

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

نفیسه مهدی‌نژاد^{*}، حدیث موسوی، براتعلی فاخری و فروزان حیدری

اگرچه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل

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

چکیده

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

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

مقدمه

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

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

بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium* L.) از خانواده

^{*} نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: mo_nmahdinezhad@uoz.ac.ir

نوری، جذب نور و انتقال انرژی به کلروفیل a را بر عهده دارند (Devlin and Withman, 2002). همچنین به عنوان حامی رنگیزه‌های غیر فتوسنتزی شناخته شده‌اند که می‌توانند انرژی اضافی طول موج‌های کوتاه را بگیرند و اکسیژن یک‌تابی را به اکسیژن سه تابی تبدیل کرده و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی اکسیدانی از خود بروز دهند (Inze and Montagu, 2000). گزارش‌هایی در رابطه با واکنش متفاوت کلروفیل به خشکی ارائه شده است (Munns and Weir, 1981; Irigoyen et al., 1992) به نظرمی‌رسد که کاهش غلظت کلروفیل به دلیل اثر کلروفیل‌لاز، پراکسیداز و ترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد. از طرفی دیگر فلاونوئیدها مهم‌ترین گروه منفرد فنول‌ها در گیاهان می‌باشند که می‌تواند در تعدیل اثرات مخرب تنش نقش مؤثری داشته باشند. در بسیاری از گیاهان دارویی فعالیت بیولوژیک متنوع این ترکیب‌ها از جمله اثرات آنتی اکسیدان، ضد میکروبی و ضد التهاب آنها در بسیاری از بررسی‌ها گزارش شده است (Kay and Holub., 2002).

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

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

از دیگر اثرات عمده تنش کمبود آب، کاهش میزان فتوسنتز (Agati et al., 2007) و کلروفیل a و b می‌باشد (Omid, 2009). حفظ غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش به ثبات فتوسنتز در این شرایط کمک می‌کند. کارتنوئیدها ترکیبات تراترپنی می‌باشند که وظیفه حفظ کلروفیل از اکسیداسیون

مرطوب باشد صورت گرفت. آبیاری گلدان‌ها به منظور رساندن میزان رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه هر دو روز یکبار به صورت وزنی انجام گرفت.

محلول‌پاشی کود نانو کلات آهن و نانو ذرات نقره در سه مرحله (۴ برگی، ۸ برگی و مرحله گلدهی) با غلظت مورد نظر انجام و هر سه مرحله محلول‌پاشی بعد از تنش در هنگام غروب آفتاب انجام شد تا جذب محلول بهتر صورت بگیرد و تبخیر محلول به حداقل برسد. همچنین محلول‌پاشی تا زمانی که کل گیاهان با محلول آغشته شود، ادامه داشت. اعمال تنش کم آبی زمانی که گیاه به مرحله چهار برگی رسید شروع شد. اندازه‌گیری تیمار تنش خشکی با دستگاه تی دی آر (Time Domain Reflectometry) صورت گرفت.

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

کربوهیدرات: برای تعیین غلظت کربوهیدرات از روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. به ۰/۲ گرم بافت تازه از گیاهان شاهد و تیمار شده با نانو ذرات و تنش کم آبی مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه کرده و یک ساعت درون حمام آب گرم با دمای ۸۰-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس عصاره از کاغذ صافی عبور داده شده و مقدار ۱ میلی‌لیتر فنول و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ به آن اضافه گردید. این عمل برای هریک از تیمارها سه بار تکرار گردید و شدت جذب با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۸۳ قرائت شد. میزان کربوهیدرات استخراجی بر اساس میکروگرم

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

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر نانو کلات آهن، نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی و سنتز سبز بر صفات میزان پرولین، فلاونوئید، کربوهیدرات‌های محلول در ساقه، کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل، کارتنوئید و ماده دارویی پارتنولید در گیاه دارویی بابونه کبیر تحت تنش کم آبی در سال ۱۳۹۳ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل، آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با سه تکرار اجراء گردید. فاکتور اول شامل تنش کم آبی در دو سطح (عدم تنش و تنش ملایم یعنی پنجاه درصد ظرفیت زراعی) و فاکتور دوم نانو ذرات در چهار سطح (عدم نانو، نانو کلات آهن، نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی و سنتز سبز با غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام) بود. در این تحقیق از نانو ذرات نقره سنتز سبز در ابعاد ۱۳ نانومتر، نانو ذرات نقره سنتز شیمیایی در ابعاد ۲۰ نانومتر و نانو کلات آهن (تهیه شده از شرکت خضراء) در ابعاد ۱۰۰ نانومتر استفاده شد. بعد از تهیه غلظت مذکور از این نانوذرات، برای دقت کار در موقع اسپری گیاهان اطراف با پوشش پلاستیکی پوشانده شدند. برای سطح شاهد یعنی عدم استفاده از نانو محلول‌پاشی با آب مقطر صورت گرفت. نشاء بابونه کبیر از شرکت زرین ارومیه تهیه شد و سپس گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی با بستر کشت، شامل ۱۰٪ ماسه، ۳۵٪ کوکوپیت، ۳۵٪ درصد پرلیت و ۱۰٪ خاک مزرعه، منتقل شدند. اعمال تنش کم آبی و اسپری نانو ذرات سه مرتبه قبل از گلدهی صورت گرفت و در بار آخر ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش، نمونه برداری انجام شد گلدان‌ها در شرایط یکسان حداقل دما ۹/۱ و حداکثر دما ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و آبیاری به صورتی که خاک گلدان‌ها

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

پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین ابتدا محلول ناین هیدرین به ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیپال افزوده شد. سپس محلول را حرارت داده تا ناین هیدرین در اسید حل گردد. پس از آن ۲ میلی لیتر اسید فسفریک با غلظت ۶ مولار به محلول اضافه شد و محلول بدست آمده به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به منظور تثبیت معرف قرار داده شد. ۰/۰۵ گرم از بافت برگ گیاهان شاهد و تیمار شده با نانو ذرات و تنش کم آبی را در ۵ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ ساییده و محلول با کاغذ صافی صاف شد. ۲ میلی لیتر عصاره صاف شده با ۲ میلی لیتر محلول اسید ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن لوله‌ها به حمام یخ منتقل شدند. به لوله‌ها ۶ میلی لیتر تولوئن اضافه شد و لوله‌ها به‌خوبی تکان داده شدند و بعد از حدود ۲۰ ثانیه دو فاز مجزا تشکیل شد. از فاز بالایی که حاوی تولوئن و پرولین است برای اندازه‌گیری میزان پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر با شاهد تولوئن استفاده شد. این عمل برای هریک از تیمارها سه بار تکرار گردید و با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. میزان پرولین استخراجی بر اساس میکرومول در گرم در وزن تر بدست آمد (Bates et al., 1973).

کلروفیل و کارتنوئید: برای این منظور مقدار ۰/۱ گرم از بافت تر گیاهان شاهد و تیمار شده با نانو ذرات و تنش کم آبی را در هاون چینی ریخته، سپس با استفاده از نیتروژن مایع آن را خرد و به خوبی له نمایید. ۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه اضافه، مخلوط به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و در نهایت، قسمت بالایی عصاره برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل *a* و کلروفیل *b* و کارتنوئید جدا شد. سپس جذب محلول‌های بدست آمده با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Unico UV- 2100 ساخت آمریکا) در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل *a*، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل *b* و ۴۸۰ نانومتر برای کارتنوئید قرائت شد. این عمل

برای هریک از تیمارها سه بار تکرار گردید و سپس میزان کلروفیل بر اساس روش Arnon (۱۹۶۵) و برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر و میزان کارتنوئید به روش Lichtenthale (۱۹۸۷) بر حسب میکرو گرم بر وزن تر محاسبه گردید.

پارتنولید: ابتدا مقدار ۲۰۰ میلی گرم از پودر خشک برگ گیاهی در ۱۰۰ میلی لیتر استونیتریل فوق خالص و به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه در شیکر قرار داده شد. سپس در ۲۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و محلول از فیلتر ۰/۴ میکرون عبور داده شد. سپس حجم محلول با استفاده از مبرد تحت خلع و ۴۰ درجه سانتی‌گراد حرارت به ۱۰ میلی لیتر کاهش یافت و از آن برای ارزیابی توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع استفاده شد. بدین منظور ۱۰ میکرولیتر عصاره استخراجی به ستون دستگاه از نوع phenomenex luna-C18 به طول ۲۵ میلی متر و قطر ۴/۶ میلی متر با ذرات دارای قطر ۵ میکرومتر تزریق شد. فاز متحرک مخلوط استونیتریل (۵۵ درصد) و آب دیونیزه (۴۵٪) بود که با سرعت ۱/۵ میلی لیتر بر دقیقه از ستون عبور نمود و دستگاه در طول موج ۲۱۰ نانومتر تنظیم شده بود. ماده‌ی پارتنولید بر اساس پیک استاندارد و مقایسه سطح زیر منحنی نمونه با نمونه استاندارد تعیین هویت و مقدار گردید. محلول استاندارد این ماده به غلظت ۱۰ میکروگرم در ۱۰ میلی لیتر متانول حل شده بود (Fonseca et al., 2005).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها به کمک نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ (SAS Institute, 2014) مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند و پس از تجزیه آماری به علت معنی‌دار بودن اثر متقابل فاکتورها از روش برش‌دهی برای مقایسه سطوح B (استفاده از نانو و عدم استفاده از نانو) در هر سطح A (تنش و عدم تنش) استفاده شد. سپس با استفاده از آزمون LSD ترکیبات تیماری مقایسه شدند.

نتایج و بحث

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

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

میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییرات
پارتنوئید	پرولین	فلاونوئید	کارتنوئید	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل <i>a</i>	کربوهیدرات		
۰/۰۳۳۰***	۵۲/۳۳۸۹۷**	۰/۹۱۵۷۲**	۰/۶۶۸۶**	۰/۰۲۸۹۱**	۰/۲۱۲۴۴**	۰/۰۱۹۳**	۱	تنش خشکی
۰/۱۶۱۳۵**	۳۰/۱۱۲۸۹**	۰/۶۲۷۴۹**	۰/۵۱۱۵**	۰/۱۵۳۸۳**	۰/۷۰۲۴۲**	۰/۱۳۲۲**	۳	نوع نانو
۰/۰۰۰۲۹**	۰/۴۸۶۷۷**	۰/۱۳۳۹۷**	۰/۰۷۹۷**	۰/۰۱۷۷۵**	۰/۰۹۹۷۱**	۰/۰۰۳۶**	۳	تنش خشکی × نوع نانو
۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۱۶۱	۰/۰۰۱۲۸	۰/۰۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۱	۱۶	خطای آزمایشی

*** بیانگر تفاوت معنی دار در سطح یک درصد

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

میانگین							نانو (B)	تنش (A)
پارتنوئید (میکرو گرم در میلی لیتر)	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	فلاونوئید (درصد جذب)	کارتنوئید (میکرو گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل <i>b</i> (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل <i>a</i> (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کربوهیدرات (میکرو گرم بر گرم وزن تر)		
۰/۰۷۳ ^d	۱/۸۹۷ ^d	۱/۹۲۱ ^d	۱/۹۰۶ ^d	۱/۰۰۵ ^d	۲/۱۲۹ ^d	۱/۳۱۵ ^d	عدم نانو	
۰/۲۶۶ ^b	۴/۱۱۹ ^b	۲/۴۱۶ ^b	۲/۳۵۶ ^b	۱/۱۲۳ ^b	۲/۴۴۹ ^b	۱/۴۴۴ ^b	نانو نقره شیمیایی	۴۴۹
۰/۴۸۳ ^a	۷/۴۹۲ ^a	۲/۶۸۹ ^a	۲/۳۶۹ ^a	۱/۲۶۹ ^a	۲/۶۷۹ ^a	۱/۶۱۴ ^a	نانو نقره سبز	۶۷۹
۰/۲۵۶ ^c	۳/۴۷۱ ^c	۲/۰۷۵ ^c	۲/۲۹۵ ^c	۱/۰۷۱ ^c	۲/۲۹۳ ^c	۱/۴۱۳ ^c	نانو آهن	
۰/۱۶۶ ^d	۴/۷۳۲ ^d	۲/۶۷۳ ^d	۱/۴۵۶ ^d	۰/۸۳۴ ^d	۱/۶۱۵ ^d	۱/۳۲۹ ^d	عدم نانو	۸۳۴
۰/۳۲۶ ^b	۷/۶۹۱ ^b	۲/۴۷۱ ^b	۲/۱۵۰ ^b	۱/۱۴۸ ^b	۲/۵۵۸ ^b	۱/۵۰۹ ^b	نانو نقره شیمیایی	۵۵۸
۰/۵۵۶ ^a	۹/۸۵۱ ^a	۲/۱۷۸ ^a	۲/۲۸۴ ^a	۱/۲۹۳ ^a	۲/۵۷۳ ^a	۱/۷۳۷ ^a	نانو نقره سبز	۷۳۷
۰/۳۲۶ ^c	۶/۶۲۱ ^c	۲/۳۴۲ ^b	۱/۷۰۱ ^c	۰/۹۱۵ ^c	۲/۰۶۹ ^c	۱/۴۳۶ ^c	نانو آهن	

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

گرفت. افزایش میزان کلروفیل و کارتنوئید تحت تیمار نانو نقره بر نقش حفاظتی نانو نقره به عنوان بازدارنده تولید اتیلن دلالت می‌کند. همچنین این نانو ذره در گیاهان از طریق افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز و گلوتامات دهیدروژناز بر متابولیسم نیتروژن اثر گذاشته و باعث افزایش رشد و میزان فتوسنتز می‌شود. میزان کارتنوئید در گیاهان مختلف با بالا رفتن غلظت فلز می‌تواند افزایش یا کاهش نشان دهد.

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

کلروفیل *b*، کلروفیل کل، کارتنوئید و پارتنوئید در سطح یک درصد معنی دار شده است (جدول ۱). نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که استفاده از نانو ذرات نقره سنتز سبز بیشترین تأثیر را و کمترین تأثیر را شاهد (محلول پاشی با آب مقطر) بر کلیه صفات داشته است (جدول ۲). نانوذرات نقره با استفاده از اصول شیمی سبز جایگاه ویژه‌ای در پژوهش‌ها پیدا کرده است. بدین منظور برای اولین بار نانو نقره سنتز شده با استفاده از بستر گیاهی رزماری که یک روش نو ظهور و طبق اصول شیمی سبز است، در این آزمایش مورد استفاده قرار

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

مجموع مربعات							
سطح B درجه آزادی	کربوهیدرات (میکرو گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کارتونوئید (میکرو گرم بر گرم وزن تر)	فلاونوئید (درصد جذب)	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	پارتنولید (میکرو گرم در میلی لیتر)
عدم نانو	۰/۰۰۰۳**	۰/۳۹۵۷**	۰/۰۴۳۸**	۰/۳۰۴۶**	۰/۸۴۷۵**	۱۲/۰۵۳۰**	۰/۰۱۳۰**
نانو نقره شیمیایی	۰/۰۰۶۶**	۰/۰۱۷۷**	۰/۰۰۰۹**	۰/۰۶۳۶**	۰/۰۰۴۵**	۱۹/۱۴۵۹**	۰/۰۰۵۴**
نانو نقره سبز	۰/۰۲۲۶**	۰/۰۲۳۰**	۰/۰۰۰۸**	۰/۰۱۰۸**	۰/۳۵۸۶**	۸/۳۵۲۰**	۰/۰۰۸۰**
نانو آهن	۰/۰۰۰۷**	۰/۰۷۵۰**	۰/۰۳۶۵**	۰/۵۲۸۶**	۰/۱۰۶۹**	۱۴/۸۷۷۴**	۰/۰۰۷۳**

** بیانگر تفاوت معنی دار در سطح یک درصد

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

به‌طور کلی استنباط شد تنش بر روی گیاه بابونه کبیر قادر است فرایند تولید مشخصه‌های مختلفی نظیر، رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان قندهای محلول، پرولین، فلاونوئیدها و پارتنولید متغیر است اثر ساده تنش کم آبی در فاکتورهای پرولین، کربوهیدرات و فلاونوئید و پارتنولید در سطح یک

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

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

داشت. با توجه به جدول برش‌دهی اثر متقابل می‌توان اظهار داشت محلول‌پاشی نانو نقره سنتز سبز در شرایط تنش کم آبی باعث افزایش بیشترین مقدار پارتنولید شده است.

نتیجه‌گیری کلی

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

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

منابع

- اسماعیلی منز، ع.، امید، ح و بستانی، ع. (۱۳۹۱) تأثیر تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد، پرولین، رنگدانه‌های فتوسنتزی، آب نسبی برگ چند ژنوتیپ گلرنگ، مجله پژوهش آب در کشاورزی ۲۵: ۱۹۶-۱۸۷.
- پیوندی، م.، کمالی جامکانی، ز. و میرزا، م. (۱۳۹۰) تأثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مرزه (*Satureja hortensis*). مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی ۲۵-۳۳.
- حیدری، م. و مینایی، ا. (۱۳۹۳) تأثیر تنش خشکی و اسید هیومیک بر عملکرد گل و غلظت عناصر غذایی پر مصرف در گیاه دارویی گاوزبان. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی ۲۱: ۱۶۷-۱۸۲.
- سعیدی، ک. و امید بیگی، ر. (۱۳۸۸). بررسی میزان و ترکیب اسیدهای چرب، میزان کل مواد فنولیکی و میزان اسانس بذر گیاه دارویی کلوس (*Kelussia odoratissima* Mozaff.). فصلنامه علمی - پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۱۱۳-۱۱۹.
- سودایی زاده، ح. و منصوری، ف. (۱۳۹۳) اثر تنش خشکی بر ماده خشک، غلظت عناصر غذایی و قندهای محلول گیاه دارویی مریم گلی لوله‌ای (*Salvia Macrosiphon Boiss*). فصلنامه خشک بوم ۴: ۹-۱.
- صفوی، ف. (۱۳۹۱) تأثیر پلیمر سوپر جاذب، پتاسیم و کود دامی بر مقاومت کدوی پوست کاغذی به تنش خشکی، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه زابل
- فروزنده، م.، سیروس مهر، ع.، قنبری، ا.، اصغری پور، م. ر و خمیری، ع. (۱۳۹۰) تأثیر تنش خشکی و کمپوست زباله بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی نعناع فلفلی. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۴: ۶۷۰-۶۷۷.
- قربانلی، م. و کیاپور، ع. (۱۳۹۱) بررسی اثر غلظت‌های مختلف مس بر رنگیزه‌ها و فعالیت سیستم‌های دفاعی غیر آنزیمی و آنزیمی در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.). فصلنامه علمی - پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲: ۲۴۷-۲۳۵.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- Sharma, K., Sharma, R., Shit, S., Gupta, S. (2012) Nanotechnological application on diagnosis of a plant disease. In: International Conference on Advances in Biological and Medical Sciences. Pp 149–150. Singapore.
- Silva, M. D. A., Jifon, J. L., Da Silva, J. A., and Sharma, V. (2007) Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19: 193-201.
- Soha, E. Khalil., Abdel-Aziz Nahed. G., and Abou Leil. Bedour, H. (2010) Effect of water Stress and ascorbic acid on some morphological and biochemical composition of *Ocimum_basilicum* plant. *Journal of American Science* 6: 33-44.
- Susrurluk, H., Caliskan, Z., Gurkan, O. and Goren, N. B. (2007) Antifeedant activity of some Tanacetum species and bioassay guided isolation secondary metabolites. *Industrial Crops and Product* 26: 220-228.
- Tiuman, T. S., Nakamura, T. U. and Nakamura, C. V. (2005) Antileishmanial activity of parthenolide, a sesquiterpene lactone isolated from *T. parthenium*. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy* 49: 176-182.
- Yang, F., Hong, F. S., You, W. J., Liu, C., Gao, F. Q., Wu, C. and Yang, P. (2006) Influences of nanoanatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research* 110: 179-190.