Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 22:04 IRST on Saturday October 31st 2020

تأثیر نانو ذرات بر تغییرات برخی صفات فیزیولوژیک، رنگیزه‌های فتوسنتزی و ماده مؤثره پارتنولید گیاه بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium* L.) تحت تنش کم‌آبی

نفیسه مهدی‌نژاد*، حدیث موسوی، براتعلی فاخری و فروزان حیدری

[1]گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۰۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۳/۳۰)

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر اسپری نانو کلات آهن، نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی و نانو ذرات نقره سنتز سبز در شرایط تنش کم آبی بر روی گیاه بابونه کبیر انجام شد. آزمایش در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل اجرا شد. تیمارها شامل تنش کم آبی در دو سطح (عدم تنش و تنش ملایم یعنی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و نانو ذرات در سه سطح نانو کلات آهن، نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی و سنتز سبز با غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام و یک سطح عدم نانو یا شاهد (آب مقطر) بود. در این آزمایش صفات پرولین، فلاونوئید، کربوهیدرات‌های محلول در ساقه، کلروفیل *a*، کلروفیل*b*، کلروفیل کل، کارتنوئید و میزان ماده مؤثره پارتنولید به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا اندازه‌گیری شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تنش کم آبی بر تمام خصوصیات مورد مطالعه در سطح یک درصد معنی‌دار است. همچنین تغذیه برگی نانو ذرات بر میزان صفات مورد بررسی تأثیر معنی‌دار و مثبت داشت. اثر برهم‌کنش تنش کم آبی و نانو ذرات بر روی صفات مورد بررسی از لحاظ آماری معنی‌دار شد. محلول‌پاشی نانو نقره سنتز سبز در شرایط تنش کم آبی برصفات رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان قندهای محلول، پرولین، فلاونوییدها و پارتنولید متغیر بوده است اما باعث افزایش بیشترین عملکرد اقتصادی گیاه بابونه کبیر (مقدار پارتنولید) شده است.

واژه‌های کلیدی: پرولین، کلروفیل، تغذیه برگی، فلاونوئید، کربوهیدرات

مقدمه

تنش خشکی یکی از راهکارهای بهینه‌سازی مصرف آب است که طی آن به گیاه اجازه داده می‌شود مقداری تنش کم آبی را در طول فصل رشد تحمل نماید. هدف اصلی در کم آبیاری، افزایش کارایی مصرف آب از طریق کاهش نیاز آبی و حذف آن بخش از آب آبیاری است که تأثیر معنی‌داری در افزایش عملکرد ندارد (Howell *et al*, 2004).

بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium* L.) از خانواده کاسنی (Asteraceae)، گیاه دارویی و چندساله که منشأ اصلی آن در آسیای صغیر بوده است ولی امروزه در منطقه وسیعی از اروپا و آسیا پراکندگی دارد (Bernath, 2000). این گیاه در درمان سردرد، میگرن، صدای زنگ در گوش، سرگیجه، آرتروز، تب و مسکن، کاهش درد شکم، دندان درد و گزش حشرات مؤثر می‌باشد. اعتقاد بر این است که ترکیبات فعال این گیاه سزکوی ترپن لاکتون‌ها هستند و بالاترین غلظت مربوط به پارتنولید می باشد (Susrurluk *et al* ., 2007, Tiuman *et al*., 2005).

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: mo_ nmahdinezhad@uoz.ac.ir

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 22:04 IRST on Saturday October 31st 2020

درک پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی برای تولید و اصلاح گیاهان متحمل به تنش کاملاً ضروری است (سودایی زاده و منصوری، ۱۳۹۳). صفات فیزیولوژیک اهمیت حیاتی در بقا و سازگاری گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی دارند و از این رو توجه به این شاخص‌ها بسیار با اهمیت می‌باشد. از مکانیسم‌های سازگاری گیاهان با محدودیت آب، تنظیم اسمزی یا افزایش مواد قابل انحلال برای کاهش پتانسیل اسمزی بدون اختلال در متابولیسم گیاه است. این مواد شامل تجمع قندها، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، پرولین و گلایسین-بتائین است (Greenway and Munns, 1980). که به عنوان حفاظت و پایدار کننده‌های غشاء و ساختارهای آنزیمی و از بین برندگی رادیکال‌های آزاد در محیط تنش عمل می‌کنند (Bates *et al* ,1973.) تنش آبی با ایجاد اختلال در عمل روزنه‌ها و سیستم فتوسنتزی (Soha *et al*., 2010)، تخریب پروتئین‌ها و آنزیم‌ها (حیدری و مینایی، ۱۳۹۳)، کاهش سطح برگ نعناع فلفلی (فروزنده و همکاران، ۱۳۹۰)، ریزش گل و میوه کدوی پوست کاغذی (صفوی، ۱۳۹۲)، کاهش وزن خشک گیاه دارویی مریم گلی لوله‌ای (سودایی و منصوری، ۱۳۹۳)، کاهش طول ریشه در گیاه نعناع فلفلی (فروزنده و همکاران، ۱۳۹۰) موجب کاهش عملکرد گیاهان دارویی گاوزبان و سیاه دانه (حیدری و مینایی، ۱۳۹۳ و قربانلی ۱۳۸۹) می‌شود. در همین راستا محققان دریافتند وزن تر و خشک نعناع فلفلی (فروزنده و همکاران، ۱۳۹۰) و مریم گلی لوله‌ای (سودایی زاده و منصوری، ۱۳۹۳) با افزایش تنش آبی به طور معنی‌داری کاهش یافته است. همچنین مشاهده شده است که گیاهان برای کاهش دادن اثر مخرب گونه‌های اکسیژن فعال که در اثر تنش حاصل می‌شوند از مکانیسم سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند (Agarwal and Pandey, 2004).

از دیگر اثرات عمده تنش کمبود آب، کاهش میزان فتوسنتز (Agati *et al*., 2007) و کلروفیل *b* و *a* می‌باشد (Omidi,2009). حفظ غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش به ثبات فتوسنتز در این شرایط کمک می‌کند. کارتنوئیدها ترکیبات تتراترپنی می‌باشند که وظیفه حفظ کلروفیل از اکسیداسیون نوری، جذب نور و انتقال انرژی به کلروفیل *a* را بر عهده دارند (Devlin and Withman, 2002). همچنین به عنوان حامی رنگیزه‌های غیر فتوسنتزی شناخته شده‌اند که می‌توانند انرژی اضافی طول موج‌های کوتاه را بگیرند و اکسیژن یک‌تایی را به اکسیژن سه تایی تبدیل کرده و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی اکسیدانی از خود بروز دهند (Inze and Montagu, 2000). گزارش‌هایی در رابطه با واکنش متفاوت کلروفیل به خشکی ارائه شده است (Munns and Weir, 1981; Irigoyen *et al* ., 1992) به نظرمی‌رسد که کاهش غلظت کلروفیل به دلیل اثر کلروفیلاز، پراکسیداز وترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد. از طرفی دیگر فلاونوئیدها مهم‌ترین گروه منفرد فنول‌ها در گیاهان می‌باشند که می‌تواند در تعدیل اثرات مخرب تنش نقش مؤثری داشته باشند.در بسیاری از گیاهان دارویی فعالیت بیولوژیک متنوع این ترکیب‌ها ازجمله اثرات آنتی اکسیدان، ضد میکروبی و ضدالتهاب آنها در بسیاری از بررسی‌ها گزارش شده است (Kay and Holub., 2002).

امروزه استفاده از فناوری نانو در کشاورزی در حال گسترش می‌باشد. نانو ذرات موادی با قطر ۱ تا ۱۰۰ نانومتر و بسیار واکنش‌پذیر هستند که مصرف آنها موجب می‌شود کودها و عناصر غذایی را به‌تدریج و کنترل‌شده در خاک آزاد کنند (نادری و دانش شهرکی،۱۳۹۰). محققین معتقدند که ترکیبات نانو آهن به علت کوچک بودن و حلالیت بالا سریع‌تر توسط گیاهان جذب می‌شوند و بنابراین با کاربرد این مواد شرایط بهینه برای رشد گیاه ایجاد می‌شود و از ایجاد هرگونه شرایط تنشی در گیاه جلوگیری می‌شود (Mohamadipoor *et al*., 2013) نانو ذرات نقره نیز یکی از عواملی است که روی بسیاری از فرایند های مورفولوژی و فیزیولوژی گیاهان اثر می‌گذارد. این ذره نانویی به‌خاطر اندازه کوچک آن، به سرعت به درون سلول نفوذ کرده و منجر به افزایش میزان پروتئین و تحریک بیان ژن در سلول‌های گیاهی می‌شود (Yang *et al*., 2006). گزارش های متعددی نشان می‌دهند که ذرات نانو نقره ممکن است اثرات منفی یا مثبتی بر رشد گیاهان عالی داشته باشند. بحث در

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 22:04 IRST on Saturday October 31st 2020

مورد تأثیر بیولوژیکی ذرات نانو نیازمند جمع آوری یافته‌های علمی قابل قبول بیشتری است به همین دلیل پژوهش حاضر برای بررسی اثر نانو آهن و نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی و سبز بر روی صفات فیزیولوژیک و تجمع پارتنولید گیاه دارویی بابونه کبیر تحت شرایط کم آبی طراحی گردیده است .

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر نانو کلات آهن، نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی و سنتز سبز بر صفات میزان پرولین، فلاونوئید، کربوهیدرات‌های محلول در ساقه، کلروفیل *a*، کلروفیل*b*، کلروفیل کل، کارتنوئید و ماده دارویی پارتنولید در گیاه دارویی بابونه کبیر تحت تنش کم آبی در سال ۱۳۹۳ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل، آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با سه تکرار اجراء گردید. فاکتور اول شامل تنش کم آبی در دو سطح (عدم تنش و تنش ملایم یعنی پنجاه درصد ظرفیت زراعی) و فاکتور دوم نانو ذرات در چهار سطح (عدم نانو، نانو کلات آهن، نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی و سنتز سبز با غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام) بود. در این تحقیق از نانو ذرات نقره سنتز سبز در ابعاد ۱۳ نانومتر، نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی در ابعاد ۲۰ نانومتر و نانو کلات آهن (تهیه شده از شرکت خضراء) در ابعاد ۱۰۰ نانومتر استفاده شد. بعد از تهیه غلظت مذکور از این نانوذرات، برای دقت کار در موقع اسپری گیاهان اطراف با پوشش پلاستیکی پوشانده شدند. برای سطح شاهد یعنی عدم استفاده از نانو محلول‌پاشی با آب مقطر صورت گرفت. نشاء بابونه کبیر از شرکت زرین ارومیه تهیه شد و سپس گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی با بستر کشت، شامل ۱۰٪ ماسه، ۳۵٪ کوکوپیت، ۳۵٪ درصد پرلیت و ۱۰٪ خاک مزرعه، منتقل شدند. اعمال تنش کم آبی و اسپری نانو ذرات سه مرتبه قبل از گلدهی صورت گرفت و در بار آخر ۲٤ ساعت پس از اعمال تنش، نمونه برداری انجام شد گلدان‌ها در شرایط یکسان حداقل دما ۹/۱ و حداکثر دما ۳۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت و آبیاری به صورتی که خاک گلدان‌ها مرطوب باشد صورت گرفت. آبیاری گلدان‌ها به منظور رساندن میزان رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه هر دو روز یکبار به صورت وزنی انجام گرفت.

محلول‌پاشی کود نانو کلات آهن و نانو ذرات نقره در سه مرحله (٤ برگی، ۸ برگی و مرحله گلدهی) با غلظت مورد نظر انجام و هر سه مرحله محلول‌پاشی بعد از تنش در هنگام غروب آفتاب انجام شد تا جذب محلول بهتر صورت بگیرد و تبخیر محلول به حداقل برسد. همچنین محلول‌پاشی تا زمانی که کل گیاهان با محلول آغشته شود، ادامه داشت. اعمال تنش کم آبی زمانی که گیاه به مرحله چهار برگی رسید شروع شد. اندازه‌گیری تیمار تنش خشکی با دستگاه تی دی آر (Time Domain Reflectometry) صورت گرفت.

فلاونوئید کل: تعیین غلظت فلاونوئید با استفاده از روش Krizek و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد. در ابتدا ۰/۱ گرم بافت تازه از گیاهان شاهد و تیمار شده با نانو ذرات و تنش کم آبی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (الکل و اسید استیک گلاسیال به نسبت ۱:۹) سائیده شده و پس از سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، عصاره درون حمام آب گرم ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. این عمل برای هریک از تیمارها سه بار تکرار گردید و سپس شدت جذب در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Spectrophotometer UV-2100 ساخت کشور آمریکا، قرائت شد. نتایج براساس درصد جذب گزارش شد.

کربوهیدرات: برای تعیین غلظت کربوهیدرات از روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. به ۰/۲ گرم بافت تازه از گیاهان شاهد و تیمار شده با نانو ذرات و تنش کم آبی مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه کرده و یک ساعت دورن حمام آب گرم با دمای ۱۰۰–۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس عصاره از کاغذ صافی عبور داده شده و مقدار ۱ میلی‌لیتر فنول و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ به آن اضافه گردید. این عمل برای هریک از تیمارها سه بار تکرار گردید و شدت جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۸۳ قرائت شد. میزان کربوهیدرات استخراجی بر اساس میکروگرم

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 22:04 IRST on Saturday October 31st 2020

گلوکز بر گرم وزن تر نمونه و بر اساس منحنی استاندارد گلوکز به دست آمد.

پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین ابتدا محلول ناین هیدرین به ۲میلی لیتر اسید استیک گلایسیال افزوده شد. سپس محلول را حرارت داده تا ناین هیدرین در اسید حل گردد. پس از آن ۲ میلی لیتر اسید فسفریک با غلظت ٦ مولار به محلول اضافه شد و محلول بدست آمده به مدت ٢٤ ساعت در یخچال با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به منظور تثبیت معرف قرار داده شد. ۰/۰۵ گرم از بافت برگ گیاهان شاهد و تیمار شده با نانو ذرات و تنش کم آبی را در ۵ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ ساییده و محلول با کاغذ صافی صاف شد. ۲میلی لیتر عصاره صاف شده با ۲ میلی لیتر محلول اسید ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن لوله‌ها به حمام یخ منتقل شدند. به لوله‌ها ٦ میلی لیتر تولوئن اضافه شد و لوله‌ها به‌خوبی تکان داده شدند و بعد از حدود ۲۰ ثانیه دو فاز مجزا تشکیل شد. از فاز بالایی که حاوی تولوئن و پرولین است برای اندازه‌گیری میزان پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومترو با شاهد تولوئن استفاده شد. این عمل برای هریک از تیمارها سه بار تکرار گردید و با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. میزان پرولین استخراجی بر اساس میکرومول در گرم در وزن تر بدست آمد (Bates *et al*., 1973).

کلروفیل و کارتنوئید: برای این منظور مقدار ۰/۱ گرم از بافت تر گیاهان شاهد و تیمار شده با نانو ذرات و تنش کم آبی را در هاون چینی ریخته، سپس با استفاده از نیتروژن مایع آن را خرد و به خوبی له نمایید. ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه اضافه، مخلوط به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و در نهایت، قسمت بالایی عصاره برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل *a* و کلروفیل *b* و کارتنوئید جدا شد. سپس جذب محلول‌های بدست آمده با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Unico UV- 2100 ساخت آمریکا) در طول موج‌های ٦٦٣ نانومتر برای کلروفیل *a*، ٦٤٥ نانومتر برای کلروفیل *b* و٤٨۰ نانومتر برای کارتنوئید قرائت شد. این عمل برای هریک از تیمارها سه بار تکرار گردید و سپس میزان کلروفیل بر اساس روش Arnon (۱۹٦۵) و برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر و میزان کارتنوئید به روش Lichtenthale (۱۹۸۷) بر حسب میکرو گرم بر وزن تر محاسبه گردید.

پارتنولید: ابتدا مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از پودر خشک برگ گیاهی در ۱۰۰ میلی‌لیتر استونیتریل فوق خالص و به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه در شیکر قرار داده شد. سپس در ۲۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و محلول از فیلتر ۰/٤ میکرون عبور داده شد. سپس حجم محلول با استفاده از مبرد تحت خلع و ٤۰ درجه سانتی‌گراد حرارت به۱۰ میلی‌لیتر کاهش یافت و از آن برای ارزیابی توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع استفاده شد. بدین منظور ۱۰ میکرولیتر عصاره استخراجی به ستون دستگاه از نوع phenomenex luna-C18 به طول ۲۵ میلی‌متر و قطر ٤/٦ میلی‌متر با ذرات دارای قطر ۵ میکرومتر تزریق شد. فاز متحرک مخلوط استونیتریل (۵۵ درصد) و آب دیونیزه (٤۵٪) بود که با سرعت ۱/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه از ستون عبور نمود و دستگاه در طول موج ۲۱۰ نانومتر تنظیم شده بود. ماده‌ی پارتنولید بر اساس پیک استاندارد و مقایسه سطح زیر منحنی نمونه با نمونه استاندارد تعیین هویت و مقدار گردید. محلول استاندارد این ماده به غلظت ۱۰ میکروگرم در ۱۰ میلی‌لیتر متانول حل شده بود (Fonseca *et al*., 2005).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها به کمک نرم‌افزار آماری SAS نسخه 9/2 (SAS Institute, 2014) مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند و پس از تجزیه آماری به علت معنی‌دار بودن اثر متقابل فاکتورها از روش برش‌دهی برای مقایسه سطوح B (استفاده از نانو و عدم استفاده از نانو) در هر سطح A (تنش و عدم تنش) استفاده شد. سپس با استفاده از آزمون LSD ترکیبات تیماری مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر نانو ذرات بر فاکتورهای پرولین، فلاونوئید، کربوهیدرات، کلروفیل *a*،

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 22:04 IRST on Saturday October 31st 2020

جدول ۱-تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		کربوهیدرات	کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	کارتنوئید	فلاونوئید	پرولین	پارتنولید
تنش خشکی	۱	۰/۰۱۹۳**	۰/۲۱۲٤٤**	۰/۰۲۸۹۱**	۰/٦٦۸٦**	۰/۹۱۵۷۲**	۵۲/۳۳۸۹۷**	۰/۰۳۳۰۰**
نوع نانو	۳	۰/۱۳۲۲**	۰/۷۰۲٤۲**	۰/۱۵۳۸۳**	۰/۵۱۱۵**	۰/٦۲۷٤۹**	۳۰/۱۱۲۸۹**	۰/۱٦۱۳۵**
تنش خشکی×نوع نانو	۳	۰/۰۰۳٦**	۰/۰۹۹۷۱**	۰/۰۱۷۷۵**	۰/۰۷۹۷**	۰/۱۳۳۹۷**	۰/٤۸٦۷۷**	۰/۰۰۰۲۹**
خطای آزمایشی	۱٦	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰٤	۰/۰۰۱۲۸	۰/۰۰۱٦۱	۰/۰۰۰۰٤

**** بیانگر تفاوت معنی دار در سطح یک درصد**

جدول ۲- مقایسه میانگین جداگانه سطوح فاکتور A (تنش) در هر سطح فاکتور B (کود نانو)

تنش (A)	نانو (B)	میانگین						
		کربوهیدرات (میکرو گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل *a* (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل *b* (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کارتنوئید (میکرو گرم بر گرم وزن تر)	فلاونوئید (درصد جذب)	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	پارتنولید (میکرو گرم در میلی لیتر)
عدم تنش	عدم نانو	۱/۳۱۵^{d}	۲/۱۲۹^{d}	۱/۰۰۵^{d}	۱/۹۰٦^{d}	۱/۹۲۱^{d}	۱/۸۹۷^{d}	۰/۰۷۳^{d}
	نانو نقره شیمیایی	۱/٤٤۲^{b}	۲/٤٤۹^{b}	۱/۱۲۳^{b}	۲/۳۵٦^{b}	۲/٤۱٦^{b}	٤/۱۱۹^{b}	۰/۲٦٦^{b}
	نانو نقره سبز	۱/٦۱٤^{a}	۲/٦۹۷^{a}	۱/۲٦۹^{a}	۲/۳٦۹^{a}	۲/٦۸۹^{a}	۷/٤۹۲^{a}	۰/٤۸۳^{a}
	نانو آهن	۱/٤۱۳^{c}	۲/۲۹۳^{c}	۱/۰۷۱^{c}	۲/۲۹۵^{c}	۲/۰۷۵^{c}	۳/٤۷۱^{c}	۰/۲۵٦^{c}
تنش خشکی	عدم نانو	۱/۳۲۹^{d}	۱/٦۱۵ ^{d}	۰/۸۳٤^{d}	۱/٤۵٦^{d}	۲/٦۷۳^{d}	٤/۷۳۲^{d}	۰/۱٦٦^{d}
	نانو نقره شیمیایی	۱/۵۰۹^{b}	۲/۵۵۸^{b}	۱/۱٤۸^{b}	۲/۱۵۰^{b}	۲/٤۷۱^{b}	۷/٦۹۱^{b}	۰/۳۲٦^{b}
	نانو نقره سبز	۱/۷۳۷^{a}	۲/۵۷۳^{a}	۱/۲۹۳^{a}	۲/۲۸٤^{a}	۲/۱۷۸^{a}	۹/۸۵۱^{a}	۰/۵۵٦^{a}
	نانو آهن	۱/٤۳٦^{c}	۲/۰٦۹^{c}	۰/۹۱۵^{c}	۱/۷۰۱^{c}	۲/۳٤۲^{b}	٦/٦۲۱^{c}	۰/۳۲٦^{c}

در هر ستون حروف مشترک بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد آزمون LSD می باشند.

کلروفیل*b*، کلروفیل کل، کارتنوئید و پارتنولید در سطح یک درصد معنی‌دار شده است (جدول ۱). نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که استفاده از نانو ذرات نقره سنتز سبز بیشترین تأثیر را و کمترین تأثیر را شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر) بر کلیه صفات داشته است (جدول ۲). نانوذرات نقره با استفاده از اصول شیمی سبز جایگاه ویژه‌ای در پژوهش‌ها پیدا کرده است. بدین منظور برای اولین بار نانو نقره سبز سنتز شده با استفاده از بستر گیاهی رزماری که یک روش نو ظهور و طبق اصول شیمی سبز است، در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. افزایش میزان کلروفیل و کاروتنوئید تحت تیمار نانو نقره بر نقش حفاظتی نانو نقره به عنوان بازدارنده تولید اتیلن دلالت می‌کند. همچنین این نانو ذره در گیاهان از طریق افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز و گلوتامات دهیدروژناز بر متابولیسم نیتروژن اثر گذاشته و باعث افزایش رشد و میزان فتوسنتز می‌شود. میزان کارتنوئید در گیاهان مختلف با بالا رفتن غلظت فلز می‌تواند افزایش یا کاهش نشان دهد.

در مطالعه‌ای اثر نانو بر ویژگی‌های رشد و تولید متابولیت های ثانویه گیاه *Phausalus vulgaries* انجام شده

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 22:04 IRST on Saturday October 31st 2020

جدول ۳- برش‌دهی اثر متقابل مجموع مربعات سطوح فاکتور B (کود نانو) در هر سطح فاکتور A (تنش)

سطح B	درجه‌آزادی	مجموع مربعات						
		کربوهیدرات (میکرو گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل *a* (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل *b* (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کارتنوئید (میکرو گرم بر گرم وزن تر)	فلاونوئید (درصد جذب)	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	پارتنولید (میکرو گرم در میلی لیتر)
عدم نانو	۱	۰/۰۰۰۳**	۰/۳۹۵۷**	۰/۰٤۳۸**	۰/۳۰٤٦**	۰/۸٤۷۵**	۱۲/۰۵۳۰**	۰/۰۱۳۰**
نانو نقره شیمیایی	۱	۰/۰۰٦٦**	۰/۰۱۷۷**	۰/۰۰۰۹**	۰/۰٦۳٦**	۰/۰۰٤۵**	۱۹/۱٤۵۹**	۰/۰۰۵٤**
نانو نقره سبز	۱	۰/۰۲۲٦**	۰/۰۲۳۰**	۰/۰۰۰۸**	۰/۰۱۰۸**	۰/۳۵۸٦**	۸/۳۵۲۰**	۰/۰۰۸۰**
نانو آهن	۱	۰/۰۰۰۷**	۰/۰۷۵۰**	۰/۰۳٦۵**	۰/۵۲۸٦**	۰/۱۰٦۹**	۱٤/۸۷۷٤**	۰/۰۰۷۳**

**** بیانگر تفاوت معنی دار در سطح یک درصد**

مشاهده شد که تیمار نانو نقره سبب افزایش رشد گیاه و افزایش برخی متابولیت‌های ثانویه مثل فلاونوئیدها و در نهایت افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی در غلظت‌های پایین نانو نقره می‌شود و این شاید به خاطر تأثیر نانو ذرات نقره بر آنزیم‌های تولید کننده این ترکیبات می‌باشد. نانو ذرات نقره توانایی تغییر در رشد گیاه و تغییر تولید متابولیت‌های ثانویه را دارند (Najafi *et al*., 2013). نانو ذرات نقره مشخصات رشدی گیاه (طول ساقه و ریشه و سطح برگ) و ویژگی‌های بیوشیمیایی (محتویات کلروفیل، کربوهیدرات و پروتئین، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی) در کلزا، لوبیا و ذرت افزایش یافته است (Salama, 2012; Sharma *et al*., 2012). تعدادی از محققین نشان دادند که مصرف یک کیلوگرم در هکتار کلات آهن به شکل نانو در مقایسه با شکل معمول آن به نسبت بیشتری وزن خشک اندام هوایی، ریشه و برگ و طول ریشه گیاه ریحان را می‌تواند افزایش دهد (Mazaherinia *et al*., 2010, Peyvandi *et al* 2011.,) در تحقیق حاضر نیز نانو ذرات نقره بالاخص نانو ذره نقره سنتز سبز باعث افزایش رشد گیاه و افزایش میزان ماده مؤثره پارتنولید شد.

به‌طور کلی استنباط شد تنش بر روی گیاه بابونه کبیر قادر است فرایند تولید مشخصه‌های مختلفی نظیر، رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان قندهای محلول، پرولین، فلاونوییدها و پارتنولید متغیر است اثر ساده تنش کم آبی در فاکتورهای پرولین، کربوهیدرات و فلاونوئید و پارتنولید در سطح یک درصد بسیار معنی‌دار شد و بیشترین میزان این صفات در شرایط تنش نسبت به شرایط نرمال بوده است. اثرتنش کم آبی بر روی صفات کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کارتنوئید نیز معنی‌دار شد اما بیشترین میزان این صفات در حالت عدم تنش کم آبی مشاهده شد (جدول ۱). گیاه به منظور سازگاری و تحمل بیشتر در مقابل تنش حاصل از کم آبی، میزان پرولین و قندهای محلول خود را افزایش می‌دهد و این افزایش، عامل مهمی جهت سازش گیاه به شرایط تنش و حفاظت کننده اسمزی است. همچنین کاهش میزان کلروفیل در برگ‌ها، کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی و رشد را به دنبال دارد. همچنین بیشترین میزان پارتنولید بعد از کاهش رژیم آبیاری مشاهده شد. زمانی که به گیاه تنش وارد می‌شود با کاهش رشد گیاه خیلی از کربن‌ها برای ایجاد متابولیسم ثانویه قابل دسترس می‌شوند و در نتیجه باعث القای تولید مواد فیتوشیمیایی می‌شود. گیاهان تحت تنش آبی افزایش ABA را نشان می‌دهند که باعث تغییر در ترکیبات ترپنی و سزکویی ترپنی می‌شود.

افزایش کاروتنوئیدها و آنتوسانین‌ها تحت تنش به واسطه نقش حفاظتی این رنگیزه‌هاست که باعث محافظت کلروفیل در برابر اکسیداسیون نوری می‌شود (Inze and Montagu, 2000). اسماعیلی و همکاران (۱۳۹۱) نتیجه گرفتند که با افزایش تنش خشکی محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی، وزن هزاردانه و مقدار پرولین افزایش و محتوای نسبی آب برگ، عملکرد دانه کاهش یافت. کاهش محتوای کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئیدها با افزایش

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 22:04 IRST on Saturday October 31st 2020

تنش خشکی در نیشکر گزارش شده است (Silva *et al*., 2007). در مطالعه‌ای بر روی گیاه بادرشبو عنوان نمودند که تنش کم آبی ملایم باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی می‌شود اما با افزایش شدت تنش، میزان مواد مؤثره به شدت کاهش یافت (Dastmalchi *et al*., 2007). نتیجه تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن اثر متقابل فاکتور A (تنش و عدم تنش) و فاکتورB (استفاده از نانو و عدم استفاده از نانو) می‌باشد. معنی‌دار بودن اثر متقابل بدین معناست که کاربرد یا عدم کاربرد تنش به سطح فاکتور B (استفاده یا عدم استفاده از نانو ذرات) بستگی داشته است. به همین دلیل، برش‌دهی اثر متقابل (جدول ۳) انجام شد و حاکی از آن است که در شرایط نرمال، کاربرد نانو سود چندانی بر روی افزایش متابولیت ثانویه پارتنولید نداشت ولی اگر کاربرد نانو در شرایطی انجام شود که تنش کم‌آبی اعمال شده است، نسبت به شرایط عدم استفاده از نانو، افزایش پارتنولید در پی خواهد داشت. با توجه به جدول برش‌دهی اثر متقابل می‌توان اظهار داشت محلول‌پاشی نانو نقره سنتز سبز در شرایط تنش کم آبی باعث افزایش بیشترین مقدار پارتنولید شده است.

نتیجه‌گیری کلی

اعمال هم‌زمان تنش کم آبی و نانو ذرات سبب تعدیل خسارات ناشی از تنش توسط نانو ذرات شد. نانو ذرات قادر است از فعالیت اتیلن در واکنش پیری جلوگیری کند. از آنجایی که در این تحقیق نتایج حاصل با افزایش میزان پارتنولید مطابقت داشت. بنابراین به جرأت می‌توان نانو ذره نقره سنتز سبز و تنش کم آبی ملایم را به عنوان القاء کننده کارآمد که از طریق القای سیستم دفاعی باعث بهبود بخشیدن بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه می‌شود، را در بسیاری از گیاهان دارویی معرفی نمود و به نظر می‌رسد گامی با ارزش در جهت مهندسی متابولیت و تولید داروهای گیاهی باشد.

منابع

اسماعیلی منزه، ع.، امیدی، ح و بستانی، ع. (۱۳۹۱) تأثیر تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد، پرولین، رنگدانه‌های فتوسنتزی، آب نسبی برگ چند ژنوتیپ گلرنگ، مجله پژوهش آب در کشاورزی ۲۵: ۱۹۶-۱۸۷.

پیوندی، م.، کمالی جامکانی، ز. و میرزا، م. (۱۳۹۰) تأثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مرزه (Satureja hortensis). مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی ۲۵-۳۳.

حیدری، م. و مینایی، ا.(۱۳۹۳) تأثیر تنش خشکی و اسید هیومیک بر عملکرد گل وغلظت عناصر غذایی پر مصرف در گیاه دارویی گاوزبان. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی ۲۱: ۱۶۷- ۱۸۲.

سعیدی، ک. و امید بیگی، ر. (۱۳۸۸). بررسی میزان و ترکیب اسیدهای چرب، میزان کل مواد فنولیکی و میزان اسانس بذر گیاه دارویی کلوس (*Kelussia odoratissina* Mozaff.). فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۱۱۳- ۱۱۹.

سودایی زاده، ح. و منصوری، ف.(۱۳۹۳) اثر تنش خشکی بر ماده خشک، غلظب عناصر غذایی و قندهای محلول گیاه دارویی مریم گلی لوله‌ای(*Salvia Macrosiphon Boiss*). فصلنامه خشک بوم ٤: ۱-۹.

صفوی، ف. (۱۳۹۱) تأثیر پلیمر سوپر جاذب، پتاسیم و کود دامی بر مقاومت کدوی پوست کاغذی به تنش خشکی، پایان نامه کارشناسی ارشد ، دانشگاه زابل

فروزنده م.، سیروس مهر، ع.، قنبری، ا.، اصغری پور، م.ر و خمری، ع.(۱۳۹۰) تأثیر تنش خشکی و کمپوست زباله بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی نعناع فلفلی. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ٤: ٦٧٠- ٦٧٧.

قربانلی،م. و کیاپور، ع. (۱۳۹۱) بررسی اثر غلظت‌های مختلف مس بر رنگیزه‌ها و فعالیت سیست‌های دفاعی غیرآنزیمی و آنزیمی در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.). فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲: ۲٤۷-۲۳۵.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 22:04 IRST on Saturday October 31st 2020

قربانلی،م.، ادیب هاشمی، ن. و پیوندی، م. (۱۳۸۹) بررسی اثر شوری و اسید آسکوربیک بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک در گیاه سیاه دانه. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳: ۳۷۰– ۳۸۸.

مظفریان، و. (۱۳۷۳) رده‌بندی گیاهی. جلد اول و دوم، انتشارات سپهر

نادری، م. و دانش شهرکی، ع. (۱۳۹۰) کاربرد فن‌آوری نانو در بهینه‌سازی فرمولاسیون کودهای شیمیایی، ماهنامه فن‌آوری نانو ٤: ۲۰– ۲۲.

Agarwal, S. and Pandey, V.(2004) Antioxidant enzyme responses to nacl stress in cassia angustifolia. Biologia Plantarum 48:555-560.

Agati, G., Mattini, P., Goti, A. and Tattini, M. (2007) Chloroplast-located flavonoids can scavenge singlet oxygen. New Phytologist 174: 77-89.

Arnon, D. I. (1965) Photosynthesis by isolated chloroplast IV: central concept and comparison of three protochemical reaction. Journal of. Biochemistry, Biophysics Acta 20: 440-446.

Bates, L. S., Waldren, R. P., and Teare, I. D.(1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil 39: 205-207.

Bernath, J. (2000) Medicinal and Aromatic Plants. Mezo Publication, Budapest.

Dastmalchi, K., Damien Dorman, H., Kosar, M. and Hiltunen, R. (2007**)** Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. Food Science and Technology 40: 239-48.

Devlin, M. R. and Withman, F. H. (2002) Plant physiology. CBs publishers and distributers, Chapter 12.Fire lettuce. Physiology Planetarium 103: 1-7.

Fonseca, J. M., Rushing, J. W., Rajapakse, N. C., Thomas, R. L. and Riley, M. B. (2005) Parthenolide and abscisic acid synthesis in feverfew are associated but environmental factors affect them dissimilarly. Journal of plant physiology 162: 485-494.

Greenway, H., and Munns, R. (1980) Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. Annual review of plant physiology 31: 149-190.

Howell, T. A., Evett, S. R., Tolk, J. A., Schneider, A. D. (2004) Evaporation of full and deficit-irrigated, and dry land cotton on the Northern Texas High Plains. Journal of Irrigation and Drainage Engineering 130 : 277-285.

Inze, D. and Montagu, M. V. (2000**)** Oxidative stress in plants. TJ International Ltd, Padstow, Cornawall. Great Britain.

Irigoyen, J. J., Einerich, D. W., and Sanchez Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum 84: 55-60.

Kay, C. D. and Holub, B. J. (2002) the effect of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption on postprandial serum antioxidant status in human subjects. British Journal of Nutrition 4: 389-397.

Krizek, D. T., Britz, S. J. and Mirecki, R. M. (1998) Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth CV. New Leaf.

Lichtenthaler H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. Methods of Enzymology 148: 350.

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

Mohamadipoor, R., Sedaghathoor, Sh. and Mahboub-Khomami, A. (2013) Effect of application of iron fertilizers in two methods 'foliar and soil application' on growth characteristics of *Spathyphyllum illusion*. European Journal of Experimental Biology 3: 232-240.

Munns, R., and Weir, R. (1981) Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light levels. Functional Plant Biology 8: 93-105.

Najafi, S. Heidari, R. and Jamei, R. (2013**)** Influence of silver nanoparticles and magnetic field on phytochemical, antioxidant activity compounds and physiological factors of *Phaseolus vulgaris*. Technical Journal of Engineering and Applied Sciences 3: 2812-2816.

Omidi, A. H.(2009) Effect of drought stress at different growth stages on seed yield and some agro-physiological traits of three spring safflower cultivars. Seed and Plant Production Journal 1:15-31.

Peyvandi, M., Parande, H. and Mirza, M. (2011) Comparison of nano Fe chelate with Fe chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of Ocimum basilicum. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal 1: 89-98.

Salama, M. H. H. (2012) Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Pharsalus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). International Research Journal of Biotechnology 3:190–197.

SAS Institute.(2014) SAS/Stat User's Guide, Version 9.2. SAS Institute, Cary, NC.

Sharma, K., Sharma, R.,Shit, S., Gupta, S. (2012) Nanotechnological application on diagnosis of a plant disease. In: International Conference on Advances in Biological and Medical Sciences. Pp 149–150. Singapore.

Silva, M. D. A., Jifon, J. L., Da Silva, J. A., and Sharma, V. (2007) Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. Brazilian Journal of Plant Physiology 19: 193-201.

Soha, E. Khalil., Abdel-Aziz Nahed. G., and Abou Leil. Bedour, H. (2010) Effect of water Stress and ascorbic acid on some morphological and biochemical composition of *Ocimum_basilicum* plant. Journal of American Science 6: 33-44.

Susrurluk, H., Caliskan, Z., Gurkan, O. and Goren, N. B. (2007) Antifeedant activity of some Tanacetum species and bioassay guided isolation secondary metabolites. Industrial Crops and Product 26: 220-228.

Tiuman, T. S., Nakamura, T. U. and Nakamura, C. V. (2005) Antileshmanial activity of parthenolide, a sesquiterpene lactone isolated from *T. parthenium*. Antimicrobial Agent and Chemotherapy 49: 176-182.

Yang, F., Hong, F. S., You, W. J., Liu, C., Gao, F. Q., Wu, C. and Yang, P. (2006) Influences of nanoanatase TiO_2 on the nitrogen metabolism of growing spinach. Biological Trace Element Research 110: 179-190.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 22:04 IRST on Saturday October 31st 2020