مقایسه اثرات کلرید آهن، کلات آهن و نانو آهن بر مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدانی گیاه بادرنجبویه تحت تیمار آلومینیوم

الهه اثنی عشری و شکوفه انتشاری*

گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران

(تاریخ دریافت۱۳۹٤/۰۳/۱۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۵/۳۰)

چکیده:

به منظور بررسی تأثیر نوع ترکیبات مختلف آهن دار بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، پروتئین و میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فلاونولی آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی بادرنجبویه در چهار گروه با انواع متفاوت آهن (کلرید آهن، کلات آهن، نانو آهن) و کلرید آلومینیوم (۰ و۵۰ میکرومولار) در شرایط هیدروپونیک انجام شد. نتایج بدست آمده نشان داد که محتوای پروتئین در این گیاه با پیش تیمار آهن افزایش یافته و این افزایش با کاربرد آهن نانو نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود، که شاید این تأثیر به قطر کمتر ذرات کود نانو و تأثیر بیشتران باشد. تحت شرایط تنش آلومینیوم توام با آهن فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و محتوی ترکیبات فنولی و مشتقات آن نسبت به اشکال مختلف آهن (بویژه در تیمارهای توام آلومینیوم با کلات آهن و نانو آهن) کاهش پیدا کرد. از طرفی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز طی این شرایط افزایش یافت. بنابراین از این ازمایش می‌توان نتیجه گرفت که آهن بر فعالیت انتی اکسیدانی این گیاه تأثیر گذاشته و از این طریق بر مقاومت گیاه نسبت به تنش ناشی از آلومینیوم مؤثر هست.از طرفی استفاده از نانو آهن و کلات آهن در محیط کشت هیدروپونیک نسبت به کلرید آهن بهتر است در غلظت کمتر انجام شود.

کلمات کلیدی: آلومینیوم، آنتی‌اکسیدان، آهن، بادرنجبویه.

مقدمه:

در بین گیاهان دارویی، گونه‌های موجود در گیاهان تیره نعناع (Lamiaceae) به دلیل داشتن اسانس‌های روغنی و انواع ترپنوئیدها در اسانس از اهمیت بالایی برخوردار هستند. بادرنجبویه یا ملیس با نام علمی*Melissa officinalis* گیاهی است علفی و پایا از خانواده نعناعیان که به طور وسیعی در مرکز و جنوب اروپا تا آسیای صغیر و ایران رویش دارد و از جمله پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی مورد استفاده در سراسر دنیاست که به علت داشتن اسانس و ترکیب‌های با ارزش دارویی در صنایع مختلف کاربرد فراوانی دارد (Adinee *et al.*, 2008). برای این گیاه سه زیر گونه *officinalis*، *inodora* و *altissim* معرفی شده است. از بین زیر گونه‌های این جنس، فقط زیر گونه افیسینالیس دارای ارزش اقتصادی بوده و رایحه‌ای شبیه لیموی تازه از خود متصاعد می‌کند (Bahtyarca-Bagdat and Cosge, 2006)، بنابراین بوی لیمو از مشخصات این گیاه می‌باشد و به همین دلیل به آن Lemon balm هم گفته می‌شود. اسانس موجود در برگ این گیاه دارای اثرهای ضد میکروبی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی و

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: shenteshari@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]

هضم‌کنندگی می‌باشد و در درمان اختلالات و ناراحتی‌های عصبی و بی‌نظمی‌های مربوط به معده و روده در سطح وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Fialova *et al.*, 2008). از آنجا که کشت این گیاه به عنوان یک گیاه دارویی مورد توجه بوده، بررسی عوامل مختلف مؤثر بر رشد آن نیز دارای اهمیت می‌باشد.

آلودگی خاک‌ها با فلزات سنگین پدیده‌ای است که به طور گسترده در نتیجه فعالیت‌های بشر، کشاورزی و صنعت اتفاق می‌افتد وجود این عناصر در اتمسفر، خاک و آب حتی در مقادیر بسیار کم می‌تواند مشکلاتی را برای موجودات به وجود آورد. آثار سمی فلزات سنگین بر گیاهان ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد. اکسیژنهای فعال با بسیاری از ترکیب‌های سلولی واکنش داده و سبب خسارت به غشا و سایر ماکرومولکول‌های ضروری از قبیل رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌شود. بنابراین کنترل میزان اکسیژنهای فعال ب در سلول در شرایط تنشهای اکسیداتیو بسیار ضروری می‌باشد. (Bai and Sui, 2006; Panda *et al.*, 2003).

آلومینیوم یکی از این فلزات سنگین بوده و از دیرباز به عنوان یکی از آلاینده‌های محیطی به شمار می‌رفته است. سمیت ناشی از آلومینیوم سبب کاهش شدید محصول شده و به این ترتیب باعث بروز مشکلات جدی در امر کشاورزی می‌شود. سمیت آلومینیوم در اثر افزایش این عنصر به محیط رشد گیاه به شکل‌های مختلف دیده شده است که شامل کاهش عملکرد، کاهش رشد ریشه و برگ، بازدارندگی فعالیت برخی آنزیم‌ها، تولید موتاژن‌ها، کاهش سطح برگ و ماده خشک گیاه می‌باشد (Mossor-Pietraszewska, 2001; Silva, 2012). آلومینیوم ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن را در گیاه افزایش داده و منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو در آن‌ها می‌شود، بنابراین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خاصی در چنین گیاهانی دیده می‌شود (Panda *et al.*, 2003). اما سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن دارای سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی هستند که شامل آنزیم‌های آنتی اکسیداسیون مانند سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز و نیز سیستم آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی مانند اسید آسکوربیک و گلوتاتیون می‌باشند که معمولاً سطوح گونه‌های فعال اکسیژن را در سلول در حد متعادل نگه می‌دارند. آنزیم‌های آنتی اکسیدان نقش مهمی در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن ایفا می‌کنند و توانایی تحمل به تنش را در گیاه افزایش می‌دهند (Groppa *et al.*, 2007).آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، رادیکال سوپراکسید تولید شده به وسیله زنجیره انتقال الکترون در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها را با تولید پراکسید هیدروژن از بین می‌برد. پراکسید هیدروژن نیز به وسیله آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بخش‌های مختلف سلولی تجزیه می‌شود. آنزیم کاتالا، پراکسید هیدروژن تولید شده در مسیرهای نوری داخل پراکسی‌زوم‌ها را از بین می‌برد (Sharma *et al.*, 2012). در نهایت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز از مهم‌ترین آنزیم‌های خنثی کننده پراکسید هیدروژن در گیاهان هستند، زیرا حاوی آهن بوده و احتمالاً فعالیت آن‌ها تحت تأثیر کمبود آهن قرار می‌گیرد (Shigeoka *et al.*, 2002).

گیاهان حاوی انواع شگفت انگیزی از متابولیت‌های ثانویه هستند. یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه، ترکیبات فنولی می‌باشد. این ترکیبات خواص آنتی‌اکسیدانی داشته و شامل موادی از قبیل فلاونوئیدها، فلاونول‌ها، آنتوسیانین‌ها و مشتقات آن‌ها هستند. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی وابسته به توانایی آن‌ها در دادن الکترون برای به دام انداختن رادیکال‌های آزاد بوسیله تشکیل ترکیبات پایدار فنوکسیل می‌باشد. خواص آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها به خاطر وجود گروه‌های هیدروکسیل فنولی در ساختمان آن‌هاست، بنابراین به دام انداختن و حذف رادیکال‌های آزاد از نقش‌های مهم فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات می‌باشد. افزایش متابولیسم فلاونوئیدها و مقدار ترکیبات فنولی می‌تواند تحت فاکتورهای محیطی مختلف و شرایط تنشی مشاهده شود. فلاونوئیدها همچنین موجب افزایش در پایداری دیواره سلولی و ایجاد مانع فیزیکی برای حفاظت سلول‌ها در مقابل عملکرد مضر عناصر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]

سنگین می‌شوند (Michalak, 2006 Diaz *et al*., 2001;).

آهن یکی از عناصر ضروری اما کم مصرف در اکثر گیاهان می‌باشد گیاه آن را به شکل دو ظرفیتی Fe^{2+} جذب می‌کند. این عنصر برای بسیاری از فرایندهای فیزیولوژی و زیست شیمیایی از جمله ساخت کلروفیل، واکنش‌های اکسایش و کاهش، فتوسنتز، تنفس و سیستم‌های آنزیمی ضروری می‌باشد (Ronaghi *et al*., 2002). اما غلظت زیاد آن برای گیاهان سمی است به طوری که ممکن است آزاد شده وبه عنوان کاتالیزوری در ایجاد رادیکال‌های بسیار فعال هیدروکسیل عمل نماید. استفاده از فناوری نانو در کلیه عرصه‌ها از جمله کشاورزی در حال گسترش می‌باشد. یکی از مهم‌ترین کاربردهای این فناوری در بخش کشاورزی استفاده از نانو کودها (Nano fertilizers) برای تغذیه گیاهان می‌باشد (Zhu *et al*., 2008). استفاده از نانو کودها منجر به افزایش کارایی مصرفی عناصر غذایی، کاهش سمیت خاک، به حداقل رساندن اثرات منفی ناشی از مصرف بیش از حد کود و کاهش تعداد دفعات کاربرد کود می‌شود.

تغذیه صحیح گیاهان دارویی نقش بسزایی در تولید کمی و کیفی این گروه از گیاهان دارد. عناصر غذایی ضروری گیاهان نقش مهمی در تولید ترکیبات ثانویه در گیاهان دارد. بنابراین مدیریت تغذیه این عناصر می‌تواند بر تولید با کیفیت گیاهان دارویی مؤثر باشد. لذا با توجه به مطالب گفته شده مطالعه حاضر با هدف اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئید و فلاونول و بررسی شناخت فعالیت آنتی‌اکسیدانی سه آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز که مهم‌ترین آنزیم‌های مقابله کننده با تنش‌های اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین می‌باشند در گونه گیاهی بادرنجبویه در پاسخ به مصرف انواع متفاوت آهن در شرایط تنش آلومینیوم صورت پذیرفت، تا کاربرد این گیاه در مناطق آلوده و کشاورزی مشخص گردد.

مواد و روش‌ها:

کاشت گیاهان واعمال تیمار: بذر گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. به منظور جوانه‌زنی و به دست آوردن دانه‌رست‌های مناسب برای انتقال به محیط آبکشت، بذرهای سالم و یکنواخت بادرنجبویه در محلول هیپوکلرید سدیم ۵ درصد به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه ضد عفونی و پس از چند بار شستشو با آب مقطر به محیط کشت پرلیت منتقل شدند و هر روز با آب مقطر آبیاری شدند. پس از جوانه زنی، دانه‌رست‌ها با محلول ۱/۲ لانگشتاین با (Hewitt, 1966) هر هفته آبیاری و زمانی که دو برگ اولیه به طور کامل پهن شدند، دانه‌رست‌ها به ظروف غیر قابل نفوذ به نور با حجم ۲۰۰۰ میلی‌لیتر و محلول غذایی لانگشتاین در محیط کنترل شده گلخانه و شرایط هیدروپونیک با دوره نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و با دمای روز ۲ ± ۲٤ درجه سانتی‌گراد و دمای شب ۲ ± ۱٦ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. برای انجام تهویه مناسب از پمپ هوا استفاده شد در هر ظرف ۲ گیاه قرار داده شد.در این مرحله سطوح تیماری آهن استفاده شده شامل آهن صفر و سه تیمار مجزا ۲/۵ گرم در لیتر، کلرید آهن، کلات آهن و نانو آهن (تهیه شده از شرکت خضراء) در محلول بود.با توجه به اینکه بطور معمول در کشت هیدروپونیک با محلول غذائی لانگشتاین از ترکیب کلرید آهن استفاده می‌شود این تیمار بعنوان شاهد در نظر گرفته شد. ۲۰ روز پس از ان ، تیمار کلرید آلومینیوم با غلظت‌های ۰ و ۵۰ میکرومولار به مدت ۲۵ روز به محلول غذایی حاوی سطوح تیماری قبلی آهن افزوده شد و سپس برداشت نمونه‌ها انجام گردید.لازم به ذکر هست که در تمام مراحل کشت هیدروپونیک هر چهار روز یک بار محلول غذایی تعویض شد.

سنجش پروتئین کل: پروتئین موجود در نمونه‌های گیاهی طبق روش Bradford (۱۹۷٦) اندازه‌گیری شد. به این منظور ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی سرد با قرار دادن در ظرف یخ با ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ٦/۸ هموژن شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، سانتریفوژ گردید .فاز بالایی عصاره بدست آمده برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفت. همه فاز بالایی عصاره به لوله در پیچ دار انتقال داده شد و در یخچال با دمای ٤- درجه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]

سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از فاز بالایی عصاره برداشته و ۲/۵ میلی‌لیتر برادفورد اضافه کرده و در طول موج ۵۹۵ با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. غلظت پروتئین بر حسب میکروگرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

استخراج عصاره آنزیمی: ابتدا ۰/۲۵ گرم بافت برگ ساییده شده توسط ازت مایع را سریعاً وزن کرده و در داخل اپندورف‌های ۱/۵ میلی لیتر ریخته شد. سپس به هر اپندورف ۱ میلی لیتر محلول بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=7.5) که حاوی تریتون ۱ درصد بود اضافه گردید. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در یخچال قرار داده شدند. پس از آن عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دور g ۱۵۰۰۰ و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند. از محلول رویی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: برای سنجش فعالیت این آنزیم از روشAebi (۱۹۸٤) استفاده شد. بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در۲٤۰ نانومتر برای یک دقیقه انجام شد مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار، pH=۷ و آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار بود. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر آغاز گردید. میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی معادل $۳۹/٤mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه و بر حسب یک واحد (میکرومول پراکسید هیدروژن مصرف شده در دقیقه) به ازای میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: سنجش فعالیت این آنزیم طبق روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) انجام شد. ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با pH = ۷، و ۲۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار در حمام یخ مخلوط و بالافاصله ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی به آن افزوده و در نهایت با اضافه کردن ۱۰ میکرولیتر آسکوربات ۵۰ میکرومولار منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز: برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم از روش Gianopolitis و Ries(۱۹۷۷) استفاده شد. بر اساس این روش ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH= ۷/۸، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۲۰ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با قرار دادن نمونه‌ها در مقابل نور شروع می‌شود. پس از ۱۵ دقیقه نور قطع شده و بالافاصله جذب نمونه‌ها در ٥٦۰ نانومتر خوانده شد. در این آزمایش دو نمونه شاهد مورد استفاده قرار می‌گیرد که هر دو بدون عصاره آنزیمی بوده نمونه اول بدون دریافت نور و نمونه دوم ۱۵ دقیقه در مقابل منبع نوری قرار می‌گیرد. میزان فعالیت آنزیم بر حسب یک واحد آنزیم به ازای میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

سنجش میزان فنول، فلاونوئید و فلاونول کل: ابتدا ۰/۰۵ گرم از بافت برگ ساییده شده توسط ازت مایع در سه میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد همگن شد و به مدت سه ساعت در بن ماری در دمای۷۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. سپس سانتریفوژ شد و عصاره متانولی از رسوب جدا شد. عصاره متانولی با متانول به حجم ۳ میلی لیتر رسانده شد و برای سنجش فنول کل، فلاونوئیدها و فلاونول‌ها مورد استفاده قرار گرفت. به ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۵۰۰ میکرولیتر محلول فولین – سیوکالتیو اضافه شد. به مخلوط حاصل بعد از پنج دقیقه ۵۰۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات هفت درصد اضافه و جذب میزان فنول کل بعد از ۱۰ دقیقه در طول موج ۷٦۵ نانومترقرائت گردید (Singleton and Rossi, 1965). به یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی ۲۵۰ میکرولیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۲۵۰ میکرولیتر پتاسیم استات یک مولار اضافه گردید و جذب نمونه‌ها در طول موج ٤۱۵ نانومتر برای سنجش فلاونوئید کل خوانده شد. در نهایت به یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی یک میلی‌لیتر از محلول کلرید آلومینیوم دو درصد، سه میلی‌لیتر از محلول پتاسیم استات پنج درصد اضافه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]

گردید و میزان فلاونول کل در طول موج ٤٤٥ نانومتر اندازه‌گیری شد (Akkol *et al*., 2008).

– **تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:** آنالیزهای آماری در این پژوهش بر اساس طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و سه تکرار انجام گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۵ و MSTAT-C صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج:

اثر متقابل آهن وآلومینیوم بر مقدار پروتئین کل اندام هوائی: نتایج پژوهش حاضر حاکی از افزایش معنی‌دار میزان پروتئین اندام هوائی تحت تیمارهای کلات آهن و نانو آهن در مقایسه با گیاه شاهد(کلرید آهن) می‌باشد در حالی که تیماربا کلرید آهن تأثیر معنی‌داری در میزان پروتئین نداشت (شکل ۱). میزان پروتئین در تیمار کلرید آلومینیوم توام با کلات آهن تغییر معنی‌داری نسبت به تیمار مشابه کلات آهن بدون کلرید آلومینیوم نشان نمی‌دهد تنها تیمار کلرید آلومینیوم توام با نانو آهن نسبت به تیمار مشابه نانو آهن بدون کلرید آلومینیوم کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد. اما برهمکنش آهن و آلومینیوم در مقایسه با گیاهانی که تنها با کلرید آلومینیوم تیمار شده‌اند باعث افزایش معنی‌دار میزان پروتئین بویژه در تیمار کلرید آلومینیوم توام با نانو آهن و کلات آهن شد.

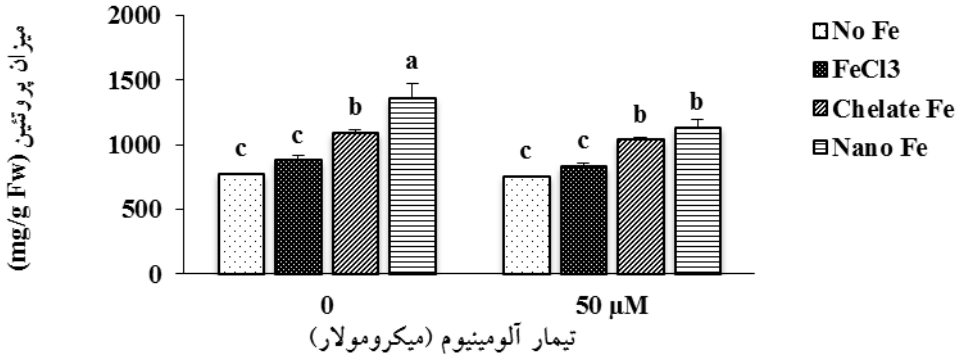
اثر متقابل آهن و آلومینیوم بر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز: تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از مقایسه فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز، در شکل ۲ آورده شده است. مراجعه به شکل ۲ قسمت a و b نشان می‌دهد که در تیمار آلومینیوم نسبت به فاقد آلومینیوم فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش معنی‌داری یافت. برهمکنش آهن و آلومینیوم در مقایسه با گیاهانی که تنها با کلرید آلومینیوم تیمار شده‌اند باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بویژه در تیمار کلرید آلومینیوم توام با نانو آهن و کلات آهن شد.در تیمار آلومینیوم توام با اشکال مختلف آهن بویژه در تیمارهای آلومینیوم توام با کلات آهن و نانو آهن نسبت به اشکال مختلف آهن فاقد آلومینیوم، فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیدازبطور معنی داری کاهش یافت. این در حالی است که در گیاهان تیمار شده با کلات آهن و نانو آهن بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز مشاهده شد و نشان داد که در شرایط بدون آلومینیوم این پارامترها، نسبت بهتیمارهای فاقد آهن و کلرید آهن افزایش معنی‌داری داشتند.

نتایج حاصل از شکل ۲ قسمت c، نشان می‌دهد که در گیاهان تیمار شده با آهن در مقایسه با گیاه فاقد آهن فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز کاهش یافته است. تیمار آلومینیوم نسبت به شاهد بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز تاثیری نداشت اما برهمکنش آهن و آلومینیوم در مقایسه با گیاهانی که تنها با کلرید آلومینیوم تیمار شده‌اند باعث کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم بویژه در تیمارهای آلومینیوم توام با کلات آهن و نانو آهن شد. از طرفی تنها در تیمار کلرید آلومینیوم توام با نانو آهن نسبت به گیاهانی که به تنهایی تحت تأثیر نانو آهن قرار گرفته بودند این پارامتر افزایش معنی‌داری داشت. در گیاهان تیمار شده با آلومینیوم به صورت تنها و شاهد بدون آهن بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مشاهده شد.

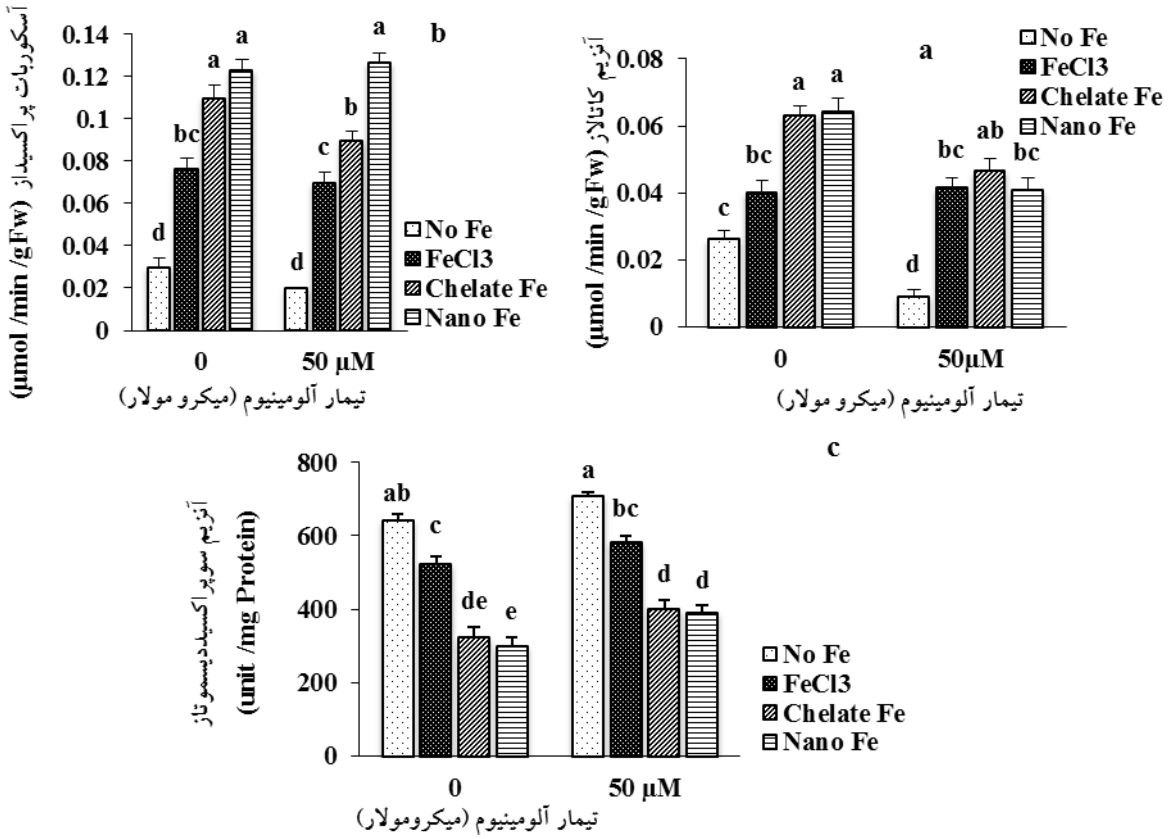
اثر متقابل آهن و آلومینیوم بر مقدار فنول، فلاونوئید و فلاونول کل: همانطور که در شکل ۳ دیده می‌شود میزان فنول، فلاونوئید و فلاونول کل در گیاهان تیمار شده با آهن در مقایسه با نتیمار شاهد فاقد آهن افزایش معنی‌داری داشت. تنش آلومینیوم توام با اشکال مختلف آهن بویژه در تیمارهای توام با کلات آهن و نانو آهن نسبت به اشکال مختلف آهن، باعث کاهش میزان پارامترهای مذکور شد این در حالی است که در گیاهان تیمار شده با کلات آهن و نانو آهن بیشترین میزان فنول، فلاونوئید و فلاونول کل مشاهده شد. همچنین برهمکنش آهن و آلومینیوم در مقایسه با گیاهانی که تنها با کلرید آلومینیوم تیمار شده‌اند باعث افزایش معنی‌دار این پارامترها شد. تیمار کلرید آلومینیوم بدون آهن کاهش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل اشکال مختلف آهن و آلومینیوم بر میزان پروتئین در گیاه بادرنجبویه. (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشند. ستون‌های نشان داده شده با حروف متفاوت در سطح P ≤ ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری دارند)



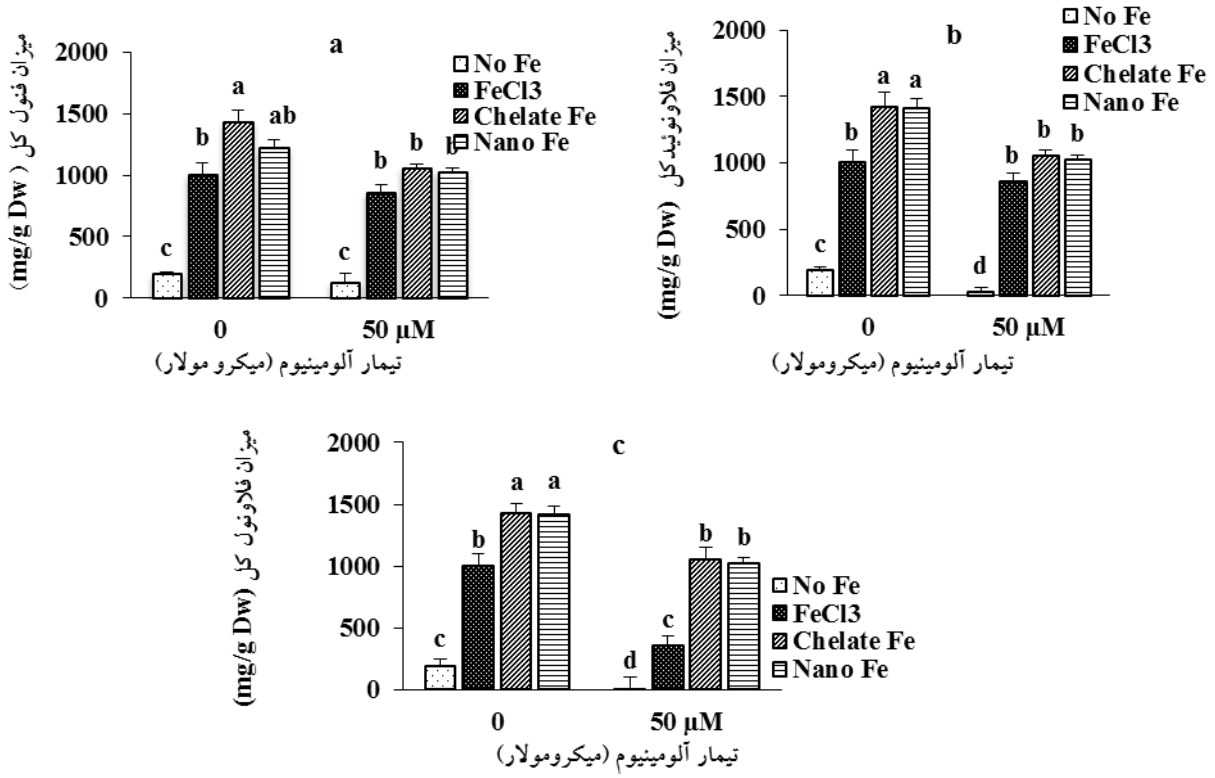
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل اشکال مختلف آهن و آلومینیوم بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (a)، آسکوربات پراکسیداز (b) و سوپراکسیددیسموتاز (c) در گیاه بادرنجبویه. (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشند. ستون‌های نشان داده شده با حروف متفاوت در سطح P ≤ ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری دارند)

معنی‌داری را در میزان فلاونوئید و فلاونول کل (شکل۳ b و c) نسبت به شاهد بدون آهن نشان داد.

بحث:

فلزات سمی از طریق تغییر ساختار پروتئینی یا جایگزینی با یک عنصر حیاتی در ساختار آنزیم‌ها و میزان پروتئین‌های گیاه مداخله می‌کند. در این تحقیق بیشترین میزان پروتئین در تیمار کود نانو آهن مشاهده شد که با توجه به قطر نانو ذرات، سرعت جذب، انتقال و تجمع ذرات نانو بسیار بیشتر از ذرات معمولی می‌باشد و شاید همین بالا بودن کارایی جذب و سطح

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل شکل‌های مختلف آهن و آلومینیوم بر میزان فنول کل (a)، فلاونوئید (b) و فلاونول (c) در گیاه بادرنجبویه. (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشند. ستون‌های نشان داده شده با حروف متفاوت در سطح $P \leq ۰/۰۵$ اختلاف معنی‌داری دارند)

مخصوص نانو ذرات در مقایسه با اندازه ذرات معمولی، اثرگذاری بیشتر این ذرات را می‌تواند توجیه کند (Monica and Cremonini., 2009). از طرفی پیوندی و همکاران (۱۳۹۰) نیز بیان داشتند که محتوای پروتئین‌کل در گیاه مرزه با پیش تیمار آهن افزایش یافته است که این افزایش با کاربرد آهن نانو و کلات آهن نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود.

کاهش در محتوای پروتئینی در غلظت بالای یونی می‌تواند به علت کاهش در سنتز بعضی پروتئین‌ها یا احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولتیکی در اثر القای تنش اکسیداتیو در گیاه باشد (Khudsar *et al.*, 2001). در این تحقیق در تیمارهای متقابل آهن و آلومینیوم میزان پروتئین اندام هوائی نسبت به تیمارهای دارای آهن کاهش جزیی یافته است و تنها در تیمار توام نانو آهن با آلومینیوم این کاهش معنی دار می‌باشد که این کاهش، احتمالاً به دلیل افزایش تجزیه پروتئین می‌باشد به این صورت که رادیکال‌های فعال اکسیژن که در شرایط تنش آلومینیوم ایجاد می‌شوند، موجب اکسیداسیون زنجیره‌های آمینواسید و تشکیل اتصالات پروتئین-پروتئین گردیده و در نهایت منجر به افزایش تجزیه پروتئین می‌شوند. تیمارهای متقابل کلات و نانو آهن با آلومینیوم در بادرنجبویه نسبت به تیمار آلومینیوم به تنهایی باعث افزایش محتوای پروتئینیاندام هوائی شد.شاید این مشاهده گویای این مسئله است که آهن مقاومت گیاه را در برابر آلومینیوم بالا برده است. با توجه به نقش عناصر ریز مغذی از جمله آهن، منگنز و روی در ساختار برخی آنزیم‌ها و همچنین نقش مؤثر آن‌ها در سنتز پروتئین‌ها، با مصرف این عناصر علاوه بر افزایش عملکرد می‌توان مقاومت گیاهان را تحت تنش‌های محیطی بالا برد. بر اساس گزارشات صورت گرفته در مورد جوانه‌های تحت تنش گیاه سورگوم (Vardhini and Rao., 2003) و گندم (Shahbaz *et al.*, 2008)، افزایش رشد در شرایط تنش ناشی از افزایش مقادیر اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌های محلول و فتوسنتز می‌باشد. Basu و همکاران (۱۹۹٤) گزارش دادند که Al^{3+} می‌تواند القاکننده افزایش توده پروتئین‌های مولکولی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]

باشد. تجمع این ماده برای بقا سلول و پایداری غشا در شرایط تنش مهم می‌باشد. به نظر می‌رسد آلومینیوم در سلول سنتز mRNA را تحریک نموده و از این طریق باعث افزایش میزان پروتئین کل می‌گردد.

از آنجایی که عناصر سنگین قادر به کاتالیز کردن و تسریع ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن هستند عناصر و موادی که دارای قابلیت‌های آنتی‌اکسیدانتی هستند می‌توانند از بروز آسیب‌های اکسیدی ناشی از عناصر سنگین جلوگیری کرده و محافظت به عمل آورند گفته می‌شود که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، سیستم‌های تدافعی مهمی برای گیاهان و جهت مقابله با تنش اکسیدی ناشی از فلزات سنگین به شمار می‌آیند (Ali *et al*., 2003).

تجمع گونه‌های فعال اکسیژن به عنوان یک اعلام خطر جهت پاسخ دفاعی سلول گیاهی در برابر شرایط تنش‌های محیطی مطرح می‌باشد. مرگ سلولی در بافت‌های گیاهی به درجه شدت اکسیداتیو حاصل از تنش‌های محیطی مختلف وابسته است. کاتالاز یکی از مهمترین آنزیم‌هایی است که در تجزیه پراکسیدهای سلولی (در شرایط تنش محیطی) نقش دارد. آنزیم کاتالاز در اندامک‌های سلولی چون میتوکندری، پراکسی‌زوم و گلی‌اکسی‌زوم وجود دارد و فرایند تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند (Shah *et al*., 2001). سوپراکسیددیسموتاز هم آنزیمی فلزی می‌باشد که آنیون‌های سوپر اکسید موجود در اکسیژن و پراکسید هیدروژن را کاتالیز می‌کند و به نظر می‌رسد که نقش مهمی در حفاظت از سلول‌ها در مقابل اثرات زیانبخش غیر مستقیم ناشی از این رادیکال‌ها بر عهده دارند. آنزیم آسکوربات پراکسیداز هم یکی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان زیستی می‌باشد که در واکنش احیای فنوکسی رادیکال‌ها به عنوان الکترون دهنده ثانویه نقش دارد. این ترکیب در واکنش با پراکسید هیدروژن سبب احیای رادیکال‌های فنولی می‌شود (Shigeoka *et al*., 2002; Cavalcanti *et al*., 2004).

در این پژوهش فقدان آهن منجر به کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان آنزیم پالاینده پراکسید هیدروژن و آسکوربات پراکسیداز شده است. با توجه به اینکه این آنزیم حاوی آهن هستند و فعالیت آن‌ها احتمالاً تحت تأثیر کمبود آهن قرار می‌گیرد (Shigeoka *et al*., 2002). بنابراین غلظت و نوع آهن بکار رفته در محیط کشت گیاه بر فعالیت این آنزیم مؤثر هست و همانطور که نتایج نشان می‌دهند کلات آهن و نانو آهن بکار رفته در محلول غذائی نسبت به کلرید آهن و تیمار فاقد آهن فعالیت آنزیم کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز را افزایش داد.

Sunو همکاران (۲۰۰۷) هم گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز، در شرایط کمبود آهن کاهش می‌یابد. کمبود آهن در گیاهان نه تنها موجب کلروز می‌شود، بلکه فعالیت آنزیم‌های مشخصی مانند کاتالاز و پراکسیداز را نیز کاهش می‌دهد. زیرا این آنزیم‌ها دارای آهن پورفیرین هستند و به عنوان گروه‌های پروستتیک، نقش ویژه‌ای را در متابولیسم گیاهی ایفا می‌کنند (Bannister *et al*., 1987). همچنین در این پژوهش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در تیمار نانوآهن نسبت به تیمار متقابل آلومینیوم با نانو آهن در گیاه بادرنجبویه کاهش معنی‌داری داشت. بیشترین فعالیت این آنزیم، در شرایط تنش آلومینیوم، در شرایط بدون آهن مشاهده شد. به طوری که نسبت به تیمارهای کلات آهن و نانو آهن افزایش چشم‌گیری داشت. گزارش شده است در اثر تیمار آلومینیوم در سویا فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و مالون دی آلدهید افزایش یافت (Shaw *et al*., 2004).

بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق تحت شرایط تنش آلومینیوم توام با آهن فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نسبت به اشکال مختلف آهن بویژه در تیمارهای توام آلومینیوم با کلات آهن و نانو آهن کاهش پیدا کرد ولی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز طی این شرایط افزایش یافت. بنابراین شاید آهن با افزایش در فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز باعث ایجاد مقاومت به آلومینیوم و افزایش عملکرد بادرنجبویه می‌شود و بیانگر نقش بیشتر این آنزیم در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در این شرایط می‌باشد. به نظر می‌رسد که آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز دارای نقش کمتری در فعالیت دفاعی گیاه تحت این شرایط

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]

می‌باشند. احتمالاً کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در بعضی از تیمارهای توام آلومینیوم و آهن به غیر فعال شدن این آنزیم‌ها توسط تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن و تجزیه یا تخریب غیر تخصصی آنزیم‌ها یا پیوند خوردن فلزات سنگین غیر ضروری به جایگاه یا مرکز عمل آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بر می‌گردد (Filek *et al*., 2008, Mittler, 2002).

ترکیبات فنولی از فراوان‌ترین مواد ترشح شده از ریشه در پاسخ به کمبود آهن می‌باشند. با این وجود نقش اختصاصی ترکیبات فنولی در جذب آهن به خوبی شناخته نشده است. Jin و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که حذف ترکیبات فنولی از محیط رشد به طور ویژه‌ای از مصرف آهن آپوپلاستی ریشه در گیاه شبدر جلوگیری می‌کند و منجر به کمبود آهن و پیشرفت زردی برگ‌ها می‌شود. در این پژوهش ترکیبات فنولی در تنش آلومینیوم و کاربرد آهن نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد که نشان دهنده نقش این ترکیبات در مقاومت گیاه نسبت به آلومینیوم و سازگار شدن گیاه برای جذب آهن می‌باشد. این ترکیبات عموماً به دلیل داشتن نقش آنتی‌اکسیدانی به طور مستقیم با وارد شدن در واکنش‌های احیایی و یا غیر مستقیم به وسیله شلاته کردن آهن مانع تنش اکسیداتیو می‌شوند (Winkel-Shirley, 2002). عقیده بر این است که افزایش مقدار فنول‌های محلول به ویژه پیش‌سازهای بیوسنتز لیگنین با افزایش ضخامت دیواره سلولی و ایجاد مانع زیستی جهت ورود فلزات سنگین به یاخته‌ها تحمل آن‌ها را به این فلزات افزایش می‌دهد (Diaz *et al*., 2001). طبق نتایج به دست آمده کاربرد آلومینیوم توام با اشکال مختلف آهن نسبت به تیمار آلومینیوم به تنهایی باعث افزایش مقدار ترکیبات فنولی تحت شرایط تنش در گیاه بادرنجبویه شد. تیمار گیاه با آهن ممکن است به طور مستقیم باعث القای ژن‌های مسیر بیوسنتز این ترکیبات شده باشد و یا آن که فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتز آن‌ها را افزایش داده باشد و از این طریق باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر آلومینیوم شده است.

نتیجه‌گیری کلی:

بر اساس نتایج این تحقیق غلظت ۵۰ میکرومولار آلومینیوم تنها سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گیاه بادرنجبویه شد در حالی که بر فعالیت انزیمهای کاتالاز و سوپر اکسید دسموتاز تأثیر معنی داری نداشت که شاید نشان دهنده حساسیت بیشتر آنزیم سوپراکسید دسموتاز نسبت به دو آنزیم پاد اکساینده دیگر می‌باشد. و می‌تواند در سازگاری و مقابله گیاهان در برابر تنش‌های ملایم اهمیت داشته باشد. همچنین اثر نوع آهن بر میزان ترکیبات فنولی و مشتقات آن، پروتئین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز برگ‌های بادرنجبویه تاثیری مثبت داشته است به طوری که با افزودن آهن به شکل کلات و نانو، فعالیت این آنزیم‌ها، ترکیبات فنولی و پروتئین‌ها افزایش می‌یابد و می‌تواند تأثیر بیشتری در افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نسبت به شکل معمول آن(کلرید آهن) داشته باشد.بنابر این شاید بتوان اینطور نتیجه گیری کرد که به دلیل جذب بیشتر و اثرات بهتر نانو آهن و کلات آهن نسبت به کلرید آهن بهتر است از غلظت کمتر این دو ترکیب در محیط کشت استفاده شود.. در کل چنین استنباط می‌شود که تأثیر تنش ناشی از آلومینیوم و نوع آهن مصرفی بر فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه متفاوت می‌باشد و به نظر می‌آید که برای استفاده عملی از خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه در زمینه‌های مختلف، باید تحقیقات بیشتری در این زمینه در شرایط مختلف از جمله مدل‌های غذایی دیگر انجام شود.

سپاسگزاری:

بدین وسیله از همکاری دانشگاه پیام نور و مسئولان آزمایشگاه تحقیقاتی مرکز نجف آباد به خاطر همکاری‌های بی‌دریغشان در انجام امور مختلف این پروژه صمیمانه قدردانی می‌شود.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]

منابع

پیوندی، م.، کمالی، ز. و جامکانی، م. م. (۱۳۹۰) تأثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مرزه. مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی ۲: ۲۵-۳۲.

Adinee, J., Piri, K. h. and Karami, O. (2008) Essential oil component in flower of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). American Journal of Biochemistry and Biotechnology 4: 277-278.

Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro* Methods in Enzymology 105: 121-126.

Akkol, E. K., Goger, F., Kosar, M. and Baser, K. H. (2008) Phenolic composition and biological activities of Salvia halophila and Salvia virgata from Turkey. Food Chemistry 108: 942–949.

Ali, M. B., Vajpayee, P., Tripathi, R. D., Rai, U. N., Singht, S. N., Singhg, S. P. (2003) Phytoremediation of lead, nickel and copper by *Salix acmophylla*boiss: role of antioxidant enzymes and antioxidant substances. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 7: 462-469.

Bahtyarca-Bagdat, R. and Cosge, B. (2006) The essential oil of lemon balm *Melissa officinalis* L., its components and using fields. Journal of the Faculty of Agriculture, Ondokuz Mayis University (OMU) 21: 116-121.

Bai, L. and Sui, F. (2006) Effect of soil drought stress on leaf of maize. Pedosphere 16: 326-332.

Bannister, J. V., Bannister, W. H. and Rotills, G. (1987) Aspects of the structure, function and application of superoxide dismutase. CRC critical reviews in biochemistry 22: 111-180.

Basu, U., Basu, A. and Taylor, G. J. (1994) Differential exudation of polypeptides by roots of aluminum resistant and aluminum sensitive cultivars of (*Triticum aestivum* L.) in response to aluminum stress. Plant Physiology 106: 151-158.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the prainciple of protein dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Cavalcanti, F. R., Oliveira, J. T., Martins-Miranda, A., Viegas, A. S. and Silveira, R. A. (2004) Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in saltstressed cowpea leaves. New Phytologist 163: 563-571.

Diaz, J., Bernal, A., Pomar, F. and Merino, F. (2001) Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. International Journal of Plant Sciences 161: 179-189.

Fialova, S., Tekelova, D. Mrlianova, M. and Grancai, D. (2008) The determination of phenolics compounds and antioxidant activity of mints and balms cultivated in Slovakia. Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae 55: 96-102.

Filek, M., Keskinen, R., Hartikainen, H., Szarejko, I., Janiak, A., Miszalski, Z. and Golda, A. (2008) The protective role of selenium in rape seedlings subjected to cadmium stress. Plant Physiology 165: 833-844.

Gianopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase: occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Groppa, M. D., Tomaro, M. L. and Benarides, M. P. (2007) Polyamines and heavy metal stress: the antioxidant behavior of spermine in cadmium and copper treated wheat leaves. BioMetals 20(2): 185-195.

Hewitt, E. J. (1966). Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Technical Communication Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops, East Malling, England.

Jin, C. W., You, G. Y., He, Y. F., Tang, C. X., Wu, P. and Zheng, S. J. (2007) Iron deficiency induced secretion of phenolics facilitates the reutilization of root apoplastic iron in red clover (*Trifolium pratense* L.). Journal of Plant Physiology 144: 278–285.

Khudsar, T., Mahmooduzzafar, M. and Iqbal. M. (2001) Cadmium induced changes in leaf epidermis photosynthetic rate and pigment concentrations in *Cajanus cajan*. Biologia Plantarum 44: 59-64.

Michalak, A. (2006) Phenolic compounds and theirantioxidant activity in plants growing under heavymetal stress. Journal of Environmental Studies 15 (4): 523-530.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 9: 405-410.

Monica, R. C. and Cremonini, R. (2009) Nanoparticles and higher plants. Caryologia 62: 161-165.

Mossor-Pietraszewska, T. (2001) Effect of aluminium on plant growth and metabolism. A review. Acta Biochimica Polonica 48(3): 673-686.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Panda, S. K., Singha, L. B. and Khan, M. H. (2003) Does aluminium phytotoxicity induce oxidative stress in greengram (*Vigna radiate*). Journal of Plant Physiology 29: 77–86.

Ronaghi, A., Chakrol-hosseini, M. and Karimian, N. (2002) Growth and chemical composition of corn as affectedby phosphorus and iron. Journal of Science and Technology of Agricultural and Natural Resources 6: 91-102.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]

Shah, K., Kumar, R. G., Werma, S. and Dubey, R. S. (2001) Effect of cadmium on lipid peroxidasion superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Science 161(6): 1135-1144.

Shahbaz, M., Ashraf, M. and Athar, H. (2008) Dose exogenous application of 24-epibrassinolide ameliorate salt induced growth inhibition in wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Growth Regulation 55: 51-64.

Sharma, P., Jha, A. B., Dubeyr, R. S. and Pessarakli, M. (2012) Reactive oxygen species oxidative damage and antioxidative defense mechanism in plants under stress conditions. A review. Journal of Botany 217: 1-26.

Shaw, B. P., Sahu, S. K. and Mishra, R. K. (2004) Heavy metal induced oxidative damage in terrestrial plants. In: Heavy Metal Stress in Plants. From Biomolecules to Ecosystems.2nd Ed, MNV Prasad, Springer-Verlag New York 84-126.

Shigeoka, S. Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. and Yoshimura, K. (2002) Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. Journal of Experimental Botany 53: 1305-1319.

Silva, S. (2012) Aluminium Toxicity Targets in Plants. A review. Journal of Botany 10: 1-8.

Singleton, V. L. and Rossi, J. R. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungestic acid reagent. American Journal of Enology and Viticulture 16: 144-158.

Sun, B., Jing, Y., Chen, K., Song, L., Chen, F. and Zhang, L. (2007) Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*). Journal of Plant Physiology 164: 536-543.

Vardhini, B. V. and Rao, S. S. R. (2003) Amelioration of osmotic stress by brassinosteroids on seed germination and seedling growth of three varieties of sorghum. Plant Growth Regulation 41: 25-31.

Winkel-Shirley, B. (2002) Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion in Plant Biology 5: 218-223.

Zhu, H., Han, J., Xiao, J. Q. and Jin, Y. (2008) Uptake, translocation and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. Journal of Environmental Monitoring 10: 713-717.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]

Effects of iron chloride, iron chelate and nano-iron on enzymatic and non-enzymatic antioxidant mechanisms in *Melissa officinalis* under aluminum treatment

Shekoofeh Enteshar* and Elahe Esnaashari

Department of Biologhy, Payame Noor University, IR of IRAN
(Received: 07/06/ 2015, Accepted: 20/08/2016)

Abstract:

In order to evaluate the effect of different iron compounds on the activity of antioxidant enzymes and compounds an experiment in a completely randomized design with three replications on *Melissa officinalis* in four groups with different types of iron (iron chloride, iron chelate, and nano iron) and aluminum chloride (0 and 50 µM) was conducted in a hydroponic system. Results showed that protein contents were increased via pre-treatment of iron, and this increase was higher with an augmentation in application of nano iron compared to other treatments. Therefore, this increase could probablybe related to diagonal of nanoparticles. Under aluminum-iron stress conditions, activities of catalase, ascorbate peroxidase, phenolic compounds, and their derivatives were reduced compared to various forms of iron, particularly in combined treatments of aluminum with iron chelate and nano iron. There was, however an increase in activity of the superoxide dismutase under these conditions. So we can conclude from these experiments that iron has affected the antioxidant activity of this plant and thus the resistance of plants to aluminum stress. The use of nano iron and iron chelate effective in hydroponic culture it is best done in less concentration against iron chloride.

Key words: Aluminum, Iron, *Melissa officinalis*.

*Corresponding author: shenteshari@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-12-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.23.3.6]