

تأثیر محلول پاشی نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر صفات فیزیولوژیکی و میزان پارتنولید دو رقم بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium* Linn. cv. *Pharmasaat* and *Jelitto*)

سیده زهرا احمدی^۱، منصور قربانپور^{۲*}، جواد هادیان^۳، حسین صالحی ارجمند^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

۲- دانشیار گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

۳- دانشیار پژوهشکده گیاهان دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- استادیار گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

*آدرس مکاتبه: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه گیاهان دارویی

کد پستی: ۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹

تلفن: ۰۹۱۱۳۹۲۷۲۹۹

پست الکترونیک: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

تاریخ تصویب: ۹۶/۹/۲۲

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۷

چکیده

مقدمه: محرک‌های زیستی و غیرزیستی از طریق تأثیر بر برخی مکانیسم‌های درون گیاه باعث تولید متابولیت‌های ثانویه و تغییر در صفات فیزیولوژیکی گیاه می‌شوند.

هدف: این مطالعه با هدف بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر تغییرات فیزیولوژیکی و محتوای پارتنولید دو رقم بابونه کبیر انجام گرفت.

روش بررسی: این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. فاکتور اول دو رقم بابونه کبیر (*T. parthenium* Linn. cv. *Pharmasaat* و *T. parthenium* Linn. cv. *Jelitto*)، فاکتور دوم محلول پاشی با نانو کربن کروی در ۵ سطح (۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و فاکتور سوم محلول پاشی با اسید سالیسیلیک در دو سطح (۰ و ۰/۲ میلی‌مولار) بود.

نتایج: نتایج نشان داد که رقم، غلظت‌های مختلف نانو کربن کروی، غلظت‌های اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری بر برخی صفات مورد مطالعه داشتند. به طوری که دو رقم در میزان کلروفیل *a* و *b* و میزان پارتنولید، از نظر آماری در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری داشتند. همچنین، اثر غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک در میزان پارتنولید عصاره معنی‌دار شد ($P < 0/01$). لیکن، بیشترین میزان پارتنولید مربوط به رقم فارماسات (*Pharmasaat*) و غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بدون اسید سالیسیلیک به میزان ۲۹۰/۳۲ میکروگرم بر ۰/۱ گرم ماده خشک بود.

نتیجه‌گیری: محلول پاشی غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کربن کروی و ۰/۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک سبب بهبود صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمایی هر دو رقم بابونه کبیر شد.

کل واژگان: بابونه کبیر، نانو کربن، اسید سالیسیلیک، پارتنولید، صفات فیزیولوژیکی



مقدمه

بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium* L.) یکی از گیاهان دارویی مهم متعلق به خانواده کاسنی (Asteraceae)، گیاهی چند ساله که معمولاً در مکان‌های سایه و دارای رطوبت مشاهده می‌شود. این گونه در ایران در استان‌های تبریز، اردبیل، گرگان، مازندران، گیلان، تهران، کردستان، مرکزی، فارس، خراسان، سمنان و خوزستان می‌روید [۱،۲]. همچنین، بومی شبه جزیره بالکان بوده و در استرالیا، اروپا، چین، ژاپن و شمال آفریقا یافت می‌شود. بابونه کبیر در اواسط قرن ۱۹، به ایالات متحده معرفی شد. مواد مؤثره موجود در این گیاه باعث کاهش التهاب، کاهش ترشح هیستامین و کاهش فعالیت سلول‌های التهابی می‌شود. گزارش شده است که این گیاه حاوی تعداد زیادی ترکیبات طبیعی است، در حال حاضر اجزاء فعال شناخته شده آن شامل یک یا بیشتر لاکتون‌های سزکوبی تریپی از جمله پارتنولید است. پارتنولید در غدد سطحی برگ (۵/۰ - ۲/۰٪) یافت شده، که شامل ۸۵ درصد از محتوای تریپی کل است. پارتنولید همچنین موجب تقویت عضلات دیواره رگ‌ها شده و از تنگی و اسپاسم رگ‌های خونی در سر، که زمینه‌ساز میگرن است، می‌کاهد [۳].

امروزه به موازات پیشرفت فناوری‌ها، از فنون مختلفی جهت افزایش کمی و کیفی محصولات کشاورزی و گیاهان دارویی استفاده می‌شود. در این میان می‌توان به فناوری نانو، به منظور افزایش بهبود بهره‌وری کشاورزی اشاره کرد [۴]. نتایج تحقیقات حاکی از آن است که استفاده از نانو مواد در گیاهان دارویی باعث تغییر در کیفیت و کمیت مواد مؤثره می‌شود. اما ممکن است باعث بروز تنش اکسیداتیو در گیاه شود که به منظور کاهش اثر تنش از برخی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی استفاده می‌شود. در این بین اسید سالیسیلیک که یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی است با فعال کردن برخی آنزیم‌های کلیدی تحمل گیاه را به شرایط تنش افزایش می‌دهد [۵].

گزارش شده است که غلظت زیاد (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) گرافن (یکی از آلوتروپ‌های کربن)، رشد ریشه اسفناج قرمز و کلم را در مقایسه با شاهد کاهش داد [۶]. تجمع گرافن با

افزایش H_2O_2 همراه با علائم آسیب نکروتیک و افزایش نشت الکترولیت، از مکانیزم‌های اصلی تنش اکسیداتیو گزارش شده است [۶]. فولرین C_{60} (شکل دیگری از آلوتروپ کربن یا کربن آمورف) با مسدود کردن کانال منیزیم باعث کاهش مقدار این یون و به دنبال آن کاهش کلروفیل و فرآورده‌های فتوسنتزی در جلبک سبز شد [۷]. تیمار فلورول منجر به افزایش ۵۴ درصد عملکرد زیست توده، ۲۴ درصد محتوای نسبی آب، ۲۰ درصد طول میوه، ۵۹ درصد تعداد میوه، ۷۰ درصد وزن میوه و ۱۲۸ درصد عملکرد میوه در خربزه تلخ شد [۸]. همچنین، ۷۴ درصد محتوای Cucurbitacin-B و ۸۲ درصد محتوای لیکوپین، ۲۰ درصد محتوای Charantin و ۹۱ درصد محتوای انسولین را افزایش داد [۸]. در یک مطالعه Lahiani و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که نانو کربن تک جداره شیپوری شکل، در بیان برخی ژن‌ها که در پاسخ به تنش، پاسخ‌های سلولی و فرایندهای متابولیکی گوجه‌فرنگی نقش دارند، مؤثر بوده است [۹]. قربانپور و هادیان (۲۰۱۵) گزارش کردند که نانو لوله‌های کربنی چند دیواره عمدتاً به دلیل فعال کردن آنزیم‌های کلیدی خاص بویژه آنزیم فنیل آلانین‌آمونیلایز باعث افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مانند رزماریک اسید، کافئیک اسید و افزایش زیست توده مرزه خوزستانی در شرایط درون شیشه‌ای شد [۱۰]. در مطالعه اثر نانو لوله‌های کربنی چند دیواره بر صفات فیزیولوژیکی، ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم‌گلی ایرانی مشاهده شد که غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو لوله‌های کربنی چند دیواره عاملدار به همراه تنش خشکی ۵۰ درصد صفات مورد مطالعه را بهبود بخشید [۱۱].

رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی می‌تواند تحت تأثیر استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی تحت تأثیر قرار گیرد. نتایج مطالعه محققین در استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی حاکی از این است که محلول پاشی 10^{-5} مولار اسید سالیسیلیک اثرات مخرب نیکل روی رشد گیاه پروانش را کاهش می‌دهد و فرایندهای رشد را سرعت می‌بخشد [۱۲]. علاوه بر این، اسید سالیسیلیک محتوای



استفاده شده برای پژوهش ۲۰ سانتی‌متر که حاوی ۸ کیلوگرم بستر کشت بود. بستر آماده شده برای گلدان‌ها متشکل از خاک مزرعه، ماسه، کود دامی به نسبت ۱:۲:۷ بود.

برای تهیه استوک محلول نانو کربن کروی مقدار ۰/۰۴ گرم آن در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته به مدت ۳۰ دقیقه التراسونیک (حمام التراسونیک ۳ لیتری مدل DHWUCA03H ساخت ویتگ آلمان) انجام گرفت تا نانو کربن در آب کلوخه نشود و کامل پخش شود. سپس با آب مقطر به حجم ۴۰۰ میلی‌لیتر رسانده و غلظت‌های مختلف نانو کربن از محلول استوک تهیه گردید. اولین محلول پاشی غلظت‌های مختلف نانو کربن کروی ۲۵ روز پس از انتقال نشا به گلدان و دومین محلول پاشی دو هفته بعد انجام گرفت و در هر دو مرحله ۴۸ ساعت بعد از اعمال تیمار نانو کربن کروی، اسید سالیسیلیک محلول پاشی برگی شد. غلظت‌های نانو کربن کروی مورد استفاده برای این پژوهش عبارت بود از صفر، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و غلظت‌های اسید سالیسیلیک استفاده شده شامل صفر و ۰/۲ میلی‌مولار بود. برای تهیه محلول‌ها از آب دیونیزه استفاده شد. بذره‌های دو رقم ژلیتو (*Jelitto*) و فارماست (*Pharmasaat*) بایونه کبیر از پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهیه شد. نانو کربن کروی از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان (مشهد) جهت انجام آزمایش خریداری شد. ویژگی‌های اختصاصی نانو کربن کروی در جدول شماره ۱ آورده شده است. شکل شماره ۱ و ۲ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و عبوری (TEM) نانو کربن کروی مورد استفاده در این آزمایش را نشان می‌دهد.

اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی

محتوی نسبی آب برگ (*RWC: Relative Water Content*) نمونه‌برداری از آخرین برگ کاملاً توسعه یافته تمامی تیمارهای آزمایشی در ساعت ۸ صبح انجام و بلافاصله در آزمایشگاه وزن تر نمونه‌ها با ترازو به دقت ۰/۰۰۱ گرم

آلکالوئید کل را تحت شرایط طبیعی و نامساعد بهبود می‌بخشد. محلول پاشی برگی اسید سالیسیلیک به طور قابل توجهی محتوای آلکالوئیدهای ضد سرطان وین کریستین (با ۲۲/۲ درصد) و وینبلاستین (با ۵۰ درصد) در گیاهان تیمار شده با ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیکل را بهبود بخشید [۱۲]. کاربرد اسید سالیسیلیک و دمای زیاد در گیاه گل انگشتانه باعث افزایش پرولین، فنول کل و محتوای فلاونوئید شد. تیمار اسید سالیسیلیک باعث سنتز آنتی‌اکسیدان و کاردنولید شد که نقش مهمی در تحمل تنش دارد [۱۳]. همچنین مداح و همکاران (۱۳۸۵) گزارش کردند کاربرد محلول پاشی ۰/۷ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بر گیاه نخود به طور معنی‌داری صفات وزن صد غلاف، وزن صد دانه، مقدار پروتئین محلول و عملکرد بوته را افزایش داد [۱۴]. در بررسی اثر اسید سالیسیلیک بر عملکرد، اجزای عملکرد و اسانس گیاه سیاهدانه در شرایط تنش کم آبی مشخص شد عملکرد دانه و عملکرد اسانس با کاربرد ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب ۱۳ و ۱۱ درصد نسبت به تیمار صفر میلی‌مولار اسید سالیسیلیک افزایش پیدا کرد [۱۵]. با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با اثر تلفیقی نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر مراحل فیزیولوژی و متابولیسم ثانویه گیاه دارویی بایونه کبیر انجام نشده است و با توجه به اثرات مثبت نانو مواد کربنی بر متابولیت‌های ثانویه [۱۰، ۱۱]. این پژوهش با هدف بررسی اثر کاربرد محلول پاشی نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر صفات مورفو-فیزیولوژیک و متابولیتی دو رقم بایونه کبیر انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

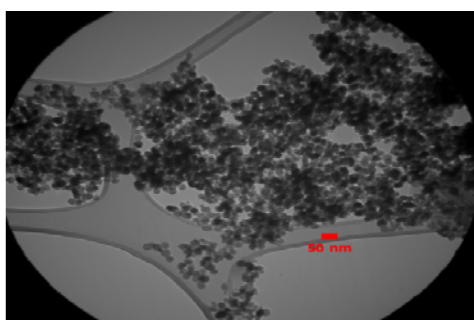
کشت و اعمال تیمارهای آزمایش

این آزمایش در سال ۹۵-۱۳۹۴ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه گروه گیاهان دارویی دانشگاه اراک اجرا شد. بذر دو رقم بایونه کبیر (*T. parthenium* L. cv. و *T. parthenium* L. cv. *Jelitto*) (*Pharmasaat*) برای تهیه نشا در شاسی گلخانه کاشته شد. بعد از ۶۵ روز از کاشت، نشاها به گلدان منتقل شدند. در هر گلدان دو نشا بایونه کبیر کاشته شد. قطر دهانه گلدان‌های

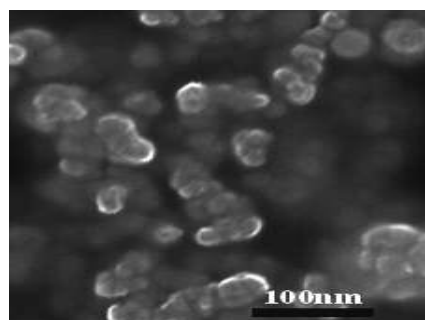


جدول شماره ۱- مشخصات نانو کربن کروی مورد استفاده در این مطالعه

شکل	رنگ	میزان بی رنگ شدن	خلوص	استریل	اندازه	H ₂ O	خاکستر	pH	چگالی واقعی	چگال انباشتگی
کروی	سیاه	%۹۹	بیشتر از %۹۵	با تابش کبالت-۶۰	۲۰-۴۰ نانومتر	%۵	%۲	۷-۱۰	۰/۴۴ گرم بر میلی لیتر	۰/۳۲ گرم بر میلی لیتر



شکل شماره ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)



شکل شماره ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

درب دار پلاستیکی حاوی آب مقطر قرار داده و در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی (EC₁) محلول اندازه گیری شد. پس از آن، به منظور بررسی نشت الکترولیت سلول های مرده لوله ها را در دستگاه بن ماری در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده و پس از سرد شدن لوله مجدداً هدایت الکتریکی محلول (EC₂) تعیین شد. درصد نشت الکترولیت از غشاءها بر اساس رابطه زیر محاسبه می شود [۱۷].

$$\text{EL}\% = (\text{EC}_1 / \text{EC}_2) \times 100 \quad \text{فرمول (۲)}$$

شاخص سبزینگی

شاخص سبزینگی برگ، یک شاخص عددی از میزان کلروفیل است که با استفاده از دستگاه SPAD (مدل: KONICA MINOLTA 502, JAPAN) اندازه گیری شد. به طور تصادفی از سه بخش مختلف برگ (جوان ترین برگ کاملاً توسعه یافته از نقطه رشد) میزان سبزینگی اندازه گیری و

اندازه گیری شد، سپس تمامی نمونه ها در آب مقطر قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. بعد از ۶ ساعت وزن اشباع برگ ها اندازه گیری و برگ ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد در آون قرار گرفته و وزن خشک هر کدام اندازه گیری شد. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین در فرمول زیر RWC به دست می آید [۱۶].

$$\text{RWC}\% = \frac{\text{FW} - \text{DW}}{\text{SW} - \text{DW}} \times 100 \quad \text{فرمول (۱)}$$

که در آن Fw وزن تر نمونه، Dw وزن خشک نمونه و Sw وزن آماس نمونه است.

محاسبه نشت الکترولیت (EL: Electrolyte leakage)

جهت برآورد پایداری غشاء سلولی در برگ، از اندازه گیری میزان نشت الکترولیت آنها استفاده می شود. به این منظور، از برگ های کامل توسعه یافته هر تیمار قطعات دایره ای یکسان تهیه شد. سپس قطعات برگ هر تیمار جداگانه داخل لوله



تعیین مقدار پارتنولید

از دستگاه کروماتوگرافی مایع Waters متشکل از یک واحد تفکیک گر Waters 2695 (USA) و یک جذب آشکارساز دوتایی Waters 2487 (USA) برای آنالیز HPLC استفاده شد. سرنگ تزریق نمونه بردار خودکار مجهز به یک حلقه ۱۰۰ میکرولیتری بود. اکتساب و یکپارچه سازی داده ها با نرم افزار Millennium 32 انجام گرفت. سنجش کروماتوگرافی در 25cm×4/6mm با یک پیش ستون Eurospher 100-5 C18، ستون تحلیلی ارائه شده توسط Knauer (برلین، آلمان) فاز معکوس ماتریکس (۵ میکرو متری) Waters و شستشو در سطح شیب دار بیرون سیستم با استونیتریل به عنوان فاز آلی (حلال A) و آب مقطر (حلال B) با سرعت جریان ۱ میلی لیتر بر دقیقه انجام گرفت. پیک در طول موج ۲۲۰ نانومتر زیر نظر قرار گرفت. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر و دما در ۲۵ درجه سانتی گراد نگه داشته شد. همه تزریق ها سه بار تکرار شد. سپس نمودار کالیبراسیون (شکل شماره ۳) بر اساس آنالیز رگرسیون خطی منطقه پیک غلظت های ۱، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر رسم شد. کروماتوگرام HPLC استاندارد پارتنولید و نمونه ها در شکل شماره ۴ نشان داده شده است.

تجزیه و تحلیل داده ها و محاسبات آماری

آزمایش بر اساس فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه فاکتور (۲ رقم، ۵ غلظت نانو کربن کروی و ۲ غلظت اسید سالیسیلیک) در ۳ تکرار انجام شد. محاسبات آماری داده های حاصل از آزمایش ها توسط نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد. از روش چند دامنه ای دانکن برای مقایسه میانگین استفاده شد. برای رسم نمودار از نرم افزار Excel سری ۲۰۰۷ استفاده شد.

میانگین این سه اندازه گیری ثبت شد. از هر گیاه سبزیگی سه برگ مشخص و میانگین سه برگ برای یک گیاه تعیین شد.

اندازه گیری رنگیزه های گیاهی (کلروفیل a و b و کارتنوئید)

میزان کلروفیل به روش آرنون و کارتنوئید به روش لیتچندرال و ولبرن محاسبه گردید [۱۸، ۱۹]. به این منظور ۰/۵ گرم از نمونه تر برگس از توزین در یک هاون چینی با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد عصاره گیری شد. سپس عصاره به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانترفیوژ شد. ۳ میلی لیتر از محلول رویی داخل کوت اسپکتروفوتومتر (اسپکتروفوتومتر مدل speco200 ساخت شرکت Analyticjena آلمان) ریخته و جذب نوری کلروفیل a و b و کارتنوئیدها به ترتیب در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. با استفاده از فرمول های زیر غلظت کلروفیل a و b و کارتنوئید (گزانتوفیل و کاروتن) برحسب میلی گرم بر گرم برگ تازه محاسبه شد [۱۸، ۱۹].

فرمول (۳) $Chlorophyll\ a = 12/9 (A663) - 2/9 (A645)$

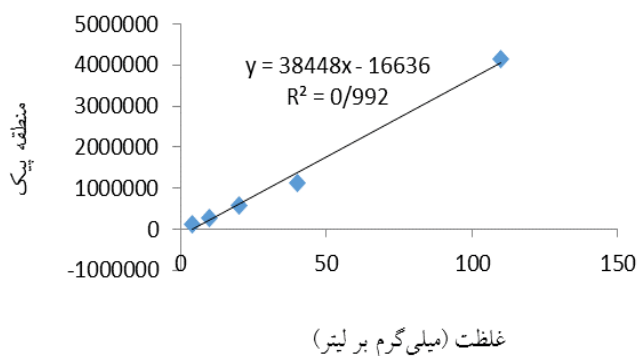
فرمول (۴) $Chlorophyll\ b = 22/9 (A645) - 4/68 (A663)$

فرمول (۵) $Cx+c = (1000 (A470) - 3/27 \times Chl\ a - 104 (chl\ b)) / 229$

استخراج و سنجش پارتنولید

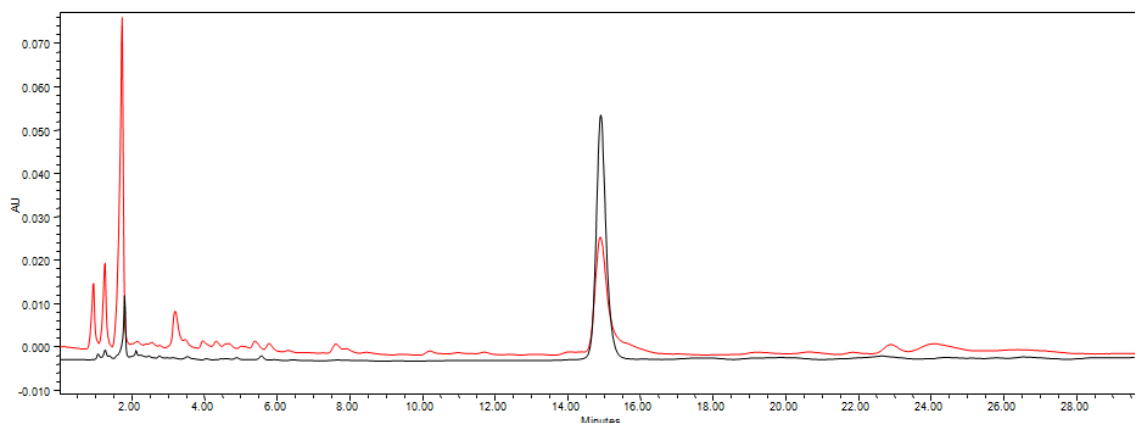
به منظور تهیه عصاره جهت ارزیابی میزان پارتنولید، ۱۰۰ میلی گرم برگ و گل پودر شده را در ۱۰ میلی لیتر حلال استونیتریل رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱:۹ مخلوط نموده سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه التراسونیک قرار داده شد. سپس به مدت ۱۲ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه عصاره سانترفیوژ شد. ۱/۵ میلی لیتر از محلول رویی را در ویال مخصوص HPLC ریخته تا با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا میزان پارتنولید آن مشخص شود [۲۰].





شکل شماره ۳- منحنی کالیبراسیون پارتولید

Standard + Sample UV 220 nm



شکل شماره ۴- کروماتوگرام HPLC استاندارد پارتولید و نمونه‌ها

بیشترین شاخص سبزیگی (۳۹/۶۵) در میان غلظت‌های اسید سالیسیلیک مربوط به غلظت صفر این تیمار بود.

نتایج

شاخص سبزیگی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول شماره ۲) صفت شاخص سبزیگی تنها در میان غلظت‌های اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح ۱٪ داشت و رقم، غلظت‌های نانو کربن کروی، اثر متقابل رقم و غلظت‌های نانو کربن کروی، اثر متقابل رقم و غلظت‌های اسید سالیسیلیک، اثر متقابل غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک و اثر متقابل رقم، غلظت‌های اسید سالیسیلیک از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان نداد. با توجه به مقایسه میانگین‌ها (جدول شماره ۳)

نشت الکترولیت

بر اساس جدول شماره ۲ صفت نشت یونی در رقم و اثر متقابل رقم و غلظت‌های نانو کربن کروی به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ و در غلظت‌های نانو کربن کروی تفاوت در سطح ۱٪ داشت و در غلظت‌های اسید سالیسیلیک، اثر متقابل رقم و غلظت‌های اسید سالیسیلیک، اثر متقابل غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک و اثر



۶۶/۵ میلی‌موس بر سانتی‌متر بود. در تیمار اثر متقابل رقم و غلظت‌های نانو کربن کروی بر صفت نش‌یونی کمترین میزان این شاخص (۵۸/۶۴) میلی‌موس بر سانتی‌متر) مربوط به رقم فارماست (Pharmasaat) و غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کربن کروی می‌باشد.

متقابل رقم، غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک از نظر آماری تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. با توجه به جدول شماره ۳ در میان دو رقم بابونه کبیر کمترین نش‌یونی مربوط به رقم فارماست (Pharmasaat) به میزان ۷۴/۳۳ میلی‌موس بر سانتی‌متر بود. در میان غلظت‌های نانو کربن کروی کمترین نش‌یونی مربوط به غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به میزان

جدول شماره ۲- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک دو رقم بابونه کبیر تحت تیمار غلظت‌های مختلف نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک

میانگین مربعات				درجه		منابع تغییرات
کارتونوید	کلرفیل b	کلرفیل a	محتوی نسبی آب	نش‌یونی	شاخص سبزی‌نگی	
۹/۷۸ ^{ns}	۶۵۴/۶ ^{**}	۳۸۳۴/۴۸ ^{**}	۰/۰۵۴ ^{**}	۳۸۲/۵۹ [*]	۳۱/۱۰ ^{ns}	رقم (C)
۲۴/۲ ^{ns}	۸۷/۴۷ ^{ns}	۵۵۰/۱۴ ^{ns}	۰/۰۱۰۷ ^{ns}	۵۶۰/۲۲ ^{**}	۳۸/۹۱ ^{ns}	نانوکربن کروی (N)
۱۰/۱۳ ^{ns}	۲/۹۴ ^{ns}	۱۱/۵۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۲۳۴/۷۱ ^{ns}	۲۹۲/۱۶ ^{**}	سالیسیلیک اسید (S)
۴/۲ ^{ns}	۱۲۶/۳۱ ^{ns}	۱۲۱/۳۴ ^{ns}	۰/۰۰۱۸ ^{ns}	۲۲۹/۴۸ [*]	۱۰/۶۹ ^{ns}	C×N
۹/۰۱ ^{ns}	۵۱/۴۹ ^{ns}	۳۷۸/۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۱۸۲/۳۹ ^{ns}	۱۵/۸۱ ^{ns}	C×S
۲۷/۵۶ [*]	۱۲۳/۹۹ [*]	۸۰۲/۶۵ [*]	۰/۰۰۱۶ ^{ns}	۱۲۹/۴۸ ^{ns}	۲۷/۳۵ ^{ns}	N×S
۱۰/۸۱ ^{ns}	۶۴/۲۴ ^{ns}	۴۹۸/۸۱ ^{ns}	۰/۰۰۲۵ ^{ns}	۴۹/۷۷ ^{ns}	۲۱/۵۹ ^{ns}	C×N×S
۹/۷۲	۳۶/۳۲	۲۶۶/۰۲	۰/۰۰۵۳	۸۶/۶۸	۲۷/۸۰	خطای آزمایش
۱۵/۶۰	۲۸/۱۰	۲۸/۲۲	۲۴	۱۲/۱۱	۱۴/۰۸	ضریب تغییرات

*، *، * معنی‌دار در سطح ۱٪، *، * معنی‌دار در سطح ۵٪، ns عدم معنی‌داری از لحاظ آماری

جدول شماره ۳- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک دو رقم بابونه کبیر تحت تیمار غلظت‌های نانو کربن کروی و سالیسیلیک اسید به روش دانکن در

سطح احتمال ۵٪

کارتونوید	کلروفیل b	کلروفیل a	محتوی نسبی آب	نش‌یونی (میلی)	شاخص سبزی‌نگی	تیمار
(میلی‌گرم در گرم)	(میلی‌گرم در گرم)	(میلی‌گرم در گرم)	(٪)	(موس بر سانتی‌متر)		
۱۹/۵۸ ^a	۱۸/۱۴ ^b	۴۹/۸۱ ^b	۰/۳۳ ^a	۷۹/۳۸ ^a	۳۸/۱۶ ^a	ژلیتو
۲۰/۳۹ ^a	۲۴/۷۵ ^a	۶۵/۸ ^a	۰/۲۷ ^b	۷۴/۳۳ ^b	۳۶/۷۲ ^a	رقم فارماست
۱۸/۱ ^b	۱۸/۸۱ ^b	۵۱/۹۷ ^a	۰/۳۵ ^a	۷۹/۴۱ ^b	۳۷/۶۳ ^a	۰
۱۹/۹۱ ^{ab}	۲۰/۶۸ ^{ab}	۵۵/۴۴ ^a	۰/۲۶ ^a	۸۳/۷۸ ^a	۳۵/۸۵ ^a	۱۲۵
۲۰/۷۶ ^{ab}	۲۳/۹۴ ^{ab}	۶۳/۶۴ ^a	۰/۳۲ ^a	۸۰/۸ ^{ab}	۴۰/۱ ^a	۲۵۰
۱۹/۳۴ ^{ab}	۱۹/۱۶ ^b	۵۱/۶۷ ^a	۰/۳ ^a	۶۶/۵ ^c	۳۷/۹۳ ^a	۵۰۰
۲۱/۸۳ ^a	۲۴/۶۳ ^a	۶۶/۲۹ ^a	۰/۳ ^a	۷۳/۷۸ ^{bc}	۳۵/۶۸ ^a	۱۰۰۰
۲۰/۳۹ ^a	۲۱/۶۷ ^a	۵۸/۲۴ ^a	۰/۳۱ ^a	۷۸/۸۳ ^a	۳۹/۶۵ ^a	۰
۱۹/۵۷ ^a	۲۱/۲۲ ^a	۵۷/۳۶ ^a	۰/۳ ^a	۷۴/۸۸ ^a	۳۵/۲۳ ^b	۰/۲

در هر ستون حروف مشترک عدم معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ را نشان می‌دهد.



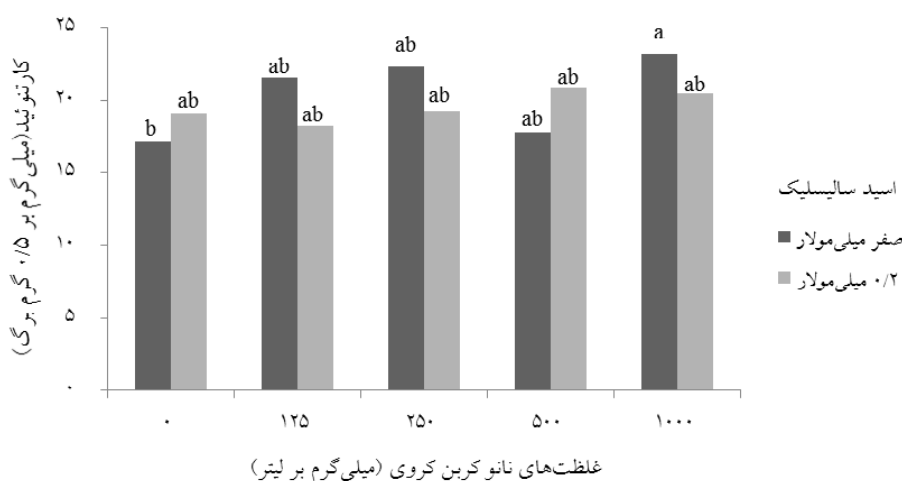
محتوی نسبی آب برگ

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول شماره ۲) صفت محتوی نسبی آب تنها در میان رقم از نظر آماری تفاوت معنی داری در سطح ۱٪ داشت ولی در غلظت‌های نانو کربن کروی، غلظت‌های اسید سالیسیلیک، اثر متقابل رقم و غلظت‌های نانو کربن کروی، اثر متقابل رقم و غلظت‌های اسید سالیسیلیک، اثر متقابل غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک و اثر متقابل رقم، غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک به لحاظ آماری معنی دار نبود. با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول شماره ۳) بیشترین محتوی نسبی آب برگ در رقم ژلیتو (*Jelitto*) به مقدار ۳۳٪ برآورد شد.

رنگی‌های فتوسنتزی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول شماره ۲)، صفات کلروفیل *a* و کلروفیل *b* در رقم از نظر آماری تفاوت معنی داری در سطح ۱٪ و رنگی‌ه کاتنویید و کلروفیل *a* و *b* در اثر متقابل غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک در سطح ۵٪ داشت. اما در غلظت‌های نانو کربن کروی، غلظت‌های اسید سالیسیلیک، اثر متقابل رقم و غلظت‌های نانو کربن کروی، اثر متقابل رقم و غلظت‌های اسید سالیسیلیک و اثر

متقابل رقم، غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک تفاوت معنی داری نداشت. با توجه به نتایج مقایسه میانگین (جدول شماره ۳) بیشترین کلروفیل *a* در رقم فارماست (*Pharmasaat*) به مقدار ۶۵/۸۰ میلی‌گرم بر ۰/۵ گرم برگ بود. در اثر متقابل غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر صفت کلروفیل *a* بیشترین مقدار مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کربن کروی و صفر میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با ۷۶/۶۳ میلی‌گرم بر ۰/۵ گرم برگ بود. همچنین، بیشترین میزان کلروفیل *b* در رقم فارماست (*Pharmasaat*) به مقدار ۲۴/۷۵ میلی‌گرم بر ۰/۵ گرم برگ بود. در اثر متقابل غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر صفت کلروفیل *b* بیشترین مقدار این صفت مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کربن کروی و غلظت صفر میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به میزان ۲۹/۲۲ میلی‌گرم بر ۰/۵ گرم برگ مشاهده شد. در اثر متقابل غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر صفت کارتنویید (شکل شماره ۵) بیشترین مقدار مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کربن کروی و صفر میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به میزان ۲۳/۱۹ میلی‌گرم بر ۰/۵ گرم برگ بود.



شکل شماره ۵- اثر متقابل غلظت‌های مختلف نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر صفت کارتنویید برگ هر بوته بایونه کبیر



پارتنولید عصاره گل و برگ
 بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول شماره ۴)
 پارتنولید عصاره گل و برگ در رقم، غلظت‌های نانو کربن
 کروی، غلظت‌های اسید سالیسیلیک، اثر متقابل رقم و
 غلظت‌های نانو کربن، اثر متقابل رقم و غلظت‌های اسید
 سالیسیلیک، اثر متقابل غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید
 سالیسیلیک و اثر متقابل رقم، غلظت‌های نانو کربن کروی و

اسید سالیسیلیک از نظر آماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. با
 توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول شماره ۵) بیشترین
 پارتنولید گل و برگ در میان ارقام مربوط به رقم فارماست
 (*Pharmasaat*) با ۱۵۲/۶ میکروگرم بر ۰/۱ گرم بود. در میان
 غلظت‌های نانو کربن کروی بیشترین پارتنولید گل و برگ
 مربوط به غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با مقدار ۱۶۳/۴ میکروگرم
 بر ۰/۱ گرم است. در میان غلظت‌های اسید سالیسیلیک بیشترین

جدول شماره ۴- تجزیه واریانس میزان پارتنولید دو رقم بابونه کبیر تحت تیمار غلظت‌های مختلف نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک

میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
پارتنولید		
۲۳۱۷۳۲/۶**	۱	رقم (C)
۲۸۹۴۰/۸۷**	۴	نانوکربن (N)
۰/۰۳**	۱	سالیسیلیک اسید (S)
۲۰۹۲۱/۰۷**	۴	C×N
۳۷۸۸/۴۷**	۱	C×S
۱۳۰۹۶/۵۵**	۴	N×S
۱۱۵۷۵/۱۳**	۴	C×N×S
۰/۰۰۰۰۱	۴۰	خطای آزمایش
۰/۰۰۰۰۶		ضریب تغییرات

**، معنی داری در سطح ۱٪، *، معنی داری در سطح ۵٪، ns، عدم معنی داری از لحاظ آماری

جدول شماره ۵- مقایسه میانگین میزان پارتنولید دو رقم بابونه کبیر تحت تیمار غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک به روش دانکن در سطح احتمال ۵٪

پارتنولید (میکروگرم بر ۰/۱ گرم)	تیمار	رقم
۲۸/۳ ^b	ژلیتو	
۱۵۲/۶ ^a	فارماست	
۲۵/۳ ^c	۰	
۹۴/۲ ^b	۱۲۵	نانوکربن (میلی‌گرم بر لیتر)
۸۶/۶ ^c	۲۵۰	
۱۶۳/۴ ^a	۵۰۰	
۸۲/۶ ^d	۱۰۰۰	
۹۰/۴۲ ^b	۰	اسید سالیسیلیک
۹۰/۴۶ ^a	۰/۲	(میلی‌مولار)

در هر ستون حروف مشترک عدم معنی داری در سطح احتمال ۵٪ را نشان می‌دهد.

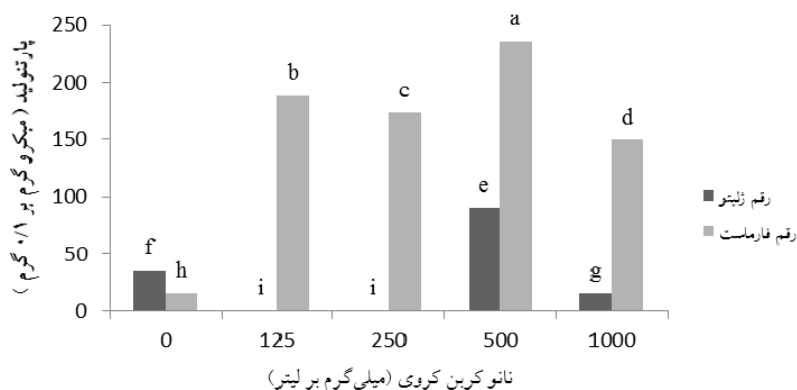


غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کربن و غلظت صفر میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با ۱۹۵/۹۷ میکروگرم بر ۰/۱ گرم بود. در اثر متقابل رقم، غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر پارتنولید برگ و گل (شکل شماره ۹) بیشترین میزان پارتنولید (۲۹۰/۳۲ میکروگرم بر ۰/۱ گرم) مربوط به رقم فارماست (Pharmasaat)، غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کربن کروی و غلظت صفر میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بود. دو نمونه از کروماتوگرام HPLC عصاره برگ رقم فارماست (Pharmasaat) در تیمار نانو کربن کروی (۱۲۵ میلی‌گرم در گرم) بدون اسید سالیسیلیک و رقم ژلیتو (Jelitto) در تیمار نانو کربن کروی (۵۰۰ میلی‌گرم در گرم) و غلظت ۰/۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در شکل شماره ۱۰ نشان داده شده است.

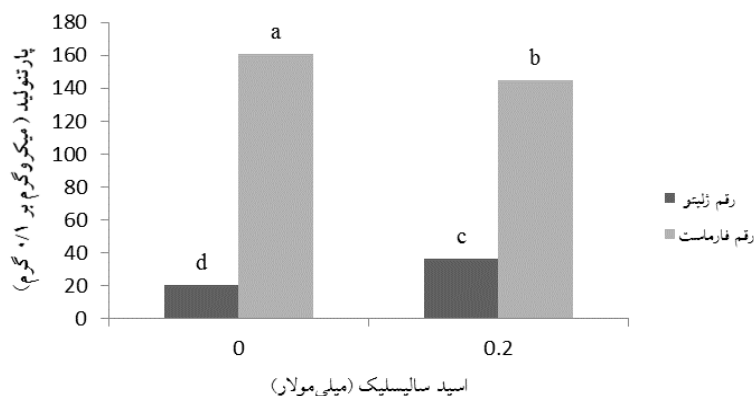
پارتنولید گل و برگ مربوط به غلظت ۰/۲ میلی‌مولار با ۹۰/۴۶ میکروگرم بر ۰/۱ گرم بود. در اثر متقابل رقم و غلظت‌های نانو کربن کروی بر پارتنولید گل و برگ هر بوته (شکل شماره ۶) بیشترین مقدار پارتنولید مربوط به گیاه حاصل از رقم فارماست (Pharmasaat) و غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کربن کروی با ۲۳۶/۰۹ میکروگرم بر ۰/۱ گرم است.

در اثر متقابل رقم و غلظت‌های اسید سالیسیلیک بر پارتنولید عصاره گل و برگ (شکل شماره ۷) بیشترین میزان پارتنولید (۱۶۰/۵۱ میکروگرم بر ۰/۱ گرم) مربوط به گیاه رقم فارماست (Pharmasaat) و غلظت صفر میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بود.

اثر متقابل غلظت‌های مختلف نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر پارتنولید گل و برگ گیاه بابونه کبیر در شکل شماره ۸ نشان داده شده است. به طوریکه بیشترین پارتنولید مربوط به

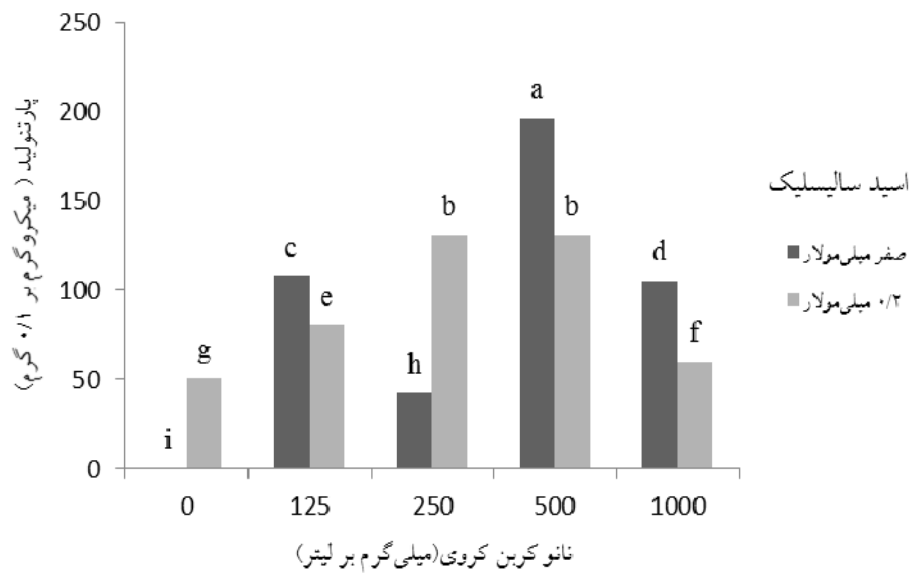


شکل شماره ۶- اثر متقابل رقم و غلظت‌های مختلف نانو کربن کروی بر پارتنولید عصاره گل و برگ هر بوته بابونه کبیر

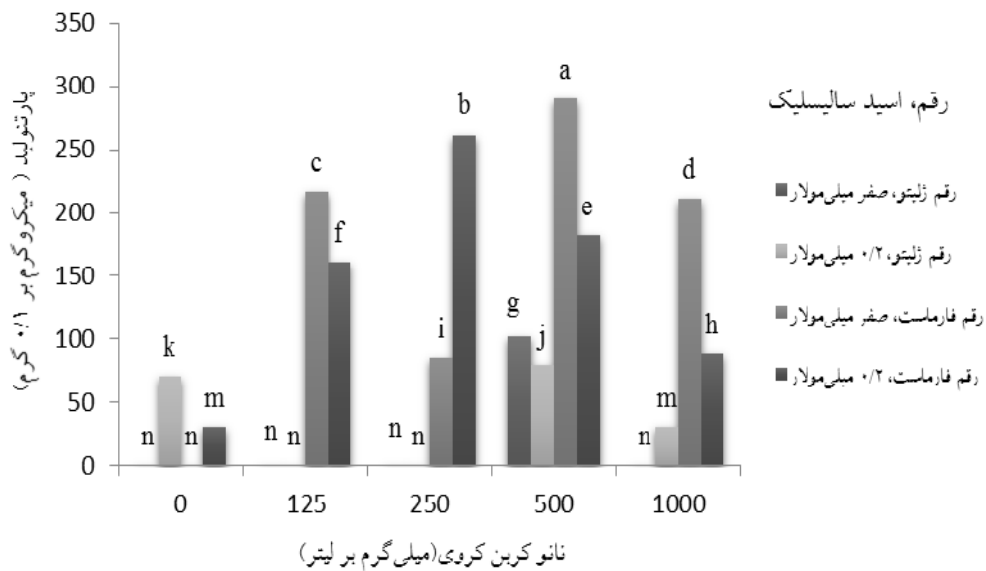


شکل شماره ۷- اثر متقابل رقم و غلظت‌های اسید سالیسیلیک بر پارتنولید عصاره گل و برگ هر بوته بابونه کبیر

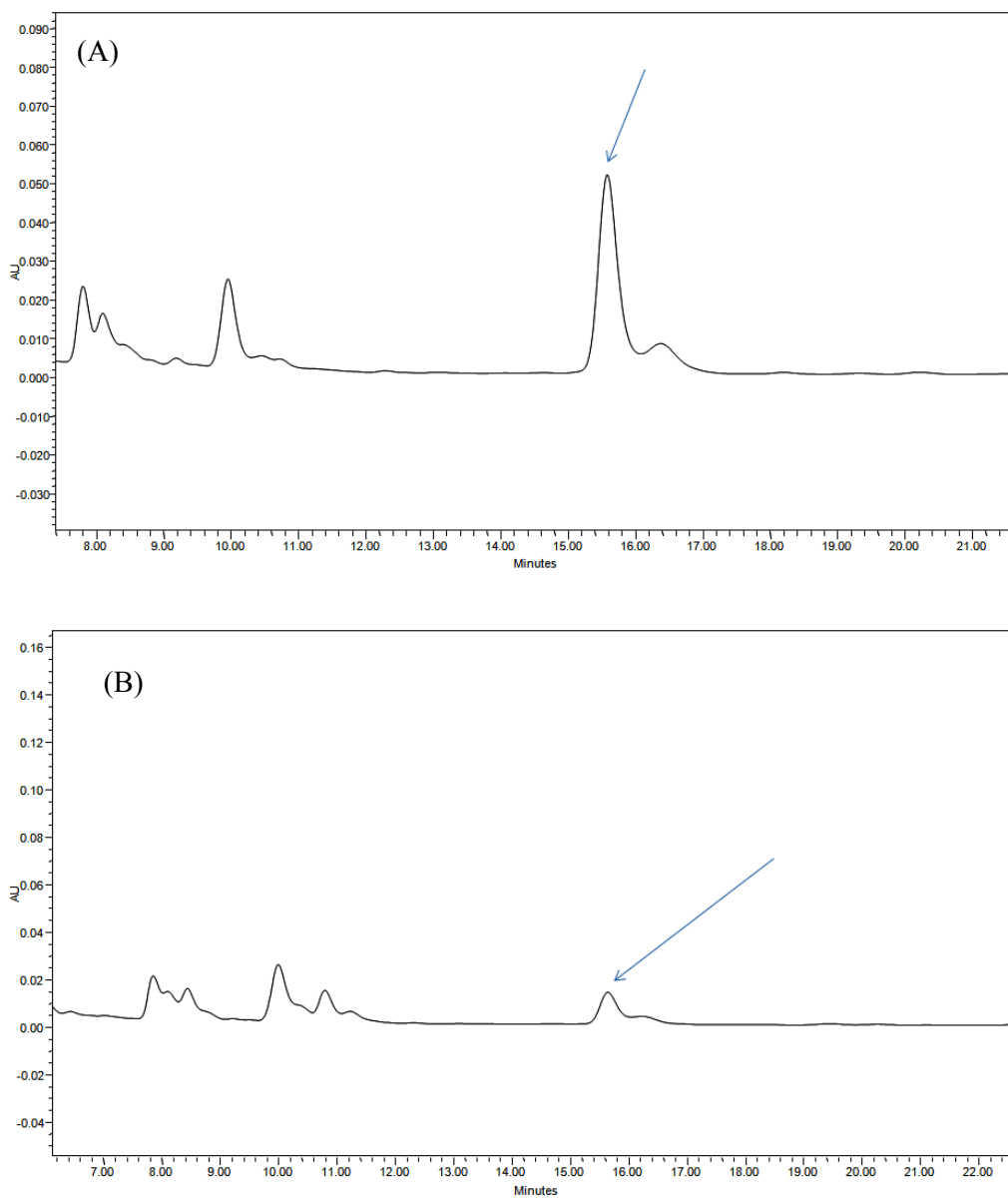




شکل شماره ۸- اثر متقابل غلظت‌های نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر پارتنولید گل و برگ هر بوته بابونه کبیر



شکل شماره ۹- اثر متقابل رقم، غلظت‌های مختلف نانو کربن کروی و اسید سالیسیلیک بر پارتنولید عصاره برگ و گل هر بوته بابونه کبیر



شکل شماره ۱۰- (A) کروماتوگرام HPLC عصاره برگ رقم فارماست (*Pharmasaat*) در تیمار نانو کربن کروی (۱۲۵ میلی گرم در گرم) بدون اسید سالیسیلیک. (B) رقم ژلیتو (*Jelitto*) در تیمار نانو کربن کروی (۵۰۰ میلی گرم در گرم) و غلظت ۰/۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک. پیکان آبی معرف پیک مربوط به پانتولید است.

بحث

رنگیزه‌های فتوسنتزی در رقم فارماست (*Pharmasaat*) بیشتر می‌باشد که این اختلاف بین دو رقم مربوط می‌تواند به دلیل تفاوت ژنتیکی آنها باشد. در میان غلظت‌های نانو کربن کروی غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر آن توانسته نشت یونی را

نتایج بررسی صفات فیزیولوژی دو رقم بابونه کبیر نشان داد که محتوای نسبی آب برگ حاصل از رقم ژلیتو (*Jelitto*) بیشتر است اما در دیگر صفات مانند میزان نشت یونی و



رسیده باشد، می‌توان با کنترل عوامل محیطی و کاربرد عوامل خارجی به این امر دست یافت [۲۳]. غریب (۲۰۰۷)، اثر اسید سالیسیلیک را بر دو گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) و مرزنجوش (*Origanum vulgare L.*) مورد مطالعه قرار داد و طبق نتایج افزایش ارتفاع گیاه، تعداد شاخه، گره و برگ در بوته، سطح برگ، وزن خشک و تر و کربوهیدرات کل در غلظت 10^{-4} مولار اسیدسالیسیلیک حاصل شد [۲۴]. همچنین کاربرد اسیدسالیسیلیک در غلظت 10^{-4} مولار باعث افزایش کمیت و کیفیت اسانس ریحان و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شد. در تحقیقی علی و همکاران (۲۰۰۷)، اثر اسید سالیسیلیک (۲۰۰ میکرومولار)، در گیاه جینسینگ (*Panax ginseng*) را بررسی کردند، طبق نتایج افزایش ترکیبات فنلی (۶۲ درصد)، فلاونوئیدها (۸۸ درصد)، اسید آسکوربیک (۵۵ درصد) و سیستئین (۶۲ درصد)، را در مقایسه با شاهد گزارش کردند [۲۳]. افزایش میزان اسانس در اثر محلول پاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک ممکن است در اثر افزایش رشد رویشی، جذب مواد غذایی بیشتر توسط ریشه‌ها به دلیل افزایش فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه و همچنین تغییر در جمعیت غده‌های تولید کننده اسانس در برگ و گل‌ها باشد [۲۴]. همچنین گزارش شده است که غلظت 10^{-2} مولار اسید سالیسیلیک با تحریک چرخه‌های فیزیولوژیکی گیاه و نیز تغییر در جمعیت غده‌های تولیدکننده اسانس نسبت به دیگر تیمارها، مواد اولیه تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش داده و باعث افزایش تولید اسانس در گیاه دارویی بادرنجبویه شده است. صمدی و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارش نمودند که با افزایش سطح اسید سالیسیلیک مورد استفاده، ترکیبات فنیل پروپانوییدی و فنلی در گیاه دارویی کنگر فرنگی افزایش یافت، که علت آن را تاثیر اسید سالیسیلیک بر آنزیم کلیدی فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL) مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت این آنزیم ذکر نمودند [۲۵]. تغییرات بیوشیمیایی در رابطه با متابولیسم القاء شده، سیستم‌های مختلفی را در گیاه درگیر کرده و باعث القاء فعالیت آنزیم‌های ویژه و بروز تغییرات بیوشیمیایی وسیعی در سلول‌های تحریک شده می‌شود. آنچه مشخص است ایستورها (محرک‌ها) از طریق گیرنده‌های موجود در غشای

در بوته‌های بابونه به میزان ۱۶/۳ درصد نسبت به شاهد کاهش دهد. یکی از علائم ایجاد سمیت نانو مواد بر پایه کربن افزایش نشت یونی که به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد و اکسیژن فعال است که باعث تخریب غشاء سلولی و نشت یون به فضای بین سلولی می‌شوند [۲۲]. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت این غلظت برای گیاه بابونه کبیر سمیت ایجاد نکرده و باعث تخریب غشا سلول نشده است.

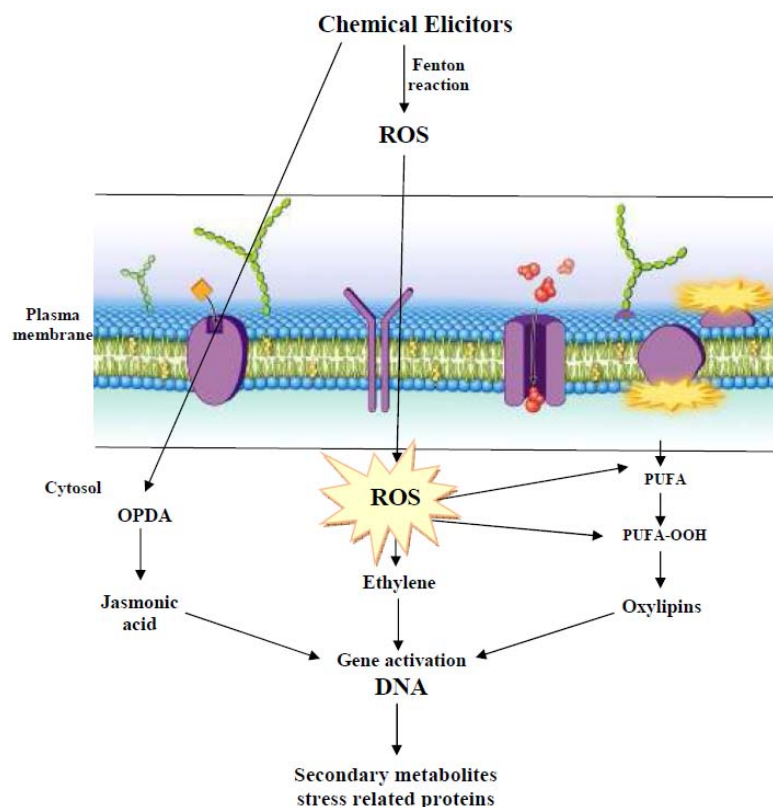
در بررسی رنگیزه‌های فتوسنتزی، غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم برلیتر نانو کربن کروی توانسته میزان کلروفیل b را ۲۳/۶٪ و کارتنوئید را ۱۷/۱٪ نسبت به شاهد افزایش دهد. نتایج این پژوهش با مطالعه Tao و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت ندارد [۷]. زیرا نانو کربن کروی مورد آزمایش در پژوهش آنها اندازه بیشتری داشت و کانال‌های انتقال منیزیم را مسدود نمود و در نتیجه باعث کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شد.

با توجه به نتایج این مطالعه تفاوت در میزان اسانس و پارتولید عصاره برگ و گل، در دو رقم بابونه کبیر می‌تواند مربوط به تفاوت ژنتیکی آنها باشد. نانو کربن کروی باعث افزایش ۸۴/۵٪ پارتولید در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد شد. نانو مواد می‌توانند در بیان برخی ژن‌ها که باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه می‌شوند نقش تحریک‌کننده داشته باشند [۹]. نتایج این بخش از آزمایش با نتایج مطالعه قربانپور و هادیان (۲۰۱۵) که گزارش کردند کاربرد نانو لوله‌های کربنی چند جداره باعث افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه شامل رزماریک اسید و کافئیک اسید در مرزه خوزستانی شده است مطابقت دارد. تیمار با ۰/۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک باعث افزایش ۰/۰۴٪ پارتولید نسبت به شاهد شد. اسید سالیسیلیک یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی است که کاربرد آن در سطوح کم با تاثیر بر برخی آنزیم‌های کلیدی باعث افزایش مواد مؤثره گیاهی می‌شود [۱۲]. نتایج این تحقیق با نتایج Cingoz و Gurel (۲۰۱۶) که گزارش کردند. تیمار اسید سالیسیلیک باعث سنتز آنتی‌اکسیدان و کاردنولید در گل انگشتانه شد مطابقت دارد.

با توجه به این که محصول زراعی یک گیاه دارویی زمانی از نظر اقتصادی مقرون به صرفه خواهد بود که در کنار افزایش زیست توده، میزان متابولیت‌های ثانویه آن نیز به حد مطلوب

بنابراین تیمار سلول‌ها با الیستورهای شیمیایی (از قبیل نانو ذرات، هورمون‌ها، عناصر سنگین و ...) تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد، به نظر می‌رسد ROS ها که در مدت مواجهه با این مواد تولید می‌شوند، موجب پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند و تشکیل ترکیبات پیام‌رسان فعال را به شدت القا می‌کنند (شکل شماره ۱۱). پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع شده (PUFA) در لیپیدهای غشایی در نتیجه واکنش‌های غیر آنزیمی شروع شده توسط ROS یا واکنش‌های آنزیمی کاتالیز شده بوسیله آلفا-دی لیپین‌ها (اسیدهای چرب اکسیژنه شده) منتهی می‌شوند که موجب تولید مولکول‌های پیام‌رسان فعال خواهند شد که در پاسخ‌های دفاعی گیاه شرکت

پلاسمایی دریافت می‌شوند و از طریق سیستم پیام‌رسانی نسخه برداری و بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز متابولیت‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در واقع اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم PAL و نیز چالکون سینتاز (CHS) دو آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی باعث افزایش این ترکیبات می‌شود. آنزیم PAL یک آنزیم کلیدی در سوخت و ساز فنیل پروپانوئید بوده و تشکیل ترانس اسید سینامیک را از طریق دی آمینه کردن فنیل آلانین کاتالیز می‌کند. این آنزیم با تنش‌های مختلف زنده و غیر زنده تحریک می‌شود که نتیجه آن تجمع فنیل پروپانوئیدهای از جمله ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها می‌باشد. اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم PAL که تجمع مواد فنلی را به همراه دارد سبب از بین بردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از اثر سوء آنها در تخریب غشاء سلولی می‌شود [۲۶].



شکل شماره ۱۱- تصویر شماتیک از مکانیسم اثر الیستورهای شیمیایی بر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان [۲۷]

آزمایشی تغییرات معنی داری داشتند. به طوریکه رقم فارماست در همه صفات بجز نشت یونی و محتوی نسبی آب برگ میزان بالاتری از رقم ژلیتو در تیمارهای آزمایشی از خود نشان داد. همچنین، نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد نانو کربن کروی (۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) و عدم استفاده از اسید سالیسیلیک در گیاه دارویی بابونه کبیر رقم فارماست تاثیر مثبتی بر صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی داشت. همچنین، بیشترین میزان پارتنولید، در رقم فارماست، تحت تیمار نانو کربن کروی (۵۰۰ میلی گرم بر لیتر) و اسید سالیسیلیک (۰/۲ میلی مولار) حاصل شد. مطابق نتایج این تحقیق، نانوکربن کروی با غلظت‌های به کار برده شده اثر منفی بر صفات فیزیولوژیکی و میزان پارتنولید روی دو رقم گیاه بابونه کبیر نداشت.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه اراک بخاطر حمایت در اجرای این تحقیق (در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد) تقدیر و تشکر می‌گردد.

می‌کنند و همچنین بیان ژن‌های درگیر در بیوستنز و تجمع متابولیت‌های ثانویه را القا می‌کنند. یک مدل در ارتباط با نقش مسیر پیام‌رسانی در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه که بوسیله نانوذرات القا می‌شود. رادیکال‌های آزاد (ROS) تحت تنش اکسیداتیو ناشی از عناصر سنگین موجب تشکیل لیپیدهای پرآکسیدها می‌شود که به اکسی‌لیپین‌ها تبدیل می‌شوند. اکسی‌لیپین‌ها بیان ژن‌های درگیر در بیوستنز و تجمع متابولیت‌های ثانویه را القا می‌کنند. مسیر دیگر پیام‌رسانی بیوستنز اتیلن و اسید جاسمونیک از راه پیش‌ساز (OPDA) 12-Oxo-phytodienonic است که این مواد به طور غیرمستقیم در فعال‌سازی ژن‌های درگیر در بیوستنز متابولیت‌های ثانویه نقش دارند [۲۷، ۲۸].

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق دو رقم بابونه کبیر در صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مورد بررسی شامل شاخص سبزیگی، نشت الکتروولیت، محتوی نسبی آب برگ، رنگیزه‌های فتوستنتزی (کلروفیل و کارتنوئید) تحت تیمارهای

منابع

- Omidbaigi R. Production and Processing of Medicinal Plants. Vol. 1, Astan Quds Publication, Mashhad, 2000, pp: 33-37.
- Zargari A. Medicinal plants. Vol. 3, Tehran University publications. 1997, pp: 145-146.
- Pareek A, Suthar M, Rathore G.S. and Bansal V. Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.): A systematic review. *Pharmacogn Rev.* 2011; 5 (9): 103 - 110.
- Chinnamuthu C.R. and Boopathi P.M. Nanotechnology and Agroecosystem, *Madras Agric. J.* 2009; 96 (1-6): 17-31.
- Siboza X.I., Bertling I and Odindo A.O. Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*). *J. Plant Physiol.* 2014; 171: 1722 - 1731.
- Aslani F, Bagheri S, MuhdJulkapli N, Juraimi A.Sh, Golestan Hashemi F.S and Baghdadi A. Effects of Engineered Nanomaterials on Plants Growth: An Overview. *Hindawi Publishing Corporation the Scientific World J.* Article ID 641759, 2014; 28 pages.



7. Tao X, Yu Y.X, Fortner J.D, He Y, Chen Y and Hughes J.B. Effects of aqueous stable fullerene nanocrystal (nC60) on *Scenedesmus obliquus*: Evaluation of the sub-lethal photosynthetic responses and inhibition mechanism, *Chemosphere* 11, 2014; 053.
8. Kole Ch, Kole. Ph, Randunu. K.M, Choudhary. P, Podila. R, Ke.P. Ch, Rao. A.M and Marcus. R.K. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (*Momordica charantia*). *BMC Biotechnol.* 2013; 13: 37.
9. Lahiani M.H, Chen J, Irin F, Puretzky A.A, Green M.J and Khodakovskaya M.V. Interaction of carbon nanohorns with plants: Uptake and biological effects, *Carbon* 2015; 81: 607 - 619.
10. Ghorbanpour M. and Hadian J. Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant *Satureja khuzestanica* grown in vitro. *Carbon* 2015; 94: 749 - 759.
11. Chegini E, Ghorbanpour M, Hatami M and Taghizadeh M. Effect of Multi-Walled Carbon Nanotubes on Physiological Traits, Phenolic Contents and Antioxidant Capacity of *Salvia mirzayanii* Rech. f. & Esfand. under Drought Stress. *J. Med. Plants* 2017; 2 (62): 191-207.
12. Idrees M., Naeem M., Aftab T., Masroor M., Khan A. and Moinuddin. Salicylic acid restrains nickel toxicity, improves antioxidant defence system and enhances the production of anticancer alkaloids in *Catharanthus roseus* (L.). *J. Hazardous Materials* 2013; 252 – 253, 367– 374.
13. Cingoz. G.S, and Gurel. E. Effects of salicylic acid on thermotolerance and cardenolide accumulation under high temperature stress in *Digitalis trojana* Ivanina. *Plant Physiology and Biochemistry* 2016; 105: 145-149.
14. Maddah S.M., Fallahian F.A., Sabbaghpour S.H. and Chalbian F. Effect of Salicylic Acid on Yield, Yield Components and Anatomical of Cicer (*Cicer arietinum* L.). *JSIAU.* 2006; 62 (1): 61-70.
15. Rezaei-Chiyaneh E. and Pirzad A. Effect of Salicylic Acid on Yield, Component Yield and Essential Oil of Black Cumin (*Nigella sativa* L.) under Water Deficit Stress. *Iranian Journal of Field Crops Research* 2014; 12 (3): 427-437.
16. Ritchie S.W. and Nguyen H.T. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 1990; 30: 105-111.
17. Karlidag H, Yildirim E and Turan M. Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. *Science Agriculture* 2009; 66 (2): 180- 187.
18. Arnon D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *beta vulgaris*. *Plant Physiology* 1949; 24: 1-15.
19. Lichtenthaler H.K., Welburn A.R. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 1983; 11: 591-592.
20. Chaves. J.S and Da Costa. F.B. A proposal for the quality control of *Tanacetum parthenium* (feverfew) and its hydroalcoholic



extract. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 2008; 18 (3): 360-366.

21. Akpulat H.A, Tepe B, Sokmen A, Daferera D and Polissiou M. Composition of the essential oils of *Tanacetum argyrophyllum* (C. Koch) Tvetzel. var. *argyrophyllum* and *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. (Asteraceae) from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology* 2005; 33: 511 – 516.

22. Hatami M., Hadian J., Ghorbanpour M. Mechanisms underlying toxicity and stimulatory role of single-walled carbon nanotubes in *Hyoscyamus niger* during drought stress simulated by polyethylene glycol. *Journal of Hazardous Materials* 2017; 324: 306-320.

23. Ali M.B., Hahn E.J. and Paek K.Y. Methyl jasmonat and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolic in *Panax ginseng* Bioreactor root suspension culture. *J. Mole.* 2007; 12: 607- 621.

24. Gharib F.A.E. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. *Inter. J. Agri. Biol.* 2007; 9: 294-301.

25. Samadi S., Ghasemnezhad A. and Alizadeh M. Investigation on phenylalanine ammonia - lyase activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) affected by methyl jasmonate and salicylic acid in *in-vitro* conditions. *J. Plan. Prod.* 2014; 21 (4): 135 – 148.

26. Bagal U.R., Leebens mack J.H., Walter Lorenz W. and Dean J.F.D. The phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene family shows a gymnosperm specific line age. *BMC Genoms* 2012; 13 (3): 1471-2164.

27. Maleki M, Ghorbanpour M and Kariman K. Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. *Plant Gene* 2017; 11: 247-254.

28. Asgari Lajayer B, Ghorbanpour M and Nikabadi S. Heavy metals in contaminated environment: Destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2017; 145: 377 - 390.

Impact of Foliar Spray of Spherical Nano-carbon and Salicylic Acid on Physiological Traits and Parthenolide Content in two Feverfew Cultivars (*Tanacetum parthenium* Linn. cv. *Pharmasaat* and *Jelitto*)

Ahmadi S.Z (M.Sc. Student)¹, Ghorbanpour M (Ph.D.)^{2*}, Hadian J (Ph.D.)³, Salehi-Arjmand H (Ph.D.)⁴

1- M.Sc. Student of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

2- Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

3- Institute of Medicinal Plants, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

4- Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

*Corresponding author: Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, 8349-8-38156, Iran

Tel: +98- 911-3927299

E-mail: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

Abstract

Background: Biotic and abiotic elicitors produce secondary metabolites and alter physiological traits of the plants by affecting some of the mechanisms within the plant cells.

Objective: This study was aimed to investigate the effects of different concentrations of spherical nano-carbon and salicylic acid on physiological traits and paratolenolidae content in Feverfew.

Methods: This research was conducted in a factorial experiment based on randomized completely design (CRD) under greenhouse conditions. The first factor was Feverfew cultivar with two levels (*T.parthenium* Linn. cv. *Jelitto* and *T. parthenium* Linn. cv. *Pharmasaat*), the second factor was foliar spray of spherical nano-carbon with 5 levels (0, 125, 250, 500 and 1000 mg/L) and the third factor was considered as foliar spray of salicylic acid with two levels (0 and 0.2 mM).

Results: The results showed that the cultivars, different concentrations of spherical nano-carbon, salicylic acid and their interactions had a significant effect on some of the studied traits. Two cultivars in the content of chlorophyll *a* and *b* and parthenolide showed significant differences at $P < 0.01$. Also, the effect of spherical nano-carbon and salicylic acid concentrations on parthenolide content of extract was significant ($P < 0.01$). However, the highest content of parthenolide (24.22 $\mu\text{g}/0.1$ g dry matter) was observed in *pharmasaat* and at the concentration of 500 mg/L spherical nano-carbon without salicylic acid application.

Conclusion: Application of spherical nano-carbon at concentration of 500 mg/L along with 0.2 mM salicylic acid improved physiological traits and metabolic content of both cultivars.

Keywords: *Tanacetum parthenium* L., Nanocarbon, Parthenolide, Physiological triats, Salisilic acid

