به‌زراعی کشاورزی
دوره ۱۹ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۶
صفحه‌ها ۲۷۱-۲۵۷

اثر محلول‌پاشی نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد گل ژنوتیپ‌های بابونه تحت تنش خشکی

حمیده آزاد قوجه بیگلو[۱]، براتعلی فاخری[۲]، نفیسه مهدی نژاد[۳]، قاسم پرمون[۴]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲. دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳. استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۴. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۱۲/۱۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۳/۱۹

چکیده

به‌منظور مطالعه اثر محلول‌پاشی نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شش ژنوتیپ بابونه تحت تنش خشکی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل در سال ۱۳۹۳ انجام گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل، تنش خشکی (در دو سطح شاهد یا ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی)، نانو کلات آهن (در دو سطح شاهد و دو میلی‌گرم بر لیتر) و ژنوتیپ (اصفهان، شیراز، مشهد، اراک، کرمان و صفاشهر) بودند. نتایج نشان داد که تنش خشکی با توجه به ژنوتیپ اثرات متفاوتی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی داشت. به‌طوری‌که، فعالیت آنزیمی در برخی ژنوتیپ‌ها افزایش و در برخی ژنوتیپ‌ها کاهش یافت. تنش موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، در ژنوتیپ‌های اراک، کرمان و صفاشهر، افزایش فعالیت پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های اصفهان، مشهد، اراک و کرمان و افزایش فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ‌های شیراز و صفاشهر شد. بالاترین عملکرد گل نیز در ژنوتیپ اصفهان مشاهده گردید. به‌طورکلی، می‌توان گفت تنش موجب اثرات مخرب بر گیاه داشت و مصرف نانو کلات موجب افزایش تحمل گیاه به تنش شد و استفاده از ژنوتیپ‌های اصفهان و مشهد برای شرایط تنش مناسب بود.

کلیدواژه‌ها: آسکوربات پراکسیداز، تنش آبی، گایاکول پراکسیداز، گیاه دارویی.

* نویسنده مسئول Email: hamidehazad26@gmail.com

۱. مقدمه

امروزه با توجه به افزایش جمعیت و نیاز بیشتر به دارو استفاده از داروهای گیاهی بیش‌از پیش مورد توجه قرارگرفته است [۲]. بابونه یکی از گیاهان دارویی است که ماده مؤثره گل‌های آن در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی کاربرد وسیعی دارد و اثرات شفابخش این گیاه شامل ضدالتهاب، ضدعفونی‌کننده، داروی مسکن و ضد تشنج می‌باشد [۷].

کشور ایران دارای اقلیم خشک و نیمه‌خشک است و با تنش‌های خشکی و خشکسالی‌های متناوبی درگیر است [۱۱]. انتخاب محصولات زراعی و باغی، به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک جهان از اهمیت زیادی برخوردار است [۱]. خشکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که منجر به تولید فرآورده‌های زیان‌آوری شده که سبب به هم خوردن تعادل و تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسید و رادیکال‌های پروکسیل و اکسیژن منفرد می‌شود [۱۷]. همچنین، علاوه بر تغییرات فیزیولوژیکی که در اثر تنش صورت می‌گیرد، تنش‌های اکسیداتیو نیز از عوامل مهم محدودکننده رشد و تولید گیاهی هستند که موجب ایجاد خسارت در سطح سلول می‌شوند [۱۶]. در شرایط تنش کمبود آب روزنه‌ها بسته‌شده و متعاقب آن غلظت دی‌اکسیدکربن در بافت مزوفیل کاهش می‌یابد. این امر موجب اختلال در واکنش‌های تاریکی فتوسنتز و عدم مصرف محصولات حاصل از واکنش‌های روشنایی (ATP، NADPH) و اختلال در زنجیره انتقال الکترون و شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد. گونه‌های اکسیژن فعال مولکول‌های سمی هستند که موجب خسارت به پروتئین‌ها، DNA و لیپیدها می‌شوند [۲۵]. گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط معمول به مقدار کم در اندامک‌هایی مانند کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی‌زوم تولید می‌شوند، ولی در زمان تنش مقدار تولید آن‌ها به‌طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد [۴۸].

گیاهان سازوکارهای مختلفی را برای کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارند، از جمله این سازوکارها تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی است [۳۳]. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهان از قبیل کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پلی‌فنول اکسیداز طی تنش فعال می‌شوند که این ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی، گونه‌های اکسیژن فعال را تجزیه می‌کنند [۳۶]. تنش خشکی باعث تغییر در محتوای کلروفیل و صدمه به ساختارهای فتوسنتزی و در نتیجه باعث کاهش عملکرد گیاه می‌شود. نقش تنش ایجاد اختلال در تعادل بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن است و القا تنش اکسیداتیو، موجب خسارت به پروتئین‌ها، چربی‌های غشاء و سایر اجزای سلولی شده و از این طریق موجب کاهش فتوسنتز در گیاه می‌شود [۲۹و ۲۸].

تنش خشکی موجب بر هم زدن تعادل تغذیه‌ای در گیاه می‌گردد و با تکمیل مصرف عناصر غذایی کم‌مصرف از طریق محلول‌پاشی، می‌توان وضعیت رشد گیاه را در شرایط تنش بهبود بخشید [۴]. آهن یکی از عناصر مهم در واکنش‌های اکسایش-کاهش، در گیاهان است. نقش این عنصر در تثبیت نیتروژن و فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز به‌خوبی مورد بررسی قرارگرفته است [۲۸ و ۴۵]. نانو ذرات موادی با قطر یک تا ۱۰۰ نانومتر و بسیار واکنش‌پذیر هستند که مصرف آنها موجب می‌شود کودها و عناصر غذایی به‌تدریج و کنترل‌شده در خاک آزاد شوند [۳۸]. طی پژوهشی مصرف ریزمغذی آهن موجب افزایش ۵۱ و ۴۲ درصدی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و کاتالاز شد [۱۰]. در گیاهان بابونه، همیشه بهار و مریم گلی نیز بالاترین ماده خشک در تیمار آبیاری کامل مشاهده شد و

کمترین آن در اثر اعمال تنش حاصل شد [۱۴]. همچنین، تنش خشکی باعث کاهش پتانسیل آب گیاه، کاهش محتوای آب برگ، بسته‌شدن روزنه‌ها و در نتیجه سبب پائین آمدن جذب دی‌اکسیدکربن و کاهش عملکرد گیاه بادرنجبویه گردید [۳۶]. طی پژوهشی مشخص شد که با بالاتر رفتن سطح تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز افزوده شد [۸]. با توجه به موارد فوق، هدف از انجام پژوهش حاضر، مطالعه واکنش ژنوتیپ‌های بابونه نسبت به سطوح نانو کلات آهن و ارزیابی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ این گیاه تحت شرایط تنش خشکی می باشد.

۲. مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل واقع در چاه نیمه (با موقعیت جغرافیایی ۶۱ درجه و ۴۱ دقیقه طول شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی و ارتفاع ۴۸۱ متر از سطح دریا) به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش ترکیبی از دو سطح تنش خشکی شامل ۹۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان شاهد و ۷۰ درصد گنجایش ظرفیت زراعی به‌عنوان تنش، دو سطح نانو کلات آهن شامل شاهد یا عدم استفاده از نانو کلات آهن و مصرف دو میلی‌گرم بر لیتر و شش ژنوتیپ بابونه (اصفهان، مشهد، شیراز، اراک، کرمان و صفاشهر) بود. بذرهای بابونه از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شدند. کاشت در گلدان‌های پلاستیکی با ابعاد ۳۰ × ۳۵ سانتی‌متر انجام شد و برای هر تیمار سه تکرار (سه گلدان) در نظر گرفته شد. برای پر کردن گلدان‌ها از خاکی که خصوصیات آن در جدول یک آمده است استفاده شد. برای کاشت بذور به‌دلیل ریز بودن بذرها، بذرها با ماسه (۱ به ۲) مخلوط شدند و در عمق یک سانتی‌متری از سطح خاک‌کشت گردیدند. گلدان‌ها در شرایط یکسان حداقل دما ۹/۱ و حداکثر دما ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و آبیاری به صورتی که خاک گلدان‌ها مرطوب باشد صورت گرفت. محلول‌پاشی کود نانو کلات آهن که مشخصات آن در جدول دو آورده شده است، در سه مرحله (چهار برگی، هشت برگی و مرحله گلدهی) با غلظت مورد نظر انجام و هر سه مرحله محلول‌پاشی در هنگام غروب آفتاب انجام شد تا جذب محلول بهتر صورت بگیرد و تبخیر محلول به حداقل برسد. اعمال تنش خشکی زمانی که گیاه به مرحله چهار برگی رسید شروع شد. اندازه‌گیری تیمار تنش خشکی با دستگاه تی دی آر[1] صورت گرفت. روش اندازه‌گیری ظرفیت گنجایش گلدان به این صورت بود که برای تعیین آب خاک در حالت ظرفیت زراعی ابتدا سه گلدان مشابه با گلدان‌های آزمایشی تا حد اشباع آبیاری شدند و پس از گذشت ۴۸ ساعت گلدان‌ها، با دستگاه تی دی آر ظرفیت رطوبت خاک گلدان اندازه‌گیری گردید. سپس، درصد آب خاک در حالت ظرفیت گنجایش گلدان تعیین شد. برای رسیدن به تراکم مورد نظر عملیات تنک در دو مرحله چهار برگی و هشت برگی انجام گردید. در مرحله آخر چهار بوته در هر گلدان نگه‌داشته شد.

1. Time Domain Reflectometry (TDR)

جدول ۱. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورداستفاده

هدایت الکتریکی	pH	ماده عالی	N	P	K	Fe	Zn	Mn	لوم	رس	شن	بافت خاک
میکروزیمنس بر سانتی متر		درصد		میلی‌گرم در کیلوگرم					درصد			
۱	۷/۳	۰/۰۵	۰/۴۶	۶/۶	۱۱۵	۳/۵	۴/۸	۲/۹	۲۶	۳۳	۴۲	شنی رسی

جدول ۲. مشخصات نانو کلات آهن مورداستفاده

شرکت سازنده	میزان آهن	pH	نحوه مصرف	میزان مصرف	نوع خاک قابل‌استفاده
خضراء	۹ درصد	۹-۴	هم خاکی و هم محلول‌پاشی	محلول‌پاشی: ۲ در هزار خاکی: ۱۰-۳ کیلوگرم در هکتار	اعم از آهکی و قلیایی

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هفت روز بعد از اعمال آخرین تیمار (در مرحله گلدهی) نمونه‌برداری از برگ گیاهان صورت گرفت و نمونه‌ها در فریزر با دمای ۸۰- نگهداری شدند. جهت عصاره‌گیری نمونه‌ها برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پروتئین، ابتدا نیم گرم نمونه برگ در ازت مایع کاملاً ساییده شد. سپس دو میلی‌لیتر بافر استخراج (حاوی، ۰/۶۰۷ گرم تریس، ۰/۰۵ گرم پلی‌وینیل پیرولیدین و ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک شش نرمال در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به آن اضافه شد و در داخل هاون چینی کاملاً هموژنیزه گردید. مخلوط حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ قرار گرفت و پس‌ازآن فاز بالایی جهت قرائت صفات مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین کل از روش برادفورد استفاده شد [۲۲].

برای تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به ۱/۵ میلی‌لیتر محلول واکنش (۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی، ۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۰/۱۵ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میکرومولار، ۵۴۹/۸۵ میکرو-لیتر آب مقطر) ۳۰۰ میکرولیتر H_2O_2 ۲۰ میلی‌مولار اضافه شد و جذب بلافاصله در طول موج ۲۴۰ نانومتر در دو مرحله با فاصله زمانی یک دقیقه‌ای قرائت گردید [۱۹].

برای ارزیابی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز دو میلی‌لیتر محلول واکنش (۱/۴ میلی‌لیتر بافر سیترات-فسفات ۲۵ میلی‌مول (pH=۵/۴)، ۲۰ میکرولیتر گوایکول و ۴۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی) در یک لوله آزمایش مخلوط شدند و سپس ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۳۰ درصد به مخلوط اضافه شد و تغییرات جذب نور با فواصل ۱۰ ثانیه و به مدت یک دقیقه در طول‌موج ۴۷۵ نانومتر قرائت گردید [۳۷]. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش [۴۷] صورت گرفت. در این روش کمپلکس واکنشی شامل ۲۵۰ میکرولیتر از محلول بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولارpH=7، ۲۵۰ میکرولیتر از آسکوربات یک میلی‌مولار، ۲۵۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۴ میلی‌مولار، ۱۹۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر، ۱۰ میکرولیتر از پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. جذب کمپلکس واکنشی در طول موج ۲۹۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت.

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز دو میلی‌لیتر محلول واکنش شامل، ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH= 7)، ۰/۲ میکرولیتر EDTA۰/۱ میکرومولار، ۵۰ میکرولیتر گایاکول ۵ میلی‌مولار، ۷۹۹/۸ آب بود با ۳۰۰

میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار مخلوط و بلافاصله در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید و بعد از یک دقیقه دوباره میزان جذب قرائت گردید [۴۱]. ارزیابی میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز به این صورت انجام شد که دو میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل مقداری از عصاره نمونه که دارای ۴۰ میکروگرم پروتئین باشد، ۲۰ میکرولیتر محلول پرولین و مقدار کافی بافر سیترات- فسفات ۲۵ میلی‌مول بود که بعد مخلوط شدن به مدت دو دقیقه به‌وسیله ورتکس شد. سپس ۴۰ میکرولیتر محلول پیروکتکول (Pirocatechol FW) ۱۰۰ میل مول به مخلوط فوق اضافه کرده و بلافاصله مخلوط همگن شد و تغییرات جذب نور با فواصل ۱۰ ثانیه و به‌مدت یک دقیقه در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت گردید [۳۹]. وزن خشک بخش اقتصادی و قابل‌استفاده گیاه برای بابونه گل‌ها می‌باشد که برای اندازه‌گیری آن دو بوته از هر گلدان برداشت و بعد از انتقال به آزمایشگاه گل‌های آن جدا و در سایه خشک شده (به علت مصرف سایه خشک آن) و سپس وزن خشک برحسب گرم برای هر بوته محاسبه گردید. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با نرم‌افزار SAS (ver 9/1) انجام گرفت. تست نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab (ver 17) و برای نرمال شدن داده‌ها از تبدیل جذری استفاده شد. تعیین نوع معادلات رگرسیونی بین صفات نیز با استفاده از SPSS (ver 19) صورت گرفت.

۳. نتایج و بحث

۳. ۱. فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج نشان داد که، فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر اثرات ساده ژنوتیپ و اثرات دوجانبه تنش در ژنوتیپ و اثرات سه‌جانبه تنش در نانو کلات آهن در ژنوتیپ در سطح احتمال یک در صد و اثرات دوجانبه ژنوتیپ در نانو کلات آهن در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات سه‌گانه نشان داد، در آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن در اکثر ژنوتیپ‌ها به جزء ژنوتیپ‌های اصفهان و مشهد موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. اما، در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن موجب افزایش فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ‌های اصفهان، مشهد، شیراز و صفاشهر گردید (جدول ۴). افزایش فعالیت آنزیم‌ها در شرایط تنش در پژوهش‌های دیگری نیز گزارش‌شده است [۴۰ و ۶]. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یکی از مکانیزم‌های مقابله با افزایش رادیکاهال فعال اکسیژن در شرایط تنش می‌باشد. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز اولین سد مقاومتی گیاهان می‌باشد که موجب تجزیه رادیکال‌های فعال به مواد کم‌خطر می‌شود (تبدیل آن‌ها به هیدروژن پراکسید). در ادامه هیدروژن پراکسیدهای تولیدی توسط بقیه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به مواد بی‌خطر تبدیل می‌شود [۳۱ و ۴۹]. اثرات متفاوت تنش بر فعالیت کاتالاز در این مطالعه نیز می‌تواند به این علت باشد که ژنوتیپ‌های مختلف از سیستم‌های متفاوتی برای کاهش مقدار هیدروژن پراکسید استفاده کنند. در این مطالعه ژنوتیپ‌های اراک، کرمان و صفاشهر احتمالاً از آنزیم کاتالاز برای کاهش اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن استفاده می‌کنند. به همین دلیل فعالیت کاتالاز تنها در این ژنوتیپ‌ها افزایش یافت. همچنین، از آنجایی‌که آنزیم کاتالاز در پراکسی‌زوم سلول‌های برگی واقع‌شده و در کلروپلاست یافت نمی‌شود، پراکسید هیدروژن تولید شده در کلروپلاست بیشتر توسط ایزوفرم‌های مختلف آسکوربات پراکسیداز (sAPX و tAPX) از محیط حذف می‌گردند [۹]. کاربرد نانو کلات آهن نیز با توجه به این‌که گیاه را از کمبود تغذیه ناشی از تنش حفاظت می‌کند، می‌تواند به سیستم دفاعی گیاه در جهت مقابله با تنش کمک کند. آهن به‌عنوان یک کاتالیزور در واکنش‌ها عمل نموده و موجب تسریع این واکنش‌ها می‌شود. همچنین، در مطالعات

مختلف به نقش آهن در فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز اشاره شده است [۲۰ و ۴۵]. در آزمایشی بر روی گیاه دارویی *Fogopyrum esculentom* تحت تیمارهای مختلف نانواکسید روی مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تا غلظت‌های بالای ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش می‌یابد [۴۱].

۳. ۲. فعالیت آنزیم پراکسیداز

برهم‌کنش تنش خشکی در ژنوتیپ، ژنوتیپ در نانو کلات آهن و اثرات سه‌جانبه آنها بر فعالیت پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، ولی برهم‌کنش تنش در نانو کلات آهن در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). کاربرد نانو کلات آهن در شرایط تنش و غیر تنش نتایج متفاوتی نشان داد. در آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن در ژنوتیپ‌های شیراز و کرمان موجب کاهش فعالیت آنزیم و در بقیه ژنوتیپ‌ها، افزایش فعالیت آنزیم را سبب شد. در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن نیز موجب کاهش فعالیت آنزیم در ژنوتیپ‌های اصفهان، مشهد و کرمان شد. بالاترین و پایین‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب با میانگین‌های ۰/۷۰۸ و ۰/۰۲۴ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین، از ژنوتیپ اراک در شرایط بدون تنش و مصرف نانو کلات و ژنوتیپ اصفهان در شرایط آبیاری کامل و عدم مصرف نانو کلات مشاهده شد (جدول ۴). چنین نتایجی در مطالعات دیگر نیز مشاهده شد [۱۰]. آنزیم پراکسیداز هم در سایتوسول و هم در کلروپلاست وجود دارد که می‌تواند به گونه مؤثری H_2O_2 را حذف نماید. بنابراین، افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش خشکی احتمالاً نشان‌دهنده تجمع H_2O_2 در شرایط تنش خشکی می‌باشد [۳۲]. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در مطالعات مختلف گزارش شده است [۱۳ و ۴۰]. آهن علاوه بر کاتالاز بر فعالیت پراکسیداز مؤثر می‌باشد و در واکنش‌ها به‌عنوان یک سیستم آنزیمی در گروه‌های پروستتیک عمل می‌کند [۴۲]. تجمع ایزوزایم‌های پراکسیداز در واکوئل و دیواره سلولی سبب چوبی شدن این قسمت‌ها می‌شود و از این طریق موجب محافظت سلول طی تنش می‌شود [۲۷].

جدول ۳. تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ژنوتیپ‌های بابونه تحت تنش خشکی و نانو کلات آهن

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز
تکرار	۲	۰/۸۳۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱
تنش خشکی	۱	۰/۰۸۲ns	۰/۰۰۰۰۱ns	۰/۰۱۰**	۰/۰۰۰۱ns
نانو کلات آهن	۱	۰/۲۴۸ns	۰/۰۷۵۱**	۰/۰۷۳ns	۱/۴۲۳ns
ژنوتیپ	۵	۰/۴۵۰**	۰/۰۷۹۸**	۰/۰۸۰**	۱/۴۶۹**
تنش × نانو آهن	۱	۰/۴۲۱ns	۰/۴۲۷*	۰/۰۲۸**	۰/۰۰۱ns
تنش× ژنوتیپ	۵	۰/۳۷۰**	۰/۰۳۷۷**	۰/۰۶۰**	۰/۶۸۵**
ژنوتیپ × نانو آهن	۵	۰/۳۱۶*	۰/۰۹۵۶**	۰/۹۶۰**	۱/۷۷۵**
تنش × ژنوتیپ× نانو آهن	۶	۰/۴۶۰**	۰/۴۶۰**	۰/۰۳۱**	۰/۵۶۱**
خطا	۴۶	۰/۱۲۲	۰/۰۲۹۹	۰/۰۰۰	۰/۰۴۸
ضریب تغییرات (٪)	–	۱۷/۵۴	۱۹/۸۳	۲۰/۶۱	۲۰/۹۱

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns، غیر معنی‌دار

جدول ۴. مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش خشکی، ژنوتیپ و نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

تنش	ژنوتیپ	کاتالاز ($OD.g^{-1}.FW.min^{-1}$)		پراکسیداز ($OD.g^{-1}.FW.min^{-1}$)		آسکوربات پراکسیداز ($OD.g^{-1}.FW.min^{-1}$)		پلی فنل اکسیداز ($OD.g^{-1}.FW.min^{-1}$)	
		عدم نانو	نانو	عدم نانو	نانو	عدم نانو	نانو	عدم نانو	نانو
آبیاری کامل	اصفهان	۱/۵۳d-h	۱/۳۶gh	۰/۰۲۴m	۰/۰۷۵j-m	۰/۰۰۴l	۰/۰۰۷i-l	۰/۱۹۴k	۰/۴۰۱i-k
	مشهد	۲/۶۴a	۱/۷۹c-g	۰/۰۶۵k-m	۰/۱۴۵e-k	۰/۰۰۹h-k	۰/۰۱۲e-h	۰/۴۳۱h-k	۰/۷۲۲e-j
	شیراز	۱/۵۲d-h	۲/۰۱b-e	۰/۱۴۱f-k	۰/۰۸۳j-m	۰/۰۱۱f-j	۰/۰۰۹h-l	۰/۶۹۰e-j	۰/۴۷۳h-k
	اراک	۱/۴۸d-h	۲/۴۷ab	۰/۱۲۴h-k	۰/۷۰۸a	۰/۰۱۰h-j	۰/۰۴۵a	۰/۶۱۷g-j	۳/۱۵۶a
	کرمان	۱/۲۱h	۱/۸۰c-g	۰/۱۵۶d-j	۰/۱۳۶g-j	۰/۰۱۰f-g	۰/۰۱۲f-i	۰/۷۳۵d-i	۰/۶۸۵e-j
	صفاشهر	۱/۳۵gh	۱/۹۵b-f	۰/۲۱۶c-g	۰/۲۲۷c-e	۰/۰۱۵c-f	۰/۰۱۷cd	۱/ ۰۰۰c-f	۱/۰۸۱cd
تنش	اصفهان	۱/۴۱f-h	۱/۶۰c-h	۰/۲۳۶cd	۰/۲۰۷c-h	۰/۰۱۶c-e	۰/۰۱۵c-f	۱/۰۸۶cd	۰/۹۷۵c-f
	مشهد	۱/۷۳c-g	۱/۷۴c-h	۰/۱۵۶d-j	۰/۱۰۲i–m	۰/۰۱۳d-h	۰/۰۱۰h-k	۰/۷۶۶d-h	۰/۵۳۸g-k
	شیراز	۱/۴۲f-h	۱/۴۴e-h	۰/۰۶۸k-m	۰/۲۲۱c-f	۰/۰۰۷j-l	۰/۰۱۶c-f	۰/۳۷۳jk	۱/۰۲۵c-e
	اراک	۱/۷۱c-g	۱/۶۹c-h	۰/۱۳۷f-k	۰/۳۶۷b	۰/۰۱۲f-j	۰/۰۲۴b	۰/۶۸۶e-j	۱/۶۶۰b
	کرمان	۱/۹۷b-f	۱/۴۲c-g	۰/۲۶۷c	۰/۰۴۰lm	۰/۰۱۹c	۰/۰۰۶kl	۱/۲۵۳c	۰/۲۵۳k
	صفاشهر	۲/۰۲b-d	۲/۱۵a-c	۰/۱۲۵h-k	۰/۱۷۸d-i	۰/۰۱۲f-j	۰/۰۱۵c-g	۰/۶۵۲f-j	۰/۸۸۵d-g

در هر ستون برای برهم‌کنش تیمارها، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

۳. ۳. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج نشان داد، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر اثرات اصلی (به جزء اثر اصلی نانو کلات آهن)، اثرات دوگانه و اثرات سه‌گانه قرار گرفتند (جدول ۳). بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۰/۰۴۵ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین) در شرایط آبیاری کامل و محلول‌پاشی از ژنوتیپ اراک و کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۰/۰۰۴ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار آبیاری کامل و عدم محلول‌پاشی با نانو کلات آهن از ژنوتیپ اصفهان حاصل شد. تنش خشکی در ژنوتیپ‌های اصفهان، مشهد، اراک و کرمان موجب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و در بقیه ژنوتیپ‌ها موجب کاهش فعالیت آنزیم آن شد. در آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن در اکثر ژنوتیپ‌ها (به جزء ژنوتیپ شیراز) موجب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد. همچنین در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن موجب افزایش فعالیت آن در ژنوتیپ‌های شیراز، اراک و صفاشهر شد (جدول ۴). آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب تجزیه هیدروژن پراکسید به آب با استفاده از آسکوربات به‌عنوان بستر عمل می‌کند. در عمل این آنزیم الکترون اضافی موجود در هیدروژن پراکسید به دی

هیدروآسکوربات منتقل‌شده و موجب تولید آب نیز می‌شود. این آنزیم نقش کلیدی در چرخه گلوتاتیون – آسکوربات دارا است [۴۱ و ۴۴]. افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اثر تنش در گیاه گندم [۱۸] و در گیاه بابونه [۲۱] گزارش گردیده است.

۳. ۴. فعالیت پلی فنل اکسیداز

اثرات سه‌جانبه تنش در ژنوتیپ در نانو کلات آهن در سطح یک درصد بر فعالیت پلی فنل اکسیداز دارای تفاوت آماری معنی‌داری بودند (جدول ۳). در آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن در ژنوتیپ‌های شیراز و کرمان موجب کاهش فعالیت آنزیم و در بقیه ژنوتیپ‌ها، افزایش فعالیت آنزیم را سبب شد. در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن نیز موجب کاهش فعالیت آنزیم در ژنوتیپ‌های اصفهان، مشهد و کرمان شد (جدول ۴). پلی فنل اکسیدازها گروهی از آنزیم‌ها هستند که در اکسیداسیون فنل‌ها به کینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی نقش مهمی دارند. در ارتباط با امکان مؤثر بودن فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز در واکنش‌های دفاعی گیاه، تحقیقات نشان داده است که این آنزیم‌ها در فعالیت دفاعی و واکنش فوق حساسیت در مقابل ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها دخالت دارند [۳۹]. همچنین این آنزیم اکسیداسیون دی‌فنول‌ها را به کوئینون‌ها که در پلیمریزاسیون رنگ‌دانه‌ها نقش دارند کاتالیز می‌کند که از این طریق گیاه می‌توانند از تخریب رنگ دانه ها طی تنش جلوگیری نماید. بنابراین، افزایش فعالیت این آنزیم در اثر تنش می‌تواند جهت کاهش تخریب رنگدانه ها و سیستم‌های فتوسنتزی طی تنش باشد. تغییرات در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در شرایط تنش‌های محیطی ازجمله تنش کمبود آب گزارش‌شده است [۲۹].

۳. ۵. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات نشان داد که فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر اثرات ساده (به جزء اثر اصلی تنش) و اثرات دوجانبه و اثرات سه‌جانبه تنش در نانو کلات آهن در ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۵). بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به ترتیب از ژنوتیپ‌های اراک (محلول‌پاشی) و اصفهان (عدم محلول‌پاشی) هر دو در شرایط آبیاری کامل به دست آمد. محلول‌پاشی نانو کلات آهن در شرایط تنش خشکی افزایش آنزیم گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ‌های، شیراز، اراک و صفاشهر و کاهش آنزیم در ژنوتیپ‌های اصفهان، مشهد و کرمان را موجب شد (جدول ۶). در گیاه پریوش، افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و کاتالاز را در مقایسه با گیاهانی که هیچ نوع ریزمغذی آهن دریافت نکرده بودند گزارش کردند [۱۰]. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز در اثر خشکی و یا درجه حرارت بالا در ریحان نیز گزارش‌شده است [۱۷]. گلوتاتیون پراکسیداز به‌عنوان کاتالیزور سبب تبدیل گلوتاتیون به گلوتاتیون دی سولفید شده و از این طریق الکترون اضافه‌ی موجود در هیدروژن پراکسید را گرفته و موجب تبدیل آن به آب می‌شود و از این طریق سبب انتقال الکترون اضافه از هیدروژن پراکسید به آن و تبدیل هیدروژن پراکسید به آب می‌شود. گلوتاتیون بر فعالیت آنزیم دی آسکوربات ردوکتاز که موجب تبدیل دی هیدروآسکوربات به آسکوربات می‌شود تأثیرگذار است [۲۹ و ۳۴].

۳. ۶. میزان پروتئین کل

میزان پروتئین تحت تأثیر اثرات سه‌گانه قرار گرفتند (جدول ۵). تغییرات میزان پروتئین در ژنوتیپ‌های مختلف در اثر تنش و نانو کلات متفاوت بود. در آبیاری کامل،

مصرف نانو کلات آهن در ژنوتیپ‌های اصفهان، مشهد، اراک و صفاشهر موجب افزایش و در بقیه ژنوتیپ‌ها موجب کاهش میزان پروتئین شد. در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن نیز موجب کاهش میزان پروتئین در ژنوتیپ‌های شیراز، اراک و صفاشهر شد. بالاترین میزان پروتئین (۱/۱۸۴ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) به ترتیب از ژنوتیپ اراک در شرایط آبیاری کامل و مصرف نانو کلات مشاهده شد (جدول ۶). با توجه به مشاهداتی تنش کم‌آبی با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب تخریب ساختار پروتئین‌ها و اسیدآمینه‌ها می‌شوند [۲۴]. همچنین رادیکال‌های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین داشتند و سبب اکسید شدن آن‌ها گردید که این خود باعث کاهش میزان پروتئین محلول برگ گردید. در آزمایشی در گیاه دارویی کدو پوست کاغذی محتوی پروتئین محلول در اثر تنش کم آبی کاهش یافت [۱۵]. به نظر می‌رسد کاهش محتوای پروتئین کل تحت شرایط تنش کم آبی به دلیل واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییر اسید آمینه، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین، کاهش سنتز پروتئین و همچنین تجمع اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین مرتبط باشد [۴۳]. نانو ذرات آهن می‌توانند به مولکول‌های فعال بیولوژیکی متصل شوند که این اتصال می‌تواند به‌طور مستقیم به مکان‌های خاص درون بیومولکول‌ها شامل پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و ساختارهای زیر سلولی صورت بگیرد و بدین طریق نانو از این مولکول‌ها محافظت کند [۳۵]. نتایج پژوهشی دیگر نیز به تأثیر تنش بر میزان پروتئین گیاه مرزه اشاره دارد و کاربرد نانو کلات آهن و کلات آهن موجب افزایش محتوای پروتئین شد [۵].

جدول ۵. تجزیه واریانس ویژگی‌های کیفی ژنوتیپ‌های بابونه تحت تنش خشکی و نانو کلات آهن

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		گایاکول پراکسیداز	پروتئین	عملکرد گل
تکرار	۲	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۲۶
تنش خشکی	۱	۰/۰۰۰۰ns	۰/۰۰۰۰۱ns	۰/۰۰۴۸ns
نانو کلات آهن	۱	۰/۰۲۹۶۰**	۰/۲۰۰۴**	۰/۰۱۱۳**
ژنوتیپ	۵	۰/۰۳۰۷**	۰/۲۰۶۹**	۰/۰۳۶**
تنش × نانو آهن	۱	۰/۰۱۴۲**	۰/۰۹۴۸**	۰/۰۱۸۸**
تنش× ژنوتیپ	۵	۰/۰۱۴۳**	۰/۰۹۶۳**	۰/۰۱۴**
ژنوتیپ × نانو آهن	۵	۰/۰۳۷۲**	۰/۲۴۹۷**	۰/۰۱۸۴**
تنش × ژنوتیپ× نانو آهن	۶	۰/۰۱۱۸**	۰/۰۷۹۰**	۰/۰۱۷۸**
خطا	۴۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۶۷	۰/۰۰۱۹
ضریب تغییرات (٪)	–	۱۹/۹۳	۲۰/۹۲	۱۹/۴۵

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns، غیر معنی‌دار

جدول ۶. مقایسه میانگین صفات برای برهم‌کنش سه‌جانبه تیمارهای تنش خشکی، ژنوتیپ و نانو کلات آهن

تنش	ژنوتیپ	گایاکول پراکسیداز ($OD.g^{-1}.FW.min^{-1}$)		پروتئین ($mg.g^{-1}.FW.min^{-1}$)		عملکرد گل در بوته (gr/plant)	
		عدم نانو	نانو	عدم نانو	نانو	عدم نانو	نانو
آبیاری کامل	اصفهان	k۰/۰۲۸	i-k۰/۰۵۸	k۰/۰۷۳	i-k۰/۱۵۱	d-g۰/۲۲۴	a۰/۴۹۸
	مشهد	h-k۰/۰۶۲	e-j۰/۱۰۴	h-k۰/۱۶۲	e-j۰/۲۷۱	d-g۰/۲۲۲	bc۰/۳۲۸
	شیراز	e-j۰/۱۰۰	h-k۰/۰۶۸	e-j۰/۲۵۹	h-k۰/۱۷۷	f-h۰/۱۹۱	g-i۰/۱۷۸
	اراک	h-j۰/۰۸۹	a۰/۴۵۷	g-j۰/۲۳۱	a۱/۱۸۴	hi۰/۱۳۹	i۰/۱۱۳
	کرمان	d-i۰/۱۰۶	e-j۰/۰۹۹	d-i۰/۲۷۵	e-j۰/۲۵۷	g-i۰/۱۶۰	f-h۰/۲۰۰
	صفاشهر	c-f۰/۱۴۴	cd۰/۱۵۷	c-f۰/۳۷۵	cd۰/۴۰۵	f-h۰/۱۹۱	g-i۰/۱۵۷
تنش خشکی	اصفهان	cd۰/۱۵۷	c-f۰/۱۴۱	cd۰/۴۰۷	c-f۰/ ۳۶۶	e-g۰/۲۱۴	cd۰/۲۸۷
	مشهد	d-h۰/۱۱۱	h-k۰/۰۷۸	d-h۰/۲۸۷	g-k۰/۲۰۲	b۰/۳۶۷	g-i۰/۱۶۵
	شیراز	jk۰/۰۵۴	c-e۰/۱۴۸	jk۰/۱۴۰	c-e۰/۳۸۵	d-f۰/۲۵۵	c-e۰/۲۷۲
	اراک	e-j۰/۰۹۹	b۰/۲۴۰	e-j۰/۲۵۷	b۰/۶۲۳	f-g۰/۱۸۸	g-i۰/۱۷۱
	کرمان	c۰/۱۸۱	k۰/۰۳۷	c۰/۴۷۰	k۰/۰۹۷	f-i۰/۱۸۵	d-g۰/۲۲۷
	صفاشهر	f-j۰/۰۹۴	d-g۰/۱۲۸	f-j۰/۲۴۴	d-f۰/۳۳۲	e-g۰/۲۱۳	c-f۰/ ۲۵۶

در هر ستون برای برهم‌کنش تیمارها، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

۳. ۷. عملکرد گل در بوته

برهم کنش تنش خشکی در ژنوتیپ در نانو کلات آهن بر میزان عملکرد گل در بوته معنی‌دار بود (جدول ۵). بیشترین عملکرد گل در بوته از تیمار عدم تنش و مصرف دو میلی‌گرم بر لیتر نانو کلات آهن از اصفهان با میانگین ۰/۴۹۸ گرم حاصل شد. پایین‌ترین مقدار این صفت نیز با میانگین‌های ۰/۱۱۳ گرم در تیمار عدم تنش و محلول‌پاشی از ژنوتیپ اراک به دست آمد (جدول ۶). در آبیاری کامل، مصرف نانو کلات آهن در ژنوتیپ‌های شیراز، اراک و صفاشهر موجب کاهش عملکرد گل در بوته و در بقیه ژنوتیپ‌ها، افزایش عملکرد گل در بوته را سبب شد. در تنش خشکی مصرف نانو کلات آهن نیز موجب کاهش عملکرد گل در بوته در ژنوتیپ‌های مشهد، اراک شد (جدول ۶). کود کلات آهن به‌طور فراوانی عملکرد را نسبت به دیگر کودهای آهن افزایش می‌دهد. گیاه در مواجه با تنش، جهت حفظ بقاء و جلوگیری از تعرق بیشتر آب از اندام هوایی به‌ویژه برگ‌ها، سطح برگ خود را کاهش داده و این امر سبب کاهش تولید مواد فتوسنتزی می‌گردد. با کاهش مواد فتوسنتزی تولیدی عملکرد بیولوژیک کاهش می‌یابد [۲۳]. تنش خشکی همچنین سبب کاهش توسعه رویشی گیاه، ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، تعداد برگ به‌ویژه سطح برگ‌ها شد و در نتیجه توانایی فتوسنتزی گیاه و سرعت انباشت ماده خشک کاهش می‌یابد [۳].

جدول ۷. نتایج رگرسیونی پیش‌بینی عملکرد اقتصادی بابونه توسط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

صفت مستقل	R Square	F	ضرایب رگرسیونی				معادله	نوع معادله
			B	B1	B2	B3		
پروتئین کل	۰/۱۶۶	**۱۳/۷۳	۰/۲۶۱	۰/۵۲۵	ns	ns	$Y= b+b^{x1}$	مرکب
کاتالاز	۰/۰۲۶	ns۱/۸۲	۰/۲۸۱	−۰/۰۳۱	ns	ns	$Y= b+(b_1x)$	خطی
پراکسیداز	۰/۱۶۴	**۱۳/۵۵	۰/۲۵۵	۰/۳۵۶	ns	ns	$Y= b+b^{x1}$	مرکب
آسکوربات پراکسیداز	۰/۱۶۷	**۱۳/۸۷	۰/۲۷۳	$۱/۲۴\times۱۰^{-۸}$	ns	ns	$Y= b+b^{x1}$	مرکب
گایاکول پراکسیداز	۰/۰۶۹	**۱۳/۷۳	۰/۲۶۱	۰/۱۸۸	ns	ns	$Y= b+b^{x1}$	مرکب
پلی‌فنل اکسیداز	۰/۱۶۶	۱۳/۷۳**	۰/۲۶۱	۰/۷۸۵	ns	ns	$Y= b+b^{x1}$	مرکب

در مطالعه‌ای تأثیر آبیاری روی گیاهان اسفرزه، بومادران، مریم‌گلی، همیشه‌بهار و بابونه مورد بررسی قرار گرفت و گزارش شد که تشدید تنش خشکی، وزن اندام‌های هوایی و ارتفاع بوته را در تمام گیاهان مورد مطالعه کاهش داد و در نتیجه عملکرد اقتصادی کاهش یافت [۱۳]. افزایش عملکرد گیاه ذرت در اثر نانو ذرات گزارش شده است [۱۲ و ۳۷]. نتایج حاصل از تحقیقات نشان داده است، ژنوتیپ‌هایی که تحت شرایط تنش رطوبتی از میزان کاروتنوئیدها و کلروفیل بالاتری برخوردار هستند، فعالیت بیشتری از آنزیم‌های آنتی اکسیدان را تحت شرایط تنش رطوبتی از خود نشان دادند [۴۶]. در واقع بین فعالیت آنزیم بالا و میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و در نهایت میزان فتوسنتز رابطه وجود دارد. نتایج رگرسیون این مطالعه نیز نشان داد، فعالیت تمامی آنزیم‌های انتی اکسیدانت به غیر از آنزیم کاتالاز، بر عملکرد گل در بوته تأثیر معنی‌داری دارند (جدول ۷). بر اساس نتایج معادلات رگرسیونی در بین آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، آنزیم آسکوربات پراکسیداز بیشترین (۰/۱۶۷) سهم را در پیش بینی عملکرد گل در بوته را نشان داد. تغییرات مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از نوع مرکب بود (جدول ۷).

۴. نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ژنوتیپ‌های مختلف در تیمارهای به کاربرده شده متفاوت بود. به‌طوری که در اثر تنش و مصرف نانوکلات آهن فعالیت آنزیم‌ها در برخی ژنوتیپ‌ها افزایش و در برخی دیگر کاهش پیدا کردند. در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ژنوتیپ اصفهان و مشهد نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها در برابر تنش خشکی متحمل بودند. کاهش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است ناشی از غیرفعال شدن سیستم‌های آنتی اکسیدانتی در شرایط تنش باشد؛ که این امر در مورد فعالیت بعضی آنزیم‌ها مشاهده شد. احتمال دارد که کاهش فعالیت این آنزیم‌ها به دلیل نیاز کمتر سلول‌ها برای متابولیسم آنتی اکسیداتیو پس از اعمال تیمار با نانو کلات آهن باشد. ممکن است نانو کلات آهن به‌طور مستقیم برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته باشد و با پاک‌سازی این گونه‌های فعال اکسیژن، از افزایش فعالیت آنزیم جلوگیری کند. همچنین تغییرات القا شده در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی می‌تواند تحت تأثیر شدت و مدت تیمار و هم‌چنین گونه و سن گیاه باشد که در این مطالعه نیز مشاهده شد ژنوتیپ‌های مختلف در تیمار تنش و محلول پاشی واکنش متفاوتی نشان دادند.

منابع

۱. احترامیان ک (۱۳۸۱) تأثیر سطوح مختلف کود نیتروژن و تاریخ کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد زیره‌سبز در منطقه کوشکک استان فارس. پایان‌نامه کارشناسی ارشد مدیریت مناطق بیابانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

۲. امید بیگی ر (۱۳۸۵) رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد سوم)، انتشارات طراحان نشر. ۳۹۵ صفحه.

۳. بهدانی م ع و موسوی ف ب (۱۳۹۰) اثر کم آبیاری بر انتقال مجدد و وزن خشک اندام‌های گیاهی سه ژنوتیپ گلرنگ بهاره (*Carthamus tinctorius* L.). نشریه بوم شناسی کشاورزی، ۳ (۳): ۲۸۹-۲۷۷.

۴. پایگذار ی، قنبری ا، حیدری م و توسلی ا (۱۳۸۷) اثر محلول پاشی ریز مغذی‌ها بر کمیت و کیفیت خصوصیات گونه‌های وحشی ارزن (*Pennisetum glacum*) تحت تنش خشکی علوم کشاورزی. دانشگاه آزاد تبریز، ۳(۱۰): ۷۸-۶۷.

۵. پیوندی م، کمالی جامکانی ز و میرزا م (۱۳۹۰) تأثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مرزه (*Satureja Hortensis*). مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی.۲(۵):۳۱-۲۵

۶. توکلی حسنکلو ح، عبادی ع و جهانبخش س (۱۳۹۳) بررسی برخی از سازوکارهای تحمل به تنش کم‌آبی در ژنوتیپ‌های گندم نان (*Triticum aestivum* L). تحقیقات غلات. ۴(۱). ۲۵-۱۳.

۷. حاج سید هادی م ر، خدابنده ن، یاسا ن و درزی م ت (۱۳۸۱) اثر تاریخ کاشت و تراکم عملکرد و درصد اسانس بابونه. فصلنامه علوم زراعی ایران. ۴: ۲۱۶-۲۰۸.

۸. حیدری، م. میری ح ر و مینایی آ (۱۳۹۲) فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و ترکیبات بیوشیمیایی گیاه گاوزبان اروپایی (*Borogo officinalis* L.) در واکنش به تیمارهای تنش خشکی و اسید هیومیک. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی. ۶(۲): ۱۷۰-۱۵۹.

۹. طالع احمد س و حداد ر (۱۳۸۹) اثر سیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده و محتوای تنظیم‌کننده های اسمزی در دو ژنوتیپ گندم نان در شرایط تنش خشکی. مجله به زراعی نهال و بذر. ۲۶ (۲): ۲۲۵ – ۲۰۷.

۱۰. عسکری م، امیرجانی م ر و صابری ط (۱۳۹۳) بررسی اثرات نانو کود آهن بر رشد برگ، مقدار کربوهیدرات و آنتی‌اکسیدان‌های پریوش. فرایند و کارکرد گیاهی، ۳(۷): ۵۵-۴۳.

۱۱. علیزاده ا (۱۳۸۱) خشکسالی و ضرورت مدیریت در مصرف آب. فصلنامه خشکی و خشکسالی کشاورزی. (۳):۷-۳.

۱۲. فیضی ح رضوانی‌مقدم پ (۱۳۸۹) تأثیر میدان مغناطیسی و نانو ذرات نقره بر رشد، عملکرد و کیفیت سیلوی ذرت علوفه‌ای در مقایسه با کاربرد کودهای پر مصرف و کم‌مصرف. نشریه آب و خاک. ۲۴(۶): ۱۰۷۲-۱۰۶۲.

۱۳. قهرمانی م (۱۳۹۲) تأثیر تنش کم‌آبی بر روی برخی صفات فیزیولوژیک سه ژنوتیپ سورگوم. دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی. پایان نامه کارشناسی ارشد. ۱۳۹ ص.

۱۴. لباسچی م و شریفی عاشور آبادی ا (۱۳۸۳) شاخص-

های رشد برخی از گیاهان دارویی در شرایط مختلف تنش خشکی. فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۰(۳): ۲۶۹-۲۴۱.

۱۵. نعیمی م، اکبری غ، شیرانی راد ا م حسنلو ط و اکبری غ ع (۱۳۹۱) اثر کاربرد زئولیت و محلول‌پاشی سلنیوم در شرایط تنش کم‌آبی بر روابط آبی و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاه دارویی کدو پوست کاغذی. مجله به زراعی کشاورزی، ۱۴ (۱): ۸۱-۶۷.

16. Allen, R (1995) Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiology, 107(4): 1049-1054.

17. Arora, A., Sairam, R K and Srivastava G C (2002) Oxidative stress and antioxidant system in plants. Plant Physiology, 82: 1227-1237.

18. Asada K (2006) Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. Plant Physiology, 141 (2): 391-396.

19. Beers RF Jr and Sizer I W (1952) A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. Journal of Biological chemistry, 195(1): 133–140.

20. Blakrishman K (2000) Peroxidase activity as an indicator of the iron deficiency banana. Indian Journal Plant Physiological, 5:389-391.

21. Blokhina O, Virolainen E and Fagerstedt K V (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany, 91(2):179-194.

22. BradfordM M (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. Annals of Biochemistry. 72: 248-254.

23. Chohura P, Kołota E and komosa A (2007) The effect of different source of iron on nutritional value of greenhouse tomato fruit grown in peat substrate. Vegetable crops research bulletin, 67: 55-61.

24. Das M, BSingh and R Prasad (2004) Response of maize (*Zea mays*) to phosphorus-enriched manures growing P-deficient Alf sols on terraced land in Meghalaya. Journal of Agricultural Science, 61(6): 383-388.

25. Feranda F, Arlete S, Isabel S and Salema R (2004) Effect of long-term salt stress on antioxidant defense systems, leaf water relation and chloroplast ultrastructure of potato plants. Annals of Applied Biology, 145(2): 185-192.

26. Fu J and Huang B (2001) Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environment and Experimental Botany 45(2):105-114.

27. Gaspar T, Penel C, Castillo FJ and Greppin H (1985) A twostep control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. Physiology Plant. 64, 418- 423.

28. Ghorbani Javid M, Moradi, F, Akbari GH and Allahdadi I (2007) some metabolite role in osmotic regulation mechanism of medic *Medicago laciniata* (L.) Mill under drought stress. Iranian Journal of Crop Science, 8: 90-105. (In Persian)

29. Hirayama M, Y Wada and H Nemot (2006) Estimation of drought tolerance based on leaf temperature in upland rice breeding. Breeding Science, 56: 47-54.

30. Hossain M A and Fujita M (2011) Regulatory role of components of ascorbate-glutathione (AsA-GSH) pathway in plant tolerance to oxidative stress. *In*: Anjum NA, Umar S, Ahmed A (Eds.) Oxidative stress in plants: causes, consequences and tolerance. IK International Publishing House, New Delhi, pp 81–147.

31. Jiang Y and Huang B (2001) Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolisms and lipid peroxidation. Crop Science, 41(2): 436-442.

32. Jiang Y and Huang B (2001) Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cool-season grasses. Journal of Experimental Botany, 52(355): 341-349.

33. Kim JK, Bamba T, Harada K, Fukusaki E and Kobayashi A (2007) Time course metabolic profiling in *Arabidopsis thaliana* cell cultures after salt stress treatment. Journal of Experimental Botany, 58(3): 415-424.

34. Krishna P and Bhabak Govindasamy Mugesh (2010) Functional Mimics of Glutathione Peroxidase: Bio inspired Synthetic Antioxidants. Accounts of Chemical Research, 43 (11):1408-1419.

35. Krystofova O, Sochor J, Zitka O, Babula P Kudrle V, Adam V and Kizek R (2013) Effect of Magnetic Nanoparticles on Tobacco BY-2 Cell Suspension Culture. International Journal of Environmental Research and Public Health, 10(1): 47-71.

36. Mittler R (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7(9):405-410.

37. Moaveni P and Kheiri T (2011) TiO_2 Nano Particles Affected on Maize (*Zea mays* L.). 2nd International Conference on Agricultural and Animal Science in Singapore by International Proceeding of Chemical, Biological and Environmental Engineering. International Association of Computer Science and Information Technology Press. 22. 160-163.

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

39. Mohammadi M and Kazemi, H (2002) Changes in peroxidase and Polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated whit *Fusarim germinearum* and induced resistance. Plant Science, 162(4): 491- 498.

40. Movludi A, Ebadi A, Jahanbakhsh S, Davari M and Parmoon GH (2014) The Effect of Water Deficit and Nitrogen on the Antioxidant Enzymes'Activity and Quantum Yield of Barley (*Hordeum vulgare* L.). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 42(2):398-404.

41. Nakano Y and K Asada (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by accurate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology. 22: 867–880.

42. Noctor G and Foyer CH (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49: 249–279.

43. Ranjan R, Bohra SP and Jeet AM (2001) Book of plant senescence. Jodhpur, Agro bios New York. pp. 18-42.

44. Raven EL (2000) "Peroxidase-catalyzed oxidation of ascorbate. Structural, spectroscopic and mechanistic correlations in ascorbate peroxidase". Subcellular Biochemistry, 35: 317–49.

45. Ruiz J, M Baghour M and Roomers L (2000) Efficiency of the different genotypes of tomato in relation to foliar content of Fe and the response of some bioindicators. Journal of Plant Nutrition, 23(11-12): 1777-1786.

46. Sairam R K and GC Srivastava (2001) Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.): Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and

balance between signaling and destruction. Physiologia Plantarum, 126: 45-51.

49. Tuna A, Kaya C, Dikilitas M and Higgas D (2008) The combined effects of gibberellin acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. Environmental and Experimental Botany, 62: 1-9.

susceptible genotype. Journal Agronomy and Crop Science, 186: 63-70.

47. Sakr M and Arafa A (2009) effect of some antioxidants on canola plants growth under soil salt stress condition, Pakistan Journal of Biological Sciences. 12(7):582-588.

48. Suzuki N and Mittler R (2006) Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate