

## تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد گل اکوتیپ‌های بابونه (*Matricaria Chamomilla* L.).

حمیده آزاد<sup>۱</sup>، براتعلی فاخری<sup>۲</sup>، نفیسه مهدی نژاد<sup>۲\*</sup> و قاسم پرمون<sup>۳</sup>

اگره علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، <sup>۲</sup>گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، <sup>۳</sup>گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل (تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۲/۱۰)

### چکیده

به منظور ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد گل اکوتیپ‌های بابونه تحت تنش خشکی و محلول‌پاشی نانو کلات آهن، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده دانشگاه زابل، در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش خشکی در دو سطح (شاهد یا ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی) و نانو کلات آهن در دو سطح (شاهد و دو میلی‌گرم بر لیتر) و هفت اکوتیپ بابونه (اردستان، گچساران، نائین، خوزستان، کازرون، آلمان و مجارستان) بود. در این تحقیق میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و پروتئین محلول) و عملکرد گل در بوته مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در اکوتیپ‌های کازرون (از ۰/۶۸ به ۱/۵۸)، خوزستان (از ۱/۵ به ۳)، نائین (از ۱/۲ به ۱/۵۲) و آلمان (از ۱/۶ به ۲/۳) تغییرات جذب در گرم گردید. فعالیت آنزیم آسکوربات در همه اکوتیپ‌ها افزایش نشان داد و گایاکول پراکسیداز در اکوتیپ‌های کازرون (از ۰/۰۶ به ۰/۰۸)، خوزستان (از ۰/۰۸ به ۰/۱۶)، نائین (از ۰/۰۶۸ به ۰/۰۸۳) و آلمان (از ۰/۱ به ۰/۱۲) تغییرات جذب در گرم افزایش یافت. کاهش پروتئین محلول در اکوتیپ‌های اردستان (از ۰/۱۳۵ به ۰/۱۱)، گچساران (از ۰/۱۳۵ به ۰/۱) و مجارستان (از ۰/۱۲ به ۰/۹) مشاهده شد و کاهش عملکرد گل در بوته در اکوتیپ‌های اردستان (از ۰/۷۵ به ۰/۶۵)، خوزستان (از ۰/۶۳ به ۰/۴)، نائین (از ۰/۹ به ۰/۷) و مجارستان (از ۲ به ۰/۵) گرم ثبت شد. کاربرد نانو کلات آهن نیز با کاهش تأثیرات مخرب تنش بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تأثیرگذار بود که این تأثیرات در برخی اکوتیپ‌ها مثبت و در برخی دیگر منفی بود. به طور کلی اکوتیپ‌های خوزستان و آلمان متحمل‌ترین اکوتیپ برای کشت در شرایط تنش خشکی بودند.

واژگان کلیدی: تنش رطوبتی، بابونه، عملکرد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نانو کلات آهن

### مقدمه

طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد بابونه است (دهقانی مشکانی و همکاران، ۱۳۹۱). بابونه (*Matricaria Chamomilla* L.) گیاهی علفی، یک ساله متعلق به خانواده کاسنی

مصرف داروهای گیاهی و گیاهان دارویی در سراسر جهان روز به روز در حال افزایش است، یکی از گیاهان دارویی که به

می‌کند و از سوی دیگر، سطح مناسبی از گونه‌های فعال اکسیژن را برای رشد و مسیر انتقال پیام حفظ می‌کند (Mittler *et al.*, 2004). این سیستم آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی از قبیل پراکسیداز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و غیره است (Xu *et al.*, 2008).

ارتباط بین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بالا رفتن مقاومت گونه‌های گیاهی تحت تنش‌های محیطی در چندین گونه گیاهی تأیید شده است (Guo *et al.*, 2006). نقش فیزیولوژیکی آنتی‌اکسیدان‌ها در جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد است. این ترکیبات، رادیکال‌های آزاد را به ویژه آنیون‌های سوپراکسید و هیدروکسیل جمع‌آوری می‌کنند (Koksall and Gulcin, 2008).

استفاده از فناوری نانو در کلیه عرصه‌ها از جمله کشاورزی در حال گسترش می‌باشد. کاربرد نانوکودها به عنوان جایگزین کودهای مرسوم، عناصر غذایی به تدریج و به صورت کنترل شده در خاک آزاد می‌شود (نادری و دانش شهرکی، ۱۳۹۱). فرآورده‌های نانو شامل مخلوطی از ذره‌هایی با ابعاد یک تا ۱۰۰ نانومتر هستند که می‌توانند خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مواد اولیه خود را تغییر دهند (طباطبائی و همکاران، ۱۳۹۱). تبدیل مواد به مقیاس نانو، ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، بیولوژیکی و فعالیت‌های کاتالیزوری آن‌ها را تغییر می‌دهد. علاوه بر انحلال‌پذیری بیشتر، فعالیت‌های شیمیایی و قابلیت نفوذ در غشای سلولی در این نانو ذرات پدیدار می‌گردد (Mazaherinia *et al.*, 2010). در تحقیقی نشان دادند تأثیر ذرات نانو تیتانیوم بر عملکرد ذرت قابل ملاحظه بود (Moaveni and Kheiri, 2011). همچنین بررسی‌های متعددی در زمینه کاربرد کلات آهن در افزایش کلروفیل و سطح برگ، مؤید آن است که کمبود آهن، همواره موجب از بین رفتن کلروفیل و تخریب ساختمان کلروپلاست و کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیداز نظیر کاتالاز و پراکسیداز می‌گردد (Zuo and Zhang, 2011). مصرف کودهای ریزمغذی می‌تواند مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی نظیر خشکی و شوری را افزایش دهد (Baybordi, 2005). گزارش‌های محدودی مبنی بر تأثیر

(Asteraceae) است که در طب جدید و سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Applequist, 2002). نیاز آبی این گیاه شامل ۶ تا ۸ نوبت آبیاری در طی رشد می‌باشد (Singh *et al.*, 2011)، همچنین این گیاه در شرایط مزرعه‌ای توانسته تا ۵۰ درصد ظرفیت زراعی را بدون کاهش معنی‌دار در عملکرد گل تحمل کند (جشنی و موسوی نیک، ۱۳۹۴). این گیاه اثرات ضدالتهاب، ضدعفونی‌کننده، مسکن و ضد تشنج دارد. گل‌های بابونه حاوی ۱۲۰ ترکیب شیمیایی شامل ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و موسیلاژ می‌باشد (Salomon, 1992).

خشکی از مهمترین عوامل بازدارنده رشد و عملکرد گیاهان زراعی، باغی و دارویی، در مناطق خشک و نیمه خشک به شمار می‌رود (Redy *et al.*, 2004). تنش خشکی با ایجاد اختلال در عمل روزنه‌ها و سیستم فتوسنتزی، تخریب پروتئین‌ها و آنزیم‌ها و ریزش گل و میوه موجب کاهش عملکرد گیاهان می‌شوند (Soha *et al.*, 2010)؛ حیدری و کرمی، ۱۳۹۲). تحقیقات بسیار زیادی در رابطه با اثرات تنش خشکی روی گیاهان انجام گرفته است. ثابت شده‌است تنش آبی آثار منفی بر رشد و نمو گیاه دارد (لباسچی و شریفی عاشورآبادی، ۱۳۸۳؛ Valadabadi and Farahani, 2009). هرچند برخی گزارش‌ها آثار سودمند تنش خشکی بر مواد مؤثره دارویی در بسیاری از گیاهان دارویی اشاره شده‌است (Letchamo *et al.*, 1994; Misra and Srivastava, 2000).

پاسخ گیاهان دارویی به تنش‌های محیطی جهت تولید و اصلاح ارقام متحمل به تنش کاملاً ضروری است (لشکری صیاد و همکاران، ۱۳۹۲). بررسی مکانیسم‌های سازش گیاهان به تنش خشکی می‌تواند در انتخاب گیاهان مقاوم به تنش برای کشت در مناطق خشک و نیمه‌خشک مفید باشد (Demiral and Türkan, 2004). به‌طورکلی، از پاسخ‌های عمومی در گیاهان در برابر تنش‌ها، می‌توان تغییرات سطح پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیداسیون را نام برد (Trifunovic *et al.*, 2006). گیاهان دارای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که تولید گونه‌های فعال اکسیژن را تحت شرایط تنش کنترل می‌کند و آن‌ها را در مقابل آثار گونه‌های فعال اکسیژن محافظت

مجارستان) بود.

تمامی بذره‌های بابونه از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شدند. کاشت در گلدان‌های پلاستیکی با ابعاد ۳۰ × ۳۵ سانتی‌متر انجام شد و برای پر کردن گلدان‌ها از خاکی که با خصوصیات مندرج در جدول ۱ بعد از عبور دادن از الک به میزان چهار کیلوگرم در هر گلدان استفاده شد. بذور در عمق یک سانتی‌متری از سطح خاک کشت گردیدند. گلدان‌ها در شرایط یکسان حداقل دما ۹/۱ و حداکثر دما ۳۵ درجه سانتی‌گراد در گلخانه قرار گرفتند و آبیاری به صورتی که خاک گلدان‌ها مرطوب باشد صورت گرفت. محلول‌پاشی کود نانو کلات آهن (با مشخصات در جدول ۲) در سه مرحله (چهار برگی، هشت برگی و مرحله گل‌دهی) با غلظت مورد نظر انجام و هر سه مرحله محلول‌پاشی در هنگام غروب آفتاب انجام شد تا تاخیر محلول حداقل باشد و جذب محلول بهتر انجام شود. اعمال تنش خشکی زمانی که گیاه به مرحله چهار برگی رسید شروع شد. اندازه‌گیری رطوبت خاک با دستگاه تی دی آر (Time Domain Reflectometry) انجام شد. برای تعیین زمان اعمال تنش خشکی از روش انعکاس سنجی زمانی و دستگاه TDR مورد استفاده در آزمایش‌ها از نوع ترایم (TRIME) ساخت شرکت ایمکو (IMKO) آلمان استفاده شد. طول منطقه‌ای که حساسه‌ی دستگاه امواج را ارسال می‌کند ۲۰ سانتی‌متر است. امواج تولید شده توسط دستگاه در محدوده‌ای در نیم‌رخ خاک منتشر می‌شود. عدد بدست آمده به عنوان رطوبت خاک ثبت می‌گردد. برای رسیدن به تراکم مورد نظر عملیات تنک در دو مرحله چهار و هشت برگی انجام شد. در مرحله آخر چهار بوته در هر گلدان نگه‌داشته شد.

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هفت روز بعد از اعمال آخرین تیمار (در مرحله گل‌دهی) نمونه‌برداری از برگ گیاهان صورت گرفته و نمونه‌ها در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت عصاره‌گیری نمونه‌ها برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پروتئین، ابتدا ۰/۵ گرم نمونه برگ در نیتروژن مایع کاملاً ساییده شد. سپس دو میلی‌لیتر بافر استخراج (حاوی، ۰/۶۰۷

مثبت مواد غذایی نانو بر رشد برخی از گیاهان از جمله بادام‌زمینی (Prasad et al., 2012)، نخود (Pandey et al., 2010)، اسفناج (Yang et al., 2006) و ریحان (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰) وجود دارد. یکی از واکنش‌های گیاه در مقابل تنش ایجاد شده توسط نانو کودها فعال کردن سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی برای مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده می‌باشد (Sairama et al., 2002). نتایج تحقیقات نشان داد در شرایط محدودیت آبیاری، کاربرد نانو کود آهن، موجب کاهش عملکرد ناشی از افزایش دور آبیاری در زیره سبز را جبران نمود (بقائی و همکاران ۱۳۹۱). همچنین بهبود عملکرد در گیاه اسفناج را در شرایط تنش رقم زده‌است (Ladan Moghadam et al., 2012). اگر چه تاکنون تحقیقات وسیعی در رابطه با اثر تنش خشکی بر روی گیاهان زراعی انجام شده، اما رفتار گیاهان دارویی و معطر تحت شرایط کمبود آب به خوبی مطالعه نشده‌است. همچنین با توجه به اهمیت دارویی و غذایی گیاه بابونه و بررسی شناخت مجموعه واکنش‌های گیاه در بهبود تحمل به خشکی، هدف از این مطالعه ارزیابی اثر محلول‌پاشی غلظت‌های پایین نانو کلات آهن و تنش خشکی بر سیستم دفاعی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تولید گل ژنوتیپ‌های مختلف بابونه اجرا شد.

#### مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۳ در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل واقع در چاه نیمه (با موقعیت جغرافیایی ۶۱ درجه و ۴۱ دقیقه طول شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی و ارتفاع ۴۸۱ متر از سطح دریا) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش ترکیبی از دو سطح تنش آبیاری (۹۰ درصد ظرفیت زراعی به عنوان شاهد و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی به عنوان تنش ملایم خشکی)، دو سطح نانو کود کلات آهن (شاهد یا عدم استفاده از نانو کلات آهن و غلظت دو میلی‌گرم بر لیتر) و هفت اکوتیپ بابونه (اردستان، گچساران، نائین، خوزستان، کازرون، آلمان و

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

هدایت الکتریکی	pH	ماده آلی	N	P	K	Fe	Zn	Mn	لوم	رس	شن	بافت خاک
دسی‌زیمنس بر متر		درصد				میلی‌گرم در کیلوگرم			درصد	درصد	درصد	
۱	۷/۳	۰/۰۵	۰/۴۶	۶/۶	۱۱۵	۳/۵	۴/۸	۲/۹	۲۶	۳۲	۴۲	شنی رسی

جدول ۲- مشخصات نانو کلات کود آهن مورد استفاده

شرکت سازنده	میزان آهن	اسیدیته	نحوه مصرف	میزان مصرف	نوع خاک قابل استفاده
خضراء	٪۹	۴ تا ۹	خاکی و محلول‌پاشی	محلول‌پاشی: ۲ در هزار خاکی: ۳-۱۰ کیلوگرم در هکتار	آهکی و قلیایی

نانومتر قرائت گردید و فعالیت آنزیم پراکسیداز به صورت تغییرات جذب نور در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید (Mohammadi and Kazemi, 2002). جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از محلول واکنشی شامل ۲۵۰ میکرو لیتر از محلول بافر فسفات ۱۰۰ میلی-مولار، pH=7، ۲۵۰ میکرو لیتر از آسکوربات یک میلی‌مولار، ۲۵۰ میکرو لیتر از EDTA با غلظت ۰/۴ میلی‌مولار، ۱۹۰ میکرو لیتر آب دو بار تقطیر، ۱۰ میکرو لیتر از پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرو لیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. جذب کمپلکس واکنشی در طول موج ۲۹۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت و با استفاده از ضریب خاموشی ۲/۸ میلی - مول بر سانتی متر میزان فعالیت آنزیم محاسبه شد. (Sairam et al., 2002). جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز دو میلی‌لیتر محلول واکنش شامل، ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی، ۸۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۰/۲ میکرو لیتر از EDTA با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار، ۵۰ میکرو لیتر گایاکول ۵ میلی‌مولار، ۷۹۹/۸ آب بود که با ۳۰۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار مخلوط و میزان جذب بلافاصله در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید و بعد از یک دقیقه دوباره میزان جذب قرائت شد (Nakano and Asada, 1981). ارزیابی میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بر اساس روش ارائه شده توسط Mohammadi و Kazemi (2002) با کمی تغییرات انجام گرفت. به این ترتیب که دو میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل مقداری از عصاره نمونه که

گرم تریس، ۰/۰۵ گرم پلی‌وینیل پیرولیدین و ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک شش نرمال در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) را به آن اضافه کرده و در داخل هاون چینی کاملاً هموژنیزه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ قرار گرفت و پس از آن فاز بالایی جهت قرائت صفات مورد استفاده قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین محلول از روش Bradford (1976) استفاده شد. برای تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Beers و Sizer (۱۹۵۲) استفاده شد. به ۱/۵ میلی‌لیتر محلول واکنش (۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی، ۶۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۰/۱۵ میکرو لیتر EDTA ۰/۱ میکرو مولار، ۵۴۹/۸ میکرو لیتر آب مقطر) ۳۰۰ میکرو لیتر  $H_2O_2$  ۲۰ میلی‌مولار اضافه شد و جذب بلافاصله در طول موج ۲۴۰ نانومتر در دو مرحله با فاصله زمانی یک دقیقه قرائت گردید. و تغییرات جذب به دست آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر ۳۶ مول بر سانتی متر است تقسیم شد و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد در گرم وزن تر بیان شد.

برای ارزیابی فعالیت آنزیم پراکسیداز دو میلی‌لیتر محلول واکنش حاوی ۴۰ میلی‌گرم عصاره، ۲۰ میکرو لیتر گایاکول و ۱/۴ میلی لیتر بافر سیترات فسفات ۲۵ میلی‌مول (pH=۵/۴) در یک لوله آزمایش مخلوط شدند و سپس ۱۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد به مخلوط اضافه کرده و تغییرات جذب نور با فواصل ۱۰ ثانیه و به مدت یک دقیقه در طول موج ۴۷۵

تخریب ساختار پروتئین‌ها و اسیدآمینها می‌شوند (Das et al., 2004). همچنین رادیکال‌های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین داشته و سبب اکسید شدن آن‌ها می‌شوند و این خود باعث کاهش میزان پروتئین محلول برگ می‌گردد. نعیمی و همکاران (۱۳۹۰) طی آزمایشی در گیاه دارویی کدو پوست کاغذی گزارش کردند محتوی پروتئین محلول در اثر تنش کم آبی کاهش یافت. به نظر می‌رسد کاهش محتوای پروتئین محلول تحت شرایط تنش کم آبی به دلیل واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییر اسید آمینه، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین، کاهش سنتز پروتئین و همچنین تجمع اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین مرتبط باشد (Ranjan et al., 2001). نانو ذرات آهن می‌توانند به مولکول‌های فعال بیولوژیکی متصل شوند که این اتصال می‌تواند به‌طور مستقیم به مکان‌های خاص درون بیومولکول‌ها شامل پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و ساختارهای زیر سلولی صورت بگیرد و بدین طریق نانو از این مولکول‌ها محافظت کند (Krystofova et al., 2013). نتایج پژوهشی دیگر نیز به تأثیر تنش بر میزان پروتئین گیاه مرزه اشاره دارد و کاربرد نانو کلات آهن و کلات آهن موجب افزایش محتوای پروتئین شد (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰).

اثر متقابل تنش خشکی در اکوتیپ در نانو کلات آهن بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۳). تغییرات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در اکوتیپ‌های مختلف در اثر تنش و نانو کلات متفاوت بود. در شرایط آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن در اکوتیپ‌های کازرون، اردستان، نائین و آلمان موجب افزایش و در بقیه اکوتیپ‌ها موجب کاهش میزان فعالیت کاتالاز شد. در شرایط تنش خشکی نیز مصرف نانو کلات آهن تأثیری بر فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت (شکل ۲). آنزیم کاتالاز که در اثر تنش اکسایشی در گیاهان نقش دارد، آب اکسیژنه منتشر شده به قسمت بیرونی کلروپلاست را در سلول‌های برگ پاکسازی می‌کند (Singh, 1989). آنزیم اصلی حذف پراکسید هیدروژن کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشد که هر کدام از آن‌ها تمایل‌های متفاوتی به این نوع گونه

دارای ۴۰ میکروگرم پروتئین باشد، ۲۰ میکرو لیتر محلول پرولین و مقدار کافی بافر سیترات- فسفات ۲۵ میلی مول بود که به مدت دو دقیقه ورتکس شد. سپس ۴۰ میکرو لیتر محلول پیروکتکول (Pirocatechol FW) ۱۰۰ میلی مول به مخلوط فوق اضافه و سریعاً همگن گردید و بلافاصله تغییرات جذب نور با فواصل ۱۰ ثانیه و به مدت یک دقیقه در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت گردید.

وزن خشک بخش اقتصادی و قابل استفاده گیاه برای بابونه گل‌ها می‌باشد که برای اندازه‌گیری آن دو بوته از هر گلدان برداشت و بعد از انتقال به آزمایشگاه گل‌های آن جدا و در سایه خشک شدند و سپس وزن خشک بر حسب گرم برای هر بوته محاسبه گردید. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد با نرم‌افزار SAS با نسخه ۹/۱ انجام گرفت. رسم نمودارها با استفاده از برنامه Excel انجام شد.

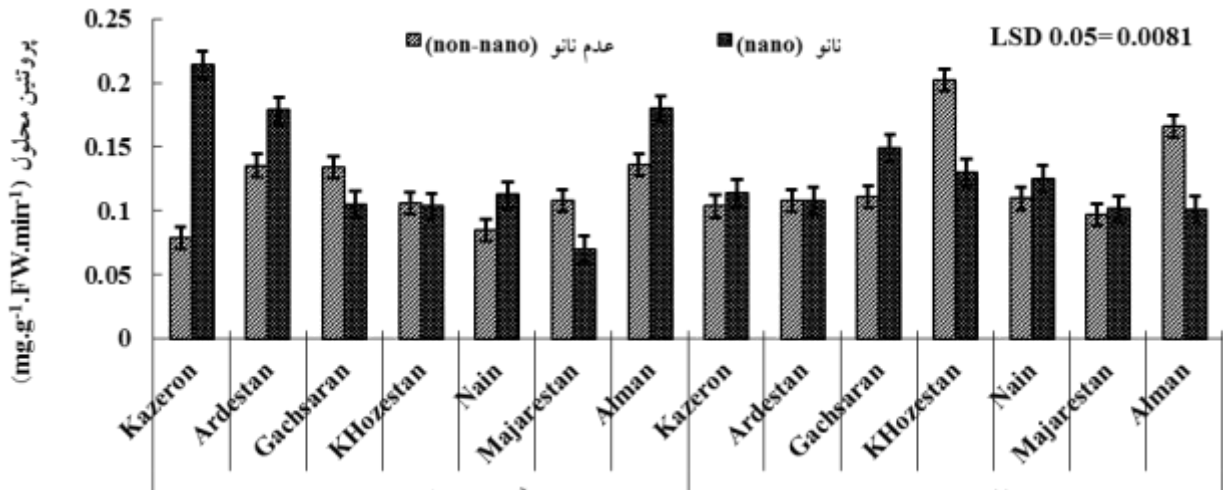
### نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات نشان داد که، پروتئین محلول تحت تأثیر اثرات ساده اکوتیپ و اثرات دوجانبه تنش در اکوتیپ، تنش در نانو کلات، اکوتیپ در نانو کلات و اثرات سه‌جانبه تنش در اکوتیپ در نانو کلات آهن در سطح احتمال یک در صد قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات سه‌گانه نشان داد، در آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن در بیشتر اکوتیپ‌ها به جزء اکوتیپ گچساران و مجارستان موجب افزایش پروتئین محلول شد. ولی در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن موجب افزایش فعالیت این صفت در اکوتیپ‌های اصفهان کازرون، گچساران، نائین و مجارستان گردید (شکل ۱). متابولیسم پروتئین‌ها برای عملکرد هر موجود زنده‌ای ضروری است. اثرات تنش آب می‌تواند از طریق تغییر در تجمع نیتروژن، احیاء و سنتز پروتئین بروز نماید. گزارش‌ها حاکی از آن است که افزایش میزان تنش خشکی باعث کاهش پروتئین‌ها می‌شود (Yazdanpanah et al., 2011). با توجه به مشاهداتی تنش کم آبی با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب

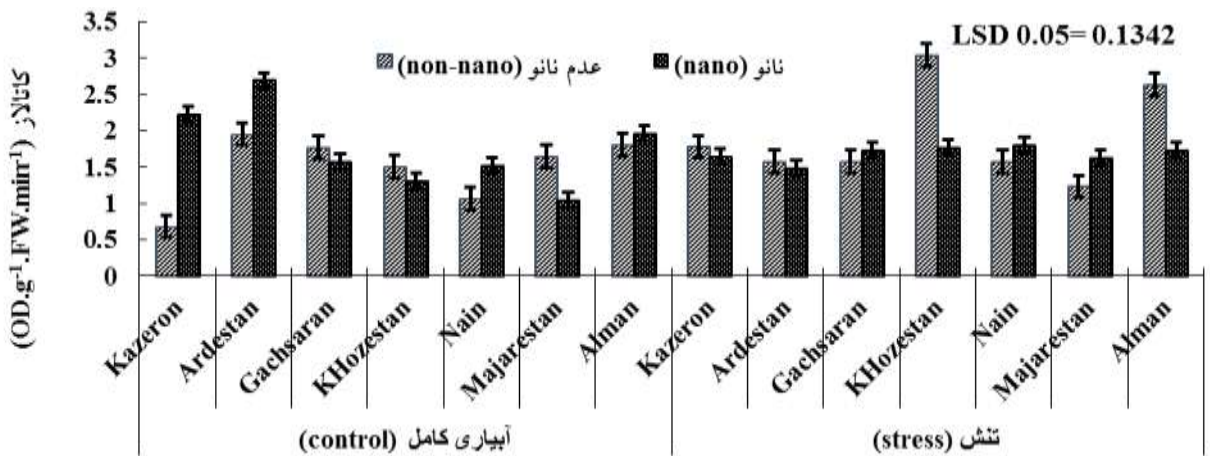
جدول ۳- تجزیه واریانس ویژگی‌های کیفی اکوتیپ‌های بابونه تحت تنش خشکی و نانو کلات آهن

میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییرات
عملکرد گل	پلی فنل اکسیداز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	پراکسیداز	کاتالاز	پروتئین کل		
۰/۱۶۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۲۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۳۷۲**	۰/۱۵۵۹۱**	۰/۶۵۲*	۰/۰۰۰۰۰۸ <sup>ns</sup>	۱	تنش خشکی
۱/۱۹۶۶*	۰/۰۰۷۹۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۸۵۵*	۰/۰۰۰۴۲۵**	۰/۰۵۷۵۶**	۰/۰۱۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱۰۴ <sup>ns</sup>	۱	نانو کلات آهن
۲/۳۱۹۸**	۰/۰۳۲۲۳**	۰/۰۰۲۴۱۱**	۰/۰۰۰۰۸۹**	۰/۰۵۲۶۷**	۰/۷۲۲**	۰/۰۰۳۷۶۳**	۶	اکوتیپ
۰/۵۳۶۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۷۰۰۰**	۰/۰۰۳۶۲۷**	۰/۰۰۰۰۴۱**	۰/۰۱۰۴۹**	۱/۳۲۶**	۰/۰۰۷۳۵۴**	۱	تنش × نانو آهن
۱/۱۰۸۵**	۰/۰۳۸۵۷**	۰/۰۰۲۲۷**	۰/۰۰۰۰۷۳**	۰/۱۰۱۷۷**	۰/۸۶۷**	۰/۰۰۴۱۶۶**	۶	تنش × ژنوتیپ
۰/۵۸۳۵*	۰/۰۳۱۴۵**	۰/۰۰۱۸۶۸**	۰/۰۰۰۰۷۵**	۰/۰۲۶۲۹**	۰/۷۰۱**	۰/۰۰۳۳۹۰**	۶	اکوتیپ × نانو آهن
۱/۷۴۴۴**	۰/۰۴۰۱۶**	۰/۰۰۲۲۶۱**	۰/۰۰۰۰۶۴**	۰/۰۴۰۱۰**	۰/۶۴۹**	۰/۰۰۴۲۷۰**	۶	تنش × اکوتیپ × نانو آهن
۰/۲۰۸۶	۰/۰۰۴۶۶	۰/۰۰۰۲۰	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۴	۰/۱۳۲	۰/۰۰۰۰۴	۵۶	خطا
۲۲/۲۲	۹/۵۶	۹/۰۸	۲۲/۶۱	۲/۱۴	۱۱/۰۲	۹/۱۵		ضریب تغییرات (درصد)

ns، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.



شکل ۱- نمودار مقایسه میانگین اثرات سه جانبه تنش خشکی، اکوتیپ و نانو کلات آهن بر پروتئین محلول.



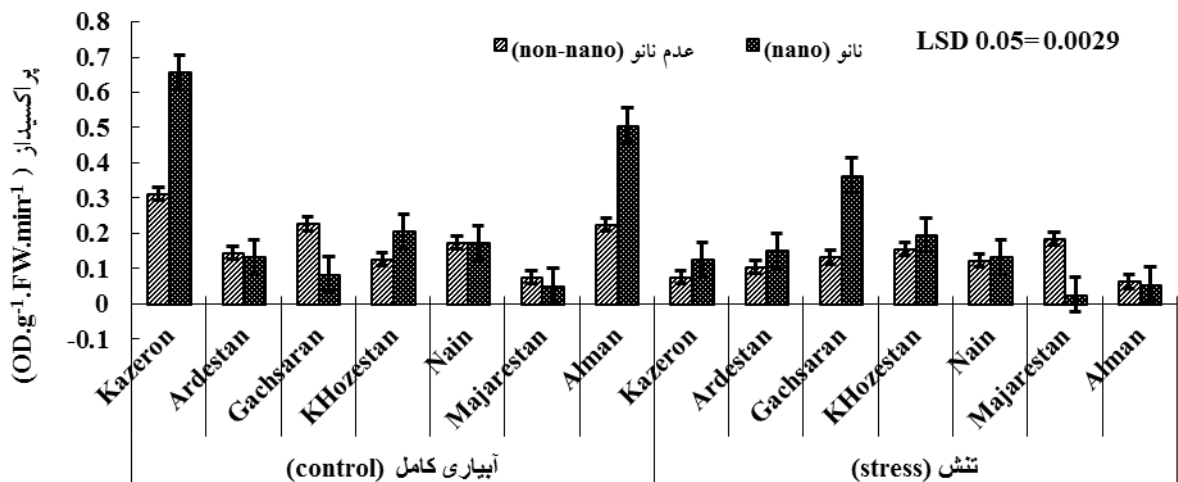
شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین اثرات سه جانبه تنش خشکی، اکوتیپ و نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم کاتالاز.

کاتالاز تا غلظت‌های ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش می‌یابد. کودهای نانو می‌توانند به صورت راحت تر سریع تر از کودهای دیگر جذب شده و به همین خاطر تاثیرگذارتر هستند (Nakano and Asada, 1981).

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز علاوه بر اثرات اصلی، تحت تأثیر اثرات دوگانه و سه‌گانه در سطح یک درصد قرار گرفتند (جدول ۳). بالاترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز از تیمار تنش و مصرف دو میلی‌گرم بر لیتر نانو کلات آهن از اکوتیپ گچساران با میانگین ۰/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر حاصل شد (شکل ۳). در آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن تأثیری در فعالیت آنزیم نداشت در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم در اکوتیپ‌های اردستان، گچساران شد (شکل ۳).

سیستم‌های دفاعی گیاهان در برابر این گروه‌های فعال اکسیژن شامل آنزیم‌هایی است که قادر به جابجا کردن، روبش کردن و یا خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و واسطه‌های دارای اکسیژن هستند. پراکسیدازها از جمله آنزیم‌هایی هستند که توانایی حذف چنین ترکیبات سمی را دارند (De Marco *et al.*, 1999; Grmbow and Langenbeck., 1983; Keyhani *et al.*, 2002; Winston and Cederbum, 1993). آنزیم پراکسیداز هم در سایتوسول و هم در کلروپلاست وجود دارد، می‌تواند به گونه مؤثری  $H_2O_2$  را حذف نماید؛ بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش خشکی احتمالاً نشان دهنده تجمع  $H_2O_2$  در شرایط تنش خشکی می‌باشد (Jiang and Huang, 2001). افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در مطالعات محققان گزارش شده است (Movludi *et al.*, 2014). افزایش این آنزیم‌ها در تیمار تنش به‌خاطر نقش مهم آنها در مقابله با رادیکال‌های آزاد تشکیل شده در اثر تنش خشکی می‌باشد. رادیکال‌های آزاد اکسیژن به برخی از ترکیبات سلولی نظیر لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها آسیب می‌رسانند که در نهایت به مرگ سلول منتج خواهد شد. آهن علاوه بر کاتالاز بر فعالیت پراکسیداز مؤثر می‌باشد و در واکنش‌ها به‌عنوان یک سیستم آنزیمی در گروه‌های پروستتیک عمل می‌کند (Noctor and Foyer, 1998). در بررسی اثر آهن در گیاهان

های فعال اکسیژن دارند (Mittler, 2002; Willekens *et al.*, 1997). تنش خشکی، موجب افزایش تولید انواع اکسیژن واکنش‌گر و در نتیجه دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌گردد (Smirnov, 1993). مطالعات نشان می‌دهد، پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه، به حساسیت و مقاومت رقم‌های مورد مطالعه مربوط است (Alexiva *et al.*, 2001). پراکسید هیدروژن به دلیل داشتن اثرات اکسیداتیو در متابولیسم گیاهان، مضر بوده و توسط آنزیم کاتالاز از بین می‌رود. آنزیم کاتالاز و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از سلول در برابر اثرات  $H_2O_2$  محافظت می‌کند و نقش مهمی در افزایش مقاومت به تنش اکسیداتیو را به عهده دارد. در ارتباط با فعالیت آنزیم کاتالاز نیز تحقیقات متعددی وجود دارد که حاکی از رفتارهای مختلف این آنزیم در برابر تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی می‌باشد. علاوه بر نتایج گزارشات که حاکی از کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در تنش‌های خشکی، شوری و گرما است، همچنین گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد آنزیم کاتالاز در تنش خشکی افزایش می‌یابد. کاهش فعالیت کاتالاز در تحقیقات دیگری نیز گزارش شده است (Jiang and Huang 2001). از دیگر گزارشاتی که حاکی از افزایش آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی است، نتیجه تحقیقات بر روی ذرت می‌باشد (Shehab *et al.*, 2010). در بررسی‌های انجام شده توسط فتحی و همکاران (۱۳۹۱) محلول‌پاشی نانو ذرات آهن و روی بر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گندم نشان داد که تأثیر این محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بوده است. کاربرد نانو کلات آهن نیز با توجه به این‌که گیاه را از کمبود تغذیه ناشی از تنش حفاظت می‌کند، می‌تواند به سیستم دفاعی گیاه در جهت مقابله با تنش کمک کند. آهن به‌عنوان یک کاتالیزور در واکنش‌ها عمل نموده و موجب تسریع این واکنش‌ها می‌شود. همچنین مطالعات به نقش آهن در فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز اشاره کردند (Blakrishnan, 2000; Ruiz *et al.*, 2000). در آزمایشی بر روی گیاه دارویی *Fogopyrum esculentom* تحت تیمارهای مختلف نانو اکسید روی مشاهده شد که میزان فعالیت



شکل ۳- نمودار مقایسه میانگین اثرات سه جانبه تنش خشکی، اکوتیپ و نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم پراکسیداز.

نوع ROS دارند. با توجه به این دلایل پیشنهاد شده است که آسکوربات پراکسیداز ممکن است به عنوان یک تنظیم کننده و کنترل کننده داخل سلولی خوب جهت حفظ حالت تعادل گونه‌های فعال اکسیژن معرفی می‌شود (Mittler, 2002; Willekens et al., 1997). در گیاهان عالی، چندین آیزوزیم مشخص از آسکوربات پراکسیداز وجود دارد که پراکسید هیدروژن را با استفاده از آسکوربات به عنوان دهنده‌ی الکترون به آب تبدیل می‌کند. این آنزیم در سیتوزول و اندامک‌های مختلف قرار دارد (Madhusudhan et al., 2003).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات نشان داد، که فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر اثرات ساده (به جزء تنش) و اثرات دوجانبه و اثرات سه‌جانبه در سطح احتمال یک در صد قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات سه‌گانه نشان داد. در آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن در اکثر اکوتیپ‌ها به جزء اکوتیپ‌های گچساران و مجارستان موجب افزایش فعالیت آنزیم گایاکول شد. ولی در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن موجب افزایش فعالیت این آنزیم در اکوتیپ‌های گچساران، نائین و مجارستان گردید (شکل ۵).

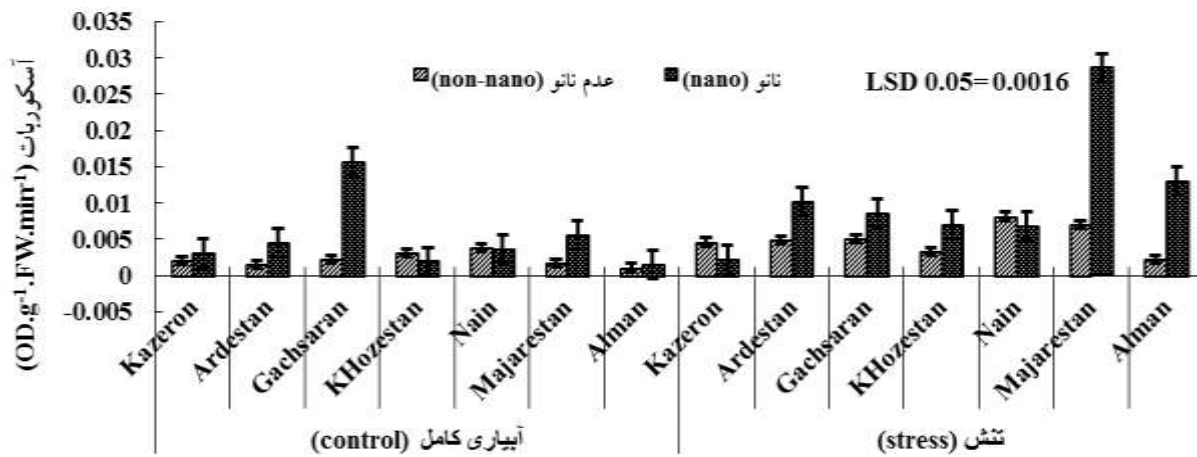
مطالعات نشان داد در گیاه پیروش، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و کاتالاز را در مقایسه با گیاهانی که هیچ نوع ریزمغذی آهن دریافت نکرده بودند بیشتر می‌باشد (عسکری و همکاران، ۱۳۹۳). در گیاه دارویی ریحان نیز افزایش فعالیت

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

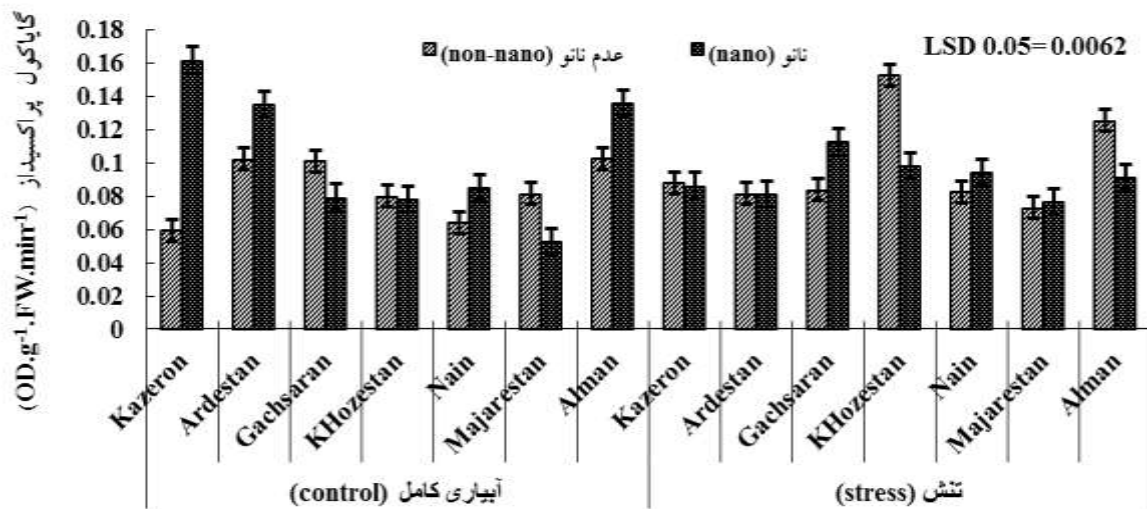
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر اثرات ساده، اثرات دوجانبه و اثرات سه‌جانبه تنش در نانو کلات آهن در اکوتیپ در سطح احتمال یک در صد قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ترتیب از ژنوتیپ‌های مجارستان (تنش و محلول‌پاشی) و آلمان (آبیاری کامل و محلول‌پاشی) به دست آمد. محلول‌پاشی نانو کلات آهن در شرایط تنش خشکی افزایش آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اکوتیپ‌های اردستان، خوزستان، نائین، مجارستان و آلمان و کاهش آنزیم در اکوتیپ‌های گچساران و کازرون را موجب شد (شکل ۴). در تحقیقی بر روی زردچوبه مشاهده شد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ‌ها در ابتدای تنش روند افزایشی و سپس رو به کاهش داشت. در پتانسیل آب ۳- بار و ۶- بار میزان فعالیت آنزیم در برگ نسبت به شاهد افزایش یافت (زمانی و همکاران، ۱۳۹۲). همچنین در بررسی اثر آهن بر روی گیاه *Bacops monnieril* مشاهده شد که استفاده از آهن محتوای آسکوربات ریشه و برگ را افزایش داد (Sinha and Saxena., 2006).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز از آنزیم‌های اصلی حذف  $H_2O_2$  می‌باشد که هر کدام از آنها تمایل‌های متفاوتی به این





شکل ۴- نمودار مقایسه میانگین اثرات سه جانبه تنش خشکی، اکوتیپ و نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم آسکوربات.

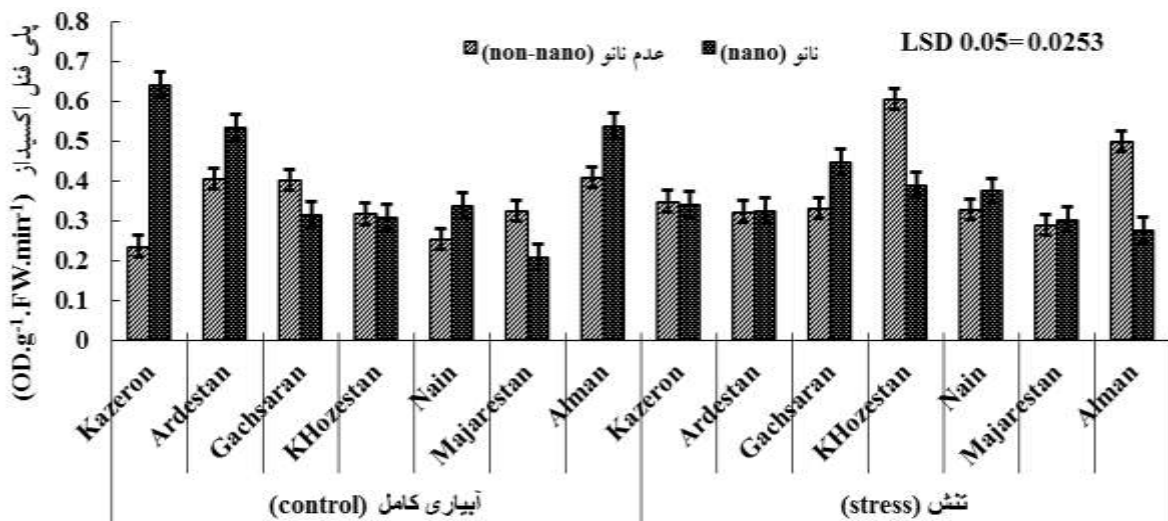


شکل ۵- نمودار مقایسه میانگین اثرات سه جانبه تنش خشکی، اکوتیپ و نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز.

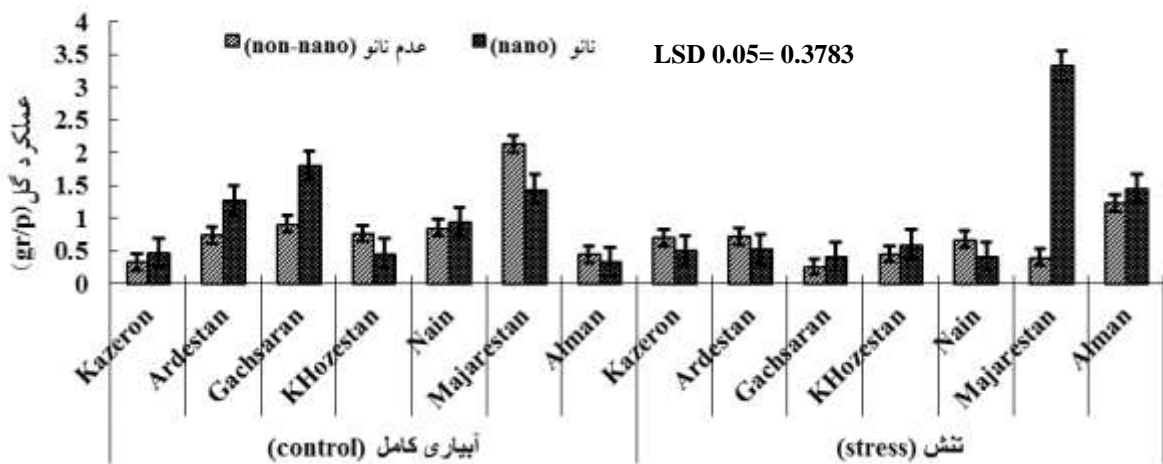
افزایش فعالیت آن در اکوتیپ‌های گچساران، ناین و مجارستان شد (شکل ۶). آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تبدیل مونوفنول‌ها را به دی‌فنول‌ها و همچنین اکسیداسیون دی‌فنول‌ها را به کوئینون‌ها که در پلی‌میرزاسیون رنگدانه نقش دارند، کاتالاز می‌کند؛ بنابراین افزایش این آنزیم می‌تواند موجب کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن به سیستم فتوستتزی گیاه شود به طوری که نتایج این آزمایش نیز نشان داد در اکوتیپ‌هایی که فعالیت این آنزیم افزایش پیدا کرد و میزان ماده خشک نیز بیشتر شد (Breusegem *et al.*, 2001). همچنین این آنزیم اکسیداسیون دی‌فنول‌ها را به کوئینون‌ها که در پلی‌میرزاسیون رنگدانه‌ها نقش دارند کاتالاز می‌کند که از این طریق گیاه می‌تواند از تخریب رنگدانه‌ها در طی تنش جلوگیری نماید بنابراین افزایش فعالیت

آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز در اثر خشکی و یا درجه حرارت بالا گزارش شده است (Halliwell, 2006). پراکسیداز به‌عنوان کاتالیزور سبب تبدیل گلوکاتیون به گلوکاتیون دی‌سولفید شده و در تبدیل هیدروژن پراکسیداز به آب نقش داد. گلوکاتیون بر فعالیت آنزیم دی‌آسکوربات ردوکتاز که موجب تبدیل دی‌هیدروآسکوربات به آسکوربات می‌شود تأثیرگذار است (Hossain and Fujita, 2011 و Krishna and Bhabak, 2010).

نتایج نشان داد که، فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تحت تأثیر اثرات سه‌گانه در سطح یک درصد قرار گرفتند (جدول ۳). در آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن در اکثر اکوتیپ‌ها (به جزء مجارستان) موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز شد. همچنین در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن موجب



شکل ۶- نمودار مقایسه میانگین اثرات سه جانبه تنش خشکی، اکوتیپ و نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

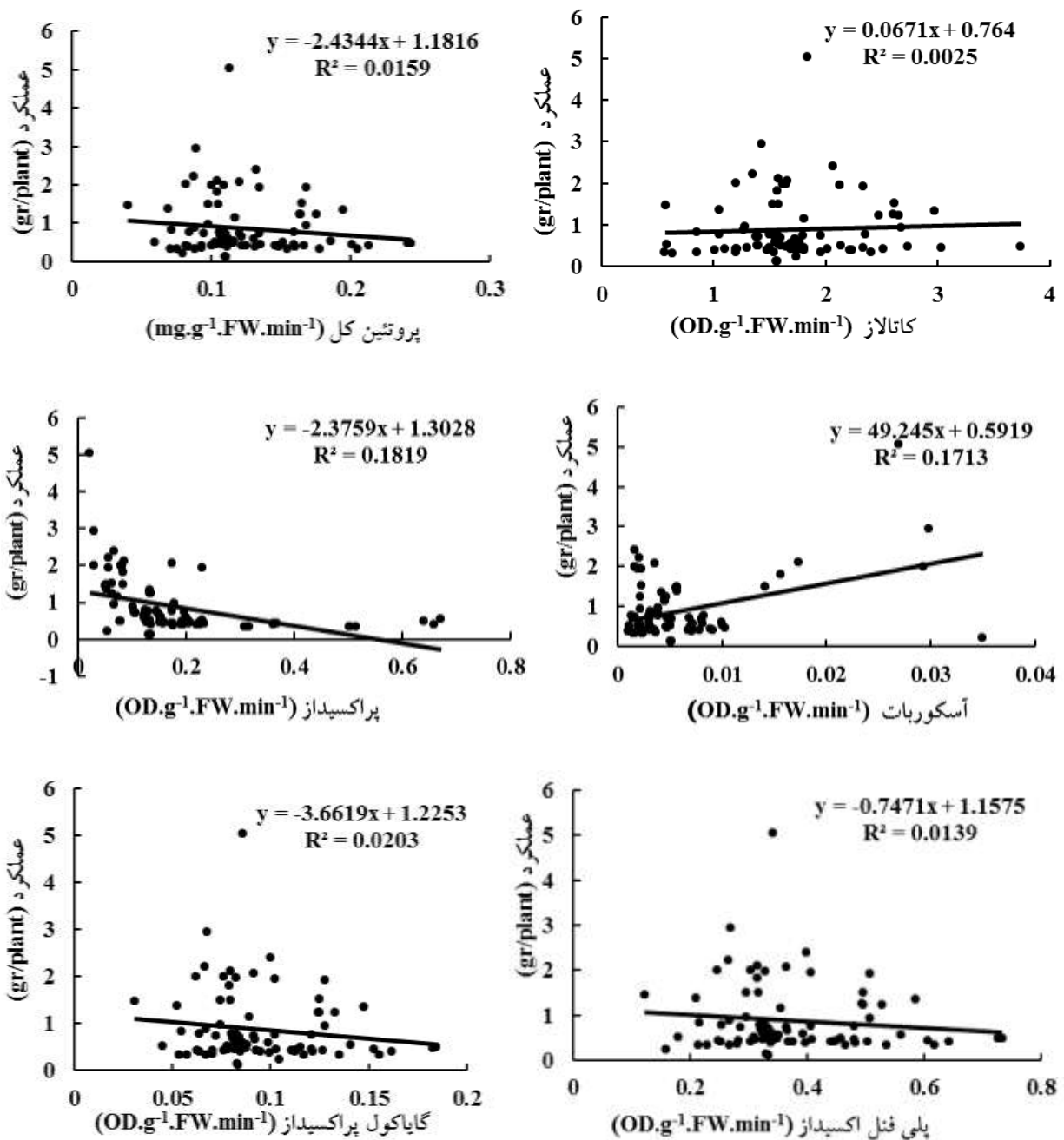


شکل ۷- نمودار مقایسه میانگین اثرات سه جانبه تنش خشکی، اکوتیپ و نانو کلات آهن بر عملکرد گل.

شد (شکل ۷). بیشترین عملکرد گل در شرایط تنش و محلول-پاشی از اکوتیپ مجارستان به دست آمد. از دلایل مهم کاهش عملکرد و اجزای عملکرد گیاهان در زمان تنش خشکی می-تواند به این دلیل باشد که در زمان بروز تنش، میزان مواد فتوسنتزی صادر شده از برگ‌ها کاهش می‌یابد، زیرا انتقال شیره از آوند آبکش وابسته به پتانسیل فشار است که در طی تنش خشکی پتانسیل آبی در آوند آبکش کاهش و کاهش پتانسیل آماس نیز از انتقال مواد فتوسنتزی و در نهایت از مقدار آسمیلات‌های ذخیره‌ای می‌کاهد (طباطبائی و همکاران، ۱۳۹۱)؛ و بالعکس حصول عملکرد بالا در شرایط تنش یا ناشی از سازوکار فرار از خشکی است و یا منتج از سازگاری رقم به علت فرایندهای خاص در گیاه از جمله انفعالات فیزیکی و

این آنزیم در اثر تنش می‌تواند جهت کاهش تخریب رنگدانه‌ها و سیستم‌های فتوسنتزی در طی تنش باشد. تغییرات در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در شرایط تنش‌های محیطی از جمله تنش کمبود آب گزارش شده است (Hirayama *et al.*, 2006).

اثرات سه جانبه تنش در اکوتیپ در نانو کلات آهن در سطح یک درصد بر عملکرد گل معنی‌دار بودند (جدول ۳). در آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن در اکوتیپ‌های خوزستان، مجارستان و آلمان موجب کاهش عملکرد گل و در بقیه ژنوتیپ‌ها، افزایش عملکرد گل را سبب شد. در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن نیز موجب افزایش عملکرد گل در اکوتیپ‌های گچساران، خوزستان، مجارستان و آلمان



شکل ۸- نتایج رگرسیون فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با عملکرد گل اکوتیپ‌های بابونه با محلول پاشی نانو کلات و تنش خشکی.

افزایش دور آبیاری در زیره سبز را جبران نمود (بقائی و همکاران، ۱۳۹۱). طی پژوهشی در اسفناج نیز مشخص نمودند که با کاربرد چهار کیلوگرم در هکتار نانو کلات آهن، می‌توان به عملکرد ۳/۷ تن در هکتار دست یافت (Ladan Moghadam *et al.*, 2012). نتایج بیشتر بررسی‌ها گویای آن است که کمبود آب به علت کاهش دادن محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (Burce, 1991)، کاهش در فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی

شیمیایی برای افزایش مقاومت در شرایط تنش است که باعث تحمل به خشکی می‌شود (رضایی و یوسفی‌آذر، ۱۳۸۷). در بررسی حسنی (۱۳۸۶) روی بادربشو مؤید این مطلب بود که با کاهش مقدار آب خاک، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و طول شاخه جانبی، عملکرد ماده‌تر و خشک در گلدان به‌دست آمد. همچنین در شرایط محدودیت آبیاری، می‌توان با کاربرد شش کیلوگرم نانو کود آهن در هکتار، کاهش عملکرد ناشی از

### نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج حاصله در این آزمایش خشکی تأثیر معنی-داری بر بابونه داشت و اکوتیپ‌های بابونه به نحو متفاوتی تحت تأثیر تنش قرار گرفتند. تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اکوتیپ‌های مختلف متفاوت بوده و در برخی اکوتیپ‌ها افزایش و در برخی دیگر کاهش پیدا کردند. در بین اکوتیپ‌های مورد بررسی، اکوتیپ خوزستان و آلمان نسبت به بقیه اکوتیپ‌ها، بیشترین تحمل را به تنش از خود نشان دادند. کاربرد مقادیر کم نانو کلات آهن نیز با کاهش تأثیرات مخرب تنش بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تأثیرگذار بود و در بیشتر اکوتیپ‌های مورد بررسی موجب افزایش سازوکارهای دفاعی گیاه در مقابله با تنش شد.

(Fendina et al., 1993)، کاهش فتوسنتز و رشد (Cronic and Massacci, 1996) نتیجه خود را به صورت کاهش عملکرد نمایان می‌سازد. روش‌های مختلفی برای مطالعه پایداری عملکرد استفاده شده است که روش رگرسین خطی بیشترین کاربرد را داشته است هر چند که تلفیق پایداری با عملکرد برای گزینش ژنوتیپ‌های پایدار پر محصول مناسب‌تر است (Leon, 1988). نتایج پیش‌بینی عملکرد گل نشان داد؛ مقدار آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز بیشترین سهم را در پیش‌بینی عملکرد گل دارد. تغییرات مقدار این آنزیم‌ها با عملکرد از نوع خطی است و افزایش آسکوربات پراکسیداز می‌تواند موجب افزایش عملکرد و افزایش پراکسیداز موجب کاهش عملکرد شود (شکل ۸).

### منابع

- بقایی، ن.، کشاورز، ن. و نظران، م. ن. (۱۳۹۰) بررسی اثر نانو کلات آهن خضراء بر عملکرد و اجزای عملکرد برنج (رقم شربودی). اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ساوه. ص ۱-۵.
- پیوندی، م.، پرنده، ه. و میرزا، م. (۱۳۹۰) مقایسه تأثیر نانو کلات آهن بر پارامترهای رشد و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان ریحان *Ocimum basilicum*. مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی. ۱: (۴). ۲۲-۲۵.
- پیوندی، م.، کمالی جامکانی، ز. و میرزا، م. (۱۳۹۰) تأثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مرزه (*Satureja Hortensis*). مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی. دوره دوم، شماره پنجم. ۲۵-۳۱.
- حسنی، ع. (۱۳۸۵) بررسی تأثیر تنش خشکی بر رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.). فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۲ (۳): ۲۶۱-۲۵۶.
- حیدری، م. و کرمی، ا. (۱۳۹۲) بررسی اثر تنش خشکی و گونه‌های میکوریزا بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه، میزان کلروفیل و ترکیبات بیوشیمیایی آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.). تنش‌های محیطی در علوم زراعی. ۶ (۱): ۱۷-۲۶.
- دهقانی مشکانی، م. ر.، نقدی بادی، ح. ع.، درزی، م. ت.، مهرآفرین، ع. رضازاده، ش. و کدخدای، ز. (۱۳۹۰) تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد کمی و کیفی گیاه بابونه شیرازی (*Matricaria recutita* L.). فصلنامه گیاهان دارویی. ۲ (۳۸): ۳۵-۴۸.
- رضایی، ا. م. و یوسفی‌آذر، م. (۱۳۸۷) مقایسه انتخاب مستقیم و غیرمستقیم بر اساس شاخص‌های مختلف انتخاب در لاین‌های گندم در شرایط معمول و تنش رطوبتی. علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی). دوره ۱۲. شماره ۴۵. ۲۱-۲۳.
- زمانی، ز.، مستاجران، ا. و اصغری، غ. ر. (۱۳۹۱) اثر تنش خشکی بر رشد و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه زردچوبه (*Curcuma longa* L.). فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، شماره ۲۷، سال هفتم، شماره ۳. ۳۱-۳۷.
- طباطبایی، س. ع.، قاسمی، ع. و شاکری، ا. (۱۳۹۰) اثر تنش آبی بر عملکرد، اجزای عملکرد و میزان روغن کلزا. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۳ (۱۲): ۵۳-۴۱.
- عسکری، م.، امیرجانی، م. ر. و صابری، ط. (۱۳۹۳) بررسی اثرات نانو کلات آهن بر رشد برگ، مقدار کربوهیدرات و آنتی‌اکسیدان-

- های پریش (Catharanthus roseus). فرایند و کارکرد گیاهی، جلد ۳، شماره ۷، ۴۳-۵۵.
- فتحی‌ع، زاهدی م. و ترابیان، ش. (۱۳۹۱) تأثیر محلول پاشی نانو ذرات آهن و روی بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گندم تحت تنش شوری. نخستین کنفرانس ملی راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار.
- لباسچی، م. ح. و شریفی عاشور آبادی، ا. (۱۳۸۳) شاخص‌های رشد برخی گونه‌های گیاهان دارویی در شرایط مختلف تنش خشکی. فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۰ شماره ۳. ۲۶۱-۲۴۹.
- لشکری صیاد، ف.، گلوی، م. و رمودی، م. (۱۳۹۲) اثر پلیمر سوپر جاذب، کود دامی و پتاسیم بر میزان فلورسانس کلروفیل، کلروفیل a و b کلروفیل کل و آب نسبی (RWC) گیاه کارلا (*Momordica charantia*) در دوره‌های مختلف آبیاری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه زابل، ۱۲۱ ص.
- نادری، م. و دانش شهرکی، ع. (۱۳۹۰) کاربرد فناوری نانو در بهینه‌سازی فرمولاسیون کودهای شیمیایی. ماهنامه فناوری نانو. ۴ (۲۰): ۲۲-۱۶۵.
- نعیمی م، اکبری غ، شیرانی راد، ا. م.، حسنلو، ط. و اکبری، غ. ع. (۱۳۹۱) اثر کاربرد ژئولیت و محلول پاشی سلنیوم در شرایط تنش کم آبی بر روابط آبی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه دارویی کدو پوست کاغذی. مجله به زراعی، ۱۴ (۱): ۶۷-۸۱.
- قاندی جشنی، م.، موسوی نیک، س. م. (۱۳۹۴). تأثیر تنش خشکی و کودهای فسفر و روی بر صفات زراعی مورفولوژیکی و میزان اسانس بابونه آلمانی. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی. ۸ (۱): ۷۲-۶۵.
- Alexiva, V., Sergieva, I., Mamelli, S. and Karanova, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant cell and Environment*. 24: 1337- 1344.3.
- Anjum, S., Umar. and A. Ahmed, Eds., IK International Publishing House Pvt. Ltd. New Delhi, India.
- Applequist., W. L. (2002) A reassessment of the nomenclature of *Matricaria chamomilla* L. and *Tripleuro spermum* Sch Bip. (Asteraceae). *International Association for Plant Taxonomy (IAPT)*, 51 (4): 757-761.
- Baybordi, A. (2005) Effect of zinc, iron, manganese and copper on wheat quantity and quality under salt stress conditions. *J. Water Soil*. 140: 150-170.
- Beers, R. F. and Sizer, I. W. (1952) a spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological chemistry*, 195: 133-140.
- Blakrishman, K. (2000) Peroxidase activity as an indicator of the iron deficiency banana. *Indian Journal Plant Physiological*, 5:389-391.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Anal. Biochemist*. 72: 248-254.
- Breusegem, F.V., Vranova, E., Dat, J. F., and Inze, D. (2001) The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Sciences*. 161: 405-414.
- Burce, J. A. (1991) Comparative responses of leaf conductance to humidity in single attached leaves. *Journal of Experimental Botany* 32: 629-634.
- Cronic, C. and Massacci, A. (1996) Leaf photosynthesis under drought stress. In: *Photosynthesis and the environment* (ed. Baker, N. R.) 347-366. Kluwer Academic Publishing. Dordrecht-Boston-London.
- Das M, Singh, B. and Prasad, R. (2004) Response of maize (*Zea mays*) to phosphorus-enriched manures growing P-deficient Alf sols on terraced land in Meghalaya. *Journal Agriculture of Science*, 61(6): 383-388.
- De Marco, A, Guzzardi P, Jamet E. (1999) Isolation of Tobacco Isoperoxidases Accumulated in Cell-Uspension Culture Me-dium and Characterization of Activities Related to Cell Wall Metabolism. *PlantPhysiol*, 120, 371-382.
- Demiral, T. and Türkan, I. (2004) Does exogenous glycine betaine affect ant oxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? *Journal of Plant Physiology* 161: 1089-1100.
- Fendina, I. S., Tsonev, T. and Guleva, E. L. (1993) The effect of pretreatment with praline on the responses of (*Pisum sativum* L.) to salt stress. *Photosynthetic* 29:521-527.
- Grmbow, H. J. and Langenbeck, S. B. (1983) The Relationship Between Oxidase Activity, Peroxidase Activity, Hydrogen Peroxi-dase and Phenolic Compounds in the Degradation of Indole-3-Acetic Acid in vitro, *Planta*, 157: 131-137.
- Guo, Z., Ouw Lu, S. and Zhong, Q. (2006) Differential responses of ant oxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44: 828-836.

- Halliwell, B. (2006) Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141:312-322.
- Hirayama, M., Y. Wada, and Nemoto, H. (2006) Estimation of drought tolerance based on leaf temperature in upland rice breeding. *Breed Science*. 56: 47-54.
- Hossain, M. A. and Fujita, M. (2011) "Regulatory role of components of ascorbate-glutathione (AsA-GSH) pathway in plant tolerance to oxidative stress," in *Oxidative Stress in Plants: Causes Consequences and Tolerance*, N. A.
- Jiang, Y. and Huang, B. (2001) Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cool-season grasses. 52(355): 341-9.
- Jiang, Y. and Huang, N. (2001) Drought and heat stress in jury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*. 41, 436-442.
- Keyhani, J., Keyhani, E. and Kamali, J. (2002) Thermal Stability of Catalases Active in Dormant Saffron (*Crocus sativus* L.) corms. *Molecular Biology Reports*. 29: 125-128.
- Koksal, E. and Gulcin, I. (2008) Antioxidant activity of cauliflower. *Turkish Journal Agriculture*, 32: 65-78.
- Krishna, P. Bhabak, Govindasamy Muges. (2010) "Functional Mimics of Glutathione Peroxidase: Bio inspired Synthetic Antioxidants" *Acc. Chem. Res*, 43 (11), pp. 1408-1419.
- Krystofova O, Sochor J, Zitka O, Babula P Kudrle V, Adam, V. and Kizek, R. (2013) Effect of Magnetic Nanoparticles on Tobacco BY-2 Cell Suspension Culture. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10: 47-71.
- Ladan Moghadam, A., Vattani, H., Baghaei, N. and Keshavarz, N. (2012) Effect of different levels of fertilizer nano\_iron chelates on growth and yield characteristics of two varieties of Spinach (*Spinacia oleracea* L.): Varamin 88 and Viroflay. *Research Journal Apply Science. Engin. Technology*. 4(12), 4813-4818.
- Leon, J. (1988) Methods of simultaneous estimation of yield and yield stability. pp. 299-308. In: *Biometrics in Plant Breeding. Proceedings of the Sixth Meeting of Eucarpia Section*, Birmingham. U. K.
- Letchamo, W., R. Marquard, J. Holzal and Gosselin, A. (1994) Effects of water supply and light intensity on growth and essential oil of two Thymus vulgaris selections. *Angewandete Botanik* 68: 83-88.
- Madhusudhan, R., Ishikawa, T., Sawa, Y., Shiyeoka S. and Shibata, H. (2003) Characterization of an ascorbate peroxidase in plastids of tobacco BL-2 cells. *Physiology of plant* 117: 550-557.
- Mazaherinia, S., Astarai, A.R., Fotovat, A. and Monshi, A. (2010) Nano iron oxide particles efficiency on Fe, Mn, Zn and Cu concentrations in wheat plant. *World Apply Sciences Journal*. 7 (1), 36- 40.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*. 7, 405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. And Vanbreusegem, F. (2004) Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Science*, 9: 490-498.
- Moaveni, P. and Kheiri, T. (2011) TiO<sub>2</sub> Nano Particles Affected on Maize (*Zea mays* L.). 2<sup>nd</sup> International Conference on Agricultural and Animal Science in Singapore by International Proceeding of Chemical, Biological and Environmental Engineering. *International Association of Computer Science and Information Technology Press*. 22. 160-163.
- Mohammadi, M. and kazemi, H. (2002) Changes in peroxidase and Polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. *Plant Science*, 162: 491-498.
- Movludi, A., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S., Davari, M. and Parmoon, GH. (2014) The Effect of Water Deficit and Nitrogen on the Antioxidant Enzymes' Activity and Quantum Yield of Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Not Bot Horticulture Agrobiology*, 42(2):398-404.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*. 22: 867-880.
- Nakano, Y. and K. Asada. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*. 22: 867-880.
- Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998) "ASCORBATE AND GLUTATHIONE: Keeping Active Oxygen Under Control". *Annu Rev Plant Physiology Plant Mol Biolology*, 49: 249-279.
- Pandey, A. C., Sanjay, S. S. and Yadav, R. S. (2010) Application of Zn nanoparticles in influencing the growth rate of Cicer arietinum L. *Journal of Experimental Nano science*, 5, 488-497.
- Prasad, T. N., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja Reddy, K., Sreeprasad, T. S., Sajanlal, P. R. and Pradeep, T. (2012) Effect of Nano scales Zinc Oxide on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition* 35: 905-927.
- Ranjan R, Bohra, S.P. and Jeet, A.M. (2001) *Book of plant senescence*. Jodhpur, Agro bios New York. pp.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekananda, M. (2004) Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal Plant Physiology*, 161: 1189-1202.

- Ruiz, J., Baghour, M. and Roomers, L. (2000) Efficiency of the different genotypes of tomato in relation to foliar content of Fe and the response of some bio indicators. *Journal of Plant Nutrition*, 23: 1777-1786.
- Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. and Saxena, D. C. (2002) Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biological Plant arum* 41(3): 387-394.
- Shehab, G.G., Ahmed, O. K. and El-Beltagi, H. S. (2010) Effects of various chemical agents for Alleviation of drought stress in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Notulae Botanicae Horticulture Agrobotanici*. 38, 139-148.
- Singh, D. P. (1989) Evaluation of specific dehydration tolerance traits for improvement of drought resistance. In *drought resistance in Cereals* edited by F. W. G. Baker. Pp: 165-175.
- Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., and Srivastava, M K. (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *pharmaecognosy Review*. 5 (9): 82-95.
- Sinha, S. and Saxena, R. (2006) Effect of iron on lipid peroxidation ,and enzymatic and non-enzymatic antioxidant and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. *shemosphere*, 62(8):134-135.
- Smirnof, N. (1993) Plant resistance to environmental stress. *Curry. Opine. Biotechnology* 9: 214-219.
- Soha, E., Nahed, G. and Bedour, H. (2010) Effect of water stress, ascorbic acid and spraying time on some morphological and biochemical composition of *Ocimum basilicum* plant. *Journal of American Sciences*. 6(12): 33-44.
- Trifunovic, A., Hansson, A., Wredenberg, A., Rovio, A. T., Dufour, E., Khvorostov, I., *et al.* (2005). Somatic mtDNA mutations cause aging phenotypes without affecting reactive oxygen species production. *Proc. National Academic Science. U.S.A.* 102, 17993–17998.
- Valadabadi, S. A. and Farahani, H. A. (2011) Investigation of biofertilizers influence on quantity and quality characteristics in *Nigella sativa* L. *Journal of Horticulture. Forestry* 3(3): 88-92.
- Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., angebartels, C., Van Montagu, M., Inze, D. and VanCamp, W. (1997) Catalase is asink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defense in C3 plants. *EMBO Journal*. 10, 1723-32.
- Winston, G. W. and Cederbum, A. I. (1993) Oxyradical Production by Purified Components of Liver Microsomal Mixed-Function Oxidase System I: Oxidation of Hydroxyl Radical Scavenging Agents, *J. Biol Chem*, 258, 1508-1513.
- Xu, P. L., Guo, Y. K., Bai, J. G., Shang, L. and Wang, X. J. (2008) Effects of long-term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light. *Physiological Planetarium*, 132: 467-478.
- Yang, F., Hong, F. S., You, W. J., Liu, C., Gao, F. Q., Wu, C. and Yang, P. (2006) Influences of nano-anatase TiO<sub>2</sub> on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research*, 110: 179-190.
- Yazdanpanah, S., Baghizadeh, A. and Abbassi, F. (2011) The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on biochemical characteristics of *Sular hortensis*. *African Journal of Agriculture Research*. 6: 798-809.
- Zuo, Y. and Zhang, F. (2011) Soil and crop management strategies to prevent iron deficiency in crops. *J. Plant Soil*. 339, 83-93. Singh G .1980. Effect of growth regulators on pudding and yield of mung bean (*Vigna radiate* L. Wilczek). *Plant Physiology*. 23: 366370.