل برحسب میلی‌گرم بر گرم معادل اسید گالیک بدست آمد. این آزمایش با استفاده از میانگین و انحراف معیار حاصل از سه مرتبه تکرار گزارش گردید.

سنجش پرولین: مقدار پرولین با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) در این سنجش، مقدار معین بافت تر گیاهی را به

۲/۸ میلی لیتر بافر فسفات مونوسدیم ۲۵ میلی مولار با pH برابر ۶/۸، ۱۰۰ میکرو لیتر گایاکول (۲۰ میلی مولار) و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی است. افزایش جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر مابین زمان‌های ۱۵ و ۷۵ ثانیه بعد از اضافه کردن آب اکسیژنه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم برحسب تغییرات جذب به نسبت میلی گرم پروتئین عصاره بیان گردید.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: مخلوط واکنش برای سنجش فعالیت آنزیم شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، متیونین ۰/۱۳ مولار، EDTA ۰/۱ میکرومولار و ریوفلاوین ۲ میکرومولار است که در تاریکی کامل نگهداری شد. بلافاصله پس از اضافه کردن ریوفلاوین، ۳ میلی لیتر از آن را درون لوله آزمایش ریخته و به هر لوله ۱۰۰ میکرو لیتر نمونه عصاره پروتئینی اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۱۶ دقیقه در فاصله ۳۰ سانتی متری از منبع نور قرار گرفت و در این فاصله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر و توسط محلول تاریکی به‌عنوان شاهد تنظیم شد. پس از ۱۶ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج مذکور خوانده شد. از آنجائیکه یک واحد آنزیم مذکور عبارت است از میزانی از آنزیم که ۵۰ درصد بازداشت ایجاد کند، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس واحد آنزیمی به ازای هر میلی گرم پروتئین برای تمام نمونه‌ها محاسبه گردید (Giannopolitis and Ries, 1997).

داده‌ها پس از جمع‌آوری با نرم‌افزار SPSS بررسی و تحلیل شدند. برای بررسی نتایج و مقایسه میانگین عصاره‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. تمام اندازه‌گیری‌ها برای هر گروه، سه بار تکرار و مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ استفاده شد. نمودارهای مناسب جهت تجزیه و تحلیل توسط نرم‌افزار اکسل انجام گرفت.

نتایج

همراه اسید سولفوسالیسیلیک ساییده و محلول همگن حاصل را پس از افزودن معرف اسید نین‌هیدرین و اسید استیک درون بن‌ماری قرار داده شد و در مرحله بعد پس از افزودن تولوئن و تشکیل دو لایه مجزا مقدار معینی را جدا و در درون دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر مقدار جذب اندازه‌گیری شد و سپس میزان غلظت پرولین برحسب مقدار پرولین برحسب میلی گرم بر لیتر محاسبه گردید.

سنجش مالون دی‌آلدهید: طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ‌گی توزین می‌شود و در هاون چینی با ۵ میلی لیتر اسید تری کلرواستیک ۰/۱٪ ساییده و عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی ۴/۵ میلی لیتر محلول تری کلرواستیک ۲۰٪ که دارای ۵ گرم اسید تیوباریتوریک در ۱۰۰ گرم بود اضافه و مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور سانتریفوژ گردد. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردد (قربانعلی و همکاران، ۱۳۹۱).

تهیه عصاره جهت سنجش آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز: عصاره‌گیری به روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) صورت گرفت. مقدار ۵۰ میلی گرم بافت تازه گیاهی در هاون چینی سرد با ۲ میلی لیتر بافر ۰/۱ مولار با pH ۶/۸ هموژن شد. پس از سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، از فاز بالایی عصاره برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) انجام شد. به ۲/۷ میلی لیتر بافر فسفات مونوسدیم (۲۵ میلی مولار) با pH برابر ۶/۸، ۱۰۰ میکرو لیتر گایاکول (۲۰ میلی مولار)، ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی و ۱۰۰ میکرو لیتر آب اکسیژنه (۴۰ میلی مولار) اضافه شد. فعالیت آنزیمی با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش شروع شد. محلول بلانک حاوی

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر عرض برگ نشان دادند در ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، نانوذره اثر پنجم گیاهچه مرزه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس برخی صفات گیاه مرزه تحت تیمار با متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

زمان (ساعت)	منابع تغییرات	درجه آزادی	عرض برگ	طول برگ	سطح برگ	طول ساقه	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	وزن تر برگ	وزن خشک برگ
۲۴	متیل جاسمونات	۳	۰/۰۲۱	۰/۷۱۴	۰/۴۲۰**	۳/۷۵۶**	۰/۱۹۲	۰/۰۰۸**	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱
	تیتانیوم	۳	۰/۰۲۱**	۱/۴۹۹**	۱/۷۶۸*	۰/۵۶۳	۰/۱۰۶	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**
	توأم	۸	۰/۰۱۶	۰/۷۳۷**	۰/۷۴۰*	۴/۰۸۸**	۰/۱۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**
	ضریب تغییرات		۰/۰۸۶	۰/۱۱۶	۰/۱۴۱	۰/۱۱۹	۰/۴۶۲	۰/۱۹	۰/۲۲۵	
۴۸	متیل جاسمونات	۳	۰/۰۴۴	۰/۹۰۵	۰/۶۰۰**	۹/۱۷۴**	۰/۱۱۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۳**
	تیتانیوم	۳	۰/۰۳۰	۰/۴۵۹**	۰/۴۰۶	۲۱/۱۶۷**	۰/۱۳۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱
	توأم	۸	۰/۰۳۶	۰/۵۱۹**	۰/۳۳۲**	۱۰/۵۴۴**	۰/۱۶۱	۰/۰۶۸	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**
	ضریب تغییرات		۰/۱۳۸	۰/۰۹۵	۰/۱۴	۰/۱۶۶	۰/۳۳۸	۰/۲۱	۰/۷۵	

* و ** به ترتیب وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ را نشان می‌دهد بقیه فاقد معناداری هستند.

سطح ۰/۰۱ معنادار است. در تیمارهای توأم بیشترین طول برگ با میانگین $۵/۷۳۳ \pm ۰/۶۶$ میلی‌مولار با نانوذره تیتانیوم ۳۰ میکرومولار در زمان ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار است (شکل ۲).

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر سطح

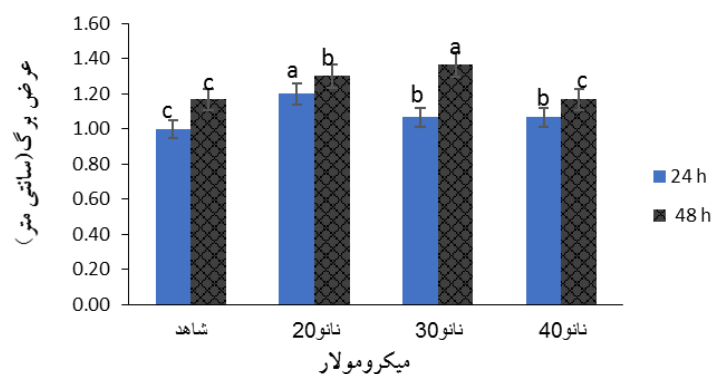
برگ پنجم گیاهچه مرزه: با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان داد تیمار متیل جاسمونات اثر معناداری تیمار در سطح ۰/۰۱ بر روی سطح برگ در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار دارد. متیل جاسمونات در زمان ۴۸ ساعت باعث افزایش سطح برگ نسبت به شاهد شده است. اثر نانوذره تیتانیوم در ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار در سطح ۰/۰۵ معنادار است و افزایش معناداری در تیمار ۳۰ میکرومولار با میانگین $۴/۱۰۶ \pm ۰/۱۲۸$ نسبت به شاهد نشان داد. اما تیمارهای توأم در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار به ترتیب در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ معنادار است. در ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار کاهش سطح برگ دیده شد اما در ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار

معناداری در سطح ۰/۰۱ بر روی عرض برگ مرزه داشته است. نانوذره تیتانیوم باعث افزایش عرض برگ نسبت به شاهد شده است و بیشترین اثر مربوط به نانوذره با غلظت ۲۰ میکرومولار است (شکل ۱). در ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار، تیتانیوم اثر معناداری بر عرض برگ مرزه نداشته است.

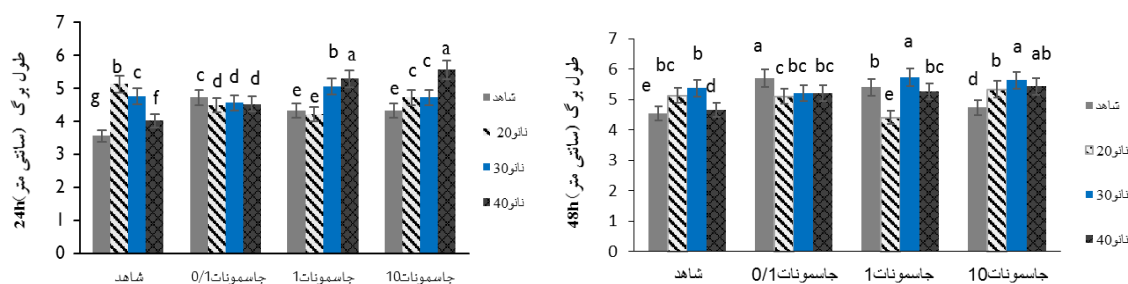
بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر طول

برگ پنجم گیاهچه مرزه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان دادند که اثر متیل جاسمونات بر روی طول برگ پنجم گیاهچه مرزه در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار معنادار نیست. اثر نانوذره تیتانیوم بر روی طول برگ در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار در سطح ۰/۰۱ معنادار است.

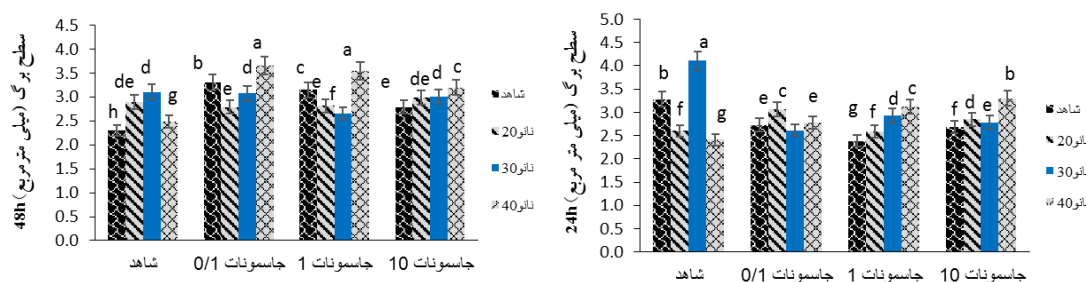
نانوذره باعث افزایش طول برگ نسبت به شاهد شده است و بیشترین افزایش به ترتیب مربوط به نانو با غلظت ۲۰ میکرومولار در ۲۴ ساعت و ۳۰ میکرومولار در ۴۸ ساعت است. اثر توأم متیل جاسمونات با نانوذره تیتانیوم بر روی طول برگ در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار در



شکل ۱- اثر نانو ذره تیتانیوم بر عرض برگ گیاه مرزه. (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0/01$ براساس آزمون دانکن هستند).



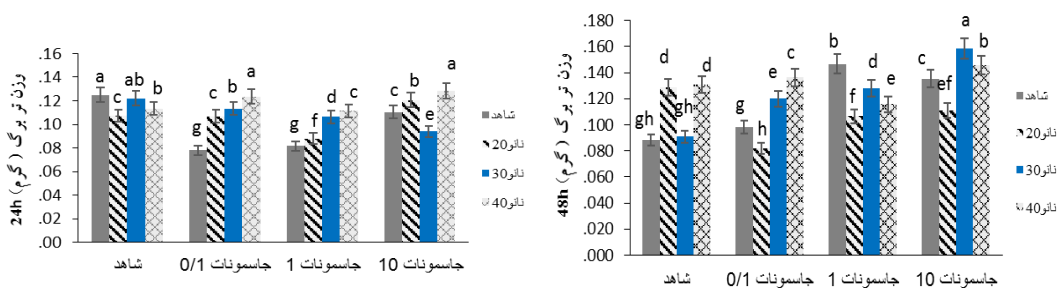
شکل ۲- طول برگ مرزه تیمار با متیل جاسمونات و نانو ذره تیتانیوم (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0/01$ براساس آزمون دانکن هستند).



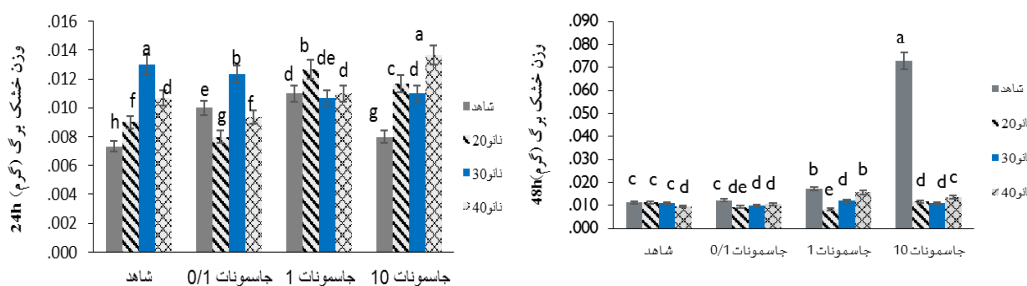
شکل ۳- نمودار سطح برگ مرزه تیمار با متیل جاسمونات و نانو ذره تیتانیوم (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0/01$ براساس آزمون دانکن هستند).

داده‌ها در جدول ۱ مشاهده شد اثر متیل جاسمونات بر وزن تر برگ در زمان ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار در سطح $0/01$ معنادار است. بیشترین وزن تر مربوط به تیمار متیل جاسمونات ۱۰ میلی‌مولار در ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار است. اثر نانو ذره تیتانیوم بر روی وزن تر برگ در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸

افزایش سطح برگ مشاهده شد که بیشترین افزایش مربوط به تیمار توأم متیل جاسمونات ۱ میلی‌مولار با نانو ذره تیتانیوم ۳۰ میکرومولار با میانگین $0/665 \pm 5/733$ است (شکل ۳). بررسی اثر متیل جاسمونات و نانو ذره تیتانیوم بر وزن تر برگ پنجم گیاهچه مرزه: باتوجه به نتایج تجزیه واریانس



شکل ۴- نمودار وزن تر برگ مرزه تیمار با متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند). حروف مشابه بیان‌کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0/01$ براساس آزمون دانکن هستند.



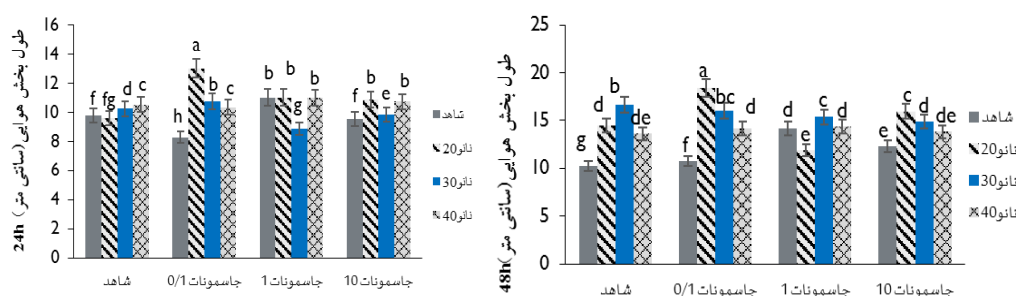
شکل ۵- نمودار وزن خشک برگ مرزه تیمار با متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند). حروف مشابه بیان‌کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0/01$ براساس آزمون دانکن هستند.

اثر توأم متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار در سطح $0/01$ معنادار است. بیشترین اثر مربوط به تیمار توأم متیل جاسمونات ۱۰ میلی‌مولار با نانوذره ۴۰ میکرومولار در ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار است (شکل ۵).

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر طول بخش هوایی گیاهچه مرزه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان دادند اثر متیل جاسمونات بر روی طول بخش هوایی در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار افزایش معنادار در متیل جاسمونات ۱ میلی‌مولار مشاهده شد. اثر نانوذره تیتانیوم بر روی طول بخش هوایی در زمان ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار به ترتیب در سطح $0/01$ معنادار است که باعث افزایش ساقه هوایی شده است که بیشترین افزایش مربوط به نانو ۳۰ میکرومولار است. اما اثر توأم متیل جاسمونات با نانوذره تیتانیوم بر روی وزن تر بخش هوایی در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار در سطح $0/01$ معنادار است.

ساعت پس از آخرین تیمار در سطح $0/01$ معنادار است. بالاترین وزن تر در زمان ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار در اثر تیمار با نانوذره ۲۰ و ۴۰ میکرومولار دیده شد. اثر توأم متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار در سطح $0/01$ معنادار است. بالاترین وزن تر در ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار در اثر تیمار توأم ۱۰ میلی‌مولار متیل جاسمونات با نانوذره تیتانیوم ۳۰ میکرومولار با میانگین $0/66 \pm 5/733$ مشاهده شد (شکل ۴).

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر خشک برگ پنجم گیاهچه مرزه: باتوجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ مشاهده شد اثر متیل جاسمونات بر وزن خشک برگ در زمان ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار در سطح $0/01$ معنادار است. افزایش چشمگیر در متیل جاسمونات ۱۰ میلی‌مولار مشاهده شد. اثر نانوذره تیتانیوم بر روی وزن خشک برگ در زمان ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار در سطح $0/01$ معنادار است. بیشترین افزایش در نانو ۳۰ میکرومولار است.



شکل ۶- نمودار طول بخش هوایی گیاهچه مرزه تیمار با متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان‌کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0.05$ براساس آزمون دانکن هستند).

در جدول ۲ اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم در هیچ کدام از زمان‌های برداشت (۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار) معنادار نیست.

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر مالون دی‌آلدهید در گیاهچه مرزه: براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۲ اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم در هیچ کدام از زمان‌های برداشت (۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار) معنادار نیست.

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر فلاونوئید در گیاهچه مرزه: نتایج تجزیه واریانس در جدول ۲ نشان داد میزان فلاونوئید در ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، در هیچ‌کدام از تیمارها معنادار نیست. در زمان ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار، میزان فلاونوئید در تیمار با تیتانیوم در سطح 0.01 معنادار بود. در ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار با تیتانیوم 30 میکرومولار میزان فلاونوئید نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در تیمارهای توأم بیشترین میزان فلاونوئید در تیمار توأم متیل جاسمونات 10 میلی‌مولار با نانوذره 30 میکرومولار نسبت به شاهد دیده شد و کمترین میزان فلاونوئید نسبت به شاهد در تیمار توأم متیل جاسمونات 10 میلی‌مولار با نانوذره 20 میکرومولار مشاهده شد (شکل ۸).

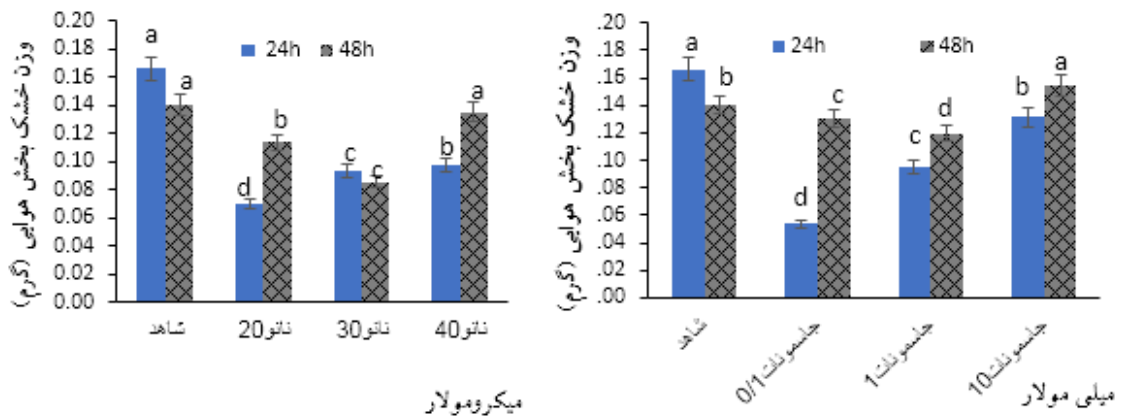
بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر فنل کل در گیاهچه مرزه: نتایج آنالیز واریانس در جدول ۲ نشان داد، در زمان ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، اثر متیل جاسمونات بر روی ترکیبات فنلی تام در سطح 0.01 معنادار است. در ۲۴

بالاترین اثر تیمار توأم مربوط به تیمار نانوذره تیتانیوم 0.1 میلی‌مولار با نانو 20 میکرومولار است (شکل ۶).

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر وزن تر بخش هوایی گیاهچه مرزه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان داد اثر تیمارهای متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر وزن تر بخش هوایی در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار معنادار نیست.

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر وزن خشک بخش هوایی گیاهچه مرزه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان داد اثر متیل جاسمونات بر وزن خشک بخش هوایی در ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار در سطح 0.01 معنادار است. در اثر اعمال تیمار متیل جاسمونات کاهش معناداری در وزن خشک بخش هوایی در گیاه مرزه نسبت به شاهد دیده شد که کمترین وزن خشک در تیمار متیل جاسمونات مربوط به تیمار باغلظت 0.1 میلی‌مولار است. اثر نانوذره تیتانیوم بر روی وزن خشک بخش هوایی در ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار در سطح 0.01 معنادار است. در تیمار نانوذره تیتانیوم کاهش معناداری در وزن خشک بخش هوایی دیده شد که کمترین آنها مربوط به تیمار نانوذره با غلظت 20 میکرومولار است. اما اثر توأم متیل جاسمونات با نانوذره تیتانیوم بر روی وزن خشک بخش هوایی در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار معنادار نیست (شکل ۷).

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر میزان پرولین در گیاهچه مرزه: براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها

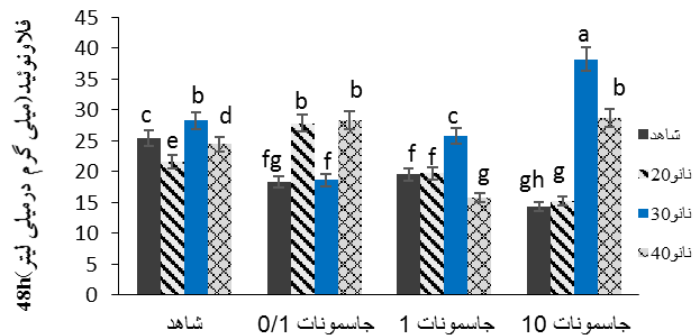


شکل ۷- نمودار وزن خشک بخش هوایی گیاهچه مرزه تیمار با متیل جاسمونوات و نانوذره تیتانیوم (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0/01$ براساس آزمون دانکن هستند).

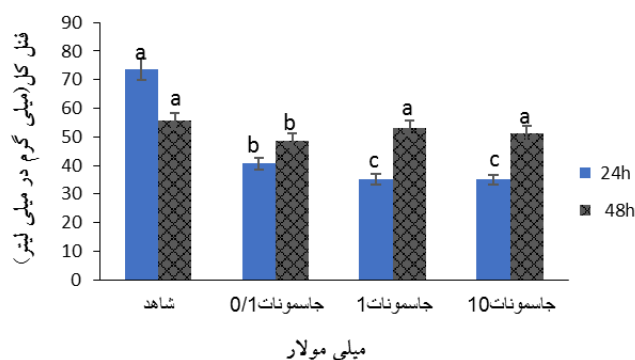
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی بررسی شده در گیاه مرزه تحت تیمار با متیل جاسمونوات و نانوذرات دی-اکسید تیتانیوم

زمان (ساعت)	منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	دی آلدئید	مالون	فنل کل	فلاونوئید	پراکسیداز	دیسموتاز
۲۴	متیل جاسمونوات	۳	۱۷/۶۶۹	۰/۰۴۲	۹۵/۴۵۱**	۱۹۷/۸۰۴	۲۳۷۵۸/۶۲۵**	۱۹۹/۲۸۰**	
	تیتانیوم	۳	۱۹/۱۹۳	۰/۰۱۴	۱۹۷/۹۶۵**	۵۴۲/۴۴۸	۶۴۳۸/۹۱۰	۵۵/۸۸۷	
	توأم	۸	۱۷/۴۶۱	۰/۰۴۷	۴۱/۹۶۳	۶۰۳/۶۰۳	۱۹۸۱/۷۷۰	۲۴/۲۱۵	
	ضریب تغییرات				۰/۳۷۱	۰/۷۳۲	۰/۸۵۲	۰/۸۰۱	
۴۸	متیل جاسمونوات	۳	۰/۸۸۶	۰/۲۲۶	۴۰/۲۲۷	۳۴/۳۷۸	۶۷/۲۴۰	۱۷۸/۷۶۱*	
	تیتانیوم	۳	۰/۲۸۵	۰/۲۶۹	۵/۶۲۶	۱۹۳/۵۱۵**	۱۳۸/۲۵۲	۱۱۹/۴۰۵*	
	توأم	۸	۰/۲۸۱	۰/۱۶۳	۳۸/۹۷۷	۱۳۷/۶۳۰**	۱۳۲/۹۷۶	۵۹/۱۴۲*	
	ضریب تغییرات				۰/۲۲	۰/۲۹۲	۰/۲۴۴	۰/۷۵۸	

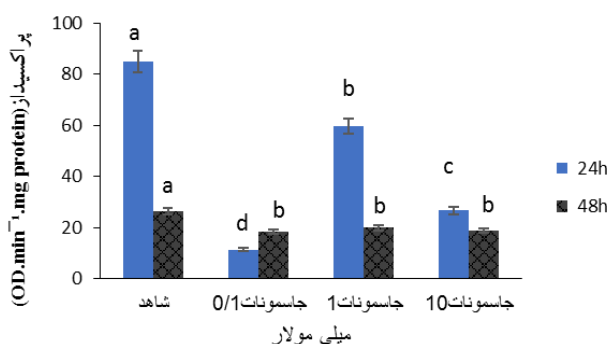
* و ** به ترتیب نشان دهنده عدم اختلاف معنادار، اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد و اختلاف معنادار در سطح ۱ درصد و بقیه فاقد معناداری هستند.



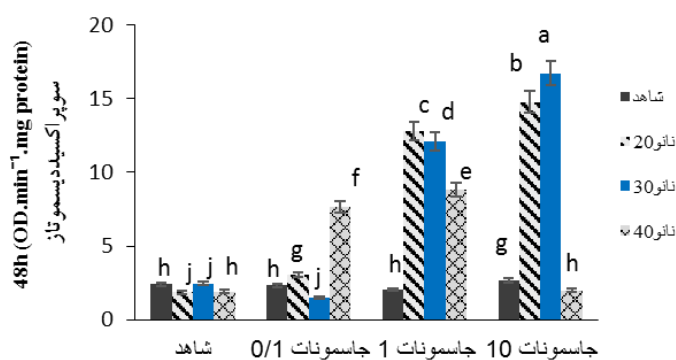
شکل ۸- اثر تیمارها بر میزان فلاونوئید (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0/01$ براساس آزمون دانکن هستند).



شکل ۹- میزان فنل تام با تیمار متیل جاسمونات (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان‌کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0.01$ براساس آزمون دانکن هستند).



شکل ۱۰- میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز تیمار با متیل جاسمونات (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان‌کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0.01$ براساس آزمون دانکن هستند).



شکل ۱۱- اثر تیمارها بر روی فعالیت آنزیم دیسموتاز در تیمار با متیل جاسمونات و نانو ذره تیتانیوم (مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان‌کننده عدم تفاوت معنادار در سطح $P < 0.01$ براساس آزمون دانکن هستند).

فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه مرزه: نتایج آنالیز واریانس در جدول ۲ نشان داد، در زمان ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، اثر متیل جاسمونات بر روی فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح 0.01 معنادار است. متیل جاسمونات باعث

ساعت پس از آخرین تیمار، اثر متیل جاسمونات باعث کاهش معنادار میزان فنل کل نسبت به شاهد شده است و کمترین آنها مربوط به اثر متیل جاسمونات 10 میلی‌مولار است (شکل ۹). بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر میزان

کاهش معنادار میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد شده است و کمترین آنها مربوط به اثر متیل جاسمونات ۰/۱ میلی مولار است (شکل ۱۰). بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذره تیتانیوم بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهچه مرزه: نتایج آنالیز واریانس در جدول ۲ نشان داد، در ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار، میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در همه تیمارها در سطح ۰/۰۵ معنادار است. برخی از تیمارهای توأم افزایش فعالیت آنزیم را نشان دادند و بالاترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار توأم متیل جاسمونات ۱۰ میلی مولار با نانوذره ۳۰ میکرومولار مشاهده شد (شکل ۱۱).

بحث

طول و عرض برگ، در بررسی تأثیر متیل جاسمونات روی کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.) گزارش شد که پایین ترین غلظت متیل جاسمونات بطور قابل توجهی طول برگ تازه را افزایش داد (Closas et al., 1999). براساس نتایج ذکرشده، محلول پاشی غلظت بالای متیل جاسمونات سبب افزایش طول برگ گیاه شده است. که نشان دهنده این است طول و عرض برگ تحت تأثیر غلظت بالا و متوسط متیل جاسمونات قرار گرفته اند (محمدی ازنی و همکاران، ۱۳۹۹). از آنجایی که فقط برگ های جوان برای اندازه گیری انتخاب شدند این اثر رشد متیل جاسمونات می تواند مربوط به نقش متیل جاسمونات در رشد ریشه های موئین و تنظیم جذب عناصر باشد، با نتایج حاصل از این پژوهش همسو است. Carvajal و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که کاربرد دی اکسید تیتانیوم در محلول غذایی و یا محلول پاشی روی برگ های گیاهان می تواند رشد گونه های مختلف گیاهی را افزایش دهد. تیتانیوم به صورت محلول پاشی روی شاخ و برگ باعث تحریک رشد قسمت هوایی گیاه خرفه شد (Khan, 2006). در پژوهش حاضر متیل جاسمونات و نانو تیتانیوم هر دو باعث افزایش معنادار طول برگ شد که در مطالعات گزارش شده با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

سطح برگ، محققان در آزمایشی بر روی گیاه شنبلیله به مدت ۱۶ روز تحت تیمار با نانوذره دی اکسید تیتانیوم نشان دادند که بالاترین غلظت نانوذره اکسید تیتانیوم، سطح برگ را تا ۲۰٪ نسبت به گیاه کنترل کاهش می دهد (Missaou et al., 2017). همچنین، گزارش شده است که علت کاهش سطح برگ در اثر نانوذره اکسید تیتانیوم، نبود برهمکنش مستقیم آن با مسیر بیوستتر کلروفیل و همچنین احتمالاً به دلیل کاهش چگالی کلروپلاست است (Zayneb et al., 2015). در پژوهش حاضر در ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، نانوذره تیتانیوم باعث کاهش معنادار در سطح برگ گیاه مرزه نسبت به شاهد گردید. نتایج گزارش شده با نتایج این تحقیق مطابق دارد. با توجه به نتایج بدست آمده در ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار، در تیمارهای توأم افزایش معنادار در سطح برگ گیاه مرزه دیده می شود. استفاده از تیمار با غلظت ۰/۱ میلی مولار متیل جاسمونات افزایش سطح بیشتر از تیمار متیل جاسمونات ۱۰ میلی مولار دیده می شود. El-Sayed (۱۹۹۹) گزارش کرد که تیمار درختان زیتون تحت تنش شوری با ۱۵۰ میلی گرم اسید جاسمونیک باعث افزایش سطح برگ آنها شد. در بررسی تأثیر متیل جاسمونات روی کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.) گزارش شد که پایین ترین غلظت متیل جاسمونات بطور قابل توجهی سطح برگ را افزایش داد. این نتایج بیان می کند که هورمون متیل جاسمونات در غلظت های پایین مؤثرتر است (Closas et al., 1999). در پژوهشی بر روی نعنای فلفلی بیان شده است استفاده از غلظت ۶۰ میکرومولار متیل جاسمونات موجب افزایش سطح برگ گردید (وطن خواه و همکاران، ۱۳۹۵) نتایج با نتایج حاصل از این پژوهش همسو است.

وزن خشک و تر بخش هوایی و برگ، Carvajal و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند که کاربرد دی اکسید تیتانیوم در محلول غذایی و یا محلول پاشی روی برگ های گیاهان می تواند رشد گونه های مختلف گیاهی را افزایش دهد. پیش از این افزایش بیوماس با کاربرد تیتانیوم گزارش شده بود (Nair et al., 2010). Zhang و همکاران (۲۰۰۵)، بیان داشتند که تیمار با نانوذره تیتانیوم باعث افزایش تشکیل کلروفیل، فعالیت

گیاه تحت تأثیر قرار می‌دهد و در نهایت منجر به مرگ گیاه می‌شود. Kovacik و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی تأثیر متیل جاسمونات روی کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.) گزارش شد که پایین‌ترین غلظت متیل جاسمونات بطور قابل توجهی وزن برگ تازه، را افزایش داد و بالاترین غلظت متیل جاسمونات وزن تر و خشک برگ را کاهش داد. این نتایج بیان می‌کند که هورمون متیل جاسمونات در غلظت‌های پایین مؤثرتر است (Closas et al., 1999).

اثر نانوذرات تیتانیوم در سطح احتمال ۵ درصد بر روی طول ساقه معنی‌دار شد داده‌ها نشان داد که بیشترین طول ساقه محلول‌پاشی ۳ میلی‌گرم بر لیتر و کمترین طول ساقه در عدم محلول‌پاشی این نانوذرات بدست آمد (سرتیپ و سیروس مهر، ۱۳۹۶). Moaveni و همکاران (۲۰۱۱) نیز بیان کردند که ارتفاع بوته گندم در پاسخ به تیمارهای مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم افزایش یافت. نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثر افزایشی بر سرعت فتوسنتز دارد (Yang و همکاران، ۲۰۰۶) و باعث افزایش رشد می‌شود. نتایج حکایت از افزایش ارتفاع نعنای فلفلی در اثر کاربرد جاسمونیک اسید بوته می‌گردد (Hassani, 2006). گزارش شد که نشان می‌داد با اعمال تیمار جاسمونیک اسید ارتفاع گیاه گوجه‌فرنگی افزایش یافت (Farzaneh and Tafazoli, 2014). بنابراین به نظر می‌رسد که جاسمونیک اسید طولی شدن و تقسیم سلولی را به همراه مواد دیگری از قبیل اکسین تنظیم کند و با افزایش میزان تقسیم سلولی مریستم انتهایی سبب افزایش رشد طولی گیاه می‌شود. در بررسی تأثیر متیل جاسمونات روی کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.) گزارش شد که پایین‌ترین غلظت متیل جاسمونات ارتفاع گیاه تازه را افزایش داد و بالاترین غلظت متیل جاسمونات ارتفاع گیاه را کاهش داد. این نتایج بیان می‌کند که هورمون متیل جاسمونات در غلظت‌های پایین مؤثرتر است (Closas et al., 1999). براساس نتایج ذکر شده، محلول‌پاشی غلظت بالای متیل جاسمونات سبب افزایش طول ساقه و ارتفاع گیاه شده است (محمدی ازنی و همکاران، ۱۳۹۹). از آنجایی که فقط برگ‌های جوان برای اندازه‌گیری انتخاب شدند این اثر رشد متیل

آنزیم رویسکو و سرعت فتوسنتز باعث افزایش وزن خشک گیاه می‌شود. اعمال تیمار تیتانیوم به صورت محلول‌پاشی روی شاخ و برگ کاهش وزن خشک خرفه شد. علت کاهش وزن خشک شاخ و برگ را می‌توان کاهش در مقدار کلروفیل برگ در اثر تنش وارد شده به گیاه دانست که با کاهش سنتز مواد لازم برای رشد گیاه همراه است (Khan, 2006). این گزارش همسو با نتایج تحقیق حاضر است. نتایج Moaveni و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که نانوذرات تیتانیوم اثر معنی‌داری بر وزن تر گیاه خرفه داشت. بیشترین وزن تر محلول‌پاشی ۳ میلی‌گرم بر لیتر و کمترین وزن تر در عدم محلول‌پاشی این نانوذرات بدست آمد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثر افزایشی بر سرعت فتوسنتز دارد و باعث افزایش رشد می‌شود. نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب افزایش جذب و متابولیسم نیتروژن و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز می‌گردد، بنابراین محتوای آمونیوم نیز در گیاه افزایش می‌یابد. از طرف دیگر این نانوذرات میزان اسیمیلاسیون آمونیوم و همچنین آنزیم‌های درگیر در آن را افزایش داده و باعث می‌شود آمونیوم سریعاً به نیتروژن آلی مانند پروتئین، اسیدهای آمینه و کلروفیل تبدیل گردد (Yang et al., 2006). از طرفی فراهمی آب برای گیاه در این شرایط می‌تواند در سنتز مولکول‌های ذکر شده مؤثر واقع شده و دلیل افزایش بیوماس و وزن خشک گیاه باشد. صابر و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند نانو تیتانیوم به واسطه تسریع فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، سبب افزایش سنتز اسیدهای آمینه، پروتئین، کلروفیل و افزایش فتوسنتز می‌گردد. بدین ترتیب رشد اسفناج و وزن خشک و تر آن نیز افزایش می‌یابد. نتایج آزمایش نشان داد که کاربرد جاسمونیک اسید سبب بهبود وزن تر و خشک اندام هوایی در شرایط تنش خشکی شد (Ashraf and Foolad, 2007). Agayi و Mohebalipour (۲۰۱۴) بیان کردند با افزایش غلظت جاسمونیک اسید از صفر به ۱ میلی‌مولار وزن تر و خشک گیاهچه بادرنجبویه افزایش یافت. تأثیر متیل جاسمونات به عواملی نظیر گونه، مرحله نموی گیاه، نحوه اعمال تیمار و غلظت آن وابسته است، متیل جاسمونات در غلظت‌های بالاتر وضعیت اکسایشی گیاه را بیش از حد توان

پروتئین‌های گیاهان می‌شود (Guo et al., 2006). نتایج مطالعه نشان دادند میزان پرولین با کاربرد جاسمونیک اسید نسبت به گیاهان شاهد افزایش می‌یابد و به نظر می‌رسد جاسمونیک اسید با تنظیم افزایشی بیان ژن‌های پروتئین‌های بازدارنده به‌ویژه پرولین سبب افزایش میزان این آمینواسید در گیاهان می‌شود (Wang et al., 2009). در مطالعه‌ای متیل جاسمونات با القای آنزیم سنتزکننده پرولین باعث افزایش تولید پرولین می‌شود؛ احتمالاً اسید جاسمونیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در سنتز پرولین باعث افزایش سطح پرولین شدند (Gupta et al., 1993).

محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غیراشباع سلول است. از این رو به‌عنوان یک نشانگر زیستی مناسب، جهت تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تنش اکسند در سلول به‌کار برده می‌شود (زینالی یادگاری و همکاران، ۱۳۸۸). بررسی غلظت مالون دی‌آلدئید بافت گیاهی می‌تواند بیانگر میزان تخریب غشاء سلولی باشد زیرا این ترکیب تحت تأثیر تخریب غشاء سلولی آزاد می‌شود (Farooq and Azam, 2006). میزان پراکسیداسیون لیپید در گیاهان اغلب برای ارزیابی اثر تنش‌های محیطی تعیین می‌شود. پراکسیداسیون لیپید یک فرایند وابسته به رادیکال‌های آزاد است. رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آنیون‌های سوپراکسید به اسیدهای چرب غیراشباع حمله کرده، در نتیجه منجر به تغییر ساختار و عمل غشا (Verma and Dubey, 2003). در تحقیق قناتی و همکاران (۱۳۸۹) گزارش شده در تیمار با متیل جاسمونات، میزان مالون دی‌آلدئید هم در ریشه و هم در اندام هوایی گیاه همیشه‌بهار در مقایسه با گیاهان شاهد، تغییر معنی‌داری نداشت. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر نتایج معنادار نبود این مطالعات با نتایج حاضر همخوانی دارد. نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در ۲۴ ساعت پس از تیمار باعث افزایش مالون دی‌آلدئید شد اما این افزایش معنادار نیست که با تحقیق Amirjani و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد.

فلاونوئیدها (ترکیبات فنلی گیاهی) در سیتوپلاسم و نیز سطح سیتوپلاسمی شبکه آندوپلاسمی، سنتز می‌شوند و با

جاسمونات می‌تواند مربوط به نقش متیل جاسمونات در رشد ریشه‌های موئین و تنظیم جذب عناصر باشد. در تحقیق حاضر همسو با نتایج تحقیقی که نشان داد متیل جاسمونات سبب افزایش شاخص‌های رشدی و محتوای کلروفیل گیاهچه‌های گل اطلسی می‌شود (Zarghami-Moghaddam et al., 2014). شاخص‌های رشدی و محتوای کلروفیل تحت تیمار متیل جاسمونات افزایش یافت که ممکن است به دلیل جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های کلروفیل اکسیداز مرتبط باشد که مانع تجزیه کلروفیل شده و از این طریق سبب افزایش فتوسنتز می‌شوند (طالعی و همکاران، ۱۳۹۷). در پژوهش حاضر، ۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار نانو و توأم آن با متیل باعث افزایش معنادار طول ساقه شد که با نتایج ذکر شده مطابقت دارد.

اسیدآمینو کلیدی است که به‌عنوان یک اسمولیت سازگار عمل می‌کند. زیرا می‌تواند بدون اینکه مولکول‌های بزرگ سلول را خراب کند، در غلظت‌های زیاد در سلول تجمع یابد (Hare et al., 1998). Huang (۱۹۹۷) در مطالعه‌ای بیان کردند آمینواسیدهایی مانند پرولین ممکن است نقش محافظت‌کننده برای تیلاکوئیدهای کلروپلاست و دیگر سیستم‌های غشایی داشته باشند. پرولین با تحت تأثیر قراردادن حلالیت پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلف از تغییر ماهیت آنها جلوگیری می‌کند. در گزارشی بیان شده است محلول‌پاشی با نانوذرات تیتانیوم تأثیر فزاینده‌ای بر میزان پرولین ندارد؛ درحالی‌که نتایج پژوهش دیگری نشان دادند محلول‌پاشی با نانوذرات تیتانیوم سبب افزایش میزان پرولین در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد می‌شود (Zarafshar, 2015). یافته‌های Amirjani و همکاران (۲۰۱۴) که بیان کردند افزایش غلظت‌های نانوآکسید روی مقدار پرولین را در اندام‌های هوایی گیاه دارویی پربوش افزایش می‌دهد. تجمع پرولین دارای نقش تنظیم اسمزی، حفظ پایداری غشا و پروتئین است و موجب ذخیره کربن، نیتروژن و انرژی می‌شود (Kaya et al., 2006). El-Sayed و همکاران (۲۰۱۴) نیز گزارش کردند که تیمار اسید جاسمونیک دارای اثر مثبت بر محتوای پرولین برگ زیتون بود. جاسمونیک اسید با تحریک سنتز بازدارنده پروتئیناز و بیان ژن آن سبب پایداری

ترکیبات فنلی جز متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند (Taiz and Zeiger, 2002) به‌طور طبیعی ترکیبات فنلی مختلف با تأثیرهایی از قبیل دخالت در ساخت دیواره سلولی، دخیل در مکانیسم دفاعی گیاه و دخیل در خصوصیات میوه مانند رنگ، عطر، طعم و مزه، در گیاه وجود دارد. همچنین ترکیبات فنلی به‌عنوان شاخص‌هایی برای مراحل فیزیولوژیکی در طول رشد میوه نیز در نظر گرفته می‌شوند (Macheix et al., 1990). براساس یافته‌ها، اولین مرحله در فعالیت دفاعی گیاه، تجمع ترکیبات فنلی در گیاه است (Matern and Kneusal, 1998). ترکیبات فنولی به علت ویژگی آنتی‌اکسیدانی قوی رادیکال‌های آزاد را به دام می‌اندازند و گیاهان این ترکیبات را در پاسخ به برخی ترکیبات پیام‌رسان دارای نقش دفاعی مهم آزاد می‌کنند (Sheraphti et al., 2008). Kovacik و همکاران (۲۰۰۹) در گزارشی بیان کردند ترکیبات فنولی نقش آنتی‌اکسیدانی خود را با سازوکارهایی مانند پاکروبی رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن، کلات کردن یون‌های فلزی و یا در همکاری با پراکسیدازها برای جمع‌آوری یا حذف پراکسید هیدروژن ایفا می‌کنند. ترکیبات فنولی با شرکت در واکنش حذف رادیکال‌های آزاد به رادیکال فنوکسیل اکسید می‌شوند و سپس از طریق واکنش رادیکال‌های فنوکسیل با آسکوربات به حالت اولیه بر می‌گردند (Silva et al., 2007). Caldwell در سال ۲۰۰۲ اعلام کرد که در برگ گیاه اسفناج تحت تیمار با غلظت‌های پایین مس، افزایش محتوای ترکیبات فنلی دیده می‌شود، درحالی‌که در غلظت‌های بالای مس، محتوای ترکیبات فنلی کاهش می‌یابد، این مطالعه نیز به گونه‌ای با مطالعات ما همسویی دارد. با وجود القای سنتز ترکیبات فنلی در تنش‌های گوناگون، مقدار واقعی آنها حاصل توازن بین سرعت سنتز آنها و سرعت کاهش و یا مصرف آنهاست. کاهش مشاهده‌شده در میزان ترکیبات فنلی محلول، نشان‌دهنده کوچک‌تر بودن سرعت سنتز به سرعت کاهش یا مصرف این ترکیبات است. این مسئله پیامد تشکیل ترکیبات فنلی نامحلول و یا پلیمریزاسیون فنلیک‌ها در نتیجه اکسیداسیون است. بنابراین می‌توان احتمال داد که کاهش ترکیبات فنلی در این پژوهش نیز به دلیل فوق

فعالیت آنتی‌اکسیدانتی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی، نقش حفاظتی دارند. اکسیداسیون فلاونوئیدها در شرایط تنش، سبب تولید ترکیبات جاروب‌کننده آب اکسیژنه مانند سمی کوئینون‌ها و کوئینون‌ها می‌شود (Pource et al., 2006). براساس نتایج بدست آمده در این پژوهش، نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش معنادار میزان فلاونوئید شده است در اثر تیمارهای توأم متیل و نانو هر چه غلظت متیل افزایش داشته است میزان فلاونوئید هم به‌طور معناداری در سطح ۰/۰۱ افزایش نشان داده است بنابراین می‌توان احتمال داد که افزایش میزان فلاونوئید تا حدی برای مقابله با استرس باشد. در گیاه *Pueraria tuberosa* L. غلظت ۴۰ میکرومول متیل جاسمونات باعث افزایش تولید فلاونوئیدها شده، درحالی‌که غلظت‌های بالاتر متیل جاسمونات باعث کاهش تولید ایزوفلاونوئیدها شده است (Goyal and Ramawat, 2008). ترکیبات فنولی نقش آنتی‌اکسیدانی خود را با سازوکارهایی مانند پاکروبی رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن، کلات کردن یون‌های فلزی و یا در همکاری با پراکسیدازها برای جمع‌آوری یا حذف پراکسید هیدروژن ایفا می‌کنند (Silva et al., 2007). نتایج محققان نشان داد، محلول‌پاشی با جاسمونیک اسید سبب افزایش ۵۰ درصدی فنول کل نسبت به گیاهان شاهد می‌شود. کاربرد متیل جاسمونات مقدار ترکیبات فنولی را در برخی گیاهان نظیر مارچوبه (Reyes and Cisneros-Zevallos, 2003) و لوبیا سبز (Heredia and Cisneros-Zevallos, 2009) افزایش می‌دهد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. در تحقیق دیگری روی گیاه ریحان شیرین (*Ocimum basilicum*) از متیل جاسمونات به‌صورت محلول‌پاشی روی گیاه استفاده شد و کل محتوای فنلی به‌صورت قابل‌توجهی بعد از اعمال تیمار در مقایسه با گیاه شاهد افزایش یافت (Kim et al., 2006). نتایج مطالعات نشان دادند میزان فنول با بیشتر شدن غلظت نانو دی‌اکسید تیتانیوم نسبت به شاهد افزایش می‌یابد (Oloumi et al., 2015). گزارش کردند نانوذرات مس و روی آثار مثبتی بر محتوای ترکیبات فنولی نهال‌های شیرین‌بیان دارند. این مطالعه نیز به گونه‌ای با مطالعات ما همسویی دارد.

باشد (Anagnostopoulou *et al.*, 2006).

اولین آنزیم پاکسازی‌کننده سوپراکسید دیسموتاز است که تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن که یک مولکول با خاصیت غیررادیکالی است را بر عهده دارد. طبق نتایج حاصل، اثر متیل جاسمونات بر روی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به‌طور معناداری در ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، کاهش و سپس در ۴۸ ساعت در حد شاهد ثابت مانده است نانوذره هم در حد شاهد افزایش نشان داده است اما در تیمارهای توأم هر چه غلظت متیل جاسمونات در تیمارهای توأم افزایش پیدا کرده فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز هم افزایش نشان داده است که بیشترین آن در تیمار متیل جاسمونات ۱۰ میلی‌مولار با نانوذره دیده می‌شود که می‌توان این‌طور استدلال کرد که ممکن است گیاه وارد فاز استرس شده باشد. افزایش فعالیت SOD به دلیل مقابله با تنش اکسیداتیو و محافظت از سیستم دفاعی گیاه در برابر آسیب اکسیداتیو است (Malecka *et al.*, 2012). اولین مرحله در فعالیت دفاعی گیاه، تجمع ترکیبات فنلی در گیاه است ممکن است کاهش آنزیم SOD به این علت باشد که ابتدا افزایش ترکیبات فلاونوئیدی جهت حذف رادیکال‌های آزاد سریع‌تر وارد عمل شده و رادیکال‌های آزاد را کاهش داده و دلیل دیگر اینکه ممکن است غلظت متیل جاسمونات و نانوذره آن‌قدری کافی نبوده که در ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار بتواند روی سیستم آنزیمی اثر گذاشته و فعالیت آنها را افزایش دهد و به تدریج طی زمان ۴۸ ساعت فعالیت آنزیم مذکور رو به افزایش گذاشته است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهند متیل جاسمونات به عنوان مولکول‌های هشداردهنده در گیاه فعالیت می‌کنند (Memelink, 2009) گزارش‌های مختلفی نیز مبنی بر تأثیر متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه آراییدوپسیس (Jung, 2004) و بادام‌زمینی (Comparot *et al.*, 2002) ارائه شده‌اند که متیل جاسمونات سطوح رادیکال‌های آزاد را از طریق افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان کاهش می‌دهد. غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات موجب افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در

گیاهچه بادام‌زمینی می‌شود (Kumari *et al.*, 2006). در گزارشی بیان شده است تیمار گیاه پرپوش با نانواکسید روی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گایاگول پراکسیداز می‌شود (Amirjani *et al.*, 2014) پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهند نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم آثار مخرب افزایش رادیکال‌های آزاد (Lei *et al.*, 2008). میزان نشت الکترولیت در سلول را با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی را به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌دهد (Okuda *et al.*, 1991). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کوتاه مدت می‌تواند دلیل افزایش سریع گونه‌های اکسیژن باشد و کاهش فعالیت آنزیم‌ها نشان‌دهنده این باشد که سیستم دفاعی گیاه توانسته تنش اکسیداتیو را کنترل کند. نقش مهم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پاکسازی سلول از گونه‌های فعال اکسیژن هستند (Yadeghari *et al.*, 2008; Yong *et al.*, 2008). نتایج آزمایش‌های مختلف نشان داده نمی‌توان روند خاصی را برای تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در نظر گرفت ولی در بسیاری از آزمایش‌ها افزایش این آنزیم‌ها در شرایط تنش گزارش شده است (Anjum *et al.*, 2010). برخی آزمایش‌ها عدم وجود همبستگی بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهد و دلیل خاصی برای عدم وجود رابطه در این آزمایش‌ها گزارش نشده است (Honty *et al.*, 2008; Arnnok *et al.*, 2010).

گایاکول پراکسیدازها (POX) گلیکوپروتئین‌هایی هستند که فنل‌ها را مانند یک دهنده هیدروژن مصرف کرده و در فرایندهای نمو، لیگنین‌سازی، بیوستز اتیلن، دفاع و التیام زخم‌ها شرکت می‌کنند (Verma and Dubey, 2003). آنزیم پراکسیداز به‌عنوان یک القاشونده سیستمیکی و به‌عنوان مارکری برای القا مقاومت در گیاه برای ایجاد پیوند و محکم کردن دیواره سلولی ضروری است (Kuc, 2001). پراکسیدازهای گیاهی در متابولیسم اکسین، لیگنین و تشکیل سوبرین، اتصال متقابل اجزای دیواره سلولی، سنتز فیتوالکسین و متابولیسم ROS درگیر هستند. پراکسیدازهای گیاهی آنزیم‌های حاوی هم هستند که اکسیداسیون تک الکترون

و نانوذره تیتانیوم به صورت جداگانه در اغلب شاخص‌ها باعث افزایش رشد در گیاه مرزه گردید. متیل جاسمونات به تنهایی در اغلب شاخص‌ها اثر کاهشی داشته است. متیل جاسمونات بر وزن خشک ساقه اثر منفی نشان داد. نانو تیتانیوم در غلظت ۳۰ میکرومولار بهترین غلظت را از نظر عملکرد نشان داد. افزایش غلظت تیتانیوم اثر سمی بر رشد گیاه مرزه نشان نداد و همچنین اثر توأم نانو تیتانیوم و متیل جاسمونات در بعضی از تیمارها به مراتب بهتر از استفاده آنها به صورت جداگانه است و کاربرد توأم نانوذره تیتانیوم و متیل جاسمونات در غلظت‌های مختلف بر روی فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه مرزه در کل اثر مثبت داشته و بسته به غلظت‌های به کار برده شده اثرات متفاوتی نشان داد. به نظر می‌رسد کاربرد توأم آنها یک نوع برهمکنش خاص در جهت کاهش اثرات منفی یکدیگر ایجاد کرده و باعث افزایش در برخی از شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه مرزه گردیده است. می‌توان از هر دو ماده که یکی جز عناصر و دیگری جز تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه است به صورت توأم جهت کیفیت محصول استفاده کرد البته، تأیید نتایج حاصل نیاز به پژوهش‌های مشابه و تحقیقات بیشتری در زمینه‌های سلولی - مولکولی و تجزیه و تحلیل بیان ژن در این زمینه دارد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از خانواده مهربانم، اساتید عزیز و همه افراد و سازمان‌هایی که در تهیه این مقاله به من کمک کردند جهت دریافت درجه دکترا گیاهی از دانشگاه آزاد فلاورجان تشکر و قدردانی می‌نمایم.

تأمین مالی

این تحقیق هیچ‌گونه کمک بلاعوض خاصی از آژانس‌های تأمین مالی در بخش‌های دولتی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

چندین سوبسترا را با مصرف پراکسید هیدروژن کاتالیز می‌کنند (Passardi et al., 2007). بنابراین به نظر می‌رسد در مطالعه ما القای سیستمیک وجود نداشته و میزان استرس به نسبت کم بوده و بنابراین فقط آنزیم دیسموتاز افزایش یافته است. بنابراین در کل، بی‌نظمی مشاهده شده در فعالیت هر دو آنزیم می‌تواند نشان‌دهنده آمادگی بیشتر آنزیم دیسموتاز نسبت به آنزیم پراکسیداز باشد. در بسیاری موارد تجمع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پی تجمع رونوشت ژن رخ می‌دهد. به نظر می‌رسد که میزان کافی فعالیت آنزیم دیسموتاز، یکی از دلایل، رونویسی کمتر ژن‌های پراکسیداز در این گیاه نیز بوده باشد. Hare و همکاران (۱۹۹۸)، در پژوهشی اثر متیل جاسمونات را بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بررسی و گزارش کردند متیل جاسمونات اثری بر فعالیت آنزیم گایاکول در تاتوره (*Datura wrightii*) ندارد کاهش کارایی چرخه مهلر در کلروپلاست سبب افزایش شدت آسیب به مولکول‌های زیستی حیاتی از جمله غشاها می‌شود و کاهش کارایی چرخه یادشده از کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ناشی می‌شود؛ علاوه بر این، تجمع رادیکال سوپراکسید فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیدازها را کاهش می‌دهد آنزیم‌های یادشده نقش ویژه‌ای در جمع‌آوری پراکسید هیدروژن موجود در سلول دارند (Sairam et al., 2001). بروکی و همکاران (۱۳۹۵) بیان کردند فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر محلول‌پاشی متیل جاسمونات افزایش یافت. اثر متقابل بین غلظت و زمان برای این صفت معنی‌دار بود. به‌طوریکه این آنزیم در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار و در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از محلول‌پاشی بیشترین فعالیت را نشان داد و پس از آن میزان فعالیت این آنزیم همچنان افزایش را نشان داد. با توجه به اینکه اثر تیمارها باعث کاهش آنزیم پراکسیداز شده است گزارش‌ها تا حدوی با مطالعات حاضر همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش متیل جاسمونات

منابع

- امید بیگی، ر. (۱۳۸۸) رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول، انتشارات فکر روز، تهران.
- بروکی، ا.، حسنی، ل.، عبدالهی، ب.، درویش‌زاده، ر.، خردمند، ف. و حسنی، ع. (۱۳۹۵) تأثیر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و محتوی پروتئین کل ریحان. به‌زراعی کشاورزی ۱: ۱۱۵-۱۰۳.
- بقالیان، ک. و نقدی بادی، ح. (۱۳۷۹) گیاهان اسانس‌دار، نشر اندرز.
- زینالی یادگاری، ل.، حیدری، ر. و کاراپتینان، ژ. (۱۳۸۸) تغییر نفوذپذیری غشاهای زیستی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه سویا در پاسخ به دمای پایین. مجله زیست‌شناسی ایران ۲۲: ۲۳۶-۲۲۹.
- جعفری، س.، منوچهری کلانتری، خ. و احمدی موسوی، ع. (۱۳۸۶) اثر پاکلوبوترازول بر تجمع آنتی‌اکسیدان‌ها در نهال‌های گوجه‌فرنگی تحت تنش سرما (*Lycopersicon esculentum L.*). مجله زیست‌شناسی ایران ۲۰: ۲۱۷-۲۰۶.
- جم‌زاد، ز. (۱۳۹۱) فلور ایران- تیره نعنا، شماره ۷۶. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.
- جم‌زاده، ز. (۱۳۸۸) آویشن و مرزه‌های ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.
- سرتیپ، ح. و سیروس مهر، ع. (۱۳۹۶) اثر نانوذرات تیتانیوم و سطوح مختلف آبیاری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و پارامترهای رشدی خرفه. مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی ۲۸.
- صابر، س.، قسیم‌حق، ز. و مصطفوی، ش. (۱۳۹۲) تأثیر مکانیسم نانوآکسید تیتانیوم بر فرایندهای فیزیولوژی گیاه اسفناج. دومین همایش ملی و توسعه پایدار کشاورزی و محیط‌زیست سالم ۱۶-۱.
- طالعی، د.، شریفی، ر. و پیرصالحی، س. م. (۱۳۹۷) مطالعه واکنش‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه خرفه *Portulaca oleracea L.* به متیل جاسمونات تحت تنش شوری. به‌زراعی کشاورزی ۲۰: ۶۷۸-۶۶۷.
- قربانعلی، م.، احمدی، ف.، منفرد، ا. و بخشی خانیکی، غ. (۱۳۹۱) تنش شوری و برهمکنش آن با آسکوربات بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پرولین و مالون دی‌آلدئید در گیاه زیره سبز *Cuminum cyminum* چهار هفته بعد از جوانه‌زنی. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۸: ۲۷-۱۴.
- قناتی، ف.، بختیاریان، س. و عبدالملکی، پ. (۱۳۸۹) تأثیر متیل جاسمونات بر متابولیت‌های ثانویه گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis L.*). علوم و فناوری زیستی مدرس ۱.
- کرامت، ب. و دانشمند، ف. (۱۳۹۱) نقش دوگانه متیل جاسمونات بر عملکردهای فیزیولوژیک در گیاه سویا (*Glycin max L.*). فرایند و کارکرد گیاهی ۱.
- کریمیان فریمان، ز.، موسوی بزاز، آ. بنایان اول، م. (۱۳۹۱) مدل‌سازی سطح برگ گیاه دارویی بادرشبی *Dracocephalum moldavica L.* با استفاده از روش‌های تخریبی و غیرتخریبی. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۸: ۱۸۶-۱۷۶.
- محمدی ازنی، م.، مرادی، ح.، قاسمی، ک. و بی‌پروا، پ. (۱۳۹۹) تأثیر تیمار سیلیسیوم و متیل جاسمونات بر برخی صفات مورفولوژیکی و پارامترهای فتوسنتزی گیاه خرفه *Portulaca oleracea L.* نشریه علمی تغذیه گیاهان باغی. ۱: ۱۷۵-۱۸۶.
- وطن‌خواه، ا.، کلانتری، ب. و عندلیبی، ب. (۱۳۹۵) اثر متیل جاسمونات بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعنای لعلی تحت تنش شوری. فرایند و کارکرد گیاهی ۵: ۱۷۱-۱۵۷.
- Agayi, F. and Mohebalipour, N. (2014) Effect of different level of foliar spraying of salicylic acid, methyl jasmonate and medium on shoot growth characteristics of lemon balm to in vitro culture. First International and 13th Iranian of

- Crop Sciences Congress and 3rd Iranian Seed Science and Technology Conference, Seed and Plant Improvement Institute Karaj.
- Amirjani, M. R., Askari, M. and Askari, P. (2014) The effect nano oxide zinc on the amount of alkaloids, enzymatic and non-enzymatic antioxidants and some indicators of physiology *Catharantus roseu*. Cells and Tissues Journal 5: 173-183.
- Anagnostopoulou, M. A., Kefalas Papageorgiou, V. P., Assimopoulou, A. N. and Boskou, D. (2006) Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). Journal Food Chemistry 94: 19-25.
- Anjum, N. A., Umar, S. and Chan, M. T. (2010) Ascorbate-glutathione pathway and stress tolerance in plants. Springer Dordrecht Heidelberg 265-291.
- Arnnok, P., Ruangviriyachai, C., Mahachai, R., Techawongstien, S. and Chanthai, S. (2010) Optimization and determination of polyphenol oxidase and peroxidase activities in hot pepper (*Capsicum annuum* L.) pericarp. Food Research Journal 17: 385-392.
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59: 206-216.
- Bates, L. S., Waldern, R. P. and Tear, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.
- Caldwell, C. R. (2002) Effect of elevated copper on phenolic compounds of spinach leaf tissues. Journal of Plant Nutrition 25: 1225-1237.
- Carvajal, M., Martinez-Sanchez, F. and Alcaraz, C. F. (1994) Effect of TiO₂ on some physiological activity indicators of *Capsicum annuum* L. plants. Horticultural Science 69: 427-432.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidase. Methods in Enzymologist 11: 764-755.
- Chao, S. H. L. and Choi, H. S. (2005) Method for Providing Enhanced Photosynthesis. Korea Research Institute of Chemical Technology, Korea Bulletin.
- Choi, C. Y., Kim, Y. H., Kim, Y. O., Park, S. J., Kim, E. A., Riemenschneider, W., Gajewski, K., Schulz, R. A. and Kim, Y. (2005) Phosphorylation by the DHIPK2 protein kinase modulates the corepressor activity of groucho. Journal of Biological Chemistry 280: 21427-21436.
- Closas, L. M., Toro, F. J., Calvo, G. and Pelacho, A. M. (1999) Effect of methyl Jasmonate on the first developmental stages of globe artichoke. International Society for Horticultural Science. Acta Horticulturae 660 5th International Congress on Artichoke. Bari, Italy.
- Comparot, S. M., Graham, C. M. and Reid, D. M. (2002) Methyl jasmonate elicits a differential antioxidant response in light and dark grown canola (*Brassica napus*) roots and shoots. Journal Plant Growth Regulation 38: 21-30.
- El-Sayed, O. M., El-Gammal, O. H. M. and Salama, A. S. M. (2014) Effect of ascorbic acid, proline and jasmonic acid foliar spraying on fruit set and yield of Manzanillo olive trees under salt stress. Scientia Horticulturae 176: 32-37.
- El-Sayed, A. F. M. (1999) Alternative dietary protein sources for farmed tilapia *Oreochromis* sp. Aquaculture 179: 149-168.
- Farzaneh, M. and Tafazoli, A. S. (2014) Methyl jasmonic effect on carotenoid pigments and morphological characters of tomato under salt stress conditions. The First National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture 125-135.
- Farooq, S. and Azam, F. (2006) The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerance wheat varieties. Journal of Plant Physiology 163: 629-637.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1997) Superoxide dismutase I. occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.
- Gupta, A. K., Singh, J., Kaur, N. and Singh, R. (1993) Effect of polyethylene glycol induced water stress on uptake introversion and transport of sugars in chickpea seedling. Plant Physiology and Biochemistry 31: 743-747.
- Guo, Z., Ouw Lu, S. and Zhong, Q. (2006) Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiology and Biochemistry 44: 828-836.
- Hajhashemi, V., Zolfaghari, B. and Yousefi, A. (2012) Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Satureja hortensis* seed essential oil, hydroalcoholic and polyphenolic extracts in animal models. Medical Principles and Practice 21: 178-182.
- Hare, P. D., Cress, W. A. and Van Staden, J. (1998) Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant Cell Environment 21: 535-553.
- Hashemi, M., Aghdam, M. B., Mahdian, R. and Kamyab, A. R. (2012) A novel multiplex real-time pcr assay using taqman MGB probes for rapid detection of trisomy 21. World Academy of Science Engineering and Technology 68: 1019.
- Hassani, A. (2006) Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 22: 256-261.

- Heredia, J. B. and Cisneros-Zevallos, L. (2009) The effect of exogenous ethylene and methyl jasmonate on pal activity, phenolic profiles and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*) under different wounding intensities. *Postharvest Biology and Technology* 51: 242-249.
- Hong, F. S., Yang, P., Liu, C., Ma, Z. N. and Wu, C. (2005) Effect of nano-TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. *Biological Trace Element Research* 105: 269-280.
- Honty, K., Sardi, E., Stefanovits-Banyai, E. and Toth, M. (2008) Frost induced changes in enzyme activities and carbohydrate content in the spurs of some pear cultivars during the dormancy. *International Journal of Horticultural Science* 14: 41-44.
- Huang, J. W., Cunningham, S. D. and Chen, W. R. (1997) Phytoremediation of lead contaminated soils. *Environmental Science and Technology* 31: 800-805.
- Jung, S. (2004) Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 42: 231-255.
- Kar, M. and Mishra, D. (1979) Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase activities during Rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57: 315-319.
- Kaya, M. D., Okci, G., Atak, M., Cikili, Y. and Kolsarici, O. (2006) Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy* 24: 291-295.
- Khan, M., Zaheer Ahmed, A. M. and Hameed, A. (2006) Effect of sea salt and L- ascorbic acid on the seed germination of halophytes. *Journal of Arid Environments* 67: 535-540.
- Kim, H. J., Chen, F., Wang, X. and Rajapakse, N. C. (2006) Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53: 3696-3701.
- Koo, A. J. K. and Howe, G. A. (2009) The wound hormone jasmonate. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 70: 1571-1580.
- Kovacik, J., Backor, M., Strnad, M. and Repcak, M. (2009) Methyl jasmonate-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Reports* 28: 135-143.
- Kovacik, J., Klejdus, B. and Backor, M. (2009) Phenolic metabolism of *Matricaria chamomilla* plants exposed to nickel. *Journal Plant Physiology* 166: 1460-1464.
- Kuc, J. (2001) Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *European Journal of Plant Pathology* 107: 7-12.
- Kumari, G. J., Reddy, A. M., Naik, S. T., Kumar, S. G., Prasanthi, J., Sriranganayakulu, G., Reddy, P. C. and Sudhakar, C. (2006) Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings. *Biologia Plantarum* 50: 219-226.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A. and Billot, J. (1990) *Fruit Phenolics*. Boca Raton, CRC Press.
- Malecka, A., Piechalak, A., Mensinger, A., Hanc, D., Baralkiewicz, D. and Tomaszewska, B. (2012) antioxidative defense system in *Pisum sativum* roots exposed to heavy metals (Pb, Cu, Cd, Zn). *Polish Journal of Environmental Studies* 21: 1721.
- Maroofi, H. (2010) Two new plant species from Kurdistan province, west of Iran. *Iranian Journal of Botany* 16: 76-80.
- Matern, U. and Kneusal, R. E. (1998) Phenolic compounds in palnt disease resistance. *Phytoparasitica* 16: 153-170.
- Memelink, J. (2009) Regulation of gene expression by jasmonate hormones. *Phytochemistry* 70: 1560-1570.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Van-Beek, T. A. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry* 85: 231-237.
- Mingyu, S., Hong, F., Liu, C., Wu, X., Liu, X. and Chen, L. (2007) Effects of nano-anatase TiO₂ on absorption, distribution of light and photo reduction activities of chloroplast membrane of spinach. *Biological Trace Element Research* 118: 120-130.
- Missaoui, T., Smiri, M., Chmingui, H. and Hafiane, A. (2017) Effects of nanosized titanium dioxide on the photosynthetic metabolism of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Comptes Rendus Biologies Physiology* 340: 499-511.
- Moaveni, P., Aliabadi Farahani, H. and Maroufi, K. (2011) Effect of TiO₂ nanoparticles spraying on wheat (*Triticum aestivum* L.) under field condition. *Advances in Environmental Biology* 5: 2208-2210.
- Moaveni, P., Valadabadi, S. A., Aliabadi Farahani, H. and Maroufi, K. (2011c) Nanoparticles TiO₂ spraying affected on calendula (*Calendula officinalis*) under field condition. *Advances in Environmental Biology* 5: 2242-2244.
- Momtaz, S. and Abdollahi, M. (2010) An update on pharmacology of satureja species: From antioxidant, antimicrobial, anti diabetes and anti-hyperlipidemic to reproductive stimulation. *International Journal of Pharmacology* 6: 454-61.
- Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y. and Sakthi Kumar, D. (2010) Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science* 179: 154-163.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J. and Shahabimajid, N. (2006) Antioxidant activity phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 5: 1142-1145.
- Passardi, F., Theiler, G., Zamocky, M., Cosio, C., Rouhier, N., Teixeira, F., Margis-Pinheiro, M., Ioannidis, V., Penel, C., Falquet, L. and Dunand, C. (2007) Peroxi base: The peroxidase database. *Phytochemistry* 68: 1605-1611.

- Pourcel, L., Routaboul, J. M., Cheynier, V., Lepiniec, L. and Debeaujon, I. (2006) Flavonoid oxidation in plants: From biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science* 12: 132.
- Okuda, T., Matsuda, Y., Yamanaka, A. and Sagisaka, S. (1991) Abrupt increase in the level of hydrogen- peroxide in leaves of winter wheat is caused by cold treatment. *Plant Physiology* 97: 1265-1267.
- Omidbaigi, R. (2009) Production and Processing of Medicinal Plants. 2nd Ed. Astan Quds Razavi.
- Reyes, L. and Cisneros-Zevallos, F. (2003) Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of purpleflesh potatoes. *Journal of Agronomy and Crop Science* 51: 5296-5300.
- Oloumi, H., Soltaninejad, R. and Baghizadeh, A. (2015) The comparative effects of nano and bulk size particles of CuO and ZnO on glycyrrhizin and phenolic compounds contents in *Glycyrrhiza glabra* seedlings. *Journal of Plant Physiology* 20: 157-161.
- Rahman, A., Seth, D., Mukhopadhyaya, S. K., Brahmachary, R. L., Ulrichs, C. and Rao, P. B. (2009) Nanoparticle-virus complex shows enhanced immunological effect against baculovirus. *Journal of Nanoscience Nanotechnol* 9: 5567-5571.
- Rohwer, C. L. and Erwin, J. E. (2008) Horticultural applications of jasmonates. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 83: 283-304.
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. (2001) Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. *Journal of Agronomy and Crop Science* 186: 63-70.
- Scrinis, G. and Lyons, K. (2007) The emerging nano-corporate paradigm: Nanotechnology and the transformation of nature, food and Agri-food systems. *International Journal of Agriculture and Food* 15: 22-44.
- Sharafati-Chaleshtori, R., Sharafati-Chaleshtori, F. and Rafieian-Kopaei, M. (2011) Biological characterization of Iranian walnut (*Juglans regia*) leaves. *Turkish Journal of Biology* 35: 635-639.
- Sheraphti chaleshtari, F., Sheraphti chaleshtari, R. and Momeni, M. (2008) The antimicrobial effects of aqueous extract and ethanol plant *Scrophularia striata* on *E. coli* in laboratory. *University of Medical Sciences Shaher Kord* 10: 32-37.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. (1992) Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 945-948.
- Silva, M. A., Jifon, J. L., Silva, J. A. G. and Sharma, V. (2007) Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Journal of Plant Physiology* 19: 193-201.
- Sumaya-Martinez, M. T., Cruz-Jaime, S., Madrigal-Santillan, E., Garcia-Paredes, J. D., Carino-Cortes, R. and Cruz-Cansino, N. (2011) Betalain acid ascorbic phenolic contents and antioxidant properties of purple red yellow and white cactus pears. *International Journal of Molecular Sciences* 12: 6452-68.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (2002) *Plant Physiology*. 3rd Ed.
- Vahidyan, H., Sahari, M. A., Barzegar, M. and Naghdi Badi, H. (2012) Application of zataria *Multiflora boiss* and *Satureja hortensis* L. essential oils as two natural antioxidants in *Mayonnaise formulated* with linseed oil. *Journal of Medicinal Plants* 11: 69-79.
- Verma, S. and Dubey, R. S. (2003) Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia Plantarum* 44: 117-123.
- Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y., Deng, X. P. and Kwak, S. (2009) Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 570-577.
- Wasternack, C. (2007) Jasmonates: An update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany* 100: 681-97.
- Yadeghari, L. Z., Heidari, R. and Carapetian, J. (2008) Cold pretreatment-induced changes in antioxidant enzyme activities and relative water content and soluble sugars in shoots and roots of soybean seedlings. *Journal of Biological Sciences* 3: 68-73.
- Yang, F., Hong, F. S. and You, W. J. (2006) Influences of nano-anatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research* 110: 179-190.
- Yong, Z. T., Hao, R. U. and Ya, L. (2008) Variation in antioxidant enzyme activities of two strawberry cultivars with short-term low temperature stress. *World Journal of Agriculture and Soil Science* 4: 458-462.
- Yu, X., Du, X. and Song, L. (2007) Effects of water stress on the growth and ecophysiology of seedlings of the *Rhus typhina*. *Science Silvage Sinicae* 43: 57-61.
- Zarafshar, M., Akbarinia, M., Askari, F., Hosseini, M. and Rahaie, M. (2015) The effect of the application of titanium dioxide nanoparticles under drought stress in *Pyrus biosseriana* buhse. *Journal of Plant Ecosystem Conservation* 3: 94-81.
- Zarghami-Moghaddam, M., Shoor, M., Ganjeali, A., Moshtaghi, N. and Tehranifar, A. (2014) Effect of methyl jasmonate on morphological and ornamental characteristics of *Petunia hybrida* at drought stress. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences* 4: 523-532.

- Zayneb, C., Bassem, K., Zeineb, K., Grubb, C., Nouredine, D. D., Hafedh, M. and Amine, E. (2015) Physiological responses of fenugreek seedlings and plants treated with cadmium. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 10679-10689.
- Zhang, L., Hong, F., Lu, S. and Liu, C. (2005) Effects of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. *Biological Trace Element Reserch* 105: 83-89.

Examination of the effect of application time of titanium and methyl jasmonate nanoparticles on physiological, growth, and biochemical characteristics of Savory *Daenesis (Satureja hortensis L)*

Behnaz Kazemi¹, Monireh Ranjbar^{1*}, Zahra Rezayatmand¹, Ali Mohammad Ahadi²

¹ Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

² Department of Genetics, faculty of Science, Shahrekord. University, Shahrekord, Iran

(Received: 21/06/2021, Accepted: 09/11/2021)

Abstract

An experiment was performed to examine the effect of methyl jasmonate foliar spray with concentrations (10, 1, 0.1 mM and 0) and titanium nanoparticles with concentrations (40, 30, 20 μ M and 0) on the physiological indices of Savory. The field experiment was carried out in Isfahan in the summer of 2019. This experiment was conducted in a factorial manner based on completely randomized design and 3 replications with 2 factors and 4 levels in two harvest times of 24 and 48 hours after the last treatment. According to the results of this research, compared to the control treatment, methyl jasmonate treatments resulted in a significant increase of 1 percent in leaf area, leaf fresh weight, leaf dry weight and length of aerial part in 48 hours after the last treatment. Titanium nanoparticle treatments resulted in a significant increase at the level of 1 percent in leaf width, leaf area, leaf dry weight, leaf fresh weight and length of the aerial part of the plant. Similarly, the flavonoid content increased significantly at a concentration of 30 μ M at the level of 1 percent. In combined treatments that were conducted at 48 hours after the last treatment, there was a significant increase in leaf dry weight, leaf area, leaf fresh weight and length of aerial part at the level of 1 percent and a significant increase at the 5 percent level in flavonoid content and activity of dismutase enzyme. It was concluded from the current research that 48 hours after the last treatment is the best time for harvesting. The use of both concentrations of 1 or 0.1 mM methyl jasmonate with 40 μ M nanoparticles and 10 mM methyl jasmonate with 30 μ M nanoparticles affects the plant positively and can increase the growth and biochemical factors of Savory.

Keywords: Antioxidant Enzymes, Proline, Leaf Area, Flavonoid, Nanoparticles, Wet and Dry Weight

Corresponding author, Email: ranjbar@iaufala.ac.ir