Eco-phytochemical
Journal of Medicinal Plants
Print ISSN: 2322-3235
Online ISSN: 2783-4697
Islamic Azad University
Gorgan Branch
Iranian Society
of Medical Plants

Investiganting the effect of methyl jasmonate and titanium dioxide nanoparticles on physiological and phytochemical variations of *Rosa damascena.* Mill. esential oil

Zahra Allahverdi[1], Mehrab Yadegari[2*], Mohammad Moghaddam[1,3]

[1] Department of Agronomy and Medicinal Plants, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[2] Medicinal, Spicy and Aromatic Plants Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran, Email: mehrabyadegari@gmail.com
[3] Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Article type:
Research article

Article history
Received: 15-09-2022
Revised: 07-12-2022
Accepted: 08-12-2022

Keywords
Essential oil
Nanoparticles
Mineral nutrient
Methyl jasmonate
Phenolic components
Rosa damascena Mill.
Titanium dioxide

Abstract

Rosa damascena Mill. belongs to Rosaceae family and is considered as one of the most important medicinal and industrial plant. In the present study, the effects of foliar application of methyl jasmonate and titanium dioxide nanoparticles were investigated on physiological and phytochemical traits of Rosa damascena Mill. in two separate experiments based on a randomized complete block design with 3 replications in Farsan during two growing seasons (2019 and 2020). Foliar application of methyl jasmonate (0, 0.5, 1, and 2 mM) and titanium dioxide nanoparticles (0, 100, 200, and 300 mg L^{-1}) was performed three times with 4-day intervals before the flowering stage. Essential oil extraction was done by steam distillation (a clevenger apparatus), phytochemical evaluation was performed using spectrophotometric method, and antioxidant performance was evaluated through DPPH test. Results showed that foliar application of elicitors increased dry weight of leaves and photosynthetic pigments. The phenolic compounds of leaves and petals of R. damascena Mill. also increased in response to applied elicitors and the highest increment was observed in plants treated with 1 mM methyl jasmonate and 100 mg L^{-1} titanium dioxide nanoparticles. Also the results showed the positive effect of applied treatments on increasing macro (N, P, K and Mg) and micro elements (Fe, Mn, and Zn) in leaves of damask rose. Methyl jasmonate (0.5-1 mM) increased the essential oil content of the treated plants by 34.32%. According to the obtained results, methyl jasmonate applied at concentration of 1 mM is suggested to improve the physiological and phytochemical characteristics of the R. damascena plants.

Cite this article as: Allahverdi, Z., Yadegari, M., Moghaddam, M. (2023). A review on phylogeny Investiganting the Effect of Methyl Jasmonate and Titanium Dioxide Nanoparticles on Physiological and Phytochemical Variations of *Rosa damascena*. Mill. Esential oil. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 11(1): 109-129.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi: 10.30495/ejmp.2023.702419
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.8.9

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی
شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۳۲۳۵
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۹۷
دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
انجمن گیاهان دارویی ایران ثبت ۱۸۹۶۳

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Rosa damascena* Mill.

زهرا الهوردی مارکده[۱]، مهراب یادگاری[۲*]، محمد مقدم[۱و۳]

۱ گروه زراعت و گیاهان دارویی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی ادویه‌ای و عطری، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران، رایانامه: mehrabyadegari@gmail.com
۳ گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۹/۱۶
تاریخ پذیرش: **۱۴۰۱/۰۹/۱۷**

واژه‌های کلیدی:
اسانس
ترکیبات فنلی
عناصر غذایی
متیل جاسمونات
گل‌محمدی
نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

چکیده

گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) گیاهی درختچه‌ای، متعلق به تیره گل‌سرخیان است که مصارف متعددی در صنایع غذایی و دارویی دارد. پژوهش حاضر جهت بررسی اثر محلول‌پاشی محرک های متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر خصوصیات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی گل محمدی در دو سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸ و ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در قالب دو آزمایش مستقل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شهرستان فارسان انجام شد. محلول‌پاشی با سطوح متیل جاسمونات (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) هر چهار روز یک بار قبل از باز شدن غنچه‌ها در سه نوبت صورت گرفت. اسانس گیری به روش تقطیر با بخار آب (طرح کلونجر) و ارزیابی فیتوشیمیایی گیاه با استفاده از روشهای اسپکتروفوتومتری و عملکرد آنتی اکسیدانی از طریق آزمون DPPH ارزیابی گردید. براساس نتایج حاصل محلول‌پاشی با محرک‌های رشد، موجب افزایش معنی‌دار عملکرد گلبرگ خشک در واحد سطح و رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید. مقادیر ترکیبات فنلی در برگ و گلبرگ‌های گیاه گل محمدی در واکنش به تیمار محرک‌های رشد، افزایش معنی‌داری داشتند و بیشترین افزایش این ترکیبات در گیاهان محلول‌پاشی شده با متیل جاسمونات (۱ میلی‌مولار) و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بوجود آمد. بررسی غلظت عناصر پرمصرف (نیتروژن، پتاسیم، فسفر، منیزیم) و کم‌مصرف (آهن، منگنز، روی) در برگ گیاه گل محمدی اثر معنی‌دار محرک‌ها بر بهبود مقدار عناصر غذایی را نشان داد. متیل جاسمونات (۱ میلی‌مولار) با افزایش ۳۴/۳۲ درصدی، مقدار اسانس را از ۰/۰۳۷ به ۰/۰۵ درصد افزایش داد. با توجه به نتایج دو ساله تحقیق حاضر، محلول‌پاشی متیل جاسمونات با غلظت ۱ میلی‌مولار جهت بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه گل محمدی در مناطق مشابه پیشنهاد می‌گردد.

استناد: الهوردی مارکده، زهرا؛ یادگاری، مهراب؛ مقدم، محمد. (۱۴۰۲). بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Rosa damascena* Mill. *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۱ (۱)، ۱۲۹-۱۰۹.

Doi: 10.30495/ejmp.2023.702419
Dor: 20.1001.1.23223235.1402.11.1.8.9

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

گیاهان متعلق به خانواده گل‌سرخیان به‌عنوان ماده خام به‌طور گسترده در سراسر دنیا در صنایع عطرسازی و محصولات آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این خانواده، جنس *Rosa* شامل بیش از ۲۰۰ گونه اقتصادی دارویی و زینتی با ارزش است و از بین آن‌ها، گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) مهم‌ترین گیاه حاوی اسانس است که خاستگاه و رویشگاه اولیه آن ایران و مناطق خاورمیانه می‌باشد. میوه گل محمدی شامل فندقه‌های متعددی است که توسط تخمدان گوشتی احاطه شده است (Khaleghi et al., 2020; and Khadivi, 2020 Rusanov). استفاده از اسانس گلبرگ‌های گل محمدی نه تنها به عنوان عطر، بلکه برای درمان و پیشگیری از بیماری‌های متعدد در طب سنتی سال‌های طولانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Dossi et al., 2017., González-Mañán et al., 2017., Mohebitabar et al., 2017). اسانس گل محمدی به علت داشتن ترکیبات متعدد فنلی، دارای خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی بوده و به اشکال مختلف خوراکی، استنشاقی و موضعی در آروماتراپی، درمان بیماری‌های پوستی، جهش‌های کروموزومی و سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Labban and Thallaj, 2020; Jiang et al., 2017). به‌دلیل مقدار کم اسانس در گلبرگ‌های گل محمدی و فقدان جایگزین‌های طبیعی، اسانس این گیاه یکی از گران‌ترین اسانس‌ها در بازارهای جهانی است (González-Mañán et al., 2017).

در بیشتر گیاهان چند ساله مانند گل محمدی، با افزایش سن، رشد و نمو گیاه کاهش می‌یابد؛ بنابراین تولید کم گل و کاهش عملکرد اسانس با گذشت زمان، مشکل اصلی کشاورزان و تولید کنندگان این گیاهان است (Thakur and Kumar, 2020; Seify and Yadegari, 2018). یکی از مؤثرترین روش‌ها برای بهبود تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان استفاده از محرک‌های رشد است. در طی دهه‌های اخیر، از برخی محرک‌های رشد به‌صورت گسترده برای بهبود و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی استفاده شده است (Ho et al., 2020). این ترکیبات با تغییر در رشد، نمو و رفتار فیزیولوژیکی گیاه، نقش مهمی در بهینه‌سازی بازدهی گیاه دارند. محرک‌های رشد در گیاه به مقدار کمی وجود دارند، اما برای رشد و نمو گیاه ضروری هستند. هنگامی که گیاهان در معرض محرک‌های طبیعی یا مصنوعی رشد مانند جاسمونات‌ها قرار می‌گیرند، رفتار رشد و نمو گیاه تغییر می‌کند (Mohamed and Latif, 2017). ویژگی‌های رشد و عملکرد گیاهان دارویی و معطر از جمله مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی، متأثر از عوامل ژنتیکی، تغییرات محیطی و مدیریتی و اثرات متقابل آن‌هاست. این تغییرات منجر به فعال‌سازی محرک‌های رشدی در گیاه گردیده و در اثر آن، پیام‌های شیمیایی ارسال می‌شوند که سبب پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و تجمع فیتوآلکسین‌ها می‌شود (Thakur and Kumar, 2020). یکی از رهیافت‌های نوین در بهبود کمی و کیفی محصولات کشاورزی استفاده از محرک های رشد است. کاربرد محرک‌های رشدی به میزان محدود و در غلظت‌های پایین، ساخت ترکیبات خاصی را در سلول زنده، تحریک یا بهبود بخشیده و زمان دستیابی به مقادیر بالای متابولیت‌های ثانویه را کاهش می‌دهد (Zlotek et al., 2016). محرک‌های رشدی، ترکیباتی با منشأ زیستی یا غیرزیستی، هستند که از طریق القای سیستم دفاعی، باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه و همچنین تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک، در گیاهان می‌شوند چنانچه اثر متقابل

اتانول و سیکلوهگزامید، بر روی برگ گیاه سوسن (*Alstroemeria hybrida*) موجب افزایش طول عمر برگ شده است (Yaghoubi Kiaseh and Yadegari, 2015). افزایش راندمان مصرف آب، کاهش تنفس نوری، افزایش سطح و دوام برگ و در نهایت افزایش عملکرد از اثرات این محرک‌های رشدی است (Kheiri et al., 2020). متیل جاسمونات یک محرک رشد کلیدی برای فرآیندهای مختلف رشد گیاه است که امروزه در شرایط آزمایشگاهی برای تولید متابولیت‌های ثانویه کاربرد گسترده‌ای دارد (Mohamed and Latif, 2017). از سوی دیگر، تیتانیوم نهمین عنصر فراوان در پوسته زمین می باشد که در غلظت‌های پایین برای گیاه مفید است و فرآیندهای متعدد گیاهی را تحت تأثیر قرار می دهد. برای استفاده از تأثیرات مفید آن، این عنصر به ترکیبات عناصر ریزمغذی افزوده می‌شود. گسترده‌ترین ترکیبات مصرف شده از تیتانیوم در دنیا شامل تیتانیوم فلزی، اکسید تیتانیوم و تیتانیوم کلرید هستند. نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم به‌دلیل پایداری بالا، اثرات ضدباکتریایی و خواص فتوکاتالیستی، کاربردهای وسیع‌تری دارند (Shi et al., 2013). Ullah و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کرده‌اند که غلظت بهینه نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم برای افزایش رشد در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است و با افزایش غلظت عملکرد گیاه بهبود نمی یابد. اگرچه تیمار نانوذرات تیتانیوم با توجه به نوع گیاه اثرات متفاوتی دارد ولی با بهینه‌سازی غلظت دی‌اکسید تیتانیوم برای گیاهان دارویی و معطر مختلف می‌توان کیفیت و تولید مواد مؤثره به‌ویژه اسانس را افزایش داد (Ahmad et al., 2018). حرکت تیتانیوم در خاک بسیار کند است و استفاده از این ترکیب به‌صورت محلول‌پاشی مؤثرتر از اضافه کردن نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در خاک است. تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش فتوسنتز، تولید ترکیبات پرورده گیاه را افزایش داده و با تقویت رشد ریشه، جذب آب و عناصر غذایی توسط ریشه‌ها را افزایش می‌دهد و از این طریق بیوماس گیاه بهبود می‌یابد (Alharby et al., 2021). علاوه بر این نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با تأثیر بر متابولیسم اولیه گیاه، تولید متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Ahmad et al., 2018).

با توجه به بررسی منابع، تاکنون تحقیق جامعی راجع به اثرگذاری محلول پاشی متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر خواص کمی و کیفی گیاه دارویی گل محمدی، انجام نشده است و از آنجایی‌که استخراج متابولیت‌های ثانویه گیاه گل محمدی در جهان مورد توجه و رقابت قرار دارد و همواره کیفیت آن مدنظر بوده است، پژوهش حاضر در راستای مطالعه اثر محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با غلظت‌های متفاوت در گلستان گل محمدی در شرایط آب‌وهوایی شهرستان فارسان به‌منظور دستیابی به بیشترین مقادیر صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی و در نهایت اسانس با کیفیت بالاتر، انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلستان گل محمدی واقع در شهر چلیچه از توابع شهرستان فارسان در ۳۵ کیلومتری شهرکرد مرکز استان چهارمحال و بختیاری انجام شد. خصوصیات جغرافیایی، اقلیمی و خاکشناسی محل تحقیق در جداول ۱ و ۲ آمده است.

جدول ۱: مشخصات جغرافیایی و اقلیمی منطقه مورد تحقیق

عرض جغرافیایی	۳۲/۲۶ شمالی
طول جغرافیایی	۵۰/۵۶ شرقی
ارتفاع از سطح دریا	۲۰۵۹متر
پوشش گیاهی	استپی
حداقل مطلق دما	۳۰ – درجهٔ سانتی‌گراد
حداکثر مطلق دما	۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد
میانگین دمای روزانه	۱۱/۸ درجهٔ سانتی‌گراد
متوسط بارندگی سالانه	٤۳۵/۷ میلی‌متر
متوسط رطوبت نسبی	٤٦ درصد
تعداد روزهای یخبندان	۱۱۲ روز
میانگین ساعات آفتابی سالانه	۲۸۷۹ ساعت

جدول ۲: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل تحقیق

سال	بافت خاک	هدایت الکتریکی	مواد خنثی	کربن‌آلی	نیتروژن	اسیدیته	پتاسیم	فسفر	روی	منگنز	آهن	مس
		دسی‌زیمنس بر متر	درصد				میلی‌گرم در کیلوگرم					
۱۳۹۷	لوم	۰/٦۰٦	۳۱/۵	۰/٦٦۳	۰/۰۵۸	۷/۹۲	۲۸۷	۱٦/۵	۰/٦۸	۳/۱٦	۳/۹۸	۰/۹۸
۱۳۹۸	لوم	۰/٦۱	۲۹/۸	۰/۷۱	۰/۰۵۵	۷/۸۸	۲۹۳	۱٦/۸	۰/۷۲	۳/۲۳	۳/٦٤	۰/۸٦

تیمارهای آزمایش: این تحقیق به‌صورت دو آزمایش مستقل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار جهت بررسی اثر محلول‌پاشی متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در دو سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸ و ۱٤۰۰-۱۳۹۹ انجام گرفت. بر اساس نتایج بررسی اولیه واکنش گیاه گل محمدی، متیل جاسمونات در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار در محلول ۱ درصد اتانول و برای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر مورد استفاده قرار گرفت. در این پژوهش نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم به شکل آناتاز (Anatase)[1] از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه گردید. جهت تهیه غلظت‌های موردنیاز از نانو اکسید دی‌اکسید تیتانیوم، ابتدا نانو ذرات با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حالت سوسپانسون درآمدند. سپس برای تشکیل محلولی یکنواخت و همگن، به‌مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک (قدرت ٤۰ وات، قرار داده شده و سپس به حجم رسیدند. در گلستان گل محمدی، بوته‌های سه ساله و زمینی به ابعاد ٦۰×۵۰ متر و حدود ۲٤۰ بوته، در نظر گرفته شد که شش کرت با فاصله پنج متر از همدیگر در آن

۱. اندازه ۲۵-۱۰ نانومتر، سطح ویژه ۲٤۰-۲۰۰ مترمربع بر گرم و خلوص ۹۹ درصد

طراحی شد. هر تیمار بر روی۱۰ بوته به ارتفاع ۹۰ تا ۱۱۰ سانتی متر، میانگین تعداد غنچه ۸±۷۰ و فاصله هر بوته ۱۰۰-۹۰ سانتی‌متر انجام شد. با کمک دستگاه مه پاش در مرحله رویشی گیاه روی برگ ها، هر چهار روز یک بار قبل از باز شدن غنچه ها در سه نوبت محلول پاشی انجام شد. محلول پاشی با آب روی نمونه‌های شاهد نیز با سه تکرار در هر کرت انجام شد. پس‌از باز شدن گل‌ها، برداشت گلبرگ‌ها در چهار مرحله با فاصله زمانی ۳ روز و قبل از طلوع آفتاب صورت گرفت. پس از محاسبه عملکرد گلبرگ‌های برداشت شده از هر بوته، گلبرگ‌های جمع‌آوری شده به منظور محافظت نوری نمونه‌ها و حداقل آسیب به کیفیت اسانس، در پاکت‌های کاغذی نگه‌داری شدند. همچنین از برگ گیاهان تیمار شده جهت اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، نمونه‌برداری انجام گرفت. جهت ارزیابی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، نمونه‌های برداشت شده در مزرعه بلافاصله در فویل آلومینیومی پیچیده و بعد از برچسب زدن نام تیمار در تانک حاوی نیتروژن مایع قرار داده و به آزمایشگاه انتقال داده شد.

صفات مورد ارزیابی

رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاهان تیمار شده، ابتدا ۰/۲۵ گرم برگ تازه خرد شد و در یک هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد تا به صورت یک توده یکنواخت درآید. سپس مخلوط حاصل به لوله‌های فالکون ۲۰ میلی‌لیتر ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ بر دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان جذب نور محلول رویی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۵۲، ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت شد و در نهایت غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها محاسبه گردید (Arnon, 1949).

فنل کل: برای تهیه عصاره متانولی، ۰/۲ گرم (۲۰۰ میلی گرم) برگ تازه از برگ های جوان کاملاً توسعه یافته جدا شد و در هاون چینی با ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۹۹ درصد عصاره‌گیری گردید. سپس به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، عصاره شفاف قسمت فوقانی آن برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی جدا گردید. میزان فنل کل با استفاده از ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره متانولی تهیه شد و با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو اندازه گیری گردید. مقدار جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. از اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده شد و مقدار ترکیبات فنلی کل بر اساس معادل میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک برآورد گردید (Singleton and Rossi, 1965).

فلاونوئید کل: سنجش فلاونوئید کل در برگ و گل‌های گیاهان تیمار شده به روش آلومینیوم کلرید انجام شد. ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شد و با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار (۲/۴۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. در نمونه شاهد بجای عصاره متانولی، از متانول خالص استفاده گردید. مخلوط نیم ساعت در تاریکی قرار داده شد و بلافاصله جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. از غلظت‌های مختلف کوئرستین (صفر الی ۱۶ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان استاندارد استفاده شد و مقدار فلاونوئیدها بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک محاسبه شد (Chang et al ., 2002).

آنتوسیانین کل: برای تعیین مقدار آنتوسیانین کل در برگ و گل‌های گیاهان تیمار شده گل محمدی، ۰/۱ گرم نمونه گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی سائیده شد و عصاره به مدت ٢٤ ساعت در تاریکی قرار داده شد. پس از آن عصاره با ٤٠٠٠ دور در ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب محلول رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. مقدار آنتوسیانین با استفاده از ضریب خاموشی ۳۳۰۰ میلی‌مول بر سانتی‌متر محاسبه گردید (Wanger, 1979).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق آزمون DPPH توسط معرف ۲و ۲- دی فنیل پیکریل هیدرازین انجام گردید (Moon and Terao, 1998). بدین منظور به غلظت‌های مختلف اسانس، ۱/۵ میلی‌لیتر DPPH (با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار در متانول) اضافه گردید. به‌طور موازی همراه با هر نمونه، یک نمونه شاهد نیز که در آن به جای اسانس، ۲۰ میکرولیتر آب مقطر بود، به همراه نمونه‌های اصلی به مدت ۵۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس جذب هر محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. جذب سه غلظت از نمونه و یک نمونه کنترل اندازه‌گیری شد و مطابق فرمول زیر درصد ممانعت هر غلظت محاسبه شد:

(جذب کنترل/(جذب نمونه- جذب کنترل)) = درصد ممانعت × ۱۰۰

پس از کشیدن نمودار برای هر نمونه (محور افقی بر اساس غلظت و محور عمودی بر اساس درصد ممانعت)، غلظتی از نمونه که درصد ممانعت آن ۵۰ درصد بود (IC_{50})، از روی معادله نمودار مربوطه به‌دست آمد.

نیتروژن: جهت اندازه‌گیری میزان نیتروژن، ۰/۳ گرم از ساختار برگ گیاه را با ۱/۱ گرم از کاتالیزور که شامل ۱۰ گرم سولفات مس، ۱۰۰ گرم سولفات پتاسیم و ۱ گرم پودر سلنیوم بود با ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ مخلوط گردید و ۱/۵ تا ۲ ساعت در هیتر با دمای ۵۰۰ درجه قرار داده شد تا عمل هضم صورت گیرد. پس از سرد شدن ماده هضم شده با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد و سپس ۲۰ میلی‌لیتر از آن توسط دستگاه کجلدال مورد سنجش قرار گرفت (Lindsay and Norvell, 1978).

فسفر: اندازه گیری میزان فسفر گیاه، بر اساس روش کالریمتری (اسید آسکوربیک) مورد ارزیابی قرار گرفت و نمونه ها در طول موج ٦٦٠ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند (Emami. 1996).

پتاسیم: جهت اندازه‌گیری میزان پتاسیم از روش هضم سوزاندن نمونه خشک گیاهی در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۸ ساعت و واکنش با اسیدکلریدریک ۲ مولار استفاده شد. سپس به کمک روش فلیم فتومتری میزان پتاسیم محاسبه گردید (Emami. 1996).

منیزیم: اندازه گیری میزان منیزیم به روش جذب اتمی صورت گرفت. ابتدا جهت تهیه محلول استاندارد ٠/٤گرم سولفات منیزیم در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب حل و ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک به آن اضافه و به حجم ۱ لیتر رسانده شد. سپس ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد در بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و با اسید هیدروکلریک ۰/۱۲ مول به حجم رسانده شد و سری محلول‌های استاندارد تهیه شد. برای تهیه محلول لانتوم، ۳/۱۲ گرم نمک نیترات لانتوم در کمی آب حل شده و به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسید. ۰/۲۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره، شاهد و سری محلول‌های استاندارد به لوله آزمایش منتقل شدند و ٤/٧٥ میلی‌لیتر از محلول لانتوم اضافه و هم زده شد و میزان جذب در طول موج ۲۸۵/۲ نانومتر

با شعله آبی استیلن- هوا اندازه‌گیری گردید (Emami. 1996).

روی: اندازه گیری میزان روی به روش جذب اتمی صورت گرفت که برآن اساس، ۱/۷۵۹ گرم سولفات روی در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب حل شد و به آن ۱۲ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک غلیظ اضافه و بعد از خنک شدن به حجم ۱ لیتر رسانده شد و سپس محلول استاندارد غلیظ ٤۰۰ میلی‌گرم در لیتر از آن تهیه گردید. جهت تهیه اسید هیدروکلریک ۰/۱۲ مول، ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک ۳۷ درصد به ٤۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه و به حجم ۱ لیتر رسانده شد. سپس ۲۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد غلیظ به بالن ۵۰۰ میلی‌لیتر منتقل و با اسید هیدروکلریک ۰/۱۲ مول به حجم رسانده شد. میزان جذب روی در نمونه‌های استاندارد، شاهد و عصاره در طول موج ۲۱۳/۹ نانومتر با شعله آبی استیلن-هوا اندازه‌گیری گردید (Lindsay and Norvell, 1978).

آهن و منگنز: جهت اندازه‌گیری میزان این عناصر، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۳ به ۱ اسیدکلریدریک به اسید نیتریک غلیظ، به نمونه ها اضافه شد و به مدت ٢٤ ساعت باقی ماند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده و به حجم ۵۰ میلی لیتر با آب مقطر رسانده شد و در پایان میزان آهن و منگنز نمونه‌ها، با دستگاه جذب اتمی اندازه گیری گردید (Emami. 1996).

استخراج اسانس: در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و معطر دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد؛ اسانس‌گیری به‌روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کلونجر (بروسیلیکات آلمانی ساخت شیشه آلات ایران) و بر اساس درصد وزنی، صورت گرفت که برای هر نمونه مدت دو ساعت به طول انجامید (Adams, 2007).

محاسبات آماری

پس از انجام آزمون بارتلت جهت بررسی اطمینان از همگن بودن واریانس خطاهای آزمایشی، تجزیه مرکب میزان اسانس و صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی توسط نرم‌افزار آماری $SAS_{ver.9}$ انجام شد. مقایسات میانگین صفات با روش حداقل اختلاف معنی‌دار (L.S.D) در سطح یک درصد انجام گردید و برای اطمینان از مقادیر خطای استاندارد (S.E)، بطور جداگانه نیز با نرم‌افزار Excel ver. 2013، برآورد مجدد انجام شد.

نتایج

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج مربوط به مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدهای گیاهان محلول‌پاشی شده نشان داد که محلول پاشی با متیل جاسمونات (جدول ۳) و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (جدول ٤) به‌طور معنی‌داری مقادیر این ترکیبات را تحت تأثیر قرار داد. بیشترین مقدار این رنگیزه‌ها در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات بود. بین غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات تفاوتی از نظر مقدار کلروفیل b و کاروتنوئیدها مشاهده نگردید (جدول ۵). در همه سطوح محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بیشتر از گیاهان شاهد بود. بیشترین مقدار کلروفیل a و کاروتنوئیدها در گیاهان محلول‌پاشی شده با کمترین غلظت تیتانیوم دی‌اکسید (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) حاصل شد. مقدار کلروفیل b در گیاهان تیمار شده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود (جدول ۵). بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل سال × تیمار محلول‌پاشی تنها در تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار کلروفیل a معنی‌دار بود (جدول ٤). مقدار کلروفیل a در سال اول در گیاهان تیمار شده با

۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات بیشتر از سایر تیمارها بود با این وجود در سال دوم بیشترین مقدار کلروفیل a در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم حاصل شد (شکل ۱).

جدول ۳: تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئیدها	فنل کل	فلاونوئیدهای برگ
سال	۱	۰/۰۱۵ **	۰/۰۰٤ ns	۳۲/٦۱۸ ns	۰/۰۳۸ **	۰/۰۰۰۱ ns
تکرار (سال)	٤	۰/۰۰٤	۰/۰۰۷	۸۷/۱٤۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵
متیل جاسمونات	۳	۰/۳٦۹ **	۱/۳۲۲ **	۵۰۳۲/٦۹۳ **	۰/۱۲۲ **	۰/۵۰۹ **
سال×متیل‌جاسمونات	۳	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۲ ns	۱۷/۵۲۹ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۱٤/٦٦۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات (٪)	–	۷/۵٤	٤/۹۸	۱۲/٦۵	۷/۷۸	۸/۹۹

ادامه جدول ۳: تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	فلاونوئیدهای گل	آنتوسیانین برگ	عملکرد گلبرگ	آنتوسیانین گل	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
سال	۱	۰/۰۱۵ *	۰/۰٤۹ **	۲۹۸/۷۷۹ **	۰/۰۰٦ **	۰/۰٤۹ ns
تکرار (سال)	٤	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۳/۹۲	۰/۰۰۲	۳۱/۲۵۲
متیل جاسمونات	۳	۰/۹۳۵ **	۰/۱۵۹ **	۲۹۵۱/۸ **	۰/۳۰٦ **	۷۷۵۷/۹۱۷ **
سال×متیل‌جاسمونات	۳	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۲۲/۸۸ ns	۰/۰۰۵ **	۰/۰۰۰۱ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۸/۰۹	۰/۰۰۱	۵۹/٤۲۲
ضریب تغییرات (٪)	–	۸/۳۲	۷/۳۵	۹/۱۲	٦/٦۵	۹/۰٦

ns، * و ** به‌ترتیب نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ٤: تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئیدها	فنل کل	فلاونوئیدهای برگ
سال	۱	۰/۲۷۸ **	۰/۰۰۰۱ ns	٤۸/۱٤۲ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns
تکرار (سال)	٤	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	٤۲/۱٦۸	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷
دی‌اکسید تیتانیوم	۳	۰/۲٦٦ **	۰/۷۱۰ **	۳۰۵۸/۷٤۸ **	۰/۳۰٤ **	۰/۳۳۱ **
سال ×دی‌اکسیدتیتانیوم	۳	۰/۱۱۱ **	۰/۰۰۰۱ ns	۱۰۰/۳۹۹ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns
خطا	۱۲	۰/۰۱۰	۰/۰۰۳	٤۰/۸۱۹	۰/۰۰۵	۰/۰۱۳
ضریب تغییرات (٪)	–	۵/۳۳	۸/۰۹	۱۱/۵٤	۵/۳۰	٦/۷۳

ادامه جدول ٤: تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	فلاونوئیدهای گل	آنتوسیانین برگ	عملکرد گلبرگ	آنتوسیانین گل	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
سال	۱	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۳ ns	۱۱/٤۵ *	۰/۰۰۰۱ ns	٤/٤۱۰ ns
تکرار (سال)	٤	۰/۰۰۵	۰/۰۰٦	۲/۷۵	۰/۰۰۳	۵۱/۸۲٤
دی‌اکسید تیتانیوم	۳	۰/۳۰۳ **	۰/٦۸۸ **	۲۱٦۹/٤ **	۰/۳۸۲ **	۵۷۲۹/۰۳٤ **
سال ×دی‌اکسیدتیتانیوم	۳	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۷۹ *	۳/۳٤ ns	۰/۰۰۰٤ ns	۰/٤۷۷ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۷	۰/۰۲۰	۲/۳۵	۰/۰۰۲	۳۷/۹۳٦
ضریب تغییرات (٪)	–	۵/۰٤	۳/۵۵	۱۱/۰٦	۳/۱۱	۵/۵٤

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ترکیبـاتی فنلـی: بررسـی اثـر محلـول‌پاشـی متیـل جاسمونات بر مقدار ترکیبات فنلی، بیانگر اثر معنی‌دار متیل‌جاسمونات بر مقدار این ترکیبات بود. بر اسـاس نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل متیـل جاسـمونات در سال تنها بر مقدار آنتوسـیانین گلبـرگ معنـی‌دار بـود (جدول ۳). محلول‌پاشی با متیل جاسمونات بـه‌ویـژه غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلـی‌مـولار بـه‌طـور معنـی‌داری مقدار فنل کـل را در گیـاه گـل محمـدی افـزایش داد (جدول ۵). مقدار فلاونوئیدهای برگ و گلبرگ نیز در همه سطوح به کار رفته از متیل جاسمونات بیشتـر از گیاهـان شـاهد بـود و ایـن افـزایش در غلظـت ۱ میلی‌مولار بارزتر بود که بـه ترتیـب ۲۸/۹۶ و ٦۲/۰٤ درصد فلاونوئیدهای برگ و گل را نسبت بـه گیاهـان شاهد افزایش داد (جدول ۵). مقدار آنتوسـیانین بـرگ در گیاهان تیمار شده بـا غلظـت ۲ میلـی‌مـولار متیـل جاسمونات، تفاوت معنـی‌داری بـا شـاهد نداشـت و بیشترین مقدار (۱/۹۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشـک) در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظـت‌هـای ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل گردیـد. بیشـترین آنتوسـیانین گلبـرگ (۲/۰۱ میلـی‌گـرم در گـرم وزن خشـک) نیـز در گیاهـان تیمـار شـده بـا غلظـت ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات مشـاهده گردیـد (جـدول ۵). مقایسه میانگین سال × متیل جاسمونات نیز نشان داد که بیشترین آنتوسیانین گلبـرگ در سـال دوم و در گیاهـان تیمـار شـده بـا غلظـت ۱ میلـی‌مـولار متیـل جاسمونات حاصل شد (شکل ۲-A). در گیاهان تیمار شده با دی‌اکسید تیتـانیوم در دو سـال مـورد مطالعـه، محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف این نـانوذرات نیـز بـه‌طـور معنـی‌داری مقـدار فنـل کـل، فلاونوئیـدها و آنتوسیانین برگ و گلبرگ را در گیاهان گـل محمـدی تحت تأثیر قرار داد و تنها اثر متقابل دی‌اکسید تیتانیوم در سال بر مقدار آنتوسیانین برگ معنی‌دار بود (جدول ٤). استفاده از غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتـانیوم مقـدار فنـــل کـل را بـه میـزان ۲۷/٤۰ درصد نسبت به گیاهان شـاهد افـزایش داد بـا این وجود مقدار فنل کل در غلظت ۳۰۰ میلی‌گـرم در لیتر دی‌اکسـید تیتـانیوم کمتـر از گیاهـان شـاهد بـود (جدول ۵). بیشـترین مقـدار فلاونوئیـد بـرگ (۲/٦۹ میلـی‌گـرم در گـرم وزن خشـک) در غلظـت ۱۰۰ میلی‌گـرم در لیتـر دی‌اکسـید تیتـانیوم حاصـل شـد و گیاهـان محلـول‌پاشـی شـده بـا غلظـت ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر دارای بیشترین مقدار فلاونوئیـد گـل به‌تـرتیب ۱/۹۱ و ۱/۸۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک بودند (جدول ۵). استفاده از غلظت‌هـای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلـی‌گـرم در لیتـر نـانو ذرات دی‌اکسـید تیتـانیوم در افزایش مقدار آنتوسیانین مؤثر بودنـد. افـزایش مقـدار آنتوسیانین برگ در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشتر از سـایر غلظـت‌هـا بـود و غلظـت بهینـه نـانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در افزایش مقدار آنتوسیانین گلبرگ، محلول‌پاشی با غلظـت ۲۰۰ میلـی‌گـرم در لیتـر بـود (جدول ۵). مقایسـه میـانگین اثـر سـال × نـانوذرات دی‌اکسـید تیتـانیوم نشـان داد کـه بیشـترین مقـدار آنتوسیانین برگ در هر دو سال مورد مطالعه در گیاهان تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتـر نـانوذرات حاصل شد و افزایش مقدار آنتوسیانین بـرگ در سـال دوم بیشتر از سال اول بود (شکل ۲-B).

جدول ۵: مقایسات میانگین صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی تحت تأثیر محلول‌پاشی متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم

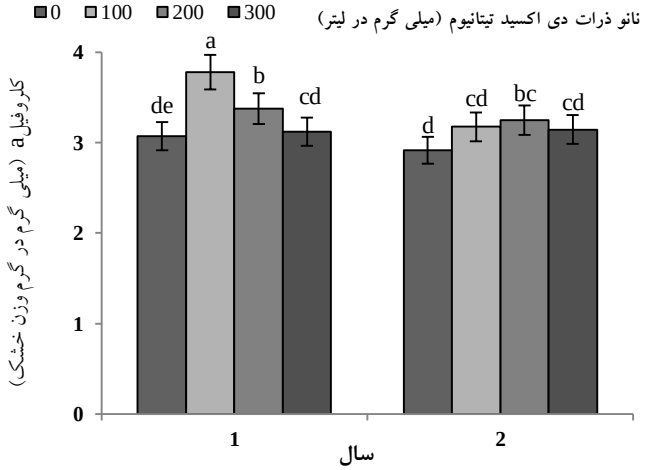
تیمار محلول‌پاشی		کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئیدها	فنل کل	فلاونوئیدهای برگ
		میلی گرم در گرم وزن خشک				
متیل جاسمونات (میلی‌مولار)	۰	۲/۹۹±۰/۰۵ d	۱/۳۸±۰/۰٤ c	۲/۸۱±۰/۰۸ c	۱/٤۸±۰/۰۹ c	۲/۲۱±۰/۰۱ d
	۰/۵	۳/۵٦±۰/۰۵ a	۲/۳۷±۰/۰۷ a	۳/٤٤±۰/۰۵ a	۱/۷۷±۰/۰٦ a	۲/۷۳±۰/۰۳ b
	۱	۳/٤۵±۰/۰۳ b	۲/۳٦±۰/۰٦ a	۳/۳٦±۰/۰٤ b	۱/۷۵±۰/۰٦ a	۲/۸۵±۰/۰۲ a
	۲	۳/۳۷±۰/۰۵ c	۱/۹۲±۰/۰٤ b	۳/۳٤±۰/۰۵ b	۱/۵۵±۰/۰۳ b	۲/٤٤±۰/۱۲ c
LSD		۱/۰۰	۰/۷۱٤	۱/۰۰	۰/۵۵٦	۱/۰۰
نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم (میلی‌گرم در لیتر)	۰	۲/۹۹±۰/۰۹ d	۱/۳٦±۰/۰۳ c	۲/۸۱±۰/۰۷ d	۱/٤٦±۰/۰۷ c	۲/۱۸±۰/۰٦ c
	۱۰۰	۳/٤٦±۰/۳٤ a	۲/۰۵±۰/۰٤ a	۳/۳۰±۰/۱۰ a	۱/۸٦±۰/۰۸ a	۲/٦۹±۰/۱٦ a
	۲۰۰	۳/۳۱±۰/۱٤ b	۲/۱۱±۰/۰۷ a	۳/۱٦±۰/۰۵ b	۱/٦٤±۰/۰۸ b	۲/۳۷±۰/۰۵ b
	۳۰۰	۳/۱۳±۰/۰۵ c	۱/۷۵±۰/۰۱ b	۲/۹۲±۰/۰۵ c	۱/۳۵±۰/۰۲ c	۲/۲۱±۰/۰۷ c
LSD		۱/۰۰	۰/۸۹۲	۱/۰۰	۰/۹٤۲	۱/۰۰

ادامه جدول ۵: مقایسات میانگین صفات فیزیولوژیکی گیاه گل محمدی تحت تأثیر محلول‌پاشی متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم

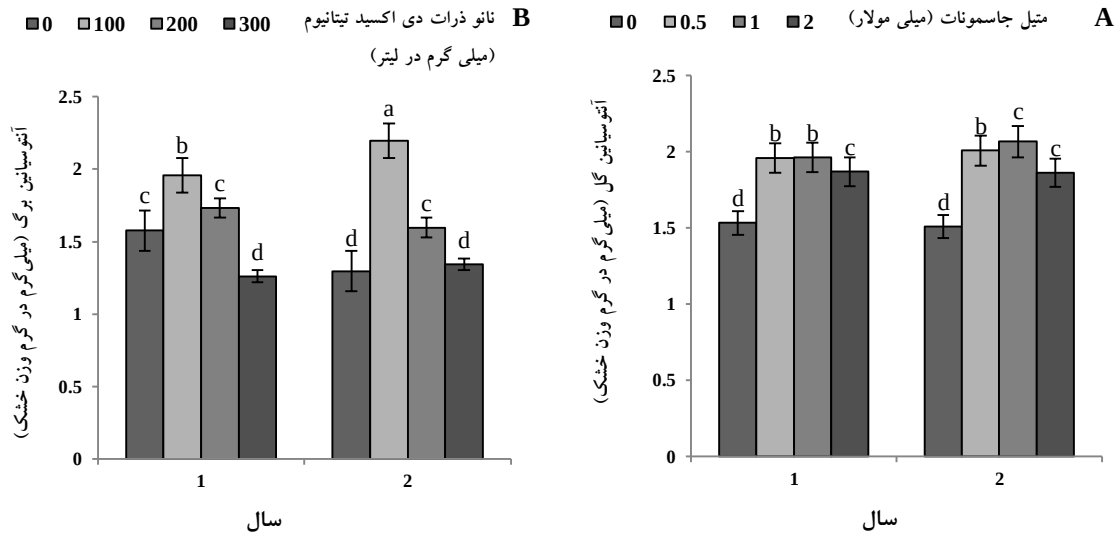
تیمار محلول‌پاشی		فلاونوئیدهای گل	آنتوسیانین برگ	آنتوسیانین گل	عملکرد گلبرگ	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
		(میلی‌گرم در گرم وزن خشک)			(گرم در بوته)	(میکروگرم در میلیلیتر)
متیل جاسمونات (میلی‌مولار)	۰	۱/۳۷±۰/۰۷ d	۱/۱٦±۰/۰٦ b	۱/۵۲±۰/۰۳ d	۱۷۰/۰٦±۰/۹٦ d	۱۹۲/٦۰±٤/٦٦ a
	۰/۵	۲/۰۲±۰/۰٤ b	۱/۸۷±۰/۰۵ a	۱/۹۸±۰/۰۳ b	۲۰٤/۲۰±۱/۸۳ b	۱۵۸/۳۲±٤/۵٦ b
	۱	۲/۲۲±۰/۰۵ a	۱/۹۱±۰/۰۹ a	۲/۰۱±۰/۰۷ a	۲۲۲/۷۱±۱/۲٤ a	۱۱٦/٤۲±۱۰/٤۵ c
	۲	۱/۵٦±۰/۰٦ c	۱/٦۳±۰/۰۵ b	۱/۸٦±۰/۰٤ c	۱۹۰/۸۹±۱/۵۱ c	۱۹۱/۷۰±۷/٦۱ a
LSD		۱/۰۰	۰/٤۲۳	۰/۸٤۵	۱/۰۰	۰/۸۱۳
نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (میلی‌گرم در لیتر)	۰	۱/۳۹±۰/۰٦ c	۱/٤٤±۰/۱۷ c	۱/۵۳±۰/۰٤ c	۱٦۸/۳۹±۰/٦۵ d	۱٦۲/۸۰±۸/۹٦ a
	۱۰۰	۱/۷۰±۰/۰٤ b	۲/۰۸±۰/۱۸ a	۱/۸٤±۰/۰۳ b	۱۷۳/۹۸±۱/۸٦ c	۹٤/۵۱±٤/۰٦ c
	۲۰۰	۱/۹۱±۰/۰۷ a	۱/٦٦±۰/۱۸ b	۲/۱۵±۰/۰۵ a	۲۰۸/۳۹±۱/۳۵ a	۱۰۰/۵۰±۷/۵٦ c
	۳۰۰	۱/۸۲±۰/۱۱ a	۱/۳±۰/۱۰ d	۱/۸۸±۰/۰٤ b	۱۹۷/۵٦±۲/٤۰ b	۱۲۱/٤۲±٤/٤۳ b
LSD		۰/۵٦۷	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰

در هر صفت و ردیف مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری ندارند.

عملکرد گلبرگ: بر اساس نتایج تجزیه واریانس عوامل سال و محلول‌پاشی متیل جاسمونات (جدول ۳) و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (جدول ٤) بر مقدار عملکرد گلبرگ گل محمدی اثرات معنی‌داری داشتند. بیشترین عملکرد گلبرگ (۲۲۲/۷۱ گرم در بوته) در تیمار ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل شد (جدول ۵) و در تیمار نانوذرات، گیاهان محلول‌پاشی شده با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسید تیتانیوم بیشترین عملکرد گلبرگ (۲۰۸/۳۹ گرم در بوته) را داشتند. در همه تیمارهای محلول‌پاشی عملکرد گلبرگ در سال دوم بیشتر از سال اول بود اگر چه این مقدار افزایش بسیار اندک بود (جدول ۵).



شکل ۱: اثر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار کلروفیل a گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه



شکل ۲: اثر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر مقدار آنتوسیانین گل (**A**) و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (**B**) بر مقدار آنتوسیانین برگ گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر محلول‌پاشی متیل جاسمونات (جدول ۳) و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (جدول ٤) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های گل محمدی معنی‌دار بود. در پژوهش حاضر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های گیاهی بر اساس IC_{50} محاسبه شد. مقدار IC_{50} نشان می‌دهد که چه غلظتی از عصاره گیاهی می‌تواند نقش مهارکننده DPPH را ایفا کند، بنابراین هرچقدر مقدار عصاره لازم برای مهار DPPH کمتر باشد خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره را نشان می‌دهد. در گیاهان محلول‌پاشی شده با متیل جاسمونات کمترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان شاهد حاصل شد و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات ثبت گردید (جدول ۵). در تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹٤/۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر)

در گیاهان محلول‌پاشی شده با کمترین غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نداشت. با افزایش غلظت نانو ذرات به ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر از مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاسته شد (جدول ۵).

غلظت عناصر: تجزیه واریانس اطلاعات دو ساله این تحقیق نشان‌دهنده اثر معنی‌دار محلول‌پاشی متیل جاسمونات (جدول ٦) و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (جدول ۷) بر مقدار عناصر پرمصرف (N, P, K, Mg) و کم مصرف (Fe, Mg, Zn) موجود در برگ‌های گل‌محمدی بود. بیشترین مقدار نیتروژن در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل شد (جدول ۸). با توجه به معنی‌دار بودن اثر متقابل سال و محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، نتایج نشان دهنده بیشتر شدن مقدار این عنصر در سال دوم مورد مطالعه است. در هر دو سال مورد مطالعه بیشترین مقدار نیتروژن در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم حاصل شد (جدول ۸). متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثر مثبتی بر مقدار فسفر برگ گیاه گل‌محمدی داشتند. بیشترین مقدار فسفر (۰/٤۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) و مقدار پتاسیم (۱/۸۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در گیاهان محلول‌پاشی شده با ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل شد (جدول ۸). نتایج نیز نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم برمقدار پتاسیم می‌باشد. بیشترین مقدار پتاسیم در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد که ۲۹/۵۲ درصد بیشتر از مقدار این عنصر در گیاهان شاهد است (جدول ۸). اندازه‌گیری مقدار منیزیم در گیاهان محلول‌پاشی شده نیز نشان‌دهنده افزایش مقدار منیزیم در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد می‌باشد که بیشترین افزایش (۲۰/۵۷ درصدی) در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات ثبت گردید. مقدار عنصر منیزیم در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد نداشتند. با این وجود مقدار منیزیم در گیاهان محلول‌پاشی شده با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۸). در بین غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات استفاده شده تنها غلظت ۰/۵ میلی‌مولار در افزایش مقدار عنصر آهن در برگ‌های گیاه گل محمدی مؤثر بود و بین غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار با گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار عنصر آهن دیده نشد. همچنین محلول‌پاشی با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار به میزان قابل توجهی مقدار عنصر منگنز را افزایش داد. مقدار این عنصر در گیاهان محلول‌پاشی شده با ۲ میلی‌مولار متیل جاسمونات تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد نداشت. محلول‌پاشی با غلظت‌های بالای متیل جاسمونات (۱ و ۲ میلی‌مولار) موجب افزایش معنی‌دار مقدار عنصر روی در برگ‌های گیاه گل محمدی شد (جدول ۸). در گیاهان تیمار شده با نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم، استفاده از غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش مقدار عنصر آهن از ۲۱٦/۰۹ در گیاهان شاهد به ۳۲٤/۹۳ میلی‌گرم در کیلوگرم گردید. با این وجود مقدار عنصر آهن در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم کمتر از گیاهان شاهد بود. بیشترین مقدار عنصر منگنز (۱٦۷/٤۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) در گیاهان تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم حاصل شد و بین سایر غلظت‌های این ترکیب و

گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار عنصر منگنز مشاهده نگردید. در بین غلظت‌های مختلف استفاده شده از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تنها اثر غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر در افزایش مقدار عنصر روی معنی‌دار بود.

جدول ٦: تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر غلظت عناصر غذایی برگ‌ها و درصد اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	منیزیم
سال	۱	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰ ns	۰/۰٤۱ **
تکرار (سال)	٤	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۱
متیل جاسمونات	۳	۰/۵۱۱ **	۰/۰۲۷ **	۰/۰٤۳ **	۰/۰۲٤ **
سال × متیل جاسمونات	۳	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰٦ ns	۰/۰۰۰۱ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)	–	۵/٤۰	٦/۱۱	۳/۳۰	۱/۸۵

ادامه جدول ٦: تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر غلظت عناصر غذایی برگ‌ها و درصد اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	آهن	منگنز	روی	درصد اسانس گلبرگ
سال	۱	۰/۰۳۸ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۵ ns	۰/۰۰۰۰۳ ns
تکرار (سال)	٤	۱٤/٦۱۸	۱۹۷/۱۱۱	٤۰/۰٦۰	۰/۰۰۰۰۷
متیل جاسمونات	۳	۱۸۹۰۷/۳۷۱ **	۵٦۱۱/۷۳۰ **	٦٤۷/۸۹۷ **	۰/۰۰۰۱ **
سال × متیل جاسمونات	۳	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۰۲ ns
خطا	۱۲	٤۹۹/٦۲۸	۱٤۱/٦۳۰	۱٦/۰۰٦	۰/۰۰۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)	-	۷/۸٤	٤/۵٤	٤/۰۹	٤/۲۷

ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ۷: تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر غلظت عناصر غذایی برگ‌ها و درصد اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	منیزیم
سال	۱	۰/۱٤۹ **	۰/۰۰۳ **	۰/۰۰٤ ns	۰/۱۲٦ **
تکرار (سال)	٤	۰/۰۰۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰٤	۰/۰۰۱
دی‌اکسید تیتانیوم	۳	۰/۲۰۱ **	۰/۰۰۳ **	۰/٤۰٤ **	۰/۰۲۳ **
سال × دی‌اکسید تیتانیوم	۳	۰/۰۱۸ ns	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۵ ns
خطا	۱۲	۰/۰۰٤	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)		۵/۸۸	٤/۱۹	۲/۵٤	۲/۲۲

ادامه جدول ۷: تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر غلظت عناصر غذایی برگ‌ها و درصد اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی در دو سال مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	آهن	منگنز	روی	درصد اسانس گلبرگ
سال	۱	۲۶/۲۰۹ ns	۱۳/۸۶۲ ns	۲/۷۳٤ ns	۰/۰۰۰۲ **
تکرار (سال)	٤	٦۱۷/۰۵۷	۱۰۱/۷۰۳	۲۸/۲۵۸	۰/۰۰۰۰۰۱
دی‌اکسید تیتانیوم	۳	۲۰۵۷۷/۰٦۲ **	٤۷۷۱/۰۸۲ **	۷۸۱/۹۷۸ **	۰/۰۰۰۵ **
سال × دی‌اکسید تیتانیوم	۳	۰/۵۵۵ ns	۰/۰۰۰ ns	۰/۰۳٤ ns	۰/۰۰۰۰۰۳ ns
خطا	۱۲	۱٦۹/٤۹۵	۷۸/۱۲۰	۱۹/٤۲۱	۰/۰۰۰۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)	–	۵/۵٤	۳/۰۷	۲/۲۷	٤/۱۰

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ۸: مقایسات میانگین غلظت عناصر غذایی برگ‌های گیاه گل محمدی تحت تأثیر محلول‌پاشی متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم

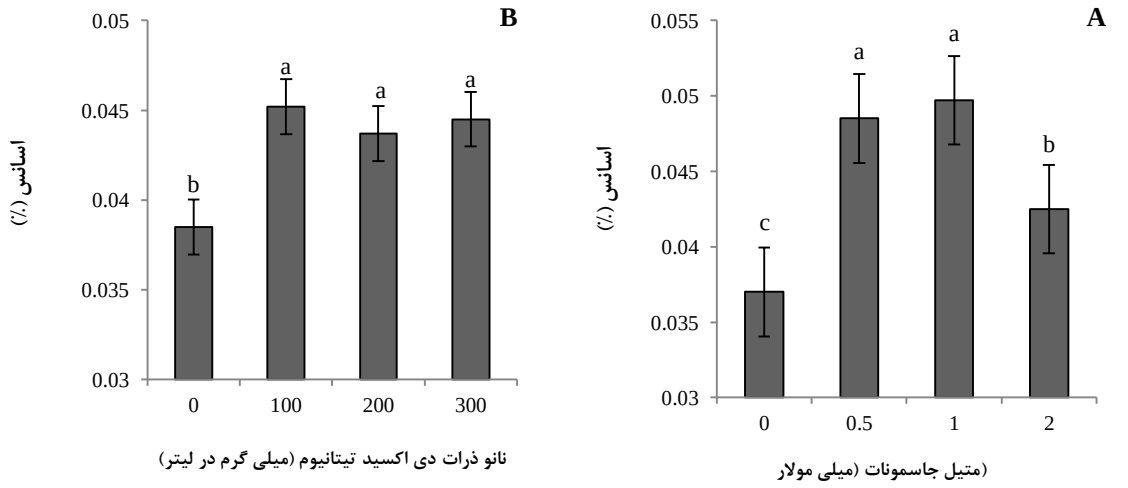
تیمار محلول‌پاشی		نیتروژن	فسفر	پتاسیم	منیزیم
		میلی‌گرم در گرم وزن خشک			
متیل جاسمونات (میلی‌مولار)	۰	۱/۸۳±۰/۰۵ c	۰/۲۹±۰/۰۱ c	۱/٦٤±۰/۰٤ b	۰/۷۱±۰/۰۵ d
	۰/۵	۲/٤۱±۰/۰٦ a	۰/٤۳±۰/۰۳ a	۱/۸±۰/۰٤ a	۰/۸۵±۰/۰۵ a
	۱	۲/٤۵±۰/۰٤ a	۰/٤۲±۰/۰۱ a	۱/۸۳±۰/۰٦ a	۰/۷۷±۰/۰٤ b
	۲	۲/۰۸±۰/۰۲ b	۰/۳۵±۰/۰٤ b	۱/۷۱±۰/۰۱ b	۰/۷۳±۰/۰۵ c
LSD		۰/۵٤۲	۰/۸۲٦	۰/۵۳٤	۱/۰۰
نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (میلی‌گرم در لیتر)	۰	۱/٦٦±۰/۲۷ c	۰/۲۷±۰/۰۲ c	۱/٦٦±۰/۰٤ c	۰/۸۲±۰/۰۸ b
	۱۰۰	۱/۹۳±۰/۰۸ b	۰/۳۰±۰/۰۲ b	۱/۸۸±۰/۰۵ b	۰/۸۳±۰/۰۹ b
	۲۰۰	۲/۰۲±۰/۰۹ a	۰/۳۲±۰/۰۲ a	۲/۱۵±۰/۰٦ a	۰/۹۵±۰/۰۹ a
	۳۰۰	۱/٦٦±۰/۰٤ c	۰/۳±۰/۰۱ b	۱/۵٦±۰/۰٦ d	۰/۸٤±۰/۰۸ b
LSD		۰/٦٤۱	۰/۵۰۹	۱/۰۰	۰/٤۱۷

ادامه جدول ۸: مقایسات میانگین غلظت عناصر غذایی برگ‌های گیاه گل محمدی تحت تأثیر محلول‌پاشی متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم

تیمار محلول‌پاشی		آهن	منگنز	روی
		میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک		
متیل جاسمونات (میلی‌مولار)	۰	۲۱۷/۵٤±۱۵/۷ b	۱۰۹/۵۳±۸/۰۳ b	٦۳/۰۹±٦/٤۵ c
	۰/۵	۳۲۷/۹۸±۲۵/۸ a	۱۷٤/۵۷±۱۸/۸ a	۸۰/۸۸±۵/۰۲ b
	۱	۲۲۹/۰۲±۱۳/٦ b	۱٦۰/٤۹±۸/۰۳ a	۸٦/۵۳±۱/۳۲ a
	۲	۲۰۵/۵۲±۱۰/۳ b	۱۲۳/۳۱±۳/۵۲ b	۸۲/۵٦±۱/۳٦ ab
LSD	–	۰/٤۵۸	۰/۵۱٤	۰/۵۸۷
نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (میلی‌گرم در لیتر)	۰	۲۱٦/۰۹±۱۵/۸ b	۱۰۸/۷۸±۸/۰۸ b	٦٦/۷۲±۱/۹٦ b
	۱۰۰	۲۲۸/٦۱±۱٤/۹ b	۱۱۸/۱۸±۹/٦۵ b	٦٦/۹۱±۰/۸۳ b
	۲۰۰	۳۲٤/۹۳±۲۰/۵ a	۱٦۷/٤۷±۵/٦٦ a	۸۹/۵۲±۸/۰٦ a
	۳۰۰	۱۹۱/۲۷±۳/۲ c	۱۰۸/٤۳±۹/۰۲ b	٦٦/٤۳±۰/۵٤ b
LSD	–	۰/٦۱۸	۰/٤۵۹	۰/۵٦۷

در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری ندارند.

مقدار اسانس: مقدار اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر متیل جاسمونات قرار گرفت (جدول ٦). تمام غلظت‌های متیل جاسمونات موجب افزایش معنی‌دار اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی گردید. در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار مقدار اسانس به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. تیمار متیل جاسمونات در غلظت‌های ۱-۰/۵ میلی‌مولار مقدار اسانس را از ۰/۰۳۷ به ۰/۰۵ درصد افزایش داد (شکل ۳-A). اثر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر میزان اسانس گلبرگ‌های گیاه گل محمدی معنی دار بود (جدول ۷). مقدار اسانس گلبرگ‌های برداشت شده از گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت-های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بیشتر از گیاهان شاهد بود. با این وجود، بین غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تفاوت معنی‌داری از نظر میزان اسانس مشاهده نگردید (شکل ۳-B). در پژوهش حاضر محلول‌پاشی متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مقدار اسانس استخراج شده از گلبرگ‌های گیاه گل محمدی را به ترتیب ۳٤/۳۲ و ۱۷/٤۰ درصد در مقایسه با گیاهان تیمار نشده (شاهد) افزایش داد که بیانگر کارایی بالاتر متیل جاسمونات در افزایش سنتز و تجمع اسانس گیاه گل محمدی می‌باشد (شکل ۳).



شکل ۳: اثر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات (A) و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (B) بر درصد

بحث

استفاده از ترکیبات محرک رشد به گیاه کمک می‌کنند تا بر عوامل بازدارنده رشدی غلبه کنند. این ترکیبات با تحت تأثیر قرار دادن خصوصیات فیزیولوژیکی، رشد و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ali et al., 2019). فتوسنتز از مهم‌ترین واکنش‌های حیاتی در گیاه می‌باشد که نقش تعیین کننده در عملکرد و همچنین خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارد. در کلروپلاست برگ‌ها، کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها مهم‌ترین اجزای سیستم فتوسنتزی گیاه را تشکیل می‌دهند. کاروتنوئیدها به عنوان رنگیزه کمکی، نقش مهم آنتی‌اکسیدانی نیز دارند. این رنگیزه‌ها مسئول دفع اکسیژن یکتایی و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و تنش اکسیداتیو می‌باشند (Ahmad et al., 2018). بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، محلول‌پاشی گیاهان گل محمدی با محرک‌های متیل جاسمونات و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید

که همراه با افزایش عملکرد گلبرگ بود. مقایسه نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان محلول‌پاشی شده با متیل جاسمونات، بیشتر از تیمارهای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اکسید بود (جدول ۵). نتایج این بخش از تحقیق با گزارشات قبلی مطابقت دارد (طاهری و همکاران، ۱۳۹۹؛ کمالی و همکاران، ۱۳۹۷). افزایش مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها تحت تأثیر متیل جاسمونات در گیاهان ریحان (*Ocimum basilicum*) (Malekpoor et al., 2015)، ذرت (*Zea mays* L.) (Tayyab et al., 2020)، شوید (*Coriandrum sativum* L.) (Ali et al., 2019) و توسط نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در گیاهان گندم (*Triticum aestivum* L.) (Alharby et al., 2021) و آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) (Kolenčík et al., 2020) نیز گزارش شده است. متیل جاسمونات از طریق تشکیل اسید آمینولوولینیک، فعالیت آنزیم‌های کلیدی در بیوسنتز کلروفیل را تحت تأثیر قرار می‌دهد، البته این اثر در غلظت‌های پایین متیل جاسمونات صورت می‌گیرد. همچنین متیل جاسمونات به‌عنوان یک محرک رشد، موجب بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود که می‌تواند از تخریب رنگیزه‌های گیاهی جلوگیری کند (Tayyab et al., 2020). از سوی دیگر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم، ساختار کلروفیل را بهبود بخشیده و با افزایش جذب نور، تشکیل کلروفیل را آسان‌تر می‌کند. این ترکیب با انتقال انرژی نور به الکترون‌های فعال، بر فعالیت‌های شیمیایی و در نهایت بر فتوسنتز تأثیر می‌گذارد (Kolenčík et al., 2020). تیتانیوم از دو طریق سبب افزایش فتوسنتز می‌شود. اول با افزایش میزان کلروفیل و دوم با ایجاد تغییر در فعالیت پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز از جمله فروکتوز ۱و٦ بی‌فسفاتاز که در چرخه کالوین مؤثر است. همچنین در چرخه پنتوز فسفات اکسیداز که در متابولیسم کربوهیدرات‌ها مهم است، نقش دارد (Gao et al., 2008). ترکیبات فنلی به‌عنوان یکی از متابولیت ثانویه گیاهان، دارای نقش بسیار مهمی در افزایش مقاومت گیاهان به شرایط نامطلوب محیطی می‌باشند. این ترکیبات یکی از شناخته شده‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدان در گیاهان هستند که در گونه‌های مختلف گیاهی دارای فعالیت‌های متفاوت شیمیایی و بیولوژیکی می‌باشند. بسیاری از ترکیبات فنلی، از پالاینده‌های بسیار کارآمد رادیکال‌های هیدروژن می‌باشند و به همین دلیل باعث کاهش تولید پراکسید هیدروژن، ثبات غشاءها و توقف پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند (Ho et al., 2020). فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها از مهم‌ترین ترکیبات فنلی در سیتوپلاسم و شبکه آندوپلاسمی، سنتز می‌شوند و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی، نقش حفاظتی دارند (Jiang et al., 2017; Wanger et al., 1979). براساس نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر کارایی محلول‌پاشی متیل جاسمونات در افزایش مقدار ترکیبات مختلف فنلی بیشتر از تیمار نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بود (جدول ۵). تیمار متیل جاسمونات (یک و دو میلی مولار) به‌طور معنی‌داری میزان فنل کل را در گیاه گل محمدی افزایش می‌دهد (Taheri et al., 2020) که در راستای نتایج حاصل از پژوهش حاضر مبنی بر اثر تیمار متیل جاسمونات بر افزایش ترکیبات فنلی می باشد. متیل جاسمونات با افزایش ظرفیت فتوسنتزی و کربوهیدرات‌ها، مواد اولیه را برای سنتز ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها فراهم می‌آورد (Mohamed and Latif, 2017). محققین علت افزایش ترکیبات فنلی در تیمار با جاسمونات‌ها را، اثر این ماده بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز و افزایش فعالیت این آنزیم ذکر نموده‌اند (Ali et al., 2019; Ho et al., 2020). از آنجا که آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز همه ترکیبات فنلی است، به‌نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر نیز تغییر فعالیت این آنزیم یکی از دلایل افزایش مقدار ترکیبات فنلی باشد. هر

چند در این مطالعه فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز اندازه‌گیری نشد، اما افزایش احتمالی فعالیت این آنزیم و دیگر آنزیم‌های درگیر در مسیر شیکیمات می تواند از دلایل احتمالی افزایش ترکیبات فنلی در این مطالعه در واکنش به تیمار متیل جاسمونات باشد. افزایش ترکیبات فنلی در واکنش به نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در سایر گیاهان از جمله مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) (Mazarie et al., 2019) بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) (Gohari et al., 2020) و استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) (Sheikhalipour et al., 2021) نیز گزارش شده است. پیش‌ساز اصلی برای سنتز ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی کربوهیدرات‌ها هستند. به نظر می‌رسد که افزایش جذب عناصر غذایی در تیمارهای محلول‌پاشی به‌طور غیرمستقیم با تحت تأثیر قرار دادن متابولیسم کربوهیدرات‌ها، این ترکیبات را به سمت سنتز ترکیبات فنلی هدایت می‌کند که نتیجه آن، افزایش مقدار این ترکیبات است (Sheikhalipour et al., 2021).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مجموع ترکیبات و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌باشد. در پژوهش حاضر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های گیاه گل محمدی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر محلول‌پاشی با ترکیبات مورد مطالعه قرار گرفته بود. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نتیجه تیمارهای محلول‌پاشی، می تواند به‌دلیل افزایش در سرعت سنتز DNA و پروتئین باشد که باعث القای سنتز محدوده وسیعی از پروتئین‌های آنتی‌اکسیدان گردیده و قدرت سیستم دفاعی گیاه را افزایش می‌دهد (Wang et al., 2016). از طرف دیگر افزایش غلظت ترکیبات فنلی که در پژوهش حاضر در واکنش به تیمارهای مورد مطالعه گزارش گردید به‌طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد (Ho et al., 2020). بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه با ترکیبات فنلی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همبستگی وجود دارد (Kabtni et al., 2020). متیل جاسمونات یک مولکول پیام‌رسان مهم در سلول‌های گیاهی است و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را با توجه به شرایط فیزیولوژیکی سلول، مستقیم یا غیرمستقیم کنترل می‌کند (Jiang et al., 2017). نکته قابل توجه این است که بررسی مطالعه حاضر و سایر پژوهش‌ها، بیانگر تفاوت در تأثیر غلظت‌های مختلف محرک های استفاده شده است. باید در نظر داشت تعیین غلظت بهینه برای محلول‌پاشی بسته به گونه گیاهی، شرایط محیطی و روش استفاده، متفاوت است (Sheikhalipour et al., 2021). افزایش مقدار عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف در برگ گیاهان گل محمدی تیمار شده با متیل جاسمونات و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (جدول ۸)، به دلیل اثر این ترکیبات روی مکانیسم های یونی از طریق تأثیر بر نفوذپذیری غشای پلاسمایی است که جذب عناصر از طریق ریشه را تحت تأثیر قرار داده و موجب افزایش جذب یون‌ها به داخل گیاه می‌شود (Markiewicz and Kleiber, 2014). نانوکودهای حاوی عناصر ریزمغذی به علت دسترسی سریع به سطوح گیاهی، توانایی حمل عناصر غذایی و رساندن هدفمند عناصر ریزمغذی به بافت‌های مشخص از گیاه، سبب افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه می‌شوند (Shi et al., 2013). در گیاهان تیمار شده با نانو ذرات به‌دلیل وضعیت تغذیه‌ای متعادل و بهبود فرآیند فتوسنتزی گیاه، تولید انرژی بیشتر می‌باشد و از این طریق غلظت عناصر غذایی مانند پتاسیم که به‌صورت فعال و با صرف انرژی جذب گیاه می‌شوند، افزایش می‌یابد (Alharby et al., 2021). ذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز می‌شوند و توانایی جذب و استفاده از آب و کود را در گیاهان تیمار شده تشدید می نمایند (Lyu et al., 2017). افزایش در مقدار عناصر پرمصرف گیاه تحت تأثیر نانو ذرات دی‌اکسید

تیتانیوم در گزارشات قبلی محققین بیان گردیده است (Alharby et al., 2021; Markiewicz and Kleiber, 2014). با کاربرد نانوکودها، زمان و سرعت رهاسازی عناصر با نیاز غذایی گیاه منطبق و هماهنگ می‌شود و از این‌رو ضمن کاهش آبشویی عناصر، گیاه قادر به جذب بیشترین عناصر غذایی می‌شود (Markiewicz and Kleiber, 2014). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش جذب نیتروژن و منیزیم، میزان کلروفیل و فتوسنتز را افزایش داده که منجر به بهبود رشد ریشه و جذب بیشتر عناصر معدنی می‌گردد (Kolenčík et al., 2020). گزارشات مختلف با نتایج متفاوت در مورد اثر محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار عناصر ریز مغذی وجود دارد که برخی افزایش و برخی دیگر کاهش این عناصر را در واکنش به تیمار محلول‌پاشی گزارش کرده‌اند. اثرات متفاوت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به تفاوت در گونه گیاهی، مرحله رشد، اندام مورد مطالعه، غلظت‌های استفاده شده و نحوه اعمال محلول‌پاشی نسبت داده شده است (Markiewicz and Kleiber, 2014).

میزان و کیفیت اسانس گل محمدی در این تحقیق تحت تأثیر تیمارهای مورد استفاده قرار گرفت. تأثیر مثبت متیل جاسمونات بر افزایش مقدار اسانس در گیاهان دارویی ریحان (*Ocimum basilicum*) (Malekpoor et al., 2015; Zlotek et al., 2016)، مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) (Farsi et al., 2020) و مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) (Mazarie et al., 2019) نیز گزارش شده است. به‌طورکلی هر افزایشی در کل کربوهیدرات‌های گیاه موجب افزایش سنتز اسانس در بافت مسئول سنتز این ترکیبات می‌شود. یکی از دلایل بیشتر شدن مقدار اسانس را می‌توان به‌دلیل افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و تأثیر افزایش جذب عناصر غذایی در ساختمان و کارکرد کلروپلاست دانست که این افزایش ممکن است به تولید بیشتر غده‌های ترشح کننده اسانس در برگ منجر می‌شود. از آنجایی که غده‌های ترشح کننده اسانس گل محمدی در گلبرگ‌ها قرار دارند، هر عاملی که سبب افزایش سطح و وزن گلبرگ‌ها شود، مقدار اسانس را نیز افزایش خواهد داد. از این رو به نظر می‌رسد افزایش تولید کلروفیل، سبب افزایش بافت‌های فتوسنتزی، افزایش رشد گلبرگ‌ها و در نتیجه افزایش تعداد کرک‌های ترشحی اسانس می‌گردد و در نهایت منجر به افزایش عملکرد اسانس خواهد شد (Ali et al., 2019; Gohari et al., 2020; Zlotek et al., 2016).

نتیجه‌گیری نهایی

در پژوهش حاضر محلول‌پاشی گیاه گل محمدی با محرک‌های رشدی متیل جاسمونات و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدهای کل و آنتوسیانین‌ها گردید. همچنین این ترکیبات با بهبود صفات فیزیولوژیکی گیاه و افزایش جذب عناصر غذایی سبب افزایش درصد اسانس استخراج شده از گلبرگ‌های گل محمدی شد. بر اساس نتایج حاصل تیمار متیل جاسمونات (در غلظت ۱ میلی‌مولار) در مقایسه با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نقش مؤثرتری در بهبود رشد و عملکرد اسانس در گیاه گل محمدی داشت.

References

Adams, R.P. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadruple mass spectroscopy. Illinois: Allured publishing corporation, Carol Stream.

Ahmad, B., Shabbir, A., Jaleel, H., Khan, M.M.A. and Sadiq, Y. 2018. Efficacy of titanium dioxide nanoparticles in modulating photosynthesis, peltate glandular trichomes and essential oil production and quality in *Mentha piperita* L. Current Plant Biology, 13: 6–15.

Alharby, H.F., Rizwan, M., Iftikhar, A., Hussaini, K.M., Rehman, M.Z. and Bamagoos, A.A. 2021. Effect of gibberellic acid and titanium dioxide nanoparticles on growth, antioxidant defense

system and mineral nutrient uptake in wheat. Ecotoxicology and Environmental Safety, 221: 112436.

Ali, M., Mujib, A., Gulzar, B. and Zafar, N. 2019. Essential oil yield estimation by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) after Methyl jasmonate (MeJA) elicitation in in vitro cultivated tissues of *Coriandrum sativum* L. Biotechnology, 11: 414-422.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. polyphenoloxide in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15.

Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10: 178-182.

Dossi, C.G., Cadagan, C., Martín, M.S., Espinosa, A. and González-Mañán, D. 2017. Effects of *Rosa mosqueta* oil supplementation in lipogenic markers associated with prevention of liver steatosis. Food Function, 8: 832–841.

Emami, A. 1996. Plant decomposition methods. Technical leaflet, Vol 1, No. 982. Soil and Water. Research Institute, Tehran, Iran.

Farsi, M., Abdollahi, F., Salehi, A. and Ghasemi, Sh. 2020. Effect of methyl jasmonate on growth and essential oil content of marjoram (*Origanum majorana* L.) under drought stress conditions. Journal of Plant Research, 33: 674-688.

Gao, F., Liu, C., Qu, C., Zheng, L., Yang, F., Su, M. and Hong, F. 2008. Was improvement of spinach growth by nano-TiO_2 treatment related to the changes of Rubisco activase? Biometals, 21: 211-217.

Gehrcke, M., Giuliani, L.M., Ferreira, L.M. and Barbieri, A.V. 2017. Enhanced photostability, radical scavenging and antitumor activity of indole-3-carbinol-loaded rose hip oil nanocapsules. Materials Science and Engineering, 74: 279–286.

Gohari, G., Mohammadi, A., Akbari, A., Panahirad, S., Dadpour, M.R. and Fotopoulos, V. 2020. Titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. Scientific Reports, 10: 1-14.

González-Mañán, D., D'Espessailles, A., Dossi, C.G., Martín, M.S. and Mancilla, R.A. 2017. *Rosa mosqueta* oil prevents oxidative stress and inflammation through the upregulation of PPAR- and NRF2 in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. Journal of Nutrition, 147: 579–588.

Ho, T.T., Murthy, H.N. and Park, S.Y. 2020. Methyl jasmonate induced oxidative stress and accumulation of secondary metabolites in plant cell and organ cultures. International Journal of Molecular Sciences, 21: 716-729.

Jiang ,Y., Ye, J., Li, S. and Niinemets, Ü. 2017. Methyl jasmonate-induced emission of biogenic volatiles is biphasic in cucumber: a high-resolution analysis of dose dependence. Journal of Experimental Botany, 68: 4679-4694.

Kabtni, S., Sdouga, D., Bettaib Rebey, I. and Save, M. 2020. Influence of climate variation on phenolic composition and antioxidant capacity of *Medicago minima* populations. Scientific Reports, 10: 82-93.

Kamali, M., Shor, M. and Feizi, H. 2018. Impacts of nanosized and bulk titanium dioxide on flowering and morphophysiological traits of Petunia (*Petunia hybrida*) under salinity stress. Journal of Horticulture Science (Agricultural Sciences and Technology), 32: 199-212.

Khaleghi, A. and Khadivi, A. 2020. Morphological characterization of Damask rose (*Rosa damascena* Herrm.) germplasm to select superior accessions. Genetic Research Crop Evolution, 67:1981-1997.

Kheiri, A., Mohajjel shoja, H. and Sarajoughi, M. 2020. Study on the effect of drought stress and methanol spraying on dehydrine1 gene expression in *Carthamus tinctorius*. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 9:67-75

Kolenčík, M., Ernst, D., Urík, M., Ďurišová, Ľ. and Bujdoš, M. 2020. Foliar application of low concentrations of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles to the common sunflower under field conditions. Nanomaterials, 10: 1619-1632.

Labban, L. and Thallaj, N. 2020. The medicinal and pharmacological properties of Damask Rose (*Rosa damascene* L.): A review. International Journal of Herbal Medicine, 8: 33–37.

Lindsay, W.L. and Norvell, W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. Soil Science Society of America Journal, 42: 421-428.

Lyu, S., Wei, X., Chen, J., Wang, C., Wang, X. and Pan, D. 2017. Titanium as a beneficial element for crop production. Frontiers in Plant Science, 8: 597-611.

Malekpoor, F., Salimi, A. and Ghasemi Pirbalouti, A. 2015. Effects of Jasmonic acid on essential oil yield and chemical compositions of two Iranian landraces of basil (*Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. Journal of Herbal Drug, 6: 13-22.

Markiewicz, B. and Kleiber, T. 2014. The effect of Tytanit application on the content of selected microelements and the biological value of tomato fruits. Journal of Elementology, 19: 1065-1072.

Mazarie, A., Mousavi Nik, S., Ghanbari, A. and Fahmideh, L. 2019. Effect of different spraying concentrations of jasmonic acid and titanium dioxide nanoparticles on some physiological traits and antioxidant system activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). Iranian Journal of Plant Biology, 39: 1-22.

Mohamed, H.I. and Latif, H.H. 2017. Improvement of drought tolerance of soybean plants by using methyl jasmonate. Physiology and Molecular Biology of Plants, 23: 545-556.

Mohebitabar, S., Shirazi, M., Bioos, S., Rahimi, R. and Malekshahi, F. 2017. Therapeutic efficacy of rose oil: A comprehensive review of clinical evidence. Avicenna Journal of Phytomedicine, 7:206-220.

Moon, J.H. and Terao, J. 1998. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 5062-5065.

Rusanov, K., Kovacheva, N., Dobreva, A. and Atanassov, I. 2020. *Rosa x damascena* Mill. (Rose). Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants, 12: 467–500.

Seify, Z. and Yadegari, M. 2018. Essential oil composition of *Rosa damescena* produced with different storage temperatures and dur*ations*. Horticultural Science and Technology, 36:552-559.

Sheikhalipour, M., Esmaielpour, B., Gohari, G., Haghighi, M. and Jafari, H. 2021. Salt stress mitigation via the foliar application of chitosan-functionalized selenium and anatase titanium dioxide nanoparticles in Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.). Molecules, 26: 4090-4105.

Shi, H., Magaye, R., Castranova, V. and Zhao, J. 2013. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. Particle and Fibre Toxicology, 10: 1-33.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.

Taheri, M., Rastegar, S. and Karami, A. 2020. The effect of methyl jasmonate, salicylic acid, zinc and boron foliar application on the quantitative and qualitative characteristics of *Rosa damascena* Mill. Journal of Plant Process and Function, 39: 179-196.

Tayyab, N., Naz, R., Yasmin, H. and Nosheen, A. 2020. Combined seed and foliar pre-treatments with exogenous methyl jasmonate and salicylic acid mitigate drought-induced stress in maize. PLoS One, 15: e0232269.

Thakur, M. and Kumar, R. 2020. Foliar application of plant growth regulators modulates the productivity and chemical profile of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) under mid hill conditions of the western Himalaya. Industrial Crops and Products, 158: 113024.

Yaghoubi Kiaseh, D. and Yadegari, M. 2015. The Effect of ethanol and cycloheximide on the vase life of cut flowers Alstroemeria (*Alstroemeria hybrida*). Journal of Ornamental Plants, 6:73-82.

Wang, X., Yang, X., Chen, S., Li, Q., Wang, W. and Hou, C. 2016. Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in Arabidopsis. Frontiers in Plant Science, 6: 1243-1252.

Wanger, G.J. 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplasts. Plant Physiology, 64: 88-93.

Salimi, F, Shekari, F., Azimi, M.R. and Zangani, E. 2014. Effect of methyl jasmonate application on improving salt resistance of german chamomile (*Matricaria chamomilia* L.) through change on some morphological characters. Journal of Crop Production and Processing, 11: 123-131.

Zlotek, U., Michalak-Majewska, M. and Szymanowska, U. 2016. Effect of jasmonic acid elicitation on the yield, chemical composition, and antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oil of lettuce leaf basil (*Ocimum basilicum* L.). Food Chemistry, 213: 1-7.