فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۴، شماره ۶۸، مهر و آبان‌ماه ۱۴۰۴ صفحه: ۶۹-۸۶
https://doi.org/10.22034/14.68.69

مقاله پژوهشی

بررسی پاسخ فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) به سمیت نانوذرات اکسید منگنز

پروانه روستایی[۱]، خدیجه کیارستمی[۱*]، زهرا ناظم بکایی[۱] و محمد عبدلی[۲]
[۱] گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، ونک، تهران، ایران
[۲] گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۱۱/۰۸)

چکیده

بادرنجبویه گیاهی دارویی و خودرو در طبیعت است که مانند سایر گیاهان خودرو تحت تأثیر آلاینده‌های صنعتی، خانگی و کشاورزی قرار می‌گیرد. این پژوهش علمی به بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی بادرنجبویه به غلظت‌های بالای نانوذرات اکسید منگنز می‌پردازد. هدف از این مطالعه درک چگونگی واکنش این گیاه دارویی در مواجهه با نانوذرات اکسید منگنز در غلظت‌های مختلف صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ ppm است. بدین منظور محلول‌پاشی نانوذرات منگنز روی گیاهان ۱۲۰ روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. شاخص‌های مختلفی برای ارزیابی تأثیر نانوذرات اکسید منگنز روی گیاهان از جمله: محتوای نسبی آب، محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، پراکسیداسیون لیپیدی، محتوای کلروفیل‌ها، کارتنوئیدها، پروتئین کل، پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، فنیل‌آلانین آمونیالیاز و سینامات۴- هیدروکسیلاز سنجش شد. همچنین محتویات کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول، رزمارینیک اسید و بیان ژن‌های RAS و PAL را بررسی گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که تیمارهای ۲۵۰ و ppm ۵۰۰ موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنزیم‌های دفاعی در برگ شده‌اند، اما محتوای متابولیت‌های ثانویه را کاهش داده‌اند. در تیمار ppm ۷۵۰، گیاهان نسبت به کنترل، کاهش معنی‌داری در میزان H_2O_2 و مالون دی‌آلدئید و افزایش معنی‌داری در محتوای پرولین بترتیب به میزان ۱۵/۹۲، ۲۴/۴۳ و ۰/۵۴ درصد نشان دادند. از سوی دیگر در تیمار ppm ۱۰۰۰، علی‌رغم افزایش معنی‌دار شاخص‌های تنش، افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، فلاونوئید، رزمارینیک اسید و فعالیت آنزیم‌های PAL و C4H را بترتیب به میزان ۲۰/۶۲، ۱۲۲/۴۶، ۲۹/۳۷، ۲۱/۸۸، ۲۵/۳۳ و ۱۹/۰۹ درصد در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. با توجه به نتایج بدست آمده، گیاه بادرنجبویه می‌تواند غلظت‌های مشخصی از آلودگی محیط به نانوذره منگنز را تحمل کند. در صورت انجام مطالعه بیشتر در این زمینه، می‌توان توانایی این گیاه را در قرار گرفتن در زمره گیاهان پاک‌کننده محیط، را بررسی نمود و از آن جهت برنامه‌های اصلاح مناطق آلوده استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: پرولین، رزمارینیک اسید، سوپراکسید دیسموتاز، فنیل‌آلانین آمونیالیاز

مقدمه

قهرمان (۱۳۷۲) در کتاب گیاه‌شناسی عمومی، گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) را یک گیاه دارویی متعلق به خانواده نعناعیان معرفی می‌نماید (اسمعیل‌زاده سالستانی، ۱۳۹۱). این

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: kh.kiarostami@ alzahra.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

گیاه چند ساله، علفی، دارای ساقه‌های ایستاده، چهار گوش و دارای شاخه‌های فرعی بلند، منشعب و از پایین تا رأس برگ دار است. برگ‌ها، متقابل، قلبی (در قاعده ساقه) یا تخم مرغی شکل (در انتهای ساقه) با حاشیه دندانه‌دار اره‌ای یا کنگره‌ای هستند. گل‌ها سفید یا متمایل به صورتی، دارای دمگل کوتاه، مجتمع و بصورت محوری روی ساقه‌ها قرار می‌گیرند. دانه‌ها قهوه‌ای تیره و براق به طول ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر هستند (سلطانی مایوان، ۱۳۹۱). گیاه بادرنجبویه به جهت داشتن اسیدهای فنلی، دارای خواص ضدمیکروبی است. از جمله مهمترین ترکیبات ثانویه گیاه بادرنجبویه رزمارینیک اسید است که یک آنتی‌اکسیدان قوی است و اثر درمانی عارضه تبخال را به گیاه بادرنجبویه می‌هد. بعلاوه در منابع طب سنتی خواص افزایش‌دهنده نیروی بدن، رفع سردرد، میگرن، سرگیجه، بی‌خوابی، مالیخولیا، آلزایمر، دردهای عصبی دندان و گوش درد، آرام‌بخش، ضداسپاسم، تسکین‌دهنده عمل هضم، مقوی معده و بادشکن برای آن ذکر شده است (Mahmoudi, 2014).

عنصر منگنز یکی از عناصر ضروری و کم‌مصرف در گیاهان است. وسایل نقلیه، احتراق سوخت‌های فسیلی، فرسایش، معادن زغال سنگ، ذوب فلزات، کارخانه‌های فولاد، ریخته‌گری، باطری‌سازی و زباله‌های جامد شهری باعث انتشار منگنز در طبیعت می‌شوند. فلز منگنز به میزان بسیار کمی مورد نیاز گیاه است و در صورت زیادشدن مقدار آن در خاک، اثر مسموم‌کننده بر روی گیاهان خواهد داشت. ظهور لکه‌های قهوه‌ای در اثر مجاورت با اکسید منگنز در رگبرگ، دمبرگ و ساقه نشانگر سمیت این فلز در مقادیر بالا برای گیاه است. نانوذرات می‌توانند طی فرآیندهای طبیعی مانند آتش‌سوزی جنگل‌ها، فعالیت آتشفشان‌ها، فرسایش، ریختن پوست یا موی جانوران در طبیعت و یا واکنش‌های فیتوشیمیایی تولید شوند. نانوذرات به علت اندازه کوچک (مقیاس نانومتر) و داشتن نسبت سطح به حجم بالا دارای انرژی سطحی فراوانی هستند که موجب می‌شود، بسیار دقیق‌تر و مؤثرتر از ترکیبات غیرنانو از همان جنس عمل کنند. این ویژگی موجب شده که تمایل به استفاده از محصولات نانو در کشاورزی بیشتر از سایر ترکیبات غیرنانو شود (خوشدل، ۱۳۹۶). کاربرد نانومواد در کشاورزی در زمینه کودها، قارچ‌کش‌ها، سم‌ها و تقویت‌کننده‌ها است. البته نانوذرات مانند سایر کودها و سم‌های غیرنانو، به دلیل اینکه یک عامل خارج سلولی هستند، به عنوان یک محرک عمل می‌کنند که پاسخ‌های ایمنی گیاه را فعال می‌کنند و اگر غلظت کاربردشان بالا باشد، موجب ایجاد سمیت در گیاه و محیط‌زیست می‌شوند. لذا مانند سایر محصولات شیمیایی دیگر مورد استفاده در کشاورزی، غلظت استفاده از آنها باید کنترل شود. براساس گزارشات مقدار کاربرد نانوذرات بسته به اهداف مختلف نانوکودها و حشره‌کش‌ها برای نانوذره اکسید مس (CuO) ۲۰۰ تا ۴۰۰ ppm (Wang *et al.*, 2019)، نانوذره اکسید روی (ZnO) ۴۰ تا ۱۲۰۰ ppm (Sadak and Bakry, 2020)، نانوذره نقره (Ag) ۲ تا ۲۰۰۰ ppm (Elmer and White, 2018)، اکسید سریوم (CeO_2) ۱۲۵ تا ۵۰۰ ppm (Rico *et al.*, 2014)، نانوذره طلا (Au) تا ۵ ppm (Kang *et al.*, 2016)، نانوذره سرب (Pb) تا ۸۵ ppm (Ghorbani *et al.*, 2014) است. بعلاوه در مطالعه‌ای که خاک پنج منطقه در استان ارومیه انجام شد نشان داد که غلظت نانوذره روی (Zn) ۵۵/۴ تا ۱۸۵، مس (Pb) ۲۲/۹ تا ۱۲۱/۵، کادمیوم (Cd) ۰/۴۹ تا ۱/۵۹، سرب (Pb) ۲۹/۱ تا ۱۲۲/۱ و نیکل (Ni) ۲۱/۸ تا ۹۹/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (Rezapour *et al.*, 2022). به وضوح مشخص است که اخیراً نانوذرات درحال تبدیل به یک زباله زیستی در طبیعت هستند.

مقادیر اضافی منگنز در گیاهان می‌تواند باعث تداخل در جذب و انتقال سایر مواد معدنی حیاتی مانند: کلسیم، آهن و منیزیم با ایجاد رقابت در اتصال به ناقل‌های مشترک این یون‌های فلزی داخل گیاه شوند (Ueno *et al.*, 2015). لازم به ذکر است که سمیت نانوذرات می‌تواند ناشی از برهمکنش بین خود نانوذره و مسیرهای انتقال سلول باشد (Ma *et al.*, 2010). به عبارتی دیگر، سطح کوچک نانوذرات همراه با بار مثبت یون‌های فلزی موجب تمایل بیشتر این ذرات جهت واکنش با غشای پلاسمایی می‌شوند. زیرا که غشا پلاسمایی به دلیل داشتن گروه آنیون فسفات در فسفولیپیدها و برخی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

گلیکوپروتئین‌ها با شارژ منفی، تمایل زیادی برای جذب الکترواستاتیک نانوذرات با بار الکتریکی مثبت دارند (Sukhanova *et al*., 2018). در یک مطالعه مشاهده شد که نانوذرات منگنز در غلظت بالا (۲۰ ppm) باعث ایجاد سمیت ژنی و هیپومتیلاسیون DNA در خزه *Physcomitrella patens* شد (Ghosh *et al*., 2018). زیرا که نانوذرات با بار مثبت بیشتر از نانوذرات با بار منفی جذب سلول‌ها می‌شوند و با شدت بیشتری با DNA واکنش می‌دهند و چرخه سلولی و بیان ژن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. یکی از اثرات سمی منگنز کاهش محتوای کلروفیل‌های a و b و کارتنوئیدها و ایجاد استرس اکسیداتیو در گیاهان است (Demirevska-Kepova *et al*., 2004). همچنین مشاهده شده است که نانوذرات منگنز می‌توانند فضاهای بین سلولی و دیواره سلولی را مسدود کنند (Mustafa and Komatsu, 2016). با این وجود Ye و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که فرم نانوذره منگنز نسبت به سایر کاربردهای کود منگنز (بصورت نمک‌های شیمیایی غیرنانو) تأثیرات بهتری در فعالسازی سیستم دفاعی گیاه و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تنش‌های زیستی روی گیاهان زراعی دارد. با توجه به کثرت مطالعاتی که بیانگر اثرات مثبت ترکیبات نانو در مقایسه با کاربرد فرم‌های دیگر کودها هست (Dimkpa *et al*., 2017; Ravinderdeep *et al*., 2021)، استفاده از ترکیبات و مکمل‌های نانو در کشاورزی بسیار مورد اقبال قرار گرفته است. با توجه به نتایج پژوهش‌های گذشته محقق، مشاهده شد که نانوذره اکسید منگنز در غلظت‌های سمی نیز برخی تأثیرات مطلوب روی ترکیبات فنلی دارد (نتایج منشر نشده محقق). هدف از این پژوهش بررسی اثرات نانواکسید منگنز در گیاه بادرنجبویه بود. به این منظور که وقتی گیاه بادرنجبویه در معرض غلظت‌های بالای نانوذره اکسید منگنز قرار می‌گیرد، چه تغییراتی در شاخص‌های فتوسنتزی، محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و رزمارینیک اسید به عنوان یک ترکیبات ثانویه مهم، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و حتی بیان ژن‌های خاص مسیر بیوسنتز رزمارینیک اسید روی می‌دهد. بررسی این تغییرات می‌تواند ما را در تفسیر سازوکار مواجه بادرنجبویه با نانوذره اکسید منگنز یاری نماید.

مواد و روش‌ها

کشت گیاهان: بذر گیاه بادرنجبویه از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد و ابتدا در سه سینی کشت ۲۰۰ خانه‌ای در درون پشم‌سنگ در فاصله ۳ سانتی‌متری منبع نور در اتاق کشت قرار گرفت. ۴۰ روز پس از جوانه‌زنی بذرها، نشاها به گلخانه مطالعاتی دانشگاه الزهرا منتقل شد. در هر گلدان با قطر ۲۰ سانتی‌متر که با نسبت یک به دو از خاک و خاک برگ پر شدند، چهار عدد نشا قرار گرفت. پس از انتقال نشاها، گلدان‌ها هر سه روز یکبار آبیاری شد. در طول آزمایش هر هفت روز یکبار گلدان‌ها جابجا شدند تا شرایط نوری برای همه یکسان باشد (Silva *et al*., 2021).

تهیه محلول‌ها جهت تیمار: نانوذره اکسید منگنز (Mn_2O_3) از شرکت نانوصدرا خریداری شد. از نانوذره چهار غلظت ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ ppm در حلال اتانول تهیه و سپس به حجم ۲ لیتر رسانده شد. برای حلالیت بیشتر، از یک ساعت استفاده از حمام اولتراسوند استفاده گردید. سپس بصورت اسپری برگی روی گیاهان چهار ماهه بادرنجبویه (۲۵ تا ۳۰ برگی) تا مرحله خیس‌شدن کامل همه برگ‌ها تیمار داده شد. جهت نفوذ بیشتر محلول‌ها از چند قطره توین-۲۰ در همه محلول‌ها استفاده گردید. در این مرحله با پوشاندن سطح خاک گلدان‌ها از نفوذ محلول نانو ذره به داخل خاک جلوگیری شد. این آزمایش با چهار تیمار و سه تکرار از هر تیمار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌برداری جهت بررسی تأثیر تیمار روی بیان ژن‌ها انجام شد. در ادامه پس از دو هفته از روز تیمار، نمونه‌برداری جهت بررسی تأثیر تیمار نانوذره روی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بادرنجبویه انجام شد (Silva *et al*., 2021).

سنجش پارامترهای فیزولوژیکی و بیوشیمیایی: سنجش محتوای فنل کل به روش رنگ‌سنجی و با استفاده از معرف فولین سیکالتیو انجام شد (Lopez-Arnaldos *et al*., 1995). سنجش محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل به روش رنگ‌سنجی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

جدول ۱- توالی پرامیرهای رفت و برگشت ژن‌های مورد بررسی در پژوهش

نام کامل ژن	سمبل ژن	نوع پرایمر	توالی
phenylalanine ammonia-lyase	PAL	رفت	5’- CGGAAATGGGACAGAGACTAAC -3’
		برگشت	5’- GGTTGAGGAATTTGGTGATGGC -3’
hydroxycinnamoyl-CoA:hydroxyphenyllactate hydroxycinnamoyltransferase	RAS	رفت	5’-ACGCCCCGACCTCAACCTTATC -3’
		برگشت	5’-TTTGCCACGCCTAAGCCCAC -3’
beta-tubulin (*Salvia hispanica*)	TubB	رفت	5’-CATTCCCACGTCTCCACTTC-3’
		برگشت	5’-CACATTTGTTGCGTTAGCTCGG-3’

و با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم صورت گرفت (Zhishen *et al.*, 1999). بررسی محتوای پراکسیداسیون لیپیدها با اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید انجام شد (Heath and Packer, 1968). از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) جهت سنجش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها) استفاده گردید. بررسی محتوای پروتئینی با روش Bradford (۱۹۷۶) و محتوای پرولین با روش Bates و همکاران (۱۹۷۶) صورت گرفت. سپس به بررسی فعالیت‌های آنزیم کاتالاز با روش Dazy و همکاران (۲۰۰۸)، آنزیم پراکسیدازها با روش Liu و همکاران (۱۹۹۹)، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱)، آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و آنزیم سینامات ۴-هیدرواکسیلاز با روش Kyndt و همکاران (۲۰۰۲) پرداخته شد. سنجش محتوای H_2O_2 با روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) و سنجش محتوای کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول با روش Kochert کوچرت (۱۹۷۸) انجام شد.

میزان تجمع رزمارینیک اسید: سنجش رزمارینیک اسید در برگ به روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) با روش تغییریافته Oztork و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد. به این منظور ۰/۲ گرم پودر گیاهی با ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۵۰ درصد عصاره گیری شد. عصاره‌ها خشک و جهت کلروفیل‌زدایی، سه مرحله عصاره با اترنفت شسته شد. ۱۰ میلی‌گرم از عصاره خشک در ۲۰ میلی‌لیتر متانول مخصوص HPLC حل شد و پس از عبور از فیلتر ۰/۴۵ میکرولیتر، ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه به مدت ۱۰ دقیقه با سرنگ هامیلتون مخصوص HPLC به دستگاه تزریق شد. سیستم HPLC استفاده‌شده در اینجا شامل پمپ مدل Watter smart line 1050 ساخت کشور آلمان، یک آشکارساز اسپکتوفتومتری مدل 2600 photo diod array و ستون (NO 25741) C۱۸(250×4/6mm)، ۵ µm بود. فاز متحرک شامل مخلوط آب: متانول به نسبت ۵۵٪ به ۴۵٪ با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. برای آنالیز نمونه‌های رزمارینیک اسید از طول‌موج ۲۸۰ نانومتر استفاده شد. در نهایت با مقایسه زمان بازداری و سطح زیر منحنی نمونه با نمونه استاندارد، میزان رزمارینیک اسید تعیین و در نهایت براساس میلی‌گرم بر گرم ماده خشک برگ بیان شد.

بررسی بیان ژن‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز و رزمارینیک اسید سنتاز: از کیت شرکت دنا زیست آسیا (Column RNA isolation kit) برای استخراج RNA استفاده شد. با افزودن آنزیم DNase 1 (Thermo Scientific)، DNA ژنومی حذف شد. از کیت RevertAid First Stand cDNA Synthesis kit جهت ساخت cDNA استفاده شد. پرایمرهای اختصاصی ژن‌های مورد بررسی، ابتدا توسط محقق طراحی و سپس سفارش ساخت به شرکت دانش بنیان هیستوژن داده شد (جدول ۱). مخلوط واکنش شامل یک میکرولیتر cDNA، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت و ۵ میکرولیتر مسترمیکس سایبرگرین (SYBR Green Master Mi) با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر بود. بررسی بیان ژن به روش Relative Quantitative PCR با دستگاه PCR شرکت ABI Stepone ساخت آمریکا با سه مرحله صورت گرفت.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

مرحله اول پنج دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، مرحله دوم چهل چرخه شامل ۱۵ ثانیه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه ۷۲ درجه سانتی‌گراد و مرحله سوم منحنی ذوب ۱۵ ثانیه در فاصله دمایی ۶۵ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد با فاصله افزایشی ۰/۳ درجه در هر ثانیه بود. ژن TubB به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. روش محاسباتی $2^{-\Delta\Delta CT}$ تعداد نسخه‌های تکثیرشده برای هر ژن در هر نمونه نسبت به مقدار نسخه‌های تکثیرشده ژن کنترل داخلی در همان نمونه نرمالیزه شد (Livak and Schmittgen, 2001).

درنهایت داده‌های بدست آمده از پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS آنالیز شد. بررسی تفاوت معنی‌دار با تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد بررسی شد. نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

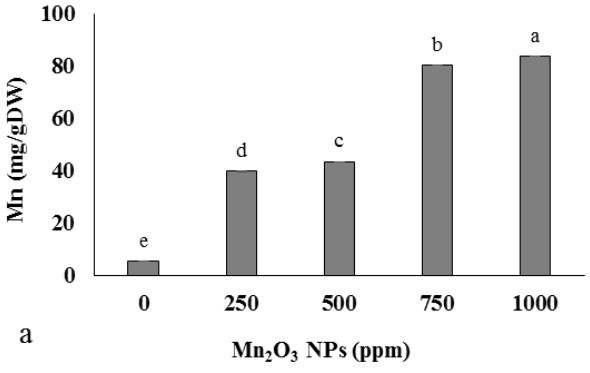
محتوای عنصر منگنز تجمع‌یافته در برگ‌ها پس از تیمار نانوذره اکسید منگنز: بررسی تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (شکل 1b)، نفوذ نانوذرات منگنز بصورت جداگانه و مجتمع را داخل بافت برگ گیاه بادرنجبویه نشان داد. بعلاوه بررسی مقایسه میانگین محتوای منگنز در برگ‌های گیاهان تیمارشده، نشان داد که با افزایش غلظت محلول‌پاشی برگی نانوذره اکسید منگنز، بطور معنی‌داری محتوای منگنز افزایش یافت (شکل 1a). افزایش محتوای منگنز تجمع‌یافته در برگ از مقدار ۵/۲۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در گیاه کنترل، بطور خطی افزایش یافت به مقدار ۸۳/۷۲۵ میلی‌گرم بر گرم در گیاهان تیمارشده با غلظت ppm ۱۰۰۰ رسید. هماهنگ با این نتایج در بررسی روی گیاه *Lepidium sativum* L. مشاهده شد که در غلظت‌های بالای تیمار یون منگنز (Mn^{2+}) (۲۵۰، ۵۰۰ و ppm ۸۰۰۰) محتویات منگنز در گیاهان افزایش یافته است (هاشمی و همکاران، ۱۳۸۹).

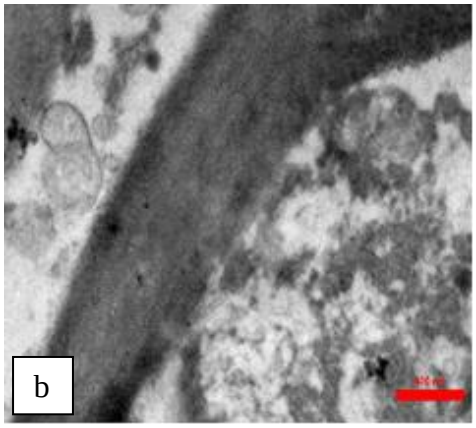
بررسی شاخص‌های فتوسنتزی برگ پس از محلول‌پاشی نانوذرات اکسید منگنز: آنالیز تجزیه واریانس شاخص‌های فتوسنتزی وجود اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد را در تمام شاخص‌های محتوای کلروفیل a و b و کارتنوئیدها و محتواهای کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول نشان داد (جدول ۲). محتوای کلروفیل a، کارتنوئیدها و کربوهیدرات‌های محلول تحت تأثیر تیمار نانوذرات اکسید منگنز با افزایش غلظت نسبت به گیاهان تیمارنشده کاهش یافتند و کمترین مقدار هر یک در تیمار ppm ۷۵۰ بترتیب با ۳۵/۲۱، ۳۵/۸۲ و ۷۴/۷۷ درصد کاهش نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد (شکل ۲- a، c و d). در پژوهش مشابه تیمار نانوذرات اکسید منگنز در گیاه *Triticum aestivum* نشان داد که در محدوده غلظت ۶ تا ppm ۳۷۸ نانوذره اکسید منگنز افزایش محتوای کلروفیل a رخ می‌دهد و در غلظت‌های بالاتر تیمار نانوذره اکسید منگنز موجب کاهش محتوای کلروفیل a می‌گردد (Dimkpa *et al.*, 2018). از طرفی افزایش غلظت تیمار نانوذرات معمولاً موجب کاهش محتوای کلروفیل‌ها می‌شود. برای نمونه افزایش غلظت نانوذره اکسید مس باعث کاهش میزان کلروفیل a و کارتنویئد در جلبک *Scenedesmus dimorphus* شد (کاظمی و شریعتی، ۱۳۹۸). محلول‌پاشی برگی نانوذره اکسید منگنز در اغلب غلظت‌ها تأثیر معنی‌داری روی محتوای کلروفیل b نداشت و تنها در غلظت ppm ۷۵۰ موجب ۳۲/۸۵ درصد کاهش معنی‌دار محتوای کلروفیل b شد (شکل 1b). محتوای کربوهیدرات‌های نامحلول در گیاهان تیمارشده با غلظت ppm ۲۵۰ نانوذره اکسید منگنز، ۲۱۲/۸۱ درصد نسبت به تیمار کنترل افزایش یافت و سپس با افزایش غلظت نانوذره محتوای کربوهیدرات‌های نامحلول کاهش یافت. بطوریکه در غلظت ppm ۱۰۰۰ بطور معنی‌داری کمتر از تیمار کنترل بود (شکل 2e). با توجه به عدم تأثیر معنی‌دار غلظت‌های پایین نانوذره اکسید منگنز، روی محتوای کربوهیدرات‌های نامحلول و همزمان کاهش معنی‌دار محتوای کربوهیدرات‌های محلول، بنظر می‌رسد تأثیر تیمار نانوذره اکسید منگنز با کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی موجب کاهش تولید کربوهیدرات‌های محلول شده است.

بررسی شاخص‌های مهم در تنش‌های غیر زیستی در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]





شکل ۱- a) مقایسه میانگین محتوای منگنز برگ بادرنجبویه تحت تأثیر تیمارهای مختلف نانوذرات اکسید منگنز. b) تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره از نفوذ نانوذرات اکسید منگنز به بافت برگ گیاه بادرنجبویه.

جدول ۲- بررسی تجزیه واریانس شاخص‌های فتوسنتزی و محتوای منگنز گیاه بادرنجبویه تحت تأثیر تیمار نانوذرات اکسید منگنز

منابع تغییر	df	میانگین مربعات						
		Mn (ppm)	کربوهیدرات نامحلول	کربوهیدرات محلول	پروتئین کل	کارتنوئیدها	کلروفیل b	کلروفیل a
			(µmol/gDW)		(mg/gFW)	(mg/gFW)		
تیمار	۴	۴۵۴۳۶۰/۸۳۶**	۶/۲۴۱**	۰/۶۸۲**	۰/۰۱۳*	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۸**	۰/۰۴۲**
اشتباه آزمایشی	۱۰	۰/۲۵۰	۰/۰۹۷	۰/۰۱۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
CV%		۰/۰۸۳	۱۷/۲۱۰	۱۰/۵۹۱	۷/۷۳۹	۳/۵۱۶	۴/۱۵۹	۰/۵۷۲

ns، * و ** بترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد است.

جدول ۳- بررسی تجزیه واریانس برخی شاخص‌های بیوشیمیایی فعال در سیستم دفاعی گیاه بادرنجبویه تحت تأثیر تیمار نانوذرات اکسید منگنز

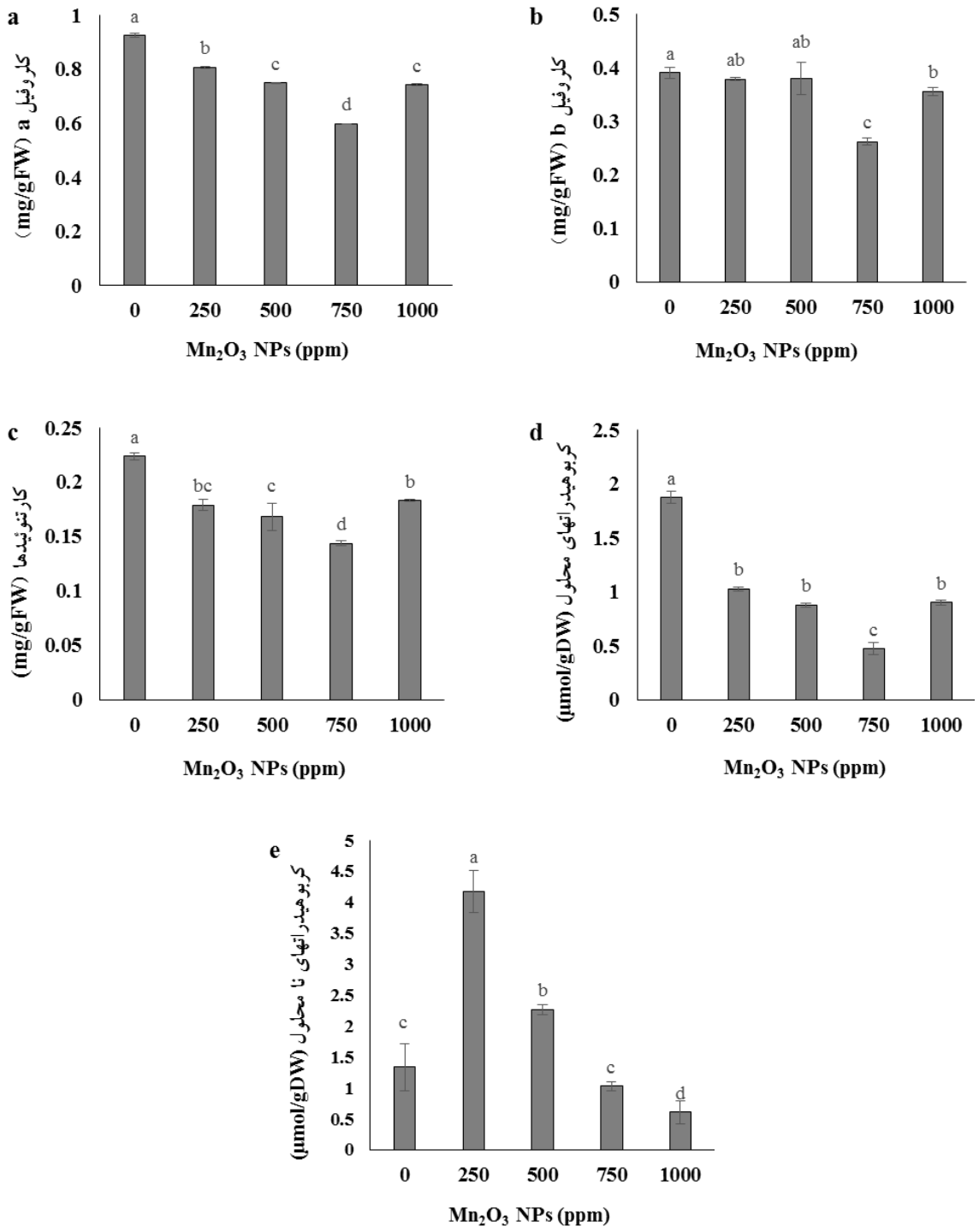
منابع تغییر	df	میانگین مربعات							
		ترپنوئیدها	RWC (%)	MDA (mmol/g FW)	H_2O_2	پرولین	IC_{50} (%)	CAT	POD	SOD
		(µg/gDW)			(µmol/gFW)			(u/min/ µg protein)		
تیمار	۴	۰/۰۰۵^{ns}	۶۴/۳۶۹ ^{ns}	۰/۰۷۵۱**	۶۰/۰۸۳**	۱۰/۰۰۹**	۱/۸۳۶^{ns}	۰/۰۰۰۱*	۰/۰۰۰۲^{ns}	۰/۰۰۰۳**
اشتباه آزمایشی	۱۰	۰/۰۰۲	۷۳/۷۰۱	۰/۰۰۴	۰/۴۷۳	۰/۵۴۷	۰/۸۷۸	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
CV%		۱۰/۰۳۶	۱۰/۷۹۱	۵/۳۵۶	۵/۹۵۷	۹/۲۷۵	۶/۴۷۲	۱۴/۶۸۶	۲۹/۰۹۷	۱۳/۳۸۱

ns، * و ** بترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد است.

برگ پس از اعمال تیمار نانوذره اکسید منگنز: محتوای H_2O_2 در همه غلظت‌های تیمار نانوذره اکسید منگنز به جز ۷۵۰ ppm بطور معنی‌داری بیشتر از تیمار کنترل بود. بطوریکه در غلظت ۱۰۰۰ ppm، ۱۱۲/۷۳ درصد بیشتر از تیمار کنترل بود. در حالیکه در تیمار ۷۵۰ ppm نانوذره اکسید منگنز کاهش ۱۵/۹۲ درصدی محتوای H_2O_2 نسبت به تیمار کنترل مشاهده گردید (شکل ۳a). در پژوهشی روی گیاه جو مشاهده شد که قرار گرفتن گیاه در معرض نانوذرات منگنز موجب افزایش تولید

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

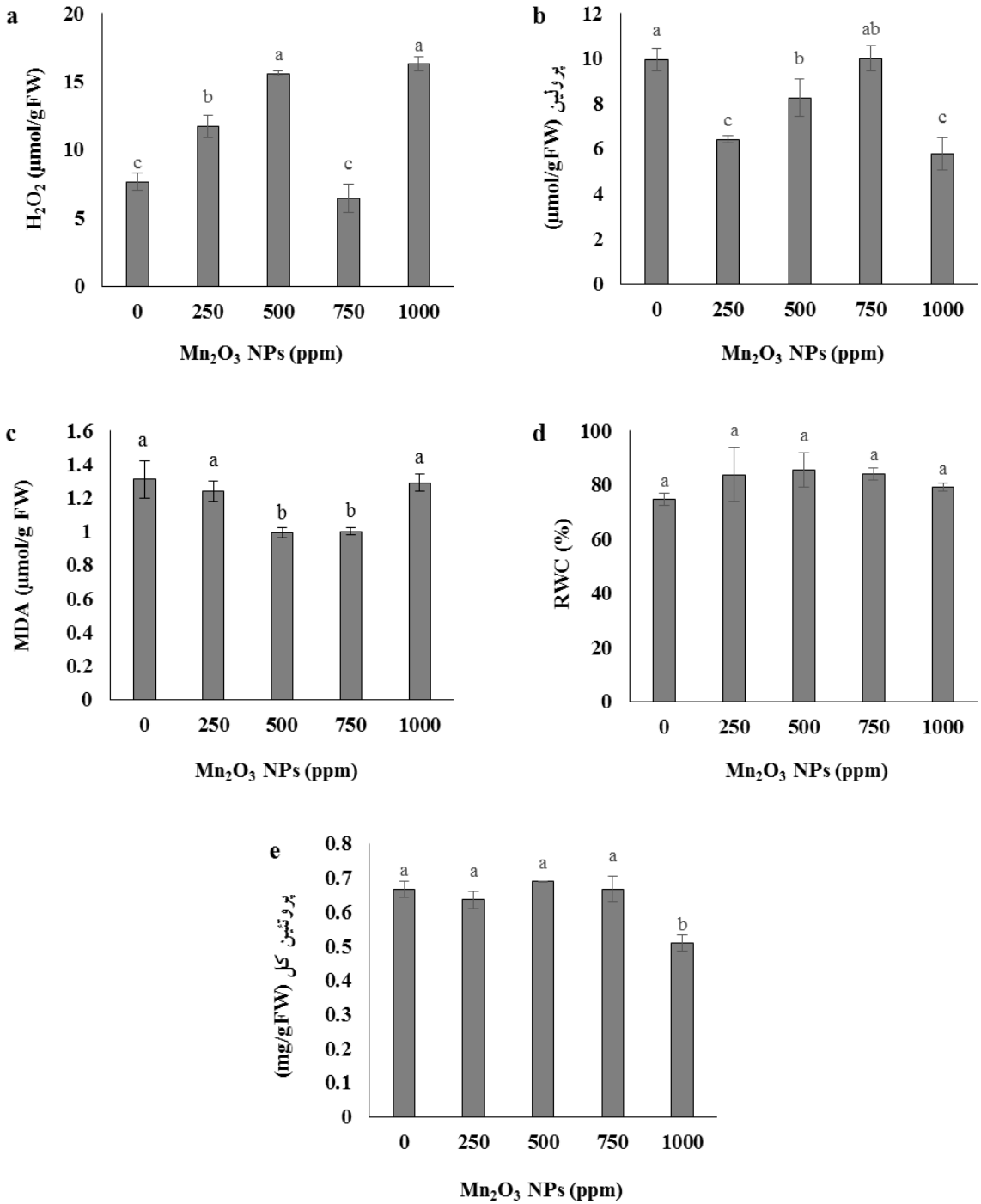
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]



شکل ۲- مقایسه میانگین محتوای کلروفیل a (a)، کلروفیل b (b)، کارتنوئیدها (c)، کربوهیدرات‌های محلول (d) و کربوهیدرات‌های نامحلول (e) برگ بادرنجبویه تحت تأثیر تیمارهای مختلف نانوذرات اکسید منگنز

H_2O_2, OH^-, O_2^- در گیاه می‌گردد (Ma *et al.*, 2010). بررسی محتوای پرولین در گیاهان تحت تیمار، روند افزایشی غلظت پرولین را با افزایش غلظت نانوذره اکسید منگنز نشان داد که پس از غلظت ppm ۷۵۰ محتوای پرولین کاهش می‌یابد (شکل ۳b). همبستگی معنی‌داری بین افزایش پرولین و کاهش H_2O_2 بین تیمارهای مختلف مشاهده می‌گردد. در تیمار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]



شکل ۳- مقایسه میانگین محتوای H_2O_2 (a)، پرولین (b)، مالون دی‌آلدهید (c)، درصد نسبی آب (d) و پروتئین کل (e) برگ بادرنجبویه تحت تأثیر تیمارهای مختلف نانوذرات اکسید منگنز.

ppm ۷۵۰ بالاترین محتوای پرولین (۰/۵۴ درصد بیشتر از تیمار کنترل) و کمترین محتوای H_2O_2 مشاهده شد. با این وجود، محتوای پرولین در همه تیمارهای نانوذره اکسید منگنز کمتر از تیمار کنترل بود. هماهنگ با این نتایج در بررسی تأثیر نانوذره اکسید منگنز (Mn_2O_3) روی گیاه درمنه، مشاهده شد که تیمار نانوذره منگنز در گیاهان ۶۰ روزه، محتوای پرولین را نسبت به کنترل ۸۵ درصد افزایش می‌دهد. اما در گیاهان ۹۰ و ۱۲۰ روزه مقدار پرولین را نسبت به کنترل کاهش می‌دهد که

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

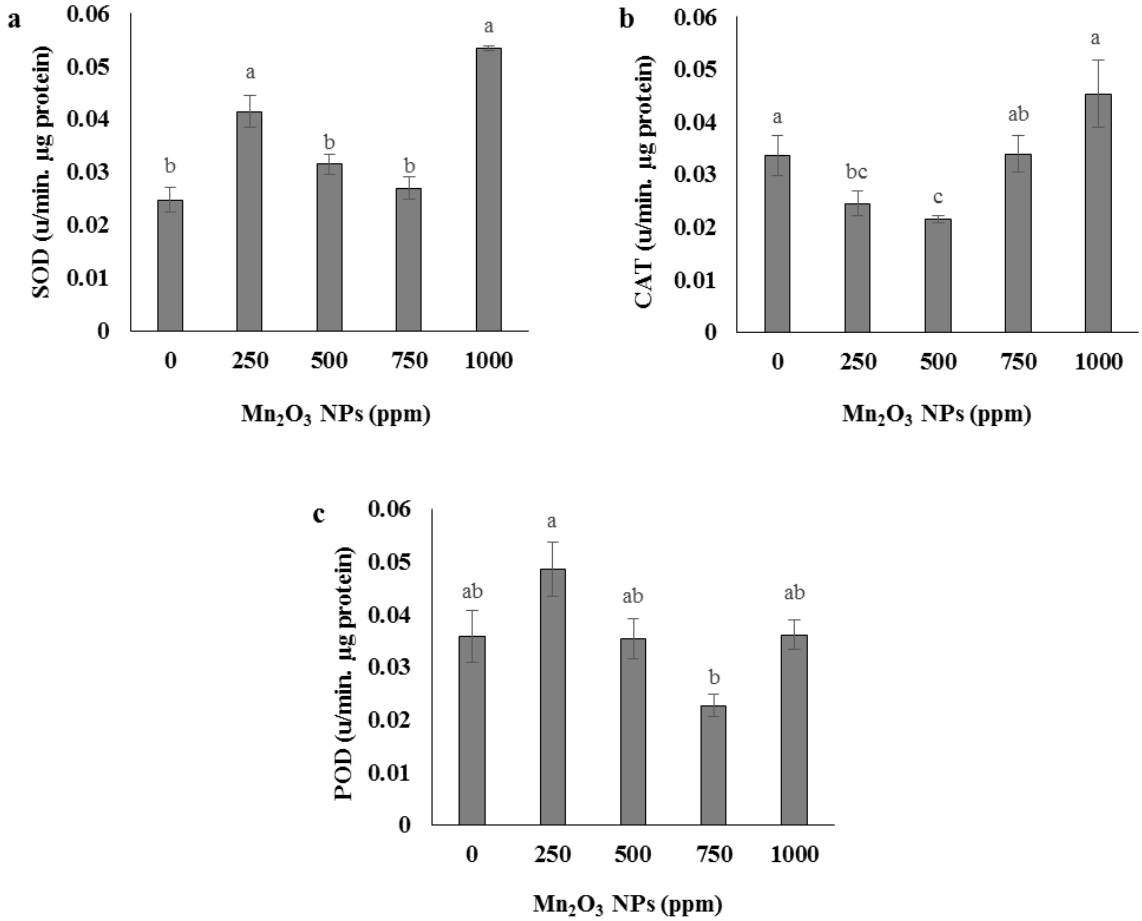
علت آن می‌تواند سازگاری فیزیولوژیکی گیاه باشد (Salehi *et al.*, 2023). محتوای مالون دی‌آلدهید در گیاه کنترل بطور میانگین ۱/۳ میکرومول بر وزن تر بود و در تمام تیمارهای ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ ppm بترتیب ۵/۳۵، ۲۴/۴۳، ۲۳/۶۶ و ۱/۵۳ درصد کاهش نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد که در غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۵۰ ppm کاهش از نظر آزمون دانکن معنی‌دار بود (شکل ۳c). هماهنگ با این نتایج در پژوهشی روی *Artemisia annua* مشاهده شد که تیمار نانوذرات یون منگنز تأثیر معنی‌داری روی محتوای مالون دی‌آلدهید نداشت (Salehi *et al.*, 2023). از طرفی بررسی درصد محتوای نسبی آب (RWC) که بیانگر طراوت و شادابی در گیاهان است، در تمامی تیمارهای ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ ppm بترتیب ۱۲/۲۵، ۱۴/۶۵، ۱۲/۷۵ و ۵/۹۹ درصد افزایش نسبت به تیمار کنترل مشاهده گردید (شکل ۳d). در پژوهشی روی *Triticum turgidum polonicum* مشاهده شد که افزایش غلظت یون منگنز موجب افزایش درصد محتوای نسبی آب شده است (Sheng *et al.*, 2016). لازم به ذکر است که تفاوت‌های درصد محتوای نسبی آب مشاهده شده نسبت به تیمار کنترل از نظر آزمون دانکن در سطح ۵ درصد معنی نبود (جدول ۳). به عبارتی همانطور که در مورد محتوای مالون دی‌آلدهید مشاهده گردید بنظر می‌رسد تیمار نانوذرات در طول دو هفته آزمایش تأثیر مخربی روی سیستم غشایی و کاهش محتوای نسبی آب گیاهان نداشته‌اند. بررسی محتوای پروتئین کل نیز نشان داد که در اغلب تیمارها تغییرات محتوای پروتئین نسبت به تیمار کنترل معنی‌دار نبود و تنها در غلظت ۱۰۰۰ ppm نانوذره اکسید منگنز کاهش معنی‌داری با ۲۳/۷۰ درصد کاهش نسبت به تیمار کنترل قابل مشاهده است (شکل ۳e). بنابر پژوهشی روی *Vigna radiate* تأکید شد که نانوذره یون منگنز در غلظت‌های پایین تأثیر مثبتی در افزایش پروتئین‌ها داشته است (Pradhan *et al.*, 2013). با توجه به کاهش محتوای پرولین در غلظت ۱۰۰۰ ppm بنظر می‌رسد سهم تأثیر سمیت نانوذره اکسید منگنز در غلظت‌های بالا، اغلب ناشی از کاهش سنتز پروتئین باشد.

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ پس از اعمال تیمار نانوذره اکسید منگنز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارهای مختلف نانوذره اکسید منگنز از نظر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز اختلاف معنی‌داری بترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد قابل مشاهده است. این درحالی است که نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از فعالیت آنزیم پراکسیداز هیچ اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۳). با این حال بررسی مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های مختلف، از نظر آزمون دانکن مطالب حائز اهمیتی را نشان دادند. در تیمار ۱۰۰۰ ppm نانوذره اکسید منگنز افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز بترتیب با ۳۵/۳۱ و ۱۱۵/۶۱ درصد افزایش نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد (شکل ۴– a و b). که این مسئله با بالا بودن محتوای H_2O_2 در این غلظت رابطه مستقیمی دارد. از طرفی فعالیت آنزیم پراکسیداز در این غلظت تفاوت معنی‌داری با تیمار کنترل نداشت و محتوای پرولین در این غلظت بطور معنی‌داری کمتر از تیمار کنترل بود. درحالیکه در غلظت ۷۵۰ ppm نانوذره اکسید منگنز محتوای H_2O_2، پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز تفاوت معنی‌داری با تیمار کنترل نداشتند. به عبارتی در تیمار کنترل و تیمار ۷۵۰ ppm رفتار دفاعی افزایش محتوای پرولین به عنوان یک اسمولیت در حفظ غشا و کاهش محتوای H_2O_2 بود و آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در سطح فعالیت پایینی قرار داشتند. درحالیکه در تیمار ۱۰۰۰ ppm کم بودن محتوای پرولین هم‌راستا شده است با افزایش محتوای H_2O_2 و به تبع این امر، شاهد افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به عنوان پاسخ‌های دفاعی جهت حذف H_2O_2 هستیم.

بررسی تیمار غلظت ۵۰۰ ppm نانوذره اکسید منگنز کاهش ۳۵/۷۸ درصد فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت به تیمار کنترل نشان داد (شکل ۴b). کاهش معنی‌دار محتوای پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۵۰۰ ppm، همراه افزایش معنی‌دار محتوای H_2O_2 است. بطوریکه بالاترین مقدار H_2O_2 در بین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]



شکل ۴- مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (a)، کاتالاز (b) و پراکسیداز (c) برگ بادرنجبویه تحت تأثیر تیمارهای مختلف نانوذرات اکسید منگنز.

همه غلظت‌ها، در تیمار ppm ۵۰۰ مشاهده گردید. در این تیمار (ppm ۵۰۰) فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با ۲۷/۰۲ درصد افزایش نسبت به تیمار کنترل اختلاف معنی‌داری ($P\leq0.05$) را نشان داد (شکل ۴a). در تیمار ppm ۲۵۰ نانوذره اکسید منگنز افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز بترتیب با ۶۷/۲۸ و ۳۵/۸ درصد نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد (شکل ۴- a و c). این افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز همراه با محتوای بالای H_2O_2 با اختلاف معنی‌دار با تیمار کنترل بود (شکل ۳a). بعلاوه در این تیمار کاهش معنی‌دار محتوای پرولین نیز مشاهده شد (شکل ۳b). با توجه به اینکه محتوای کربوهیدرات‌های محلول به عنوان یکی دیگر از اسمولیت‌هایی که در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت، در تیمار کنترل در سطح مطلوبی بود و در همه تیمارها بطور معنی‌داری کمتر از تیمار کنترل بود. این چنین به نظر می‌رسد که در پاسخ‌های دفاعی گیاه در برابر غلظت‌های بالای نانوذرات اکسید منگنز نقش پرولین بسیار پررنگ بوده است و هر تیماری که توانسته است تولید این اسمولیت پراهمیت را افزایش دهد، محتوای H_2O_2 به عنوان یک رادیکال آزاد در آن تیمار کاهش یافته است. پرولین یک آمینواسید استراتژک در شرایط تنشی است. از جمله نقش‌های پرولین شامل: مخزن انرژی برای تنظیم پتانسیل احیای سلول، دهنده قوی الکترون جهت پاکسازی رادیکال‌های آزاد، حفظ ساختار پروتئین‌ها، کاهش اسیدیته داخل سلول و تنظیم‌کننده اسمزی است (Haghparvar *et al.*, 2022). بررسی نمودارهای مقایسه میانگین نشان داد که در تیمارهایی که مقدار محتوای اسمولیت پرولین پایین بوده است،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

محتوای رادیکال‌های آزاد از جمله H_2O_2 افزایش یافته است و به‌تبع آن، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد از جمله کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافته است. در کنار این نتایج مشاهده شد نقش آنزیم‌های پراکسیداز در حذف H_2O_2 کم رنگ‌تر از دو آنزیم دیگر مورد بررسی در این پژوهش بود. هماهنگ با این نتایج در پژوهشی که روی گیاه گشنیز انجام شد، مشخص گردید که تیمار نانوذره سرب آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را به شدت تحت تأثیر قرار داده است و موجب افزایش فعالیت آنها گشته است اما روی آسکوربات پراکسیداز بی‌تأثیر بود (فاطمی و اسماعیل‌پور، ۱۴۰۰). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یکی از اولین آنزیم‌های درگیرشونده در شرایط تنش‌های اکسیداتیو است. زیرا که مشخص شده است که سوپراکسیدها که خود به عنوان اولین مشتقات تولیدشده رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش هستند، با ایفای نقش سیگنالی موجب افزایش بیان ژن‌های آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌گردند (Ullah *et al.*, 2015). سوبسترای مهم آنزیم کاتالاز H_2O_2 است، که هم در شرایط تنش نانوذرات افزایش می‌یابد و هم یکی از محصولات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز است که توسط آنزیم کاتالاز حذف می‌شود (Gill and Tuteja, 2010). لذا همکاری نزدیک این دو آنزیم بیشتر از آنزیم‌های پراکسیداز مشاهده می‌گردد.

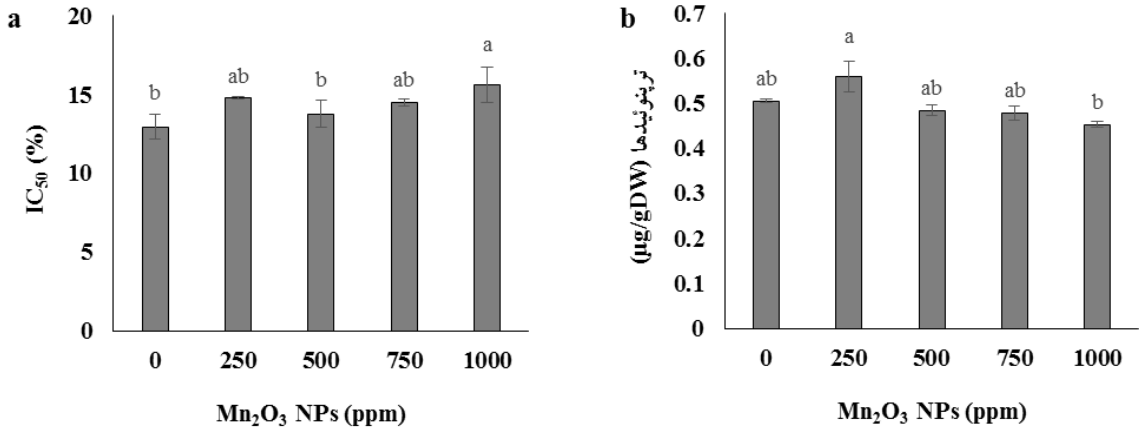
نتایج تجزیه واریانس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهی بادرنجبویه در ۵۰ درصد بازدارندگی رادیکال DPPH اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۳) با این وجود مقایسه میانگین این شاخص با آزمون دانکن، نشان از افزایش غیرمعنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در همه تیمارها نسبت به تیمار کنترل داشت. زیرا که درصد IC_{50} در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ ppm بترتیب ۱۴/۳۲، ۶/۴۵ و ۱۲/۱۵ درصد افزایش نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد. البته افزایش معنی‌دار (حروف غیرمشترک) ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱۰۰۰ ppm با ۲۰/۶۲ درصد افزایش IC_{50} نسبت به تیمار کنترل نیز گزارش شد (شکل 5a). هماهنگ با نتایج این پژوهش، فاطمی و اسماعیل‌پور (۱۴۰۰) گزارش کردند که تیمار ۱۵۰۰ ppm نانوذره سرب موجب ۱۴ درصد افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام گیاه گشنیز نسبت به گیاهان تیمار نشده گردید (فاطمی و اسماعیل‌پور، ۱۴۰۰). بعلاوه در پژوهشی دیگر مشاهده شد که نانوذرات اکسید منگنز تأثیر بسیار کمی روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دانه‌رست‌های هندوانه در مقایسه با سایر اشکال کاربرد منگنز دارند (Kasote *et al.*, 2021).

ترکیبات ترپنی غیرفرار برگ تحت تأثیر تیمار اکسید منگنز: نتایج تجزیه واریانس ترکیبات ترپنی به عنوان یکی از مهمترین متابولیت‌های ثانویه گیاه بادرنجبویه بیانگر عدم تأثیر تیمار نانوذرات اکسید منگنز روی محتوای ترپنی بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن، با وجود حروف مشترک، عدم وجود تفاوت معنی‌داری با تیمار کنترل در غلظت‌های مختلف را تأیید کرد. با این وجود با افزایش غلظت نانوذره اکسید منگنز، شاهد کاهش محتوای ترکیبات ترپنی بودیم. بطوریکه در تیمار ۲۵۰ ppm محتوای ترپنوئیدها ۱۰/۷۸ درصد افزایش نسبت به تیمار کنترل نشان داد (شکل 5b). با افزایش غلظت نانوذره کاهش محتوای ترپنوئیدها مشاهده می‌گردد. بطوریکه تیمار ۱۰۰۰ ppm نانوذره اکسید منگنز، ۱۰/۳۵ درصد کاهش نسبت به تیمار کنترل را نشان داد. در پژوهشی روی زیره سبز (*Cuminum cyminum*) تیمار منگنز در غلظت‌های ۴۰ تا ۱۶۰ ppm موجب افزایش ترکیبات ترپنوئیدی در برگ‌ها، ریشه‌ها و گل‌ها گردید (Ghannadnia *et al.*, 2014). با توجه به اینکه در این پژوهش نیز در غلظت‌های پایین افزایش مختصری مشاهده شده است، می‌توان کاهش در غلظت بالا را به علت افزایش اثرات سمی نانوذره در نظر گرفت. بعلاوه اغلب ترکیبات ترپنی گیاه بادرنجبویه از نوع فرار هستند، طبیعی است که در سنجش ترکیبات ترپنی موجود در پودر خشک گیاهان مقادیر بسیار پایینی رصد گردد.

محتوای ترکیبات فنلی برگ تحت تأثیر تیمار نانوذره اکسید منگنز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر تیمار نانوذرات اکسید منگنز روی تمامی شاخص‌های ترکیبات فنلی،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]



شکل ۵- مقایسه میانگین میزان ۵۰ درصد بازدارندگی رادیکال DPPH عصاره (a) و محتوای ترپنوئید کل (b) برگ بادرنجبویه تحت تأثیر تیمارهای مختلف نانوذرات اکسید منگنز.

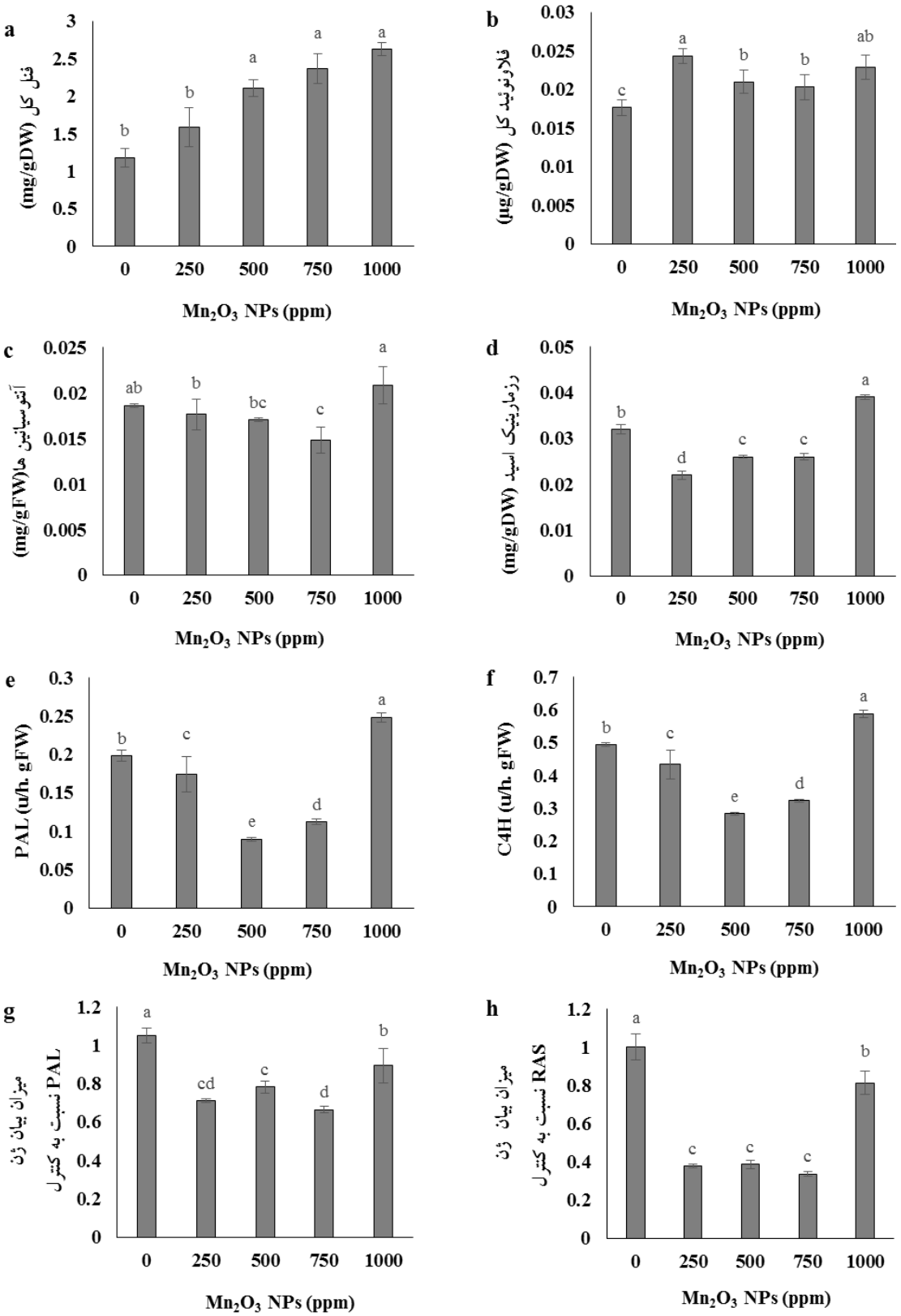
جدول ۴- بررسی تجزیه واریانس ترکیبات فنلی و شاخص های مهم در مسیر بیوسنتز آنها در گیاه بادرنجبویه تحت تاثیر تیمار نانوذرات اکسید منگنز

منابع تغییر	df	میانگین مربعات						
		C4H	PAL	رزمارینیک اسید	فنل کل	بیان ژن PAL نسبت به ژن کنترل داخلی	بیان ژن RAS نسبت به ژن کنترل	فلاونوئید کل (µg/gDW)	آنتوسیانین ها (mg/gFW)
		(u/min/ µg protein)		(mg/gDW)					
تیمار	۴	۰/۰۴۷**	۰/۰۱۲**	۰/۰۰۰۱**	۱/۱۹۲**	۰/۰۷۲**	۰/۲۷۶**	۰/۰۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۰۱**
اشتباه آزمایشی	۱۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۹۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
CV%		۴/۹۴۷	۶/۸۵۴	۲/۶۵۸	۱۶/۱۹۹	۵/۵۹۴	۷/۳۳۹	۶/۵۲۸	۷/۵۱۳

ns، * و ** بترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد است.

فعالیت آنزیمی و بیان ژن‌ها اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارهای مختلف در سطح ۱ درصد نشان می‌دهد (جدول ۴). بررسی مقایسه میانگین محتویات فنل کل نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات اکسید منگنز، محتویات فنل کل افزایش معنی‌داری یافته است. بطوریکه در بالاترین غلظت ppm ۱۰۰۰ منجر به ۱۲۲/۴۶ درصد افزایش محتوای فنل کل نسبت به تیمار کنترل شده است (شکل ۶a). هماهنگ با این نتایج مشاهده شد که نانوذرات اکسید منگنز در غلظت‌های بالای ppm ۸۰ موجب افزایش ترکیبات فنلی دانه رست‌های هندوانه شده‌اند (Kasote *et al*., 2021). محتوای فلاونوئید کل نیز در تمام تیمارهای نانوذره اکسید منگنز نسبت به تیمار کنترل افزایش یافت. بطور خاص در تیمارهای ۲۵۰ و ppm ۱۰۰۰ بترتیب با ۳۷/۸۲ و ۲۹/۳۷ درصد افزایش معنی‌دار محتوای فلاونوئید کل نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد (شکل ۶b). هماهنگ با این نتایج مشاهده شد که کاربرد برگی نانوذرات اکسید منگنز در گیاه *Artemisia annua* موجب افزایش محتویات فلاونوئید کل و فنلی کل در دانه‌رست‌های ۹۰ روزه گردیده است (Salehi *et al.*, 2023). مقایسه میانگین محتوای آنتوسیانین با آزمون دانکن در تمامی تیمارها اختلاف معنی‌داری با تیمار کنترل را نشان نداد (وجود حروف مشترک) و تنها در تیمار ppm ۷۵۰ با ۲۰/۴۳ درصد کاهش معنی‌دار نسبت به تیمار کنترل، تحت تأثیر تیمار نانوذرات اکسید منگنز قرار گرفت (شکل ۶c). بررسی محتوای رزمارینیک اسید به عنوان یک ترکیب فنلی، با روش HPLC نشان داد که بجز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]
[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]



شکل ۶- مقایسه میانگین محتوای فنل کل (a)، فلاونوئیدها (b)، آنتوسیانین ها (c)، رزمارینیک اسید (d)، میزان فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز (e) و سینامات ۴- هیدروکسیلاز (f) و نسبت بیان ژن‌های PAL (g) و RAS (h) نسبت به ژن کنترل داخلی در برگ بادرنجبویه تحت تأثیر تیمارهای مختلف نانوذرات اکسید منگنز.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

غلظت ppm ۱۰۰۰ باقی تیمار محتوای رزمارینیک اسید را در گیاه بطور معنی‌داری کاهش دادند. تیمار ppm ۱۰۰۰ نانوذره اکسید منگنز با ۲۱/۸۸ درصد افزایش معنی‌دار نسبت به تیمار کنترل بیشترین محتوای رزمارینیک اسید را داشت (شکل ۶d). برخلاف این نتایج مشاهده شد که تیمار نانوذرات منگنز در گیاه *Ocimum basilicum* در غلظت‌های پایین موجب افزایش ماده مؤثره کافئیک اسید شد اما در غلظت‌های بالا مقدار این ترکیب را کاهش داد (Nazir *et al.*, 2021). تیمار ppm ۱۰۰۰ فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) را نسبت تیمار کنترل ۲۵/۳۳ درصد افزایش معنی‌دار داد. درحالیکه دو غلظت ppm ۵۰۰ و ۷۵۰ بترتیب ۵۴/۸۷ و ۴۳/۳۶ درصد کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم PAL را نسبت به تیمار کنترل نشان دادند (شکل ۶e). بررسی فعالیت آنزیم سینامات ۴- هیدوکسیلاز (C4H) به عنوان دومین آنزیم مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی، کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم C4H را با افزایش غلظت تا ppm ۵۰۰ را نشان داد و سپس با افزایش غلظت، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم مشاهده شد. بطوریکه در غلظت ppm ۱۰۰۰ با ۱۹/۰۹ درصد افزایش معنی‌دار فعالیت نسبت به تیمار کنترل، بیشترین فعالیت آنزیمی C4H مشاهده گردید (شکل ۶f). بررسی بیان ژن‌های PAL و RAS به عنوان ژن‌های کلیدی ابتدا و انتهای مسیر بیوسنتز رزمارینیک اسید تأثیر کاهشی تیمار نانوذرات را روی بیان هر دو ژن نسبت به تیمار کنترل نشان داد (شکل ۶- g، h). با این حال تیمار ppm ۱۰۰۰ بالاترین سطح بیان ژن‌های PAL و RAS را با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها نشان داد. بررسی اثر نانوذرات روی آنزیم‌ها و ژن‌های مسیر بیوسنتزی زرمارینیک اسید نشان داد که تیمار ppm ۹۰ نانوذره اکسید آهن موجب افزایش فعالیت آنزیم PAL و افزایش بیان ژن‌های PAL و RAS در گیاه *Dracocephalum moldavica* L. شده است (Moradbeygi *et al.*, 2020). در برررسی دیگر تیمار نانوذرات آهن با غلظت ppm ۳۰ به همراه نانوذرات روی با غلظت ppm ۱۲۰ منجر به افزایش ۶۶ درصدی محتوای رزمارینیک اسید گیاه بادرنجبویه نسبت به کنترل شد (Farnoosh *et al.*, 2024). با توجه به نتایج بدست آمده مشخص است که تیمار نانوذره اکسید منگنز در غلظت ppm ۱۰۰۰ موجب افزایش معنی‌دار محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، آنتوسیانین‌ها و رزمارینیک اسید شده است، که ناشی از تأثیر بر افزایش بیان ژن‌ها نبوده و متأثر از افزایش فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی این ترکیبات از جمله PAL و C4H بوده است. چرا که در غلظت ppm ۱۰۰۰ نانوذره اکسید منگنز فعالیت آنزیم‌های مزبور را همراستا با افزایش محتوای ترکیبات فنل کل، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و رزمارینیک اسید افزایش یافته است. ناگفته نماند که با وجود کاهش بیان ژن‌های PAL و RAS در تیمارها نسبت به کنترل، شاهد بالابودن سطح بیان این دو ژن در غلظت ppm ۱۰۰۰ نسبت به سایر تیمارها هستیم. به عبارت دیگر در سایر غلظت‌های تیمار نانوذره اکسید منگنز شامل ۲۵۰، ۵۰۰ و ppm ۷۵۰ تنها شاهد افزایش محتوای فنل کل و فلاونوئیدها نسبت به تیمار کنترل هستیم و در مورد بررسی فعالیت آنزیم‌های PAL و C4H و بیان ژن‌های RAS و PAL و محتوای آنتوسیانین کاهش معنی‌داری را نسبت به تیمار کنترل نشان دادند. به علاوه در بین غلظت‌های زیر ۱۰۰۰ نانوذره اکسید منگنز تیمار ppm ۷۵۰ در تمام شاخص‌های مزبور کمترین مقدار را نیز داشت.

بطورکلی باتوجه به نتایج حاصل از سنجش‌های آزمایشگاهی می‌توان این گونه تفسیر نمود که تیمار نانوذره اکسید منگنز در غلظت‌های بالا مانند یک تنش غیرزیستی عمل می‌کند. با این وجود این نتایج نشان داد که پاسخ‌های گیاه به نانوذره اکسید منگنز به عنوان یک عامل تنش بیرونی تا غلظت ppm ۷۵۰ است. به عبارتی تنش نانوذرات در مقادیر تنش‌زا موجب کاهش تولید ترکیبات ثانویه نسبت به کنترل شد. بعلاوه در مقایسه با کنترل فعالیت آنزیم را کاهش داد و رادیکال‌های آزاد افزایش یافتند. اما در غلظت ppm ۷۵۰ گیاه توانست سطح پرولین را بالا نگه دارد و اثرات رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد. با این وجود محتوای ترکیبات ثانویه کاهش شدیدی نسبت به کنترل داشت. در غلظت ppm ۱۰۰۰ با وجود اینکه در بررسی شاخص‌های دفاعی مشخص شد که در این غلظت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

گیاه در حال مقابله با شرایط تنشی ایجادشده در برابر غلظت بسیار سمی نانوذره است، اما افزایش بیان ژن‌ها نسبت به سایر تیمارها و تولید ترکیبات ثانویه بیشتر از گیاه کنترل رخ داد. با وجود اینکه نیاز به مطالعات بیشتر جهت بررسی دقیق جایگاه و حرکت نانوذرات درون گیاه در غلظت‌های بالا هست، اما بنظر می‌رسد که گیاه بادرنجبویه می‌تواند کاندید یک گیاه محتمل یا انباشگر برای منگنز باشد. به عبارتی در غلظت‌های زیر ppm ۷۵۰ گیاه واکنشی کاملاً منطقی در شرایط تنش‌زا داشته است. اما در یک حد آستانه‌ای که می‌تواند در محدوده‌ای اطراف غلظت ppm ۷۵۰ تا ppm ۱۰۰۰ باشد، گیاه احتمالاً با سعی در خارج‌کردن این عامل تنشی از فضاهایی که اختلال ایجاد می‌کند، موجب حفظ فعالیت مسیرهای بیوسنتز ترکیبات ثانویه شده است. نگاهی به حفظ درصد نسبی آب حتی در غلظت‌های بالا در گیاه و عدم وجود اختلاف معنی‌دار با شاهد، این فرضیه را تقویت می‌کند. این مسئله می‌تواند فرضیه‌ای برمبنای یک مطالعه انجام‌شده، جهت اجرای پژوهش‌های آینده باشد.

منابع

اسمعیل‌زاده سالستانی، کیوان (۱۳۹۱). بررسی تأثیر الیسیتورهای مس و آهن بر روی تولید رزمارینیک اسید و بیان ژن تیروزین آمینوترانسفراز در گیاهچه‌های ۴۵ روزه بادرنجبویه. دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان، دانشکده علوم کشاورزی.

خوشدل، رضا (۱۳۹۶). اثرات نانو ذرات اکسید نیکل و اکسید منیزیم بر روی پارامترهای بیوشیمیایی در گیاه بادرنجبویه. دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم.

سلطانی مایوان، الهه (۱۳۹۱). اثر سالیسیلیک اسید بر برخی پارامترهای رشدی، فیزیولوژیکی و شیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) تحت تنش نیکل. دانشگاه شاهد، دانشکده علوم پایه.

فاطمی، حمیده، و اسماعیل‌پور، بهروز (۱۴۰۰). بررسی برهمکنش تیمارهای زیستی و غیرزیستی بر تغییرات آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) تحت تنش سرب. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران). ۳۴(۳)، ۶۸۷-۷۰۵.

قهرمان، احمد (۱۳۷۳). کورموفیت‌های ایران. جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران.

کاظمی، منصوره، و شریعتی، فاطمه (۱۳۹۸). اثر نانوذره اکسیدمس بر سیستم رنگدانه‌ای جلبک *Scenedesmus dimorphus*. *فصلنامه زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها*، ۸(۳۰)، ۲۵-۱۳. https://www.magiran.com/p2054142

هاشمی، شهلا، اسرار، زهرا، و پورسیدی، شهرام (۱۳۸۹). اثر منگنز بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در شاهی (*Lepidium sativum* L.). زیست‌شناسی گیاهی، ۲(۵)، ۱-۱۲.

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

Beauchamp, C, & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry, 44*(1), 276-287.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quntitation of microgram quantities of protein ultilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry, 72*, 248-254.

Dazy, M., Beraud, E., Cotelle, S., Meux, E., Masfaraud, J. F., & Ferard, J. F. (2008). Antioxidant enzyme activities as affected by trivalent and hexavalent chromium species in *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Chemosphere, 73*, 281-290.

Demirevska-Kepova, K., Simova-Stoilova, L., Stoyanova, Z., Holzer, R., & Feller, U. (2004). Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese. *Environmental and Experimental Botany, 52*, 253-266. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.02

Dimkpa, C., Singh, U., Adisa, I., Bindraban, P. S., Gardea-Torresdey, J., & White, J. (2018). Effects of manganese nanoparticle exposure on nutrient acquisition in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agronomy, 8*.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

Dimkpa, C. O., White, J. C., Elmer, W. H., & Gardea-Torresdey, J. (2017). Nanoparticle and ionic Zn promote nutrient loading of sorghum grain under low NPK fertilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65*, 8552-8559. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02961

Elmer, W, & White, J. C. (2018). The future of nanotechnology in plant pathology. *The Annual Review of Phytopathology, 56*(1), 111-133. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-050108

Farnoosh, S., Masoudian, N., Safipour Afshar, A., *et al.* (2024). Foliar-applied iron and zinc nanoparticles improved plant growth, phenolic compounds, essential oil yield, and rosmarinic acid production of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Environmental Science and Pollution Research, 31*, 36882-36893. https://doi.org/10.1007/s11356-024-33680-5

Ghannadnia, M., Haddad, R., Zarinkamar, F., & Sharifi, M. (2014). Manganese treatment effects on terpene compounds of *Cuminum cyminum* flowers, *Industrial Crops and Products, 53*, 65-70. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.034

Ghorbani, A., Emamverdian, A., Pehlivan, N., Zargar, M., Razavi, S. M., & Chen, M. (2014). Nano-enabled agrochemicals: Mitigating heavy metal toxicity and enhancing crop adaptability for sustainable crop production. Journals of Nano biotechnology. *22*(1), 91. Doi: 10.1186/s12951-024-02371-1

Ghosh, I., Sadhu, A., Moriyasu, Y., Bandyopadhyay, M., & Mukherjee, A. (2018). Manganese oxide nanoparticles induce genotoxicity and DNA hypomethylation in the moss *Physcomitrella patens*. *Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 842*, 146-157. https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.12.006

Gill, S. S, & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinert in abiotic stress in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry, 48*(12), 909-30.

Haghparvar, F. R., Hashemabadi, D., & Kaviani, B. (2022). Effect of arginine, proline and glutamine amino acids on morphological and physiological traits of two African Marigold. *Journal of Ornamental Plants, 12*(3), 191-202.

Heath, R. L, & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics, 125*, 189-198.

Kang, H., Hwang, Y. G., Lee, T. G., Jin, C. R., Cho, C. H., Jeong, H. Y., & Kim, D. O. (2016). Use of gold nanoparticle fertilizer enhances the ginsenoside contents and anti-inflammatory effects of red ginseng. *Journal of Microbiology and Biotechnology, 26*(10), 1668-1674. https://doi.org/10.4014/jmb.1604.04034

Kasote, D. M., Lee, J. H. J., Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2021). Manganese oxide nanoparticles as safer seed priming agent to improve chlorophyll and antioxidant profiles in watermelon seedlings. *Nanomaterials, 11*, 1016. https:// doi.org/10.3390/nano11041016

Kochert, G. (1978). Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In: Handbook Physiological Methods (eds. Helebust, J. A. and Craig, J. S.), Pp. 96-97. Press Cambridge, Cambridge university.

Kyndt, J. A., Meyer, T. E., Cusanovich, M. A., & Van Beeumen, J. J. (2002). Characterization of a bacterial tyrosine ammonia lyase, a biosynthetic enzyme for the photoactive yellow protein. *Federation of European Biochemical Societies Letters, 512*(1-3), 240-244.

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology, 148*, 350-382.

Liu, D., Wen, J., Liu, J., & Li, L. (1999). The roles of free radicals in amyotrophic lateral sclerosis: Reactive oxygen species and elevated oxidation of protein, DNA, and membrane phospholipids. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal, 13*, 2318-2328.

Livak, K. J, & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods, 25*, 402-408. doi:10.1006/meth.2001.1262

Lopez-Arnaldos, T., Lopez-Serrano, M., Ros Barcelo, A.,Calderon, A. A., & Zapata, J. M. (1995). Spectropho-ometric determination of rosmarinic acid in plant cell cultures by complexation with Fe^{2+} ions. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 351*, 311-314.

Ma, X. M., Geiser-Lee, J., Deng, Y., & Kolmakov, A. (2010). Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment, 408*(16), 3053-3061.

Mahmoudi, R. (2014). Physico-chemical qualities and acceptability of bio-Ayran produced by adding the *Mentha longifolia* L. essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plant, 17*(1), 56-66.

Moradbeygi, H., Jamei, R., Heidari, R., & Darvishzadeh, R. (2020). Fe_2O_3 nanoparticles induced biochemical responses and expression of genes involved in rosmarinic acid biosynthesis pathway in Moldavian balm under salinity stress. *Physiol Plantarum, 169*, 555-570. https://doi.org/10.1111/ppl.13077

Mustafa, G, & Komatsu, S. (2016). Toxicity of heavy metals and metal-containing nanoparticles on plants. *Biochimica Et Biophysica Acta-proteins And Proteomics, 1864*, 932-944. https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2016.02.020

Nazir, S., Jan, H., Zaman, G., Khan, T., Ashraf, H., Meer, B., Zia, M., Drouet, S., Hano, C., & Haider Abbasi, B. (2021). Copper oxide (CuO) and manganese oxide (MnO) nanoparticles induced biomass accumulation, antioxidants biosynthesis and abiotic elicitation of bioactive compounds in callus cultures of *Ocimum*

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

basilicum (Thai basil). *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 49*, 625-633. DOI: 10.1080/21691401.2021.1984935

Oztork, M., Duru, M. E., Ince, B., Harmandar, M., & Topcu, G. (2010). A new rapid spectrophotometric method to determine the rosmarinic acid level in plant extracts. *Food Chemistry, 123*, 1352-1356.

Pradhan, S., Patra, P., Mitra, S., Kumar Dey, K., Jain, S., Sarkar, S., Roy, S., Palit, P., & Goswami, A. (2013). Manganese nanoparticle: Impact on non-nodulated plant as a potent enhancer in nitrogen metabolism and toxicity study both in vivo and in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry is published by the American Chemical Society*. https://doi.org/10.1021/jf502716c

Ravinderdeep, S. B., Avneesh, K., Simranjeet, K., Sandip, S., Anuj, K., & Sandeep, K. (2021). Impact of metal oxide nanoparticles on cotton (*Gossypium hirsutum* L.): A physiological perspective. *Journal of Cotton Research, 4*, 16. https://doi.org/10.1186/s42397-021-00092-6

Rezapour, S., Siavash Moghaddam, S., Nouri, A., *et al*. (2022). Urbanization influences the distribution, enrichment, and ecological health risk of heavy metals in croplands. *Scientific Reports, 12*, 3868. https://doi.org/10.1038/s41598-022-07789-x

Rico, C. M., Lee, S. C., Rubenecia, R., Mukherjee, A., Hong, J., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2014). Cerium oxide nanoparticles impact yield and modify nutritional parameters in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62*(40), 9669-9675. https://doi.org/10.1021/jf503526r

Sadak, M. S, & Bakry, B. A. (2020). Zinc-oxide and nano ZnO oxide effects on growth, some biochemical aspects, yield quantity, and quality of flax (*Linum uitatissimum* L.) in absence and presence of compost under sandy soil. *Bulletin of the National Research Centre, 44*(1), 98. https://doi.org/10.1186/s42269-020-003 48-2

Salehi, H., Cheheregani Rad, A., Raza, A., Djalovic, I., & Prasad, P. V. V. (2023). The comparative effects of manganese nanoparticles and their counterparts (bulk and ionic) in *Artemisia annua* plants via seed priming and foliar application. *Frontiers in Plant Science, 13*, 1098772. doi: 10.3389/fpls.2022.1098772

Sheng, H., Zeng, J., Liu, Y., Wang, X., Wang, Y., Kang, H., Fan, X., Sha, L., Zhang, H., & Zhou, Y. (2016). Sulfur mediated alleviation of Mn toxicity in polish wheat relates to regulating Mn allocation and improving antioxidant system. *Frontiers in Plant Science, 7*, 1382. doi: 10.3389/fpls.2016.01382

Silva, T. C., Bertolucci, S. K. V., Carvalho, A. A., Tostes, W. N., Alvarenga, I. C. A., Pacheco, F. V., & Pinto, J. E. B. P. (2021). Macroelement omission in hydroponic systems changes plant growth and chemical composition of *Melissa officinalis* L. essential oil. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 24*, 100297.

Sukhanova, A., et al. (2018). Dependence of nanoparticle toxicity on their physical and chemical properties. *Nanoscale Research Letters, 44*, 13.

Ueno, D., Sasaki, A., Yamaji, N., Miyaji, T., Fujii, Y., Takemoto, Y., Moriyama, S., Che, J., Moriyama, Y., Iwasaki, K., & Ma, J. F. (2015). A polarly localized transporter for efficient manganese uptake in rice. *Native Plants, 1*. https://doi.org/10.1038/nplants.2015. 170

Ullah, A., Mushtaq, H., Ali, H., Munis, M. F. H., Javed, M. T., Chaudhary, H. J. (2015). Diazotrophs-assisted phytoremediation of heavy metals: a novel approach. *Environmental Science and Pollution Research, 22*, 2505-2514.

Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science, 151*, 59-66.

Wang, Y., Lin, Y., Xu, Y., Yin, Y., Guo, H., & Du, W. (2019). Divergence in response of lettuce (*Hort ramosa*) to copper oxide nanoparticles/microparticles as potential agricultural fertilizer. *Environ Pollut Bioavailab, 31*(1), 80-84. https://doi.org/10.1080/26395940.2019.1578187

Ye, Y., Medina-Velo, I. A., Cota-Ruiz, K., Moreno-Olivas, F., & Gardea-Torresdey, J. L. (2019). Can abiotic stresses in plants be alleviated by manganese nanoparticles or compounds?. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 184*, 109671. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109671

Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry, 64*(4), 555-559.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]

Physiological responses of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) to manganese oxide nanoparticle toxicity

Parvaneh Roostaei[1], Khadije Kiarostami[1*], Zahra Nazem Bokaei[1], Mohammad Abdoli[2]

[1] Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Al-Zahra University, Vanak, Tehran, Iran
[2] Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

(Received: 2024/12/09, Accepted: 2025/01/27)

Abstract

Lemon balm, a wild medicinal plant, is exposed in nature to environmental pollutants from industrial, domestic, and agricultural sources. This study investigates the physiological responses of lemon balm to high concentrations of manganese oxide nanoparticles (Mn_2O_3 NPs). The aim was to understand how this medicinal plant responds to Mn_2O_3 nanoparticles at concentrations of 0, 250, 500, 750, and 1000 ppm. Mn_2O_3 NP foliar spray was applied to 120-day-old plants in a completely randomized design. Indices measured to evaluate the effects of Mn_2O_3 NPs on the plants included relative water content, total phenolic content, total flavonoids, lipid peroxidation, chlorophylls, carotenoids, total protein, proline, and activities of the antioxidant enzymes catalase, peroxidase, superoxide dismutase, as well as phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and cinnamate-4-hydroxylase (C4H). Additionally, soluble and insoluble carbohydrate contents, rosmarinic acid, and the expression of the RAS and PAL genes were examined. The results showed that the 250 and 500 ppm treatments increased the production of reactive oxygen species and defense enzyme activities in leaves, while reducing secondary metabolite contents. At 750 ppm, plants exhibited a significant decrease in hydrogen peroxide (H_2O_2) and malondialdehyde (MDA) and a significant increase in proline by 92.15%, 43.24%, and 54.0%, respectively. Conversely, at 1000 ppm, despite significant stress indices, there were notable increases in antioxidant capacity, total phenolics, flavonoids, rosmarinic acid, and the activities of PAL and C4H by 62.20%, 46.12%, 37.29%, 88.21%, 33.25%, and 9.19%, respectively, compared with the control. Taken together, these results indicate that lemon balm can tolerate certain concentrations of Mn oxide contamination. Further studies could explore its potential as a plant for environmental remediation and its use in programs aimed at rehabilitating contaminated sites.

Keywords: Proline, Rosmarinic Acid, Superoxide Dismutase, Phenylalanine Ammonia Lyase

Corresponding author, Email: Kh.kiarostami @ alzahra.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: DOI: 10.22034/14.68.69]