

## 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.)

Ayoub Mazarie<sup>1</sup>, Seyed Mohsen Mousavi-nik<sup>2</sup>, Ahmad Ghanbari<sup>3</sup>, Leila Fahmideh<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran

<sup>2</sup> Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran

<sup>3</sup> Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran

<sup>4</sup> Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran

### Abstract

In order to evaluate the effects of various concentrations of Jasmonic acid and nano-titanium dioxide (NTD), as two elicitors, on the activity of antioxidant defensive system (enzymatic and non-enzymatic) and physiological traits of sage, a factorial experiment in a completely randomized design with three replications was conducted at the University of Zabol. Trial treatments consisted of three concentrations of Jasmonic acid (0 as control, 75 and 150 mg/L) and titanium dioxide (0 as control, 50 and 100 mg/L), respectively. Comparing the mean values showed that increasing the concentration of NTD would result in a significant increase of the concentrations of traits examined so that with increasing the concentration of NTD (treatment with 100 mg/L), traits such as essential oil, chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll, relative water content, proline, phenol, peroxidase, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase, superoxide dismutase and catalase would also have an increasing trend compared to the control treatment. Also, with increasing the concentration of Jasmonic acid (treatment with 150 mg/L), traits such as relative water content, chlorophyll a, chlorophyll b and chlorophyll total, proline, essential oil, phenol, peroxidase, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase, superoxide dismutase and catalase would have an increasing trend compared to the control treatment. The results of correlation showed a significant positive correlation ( $P < 0.01$ ) between the concentration of essential oil and phenolic compounds with that of total chlorophyll and also among antioxidant enzymes. According to the results, using Jasmonic acid and titanium dioxide individually, would have positive effects on the activity of antioxidant system and physiological traits of Sage.

**Keywords:** Antioxidant enzyme, Essential oil, Growth regulators, Photosynthetic pigments, Nanoparticles

\* Corresponding Author: leila.fahmideh@yahoo.com/l.fahmideh@uoz.ac.ir

## تأثیر محلول پاشی غلظت‌های مختلف جاسمونیک‌اسید و نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم بر برخی صفات‌های فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.)

ایوب مزارعی<sup>۱</sup>، سید محسن موسوی نیک<sup>۲</sup>، احمد قنبری<sup>۳</sup>، لیلیا فهمیده<sup>۴\*</sup>  
<sup>۱</sup> گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران  
<sup>۲</sup> گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران  
<sup>۳</sup> گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران  
<sup>۴</sup> گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

### چکیده

به منظور ارزیابی تأثیر غلظت‌های جاسمونیک‌اسید و دی‌اکسیدتیتانیوم در القای فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیر آنزیمی) و بر صفات‌های فیزیولوژیکی مریم‌گلی آزمایشی به شکل فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح محلول پاشی صفر (شاهد)، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر جاسمونیک‌اسید و صفر (شاهد)، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسیدتیتانیوم بودند. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان دادند با افزایش میزان مصرف نانو دی‌اکسیدتیتانیوم مقدار صفت‌های بررسی شده به طور معناداری افزایش می‌یابد؛ به طوری که با افزایش غلظت نانو دی‌اکسیدتیتانیوم (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) مقدار صفت‌های بررسی شده از جمله اسانس، کلروفیل‌های a، b و کل، محتوای نسبی آب برگ، پرولین، فنول کل، آنزیم‌های پراکسیداز، آسکوریات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز نسبت به شاهد روند افزایشی داشتند. همچنین با افزایش غلظت جاسمونیک‌اسید (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) مقدار صفت‌های بررسی شده از جمله محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل‌های a، b و کل، پرولین، اسانس، فنول، کاتالاز، آسکوریات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز نسبت به شاهد روند افزایشی داشتند. نتایج همبستگی نشان دادند میزان اسانس و ترکیبات فنولی با میزان کلروفیل کل و همچنین بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. باتوجه به نتایج، استفاده از جاسمونیک‌اسید و دی‌اکسیدتیتانیوم به تنهایی دارای اثر مثبت بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان و صفات‌های فیزیولوژیکی مریم‌گلی است.

**واژه‌های کلیدی:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسانس، تنظیم‌کننده‌های رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی، نانوذرات

\* نگارنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: leila.fahmideh@yahoo.com/l.fahmideh@uoz.ac.ir، شماره تماس: ۰۵۴۳۱۲۳۲۱۰۰

## مقدمه

مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) گیاهی چندساله و نیمه‌خشبی (نیمه‌چوبی) از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است. ریشه‌مریم‌گلی کم‌وبیش ضخیم است و به‌طور مستقیم در خاک فرو می‌رود. ساقه این گیاه مستقیم و چهارگوش و ارتفاع آن بین ۵۰ تا ۸۰ سانتی‌متر است. اندام‌های هوایی گیاه به‌ویژه برگ‌ها حاوی اسانس هستند که مقدار آن در شرایط اقلیمی مختلف متفاوت و بین ۱ تا ۲/۵ درصد است. اصلی‌ترین ترکیبات (ترکیبات شاخص) موجود در این گیاه عبارتند از: توژان (۳۰ تا ۵۰ درصد)، سینئول (۱۰ تا ۱۵ درصد)، کامفور (۶ تا ۱۰ درصد) و بورنتول (۶ تا ۱۴ درصد). پینن (۱ تا ۲ درصد) یکی دیگر از ترکیبات اسانس موجود در این گیاه است (Omidbaigi, 2005). گزارش شده است اسانس مریم‌گلی به‌ویژه برخی ترکیبات موجود در آن از جمله سینئول، توژان و کامفور دارای ویژگی ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی است (Carta et al., 1996).

در کشاورزی پیشرفته‌تر امروزه شناخت عوامل مختلف مؤثر بر رشد و عملکرد گیاهان و شیوه تأثیر آنها بر کمیت و کیفیت محصول از مهم‌ترین جنبه‌های موفقیت به‌شمار می‌آید (Hashemi Dezfoli et al., 1993؛ از این‌رو، امروزه استفاده از مواد فعال و سازگار با محیط برای حفظ نباتات و افزایش رشد آنها امری ضروری برای سیستم‌های کشاورزی مدرن محسوب می‌شود. یکی از روش‌هایی که به‌تازگی توجه پژوهشگران را به خود معطوف کرده است استفاده از فناوری‌های مدرنی مانند علم نانو فناوری است که

جایگاه شاخصی در علوم مختلف از جمله علوم گیاهی و کشاورزی یافته است (Scrini and Lyons, 2007).

موادی با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر که حداقل یکی از ابعاد آنها این مقدار باشد در گروه نانوذرات طبقه‌بندی می‌شوند. اندازه کوچک نانوذرات به آنها اجازه می‌دهد از نظر فیزیکی، شیمیایی و زیستی ویژگی‌های منحصر به فردی را از خود نشان دهند و فرایندها و آثار متفاوتی نسبت به ذرات درشت‌دانه ایجاد کنند. استفاده از نانوذرات در زمینه‌های کشاورزی بسیار جدید است و نیاز به پژوهش‌های بیشتری دارد؛ به‌طوری‌که عملکرد نانوذرات در سطح مولکولی در سیستم‌های زیستی تا حد زیادی ناشناخته است. مطالعه‌ها و اطلاعات بسیار اندکی درباره آثار مثبت و منفی نانوذرات بر گیاهان آوندی وجود دارد (Monica and Cremonini, 2009).

پاسخ گیاهان به نانوذرات بر اساس نوع گونه، مرحله‌رویشی، سن و ماهیت نانوذرات متفاوت است؛ با وجود این، آثار مثبت برخی نانوذرات از جمله دی‌اکسید تیتانیوم در برخی گیاهان اثبات شده است (Zhang et al., 2005). نانو دی‌اکسید تیتانیوم باعث بهبود جذب نور و فعالیت آنزیم روبیسکو (Mingyu et al., 2007)، افزایش جذب نیترات (Yang et al., 2006) و تسریع تبدیل مواد غیرآلی به مواد آلی (Nair et al., 2010) گیاه می‌شود. دی‌اکسید تیتانیوم از طریق افزایش فتوسنتز و کاهش خسارت ناشی از آفت‌ها و بیماری‌ها باعث افزایش محصول تا ۳۰ درصد می‌شود (Chao and Choi, 2005)؛

گیاه اثر می گذارند (Wasternack, 2007). در دهه ۱۹۶۰ جاسمونات به شکل متابولیت ثانویه در اسانس گیاه گل یاس مشاهده شد. دو دهه پس از شناسایی اولیه جاسمونات ها، تأثیر فیزیولوژیکی آنها شناسایی و به عنوان ترکیبات پیش برنده پیری، بازدارنده رشد و محرک هایی برای متابولیسم ثانویه در گیاهان عالی شناخته شدند (Koo and Howe, 2009). جاسمونیک اسید ترکیبی است که از اسید چرب لینولئیک اسید مشتق می شود و ممانعت از پیری و ریزش برگ گیاه مهم ترین نقش آن است (Rahman et al., 2009). این هورمون پس از زخم شدن گیاه به سرعت در بافت های زخمی و غیرزخمی تجمع می یابد (Yu et al., 2007) و با افزایش فعالیت آنٹی اکسیدان ها آسیب های ناشی از فعالیت رادیکال های آزاد را در گیاه کاهش می دهد (Gupta et al., 1993). گزارش شده است جاسمونیک اسید بر رشد شاخساره، رشد طولی ریشه، فعالیت آنزیم رویسکو (Paquin and Lechasseur, 1979) نقش دارد و دارای آثار القایی بر تشکیل ریشه های نابجا (Zhang et al., 2006)، تجزیه کلروفیل، پیری و ریزش برگ، انسداد روزنه ها، بیوسنتز اتیلن و تحریک سیستم های دفاعی گیاه (سیستم های آنزیمی یا بازدارنده ها) است (Rohwer and Erwin, 2008). با توجه به مطالب یاد شده درباره نقش جاسمونیک اسید و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در بهبود و افزایش متابولیت ثانویه برخی گیاهان و از آنجا که تاکنون پژوهش چندان در زمینه کاربرد این مواد و بررسی تأثیر آنها بر ویژگی های فیزیولوژیکی، آنزیم های آنٹی اکسیدانی و میزان اسانس مریم گلی

همچنین کاربرد آن در محلول غذایی و یا محلول پاشی روی برگ های گیاه باعث افزایش زیست توده و رشد گونه های مختلف گیاهی می شود (Nair et al., 2010). پژوهش درباره سازوکار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نشان می دهد این ماده باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنٹی اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و کاهش تجمع رادیکال های اکسیژن و سطح مالون دی آلدید می شود (Hong et al., 2005).

نتایج پژوهش های Moaveni و همکاران (۲۰۱۱C) روی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*) نشان دادند نانوذرات تیتانیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می شوند. همچنین طی پژوهشی روی گیاه ذرت گزارش شد اثر نانوذرات تیتانیوم روی فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز معنادار است و بیشترین میانگین فعالیت آنزیم های یاد شده از محلول پاشی نانوذرات تیتانیوم ۰/۰۳ درصد حاصل می شود (Moaveni et al., 2011b). نتایج پژوهش های Lu و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند محلول پاشی دی اکسید سیلیس و دی اکسید تیتانیوم فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز را در سویا و محلول پاشی دی اکسید تیتانیوم عملکرد دانه سویا را افزایش می دهد. Salehi (۲۰۰۸) گزارش کرد محلول پاشی نانوذرات نیترات نقره سبب افزایش ترکیبات پلی فنولی در گیاه گل گاوزبان می شود.

جاسمونیک اسید و مشتقات آن که معمولاً با عنوان جاسمونات ها شناخته می شوند تنظیم کننده های رشد گیاهی پیچیده ای هستند که بر طیف وسیعی از واکنش های فیزیولوژیکی و نموی

**اندازه‌گیری میزان پرولین:** میزان پرولین در نمونه‌های گیاهی به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد.

**اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی**  
**عصاره آنزیمی:** ۰/۵ گرم از نمونه برگ با استفاده از هاون چینی کاملاً سرد و نیتروژن مایع هموزن شد و سپس ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سرد (اسیدیته ۷/۵) حاوی EDTA ۰/۵ میلی‌مولار به آن اضافه شد. نمونه‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند (Sairam and Saxena, 2000).

**سنجش آنزیم کاتالاز:** برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم (اسیدیته ۷)، ۰/۱۵ میکرولیتر EDTA، ۵۴۹/۸۵ میکرولیتر آب مقطر درون تیوپ ریخته و ۳۸۲/۵ میکرولیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد (۳۸۲/۵ میکرولیتر آب اکسیژنه در ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد تا آب اکسیژنه ۰/۷۵ مولار حاصل شود؛ سپس ۳۰ میکرولیتر در مخلوط واکنش ریخته شد تا آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار حاصل شود) و بی‌درنگ میزان جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شد. میزان جذب پس از سپری شدن زمان ۱ دقیقه دوباره یادداشت شد (Beers and Sizer, 1952).

**سنجش آنزیم آسکوربات پراکسیداز:** برای اندازه‌گیری آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۳۷/۵ میکرولیتر آسکوربات، ۱۱۱۸/۸۵ میکرولیتر آب در تیوپ ریخته و ۱۵۳ میکرولیتر آب اکسیژنه به آن اضافه

انجام نشده است، در پژوهش حاضر اثر محلول پاشی جاسمونیک اسید و دی‌اکسیدتیتانیوم به‌طور مجزا و توأم روی برخی صفت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی مریم‌گلی بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر طی سال ۱۳۹۴-۱۳۹۵ به شکل فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زابل واقع در چاه‌نیمه اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل فاکتور اول: محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم در سه سطح صفر (بدون محلول پاشی)، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و فاکتور دوم: محلول پاشی جاسمونیک اسید در سه سطح صفر (بدون محلول پاشی)، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بودند. در هر گلدان ۲۰ عدد بذر کاشته و عمل تنک کردن در مرحله چهارم برگی انجام شد. پس از استقرار کامل بوته‌ها، تیمارهای محلول پاشی با دی‌اکسیدتیتانیوم و جاسمونیک اسید اعمال شدند (مدت زمان اعمال تیمارها سه هفته بود). نمونه برداری از همه برگ‌های گیاه در مرحله گیاهچه‌ای انجام شد.

**اندازه‌گیری میزان اسانس:** استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه Clevenger (مدل هیتز Gerhardt) انجام شد. به این منظور، ۲۰ گرم نمونه از هر تیمار وزن و پس از آسیاب شدن به نسبت ۱ به ۱۰ (به ازای هر گرم ماده خشک ۱۰ میلی‌لیتر آب به بالن اضافه شد) به مدت ۲ ساعت درون دستگاه Clevenger جوشانده شد (Sefidkon, 2001; Kapoor et al., 2004).

Chl a=۱۲/۲۵A۲/۷۹-۶۶۳A۶۴۶

Chl b=۲۱/۲۱A۵/۱-۶۴۶A۶۶۳

Total Chl=Chl a+Chl b

**سنجش میزان فنول:** مقدار فنول کل در

نمونه های عصاره گیاهی به روش Folin  
Sivcultive اندازه گیری شد (McDonald *et al.*,  
2001).

پس از اندازه گیری ترکیبات فنولی کل، میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، مقدار پرولین و محتوای رنگیزه های فتوستتزی داده های حاصل بر مبنای طرح فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با سه تکرار تجزیه واریانس و مقایسه میانگین (روش دانکن) شدند. برای تجزیه آماری، نرمال بودن داده ها با نرم افزار Minitab بررسی شد و پس از آن داده ها تجزیه و نمودارها با نرم افزارهای SAS ver 9.1 و Excel ترسیم شدند.

## نتایج

**رنگدانه های فتوستتزی:** با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده ها مشاهده شد اثر محلول پاشی جاسمونیک اسید و دی اکسید تیتانیوم بر مقدار کلروفیل های a، b و کل در سطح ۱ درصد معنادار است اما اثر متقابل آنها تأثیری بر محتوای رنگیزه های فتوستتزی ندارد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین آثار ساده (جدول ۳) نشان دادند با افزایش غلظت محلول پاشی بر میزان رنگیزه های فتوستتزی افزوده می شود؛ به طوری که محلول پاشی با جاسمونیک اسید باعث افزایش ۲۲/۲۲، ۲۹/۷۴ و ۲۶/۸۵ درصدی به ترتیب کلروفیل های a، b و کل نسبت به شاهد و محلول پاشی با دی اکسید تیتانیوم

شد. بی درنگ میزان جذب آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه طیف سنج نوری خوانده و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد در گرم وزن تر بیان شد (Nakano and Asada, 1981).

**سنجش آنزیم گایاکول پراکسیداز:** برای

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۸۰۰ میکرولیتر بافر سدیم، ۰/۲ میکرولیتر EDTA، ۵۰ میکرولیتر گایاکول، ۷۹۹/۸ آب درون لوله آزمایش ریخته شد و ۷۶۵ میکرولیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد. بی درنگ میزان جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه طیف سنج نوری خوانده شد (Urbanek *et al.*, 1991).

**سنجش آنزیم پراکسیداز:** فعالیت آنزیم

پراکسیداز بر اساس روش هولی (Holy, 1972) اندازه گیری شد. به این منظور ابتدا ۲ میلی لیتر استات ۰/۲ مولار (اسیدیت ۵)، ۰/۲ میلی لیتر آب اکسیژنه ۰/۳ درصد، ۰/۱ میلی لیتر بنزیدین ۰/۲۰ مولار محلول در متانول ۵۰ درصد در حمام یخ مخلوط شدند. سپس ۰/۱ میلی لیتر از عصاره آنزیمی برگ به این مخلوط واکنش اضافه شد و بی درنگ میزان جذب آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر با دستگاه طیف سنج نوری خوانده شد.

**سنجش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز:** فعالیت آنزیم

سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) در طول موج ۵۶۰ نانومتر با دستگاه طیف سنج نوری اندازه گیری شد.

**محتوای رنگیزه های فتوستتزی برگ:** محتوای

رنگیزه های فتوستتزی برگ به روش Prochazka و همکاران (۱۹۹۸) و از رابطه های زیر محاسبه شد:

اثر متقابل آنها معنادار نیست (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین آثار ساده نشان دادند با افزایش غلظت محلول پاشی بر محتوای نسبی آب برگ افزوده می‌شود؛ به طوری که در محلول پاشی با جاسمونیک اسید محتوای نسبی آب برگ بیشتری نسبت به شاهد حاصل می‌شود. محلول پاشی با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر دی‌اکسید تیتانیوم نیز باعث افزایش ۵۷/۳۵ درصدی محتوای نسبی آب برگ نسبت به شاهد شد (جدول ۳).

**میزان اسانس:** با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشاهده شد اثر محلول پاشی جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار اسانس مریم گلی در سطح ۱ درصد معنادار است اما اثر متقابل آنها تأثیری بر مقدار اسانس ندارد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین آثار ساده نشان دادند با افزایش غلظت محلول پاشی بر میزان اسانس افزوده می‌شود؛ به طوری که محلول پاشی با جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم به ترتیب باعث افزایش ۱۷/۴۲ و ۱۹/۷۰ درصدی میزان اسانس نسبت به شاهد می‌شود (شکل‌های ۱ و ۲).

سبب افزایش ۱۶/۷۷، ۲۰/۲۲ و ۱۸/۷۵ درصدی به ترتیب کلروفیل‌های a، b و کل در مقایسه با شاهد می‌شود.

**پرولین:** بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر سطوح مختلف محلول پاشی جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار پرولین برگ در سطح ۱ درصد معنادار است ولی نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل آنها معنادار نیست (جدول ۱). مقایسه میانگین آثار ساده (جدول ۲) نشان داد در سطوح جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش غلظت محلول پاشی بر میزان پرولین افزوده می‌شود؛ به طوری که محلول پاشی با جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم به ترتیب باعث افزایش ۲۲ و ۲۰ درصدی پرولین نسبت به شاهد می‌شود و کمترین میزان پرولین در سطح اول (بدون کاربرد جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم) مشاهده می‌شود.

**محتوای نسبی آب برگ:** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان دادند اثر محلول پاشی جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم بر روابط آبی گیاه در سطح یک معنادار است؛ در حالی که نتایج

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس برخی ویژگی‌های بررسی شده گیاه دارویی مریم گلی تیمار شده با محلول پاشی جاسمونیک اسید و

#### دی‌اکسید تیتانیوم

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی	مقدار اسانس	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	محتوای نسبی آب برگ	پرولین
جاسمونیک اسید (JA)	۲	۰/۱۰۹**	۰/۲۶**	۱/۵۶**	۳/۱۱**	۲۵۲۳/۹۳**	۰/۱۱**
دی‌اکسید تیتانیوم (TiO <sub>2</sub> )	۲	۰/۱۶**	۰/۱۳۵**	۰/۶۵**	۱/۳۷**	۸۴۹/۴۴**	۰/۰۲۶**
JA × TiO <sub>2</sub>	۴	۰/۶۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۲ <sup>ns</sup>	۰/۱۲۹ <sup>ns</sup>	۰/۲۲ <sup>ns</sup>	۳۱۱/۲۵ <sup>ns</sup>	۰/۷۵ <sup>ns</sup>
خطا	۱۸	۰/۰۱۲	۰/۰۱۶	۰/۰۳۸	۰/۰۵۱	۳۵/۲۲	۰/۰۰۸
ضریب تغییرات		۹/۰۶	۲/۹	۸/۱۷	۵/۹۸	۷/۹۳	۶/۴۵

ns \* و \*\* به ترتیب نشان‌دهنده عدم اختلاف معنادار، اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد و اختلاف معنادار در سطح ۱ درصد

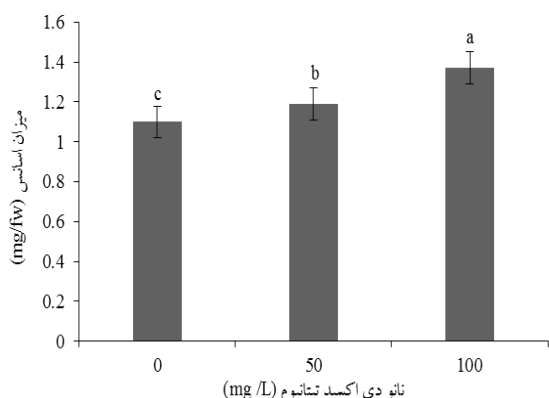
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس فعالیت برخی آنزیم های سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاه دارویی مریم گلی تیمار شده با محلول پاشی جاسمونیک اسید و دی اکسید تیتانیوم

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	فنول
جاسمونیک اسید (JA)	۲	۰/۰۶۱**	۰/۱۶**	۰/۱۴**	۰/۰۲۸**	۱۷/۳۷**	۳۳۴۹/۱۳**
دی اکسید تیتانیوم (TiO <sub>2</sub> )	۲	۰/۱۷**	۰/۳۶**	۰/۳۴**	۰/۰۱۸**	۰/۱۹**	۳۴۳/۰۴**
JA × TiO <sub>2</sub>	۴	۱/۴۸ <sup>ns</sup>	۰/۸۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۴ <sup>ns</sup>	۱۲/۳ <sup>ns</sup>	۸۶/۵۸ <sup>ns</sup>
خطا	۱۸	۰/۰۰۵	۰/۰۱۱	۰/۰۰۲	۰/۰۴۵	۰/۰۰۱۷	۵۲/۶۱
ضریب تغییرات		۶/۷۸	۷/۵۸	۵/۲	۸/۸۷	۸/۴۲	۱۳/۲۷

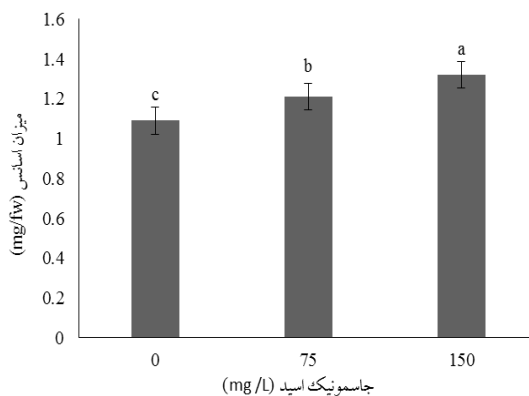
ns, \* و \*\* به ترتیب نشان دهنده عدم اختلاف معنادار، اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد و اختلاف معنادار در سطح ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین تیمارهای محلول پاشی دی اکسید تیتانیوم و جاسمونیک اسید بر برخی ویژگی های بررسی شده گیاه دارویی مریم گلی

تیمارها	محتوای نسبی آب برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	پرولین	فنول
جاسمونیک اسید						
۰	۵۵/۵۲+۱/۹۷Ac	۱/۱۹±۰/۰۱۳c	۱/۹۶±۰/۰۶۶c	۳/۱۶±۰/۰۷۶c	۱/۲۲±۰/۰۳c	۳۶/۵۶±۲/۹۷c
۷۵	۸۳/۰۸+۱/۹۷Ab	۱/۴۱±۰/۰۱۳b	۲/۴۷±۰/۰۶۶b	۳/۸۸±۰/۰۷۶b	۱/۳۲±۰/۰۳b	۵۲/۴۳±۲/۹۷b
۱۵۰	۸۵/۸۶+۱/۹۷Aa	۱/۵۳±۰/۰۱۳a	۲/۷۹±۰/۰۶۶a	۴/۳۲±۰/۰۷۶a	۱/۵۶±۰/۰۳a	۷۴/۹۵±۲/۹۷a
دی اکسید تیتانیوم						
۰	۵۳/۶۴+۱/۹۷Ac	۱/۲۴±۰/۰۱۳c	۲/۱۳±۰/۰۶۶c	۳/۳۸±۰/۰۷۶c	۱/۲±۰/۰۳b	۴۸/۷۵±۲/۹۷c
۵۰	۷۶/۴۵+۱/۹۷Ab	۱/۴±۰/۰۱۳b	۲/۴۲±۰/۰۶۶b	۳/۸۲±۰/۰۷۶b	۱/۴۷±۰/۰۳b	۵۴/۱۱±۲/۹۷b
۱۰۰	۸۲/۵۷+۱/۹۷Aa	۱/۴۹±۰/۰۱۳a	۲/۶۷±۰/۰۶۶a	۴/۱۶±۰/۰۷۶a	۱/۵±۰/۰۳a	۶۷/۰۷±۲/۹۷a

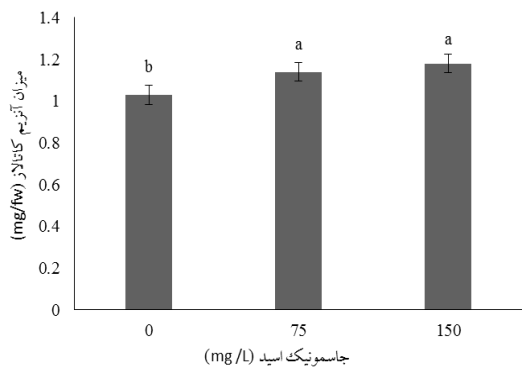


شکل ۲- اثر نانو دی اکسید تیتانیوم بر میزان اسانس مریم گلی (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند). حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند)

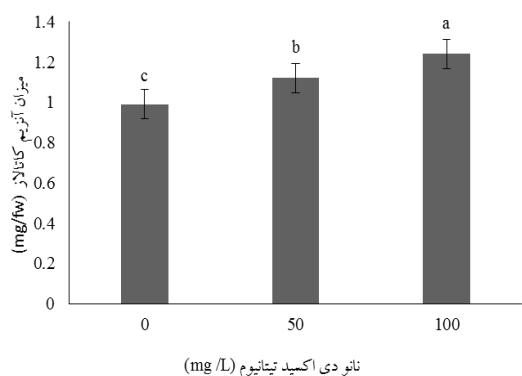


شکل ۱- اثر جاسمونیک اسید بر میزان اسانس مریم گلی (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند). حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند)

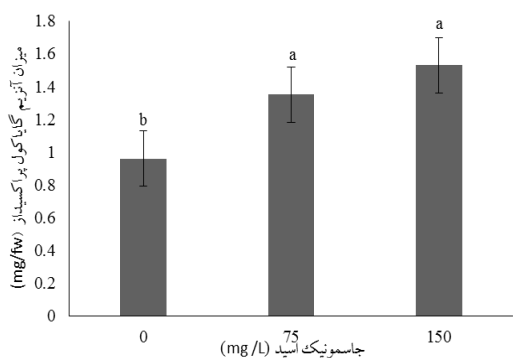




شکل ۳- اثر جاسمونیک اسید بر میزان آنزیم کاتالاز (مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان‌کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  براساس آزمون دانکن هستند)



شکل ۴- اثر نانو دی اکسید تیتانیوم بر میزان آنزیم کاتالاز (مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان‌کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  براساس آزمون دانکن هستند)



شکل ۵- اثر جاسمونیک اسید بر میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز (مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان‌کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  براساس آزمون دانکن هستند)

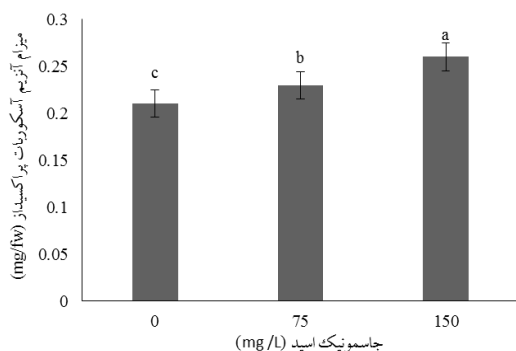
## ترکیبات آنتی‌اکسیدانی

**فنول کل:** نتایج تجزیه واریانس نشان دادند اثر

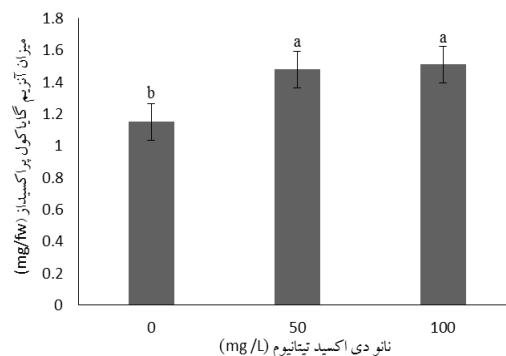
سطوح مختلف محلول‌پاشی جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار فنول کل بخش هوایی گیاه معنادار است اما اثر متقابل آنها معنادار نیست (جدول ۲). مقایسه میانگین آثار ساده (جدول ۲) نشان داد با افزایش میزان جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم بر میزان فنول کل افزوده می‌شود و بیشترین میزان آن نسبت به شاهد از محلول‌پاشی غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم نانو دی‌اکسید تیتانیوم و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر جاسمونیک اسید حاصل می‌شود (جدول ۳).

**آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی:** نتایج تجزیه واریانس

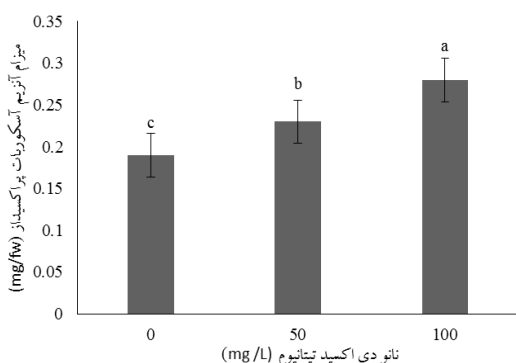
داده‌ها نشان دادند میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز) تحت تأثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی دی‌اکسید تیتانیوم و جاسمونیک اسید قرار می‌گیرد و اختلاف از نظر آماری در سطح ۱ درصد معنادار است؛ در حالی که اثر متقابل آنها معنادار نیست (جدول ۱). مقایسه میانگین آثار ساده جاسمونیک اسید و دی‌اکسید تیتانیوم نشان داد با افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم و جاسمونیک اسید میزان فعالیت آنزیم‌های یادشده افزایش می‌یابد؛ به طوری که کمترین میزان کاتالاز (شکل‌های ۳ و ۴)، گایاکول پراکسیداز (شکل‌های ۵ و ۶)، پراکسیداز (شکل‌های ۷ و ۸)، آسکوربات پراکسیداز (شکل‌های ۹ و ۱۰) و سوپراکسید دیسموتاز (شکل‌های ۱۱ و ۱۲) در سطح اول (بدون کاربرد) نانو دی‌اکسید تیتانیوم و جاسمونیک اسید مشاهده می‌شود.



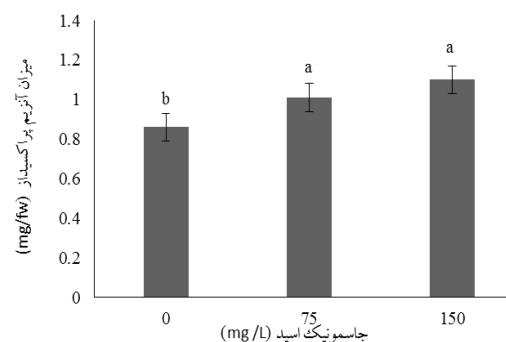
شکل ۹- اثر جاسمونیک اسید بر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند)



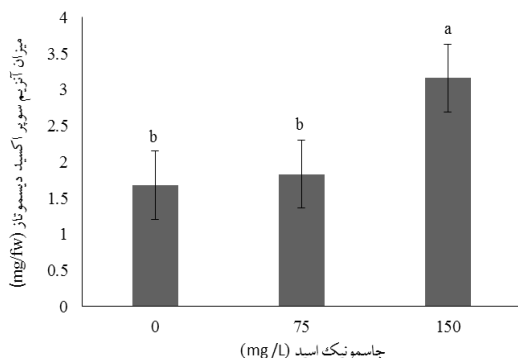
شکل ۶- اثر نانو دی اکسید تیتانیوم بر میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند)



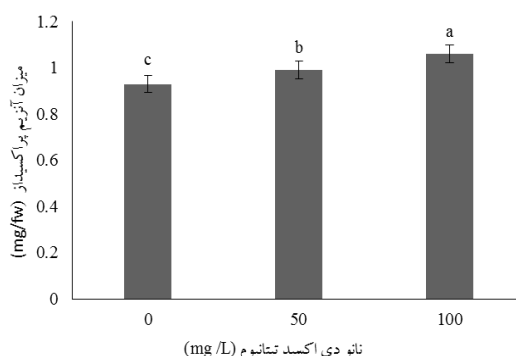
شکل ۱۰- اثر نانو دی اکسید تیتانیوم بر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند)



شکل ۷- اثر جاسمونیک اسید بر میزان آنزیم پراکسیداز (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند)



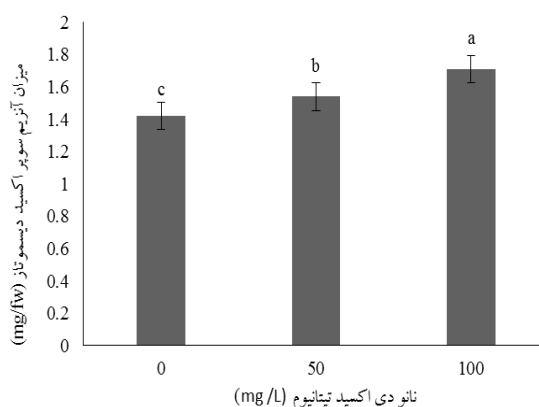
شکل ۱۱- اثر جاسمونیک اسید بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند)



شکل ۸- اثر نانو دی اکسید تیتانیوم بر میزان آنزیم پراکسیداز (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند)

آنزیم رویسکو و سرعت فتوسنتز را در گیاه اسفناج افزایش می‌دهد. محلول پاشی با نانوپتاسیم موجب افزایش میزان کلروفیل‌های a و b در مقایسه با شاهد می‌شود (Niakan *et al.*, 2004). در پژوهش حاضر حداکثر مقدار کلروفیل‌های a، b و کل از محلول پاشی ۱۰۰ میلی گرم در لیتر دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد که با یافته‌های Baiazidi Aghdam (۲۰۱۴) مبنی بر به دست آمدن حداکثر مقدار کلروفیل‌های a و b در گیاه کتان به ترتیب از محلول پاشی ۱۰۰ و ۱۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم همخوانی دارد. Martínez-Sánchez و همکاران (۱۹۹۳) در پژوهشی بیان کردند نانو دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش جذب نیتروژن سبب افزایش کلروفیل می‌شود.

نتایج متفاوتی در مورد نقش جاسمونات بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی ذکر شده‌اند. در گزارشی بیان شده است جاسمونات‌ها باعث تجمع کلروفیل در نوعی جلبک (*Chlorella vulgaris*) می‌شوند (Czerpak *et al.*, 2006). گزارش شده است جاسمونیک اسید هیچ تأثیری بر مقدار کلروفیل و فتوسنتز گیاه صنوبر ندارد (Babst *et al.*, 2005). نتایج مطالعه حاضر نشان دادند کاربرد جاسمونیک اسید در گیاه دارویی مریم گلی سبب افزایش ۱۶/۷۷، ۲۰/۲۲ و ۱۸/۷۵ درصدی به ترتیب کلروفیل‌های a، b و کل نسبت به گیاهان شاهد می‌شود؛ این نتایج با نتایج Piekielek و Fox (۱۹۹۲) که بیان کردند محلول پاشی با غلظت ۰/۱ میکرومولار جاسمونات باعث ترمیم رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a و کاروتنوئیدها می‌شود همخوانی دارند. Piotrowska و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند محلول پاشی با جاسمونیک اسید سبب



شکل ۱۲- اثر نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف مشابه بیان‌کننده عدم تفاوت معنادار در سطح  $P < 0.01$  بر اساس آزمون دانکن هستند)

**همبستگی بین صفت‌ها:** ارزیابی همبستگی بین صفت‌های مطالعه شده در پژوهش حاضر با استفاده از ضریب پیرسون در جدول ۴ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل همبستگی ارتباط مثبت و منفی صفت‌ها با یکدیگر را در شرایط محلول پاشی نشان می‌دهد؛ به طوری که آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز بیشترین میزان همبستگی را باهم داشتند و ارتباط معناداری بین میزان اسانس و ترکیبات فنولی با رنگیزه‌های فتوسنتزی وجود داشت.

## بحث

**رنگدانه‌های فتوسنتزی:** محتوای کلروفیل یکی از عوامل مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی (Jiang and Huang, 2001) و تعیین‌کننده سرعت فتوسنتز در گیاهان زنده است (Ghosh *et al.*, 2004). نتایج Zhang و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تشکیل کلروفیل، فعالیت

افزایش میزان این آمینواسید در گیاهان می شود (Wang *et al.*, 2009). در مطالعه ای Gupta و همکاران (۱۹۹۳) بیان کردند متیل جاسمونات با القای آنزیم سنتزکننده پرولین باعث افزایش تولید پرولین می شود؛ این نتیجه با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

**محتوای نسبی آب برگ:** محتوای نسبی آب برگ شاخصی برای نشان دادن وضعیت آبی گیاه است. نتایج Ashkavand و همکاران (۲۰۱۵) درباره زوالک نشان دادند محلول پاشی با نانوذرات سیلیکون تأثیر فزاینده ای بر محتوای نسبی آب برگ دارد هرچند این تأثیر نسبت به شاهد معنادار نیست؛ برخلاف نتایج یادشده، یافته های مطالعه حاضر نشان دادند با افزایش غلظت محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم محتوای نسبی آب برگ گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد افزایش بیشتری نشان می دهد و افزایش ۵۷/۳۵ درصدی نسبت به شاهد در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر مشاهده می شود؛ نتایج یادشده با نتایج Haghghi و Pessarakli (۲۰۱۳) که نشان دادند با افزایش غلظت محلول پاشی نانوذرات سیلیکون محتوای نسبی آب برگ گونه *Solanum lycopersicum* افزایش می یابد همخوانی دارد.

نتایج Salimi و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند بیشترین محتوای نسبی آب برگ گیاه بابونه آلمانی با محلول پاشی غلظت ۷۵ میکرومولار در بین غلظت های مختلف صفر (شاهد)، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات به دست می آید؛ این در حالیست که یافته های مطالعه حاضر نشان دادند اختلاف معناداری بین محلول پاشی با غلظت های ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر وجود ندارد. نتایج مطالعه Zabet و همکاران (۲۰۰۳) نیز نشان

افزایش محتوای کلروفیل و فعالیت آنزیم رویسکوی برگ های جو می شود. Sunkar (۲۰۱۰) در پژوهشی بیان کرد جاسمونیک اسید و متیل جاسمونات با تشکیل آمینولولینیک اسید سبب بیان ژن های آنزیم های کلیدی در بیوسنتز کلروفیل می شوند و از این طریق میزان کلروفیل را افزایش می دهند که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

**پرولین:** Jiang و Huang (۲۰۰۰) در مطالعه ای بیان کردند آمینواسیدهایی مانند پرولین ممکن است نقش محافظت کننده برای تیلاکوئیدهای کلروپلاست و دیگر سیستم های غشایی داشته باشند. پرولین با تحت تأثیر قرار دادن حلالیت پروتئین ها و آنزیم های مختلف از تغییر ماهیت آنها جلوگیری می کند.

در گزارشی بیان شده است محلول پاشی با نانوذرات تیتانیوم تأثیر فزاینده ای بر میزان پرولین ندارد؛ در حالی که نتایج پژوهش حاضر نشان دادند محلول پاشی با نانوذرات تیتانیوم سبب افزایش ۲۰ درصدی میزان پرولین در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد می شود (Zarafshar *et al.*, 2015). نتایج مطالعه حاضر با یافته های Amirjani و همکاران (۲۰۱۴) که بیان کردند افزایش غلظت های نانو اکسیدروی مقدار پرولین را در اندام های هوایی گیاه دارویی پرپوش افزایش می دهد همخوانی دارند. در گزارش Guo و همکاران (۲۰۰۶) بیان شده است جاسمونیک اسید با تحریک سنتز بازدارنده پروتیناز و بیان ژن آن سبب پایداری پروتئین های گیاهان می شود. نتایج مطالعه حاضر نشان دادند میزان پرولین با کاربرد جاسمونیک اسید ۲۱/۷۹ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش می یابد و به نظر می رسد جاسمونیک اسید با تنظیم افزایشی بیان ژن های پروتئین های بازدارنده به ویژه پرولین سبب

یکدیگر سبب تشکیل چرخه‌های بسیار مهمی می‌شود (Omidbaigi and Hasani, 2002) که اجرای آنها به‌عنوان سازوکارهای دفاعی سلول را قادر می‌کند از تولید گونه‌های فعال اکسیژن پیشگیری کند و یا آنها را جمع‌آوری کند و آثار مضر آنها را کاهش دهد (Ashraf and Iram, 2005).

نتایج تجزیه و تحلیل همبستگی نشان دادند رابطه مستقیم و معناداری در سطح ۱ درصد بین آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز وجود دارد؛ این نتیجه با یافته‌های Omidbaigi و Hasani (۲۰۰۲) که بیان کردند همکاری این اجزا با یکدیگر سبب تشکیل چرخه‌های بسیار مهمی می‌شود همخوانی دارد.

دادند محلول پاشی با متیل جاسمونات موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ گیاه *Vigna radiata* می‌شود که با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد.

**ترکیبات آنتی‌اکسیدانی:** افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی یکی از مهم‌ترین سازوکارهای دفاعی گیاهان در رویارویی با شرایط نامساعد است. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی از جمله ترکیبات فنولی، بتاکاروتن، آسکوربیک اسید (AA)، آلفاتوکوفرول ( $\alpha$ -toc)، گلوتاتیون (GSH) و آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گایاکول پراکسیداز (GPX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT)، پلی‌فنول اکسیداز (PPO) و گلوتاتیون ردوکتاز هستند (Daneshmand, 2014). همکاری این اجزا با

جدول ۴- تجزیه همبستگی بین صفت‌ها

کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	فنول	اسانس	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
۱									
گایاکول	۰/۹۱۳۸۵**								
پراکسیداز	۰								
پراکسیداز	۰/۹۱۳۸۹**	۰/۸۴۱۸۳**							
آسکوربات	۰/۹۱۹۷۵**	۰/۸۷۹۳۲**	۰/۹۱۰۶۸**	۱					
پراکسیداز	۰								
سوپراکسید	۰/۹۱۲۴۶**	۰/۹۹۷۰۶**	۰/۸۱۴۴۷**	۰/۸۵۸۳۸**	۱				
دیسموتاز	۰								
اسانس	۰/۹۴۹۶۲**	۰/۹۴۸۹۲**	۰/۹۲۸۵۰**	۰/۹۴۴۵۱**	۰/۹۳۷۷۴**	۱			
کلروفیل a					۰/۸۱۷۸۷**		۱		
کلروفیل b					۰/۸۲۰۱۱**		۰/۹۸۹۲۴**	۱	
کلروفیل کل					۰/۸۲۱۲۹**		۰/۹۹۴۶۱**	۰/۹۹۹۰۸**	۱

\* و \*\* به ترتیب معنادار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد

## ترکیبات غیر آنزیمی

**ترکیبات فنولی:** ترکیبات فنولی به علت ویژگی آنتی اکسیدانی قوی رادیکال های آزاد را به دام می اندازند و گیاهان این ترکیبات را در پاسخ به برخی ترکیبات پیام رسان دارای نقش دفاعی مهم آزاد می کنند (Sheraphthi chaleshtari *et al.*, 2008). Kovacik و همکاران (۲۰۰۹) در گزارشی بیان کردند ترکیبات فنولی نقش آنتی اکسیدانی خود را با سازوکارهایی مانند پاکروبی رادیکال های آزاد، دادن هیدروژن، کلات کردن یون های فلزی و یا در همکاری با پراکسیدازها برای جمع آوری یا حذف پراکسید هیدروژن ایفا می کنند. ترکیبات فنولی با شرکت در واکنش حذف رادیکال های آزاد به رادیکال فنوکسیل اکسید می شوند و سپس از طریق واکنش رادیکال های فنوکسیل با آسکوربات به حالت اولیه برمی گردند (Silva *et al.*, 2007). نتایج مطالعه حاضر نشان دادند میزان فنول با بیشتر شدن غلظت نانو دی اکسید تیتانیوم ۲۰/۱۷ درصد نسبت به شاهد (بدون کاربرد محلول پاشی) افزایش می یابد؛ این نتایج در تأیید یافته های Oloumi و همکاران (۲۰۱۵) است که گزارش کردند نانوذرات مس و روی آثار مثبتی بر محتوای ترکیبات فنولی نهال های شیرین بیان دارند.

نتایج پژوهش حاضر نشان دادند محلول پاشی با جاسمونیک اسید سبب افزایش ۵۱/۲۲ درصدی فنول کل نسبت به گیاهان شاهد می شود. کاربرد متیل جاسمونات مقدار ترکیبات فنولی را در برخی گیاهان نظیر مارچوبه (Reyes and Cisneros- Zevallos, 2003) و لوبیا سبز (Basilio Heredia and Luis Cisneros-Zevallos, 2009) افزایش می دهد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

پژوهشگران بیان کردند جاسمونات ها با اثر بر افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) که یکی از آنزیم های کلیدی در بیوسنتز ترکیبات فنولی است میزان ترکیبات فنولی را افزایش می دهند.

**ترکیبات آنزیمی:** آنزیم های آنتی اکسیدان نقش بسیار مهمی در غیرفعال کردن رادیکال های آزاد اکسیژن در سلول گیاه دارند و میزان فعالیت آنها در گیاه بسته به گونه گیاهی تغییر می کند (Apel and Hirt, 2004). آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز از مهم ترین آنزیم های دخیل در فرایند جمع آوری و خنثی سازی گونه های فعال اکسیژن هستند (Sunkar, 2010). شواهدی وجود دارد که نشان می دهند جاسمونیک اسید و متیل جاسمونات به عنوان مولکول های هشدار دهنده در گیاهان فعالیت می کنند (Memelink, 2009). گزارش های مختلفی نیز مبنی بر تأثیر متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه آرکیدوپسیس (Jung, 2004) و بادام زمینی (Comparot *et al.*, 2002) ارائه شده اند. گزارش های ارائه شده نشان می دهند متیل جاسمونات سطوح رادیکال های آزاد را از طریق افزایش آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاهان کاهش می دهد. غلظت های ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات موجب افزایش فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در گیاهچه بادام زمینی می شوند (Kumari *et al.*, 2006). در پژوهشی Hare و Walling (۲۰۰۶) اثر متیل جاسمونات را بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بررسی و گزارش کردند متیل جاسمونات اثری بر فعالیت آنزیم گایاکول در تاتوره (*Datura wrightii*) ندارد.

آنتی‌اکسیدانی به‌طور درخور توجهی کاهش می‌دهد. در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد بیشتر بود؛ به طوری که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیس‌موتاز، گایاکول‌اکسیداز، آسکوربات‌اکسیداز و پراکسیداز در گیاهان محلول‌پاشی شده با نانو تیتانیوم به ترتیب ۲۰/۱۶، ۱۶/۹۵، ۲۳/۸۴، ۳۲/۱۴ و ۱۲/۲۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت.

نتایج مطالعه‌ای روی گلابی نشان می‌دهند بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در محلول‌پاشی با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسیدتیتانیوم به دست می‌آید (Zarafshar *et al.*, 2015)؛ در حالی که نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت محلول‌پاشی افزایش می‌یابد و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسیدتیتانیوم بیشترین فعالیت به آنزیم سوپراکسیددیس‌موتاز تعلق دارد. نتایج مطالعه Moaveni و همکاران (۲۰۱۱a) روی گیاه ذرت (*Zea mays*) نشان می‌دهند بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیس‌موتاز طی محلول‌پاشی با نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم ۰/۰۳ درصد حاصل می‌شود و کمترین میزان به تیمار شاهد تعلق دارد. افزایش تجمع رادیکال سوپراکسید در پی کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیس‌موتاز رخ می‌دهد؛ این رادیکال با پراکسید هیدروژن ترکیب می‌شود و با اجرای واکنش هابر-ویز (Haber-Weiss Reaction) رادیکال بسیار خطرناک هیدروکسیل را به وجود می‌آورد (Sairam and Saxena, 2000). کاهش کارایی چرخه مهلر (Mehler

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، گایاکول‌پراکسیداز، پراکسیداز و سوپراکسیددیس‌موتاز با افزایش غلظت جاسمونیک اسید به ترتیب ۱۲/۷۱، ۱۹/۲۳، ۳۷/۲۵، ۸۱/۲۱ و ۴۶/۸۳ درصد نسبت به شاهد افزایش می‌یابد. نتایج مطالعه Brooke Melan و همکاران (۲۰۱۶) نشان می‌دهند میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات‌دیس‌موتاز و پراکسیداز با افزایش غلظت محلول‌پاشی جاسمونیک اسید افزایش می‌یابد؛ این نتایج با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارند. در مطالعه‌ای روی گیاه آفتابگردان بیان شده است محلول‌پاشی با متیل جاسمونات باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گایاکول‌پراکسیداز، آسکوربات‌پراکسیداز و کاتالاز می‌شود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Parra-Lobato *et al.*, 2009).

در گزارشی بیان شده است تیمار گیاه دارویی پرپوش با نانو اکسیدروی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسیددیس‌موتاز و گایاکول‌پراکسیداز می‌شود (Amirjani *et al.*, 2014). کاربرد نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم محتوای پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدید را در گیاه کتان کاهش می‌دهد (Baiazidi Aghdam, 2014). پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهند نانو ذرات دی‌اکسیدتیتانیوم آثار مخرب افزایش رادیکال‌های آزاد (Lei *et al.*, 2008) و میزان نشت الکترولیت در سلول گیاهی (Zarafshar *et al.*, 2015) را با تقویت سیستم

مؤثره به مقدار کافی عناصر غذایی نیاز دارند؛ به طوری که تأمین این عناصر غذایی میزان و عملکرد اسانس را به طور درخور توجهی افزایش می دهد (Moghadam *et al.*, 2016).

استفاده از فناوری نانوذرات یکی از مهم ترین راهکارها در تغذیه گیاهان است (Rezai *et al.*, 2010)؛ استفاده از ترکیبات نانو با ویژگی های مطلوب مانند غلظت مؤثر، قابلیت حل پذیری مناسب، ثبات و تأثیرگذاری زیاد و رهایش کنترل شده سبب افزایش کارایی عناصر غذایی می شود (Naderi *et al.*, 2013). نانوذرات اتم ها یا مولکول هایی با ابعاد بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند و این اندازه کوچک اجازه می دهد جذب و انتقال آنها از طریق برگ به سهولت انجام شود (Liu *et al.*, 2006)؛ این امر به علت اندازه کوچک ذرات و میزان نفوذ زیاد آنها در سلول های گیاه است. کاهش اندازه ذرات سبب افزایش انرژی و فعالیت سطحی آنها نسبت به ذرات معمولی می شود و این امر میزان و سرعت حل شدن در آب را افزایش می دهد (Ma *et al.*, 2012).

طبق گزارش Martínez-Sánchez و همکاران (۱۹۹۳) کاربرد تیتانیوم به شکل محلول پاشی روی برگ های فلفل باعث افزایش آسکوربیک اسید و کاپسانتین در این گیاه می شود که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعه حاضر میزان اسانس با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم افزایش یافت؛ این نتایج با نتایج Amirjani و همکاران (۲۰۱۴) که بیان کردند محلول پاشی با نانوذرات اکسیدروی سبب افزایش میزان آلکالوئید در گیاه دارویی پریوش می شود مطابقت دارد؛ از سویی

(Reaction) در کلروپلاست سبب افزایش شدت آسیب به مولکول های زیستی حیاتی از جمله غشاها می شود و کاهش کارایی چرخه یاد شده از کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ناشی می شود؛ علاوه بر این، تجمع رادیکال سوپراکسید فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیدازها را کاهش می دهد (Beauchamp and Fridovich, 1971). آنزیم های یاد شده نقش ویژه ای در جمع آوری پراکسید هیدروژن موجود در سلول دارند (Sairam and Saxena, 2000).

اسانس ها متابولیت های ثانویه ای هستند که در دوره رویشی و زایشی گیاهان دارویی تولید می شوند و از گروه شیمیایی ترین ها هستند یا منشأ ترپنی دارند که واحدهای سازنده آنها نیاز شدیدی به NADPH و ATP دارند. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهند رابطه مستقیم و معناداری در سطح ۱ درصد بین میزان اسانس و رنگیزه های فتوسنتزی وجود دارد که با نتایج مطالعه Moghadam و همکاران (۲۰۱۶) همخوانی دارد. نتایج مطالعه آنها نشان دادند رابطه مستقیمی بین فتوسنتز و فراورده های فتوسنتزی با تولید اسانس در گیاهان وجود دارد؛ به طوری که همبستگی بین فتوسنتز و تولید اسانس نشان می دهد گلوکز به عنوان پیش ماده مناسب در سنتز اسانس به ویژه مونوترپن ها عمل می کند؛ از این رو به نظر می رسد گلوکز حاصل از فتوسنتز پیش ماده لازم برای تأمین انرژی و سنتز ترکیبات مؤثر در اسانس را فراهم می کند. عوامل بسیاری وجود دارند که سبب تغییر کمیت و کیفیت اسانس می شوند که یکی از آنها مصرف عناصر غذایی است. گیاهان دارویی در طول دوره رویش برای تولید مناسب اسانس و مواد



مطالعه‌های انجام شده نشان می‌دهند کاربرد ترکیباتی مانند جاسمونات‌ها که به‌طور طبیعی یافت می‌شوند باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Wang *et al.*, 2009). Popova و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند جاسمونیک‌اسید و مشتقات آن دارای نقش دوگانه در تکامل و دفاع هستند؛ این ترکیبات با القای مسیره‌های علامت‌رسانی باعث فعال‌شدن واکنش‌های دفاعی در گیاه و در نتیجه افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شوند. مطالعه‌های انجام شده در زمینه اثر متیل جاسمونات بر ترکیبات ثانویه ریحان شیرین نشان می‌دهند افزایش غلظت متیل جاسمونات سبب افزایش میزان اسانس در ریحان می‌شود (Kim *et al.*, 2005).

Ghasemi pirbeloti و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند جاسمونیک‌اسید و متیل جاسمونات بر میزان ترکیبات و مواد مؤثره آویشن دناپی تأثیرگذار است؛ به طوری که غلظت‌های مختلف به کاررفته نوع و مقدار ترکیبات ثانویه اسانس را افزایش می‌دهند؛ یافته‌های یادشده با نتایج مطالعه حاضر که نشان می‌دهند محلول‌پاشی جاسمونیک‌اسید سبب افزایش میزان اسانس مریم‌گلی می‌شود همخوانی دارد؛ بنابراین افزایش ۱۷/۴۲ درصدی مقدار اسانس مریم‌گلی پس از تیمار جاسمونیک‌اسید نشان می‌دهد این ترکیب از یک سو به عنوان پیام‌رسان کلیدی در فرایند القای منجر به تولید متابولیت‌های ثانویه نقش دارد و از سوی دیگر با تحریک علامت‌رسانی در سلول‌ها سبب افزایش مقدار اسانس مریم‌گلی می‌شود (Szepesi *et al.*, 2005).

Amuamuha و همکاران (۲۰۱۲) در گزارشی بیان کردند محلول‌پاشی با نانوذرات آهن سبب افزایش عملکرد گل و اسانس گیاه همیشه‌بهار در مقایسه با شاهد می‌شود.

در گزارشی بیان شده است کاربرد نانو نقره در گیاه شمعدانی عطری (*Pelargonium graveolens*) میزان اسانس را افزایش می‌دهد؛ این نتیجه با نتایج مطالعه حاضر که نشان دادند محلول‌پاشی با نانوذرات تیتانیوم سبب افزایش ۱۹/۷۰ درصدی میزان اسانس می‌شود و با نتایج Dastmalchi و همکاران (۲۰۰۷) که بیان کردند کاربرد نانو نقره در گیاه شمعدانی عطری (*Pelargonium graveolens*) میزان اسانس را افزایش می‌دهد همخوانی دارد. در پژوهش دیگری کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در گیاه دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) میزان فلاونوئید کل را به‌طور معناداری در مقایسه با شاهد افزایش داد (Ghorbanpour *et al.*, 2015)؛ از این رو به نظر می‌رسد نانو دی‌اکسید تیتانیوم با تأثیر مستقیم بر کلروفیل و سایر عوامل مؤثر بر فتوسنتز (Chao and Choi, 2005) و تأثیر غیرمستقیم بر افزایش سطح فتوسنتزی باعث افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه می‌شود (Rombol *et al.*, 2005) و این افزایش ظرفیت فتوسنتزی سبب افزایش گلوکز می‌شود. از آنجا که گلوکز پیش‌ماده مناسب سنتز اسانس و به‌ویژه مونوترپن است مواد غذایی بیشتری به مسیره‌های ساخت ترپن‌ها اختصاص می‌یابند (Rombol *et al.*, 2005)؛ از این رو، فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی ارتباط مستقیمی با تولید اسانس دارند (Niakan *et al.*, 2004).

Science and Technology of Wood and Forest 23(11): 41-61 (in Persian).

- Ashraf, M. and Iram, A. (2005) Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. *Flora* 200: 446-535.
- Babst, B. A., Ferrieri, R. A., Gray, D. W., Lerdau, M., Schlyer, D. J., Schueller, M., Thrope, M. R. and Orians, C. M. (2005) Jasmonic acid induces rapid changes in carbon transport and partitioning in *Populus*. *Journal New Phytologist* 167: 63-72.
- Baiazidi Aghdam, M. T. (2014) The effect of titanium dioxide nanoparticles under conditions of drought stress on morphological and physiological characteristics of *Linum usitatissimum*. MSc thesis, University of Shahid Madani, Azarbaijan, Iran.
- Basilio Heredia, J. and Luis Cisneros-Zevallos, L. (2009) The effects of exogenous ethylene and methyl jasmonate on the accumulation of phenolic antioxidants in selected whole and wounded fresh produce. *Food Chemistry* 115: 1500-1508.
- Bates, L. S., Waldern, R. P. and Teave, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and soil* 39: 107-205.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Annual Journal of Biochemistry* 44: 276-287.
- Beers, G. R. and Sizer, I. V. (1952) A spectrophotometric method for measuring the break down of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry* 195: 133-140.
- Brooke melan, A., Hasani, L., Abdollahi, B., Darveshzade, R., Kharadmand, F. and Hasani, A. (2016) The effect of different concentrations of methyl jasmonate on the activity of antioxidant enzymes and total protein content *Ocimum basicicum*. *Journal of Crop Improvement* 18(1): 103-115 (in Persian).

## نتیجه‌گیری

نانو دی‌اکسید تیتانیوم و جاسمونیک‌اسید میزان کلروفیل را با افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی افزایش می‌دهند، با فعال کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی گیاه باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود و با حفظ تعادل آبی سلول و افزایش محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین) سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاه مریم‌گلی می‌شوند؛ اما کاربرد توأم دی‌اکسید تیتانیوم و جاسمونیک‌اسید بر فرایندهای یادشده در این گیاه تأثیری ندارد. از آنجاکه پژوهش‌های مشابه در این زمینه اندک هستند تأیید دقیق‌تر نتایج یادشده مستلزم بررسی‌های بیشتر آزمایشگاهی به‌ویژه از نظر مولکولی و تجزیه و تحلیل بیان ژن است.

## References

- Amirjani, M. R., Askari, M. and Askari, P. (2014) The effect Nano oxide Zinc on the amount of alkaloids, enzymatic and non-enzymatic antioxidants and some indicators of Physiology *Catharantus roseu*. *Cells and Tissues Journal* 5(2): 173-183 (in Persian).
- Amuamuha, L., Pirzad, A. and Hadi, H. (2012) Effect of varying concentration and time of nano iron foliar application on the yield and essential oil of pot marigold (*Calendula officinalis*). *International Research Journal of Applied and Basic Sciences* 3(10): 2085-2090.
- Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55: 373-399.
- Ashkavand, P., Tabarsi koheksaraei, M., Zarafshar, M. and Ghanbari, A. (2015) Effect of silica nanosilver (SiO<sub>2</sub> NPs) on vegetative and physiological traits of seedlings of *Crataegus aronia*. *Journal of*

- Carta, C., Moretti, M. D. and Peana, A. T. (1996) Activity of oil *Salvia officinalis* against *Botrytis cinerea*. *Journal of Essential Oil Research* 8: 399-404.
- Chao, S. H. L. and Choi. H. S. (2005) Method for Providing Enhanced Photosynthesis. Korea Research Institute of Chemical Technology, Jeonju.
- Comparot, S. M., Graham, C. M. and Reid, D. M. (2002) Methyl jasmonate elicits a differential antioxidant response in light and dark grown canola (*Brassica napus*) roots and shoots. *Journal Plant Growth Regulation* 38: 21-30.
- Czerpak, R., Piotrowska, A. and Szulecka, K. (2006) Jasmonic acid affects changes in the growth and some components content in alga *Chlorella vulgaris*. *Acta Physiologia Plantarum* 28: 195-203.
- Daneshmand, F. (2014) Response of antioxidant system of tomato to water deficit stress and its interaction with ascorbic acid. *Iranian Journal of Plant Biology* 6(19): 57-72.
- Dastmalchi, K., Dorman, H. G., Kosar, M. and Hiltunen, R. (2007) Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica*) extract. *Journal of Food Science and Technology* 40: 239-48.
- Ghasemi pirbeloti, A., Ashrafi, M., Rahim malek, M. and Hamed, B. (2012) The effect of jasmonic acid spraying on the percentages and essential oils of thyme. *Journal of Herbal Medications* 2: 75-80 (in Persian).
- Ghorbanpour, M. (2015) Major essential oil constituents, total phenolics and flavonoids content and antioxidant activity of *Salvia officinalis* plant in response to nano-titanium dioxide. *Indian Journal of Plant Physiology* 20(3): 249-256.
- Ghosh, P. K., Ajay, K. K., Manna, K. C., Mandal, A. K. and Hati. K. M. (2004) Comparative affective of cattle manure, poultry manure, phosocompost and fertilizer- NPK on three cropping system in vertisols of semi- arid tropics. Dry matter yield, nodulation, chlorophyll, Content and Enzyme Activity. *Bioresource Technology* 95: 85-93.
- Guo, Z., Ouw Lu, S. and Zhong, Q. (2006) Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry* 44: 828-836.
- Gupta, A. K., Singh, J., Kaur, N. and Singh, R. (1993) Effect of polyethylene glycol induced water stress on uptake introversion and transport of sugars in chickpea seedling. *Plant Physiology and Biochemistry* 31: 743-747.
- Haghighi, M. and Pesarakli, M. (2013) Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherrytomatoes (*Solanum lycopersicum*) at early growth stage. *Scientia Horticulturae* 161: 111-117 (in Persian).
- Hare, J. D. and Walling, L. L. (2006) Constitutive and jasmonate-inducible traits of *Datura wrightii*. *Journal of Chemical Ecology* 32: 29-45
- Hashemi Dezfoli, A., kocheiki, A. and Benaiean, M. (1993) Increasing the yield of crops. Publications University of Mashhad, Mashhad.
- Holy, M. C. (1972) Indole acetic acid oxidase: a dual catalytic enzyme. *Journal of Plant Physiology* 50: 15-18.
- Hong, F., Zhou, J., Liu, C., Yang, F., Wu, C., Zheng, L. and Yang, P. (2005) Effects of Nano TiO<sub>2</sub> on photochemical reaction of chloroplasts of Spinach. *Journal Biological Trace Element Research* 105: 269-279.
- Jiang, Y. and Huang, B. (2000) Effects of drought or heat stress alone and in combination on Kentucky bluegrass. *Crop Science* 40: 1358-1362.
- Jiang, Y. and Huang, N. (2001) Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science* 41: 436-442.

- Jung, S. (2004) Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. *Plant Physiology and Biochemistry* 42(3): 225-231.
- Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K. G. (2004) Improved growth and essential oil yield and quality in (*foeniculum vulgare* Mill.) on mycorrhizal inoculation supplemented with p-fertilizer. *Bioresource Technology* 93: 307-311.
- Kim, H. J., Chen, F., Wang, X. and Rajapakse, N. C. (2005) Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53: 3696-3701.
- Koo, A. J. K. and Howe, G. A. (2009) The wound hormone jasmonate. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 70: 1571-1580.
- Kovacik, J., Backor, M., Strnad, M. and Repečak, M. (2009) Salicylic acid induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Report* 28: 135-143.
- Kumari, G. J., Reddy, A. M., Naik, S. T., Kumar, S. G., Prasanthi, J., Sriranganayakulu, G., Reddy, P. C. and Sudhakar, C. (2006) Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings. *Biologia Plantarum* 50: 219-226.
- Lei, Z., Su, M. Y., Wu, X. C., Qu, C. X., Chen, L., Huang, H., Liu, X. Q. and Hong, F. S. (2008) Antioxidant stress is promoted by Nano-anatase in spinach chloroplasts under UV- Beta radiation. *Biological Trace Element Research* 121: 69-79.
- Liu, X., Feng, Z., Zhang, S., Zhang, J., Xiao, Q. and Wang, Y. (2006) Preparation and testing of cementing nano-sub nanocomposites of slower controlled release of fertilizers. *Scientia Agricultura Sinica* 39: 1598-604.
- Lu, C. M., Zhang, C. Y., Wu, J. Q. and Tao, M. X. (2002) Research of the effect of nanometer on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism. *Soybean Science* 21:168-172.
- Ma, X., Lee, J. G., Deng, Y. and Kolmakov, A. (2012) Interactions between engineered nanoparticles and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment* 408(16): 3053-3061.
- Martínez-Sánchez, F., Nunez, M., Amoros, A., Gimenez, J. L. and Alcaraz, C. F. (1993) Effect of titanium leaf spray treatments on ascorbic acid levels of *Capsicum annuum* L. fruits. *Journal of Plant Nutrition* 16(5): 975-981.
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Autolovich, M. and Robard, S. (2001) Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food and Chemical Toxicology* 73: 73-84.
- Memelink, J. (2009) Regulation of gene expression by jasmonate hormones. *Phytochemistry* 70: 1560-1570.
- Mingyu, S., Hong, F., Liu, C., Wu, X., Liu, X. and Chen, L. (2007) Effects of nano-anatase TiO<sub>2</sub> on absorption, distribution of light and photo reduction activities of chloroplast membrane of spinach. *Biological Trace Element Research* 118: 120-130.
- Moaveni, P., Lotfi, M., Aliabadi Farahani, H. and Maroufi, K. (2011a) Effect of spraying TiO<sub>2</sub> nano particles on some of physiological and chemical parameters in maize (*Zea mays*). *International Journal of Biological Sciences* 1(4): 63-67.
- Moaveni, P., Talebi, R., Farahani, H. A. and Maroufi, K. (2011b) Study of TiO<sub>2</sub> nanoparticles spraying effect on the some physiological parameters in barley (*Hordeum Vulgare* L.). *Advances in Environmental Biology* 5(7): 1663-1667.
- Moaveni, P., Valadabadi, S. A., Aliabadi Farahani, H. and Maroufi, K. (2011c).

- Nanoparticles TiO<sub>2</sub> spraying affected on calendula (*Calendula Officinalis*) under field condition. *Advances in Environmental Biology* 5(8): 2242-2244.
- Moghadam, E., Mahmoodi Sourestani, Z., Ramazani, M., Farrokhian Firoozi, Z. and Eskandari, F. (2016) Effects of iron foliar application on the number and size of glandular trichomes and essential oil content and composition of holy basil (*Ocimum sanctum* L.) at first and second harvests. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 32(1): 174-188.
- Monica, R. C. and Cremonini, R. (2009) Nanoparticles and higher plants. *Caryologia* 62(2): 161-165.
- Naderi, M., Danesh-Shahraki, A. and Naderi, R. (2013) The role of nanotechnology in improving the use efficiency of nutrients and chemical fertilizers. *Nanotechnol* 11(12): 16-32.
- Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y. and Kumar, D. S. (2010) Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science* 179: 154-163.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidases in spinach Chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22(5): 867-880.
- Niakan, M., Khavarynejad, R. A. and Rezaee, M. B. (2004) Effect of different rates of N/P/K fertilizer on leaf fresh weight, dry weight, leaf area and oil content in *Mentha piperita*. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research* 20(2): 131-148 (in Persian).
- Oloumi, H., Soltaninejad, R. and Baghizadeh, A. (2015) The comparative effects of nano and bulk size particles of CuO and ZnO on glycyrrhizin and phenolic compounds contents in *Glycyrrhiza glabra* seedlings. *Journal of Plant Physiology* 20: 157-161.
- Omidbaigi, R. (2005) Production and processing of medicinal plants. vol. 3. Astan Quds Razavi press, Mashhad.
- Omidbaigi, R. and Hasani, A. (2002) Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolic Occimum basilicom. *Journal of Agricultural Knowledge* 12(3): 47-59 (in Persian).
- Paquin, R. and Lechasseur, P. (1979) Observation sur une méthode dosage de la proline libérée dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany* 57(18): 1851-1854.
- 57: 1851-1854.
- Parra-Lobato, M. C., Fernandez-Garcia, N., Olmos, E., Alvares-Tinaut, M. and GomezJimenez, C. (2009) Methyl jasmonate-induced antioxidant defence in root apoplast from sunflower seedlings. *Environmental and Experimental Botany* 66: 9-17.
- Piekielek, W. P. and Fox, R. H. (1992) Use of a chlorophyll meter to predict sidedress nitrogen requirements for maize. *Agronomy Journal* 84: 59-65.
- Piotrowska, A., Bajguz, A. and Czerpak, R. (2009) Jasmonic acid modulator of lead toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 66: 507-513.
- Popova, L. P., Ananieva, E., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V. and Stoinova, Z. H. (2003) Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Journal of Plant Physiology* 133-152.
- Prochazka, S., Machaackova, I., Kreekule, J. and Sebanek, J. (1998) *Plant Physiology*. Academia, Praha.
- Rahman, A., Seth, D., Mukhopadhyaya, S. K., Brahmachary, R. L., Ulrichs, C. and Rao, P. B. (2009) Nanoparticle-virus complex shows enhanced immunological effect against baculovirus. *Journal of Nanoscience Nanotechnol* 9(9): 5567-5571.
- Reyes, L. and Cisneros-Zevallos, F. (2003) Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of

- purpleflesh potatoes. *Journal of Agronomy and Crop Science* 51: 5296-5300.
- Rezai, R., Hoseyni, S. M., Shabanali, H. and Safa, L. (2010) Identify and analyze the barriers to the development of nanotechnology in the agricultural sector from the perspective of researchers. *Journal of Science and Technology Policy in China* 2(1): 17-26.
- Rohwer, C. L. and Erwin, J. E. (2008) Horticultural applications of jasmonates. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 83: 283-304.
- Rombol, A. D., Gogorcena, Y., Larbi, A., Morales, F., Baldi, E., Marangoni, B., Tagliavini, M. and Abad, J. (2005) Iron deficiency-induced changes in carbon fixation and leaf elemental composition of sugar beet (*Beta vulgaris*) plants. *Plant and Soil* 271: 39-45.
- Sairam, R. K. and Saxena, D. C. (2000) Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science* 184: 55-61.
- Salehi, M. (2008) Pretreatment effect of nanosilver on germination and seedling growth of wheat under salt stress. 1<sup>st</sup> Iranian Congress in Seed Sciences and Technology, Gorgan, Iran.
- Salimi, F., Shekari, F. and Hamzeie, G. (2015) Effect of Methyl jasmonat salinity stress on some characteristics of *Matricaria chamomilla*. *College of Horticulture* 29(1): 87-94 (in Persian).
- Scrinis, G. and Lyons, K. (2007) The emerging nano-corporate paradigm: Nanotechnology and the transformation of nature, food and Agri-food systems. *International Journal of Agriculture and Food* 15(2): 22-44.
- Sefidkon, F. (2001) Evaluation of Qualitative and Quantitative essential oil fennel (*Foeniculum vulgare Mill*) in different stages of growth. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 7:85-104(in Persian).
- Sheraphti chaleshtari, F., Sheraphti chaleshtari, R. and Momeni, M. (2008) The antimicrobial effects of aqueous extract and ethanol plant *Scrophularia striata* on *E. coli* in Laboratory. *University of medical sciences shaher Kord* 10(4): 32-37 (in Persian).
- Silva M. A., Jifon, J. L., Silva, J. A. G. and Sharma, V. (2007) Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Journal of Plant Physiology* 19: 193-201.
- Sunkar, R. (2010) Plant stress tolerance methods and protocols, Humana Press, Oklahoma.
- Szepesi, A., Csiszar, J., Bajkan, S., Gemes, K., Horvath, F., Erdei, L., Deer, A. K., Simon, M. L. and Tari, I. (2005) Role of salicylic acid and jasmonic acid pre-treatments on the acclimation of tomato plants to salt and osmotic stress. *Acta Biologica Szegediensis* 49: 123-125.
- Urbanek, H., Kuzniak-Gebarowska, E. and Herka, K. (1991) Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polyglacturonase. *Acta Physiology Plant* 13: 43-50.
- Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y., Deng, X. P. and Kwak, S. (2009) Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 570-577.
- Wasternack, C. (2007) Jasmonates: An update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany* 74: 1090-1093.
- Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C. and Yang, P. (2006) Influence of nanoanatase TiO<sub>2</sub> on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research* 110(2): 179-190.
- Yu, X., Du, X. and Song, L. (2007) Effects of water stress on the growth and ecophysiology of seedlings of the *Rhus typhina*. *Science Silvge Sinicae* 43: 57-61.

- Zabet, M., Hosein zade, A. H., Ahmadi, A. and Khialparast, F. (2003) Effect of water stress on different traits and determination of the best water stress index in mung bean (*Vigna radiata*). Iranian Journal Agricultural. Science 34: 889-898.
- Zarafshar, M., Akbarinia, M., Askari, F., Hosseini, M. and Rahaie, M. (2015) The effect of the application of titanium dioxide nanoparticles under drought stress in *Pyrus biosseriana* buhse. Journal of Plant Ecosystem Conservation 3(6): 94-81 (in Persian).
- Zhang, L., Hong, F., Lu, S. and Liu, C. (2005) Effects of nano-TiO<sub>2</sub> on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. Biological Trace Element Research 105: 83-91.
- Zhang, Z. J., Zhou, W. J., Li, H. Z., Zhang, G. Q., Subrhamaniyan, K. and Yu, J. Q. (2006) Effect of jasmonic acid on in vitro explant growth and microtuberization in potato. Biologia Plantarum 50: 453-456.