دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
دوره چهاردهم، شماره پنجاه، ۱۴۰۱

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia L.*) تحت تأثیر کاربرد نانوذرات فلزی در شرایط کشت بافت

فرنام فیروزبخت جهرمی[۱]، بهنام بهروزنام جهرمی[۲]، عبدالحسین ابوطالبی جهرمی[۲]، عبدالکریم اجرایی[۲]، سید عبدالحسین محمدی جهرمی[۲]

دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۸ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۳

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر برخی نانوذرات فلزی بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی کالوس اسطوخودوس اجرا گردید. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سطوح شاهد، نانواکسیدروی، نانواکسیدآهن، نانو نیترات نقره، نانو نیترات نقره+نانواکسیدروی، نانونیتراتنقره+نانواکسیدآهن، نانونیترات‌نقره+نانواکسید روی+نانو اکسید آهن با غلظت ۳۰ میلی‌گرم‌درلیتر بودند. براساس نتایج اثر تیمار نانوذرات فلزی بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b ، کلروفیل کل، کاروتنوئید، مالون‌دی‌آلدئید، محتوای پرولین، قندهای محلول، فلاونوئید، فنول، پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. کاربرد هم‌زمان نانوذرات نقره و آهن منجر به حصول بالاترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b ، کلروفیل کل به ترتیب به مقادیر ۱/۲، ۰/۴۳ و ۱/۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بود که نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۴۳، ۴۵ و ٤٤ درصد افزایش نشان دادند. همچنین کاربرد هر سه نانوذره آهن، روی و نقره سبب شد بالاترین میزان کاروتنوئید به مقدار ۰/٤۲ میلی‌گرم‌برگرم وزن تازه به دست آید. کاربرد نانوذرات فلزی به خصوص کاربرد هم‌زمان آنها منجر به کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید و افزایش مقدار پرولین، قندهای محلول، فلاونوئید و فنول گردید. بالاترین میزان قندهای محلول، فلاونوئید و فنول به ترتیب به مقادیر ۸/٤٦، ۳/۸، ۳/۰۲ و ۷۹/۳۵ میلی‌گرم‌درگرم در تیمار کاربرد هم‌زمان سه نانوذره حاصل گردید. محتوای پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر مثبت کاربرد نانوذرات فلزی قرار گرفت و کاربرد هم‌زمان نانوذرات آهن و نقره منجر به حصول بالاترین میزان پروتئین محلول به مقدار ۰/۲ واحدبرگرم شد. در عین حال، بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۰/٤۳ واحدبرگرم‌دردقیقه) و پراکسیداز (۰/٤ واحدبرگرم‌دردقیقه) به ترتیب در تیمارهای کاربرد هم‌زمان هر سه نانوذره و کاربرد هم‌زمان نانوذرات نقره و روی به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان آنزیمی، پروتئین، پرولین، قند محلول، کلروفیل

فیروزبخت جهرمی، ف.، ب. بهروزنام جهرمی، ع. ابوطالبی جهرمی، ع. اجرایی، س.ع. محمدی جهرمی. ۱٤۰۱. مطالعه خصوصیات بیوشیمیایی اسطوخدوس (*Lavandula angustifolia* L.) تحت تأثیر کاربرد نانوذرات فلزی. ۱٤(۵۰): ۱٦-۱.

۱- دانشجوی دکتری علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران- مسئول مکاتبات: Farnamfe817@gmail.com

۲- عضو هیات علمی گروه علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

مقدمه

فناوری نانو دست‌کاری یا مجتمع کردن اتم‌های منفرد، مولکول‌ها یا توده‌های مولکولی منفرد به ساختارهایی با ویژگی‌ها و صفات جدید بسیار متفاوت است (ما و همکاران، ۲۰۲۰). این ذرات به دلیل اندازه کوچک و ویژگی‌های منحصربه فرد، قابلیت استفاده در علوم مختلف، مخصوصاً علوم زیستی را دارند. یکی از اولین اثرات کاهش اندازه ذرات به زیر ۱۰۰ نانومتر و تبدیل آنها به نانوذرات، افزایش سطح به حجم است که موجب قرارگیری اتم‌های بیشتری در سطح نسبت به حجم و متعاقبا تغییر خواص فیزیکی و شیمیایی ذرات می‌گردد (رضوی زاده، ۱۳۹۸). قابل توجه‌ترین ویژگی ذرات در ابعاد نانو توانایی عبور از سدهایی است که برای ذرات مشابه با ابعاد بزرگتر غیرممکن است. این ویژگی واکنش‌پذیری نانوذرات به‌ویژه نانوذرات فلزی را به شدت افزایش می‌دهد (باکر و همکاران، ۲۰۱۳). البته بایستی در نظر داشت که پاسخ گیاهان به نانوذرات برحسب نوع گونه، مرحله رویشی، سن و ماهیت نانوذرات متفاوت است (نایر و همکاران، ۲۰۱۰). اثر نانوذرات بر عملکرد هر سیستم بیولوژیکی، به خواص فیزیکی نانوذرات، مانند اندازه، شکل، وزن، ترکیب شیمیایی، تغییرات سطح، غلظت نانوذرات و واکنش‌پذیری آن بستگی داشته و از یک گیاه به گیاه دیگر متفاوت است (غلامی و همکاران، ۱۳۹۹). کاربرد عناصر مورد نیاز گیاه در حد و اندازه ذرات نانویی خصوصیات مطلوب مانند غلظت مؤثر، قابلیت حل‌پذیری مناسب، ثبات و تأثیرگذاری بالا و رهایش کنترل شده را دارند که سبب افزایش کارایی عناصر غذایی می‌شوند (نادری و همکاران، ۲۰۱۰). نانوذرات از یک طرف به علت اندازه کوچک، ویژگی ظاهری و نسبت سطح به حجم بیشتر، رشد و تولید محصول را افزایش می‌دهند و از سویی دیگر حفاظت را در مقابل انواع تنش‌های غیرزیستی فراهم می‌کنند (خان و همکاران، ۲۰۱۶). درجه سودمندی نانوذرات توسط ساختار شیمیایی، اندازه، سطح پوشش، واکنش‌پذیری، گونه گیاهی و مهم‌تر از همه غلظت مورد استفاده تعیین می‌شود (صیدیک و همکاران، ۲۰۱۵).

نانوذرات نقره ذراتی آبدوست، با خواص ویژه و کاربرد فراوان از جمله از طریق افزایش فعالیت نیترات رداکتاز و گلوتامات دهیدروژناز بر متابولیسم نیتروژن اثر گذاشته و باعث افزایش رشد و میزان فتوسنتز می‌شود (یانگ و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین نانوذرات نقره اثر قابل توجهی بر جوانه‌زنی، القای سنتز پروتئین، کربوهیدرات، کاهش محتویات فنل کل و فعالیت کاتالاز و پراکسیداز نشان می‌دهد (کریشناراج و همکاران، ۲۰۱۲). نانوذرات نقره 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 (یانگ و همکاران، ۲۰۰۶). فلزاتی همچون نقره در اندازه ذرات نانو دارای توان آنتی‌اکسیدانی بالایی در پالایش گونه‌های فعال اکسیژن هستند و سلول‌ها را از تنش اکسیداتیو در امان نگه می‌دارند (بدلوویکووا و همکاران، ۲۰۲۰). در مطالعه‌ای دیگر روی گیاه خردل برگی مشخص شد که کاربرد نانوذرات نقره منجر به افزایش محتوای کلروفیل، قندهای محلول، پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شده است (شارما و همکاران، ۲۰۱۲). مطالعه تأثیر نانوذرات نقره بر برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه بومادران نشان داد که که در گیاه بومادران هزار برگ تحت تأثیر نانوذرات نقره با حفظ تمامیت غشا، محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی افزایش یافته و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز تحت تأثیر قرار گرفته است (کیهانی بهروز و همکاران، ۲۰۱۳).

نانو کلات آهن نیز با پایه هیدروکربنی ساده بدون پیوند اتیلنی، بدون هورمون، با پایداری بالا و رهایش تدریجی عنصر آهن در pH وسیع ۳ تا ۱۱ می‌تواند یک منبع غنی و مطمئن برای تأمین آهن دو ظرفیتی برای گیاه عنوان گردد عنصر آهن نیز عاملی مؤثر در ترکیب ۱۴۰ آنزیم است که واکنش‌های بیوشیمیایی منحصر به فردی را کاتالیز می‌کند (نایر و همکاران، ۲۰۱۰). این عنصر در طیف وسیعی از فعالیت‌ها و واکنش‌ها مانند بیوسنتز کلروفیل و رنگدانه‌هایی مانند آنتوسیانین‌ها، انتقال الکترون فتوسنتزی و تنفسی، واکنش‌های اکسید-احیاء و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نقش دارد و برای رشد طبیعی و رشد زایشی در گیاهان زراعی مورد نیاز می‌باشد (اصل محمدی و همکاران، ۱۴۰۰). نقش این عنصر در تثبیت ازت و فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز به اثبات رسیده است (آلوارزا و همکاران، ۲۲۰۰۲). آهن جزء ساختار سیتوکروم‌ها، فردوکسین‌ها و لگ‌هموگلوبین‌ها است و در بسیاری از فعالیت‌های حیاتی گیاه از قبیل فتوسنتز، تنفس و تثبیت مولکولی نیتروژن شرکت می‌کند. همچنین آهن در ساختمان پروتئین‌های هم به کار رفته که این ترکیبات پیش‌نیاز ساخت کلروفیل هستند (سانچز و همکاران، ۲۰۰۲). در مطالعه‌ای غلامی و همکاران (۱۳۹۵) کردند که کاربرد نانوکلات آهن باعث کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید و افزایش پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و در نهایت سبب بهبود و افزایش رشد گیاه ریحان تحت تنش شوری گردید. در تحقیق دیگری اثنی‌عشری و انتشاری (۱۳۹۷) گزارش کردند که کاربرد

نانوذرات آهن سبب افزایش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش آلومینیوم گردید. حیدری و همکاران (۱۳۹٤) نیز گزارش کردند محلول‌پاشی نانواکسید آهن سبب افزایش میزان رنگدانه‌ها، جذب عناصر کانی و در نهایت افزایش عملکرد دانه در گیاه کنجد را در پی داشت.

روی به عنوان پایدارکننده پروتئین‌ها، غشاها و پروتئین‌های متصل شونده به DNA جز ساختاری آنزیم‌ها است (سلیمانی و همکاران، ۲۰۱۵). عنصر روی در بیوسنتز آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی نقش دارد (احمد و همکاران، ۲۰۱۷).

اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* L.) یکی از گیاهان دارویی متعلق به خانواده نعناعیان بوده و از مناطق مدیترانه‌ای جنوب اروپا تا اسپانیا منشأ گرفته است و ٤٨ گونه از این گیاه شناسایی شده است. این گیاه چندساله بوده و خاص مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد (نوبر و همکاران، ۱۹۹٦). همه اندام‌های گیاه اسطوخودوس حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانت بوده و از این نظر می‌تواند برای کشت بافت، گیاهی بی‌نظیر باشد و از آن می‌توان ترکیبات آنتی‌اکسیدانت به منظور اهداف دارویی استخراج نمود (مور و همکاران، ۲۰۰۱). تولید پایه‌های گیاهی با روش کشت بافت دارای مزایای زیادی از قبیل تولید بیشتر آنتی‌اکسیدان‌ها در بافت‌های گیاهی بوده و از این طریق توانایی گیاه در مقابله با تنش‌های اکسیداتیو را افزایش می‌دهد (بگوم و همکاران، ۱۹۹٤). همچنین کنترل بیشتر مسیرهای بیوسنتزی برای دستیابی به ترکیبات شیمیایی از قبیل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در مقادیر مطلوب از مزایای تولید متابولیت‌های ثانوی در شرایط کشت درون شیشه است (میساوا و همکاران، ۱۹۹٤). روی این اصل، هدف از اجرای این مطالعه بررسی اثر کاربرد نانوذرات فلزی نقره، آهن و روی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه اسطوخودوس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر کاربرد نانوذرات فلزی بر خصوصیات بیوشیمیایی جداکشت گیاه اسطوخودوس در سال ۱٤۰۰ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم صورت گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. بدین منظور از پنج سانتی‌متری انتهایی سرشاخه انتهایی گیاه اسطوخودوس استفاده گردید. برای کشت نمونه‌ها از محیط MS (موراشیگ و اسکوگ، ۱۹٦۲) با اسیدیته ۵/۷ الی ۵/۸ استفاده شد. محلول مادر عناصر کم مصرف، عناصر پر مصرف، کلات آهن و ویتامین‌ها به صورت جداگانه به ترتیب با غلظت‌های (۲۰۰، ۲۰، ۱۰۰ و ۱۰۰) برابر غلظت پایانی محیط کشت تهیه شدند و برای تهیه ۱ لیتر محیط MS به ترتیب (۵، ۵۰، ۱۰ و ۵) میلی‌لیتر از این محلول‌ها اضافه شد. ساکارز به عنوان منبع کربن ۳۰ گرم بر لیتر و آگار برای جامد کردن محیط کشت به میزان ۸ درصد حجم محیط کشت اضافه شد (میساوا و همکاران، ۱۹۹٤). الیسیتورهایی شامل سطوح شاهد، نانو اکسید روی، نانواکسیدآهن، نانونیترات نقره، نانونیترات نقره با نانواکسیدروی، نانونیترات نقره با نانواکسید آهن، نانونیترات نقره و نانواکسیدروی و نانواکسیدآهن بودند و کاربرد هر کدام از این نانوذرات فلزی با غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام بود. پس از افزودن الیسیتورها به محیط کشت در مرحله واکشت به مدت ۲ ماه هر هفته کالوس‌ها برداشت شدند.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی از طریق روش آرنون (۱۹٤۹) و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ٦٤۵، ٦٦۳ و ٤۸۰ نانومتر اندازه‌گیری و برای شاهد نیز از استون ۸۰ درصد استفاده گردید.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید براساس روش استیوارت و بولی (۱۹۸۰)انجام شد. در این روش مقدار ۰/۵ گرم از نمونه در ده میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید هموژن و به مدت ده دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ و با استفاده از تری کلرواستیک اسید محتوای تیوباربیتوریک ۰/۵ درصد مخلوط شد. پس از آن جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۲ و ٦۰۰ نانومتر ثبت و میزان پراکسیدشدن لیپیدها با استفاده از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید تعیین و اختلاف بین طول موج‌های جذبی و ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی‌مول بر سانتی‌متر به دست آمد.

اندازه‌گیری محتوای پرولین با روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) و با استفاده از سولفوسالسیلیک اسید، استیک‌اسید و ناین هیدرین انجام شد. غلظت پرولین محلول در تولوئن با اسپکتروفتومتر با توجه به منحنی استاندارد پرولین تعیین گردید.

جهت سنجش میزان قند محلول، ۰/۱ گرم نمونه را با ۵ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد در هاون چینی خرد و ۱۵ دقیقه در بن ماری قرار داده شد. پس از افزودن الکل و کلروفورم و مخلوط نمودن، فاز بالایی با سرعت ۱۰۰۰۰ دور به مدت سانتریفیوژ شد و از فاز بالایی و در طول موج ٦۲۰ برای اندازه‌گیری قندهای محلول استفاده گردید (مک کریدی و همکاران، ۱۹۵۰).

برای اندازه‌گیری مقدار فلاونوئیدها از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد. بدین منظور هر کدام از عصاره‌های متانولی گیاهی به صورت جداگانه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم، ۰/۱میلی‌لیتر استات پتاسیم و ۲/۸

میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب هر ترکیب واکنشی در ٤١٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (چنج و همکاران، ۲۰۰۲).

سنجش فنل بر طبق روش سونالد و لایما (۱۹۹۹) انجام شد. یک میلی‌لیتر از محلول نمونه به ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه و با آب دو بار تقطیر، حجم محلول به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه و مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در تاریکی نگه‌داری شد. سپس جذب هر نمونه درطول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

جهت عصاره‌گیری نمونه‌ها برای اندازه‌گیری میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ابتدا مقدار ۰/۵ گرم نمونه در ازت مایع کاملا هموژنیزه شده و سپس ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج (حاوی، ۰/٦ گرم تریس، ۰/۰۵ گرم پلی‌وینیل پیرولیدین و ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ٦ نرمال در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به آن اضافه و در داخل هاون چینی کاملاً مخلوط گردید. ارزیابی میزان کل پروتئین مطابق با روش برادفورد (۱۹۷٦) انجام گرفت. برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ٦۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات سدیم با اسیدیته ۷، ۰/۱۵ میکرو لیتر EDTA، ۵۵۰ میکرو لیتر آب مقطر را در تیوپ ریخته و ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد و بلافاصله در دستگاه طیف‌سنج نوری با طول موج ۲٤۰ نانومتر میزان جذب آن ثبت گردید و پس از سپری شدن زمان یک دقیقه دوباره میزان جذب یادداشت گردید. تغییرات جذب به دست آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر ۳٦ مول بر سانتی‌متر است تقسیم شد و فعالیت آنزیمی برحسب واحد در گرم وزن تر در دقیقه بیان شد (بیرز و سایزر، ۱۹۹۲). در پایان تجزیه داده‌ها و با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگینها به روش LSD و رسم شکلها با نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۰ صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد اثر تیمار کاربرد نانوذرات فلزی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی از قبیل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱).

جدول۱- تجزیه واریانس اثر کاربرد نانوذرات فلزی بر رنگیزه های فتوسنتزی کالوس اسطوخدوس

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
تیمار	٦	۰/۰۸**	۰/۰۲**	۰/۱۹**	۰/۰۳**
خطا	١٤	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰٤	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰٦
ضریب تغییرات (درصد)	-	۵/٦۵	٦/۲۹	٤/۱۹	۷/۸۷

Ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کاربرد نانوذرات فلزی دارای اثر مثبت بر محتوای کلروفیلی و کاروتنوئیدی اسطوخودوس داشت. نتایج نشان داد میزان کلروفیل a تحت شرایط کاربرد هم‌زمان نانوذرات نقره و آهن بالاتر از سایر تیمارهای کاربرد نانوذرات به میزان ۱/۲ میلی‌گرم‌برکیلوگرم وزن تازه بود و در تیمار عدم کاربرد نانوذرات کمترین میزان کلروفیل a به مقدار ۰/٦۸ میلی‌گرم‌برکیلوگرم وزن تازه حاصل گردید که حدود ٤۳ درصد کمتر از تیمار کاربرد هم‌زمان نانوذرات نقره و آهن بود (شکل ۱).

روند تغییرات در محتوای کلروفیل b در گیاه اسطوخودوس تقریباً مشابه با تغییرات کلروفیل a بود و نتایج نشان داد کاربرد هم‌زمان نانوذرات نقره و آهن منجر به حصول حداکثر میزان کلروفیل b به میزان ۰/٤۳ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن تازه بود که نسبت به تیمار شاهد ٤٤ درصد افزایش نشان داد. نتایج نشان داد هر چند کاربرد تنهای نانوذرات آهن، روی و نقره اثر مثبت بر افزایش محتوای کلروفیل b داشت ولی کاربرد هم‌زمان نانوذرات آهن و نقره با اثر سینرژیستی خود منجر به افزایش بیشتر محتوای کلروفیل b گردد و این در حالی بود که کمترین محتوای کلروفیل b به میزان ۰/۱۹ میلی‌گرم‌برکیلوگرم وزن تازه متعلق به تیمار شاهد بود (شکل ۱).

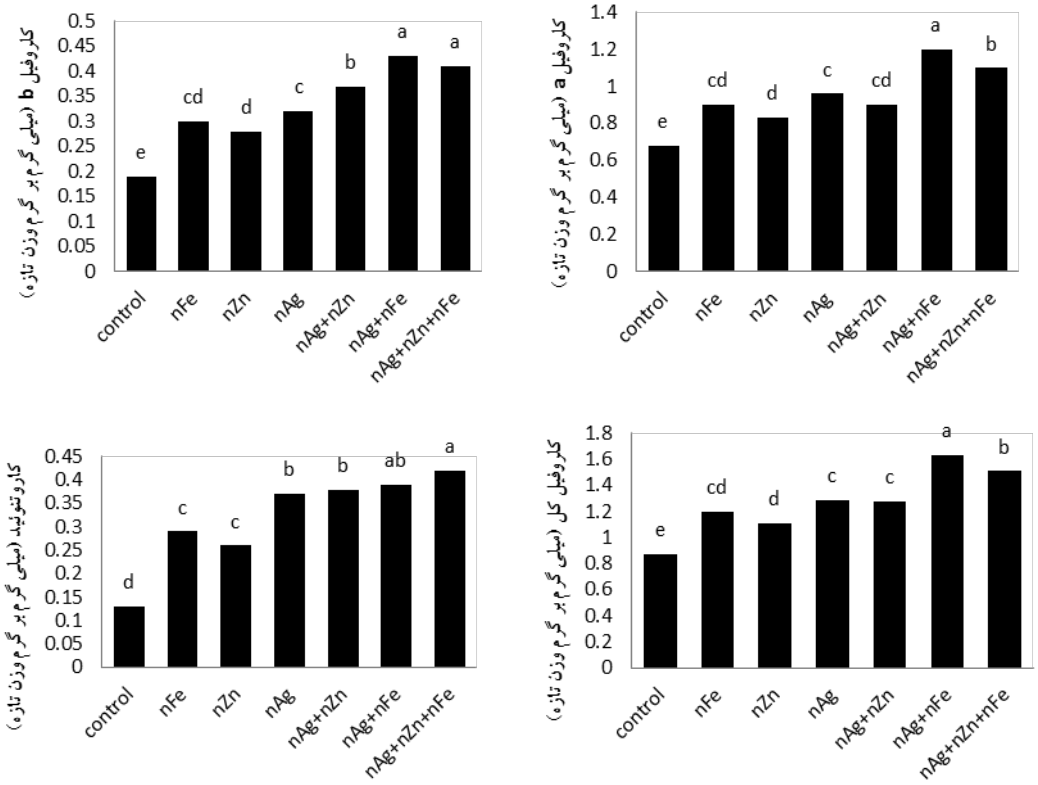
نتایج نشان داد میزان کلروفیل کل نیز در تیمار شاهد کمترین میزان را دارا بود و کاربرد نانوذرات فلزی تنهایی منجر به افزایش میزان کلروفیل کل گردید و از این نظر نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بودند. این در حالی بود که کاربرد

هم‌زمان نانوذرات دارای اثر بیشتری بر افزایش محتوای کلروفیل کل بود و بالاترین میزان کلروفیل کل به میزان ۱/۶۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تازه متعلق به تیمار کاربرد هم‌زمان نانوذرات آهن و نقره بود و از این نظر نسبت به تیمار کاربرد هم‌زمان هر سه نانوذره روی، آهن و نقره دارای تفاوت معنی‌دار بود (شکل ۱). درصد افزایش محتوای کلروفیل در تیمار کاربرد هم‌زمان نانوذرات آهن و نقره نسبت به تیمار شاهد ٤٥ درصد بود.

نتایج نشان داد محتوای کاروتنوئیدی اسطوخودوس در شرایط کاربرد نانوذرات فلزی بالاتر از عدم کاربرد این نانوذرات بود. هر چند کاربرد نانوذرات آهن، روی و نقره به تنهایی منجر به افزایش محتوای کاروتنوئیدی نسبت به تیمار شاهد شد ولی نتایج نشان داد کاربرد نانوذرات نقره نسبت به دو نانوذره دیگر دارای اثر بیشتری بر افزایش محتوای کاروتنوئیدی بود. همچنین نتایج نشان داد کاربرد هم‌زمان نانوذرات به دلیل اثر هم افزایی آنها با هم منجر به افزایش بیشتر محتوای کاوروتنوئیدی اسطوخودوس گردید به طوری که بالاترین میزان کاروتنوئیدی به مقدار ۰/٤۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تازه متعلق به کاربرد هم‌زمان سه نانوذره آهن، روی و نقره بود که نسبت به تیمار شاهد حدود ۷۰ درصد افزایش نشان داد و این تیمار به جز تیمار کاربرد هم‌زمان نانوذرات آهن و نقره با سایر تیمارهای آزمایش دارای اختلاف آماری معنی‌دار بود (شکل ۱).

نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر اثر مثبت کاربرد هر سه نانوذره فلزی بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید بود به طوری که کاربرد هم‌زمان نانوذرات آهن و نقره بیشترین اثر را بر افزایش محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل داشته و کاربرد هم‌زمان هر سه نانوذره آهن، روی و نقره منجر به افزایش بیشتر محتوای کاروتنوئید گردید هر چند که با تیمار کاربرد هم‌زمان آهن و نقره اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. کاربرد هم‌زمان نانوذرات به دلیل وجود اثر سینرژیستی آنها سبب شد که محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید اسطوخودوس نسبت به تیمار شاهد و تیمار کاربرد تنهای آنها اثر بیشتری داشته باشد. در مطالعه غلامی و همکاران (۱۳۹۹) مشخص شد که کابرد نانوذرات فلزی منجر به افزایش محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در گیاه رزماری گردید و عنوان داشتند که افزایش میزان کاربرد نانوذرات فلزی محتوای رنگیزه های فتوسنتزی را به میزان بیشتری افزایش داده است. به کارگیری نانوذرات فلزی در گیاه اسفناج منجر به افزایش مقدار کلروفیل، فتوسنتز و وزن خشک گیاه شد (هونگ و همکاران، ۲۰۰۵). در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که کاربرد نانوذرات فلزی منجر به افزایش محتوای کلروفیلی و فعالیت آنزیم روبیسکو شده است (گوپتا و همکاران، ۲۰۱۱).یکی از دلایل افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط کاربرد نانوذرات فلزی، افزایش جذب نور توسط کلروپلاست و در نتیجه افزایش ظرفیت فتوسنتزی عنوان شده است (زی و همکاران، ۲۰۱۱). برخی از نانوذرات فلزی با افزایش جذب فوتون باعث تحریک واکنش اکسایش و کاهش در گیاه شده که در نهایت منجر به افزایش ظرفیت فتوسنتزی در گیاه و جلوگیری از پیری کلروپلاست می‌گردد (ما و همکاران، ۲۰۲۰). آهن یکی از پیش‌نیازهای اصلی جهت تولید کلروفیل بوده (سانچز و همکاران، ۲۰۰۵) و از این رو کاربرد این نانوذره می‌تواند منجر به افزایش تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی گردد و در ترکیب با نانوذره نقره اثر مثبت بیشتری بر تولید کلروفیل دارد. افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی با کاربرد نانوذرات نقره در مطالعه‌ای روی گیاهان کلزا، لوبیا و ذرت گزارش گردید (شارما و همکاران، ۲۰۱۲).

مطالعه اسپرهم و همکاران (۱۳۹٦) در گیاه کرچک نیز بیانگر افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی از قبیل کلروفیل‌ها و کاروتنوئید در شرایط کاربرد نانوذرات روی بود و بیان داشتند که افزایش غلظت‌های بیش از اندازه این عنصر ممکن است منجر به کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گردد. نتایج مطالعه مهدی نژاد و همکاران (۱۳۹۸) روی گیاه بابونه کبیر بیانگر مثبت بودن اثر کاربرد نانوذرات فلزی بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در گیاه کرچک بود و اثر نانوذرات نقره بیشتر از نانوذرات آهن بود. افزایش میزان کلروفیل و کاروتنوئید تحت تیمار نانو نقره بر نقش حفاظتی نانو نقره به عنوان بازدارنده تولید اتیلن دلالت می‌کند. همچنین این نانو ذره در گیاهان از طریق افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز و گلوتامات دهیدروژناز بر متابولیسم نیتروژن اثر گذاشته و باعث افزایش رشد و میزان فتوسنتز می‌شود (مهدی نژاد و همکاران، ۱۳۹۸).



(C: شاهد بدون کاربرد نانو کود، nFe: نانو اکسید آهن، nZn:نانو اکسید روی و nAg: نانو اکسید نقره)

شکل ۱- اثر نانوذرات فلزی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) کالوس اسطوخودوس ستونهایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشند.

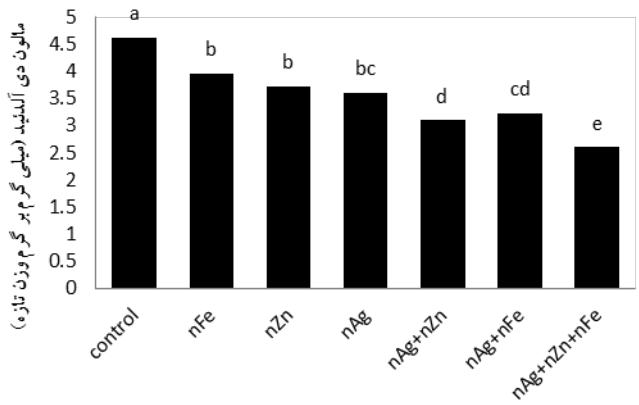
براساس نتایج این مطالعه مشخص شد که تیمار کاربرد نانوذرات فلزی دارای اثر معنی‌دار در سطح یک درصد بر صفاتی از قبیل محتوای مالوندی‌آلدئید، پرولین، قندها محلول، فلاونوئید و فنول بود (جدول ۲).

جدول ۲- اثر کاربرد نانوذرات فلزی بر مالوندی‌آلدئید و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی در کالوس اسطوخودوس

منابع تغییرات	درجه آزادی	مالوندی‌آلدئید	پرولین	قندهای محلول	فلاونوئید	فنول
تیمار	٦	۱/۲۹**	۷/۹**	۱/٦۱**	۱/۱۱**	٥۰٤**
خطا	١٤	۰/۰۷٦	۰/۰۸۹	۰/۱	۰/۰٥۱	۸/۹
ضریب تغییرات (درصد)	-	۷/۷۷	٤/۳۱	۱۰/۹۳	۹/٦۷	٤/٥۱

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

براساس نتایج حاصل از این مطالعه مشخص شد که در تیمار عدم کاربرد نانوذرات فلزی بالاترین محتوای مالوندی‌آلدئید به مقدار ٤/٦۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تازه حاصل گردید و کاربرد نانوذرات فلزی به صورت تنها و کاربرد تلفیقی آنها منجر به کاهش میزان مالوندی‌آلدئید تولیدی در کالوس اسطوخودوس گردید. براین اساس مشخص شد که کمترین میزان مالوندی‌آلدئید به مقدار ۲/٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تازه در تیمار کاربرد هم‌زمان نانوذرات آهن، روی و نقره حاصل گردید و حدود ٤٤ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد (شکل ۲).



(C: شاهد بدون کاربرد نانو کود، nFe: نانو اکسید آهن، nZn:نانو اکسید روی و nAg: نانو اکسید نقره)

شکل ۲- اثر نانوذرات فلزی بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید کالوس اسطوخودوس

ستونهایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشند.

نتایج این مطالعه نشان داد برخی از آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی اندازه گیری شده تحت تأثیر کاربرد نانوذرات فلزی قرار گرفتند و میزان آنها در شرایط کاربرد نانوذرات فلزی بیشتر از شرایط عدم کاربرد آنها بود. براساس این نتایج مشخص شد که هر چند کاربرد تنهای نانوذرات آهن، روی و نقره منجر به افزایش محتوای پرولین گیاه اسطوخودوس شد ولی کاربرد هم‌زمان نانوذرات نقره و آهن سبب شد که بالاترین میزان پرولین به مقدار ۸/٤۷ میکرومول بر گرم وزن تازه حاصل گردید و این تیمار با تیمار کاربرد هم‌زمان هر سه نانوذره (۸/٤٦ میکرومول بر گرم وزن تازه) اختلاف معنی‌داری نداشت ولی با سایر تیمارها دارای تفاوت آماری معنی‌داری بود و نسبت به تیمار شاهد ۵۰ درصد افزایش نشان داد. همچنین نتایج نشان داد تیمار عدم کاربرد نانوذرات فلزی سبب شد که کمترین میزان پرولین به مقدار ٤/۱٦ میکرومول بر گرم وزن تازه حاصل گردید و از این نظر نیز با سایر تیمارها دارای اختلاف آماری معنی‌دار بود (شکل ۳).

قندهای محلول کالوس اسطوخودوس نیز تحت تأثیر کاربرد نانوذرات فلزی افزایش یافت به طوری که کاربرد هم‌زمان هر سه نانوذره نقره، آهن و روی سبب شد که بالاترین میزان قندهای محلول به مقدار ۳/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه حاصل گردد و نسبت به تیمار شاهد ٥٤ درصد افزایش داشت و این تیمار با تیمارهای شاهد و کاربرد تنهای نانوذرات فلزی دارای اختلاف آماری معنی‌داری بود ولی با سایر تیمارها تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. در بین نانوذرات فلزی، کاربرد نانوذرات نقره دارای اثر مثبت بیشتری بر افزایش محتوای قندهای محلول داشت که در ترکیب با سایر نانوذرات نیز با اثر سینرژیستی خود منجر به افزایش بیشتر محتوای قندهای محلول شد. همچنین بر طبق نتایج مشخص شد که در بین تیمارهای آزمایش عدم کاربرد نانوذرات سبب شد که کمترین میزان قندهای محلول به مقدار ۱/۷٤ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه حاصل گردد و با سایر تیمارهای آزمایش دارای اختلاف آماری معنی‌دار بود (شکل ۳).

بر طبق نتایج این مطالعه مشخص شد که محتوای فلاونوئید کالوس اسطوخودوس تحت تأثیر کاربرد نانوذرات فلزی قرار گرفت و مشخص شد که کاربرد نانوذرات فلزی به خصوص کاربرد هم‌زمان سه نانوذره آهن، روی و نقره منجر به افزایش میزان فلاونوئید موجود در کالوس گیاه اسطوخودوس گردید به طوری که بالاترین میزان فلاونوئید به مقدار ۳/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در این تیمار حاصل گردید و نسبت به تیمار شاهد ٦۰ درصد افزایش نشان داد. کاربرد نانوذره نقره دارای اثر مثبت بیشتری بر افزایش محتوای فلاونوئیدی کالوس اسطوخودوس داشت. این در حالی بود که عدم کاربرد نانوذرات فلزی منجر به حصول کمترین میزان فلاونوئید به مقدار ۱/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گردید و از این نظر با سایر تیمارها دارای تفاوت آماری معنی‌داری بود (شکل ۳).

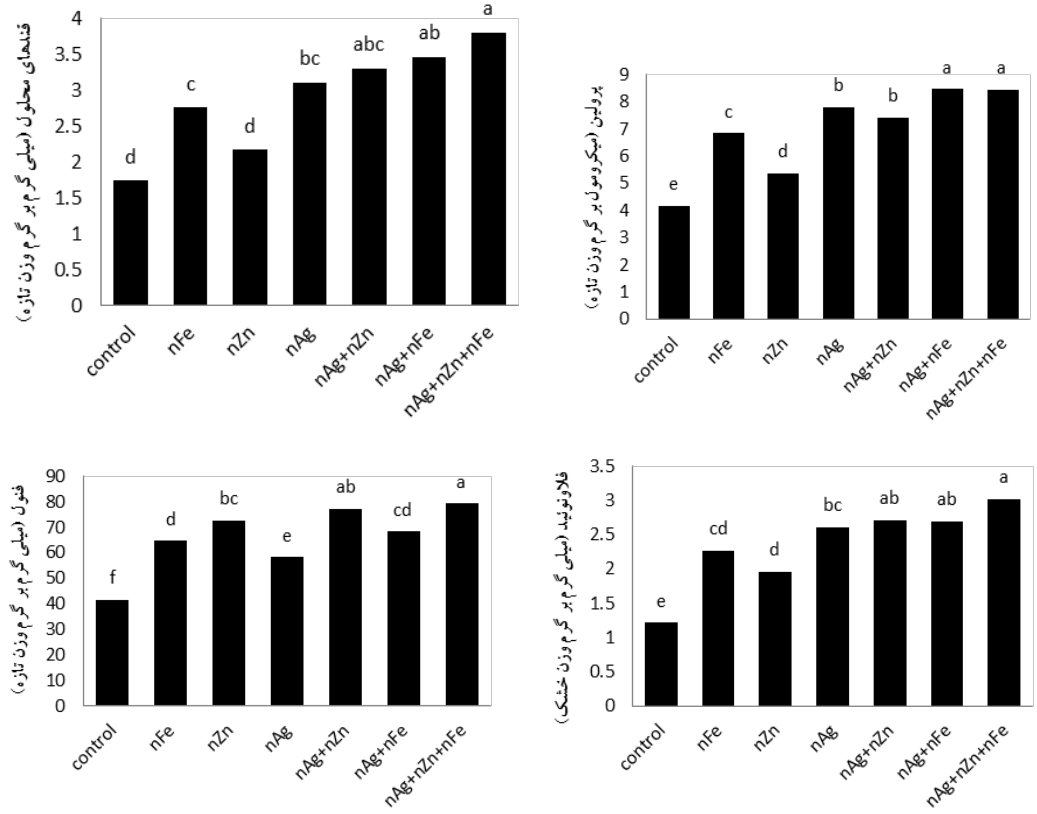
نتایج نشان داد میزان فنول در کالوس اسطوخودوس تحت تأثیر کاربرد نانوذرات فلزی قرار گرفت و تیمار کاربرد هم‌زمان سه نانوذره روی، آهن و نقره منجر به حصول حداکثر میزان فنل به مقدار ۷۹/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه گردید و کمترین میزان فنول نیز به مقدار ٤۱/٦٦ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه در

تیمار شاهد حاصل گردید و اختلاف بین این دو تیمار حدود ۴۸ درصد بود (شکل ۳).

تولید مالون‌دی‌آلدئید بیانگر وقوع پراکسیداسیون لیپید در غشای سلولی بوده و افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید تأیید کننده افزایش میزان پاکسیداسیون لیپیدی و خسارت به غشای سلولی می‌باشد که در این مطالعه کاربرد نانوذرات فلزی به خصوص به صورت هم‌زمان منجر به کاهش میزان پراکسیداسیون لیپید و کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید می باشد. افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از قبیل پرولین، قندهای محلول، فلاونوئید و فنول در شرایط کاربرد نانوذرات فلزی به خصوص کاربرد هم‌زمان آنها با هم ممکن است به دلیل افزایش پالایش گونه‌های فعالی اکسیژن بوده که در نهایت منجر به پالایش بیشتر آنها و کاهش خسارت به غشای سلولی باشد. کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید در شرایط کاربرد هم‌زمان نانوذرات فلزی نیز تأییدی بر این ادعاست که بیانگر افزایش پالایش گونه‌های فعال اکسیژن توسط آنتی‌اکسیدان‌ها و در نتیجه کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در غشای سلولی در شرایط کاربرد نانوذرات فلزی می‌باشد. افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از قبیل فلاونوئیدها در شرایط کاربرد برخی نانوذرات فلزی از قبیل نانونقره در برخی دیگر از مطالعات به اثبات رسیده است (رضوی زاده، ۱۳۹۸). همچنین کاربرد نانوذرات فلزی منجر به افزایش ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه ژربرا شده است (دانایی و همکاران، ۲۰۱۳). در مطالعه ای دیگر روی گیاه لوبیا مشخص شد که کاربرد نانوذرات فلزی منجر به افزایش میزان تولید ترکیباتی از قبیل فلاونوئید در گیاه شده است که با یافته‌های حاصل از این مطالعه مطابقت داشت. افزایش میزان برخی آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه آرابیدوپسیس تحت شرایط کاربرد نانوذرات فلزی نیز گزارش شده است (کیان و همکاران، ۲۰۱۳). آنها عنوان داشتند که کاربرد نانوذرات فلزی به خصوص نانوذرات نقره شرایط تنش اکسیداتیو در گیاه را القا نموده و ضمن افزایش آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی منجر به کاهش مالون‌دی‌آلدئید شده است. بنابراین به نظر می‌رسد که در مطالعه حاضر نیز شرایط مشابهی پدید آمده و کاربرد نانوذرات فلزی به طور هم‌زمان منجر به افزایش بیشتر تولید آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و در نتیجه آن کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید در کالوس اسطوخودوس شده است. غلامی و همکاران (۱۳۹۹) در مطالعه خود عنوان داشتند که افزایش غلظت کاربرد نانوذرات فلزی ضمن کاهش پراکسیداسیون لیپید و محتوای مالون‌دی‌آلدئید، سبب افزایش برخی از آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از قبیل فلاونوئید و قندهای محلول گردید که با یافته‌های حاصل از این مطالعه مطابقت داشت. افزایش محتوای قندهای محلول در اثر کاربرد نانوذرات نقره در گیاهان لوبیا و ذرت گزارش شده است (سالاما و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین افزایش میزان قندهای محلول در اثر کاربرد نانوذرات آهن در گیاه ریحان گزارش شده است (الفکی و همکاران، ۲۰۱۳).

در مطالعه نوری آکندی و همکاران (۱۳۹۹) روی گیاه خرفه مشخص شد که کاربرد نانوذرات آن در غلظت‌های کم منجر به کاهش میزان تولید مالون‌دی‌آلدئید شد ولی اگر میزان کاربرد نانوذرات آهن از حد معینی افزایش یابد سبب افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید می‌گردد و این در حالی بود که افزایش میزان کاربرد نانوذرات آهن در هر غلظتی منجر به افزایش بیشتر تولید پرولین گردید. افزایش میزان تولید پرولین می‌تواند به دلیل ایجاد شرایط تنشی برای گیاه بوده که در جهت مقابله با آن پاسخ گیاه می‌تواند افزایش تولید پرولین و سایر آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از قبیل فلاونوئید، قندهای محلول و فنول باشد که در این مطالعه نیز این وضعیت به خوبی مشاهده گردید. از تبعات مهم افزایش غلظت فلزات سنگین در گیاه تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که موجب افزایش فعالیت رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید می‌شود. رادیکال‌های تولید شده موجب هیدرولیز ماکرومولکول‌هایی مانند DNA، پروتئین، آسیب به غشای سلولی و نشت یونی می‌شود (علی و همکاران، ۲۰۱۵). افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید به دلیل افزایش غلظت هیدروژن پراکسید در محیط ناشی از تنش ایجاد شده است که درنهایت موجب آسیب به غشای سلول می‌شود (زیائو و همکاران، ۲۰۱۸). تحت این شرایط طبیعی است که محتوای برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدانت در گیاه افزایش یافته و پرولین به عنوان یک اسمولیت، جاروب کننده رادیکال‌ها، تثبیت کننده ماکرومولکول‌ها و یک جز دیواره سلولی عمل میکند که با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها باعث حفظ تمامیت غشا می‌گردد (حیات و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین در مطالعه‌ای دیگر کونات و همکاران (۲۰۱۷) عنوان داشتند کاربرد نانوذرات فلزی به خصوص نانوذرات آهن با افزایش میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانت گیاه را از خسارات اکسیداتیو ناشی از افزایش گونه های فعال اکسیژن محافظت می‌نمایند. نتایج حاصل از مطالعه اسپرهم و همکاران (۱۳۹۶) روی گیاه کرچک بیانگر اثر مثبت کاربرد نانوذرات روی بر محتوای قندهای محلول بود و دلیل این امر را اینگونه بیان نمودند که با کاربرد نانوذرات فلزی

ممکن است میزان تعادل آب درون سلولی دچار اختلال شده و سبب تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلولی و آنزیم‌های مسیر متابولیسم قندها شده و منجر به کاهش میزان فعالیت آنزیم اینورتاز می‌گردد و به دنبال کاهش میزان انتقال آب به برگ‌ها و تجمع این عناصر سنگین در سلول میزان کربوهیدرات‌ها در برگ افزایش می‌یابد و در این شرایط افزایش میزان قندهای محلول یک راهکار تطابقی جهت حفظ و نگه‌داری پتانسیل اسمزی می باشد. همچنین افزایش میزان قندهای محلول با کاربرد نانوذرات نقره در مطالعه‌ای روی گیاهان کلزا، لوبیا و ذرت گزارش گردید (شارما و همکاران، ۲۰۱۲). مهدی نژاد و همکاران (۱۳۹۸) در مطالعه خود روی گیاه بابونه عنوان داشتند که کاربرد نانوذرات آهن و نقره و به خصوص نانوذرات نقره منجر به افزایش محتوای پرولین، قندهای محلول، فنول و فلاونوئید در گیاه شده که خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مقابله با گونه های فعال اکسیژن در این گیاه را بالا می‌برند. طایفه و همکاران (۱۳۹۹) نشان دادند که کاربرد نانوذرات نقره محتوای فنول در گیاه زوفا را به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان افزایش داد و عنوان داشتند که از مهمترین دلایل اهمیت ترکیبات فنلی، عملکرد آنها در مکانیسم‌های دفاعی می‌باشد که تحت تأثیر نانوذرات فلزای افزایش یافت. افزایش محتوای فنول که در یک مسیر آبشاری و توسط تعداد زیادی آنزیم کاتالیز می‌شوند، می‌توانند با افزایش تولید آنزیم‌های این مسیر مرتبط باشدکه نانوذرات فلزی روی آنها اثر مثبت داشته و منجر به افزایش تولید فنول شدند (یوسفی و همکاران، ۲۰۱۵). از طرفی یکی دیگر از دلایل افزایش متابولیت‌های ثانویه در زمان‌های اعمال تیمار نانوذرات می‌تواند به این دلیل باشد که حضور نقره در محیط باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن شده و همین عامل موجب شده که گیاه با افزایش بیان ژن‌های درگیر در مسیر بیوسنتز فنل‌ها و افزایش محتوای پرولین، قندهای محلول، فلاونوئید و فنل کل، اثر تنش‌های ایجاد شده را کاهش دهد، یعنی با وادار کردن گیاه به تولید مواد دفاعی (متابولیت‌های ثانوی) موجبات افزایش آنها را فراهم کند (خوشبخت و همکاران، ۲۰۱۲).



(C: شاهد بدون کاربرد نانو کود، nFe: نانو اکسید آهن، nZn:نانو اکسید روی و nAg: نانو اکسید نقره)

شکل ۳- اثر نانوذرات فلزی بر آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی (پرولین، قندمحلول، فلاونوئید و فنول) کالوس اسطوخودوس

ستونهایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشند.

نتایج همچنین نشان داد تیمار کاربرد نانوذرات فلزی دارای اثر معنی‌دار بر صفاتی از قبیل محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز داشت (جدول ۳).

جدول۳- تجزیه واریانس اثر کاربرد نانوذرات فلزی بر پروتئین و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی در کالوس اسطوخودوس

منابع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین	کاتالاز	پراکسیداز
تیمار	٦	۰/۰۰۲۸**	۰/۰۲۲**	۰/۰۲**
خطا	١٤	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۳
ضریب تغییرات (درصد)	-	۸/۸	۱۳/٤۷	٦/۲٦

Ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های آزمایش بیانگر اثر مثبت کاربرد نانوذرات فلزی بر محتوای پروتئین کالوس اسطوخودوس بود به طوری که کاربرد تنهای نانوذرات فلزی محتوای پرولین کالوس را افزایش داد. همچنین نتایج نشان داد کاربرد هم‌زمان نانوذرات فلزی دارای اثر مثبت بیشتر بر افزایش محتوای پروتئین کالوس گردید و کاربرد هم‌زمان دو نانوذره نقره و آهن سبب شد که بالاترین میزان پروتئین کالوس (۰/۲ میلی‌گرم‌برگرم وزن تازه) به دست آمد. هر چند کاربرد نانوذرات فلزی منجر به افزایش محتوای پروتئینی کالوس گردید ولی نتایج نشان داد کاربرد نانوذره آهن اثر مثبت بیشتر بر افزایش محتوای پروتئین کالوس داشت و نتایج نشان داد تیمار شاهد دارای کمترین میزان پروتئین به میزان ۰/۱۲ میلی‌گرم‌برگرم وزن تازه بود که نسبت به تیمار کاربرد هم‌زمان دو نانوذره نقره و آهن حدود ٤۰ درصد کاهش نشان داد (شکل ٤).

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت نیز تحت تأثیر کاربرد نانوذرات فلزی قرار گرفت و نتایج نشان داد بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار کاربرد سه نانوذره آهن، روی و نقره به مقدار ۰/٤۳ واحدبرگرم دردقیقه حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد ۵۸ درصد افزایش داشت. کاربرد هم‌زمان نانوذرات فلزی نسبت به تیمار عدم کاربرد آنها میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را به میزان بیشتری افزیش داد و تیمار عدم کاربرد نانوذرات نیز سبب شد که کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به مقدار ۰/۱۸ واحدبرگرم در دقیقه حاصل گردد و اختلاف آن با سایر تیمارهای کاربرد نانوذرات معنی‌دار بود (شکل ٤).

همچنین براساس این نتایج مشخص شد که کاربرد نانوذرات فلزی منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز شد و هر چند که بین کاربرد تنهای نانوذرات روی و نقره از این نظر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی نتایج بیانگر این مطلب بود که بالاترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار کاربرد هم‌زمان نانوذرات روی و نقره به مقدار ۰/٤ واحدبرگرم‌دردقیقه حاصل گردید که حدود ۵۵ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود. همچنین تیمار کاربرد تنهای نانوذره آهن دارای کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۱۸ واحدبرگرم‌دردقیقه) بود (شکل ٤).

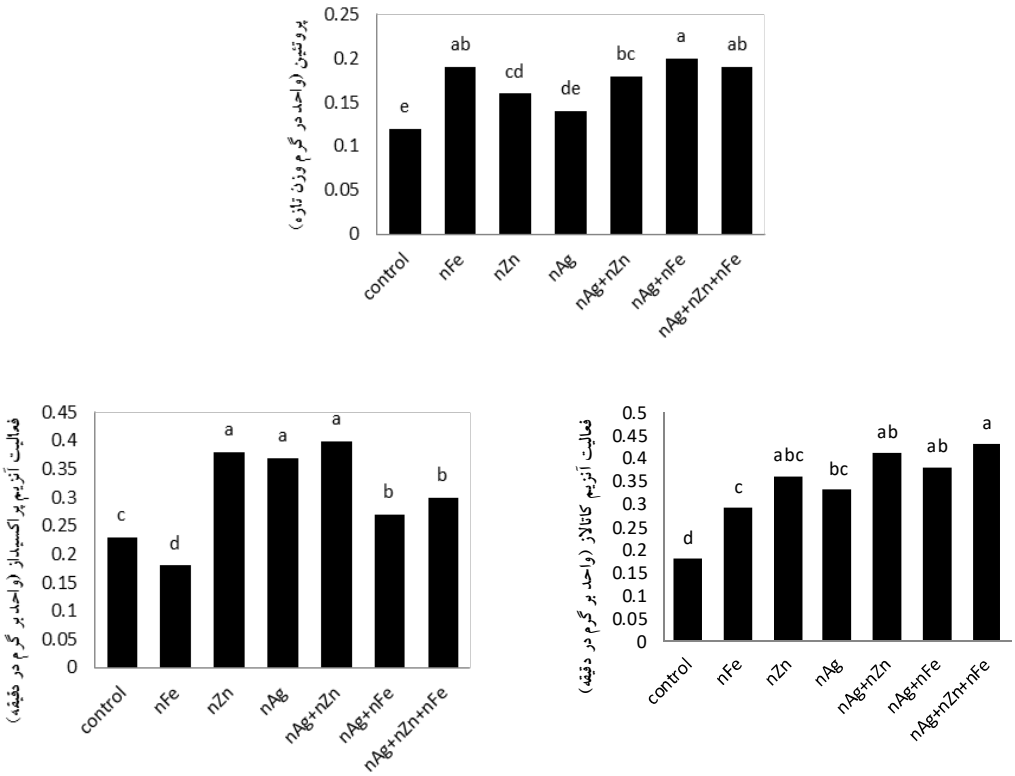
در این مطالعه مشخص شد که کاربرد نانوذرات آهن نسبت به نانوذرات روی و نقره اثر بیشتری بر افزایش محتوای پروتئین کالوس بادرنجبویه داشت و کاربرد آن در ترکیب با نانوذره روی منجر به افزایش بیشتر محتوای پروتئین گردید. البته کاربرد نانوذره نقره اثر معنی‌داری بر افزایش پروتئین کالوس نسبت به تیمار شاهد نداشت. در این مطالعه کاربرد نانوذرات فلزی منجر به افزایش محتوای پروتئین، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز شد و در بین نانوذرات فلزی، کاربرد نانوذرات روی و نقره اثر مثبت بیشتری بر افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نسبت به کاربرد نانوذره آهن داشتند. نتایج حاصل از کار مهدی نژاد و همکاران (۱۳۹۷) نیز بیانگر این طلب بود که کاربرد نانوذره نقره نسبت به نانوذره آهن اثر مثبت بیشتر بر افزایش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز داشت و نتایج آنها تأیید کننده نتایج حاصل از این مطالعه بود. همچنین عنوان شده است که کاربرد نانوذرات فلزی منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه *Bacops monnieri* شده است (سینها و ساکسنا، ۲۰۰٦). عنصر آهن نقش بسیار مهمی در سنتز پروتئین و کربوهیدرات‌ها، اعمال متابولیکی سلول، محافظت غشاء در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر فرآیندهای گیاهی دارد (مارشنر، ۱۹۹۵). پیوندی و همکاران (۲۰۱۹) نیز افزایش در میزان پروتئین در اثر کاربرد کلات آهن را گزارش نمودند. گیاهان با استفاده از آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز یک سیستم

کارآمد برای تجزیه انواع اکسیژن فعال گیاهی دارند که منجر به کاهش میزان خسارت توسط آنها می‌گردد (اوزکور و همکاران، ۲۰۰۹). در گیاه پریوش افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در پاسخ به کاربرد برخی نانوذرات از جمله نانوذرات آهن گزارش شده است (عسکری و همکاران، ۲۰۱۷).

رضوی زاده (۱۳۹۸) نیز در مطالعه خود روی گیاه گوجه فرنگی افزایش محتوای پروتئین محلول در اثر کاربرد برخی نانوذرات را گزارش نمود. آنها همچنین بیان داشتند که کاربرد نانوذرات نقره منجر به افزایش بیشتر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد شد که تأیید کننده نتایج حاصل از این مطالعه بود. به هر حال به نظر می‌رسد که در این مطالعه اثر مثبت کاربرد نانوذرات فلزی بر افزایش میزان پروتئین و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت با القای شرایطی مشابه با تنش اکسیداتیو منجر به افزایش تولید برخی گونه های فعال اکسیژن در کالوس اسطوخودوس شده که در نتیجه آن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در جهت پالایش این گونه های فعال اکسیژن نیز افزایش یافته است. این نتایج توسط مهدی نژاد و همکاران (۱۳۹۷) نیز مورد تأیید قرار گرفته است. آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز هموپروتئین‌هایی هستند که مسئولیت حذف و خنثی سازی ROS و برقراری تعادل میان تولید و میزان تخریب آنها را در سلول برعهده دارند که در این مطالعه کاربرد نانوذرات فلزی کارایی آنها را برای پالایش ROS افزایش داده است. نقره که کاتالیزور شکل‌گیری باندهای دی‌سولفید می‌باشد احتمالا می‌تواند باعث تغییر شکل آنزیم‌های سلولی شده و متعاقبا باعث تاثیر در عمل آنها شود (گاوانجی و همکاران، ۲۰۱۳). افزایش فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان در این مطالعه با افزایش تیمار نانو نقره می‌تواند به دلیل تغییر در اثرات ضداتیلنی نانو نقره و تغییر در شدت تنش اکسیداتیو باشد.

از طرفی بایستی در نظر داشت که تغییرات کمی القاء شده در پروتئین‌های محلول کل ممکن است بازتابی از پاسخ‌های بیوشیمیایی و مولکولی گیاه گوجه در پاسخ به نانوذرات فلزی در محیط کشت و نیز تنش اکسیداتیو و تجمع گونه‌های فعال باشد که در راستای سازگارسازی گیاه نسبت به تغییر شرایط محیطی‌اش بیان شود. نقره به عنوان یک باز دارنده فعالیت اتیلن، با مهار درک سیگنال اتیلن تو سط گیرنده ها بر روند انجام این فرایندها و نحوه بیان ژن‌های درگیر در سطح رونویسی و ترجمه اثر می‌گذارد (رستمی و احسان پور، ۲۰۱۰). افزایش میزان پروتئین‌های محلول با کاربرد نانوذرات نقره در مطالعه ای روی گیاهان کلزا، لوبیا و ذرت گزارش گردید (شارما و همکاران، ۲۰۱۲). صالحی و همکاران (۱۳۹۸) در مطالعه خود روی گیاه لوبیا عنوان داشتند که نانوذرات فلزی مانند نانوذرات روی منجر به افزایش در فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شد. در این زمینه میتلر (۲۰۰۲) عنوان نمود که تفاوت در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به مثابه سیگنالی است که مکانیسم پالایش گونه‌های فعال اکسیژن را تنظیم می‌کند. در برخی دیگر از مطالعات عنوان شده است که کاربرد نانوذرات فلزی مانند نانوذرات آهن و روی منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شد و کاربرد این نانوذرات در غلظت‌های بالاتر منجر به کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شده است (سلیمانی و همکاران، ۲۰۱۵).

احتمالاً یون‌های فلزی در اندازه نانو با عملکرد خود در مهار فعالیت و پاسخ اتیلنی بتواند در مهار یا تغییر بیان ژنهای موثر از اتیلن در سطح ژنوم، رونویسی و ترجمه تأثیر بگذارد و منجر به افزایش پروتئین محلول گردند. در مطالعه‌ای روی گیاه رزماری مشخص شد که کاربرد نانوذرات فلز منجر به افزایش محتوای پروتئین و همچنین فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل کاتالاز و پلی‌فنول‌اکسیداز شده است که تأیید کننده نتایج این مطالعه می‌باشد (غلامی و همکاران، ۱۳۹۹). در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل کاتالاز و پراکسیداز در شرایط کاربرد نانوذرات فلزی افزایش یافته است (ماتینز سانچز و همکاران، ۲۰۱۵).



(C: شاهد بدون کاربرد نانو کود، nFe: نانو اکسید آهن، nZn:نانو اکسید روی و nAg: نانو اکسید نقره)

شکل ٤- اثر نانوذرات فلزی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی (کاتالاز و پراکسیداز) کالوس اسطوخودوس

ستونهایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشند.

نتیجه‌گیری

کاربرد نانوذرات فلزی از قبیل نانوذره آهن، روی و نقره منجر به تغییراتی در خصوصیات بیوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه های فتوسنتزی گیاه حاصل از کالوس اسطوخودوس گردید. براساس نتایج حاصل از این پژوهش مشخص شد که کاربرد هم‌زمان نانوذرات دارای اثر مثبت بیشتری بر افزایش هر یک از این صفات داشته که بیانگر اثر سینرژیستی کاربرد هم‌زمان نانوذرات نسبت به کاربرد تنهای آنها می باشد. نتایج این مطالعه نشان داد کاربرد نانوذات فلزی دارای اثر مثبت بر رنگیزه های فتوسنتزی داشت به طوری که کاربرد هم‌زمان نانوذرات نقره و آهن سبب شد که رنگیزه‌های فتوسنتزی بیشتری در این گیاه حاصل گردد. همچنین کاربرد هم‌زمان آنها منجر به کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید و افزایش مقدار پرولین، قندهای محلول، فلاونوئید و فنول گردید. محتوای پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر مثبت کاربرد نانوذرات فلزی قرار گرفت و کاربرد هم‌زمان آنها دارای اثر مثبت بیشتری بر افزایش این صفات داشت. در نهایت نتایج حاصل از این مطالعه مشخص نمود که کاربرد نانوذرات فلزی آهن، روی و نقره به خصوص به صورت هم‌زمان منجر به بهبود خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه اسطوخودوس شده و با افزایش مقدار آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی منجر به افزایش سلامت سلول‌ها و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی شده که در نهایت منجر به افزایش رنگیزه های فتوسنتزی گردید.

منابع

اثنی عشری، ا. و ش. انتشاری. ۱۳۹۷. مقایسه اثرات کلرید آهن، کلات آهن و نانوآهن بر مکانیسمهای آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدانی گیاه بادرنجبویه تحت تیمار آلومینیوم. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی. ۷: ۲۰۴-۱۹۶.

اسپرهم، ا.، س. سعیدی سار، ه. محمودزاده آخرت، و م.ر. هادی. ۱۳۹٦. تأثیر نانوذرات اکسید روی بر ویژگیهای جوانه زنی، بیوشیمیایی و فراساختار سلولی گیاه کرچک. سلول و بافت. ۸(۲): ۱٦۵-۱۵۱.

اصل محمدی، ز.، ن. محمدخانی، و م. ثروتی. ۱٤۰۰. اثر محلولپاشی آهن و روی بر برخی صفات بیوشیمیایی گیاه آویشن باغی تحت کمبود نیتروژن. مجله پژوهشهای گیاهی. ۳٤(۳): ۱۷-۱.

حیدری، م.، م. گلیج، ه. قربانی، و م. برادران فیروز آبادی. ۱۳۹٤. تأثیر تنش خشکی و محلولپاشی نانواکسید آهن بر عملکرد دانه، محتوای یونی و رنگدانه های نورساختی کنجد .علوم گیاهان زراعی ایران. ٤٦: ٦۱۹-٦۲۸.

رضوی زاده، ر. ۱۳۹۸. اثر نانوذرات نقره بر ظرفیت آنتیاکسیدان و الگوی پروتئین محلول کل در گیاهچه های گوجه در شرایط in vitro. مجله علمی -پژوهشی دانشگاه الزهرا(س/) زیست شناسی کاربردی. ۳۱(۳): ۳۸-۲۲.

صالحی. ه.، ع.ک. چهرگانی راد، ا. مجد، و م. غلامی. ۱۳۹۸. تأثیر نانوذرات اکسید روی و دی اکسید سریم بر میزان انباشت عناصر روی و سریم، برخی پارامترهای رشد و بیوشیمیایی در گیاه لوبیا. مجله پژوهشهای گیاهی. ۳۲(۲): ٤۰۵-۳۹۰.

طایفه، س.، ن. مهنا، س.ک. کاظمی تبار، و و. قاسمی عمران. ۱۳۹۹. تأثیر نانوذرات نقره بر رشد و ترکیبات آنتی اکسیدانی ریشه مویین تراریخت در دو گونه زوفا. فصلنامه گیاهان دارویی ۱۹(۷٤): ۱٤٤-۱۲۹.

غلامی، ا.، ح. عباسپور، م. گرامی، و ح. هاشمی مقدم. ح. ۱۳۹۹. بررسی اثر نانوذرات تیتانیوم دی اکسید بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی از خصوصیات بیوشیمیایی و آنتی اکسیدانی گیاه رزماری. علوم و صنایع غذایی. ۱۰۵(۱۷): ۱۳٤-۱۲۳.

غلامی، آ.، ح. عباسپور، م. گرامی، و ا. قربانی. ۱۳۹۵. تأثیر محلولپاشی نانوکلات آهن بر ویژگیهای رشد و فیزیولوژیک ریحان تحت تنش شوری .مجله علمی پژوهشی اکو فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۸: ۱۳۳-۱۱۷.

مهدی نژاد، ن.، ح. موسوی، ب. فاخری، و ف. حیدری. ۱۳۹۷. اثر برخی نانوذرات بر فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی و عملکرد پارتنولید گیاه دارویی بابونه کبیر تحت تنش کم آبی. مجله تنشهای محیطی در علوم زراعی. ۱۱(٤): ۹۲۹-۹۱۷.

مهدی نژاد، ن.، ح. موسوی، ب. فاخری، و ف. حیدری. ۱۳۹۸. تأثیر نانوذرات بر تغییرات برخی صفات فیزیولوژیک، رنگیزه های فتوسنتزی و ماده مؤثره پارتنولید گیاه بابونه کبیر تحت تنش کم آبی. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۸(۲۹): ۲۲۸-۲۱۹.

نوری آکندی، ز.، ح. مکاریان، ه. پیردشتی، م.ر. علمریان، م. برادران فیروزآبادی، و م.ع. تاجیک قنبری. ۱۳۹۹. تأثیر محلول پاشی نانوذرات آهن بر بهبود برخی صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک خرفه تحت تنش کادمیوم. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۹(۳۵): ۱۲۷-۱٤۳.

Ahmad, P., M. A. Ahanger, M. N. Alyemeni, L. Wijaya, D. Egamberdieva, R. Bhardwaj and M. Ashraf. 2017. Zinc application mitigates the adverse effects of NaCl stress on mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern and Coss] through modulating compatible organic solutes, antioxidant enzymes, and flavonoid content. J. Plant Interact.12: 429-437.

Ali, A., X. Deng, X. Hu, R. A. Gill, S. Ali, S. Wang and W. Zhou. 2015. Deteriorative effects of cadmium stress on antioxidant system and cellular structure in germinating seeds of Brassica Napus L. J. Agric. Sci. Technol. 17: 63-74.

Alvareza, A., M. A. Sierra and J. J. Lucena. 2002. Reactivity of synthetic Fe chelates with soils and soil components. Plant and Soil. 241: 129- 137.

Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolatedchloroplasts. Polyphenol oxidase in Beta vulgaris. Plant physiol. 24: 1-15.

Askari, M., M. Amirjani and T. Saberi. 2014. Evaluation of the effects of iron nanofertilizer on leaf growth, antioxidants and carbohydrate contents of *catharanthus roseus*. J. Plant Proc. Func. 3(7): 43-56.

Baghai, N., N. Keshavarz, M. Amini Dehaghai and M H. Nazaran. 2012. Effect of Nano iron chelate fertilizer on yield and yield components of Cumin (*Cuminum cyminum*) under different irrigation intervals. National Congress on Medicinal Plants, Kish Island, Iran.

Baker, S., D. Rakshith, K. S. Kavitha, P. Santosh, H. U. Kavitha, Y. Rao and S. Satish. (2013). Plants: emerging as nano factories towards Facimile route in synthesis of nanoparticles. Bioimp. 3: 111–117.

Bedlovicova, Z., I. Strapac, M. Balaz and A. Salayova. 2020. A Brief Overview on Antioxidant Activity Determination of Silver Nanoparticles. Molec. 2020, 25: 3091.

Beers, G.R. and I. V. Sizer. 1992. Aspectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. Biol. Chem. 195,133-140.

Begum, A. A., M. Tamaki and S. Kako. 1994. Formation of protocorm-like bodies (PLBs) and shoot development through in vitro culture of outer tissue of Cymbidium PLB. J. Japan. Soci. Hort. Sci. 63(3):663–673.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principal of protein - dye binding, Analyt. Biochem. 72, 248-254.

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

Chang, C., M. Yang, H. Wen and J. Chern. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolbytwocomplementarycolorimetermethods. J. Food Drug analysis. 10: 178-182.

Danaee, E., R. Naderi, S. Kalatejari and A. R. Ladan Moghadam. 2013. Evaluation the effect of nano silver with salicylic acid and benzyl adenine on longevity of Gerbera flowers. J. Basic Appl. Sci. Res. 3(8): 682-690.

Elfeky, A.S., M. A. Mohanned, M. S. Khater and Y. A. H. Osman. 2013. Effect of magnetite nanofertilizer on growth and yield of *Ocimum basilicum* L. Int. J. Indig. Med. Plant. 46(3): 1286-1293.

Gavanji, S.h., H. Abdul Aziz, B. Larki and A. Mojiri. 2013. Bioinformatics prediction of interaction of silver nitrate and nanosilver on catalase and nitrat reductase. Int. J. Sci. Res. Environ. Sci. 1(2): 26-35.

Gupta, S. M. and M. Tripathi. 2011. A review ofTiO2 nanoparticles, Chin. Sci. Bull, 56, 1639–1657.

Hayat, S., Q. Hayat, M. N. Alyemeni, A. S. Wani, J. Pichtel and A. Ahmad. 2012. Role of proline under changing environments. Plant Signal. Contamin. Toxic. 85: 256-263.

Hong, F., J. Zhou, C. Liu, F. Yang, C. Wu, L. Zheng and P. Yang. 2005. Effect of nanoTiO_2 on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. Biol. Trace Element Res. 105 (3): 269-279.

Kayhani Behrouz, M., B. Mohammad Parast and F. Qanati F. 2013. Investigating the effect of silver nanoparticles on some secondary metabolites of (*Achillea millefolium* L.) Thesis, University of Malayer.

Khan, M. N., M. Mobin, Z. K. Abbas, K. A. AlMutairi and Z. H. Siddiqui. 2016. Role of nanomaterials in plants under challenging environments. Plant Physyol. Biochem. 110: 194-209.

Khoshbakhat, T., F. Bahadori, A. Khalighi and M. M. Ardalan. 2012. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on the macro elements and performance aloe vera plant in a greenhouse. J. Crop. Physiol. 2: 45-59.

Konate, A., X. He, Z. Zhang, Y. Ma, P. Zhang, G. M. Alugongo and Y. Rui, Y. 2017. Magnetic (Fe_3O_4) nanoparticles reduce heavy metals uptake and mitigate their toxicity in wheat seedling. Sustain. 9: 1-16.

Krishnaraj, C., E. Jagan, R. Ramachandran, S. Abirami, N. Mohan and P Kalaichelvan. 2012. Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism. Proc. Biochem. 47(4): 651-658.

Ma, X., J. Geiser-Lee, Y. Deng and A. Kolmakov. 2020. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. Sci. Total Environ. 408(16): 3053-3061.

Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Academic Press. Ltd. London.

Martínez-Sánchez, F.M., A. Nunez, J. Amoros and C.F. Gimenez. 2010. Effect of titanium leaf spray treatments on ascorbic acid levels of Capsicum annuum L. fruits. J. Plant Nutr. 16(5): 975-981.

McCready, R. M., J. Guggolz, V. Silviera and H. S. Owens. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables, Analytic. Chem. 22: 1156-1158.

Misawa, N., M. R. Truesdale, G. Sandmann, P.D. Fraser, C. Bird, W. Schuch and P. M. Bramley. 1994. Expression of a tomato cDNA coding for phytoene synthase in Escherichia coli, phytoen formation in vivo and in vitro and functional analysis of the various truncated gene products. J. Biochem. 116:980-985.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7: 405–410.

Moure, A., J. M. Cruz, D. Franco, J. M. Domínguez, J. Sineiro, H. Domínguez, M. José, M. Núñez and J. C. Parajó. 2001. Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry 72(2): 145-171.

Naderi, M., A. Danesh-Shahraki and R. Naderi. 2013. The role of nanotechnology in improving the use efficiency of nutrients and chemical fertilizers. Mon Nanotech. 11: 16-32.

Nair, R., S. H. Varghese, B. G. Nair, T. Maekawa, Y. Yoshida and D. Sakthi Kumar. 2010. Nano particulate material delivery to plants. Plant Sci. 179: 154–163.

Najafi, S., R. Heidari and R. Jamei. 2013. Influence of silver nanoparticles and magnetic field on phytochemical, antioxidant activity compounds and physiological factors of *Phaseolus vulgaris*. Tech. J. Engin. Appl. Sci. 3: 2812-2816.

Nobre , J. 1996. In vitro cloning ad micropropagationof Lavandula stoechas from feld grown plants. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 46: 151- 155.

Ozkur, O., F. Ozdemir, M. Bor and I. Turkan. 2009. Physiochemical and antioxidant responses of theperennial xerophyte Capparis ovata Desf. Todrought. Environ. Exp. Botany. 66: 487–492.

Peyvandi, M., M. Mirza and Z. KamaliJamakani. 2019. The Effect of Nano Fe Chelate and Fe Chelate on the Growth and Activity of some Antioxidant enzymes in *Satureja hortensis*. New Cell. Molec. Biotech. J. 2(5): 25-32.

Qian, H., X. Peng, X. Han, J. Ren, L. Sun and Z. Fu. 2013. Comparison of the toxicity of silver nanoparticles and silver ion on the growth of terrestrial plant model *Arabidopsis thaliana*. J. Environ. Sci. 25: 1947–1955.

Rostami, F. and A.A. Ehsanpour. 2009). Application of silver thiosulfate (STS) on silver accumulation and protein pattern of potato (*Solanum tuberosum* L.) under *in virto* culture. Malaysian Appl. Biol. J. 32(2): 49-54.

Salama, H. 2012. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). Int Res J Biotech, 3(10): 190-7.

Sanchez, A. S., M. Juarez, J. Sanchez-Andreu, J. Jorda and D. Bermudez. 2005. Use of humic substances and amino acids to enhance iron availability for tomato plants from applications of the chelate FeEDDHA. J. Plant Nutr. 28: 1877-1886.

Sharma, P., D. Bhatt, M. G. Zaidi, P.P. Saradhi, P. K. Khanna and S. Arora. 2012. Silver nanoparticlemediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. Appl. Biochem. Biotech. 167: 2225–2233.

Siddiqui, M. H., M. H. Al-Whaibi, M. Firoz and M. Y. Al-Khaishany. 2015. Role of nanoparticles in plants. In: Nanotechnology and Plant Sciences: Nanoparticles and their Impact on Plants. (eds. Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H. and Firoz, M.) Pp. 19-35. Springer International Publishing, Switzerland.

Sinha, S. and R. Saxena. 2006. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and nonenzymaticantioxidant and bacoside –A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. Chemosph. 62(8): 134-135.

Soliman, A. S., S. A. EL-feky and E. Darwish. 2015. Alleviation of salt stress on Moringa oregrine using foliar application of nanofertilizers. J. Hort. Forest. 7: 36-47.

Sonald, S. F. and S. K. Laima. 1999. Phenolics and cold tolerance of Brassica napus. Plant Gricult. 1: 1-5.

Stewart, R. R. C. and J. D. Bewley. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiol. 65: 245-248.

Xiao, X., C. Tongbin, A. Zhizhuang and L. Mei. 2018. Potential of Pteris vittata L. for phytoremediation of sites cocontaminated with cadmium and arsenic: the tolerance and accumulation. J. Environ. Sci. 20: 62-67

Yang, F., F. S. Hong, W. J. You, C. Liu, F. Q. Gao, C. Wu and P. Yang, P. 2006. Influences of nanoanatase TiO2 on the nitrogen metabolism of growing spinach. Biol. Trace Element Res.110: 179-190.

Yang, H., C. H. Sun, Q. Zhang, J. Zou, G. Liu and S. C. Smith. 2008. Anatase TiO_2 single crystals with a large percentage of reactive facets. Nature. 453: 638-641.

Yousefi, K., A. Riahi and A. Baghizadeh. 2015. Investigation of the effects of Ag and Cu elicitors on flavone synthase 1 gene expression and some biochemical parameters on (*Cuminum cyminum* L.) endemic from Iran. J. Plant Res. 28(1): 210-223.

Ze, Y., C. Liu, L. Wang, M. Hong and F. Hong. 2011. The regulation of TiO_2 nanoparticles on the expression of lightharvesting complex II and photosynthesis of chloroplasts of Arabidopsis thaliana. Biol. Trace Element Res. 143: 1131–1141.

Studying the biochemical characteristics of lavender (*Lavandula angustifolia* L.) as affected by metal nanoparticles in callus tissue condition

F. Firouzbakht Jahromi[1], B. Behrouznam Jahromi [1], A. Aboutalebi Jahromi [2], A. Ejraei, [2] S.A. Jahromi [2]

Received: 2023-02-07 Accepted: 2023-08-04

Abstract

This study was conducted in order to investigate the effect of some metal nanoparticles on some biochemical properties of lavender callus. The experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. Experimental treatments include control, nano zinc oxide, nano iron oxide, nano silver nitrate, nano silver nitrate with nano zinc oxide, nano silver nitrate with nano iron oxide, nano silver nitrate and nano zinc oxide, and nano iron oxide with a concentration of 30 ppm. The results of analysis of variance showed that the effect of metal nanoparticles treatment was significant on the content of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, malondialdehyde, proline content, soluble sugars, flavonoid, phenol, soluble protein and activity of catalase and peroxidase enzymes. The simultaneous application of silver and iron nanoparticles led to the highest chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll values by 1.2, 0.43 and 1.63 $mg.g^{-1}$ FW, which were 43, 45 and 44% hiagher in comparison with control treatment respectively. Also, the application of all three nanoparticles of iron, zinc and silver caused the highest amount of carotenoids by 0.42 $mg.g^{-1}$ FW. The application of metal nanoparticles, especially their simultaneous use, led to a decrease in the amount of malondialdehyde and an increase in the amount of proline, soluble sugars, flavonoid and phenol. The highest amount of soluble sugars, flavonoids and phenols were obtained at the values of 8.46, 3.8, 3.02 and 79.35 $mg.g^{-1}$ FW respectively, in the treatment of simultaneous application of three nanoparticles. The soluble protein and the activity of catalase and peroxidase enzymes were positively affected by the application of metal nanoparticles, and the simultaneous application of iron and silver nanoparticles led to the highest amount of soluble protein by 0.2 $U.g^{-1}.min^{-1}$. The highest catalase (0.43 $U.g^{-1}.min^{-1}$) and peroxidase (0.4 $U.g^{-1}.min^{-1}$) activities were observed in the simultaneous application of all three nanoparticles and the simultaneous application of silver and zinc nanoparticles, respectively.

Key words: antioxidant enzyme, protein, proline, soluble sugar, chlorophyll

۱ Ph.D. Student of Horticultural Sciences, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

2- Department of Horticultural Sciences, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran