



## اثر نانو ذرات نقره بر صفات فیزیولوژیک برخی اکوتیپ‌های زعفران (*Crocus sativus* L.) خراسان جنوبی تحت تنش کم آبی ملایم

بتول صابر تنها<sup>۱\*</sup>، براتعلی فاخری<sup>۲</sup>، نفیسه مهدی نژاد<sup>۳</sup>، زهره علیزاده<sup>۴</sup>

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۲. دانشیار اصلاح نباتات، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۳. استادیار اصلاح نباتات، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۴. استادیار اصلاح نباتات، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۰۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۴/۲۶

### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر تنش کم آبی و نانو ذرات نقره بر صفات فیزیولوژی در گیاه زعفران انجام شد. آزمایش در دو سطح کم آبی و نرمال بر روی ۱۰ اکوتیپ زعفران در سه سطح شاهد (آب مقطر)، ۵۵ و ۱۱۰ پی‌پی‌ام نانو ذرات نقره پیاده شد. این بررسی به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه بیرجند و پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه زابل انجام شد. بعد از تهیه نمونه‌های برگ از تمامی تیمارها، عصاره‌ی آنزیمی برای اندازه‌گیری میزان آنزیم‌ها، کلروفیل a و b، کارتنوئید و پروتئین تهیه شد. داده‌ها با نسخه ۹/۲ نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اثرات اصلی تیمارهای اکوتیپ، نانو ذره نقره، تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها برای آنزیم‌های کاتالاز، پلی فنل اکسیداز، فنیل آلانین آمونیا لیاز، کلروفیل b و کارتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. بیشترین مقدار کلروفیل b، کارتنوئید و فنیل آلانین آمونیا لیاز تحت تنش خشکی در غلظت ۵۵ پی‌پی‌ام نانو ذره نقره نسبت به شاهد و سطح ۱۱۰ پی‌پی‌ام مشاهده شد که می‌توان استدلال کرد نانو ذرات به دلیل خاصیت آب‌دوستی و آنتی باکتریال توانسته عملکرد بالایی داشته باشد. بیشترین مقدار کلروفیل a، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز تحت تنش خشکی در تیمار آب مقطر (شاهد) مشاهده شد که می‌توان استدلال کرد نانو ذره در این صفات سمیت ایجاد کرده و باعث کاهش عملکرد در سطوح نانو ذره نقره نسبت به شاهد شده است. در نتیجه اکوتیپ‌های قاین و آراین شهر در شرایط تنش خشکی تحت نانو ذرات نقره با غلظت ۵۵ پی‌پی‌ام بیشترین عملکرد داشتند.

واژه‌های کلیدی: الیسیستور، کاتالاز، کارتنوئید، کلروفیل،

### مقدمه

الیسیستورها از طریق القای پاسخ‌های دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانوی می‌شوند (Zhao et al., 2005). یکی از انواع این الیسیستورها که به‌تازگی مورد استفاده قرار گرفته است، نانو ذرات است (Vanaja and Annadurai, 2013). ذرات نانو نقره آب‌دوست با خواص ویژه و کاربرد فراوان در تکنولوژی می‌باشند. به نظر می‌رسد این ذرات با از بین بردن کامل قارچ‌ها و باکتری‌ها برخلاف سایر آنتی‌بیوتیک‌ها هیچ‌گونه مقاومتی را در

زعفران با نام علمی (*Crocus sativus* L.) دارای ۸۵ گونه بوده که از جنس زعفران، خانواده زنبق و راسته مارچوبه‌ای‌ها است (Rostami et al., 2013). زعفران یک گیاه ژئوفیت است که گلدهی آن در فصل پاییز صورت می‌گیرد (Molina et al., 2005). به دلیل اینکه بنه‌ها تنها راه تکثیر این گیاه می‌باشند و از خصوصیات گیاه محافظت می‌کنند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Keyhani and keyhani, 2004).

(*Crocus sativus* L.) خراسان جنوبی تحت تنش کم‌آبی ملایم بررسی گردید.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه بیرجند و آزمایش‌های در پژوهشکده زیست‌فناوری زابل انجام شد. آزمایش در شرایط کم‌آبی تحت اثرات نانو ذرات نقره در سه سطح آب مقطر (شاهد بدون نانوذره)، ۵۵ و ۱۱۰ پی‌پی‌ام و تنش در دو سطح کم‌آبی و نرمال به‌صورت طرح اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. اکوتیپ‌های زعفران از ۱۰ منطقه خراسان جنوبی شامل بیرجند، نصرآباد، گازار، آراین شهر، قاین، هاشمیه، سرایان، آیسک، سرند، باغستان جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفت.

### کشت و تیمار با نانو ذرات نقره

نانو ذرات نقره محصول شرکت آمریکایی US Research Nanomaterials بود که از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه شد. اندازه ذرات نانو نقره ۲۰ نانومتر، لیکوئیدی، کروی و از لحاظ ساختاری ۹۹.۹۹ درصد خالص است. قبل از کشت، زمین آماده شد. اندازه کرت‌ها ۱×۱ متر و فاصله بین کرت‌ها ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین هر بلوک یک متر در نظر گرفته شد. فاصله دو سطح تنش کم‌آبی و نرمال دو متر فاصله گذاشته شد. بنه‌ها در عمق ۱۵ سانتی‌متری و در فاصله ۲۰ سانتی‌متری از یکدیگر کشت شدند. درون هر چاله یک بنه با وزن متوسط ۸ گرم قرار داده شد در هر کرت ۲۵ بنه کشت شد و تا بهمن‌ماه، زمانی که برگ‌ها به‌اندازه کافی رشد کرده نگه‌داشته شد تا صفات با دقت بیشتری برای بررسی تأثیر نانوذره نقره اندازه‌گیری شوند. قبل از کشت، بنه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در آب مقطر (شاهد)، آب مقطر حاوی نانو ذرات نقره با غلظت‌های ۵۵ و ۱۱۰ پی‌پی‌ام خیساند شد و کشت شدند. برای جوانه‌زنی بنه‌ها، آبیاری به‌صورت کرتی و سنگین (غرقاب) انجام شد. هنگامی که زمین گاو رو شد. برای خروج بهتر جوانه‌ها سله شکنی انجام شد. بعد از خروج گل‌ها آبیاری دوم فقط برای شرایط نرمال هر سه هفته یک‌بار انجام شد.

میکروب‌ها ایجاد نمی‌کنند. ذرات نانو نقره دارای قطری در حدود یک تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشند (Park et al., 2006). تنش آبی در گیاه یا کمبود آب که به آن تنش خشکی هم اطلاق می‌شود، زمانی رخ می‌دهد که سرعت تعرق بیش از سرعت جذب آب باشد. تنش خشکی زیاد باعث کاهش فتوسنتز، اختلال در فرایندهای فیزیولوژیکی و سرانجام خشک شدن و مرگ گیاه می‌شود (Amiri Oghan et al., 2005; Shao et al., 2002). طیف وسیعی از اختلالات مولکولی که منجر به ایجاد آسیب‌های فیزیولوژیکی در گیاهان تحت تنش خشکی می‌شوند را می‌توان ناشی از تولید رادیکال‌های فعال و مخرب اکسیژن دانست. این رادیکال‌ها واکنش‌هایی را هدایت می‌کنند که سبب نابودی DNA، پراکسیداسیون چربی‌ها، تخریب پروتئین‌های غشایی و ماکرو پروتئین‌ها در سلول از جمله رنگیزه‌های کلروفیل و آنزیم‌ها می‌شوند (Hamrahi et al., 2008). پراکسیدازها متعلق به خانواده بزرگ آنزیم‌ها می‌باشند که به میزان زیاد در گیاهان وجود دارند و در جاروب کردن پراکسید هیدروژن نقش دارند. آنزیم گایاکول پراکسیداز یکی از مهم‌ترین پراکسیدازها هست (Asada, 1992). آنزیم پلی فنول اکسیداز تبدیل منوفنول‌ها را به دی فنول‌ها و همچنین اکسیداسیون دی فنول‌ها را به کوئینون‌ها که در پلی مریزاسیون رنگ‌دانه نقش دارند، کاتالیز می‌کند (Breusegem et al., 2001). کاتالاز آنتی‌اکسیدان مهم دیگری است که پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Mittier, 2002). آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز یکی از آنزیم‌های مهم در مسیر فنیل پروپانوئید و سنتز ترکیبات فنلی است که در پاسخ به برخی تنش‌های زیستی و غیر زیستی القاشده است (Tian and Li, 2006). کاروتنوئیدها عامل ایجاد رنگ‌های زرد، نارنجی و قرمز و در برخی موارد قهوه‌ای و ارغوانی در گیاهان، میکروارگانیزم‌ها و گل‌سنگ‌ها هستند (Cheng, 2006). در پژوهشی اثر سطوح تیمارهای شوری تحت تأثیر تیمارهای نانو ذرات نقره نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش درصد جوانه‌زنی زیره (*Cuminum cyminum* L.) شده است و تیمار نانو ذرات نقره با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها از عملکرد مناسب‌تر برخوردار بود (Ekhtiyari and Moraghebi, 2012).

با توجه به اهمیت زعفران، در این پژوهش اثر نانو ذرات نقره بر صفات فیزیولوژیک برخی اکوتیپ‌های زعفران

معادله (۱ و ۲) و طول موج ۴۸۰ نانومتر برای اندازه‌گیری کارتنوئید برحسب  $\mu\text{g g}^{-1}$  FW معادله (۳) انجام گرفت.

$$\text{Chlorophylla} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645})V / 100W(1)$$

$$\text{Chlorophyllb} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663})V / 100W(2)$$

$V$  = حجم محلول صاف‌شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)،  $A$  = جذب نور در طول موج‌های ۶۴۳، ۶۴۵ و ۴۸۰ نانومتر،  $W$  = وزن تر نمونه برحسب گرم

$$\text{Carotenoid} = \frac{[1000 \times A_{480} - 1.8\text{chl}a - 85.02\text{chl}b]}{198}(3)$$

$A$  بیانگر جذب نوری،  $\text{Chla}$  نشان‌دهنده کلروفیل  $a$  و  $\text{Chlb}$  نشان‌دهنده کلروفیل  $b$  است.

داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه 9.2 و Excel 2007 بررسی و تجزیه و تحلیل شدند.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثرات اصلی اکوتیپ، تنش خشکی، نانوذره نقره، اثرات متقابل دوگانه اکوتیپ×تنش خشکی، اکوتیپ×نانوذره نقره، تنش خشکی×نانوذره نقره و اثر متقابل سه‌گانه اکوتیپ×تنش خشکی×نانوذره نقره در همه صفات فیزیولوژی بررسی‌شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است.

مقایسه میانگین اثرات متقابل اکوتیپ×تنش خشکی (جدول ۲) نشان داد شاخص‌های کلروفیل  $a$  در اکوتیپ‌های قاین با میانگین ۲۹/۶۸ و آراین با میانگین ۲۸/۳۱ میکروگرم بر گرم وزن تر، کلروفیل  $b$  در اکوتیپ‌های قاین ۱۲/۳۰ و آیسک با میانگین ۹/۵۲ میکروگرم بر گرم وزن تر، کارتنوئید در اکوتیپ‌های قاین با میانگین ۱۴/۴۵ و آراین با میانگین ۱۴/۱۲ میکروگرم بر گرم وزن تر، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز در اکوتیپ آراین با میانگین ۱/۱۷۵  $\text{Mc/min/mg pro}$ ، آنزیم کاتالاز در اکوتیپ آراین با میانگین ۰/۰۰۱۱  $\text{Mc/min/mg pro}$ ، گایاکول پراکسیداز در اکوتیپ باغستان با میانگین ۰/۰۰۰۲  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$  و آنزیم پلی فنل اکسیداز در اکوتیپ بیرجند ۰/۰۲۷  $\text{Mc/min/mg pro}$  تحت تنش خشکی بالاترین میزان را داشتند. درحالی‌که در آبیاری کامل شاخص پروتئین تام در اکوتیپ‌های قاین با میانگین ۱/۱۶ و باغستان با میانگین ۱/۱۵ میلی‌گرم بر گرم، آنزیم آسکوربات در اکوتیپ قاین با ۰/۰۳۶ و سرنند ۰/۰۳۲  $\text{mM}^{-1}$

### اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی

استخراج آنزیم‌ها و پروتئین‌های محلول به شرح زیر انجام شد. مقدار ۰/۱ گرم برگ تازه که سه ماه پس از اعمال تیمار برداشت شد، در هاون چینی سرد با دو میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (اسیدیته ۶/۸) هموزن شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rpm در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (Centrifuge eppendorf 5810R) ساخت کشور آلمان) گردید. فاز بالایی عصاره به‌دست‌آمده برای اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول بر اساس روش برادفورد (Bradford, 1976) انجام شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز تغییرات جذب محلول واکنش نسبت به شاهد به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Spectrophotometer UV-2100 ساخت کشور آمریکا) در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت دو دقیقه در فواصل زمانی ۱۰ ثانیه ثبت گردید. در نهایت فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میکرو مول پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده (ضریب خاموشی ۴۰ میلی‌مولار بر سانتی‌متر در دقیقه به ازای یک میلی‌گرم پروتئین) بیان گردید (Chance and Maehly, 1955). فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بر اساس میزان اکسید شدن گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$  ۲۶/۶ محاسبه گردید (Zhang et al., 2005). فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی برای پورپوروگالین ۲/۴۷ بر میلی‌مولار بر سانتی‌متر در دقیقه به ازای یک میلی‌گرم پروتئین است (Resende et al., 2002). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به مدت یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$  ۲/۸ تعیین گردید (Nakano and Asada, 1981). جهت سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز جذب نمونه در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. یک واحد آنزیمی به‌عنوان یک میکرو مول سینامیک اسید تولیدشده در مدت یک دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین تعریف شد (Wang et al., 2006). اندازه‌گیری کلروفیل (Arnon, 1967) و کارتنوئید (Lichtenthal, 1987) انجام گرفت. اندازه‌گیری با استفاده از روش اسپکتروفوتتری (Spectrophotometer UV-2100 ساخت کشور آمریکا) و در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل  $a$  و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل  $b$  برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل A Chlorophyll A ug/g f.w	کلروفیل B Chlorophyll B ug/g f.w	کارنتنوئید Carotenoid ug/g f.w	پروتئین Protein mg/g	پلی فنل پراکسیداز Polyphenol oxidase Mc/min/mg pro	فنیل الاین امونیلایز PAL Mc/min/mg pro	کاتالاز Catalase Mc/min/mg pro	گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	آسکوربات Ascorbate mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	
Repeat	تکرار	2	10.18 <sup>ns</sup>	0.31 <sup>ns</sup>	4.48 <sup>*</sup>	0.0004 <sup>ns</sup>	0.00003 <sup>*</sup>	0.0006 <sup>ns</sup>	4.22E-9 <sup>ns</sup>	1.05E-9 <sup>ns</sup>	0.00000005 <sup>ns</sup>
Ecotype	اکوتیپ	9	229.68 <sup>**</sup>	46.98 <sup>**</sup>	45.58 <sup>**</sup>	0.0058 <sup>**</sup>	0.00019 <sup>**</sup>	0.473 <sup>**</sup>	2.05E-7 <sup>**</sup>	9.62 E-9 <sup>**</sup>	0.0003 <sup>**</sup>
Repeat×ecotype	تکرار×اکوتیپ	18	3.65	0.24	1.26	0.0006	0.000003	0.0005	3.17E-9	1.42E-9	0.000001
Drought stress	تنش خشکی	1	6.43 <sup>ns</sup>	2.97 <sup>**</sup>	9.09 <sup>**</sup>	0.0068 <sup>**</sup>	0.00003 <sup>*</sup>	0.354 <sup>**</sup>	5E-10 <sup>ns</sup>	8.88E-10 <sup>ns</sup>	0.0006 <sup>**</sup>
Silver nanoparticles	نانوذره نقره	2	53.45 <sup>**</sup>	21.85 <sup>**</sup>	25.92 <sup>**</sup>	0.0013 <sup>ns</sup>	0.00010 <sup>**</sup>	0.463 <sup>**</sup>	2.75E-8 <sup>**</sup>	4.22E-9 <sup>**</sup>	0.0001 <sup>**</sup>
Ecotype×Drought stress	اکوتیپ×تنش خشکی	9	437.84 <sup>**</sup>	89.61 <sup>**</sup>	104.85 <sup>**</sup>	0.0019 <sup>*</sup>	0.00044 <sup>**</sup>	0.522 <sup>**</sup>	3.93E-7 <sup>**</sup>	1.42E-8 <sup>**</sup>	0.0005 <sup>**</sup>
Ecotype×silver nanoparticles	اکوتیپ×نانوذره نقره	18	95.27 <sup>**</sup>	25.50 <sup>**</sup>	57.98 <sup>**</sup>	0.0023 <sup>**</sup>	0.00031 <sup>**</sup>	0.412 <sup>**</sup>	2.50E-7 <sup>**</sup>	2.21E-8 <sup>**</sup>	0.0002 <sup>**</sup>
Drought stress×silver nanoparticles	تنش خشکی×نانوذره نقره	2	136.43 <sup>**</sup>	30.37 <sup>**</sup>	90.11 <sup>**</sup>	0.0037 <sup>**</sup>	0.00015 <sup>**</sup>	0.358 <sup>**</sup>	8.86E-8 <sup>**</sup>	4.22E9 <sup>**</sup>	0.0002 <sup>**</sup>
Drought stress×silver nanoparticles	اکوتیپ×تنش خشکی×نانوذره نقره	18	61.65 <sup>**</sup>	19.12 <sup>**</sup>	31.97 <sup>**</sup>	0.0026 <sup>**</sup>	0.00057 <sup>**</sup>	0.357 <sup>**</sup>	3.12E-7 <sup>**</sup>	1.88E-8 <sup>**</sup>	0.0004 <sup>**</sup>
Error	خطا	100	5.80	0.30	1.45	0.0008	0.000008	0.00054	0.000000001	7.22E-10	0.000002
Coefficient of variation (%)	ضریب تغییرات (%)		11.91	9.18	12.55	2.64	16.30	12.27	11.12	15.11	7.52

ns, \* and\*\* represent nonsignificant and significant at 5 and 1% level, respectively

ns, \* and\*\* represent nonsignificant and significant at 5 and 1% level, respectively

لیپیدهای غشاء و سایر اجزای سلولی منجر می‌گردد (Mittier, 2002). افزایش فعالیت آنزیم‌ها در شرایط تنش بر اثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن است که با فعال کردن مسیره‌های ترانس‌سانی پیام باعث افزایش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود (Mittier, 2002).

$\text{cm}^{-1}$  بالاترین میانگین را نشان می‌دادند. یکی از دلایلی که تنش‌های محیطی مثل خشکی، رشد و توانایی فتوسنتزی گیاه را کاهش می‌دهند، اختلال در تعادل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و مکانیسم‌های دفاعی برطرف‌کننده این رادیکال‌ها است که به تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، القای تنش اکسیداتیو، خسارت به پروتئین‌ها،

جدول ۲. مقایسه میانگین اثرات متقابل اکوتیپ × تنش خشکی صفات فیزیولوژی

Table 2. Means comparison for the interaction effects of ecotypes × Drought stress on physiological traits

Traits /unit صفات / واحد	Stress level سطح تنش	Gazar گازار	Birjand بیرجند	Hashemie هاشمیه	Qaen قاین	Ayask آیسک
کلروفیل a Chlorophyll A ug/g f.w	آبیاری کامل Full Watering	21.735 <sup>de</sup>	13.903 <sup>gh</sup>	24.256 <sup>bcd</sup>	26.50 <sup>ab</sup>	18.649 <sup>ef</sup>
	تنش خشکی Drought stress	22.036 <sup>cde</sup>	26.529 <sup>ab</sup>	10.703 <sup>h</sup>	29.683 <sup>a</sup>	26.080 <sup>ab</sup>
کلروفیل b B Chlorophyll ug/g f.w	آبیاری کامل Full Watering	5.362 <sup>f</sup>	3.100 <sup>ijk</sup>	9.738 <sup>b</sup>	6.354 <sup>e</sup>	4.701 <sup>gf</sup>
	تنش خشکی Drought stress	5.388 <sup>f</sup>	7.557 <sup>d</sup>	2.968 <sup>jk</sup>	12.303 <sup>a</sup>	9.522 <sup>b</sup>
کارتنوئید Carotenoid ug/g f.w	آبیاری کامل Full Watering	9.892 <sup>def</sup>	6.078 <sup>jk</sup>	12.627 <sup>abc</sup>	10.852 <sup>cde</sup>	8.725 <sup>fgh</sup>
	تنش خشکی Drought stress	9.555 <sup>def</sup>	12.020 <sup>c</sup>	4.635 <sup>k</sup>	14.458 <sup>a</sup>	12.375 <sup>bc</sup>
پروتئین Protein Mg/g	آبیاری کامل Full Watering	1.127 <sup>abcd</sup>	1.117 <sup>bcd</sup>	1.107 <sup>bcd</sup>	1.168 <sup>a</sup>	1.123 <sup>abcd</sup>
	تنش خشکی Drought stress	1.115 <sup>bcd</sup>	1.086 <sup>d</sup>	1.119 <sup>bcd</sup>	1.117 <sup>bcd</sup>	1.131 <sup>abcd</sup>
پلی فنل پراکسیداز Polyphenol peroxidase Mc/min/mg pro	آبیاری کامل Full Watering	0.009 <sup>hi</sup>	0.023 <sup>abc</sup>	0.026 <sup>ab</sup>	0.013 <sup>fghi</sup>	0.011 <sup>ghi</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.020 <sup>cd</sup>	0.027 <sup>a</sup>	0.008 <sup>i</sup>	0.014 <sup>fgh</sup>	0.020 <sup>cde</sup>
فنیل الاین امونیاپاز PAL Mc/min/mg pro	آبیاری کامل Full Watering	0.082 <sup>h</sup>	0.186 <sup>b</sup>	0.131 <sup>def</sup>	0.162 <sup>bcd</sup>	0.157 <sup>bcde</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.171 <sup>bc</sup>	0.118 <sup>efgh</sup>	0.151 <sup>bcde</sup>	0.138 <sup>cdef</sup>	0.118 <sup>efgh</sup>
کاتالاز Catalase Mc/min/mg pro	آبیاری کامل Full Watering	0.00032 <sup>i</sup>	0.00084 <sup>b</sup>	0.00054 <sup>gh</sup>	0.00070 <sup>cd</sup>	0.00066 <sup>c-f</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.00073 <sup>bc</sup>	0.00064 <sup>c-g</sup>	0.00068 <sup>cde</sup>	0.00058 <sup>d-h</sup>	0.00053 <sup>gh</sup>
گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$	آبیاری کامل Full Watering	0.00018 <sup>b-e</sup>	0.00018 <sup>b-e</sup>	0.00013 <sup>fg</sup>	0.00021 <sup>abc</sup>	0.00014 <sup>efg</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.00016 <sup>c-g</sup>	0.00018 <sup>b-e</sup>	0.00022 <sup>ab</sup>	0.00020 <sup>a-d</sup>	0.00013 <sup>fg</sup>
آسکوربات Ascorbate $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$	آبیاری کامل Full Watering	0.0151 <sup>hi</sup>	0.0176 <sup>gh</sup>	0.0281 <sup>cd</sup>	0.0367 <sup>a</sup>	0.0262 <sup>de</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.0257 <sup>de</sup>	0.0224 <sup>f</sup>	0.0187 <sup>g</sup>	0.0153 <sup>hi</sup>	0.0183 <sup>g</sup>

جدول ۲. ادامه

Table 2. Continued

Traits /unit صفات / واحد	Stress level سطح تنش	Sarand سرنند	Ariyan shahr آرین شهر	Baghestan باغستان	Nasrabad نصرآباد	Sarayan سرایان
کلروفیل a ChlorophyllA ug/g f.w	آبیاری کامل Full Watering	23.471 <sup>bcd</sup>	13.692 <sup>gh</sup>	18.972 <sup>ef</sup>	13.286 <sup>gh</sup>	25.929 <sup>abc</sup>
	تنش خشکی Drought stress	13.748 <sup>gh</sup>	28.313 <sup>a</sup>	17.099 <sup>gf</sup>	16.225 <sup>gf</sup>	13.760 <sup>gh</sup>
کلروفیل b B Chlorophyll ug/g f.w	آبیاری کامل Full Watering	7.821 <sup>d</sup>	5.203 <sup>f</sup>	4.201 <sup>gh</sup>	3.874 <sup>ghij</sup>	8.140 <sup>cd</sup>
	تنش خشکی Drought stress	2.928 <sup>k</sup>	8.893 <sup>bc</sup>	3.961 <sup>ghi</sup>	3.636 <sup>hijk</sup>	3.910 <sup>ghi</sup>
کارتنوئید Carotenoid ug/g f.w	آبیاری کامل Full Watering	11.547 <sup>cd</sup>	6.897 <sup>hij</sup>	8.262 <sup>fghj</sup>	6.623 <sup>ijk</sup>	12.404 <sup>abc</sup>
	تنش خشکی Drought stress	9.154 <sup>efg</sup>	14.124 <sup>ab</sup>	7.835 <sup>fghij</sup>	7.109 <sup>ghij</sup>	7.138 <sup>ghij</sup>
پروتئین Protein Mg/g	آبیاری کامل Full Watering	1.137 <sup>abc</sup>	1.092 <sup>cd</sup>	1.150 <sup>ab</sup>	1.110 <sup>bcd</sup>	1.106 <sup>bcd</sup>
	تنش خشکی Drought stress	1.145 <sup>ab</sup>	1.087 <sup>cd</sup>	1.116 <sup>bcd</sup>	1.094 <sup>cd</sup>	1.104 <sup>bcd</sup>
پلی فنل پراکسیداز Polyphenol peroxidase Mc/min/mg pro	آبیاری کامل Full Watering	0.026 <sup>ab</sup>	0.013 <sup>fghi</sup>	0.017 <sup>def</sup>	0.021 <sup>bcd</sup>	0.015 <sup>fg</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.015 <sup>efg</sup>	0.023 <sup>abc</sup>	0.017 <sup>def</sup>	0.012 <sup>ghi</sup>	0.025 <sup>abc</sup>
فنیل آلانین امونیا لیا ز PAL Mc/min/mg pro	آبیاری کامل Full Watering	0.163 <sup>bcd</sup>	0.125 <sup>defg</sup>	0.141 <sup>cdef</sup>	0.152 <sup>bcde</sup>	0.155 <sup>bede</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.146 <sup>cde</sup>	1.175 <sup>a</sup>	0.128 <sup>defg</sup>	0.104 <sup>fgh</sup>	0.091 <sup>gh</sup>
کاتالاز Catalase Mc/min/mg pro	آبیاری کامل Full Watering	0.00073 <sup>bc</sup>	0.00056 <sup>fgh</sup>	0.00060 <sup>d-h</sup>	0.00070 <sup>cd</sup>	0.00066 <sup>c-f</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.00057 <sup>e-h</sup>	0.00118 <sup>a</sup>	0.00051 <sup>h</sup>	0.00052 <sup>h</sup>	0.00038 <sup>i</sup>
گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	آبیاری کامل Full Watering	0.00013 <sup>fg</sup>	0.00014 <sup>efg</sup>	0.00017 <sup>b-f</sup>	0.00022 <sup>ab</sup>	0.00021 <sup>abc</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.00020 <sup>a-d</sup>	0.00015 <sup>d-g</sup>	0.00024 <sup>a</sup>	0.00016 <sup>c-g</sup>	0.00012 <sup>g</sup>
آسکوربات Ascorbate mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	آبیاری کامل Full Watering	0.0325 <sup>b</sup>	0.0198 <sup>g</sup>	0.0239 <sup>ef</sup>	0.0145 <sup>i</sup>	0.0128 <sup>i</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.0140 <sup>i</sup>	0.0128 <sup>i</sup>	0.0296 <sup>c</sup>	0.0128 <sup>i</sup>	0.0194 <sup>g</sup>

پروتئین تام در اکوتیپ سرنند با میانگین ۱/۱۶۹ میلی‌گرم بر گرم، آنزیم پلی فنل اکسیداز در اکوتیپ سرنند با میانگین ۰/۰۳۳ Mc/min/mg pro، آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز و کاتالاز در اکوتیپ آرین با میانگین به ترتیب ۱/۶۰۳ و ۰/۰۰۱۲ Mc/min/mg pro، آسکوربات پراکسیداز در اکوتیپ سرنند با میانگین ۰/۰۳۲ mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> در تیمار نانوذره نقره ۵۵ پی‌پی‌ام مشاهده شد. نانو ذرات، همانند سایر تنش‌های غیر زیستی، تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن را القا می‌کنند که در غلظت‌های بالا برای سلول

مقایسه میانگین اثرات اکوتیپ-نانوذره نقره (جدول ۳) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a در اکوتیپ قاین با میانگین ۲۹/۶۰ میکروگرم بر گرم وزن تر و آنزیم گایاکول پراکسیداز در اکوتیپ‌های باغستان و قاین با میانگین به ترتیب ۰/۰۰۰۳ و ۰/۰۰۰۲ mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> در شاهد مشاهده شد. بیشترین مقدار کلروفیل b در اکوتیپ‌های قاین و آرین به ترتیب با میانگین‌های ۱۲/۱۷ و ۱۰/۴۳ میکروگرم بر گرم وزن تر، کارتنوئید در اکوتیپ‌های قاین و آرین به ترتیب با میانگین‌های ۱۵/۸۷ و ۱۵/۶۹ میکروگرم بر گرم وزن تر،

ثانویه مثل فلاونوئیدها و افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌شوند و این شاید به خاطر تأثیر نانو ذرات نقره بر آنزیم‌های تولیدکننده این ترکیبات است. نانو ذرات نقره توانایی تغییر در رشد گیاه و تغییر تولید متابولیت‌های ثانویه را دارند (Najafi et al., 2013). در مطالعاتی که روی زعفران صورت گرفته مشاهده شد که با اسپری کردن نانو ذرات نقره وزن ریشه و بنه زعفران افزایش یافته است (Rezvani et al., 2012).

زیان‌آور هستند (Hong et al., 2005). افزایش در سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان القاشده توسط نانو ذرات، نشان‌دهنده مکانیسم دفاعی ثانویه علیه تنش اکسیداتیو است (Dixit et al., 2001). در مطالعه‌ای اثر نانو و میدان مغناطیسی به‌صورت جداگانه و باهم بر ویژگی‌های رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه *Phausalus vulgaries* بررسی و مشخص شد که در غلظت‌های پایین نانو ذرات نقره سبب افزایش رشد گیاه و افزایش برخی متابولیت‌های

جدول ۳. مقایسه میانگین اثرات متقابل اکوتیپ «نانوذره نقره» صفات فیزیولوژی

Table 3. Means comparison for the interaction effects of silver nanoparticles × ecotypes on physiological traits

صفات/واحد Traits/ unit	سطوح نانو nano-evel	Gazar گازار	Birjand بیرجند	Hashemihe هاشمیه	Qaen قاین	Ayask آیسک
کلروفیل a ChlorophyllA ug/g f.w	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	22.37 <sup>b-i</sup> 21.28 <sup>d-k</sup> 22 <sup>c-j</sup>	23.33 <sup>b-g</sup> 17.32 <sup>i-m</sup> 19.99 <sup>f-l</sup>	21.24 <sup>e-k</sup> 16.21 <sup>k-m</sup> 14.98 <sup>l-n</sup>	29.60 <sup>a</sup> 27.18 <sup>abc</sup> 27.49 <sup>ab</sup>	18.09 <sup>h-l</sup> 22.61 <sup>b-h</sup> 26.38 <sup>a-c</sup>
کلروفیل B Chlorophyll ug/g f.w	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	5.65 <sup>h-j</sup> 5.15 <sup>j-l</sup> 5.32 <sup>i-k</sup>	6.62 <sup>e-h</sup> 4.39 <sup>k-m</sup> 4.97 <sup>j-m</sup>	6 <sup>g-j</sup> 7.29 <sup>c-f</sup> 5.75 <sup>g-j</sup>	7.77 <sup>c-e</sup> 12.17 <sup>a</sup> 8.03 <sup>cd</sup>	5.92 <sup>g-j</sup> 10.05 <sup>b</sup> 5.35 <sup>i-k</sup>
کارتنوئید Carotenoid ug/g f.w	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	10.67 <sup>d-f</sup> 9.05 <sup>e-i</sup> 9.44 <sup>e-i</sup>	10.08 <sup>e-h</sup> 7.83 <sup>h-k</sup> 9.23 <sup>e-i</sup>	9.44 <sup>e-i</sup> 8.46 <sup>f-j</sup> 7.98 <sup>f-j</sup>	9.10 <sup>e-i</sup> 15.87 <sup>a</sup> 13.87 <sup>a-c</sup>	8.21 <sup>f-j</sup> 14 <sup>a-c</sup> 8.54 <sup>f-l</sup>
پروتئین Protein mg/g	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	1.106 <sup>a-e</sup> 1.119 <sup>a-e</sup> 1.139 <sup>a-d</sup>	1.102 <sup>b-e</sup> 1.112 <sup>a-e</sup> 1.090 <sup>de</sup>	1.104 <sup>b-e</sup> 1.122 <sup>a-d</sup> 1.113 <sup>a-e</sup>	1.121 <sup>a-e</sup> 1.143 <sup>a-d</sup> 1.163 <sup>ab</sup>	1.140 <sup>a-d</sup> 1.135 <sup>a-d</sup> 1.105 <sup>a-e</sup>
پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase mc/min/mg pro	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	0.008 <sup>k</sup> 0.017 <sup>e-h</sup> 0.019 <sup>c-g</sup>	0.031 <sup>a</sup> 0.020 <sup>c-e</sup> 0.024 <sup>bc</sup>	0.019 <sup>c-g</sup> 0.020 <sup>c-f</sup> 0.0128 <sup>h-k</sup>	0.018 <sup>c-h</sup> 0.0128 <sup>h-k</sup> 0.010 <sup>i-k</sup>	0.027 <sup>ab</sup> 0.009 <sup>jk</sup> 0.010 <sup>i-k</sup>
فنیل الاین PAL Mc/min/mg pro	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	0.083 <sup>k</sup> 0.176 <sup>c-f</sup> 0.119 <sup>i-k</sup>	0.135 <sup>e-j</sup> 0.190 <sup>b-d</sup> 0.133 <sup>e-k</sup>	0.183 <sup>c-e</sup> 0.090 <sup>jk</sup> 0.150 <sup>d-i</sup>	0.210 <sup>bc</sup> 0.116 <sup>i-k</sup> 0.125 <sup>g-k</sup>	0.115 <sup>i-k</sup> 0.126 <sup>f-k</sup> 0.173 <sup>c-g</sup>
کاتالاز Catalase mc/min/mg pro	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	0.0003 <sup>m</sup> 0.0007 <sup>c-e</sup> 0.0004 <sup>i-m</sup>	0.0006 <sup>f-j</sup> 0.0008 <sup>b-d</sup> 0.0007 <sup>b-e</sup>	0.0008 <sup>b-d</sup> 0.0003 <sup>lm</sup> 0.0006 <sup>e-i</sup>	0.0009 <sup>bc</sup> 0.0004 <sup>j-m</sup> 0.0005 <sup>f-k</sup>	0.0004 <sup>i-m</sup> 0.0005 <sup>g-l</sup> 0.0007 <sup>b-e</sup>
گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	0.00013 <sup>gh</sup> 0.00015 <sup>f-h</sup> 0.0002 <sup>bc</sup>	0.0001 <sup>d-g</sup> 0.00015 <sup>f-h</sup> 0.00015 <sup>f-h</sup>	0.0001 <sup>d-g</sup> 0.0002 <sup>c-f</sup> 0.0001 <sup>f-h</sup>	0.0002 <sup>b</sup> 0.0002 <sup>c-f</sup> 0.00015 <sup>f-h</sup>	0.0001 <sup>f-h</sup> 0.00010 <sup>h</sup> 0.00016 <sup>e-g</sup>
آسکوربات Ascorbate mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	0.0160 <sup>l-n</sup> 0.028 <sup>bc</sup> 0.016 <sup>k-m</sup>	0.028 <sup>bc</sup> 0.015 <sup>m-o</sup> 0.016 <sup>k-m</sup>	0.025 <sup>c-e</sup> 0.018 <sup>j-l</sup> 0.026 <sup>cd</sup>	0.023 <sup>d-g</sup> 0.025 <sup>c-f</sup> 0.029 <sup>ab</sup>	0.21 <sup>g-j</sup> 0.022 <sup>e-h</sup> 0.022 <sup>e-h</sup>

جدول ۳. ادامه

Table 3. Continued

Traits/ صفات/ واحد unit	سطوح نانو nano-level	Sarand سرند	Ariyan shahr آرین شهر	Baghestan باغستان	Nasrabad نصرآباد	Sarayan سرایان
a کلروفیل ChlorophyllA ug/g f.w	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	22.45 <sup>b-i</sup> 21.22 <sup>e-k</sup> 12.14 <sup>mn</sup>	20.06 <sup>f-l</sup> 26.48 <sup>a-d</sup> 16.46 <sup>k-m</sup>	16.93 <sup>j-m</sup> 18.88 <sup>g-l</sup> 18.27 <sup>g-l</sup>	16.86 <sup>j-m</sup> 10.29 <sup>n</sup> 17.11 <sup>j-m</sup>	21.76 <sup>d-j</sup> 12.85 <sup>mn</sup> 24.91 <sup>a-f</sup>
B b کلروفیل Chlorophyll ug/g f.w	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	7.41 <sup>c-f</sup> 6.02 <sup>g-j</sup> 2.68 <sup>no</sup>	6.46 <sup>f-l</sup> 10.43 <sup>b</sup> 4.24 <sup>k-m</sup>	3.77 <sup>m-n</sup> 4.35 <sup>k-m</sup> 4.12 <sup>l-m</sup>	5.19 <sup>j-l</sup> 1.91 <sup>o</sup> 4.15 <sup>k-m</sup>	6.86 <sup>d-g</sup> 2.68 <sup>no</sup> 8.41 <sup>c</sup>
کارتنوئید Carotenoid ug/g f.w	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	11.32 <sup>c-e</sup> 14.49 <sup>ab</sup> 5.23 <sup>kl</sup>	9 <sup>e-i</sup> 15.69 <sup>a</sup> 6.83 <sup>i-k</sup>	7.72 <sup>h-k</sup> 8.17 <sup>f-j</sup> 8.24 <sup>f-j</sup>	8.90 <sup>e-i</sup> 3.78 <sup>l</sup> 7.91 <sup>g-k</sup>	10.58 <sup>d-g</sup> 5.82 <sup>j-l</sup> 12.90 <sup>b-d</sup>
پروتئین Protein mg/g	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	1.115 <sup>a-e</sup> 1.169 <sup>a</sup> 1.139 <sup>a-d</sup>	1.116 <sup>a-e</sup> 1.060 <sup>e</sup> 1.094 <sup>de</sup>	1.132 <sup>a-d</sup> 1.158 <sup>abc</sup> 1.110 <sup>a-e</sup>	1.098 <sup>c-e</sup> 1.115 <sup>a-e</sup> 1.094 <sup>c-e</sup>	1.101 <sup>b-e</sup> 1.095 <sup>c-e</sup> 1.119 <sup>a-e</sup>
پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase mc/min/mg pro	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	0.013 <sup>g-k</sup> 0.033 <sup>a</sup> 0.014 <sup>e-k</sup>	0.015 <sup>e-j</sup> 0.016 <sup>e-i</sup> 0.023 <sup>cd</sup>	0.014 <sup>e-k</sup> 0.014 <sup>e-k</sup> 0.024 <sup>bc</sup>	0.015 <sup>e-j</sup> 0.020 <sup>c-e</sup> 0.014 <sup>f-j</sup>	0.031 <sup>a</sup> 0.0128 <sup>h-k</sup> 0.016 <sup>e-i</sup>
فنیل آلانین آمونیا لیاز PAL mc/min/mg pro	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	0.156 <sup>d-i</sup> 0.171 <sup>c-h</sup> 0.136 <sup>e-j</sup>	0.233 <sup>b</sup> 1.603 <sup>a</sup> 0.115 <sup>i-k</sup>	0.121 <sup>h-k</sup> 0.150 <sup>d-i</sup> 0.133 <sup>e-k</sup>	0.113 <sup>i-k</sup> 0.178 <sup>c-e</sup> 0.093 <sup>jk</sup>	0.120 <sup>i-k</sup> 0.110 <sup>i-k</sup> 0.140 <sup>d-j</sup>
کاتالاز Catalase mc/min/mg pro	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	0.0006 <sup>e-g</sup> 0.0007 <sup>b-c</sup> 0.0005 <sup>g-l</sup>	0.0009 <sup>b</sup> 0.0012 <sup>a</sup> 0.0005 <sup>h-l</sup>	0.0005 <sup>h-l</sup> 0.0006 <sup>e-h</sup> 0.0005 <sup>g-l</sup>	0.0007 <sup>d-f</sup> 0.0004 <sup>k-m</sup> 0.0007 <sup>d-f</sup>	0.0004 <sup>i-m</sup> 0.0004 <sup>j-m</sup> 0.0006 <sup>e-i</sup>
گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	0.0002 <sup>c-f</sup> 0.00015 <sup>f-h</sup> 0.00015 <sup>f-h</sup>	0.0001 <sup>h</sup> 0.0002 <sup>b-e</sup> 0.00013 <sup>gh</sup>	0.0003 <sup>a</sup> 0.00016 <sup>e-g</sup> 0.0001 <sup>gh</sup>	0.00015 <sup>f-h</sup> 0.0002 <sup>bcd</sup> 0.0001 <sup>d-g</sup>	0.00016 <sup>e-g</sup> 0.0001 <sup>h</sup> 0.0002 <sup>b-d</sup>
آسکوربات Ascorbate mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	صفر (0) 55 ppm 110 ppm	0.025 <sup>c-f</sup> 0.032 <sup>a</sup> 0.011 <sup>pq</sup>	0.022 <sup>f-i</sup> 0.012 <sup>o-p</sup> 0.014 <sup>m-p</sup>	0.020 <sup>g-j</sup> 0.020 <sup>ab</sup> 0.029 <sup>ab</sup>	0.013 <sup>n-p</sup> 0.019 <sup>i-l</sup> 0.008 <sup>q</sup>	0.014 <sup>m-p</sup> 0.019 <sup>g-i</sup> 0.014 <sup>m-p</sup>

نانو ذرات نقره تحت عدم تنش خشکی مشاهده شد. نانو نقره می‌تواند به دیواره سلولی نفوذ کرده و تغییر در نفوذپذیری دیواره ایجاد کند و با تغییر در جذب و دفع مواد توسط دیواره روی بسیاری از فرآیندهای داخل سلول تأثیرگذار باشد. (Alirezaee et al., 2014). یکی از خصوصیات منحصربه‌فرد نانو ذرات قدرت نفوذپذیری بالا است که به سبب ابعاد در محدوده نانو صورت می‌گیرد. لذا نانو ذرات به راحتی می‌توانند از دهانه روزنه با محدوده میکرون به راحتی عبور کنند. از سوی دیگر، اگرچه دیواره سلول گیاهی به مثابه یک سد از ورود عوامل خارجی جلوگیری می‌کند، نانو ذرات با قطر کمتر از ۲۰ نانومتر می‌توانند به راحتی از حفرات دیواره سلولی عبور کنند و وارد فضای داخلی سلول و غشای پلاسمایی شوند (Moore, 2006).

مقایسه میانگین اثرات متقابل دوگانه تنش خشکی×نانو ذرات نقره (جدول ۴) نشان داد بیشترین مقدار کلروفیل b با میانگین ۷/۰۷ میکروگرم بر گرم وزن تر، کارتنوئید با میانگین ۱۱/۶۹ میکروگرم بر گرم وزن تر، فنیل آلانین آمونیا لیاز با میانگین ۰/۴۲ Mc/min/mg pro و کاتالاز با میانگین ۰/۰۰۰۶۸ Mc/min/mg pro در تنش خشکی تحت تیمار ۵۵ پی‌پی‌ام نانوذره نقره مشاهده شد. کلروفیل a با میانگین ۲۲/۷۳ میکروگرم بر گرم وزن تر و پلی فنل اکسیداز با میانگین ۰/۰۲ Mc/min/mg pro تحت تنش خشکی در شاهد بالاترین میزان تولید را داشتند. بیشترین مقدار گایاکول پراکسیداز با میانگین ۰/۰۰۰۱۹ mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> و آسکوربات پراکسیداز با میانگین ۰/۰۲۳ mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> تحت عدم خشکی در شاهد مشاهده شد. بیشترین مقدار پروتئین تام با میانگین ۱/۱۳ میلی‌گرم بر گرم در غلظت ۵۵ پی‌پی‌ام



جدول ۴. مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی × نانو ذرات نقره بر صفات فیزیولوژی

Table 4. Means comparison of interaction effects of drought stress × silver nanoparticles on physiological traits

صفات / واحد Traits / unit	سطح تنش Stress level	صفر (0)	55 ppm	110 ppm
کلروفیل a Chlorophyll A ug/g f.w	آبیاری کامل Full Watering	19.810 <sup>bc</sup>	18.855 <sup>c</sup>	21.453 <sup>ab</sup>
	تنش خشکی Drought stress	22.735 <sup>a</sup>	20.016 <sup>bc</sup>	18.501 <sup>c</sup>
کلروفیل b Chlorophyll B ug/g f.w	آبیاری کامل Full Watering	5.714 <sup>c</sup>	5.841 <sup>c</sup>	5.993 <sup>c</sup>
	تنش خشکی Drought stress	6.626 <sup>b</sup>	7.076 <sup>a</sup>	4.618 <sup>d</sup>
کارتنوئید Carotenoid ug/g f.w	آبیاری کامل Full Watering	9.147 <sup>cd</sup>	8.943 <sup>d</sup>	10.083 <sup>b</sup>
	تنش خشکی Drought stress	9.863 <sup>bc</sup>	11.699 <sup>a</sup>	7.959 <sup>e</sup>
پروتئین Protein Mg/g	آبیاری کامل Full Watering	1.111 <sup>bc</sup>	1.133 <sup>a</sup>	1.128 <sup>ab</sup>
	تنش خشکی Drought stress	1.117 <sup>abc</sup>	1.112 <sup>abc</sup>	1.106 <sup>c</sup>
پلی فنل پراکسیداز Polyphenol peroxidase Mc/min/mg pro	آبیاری کامل Full Watering	0.017 <sup>bc</sup>	0.019 <sup>b</sup>	0.016 <sup>c</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.021 <sup>a</sup>	0.016 <sup>bc</sup>	0.017 <sup>bc</sup>
فنیل آلانین آمونیالیاز PAL Mc/min/mg pro	آبیاری کامل Full Watering	0.146 <sup>bcd</sup>	0.157 <sup>b</sup>	0.133 <sup>cd</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.148 <sup>bc</sup>	0.425 <sup>a</sup>	0.130 <sup>d</sup>
کاتالاز Catalase Mc/min/mg pro	آبیاری کامل Full Watering	0.00063 <sup>b</sup>	0.00066 <sup>ab</sup>	0.00065 <sup>ab</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.00062 <sup>bc</sup>	0.00068 <sup>a</sup>	0.00057 <sup>c</sup>
گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	آبیاری کامل Full Watering	0.00019 <sup>a</sup>	0.00016 <sup>b</sup>	0.00016 <sup>b</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.00018 <sup>ab</sup>	0.00018 <sup>ab</sup>	0.00017 <sup>ab</sup>
آسکورات Ascorbate mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	آبیاری کامل Full Watering	0.023 <sup>a</sup>	0.022 <sup>b</sup>	0.023 <sup>ab</sup>
	تنش خشکی Drought stress	0.019 <sup>c</sup>	0.022 <sup>ab</sup>	0.014 <sup>d</sup>

کلروفیل b با میانگین ۱۸/۹۰ میکروگرم بر گرم وزن تر و کارتنوئید با میانگین ۲۱/۳۷ میکروگرم بر گرم وزن تر در اکوتیپ قاین و فنیل آلانین آمونیالیاز با میانگین ۳/۰۰ Mc/min/mg pro در اکوتیپ آراین تحت تنش خشکی در غلظت ۵۵ پی‌بی‌ام نانوذره نقره مشاهده شد. بیشترین مقدار پروتئین تام با میانگین ۱/۲۱ میلی‌گرم بر گرم در آبیاری کامل در غلظت ۱۱۰ پی‌بی‌ام نانوذره نقره در اکوتیپ قاین مشاهده شد. بیشترین مقدار آسکورات پراکسیداز با

مقایسه میانگین اثرات متقابل سه‌گانه اکوتیپ × تنش خشکی × نانو ذرات نقره (جدول ۵) نشان داد بیشترین مقدار کلروفیل a با میانگین ۳۳/۶۵ میکروگرم بر گرم وزن تر در اکوتیپ قاین، کاتالاز با میانگین ۰/۰۰۱۶ Mc/min/mg pro در اکوتیپ آراین، پلی فنل اکسیداز با میانگین ۰/۰۵ Mc/min/mg pro در اکوتیپ بیرجند، گایاکول پراکسیداز با میانگین ۰/۰۰۴ mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> در اکوتیپ نصرآباد تحت تنش خشکی در شاهد مشاهده شد. بیشترین مقدار

جلوگیری کند در نتیجه میزان آن افزایش می‌یابد (Purvis, 1980). در آزمایش حاضر این افزایش در کلروفیل b دیده می‌شود. افزایش میزان کلروفیل در اثر تیمار نانو نقره می‌تواند به دلیل اثر بازدارندگی آن بر روی اتیلن باشد (Reid et al., 1989). اتیلن باعث انتقال اکسین و کاهش میزان کلروفیل و مرگومیر بافت‌ها می‌شود (Lentini et al., 1988). همچنین گزارش شده است که  $Ag^+$  با اتصال به گیرنده‌های اتیلن و با کاهش تولید اتیلن و تحریک بیوسنتز پلی‌آمین‌ها اثر خود را اعمال می‌نماید (Roustan et al., 1990). در تحقیقی که روی شمعدانی واریته Foxy انجام گرفت، کلروفیل‌های a و b و کل در تیمار ۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره بیشترین میزان را نشان دادند (Hatami and Ghorbanpour, 2014). تیمار ۱۵ پی‌پی‌ام نانو ذرات نقره منجر به بیشترین افزایش میزان کلروفیل در گیاه گل مریم شد (Asgari et al., 2013). نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام میزان کلروفیل a و b را در برگ‌های ماش سبز (Vigna radiate) به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش می‌دهد (Najafi and Jamei, 2014). میزان کارتنوئید در سطح ۵۵ پی‌پی‌ام نانو ذرات نقره تحت تنش خشکی نسبت به شاهد آبیاری و خشکی افزایش داشت. کارتنوئیدها از جمله مهم‌ترین و باارزش‌ترین متابولیت‌های ثانویه در موجودات زنده هستند که دارای یک محدوده بزرگ از وظایف ساختاری، اعمال فیزیولوژیک و همچنین بیولوژیک می‌باشند (Hariri et al., 2009). کارتنوئیدها ترکیبات تتراترپنی می‌باشند که وظیفه حفظ کلروفیل از اکسیداسیون نوری، جذب نور و انتقال انرژی به کلروفیل a را بر عهده دارند (Devlin and Withman, 2002). همچنین به‌عنوان حامی رنگیزه‌های غیر فتوسنتزی شناخته شده‌اند که می‌توانند انرژی اضافی طول‌موج‌های کوتاه را بگیرند و اکسیژن یک تایی را به اکسیژن سه‌تایی تبدیل کرده و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی از خود بروز دهند (Inze and Montagu, 2000). میزان کارتنوئید در گیاهان مختلف با بالا رفتن غلظت فلز می‌تواند افزایش یا کاهش نشان دهد. در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*) با افزایش غلظت سولفات مس (تا ۱۵۰۰ میکرو مول) میزان کارتنوئیدها روند افزایشی نشان داد (Ghorbanli and Kiapour, 2012). در پژوهشی اختلاف معنی‌داری بین شاهد و سایر سطوح نانو ذرات نقره در هر دو رقم آنتونی و بلوواندر در محتوای کلروفیل a و کارتنوئید وجود

میانگین  $0.45 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  تحت تنش خشکی در غلظت ۵۵ پی‌پی‌ام در اکوتیپ گازار و در شاهد اکوتیپ سرند در شاهد با میانگین  $0.45 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  مشاهده شد. نانو ذرات باعث بسیاری از تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در گیاهان می‌شوند که البته اثر آن‌ها به ترکیب شیمیایی، اندازه، سطح پوشش، واکنش‌پذیری و از همه مهم‌تر دوز آن‌ها وابسته است. (Khodakovskaya et al., 2012). محققان پیشنهاد کرده‌اند هر دو اثر مثبت و منفی بر روی رشد و توسعه گیاه و تأثیر نانو ذرات مهندسی‌شده بر روی گیاهان به ترکیب، غلظت، اندازه و خواص فیزیکی و شیمیایی نانو ذرات و همچنین گونه گیاهی بستگی دارد (Ma et al., 2010). میزان کلروفیل a تحت تنش خشکی در شاهد نسبت به سطوح نانو ذرات تحت تنش و سطوح نانو ذرات تحت آبیاری افزایش داشته است، کلروفیل نقشی یگانه و اثرگذار در زندگی گیاهان آلی دارد (Eckhart et al., 2004). از آنجاکه محتویات کلروفیلی گیاه یکی از پارامترهای شاخص عملکرد هورمون اتیلن است (Jones et al., 1997). برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که فلزات سنگین می‌توانند در غلظت‌های پایین سبب افزایش میزان کلروفیل a و b (John et al., 2008; Ghorbanli and Kiapour, 2012) و در غلظت‌های بالا موجب کاهش این رنگ‌دانه‌ها شوند (John et al., 2009). حضور فلزات سنگین مثل نقره در منطقه ریزوسفر و ورود آن به گیاه باعث کاهش رشد شده و متابولیسم سلولی را بر هم می‌زند؛ بنابراین فرآیندهای مهمی مانند انتقال آب، فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، فتوسنتز و مقدار کلروفیل اثر منفی می‌گذارد (Vitoria et al., 2006). اثرات مستقیم فلزات سنگین بر واکنش‌های نوری فتوسنتز شامل تأثیر بر احیا NADP و فسفریلاسیون نوری و اثرات غیرمستقیم آن بر فرآیند سنتز و تجزیه کلروفیل، تغییر در نسبت کلروفیل a به b و رقابت با سایر عوامل ضروری است (Aggarwal et al., 2011). در صورتی که میزان کلروفیل b در سطح ۵۵ پی‌پی‌ام نانو ذرات نقره تحت تنش خشکی نسبت به شاهد آبیاری و خشکی افزایش نشان داد. در گزارشی بیان شد که اتیلن باعث افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز و تخریب غشای داخلی کلروپلاست می‌شود، درحالی‌که نیترا نقره ppm ۱۰۰ باعث کاهش تولید اتیلن و کاهش تخریب کلروفیل در میوه calamondin می‌شود. نانو نقره با تأثیری که بر روی رسپتور اتیلن می‌گذارد می‌تواند از تخریب کلروفیل

آنتونی و بلوواندر تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز مشاهده کردند. همچنین افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بین دو رقم در غلظت‌های ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره مشاهده کردند (Hatami et al., 2014). میزان پلی فنل اکسیداز شاهد تحت تنش خشکی نسبت به شاهد آبیاری و سطوح نانو ذرات افزایش یافت. پلی‌فنل اکسیدازها با استفاده از مولکول اکسیژن به‌عنوان دهنده‌ی الکترون تبدیل  $O - O$  دی فنل‌ها به  $O - O$  دی کوئینون‌ها را کاتالیز می‌کنند (Somner et al., 1994). در پژوهشی افزایش میزان نانو نقره از ۲۰ به ۶۰ ppm باعث افزایش محصول سیب‌زمینی و کاهش پلی فنل شد (Safavi, 2012). در پژوهشی دیگر بر روی گیاه الوورا، تأثیر نانو ذرات نقره بر تولید مهم‌ترین متابولیت ثانویه این گیاه Aloin نشان داد که با افزایش غلظت نانو نقره بیومس افزایش و تولید متابولیت ثانویه کاهش یافت. شاید این اتفاق به‌این علت باشد که نانو ذرات نقره می‌تواند بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در رشد سلول اثر بگذارد (Raei et al., 2014). میزان آنزیم کاتالاز شاهد خشکی نسبت به شاهد آبیاری و سطوح نانو ذرات افزایش یافت. کاتالازها به‌طور عمده در سیتوزول، میتوکندری و پراکسی‌زوم‌ها یافت می‌شوند. کاتالازها در سه کلاس طبقه‌بندی می‌شوند. کلاس I: که به مقدار زیادی در برگ‌ها بیان می‌شوند و وابسته به نور می‌باشند و پراکسید هیدروژن را در طول تنفس نوری حذف می‌کنند. کلاس II: که به‌طور عمده در بافت‌های آوندی یافت می‌شوند. کلاس III: به‌طور غالب در گلی اکسی‌زوم‌های دانه‌ها و دانه رست‌های جوان یافت می‌شوند (Dat et al., 2000). آنزیم کاتالاز نیز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی است که با افزایش تنش خشکی افزایش می‌یابد (Moosavi et al., 2009). میزان فنیل آلانین آمونیاک در سطح ۵۵ پی‌پی‌ام نانوذره نقره تحت تنش خشکی نسبت به شاهد آبیاری و خشکی و سطح ۱۱۰ پی‌پی‌ام نانو ذرات افزایش داشت. آنزیم فنیل آلانین آمونیاک می‌تواند به‌عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدان در نظر گرفته شود، زیرا دارای خاصیت به دام اندازی رادیکال‌های اکسیژن از طریق ترکیبات فنلی تولیدشده، است (Tian and Li, 2006).

دارد. ولی با افزایش غلظت نانو ذرات در سطح ۸۰ میلی‌گرم در لیتر، محتوای کلروفیل b در رقم آنتونی و بلوواندر به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و از میزان کلروفیل a و کارتنوئید کاسته شد (Hatami et al., 2014). با افزایش نانو ذرات نقره میزان پروتئین در سطح ۱۱۰ پی‌پی‌ام آبیاری نسبت به شاهد و سطوح دیگر نانوذره در آبیاری کامل و خشکی افزایش یافته است. پروتئین‌ها از جمله مهم‌ترین مولکول‌های درگیر در پاسخ به عناصر فلزی سنگین می‌باشند. واکنش عمومی محیط فیزیولوژیک در مقابل ورود مواد خارجی به داخل سلول، می‌تواند به متصل شدن مولکول‌های زیستی از جمله پروتئین‌ها به این اشاره کرد که کروناها (Corona) را به وجود می‌آورند (Cedervall et al., 2007). غلظت پروتئین و تمایل آن برای اتصال به ذرات، مدت‌زمان تثبیت پروتئین‌ها بر روی ذرات را کنترل می‌کند (Lynch et al., 2006). گیرنده‌های اتیلن به نام ETR1 یک پروتئین دimer در جایگاه اتصال خود دارای یون مس هستند که برای اتصال به اتیلن ضروری است. یون‌های مس در جایگاه گیرنده‌های اتیلن با دو باقیمانده آمینواسیدی Cys65 و His69 به‌صورت کنوردینانسی متصل می‌شوند (Rodriguez et al., 1999). گیرنده‌های اتیلنی به‌صورت همو یا هتروداایمرهایی که به‌وسیله باندهای دی سولفیدی به هم متصل‌اند عمل می‌کنند. CTR1 یک پروتئین است که به خانواده RAF از پروتئین کیناز Ser/Thr تعلق دارد و تنظیم‌کننده پاسخ اتیلنی است، CTR1 در حضور اتیلن غیرفعال است و غیرفعال بودن آن منجر به فعالیت EIN2 که یک تنظیم‌کننده مثبت پاسخ اتیلنی است می‌شود و در نتیجه، ارسال سیگنال درک اتیلن به هسته انجام و یا با روشن شدن ژن‌های دخیل در پاسخ اتیلن، این پاسخ‌ها آغاز می‌شوند. یون‌های نقره از مهارکننده‌های اتیلن هستند (Beyer., 1976). میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز شاهد تحت خشکی نسبت به شاهد آبیاری و سطوح نانو ذرات نقره افزایش یافته است. گایاکول پراکسیداز در تمام موجودات یافت می‌شود، این پروتئین‌ها دارای گروه پروستتیک فری پروتوپورفیرین IX می‌باشند. این آنزیم‌ها از چندین سوبسترا برای اکسیداسیون پراکسید هیدروژن استفاده می‌کنند (Asada, 1992). آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شاهد آبیاری و سطح ۵۵ پی‌پی‌ام نانوذره نقره تحت تنش خشکی نسبت به شاهد خشکی و دیگر سطوح نانوذره به یک‌میزان افزایش داشته است. پژوهشگران در آزمایش بر روی دو رقم

جدول ۵. مقایسه میانگین اثرات متقابل سه‌گانه اکوتیپ × تنش خشکی × نانو ذرات نقره صفات فیزیولوژی جدول ۵. ادامه

سطح تنش	سطوح نانو	اکوتیپ	A Chlorophyll A ug/g f.w	B Chlorophyll B ug/g f.w	کلروفیل B	کاروتنوئید	پروتئین	پلی فنل	فنیل الاین	کاتالاز	گایاکول	آسکوربات	
Stress level	nano-level	Ecotype	Chlorophyll A ug/g f.w	Chlorophyll B ug/g f.w	Chlorophyll B ug/g f.w	Carotenoid ug/g f.w	Protein ng/g	Polyphenol oxidase Me/min/mg pro	PAL Me/min/mg pro	Catalase Me/min/mg pro	Guaiacol peroxidase mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	Ascorbate mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	
55 ppm	Gazar	گازار	21.54 <sup>bc</sup>	5.15 <sup>mn</sup>	8.24 <sup>kl</sup>	1.10 <sup>b-f</sup>	0.02 <sup>ei</sup>	0.27 <sup>ed</sup>	0.012 <sup>bc</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.045 <sup>a</sup>		
		بیرجند	27.16 <sup>ab</sup>	7.23 <sup>ln</sup>	13.12 <sup>ej</sup>	1.08 <sup>ef</sup>	0.01 <sup>fh</sup>	0.10 <sup>fr</sup>	0.0005 <sup>fo</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.010 <sup>uy</sup>		
		هاشمیه	7.80 <sup>uv</sup>	3.45 <sup>sa</sup>	3.32 <sup>vz</sup>	1.12 <sup>af</sup>	0.01 <sup>mq</sup>	0.06 <sup>pr</sup>	0.0002 <sup>po</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.021 <sup>km</sup>		
		قاین	31.42 <sup>ad</sup>	18.90 <sup>a</sup>	21.37 <sup>a</sup>	1.13 <sup>af</sup>	0.01 <sup>ho</sup>	0.14 <sup>go</sup>	0.0005 <sup>bn</sup>	0.0003 <sup>be</sup>	0.018 <sup>kr</sup>		
		آیسک	22.67 <sup>gp</sup>	13.95 <sup>b</sup>	17.40 <sup>ab</sup>	1.11 <sup>b-f</sup>	0.009 <sup>nq</sup>	0.09 <sup>kr</sup>	0.0004 <sup>kp</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.015 <sup>ou</sup>		
		سرند	16.32 <sup>ms</sup>	3.81 <sup>rz</sup>	17.49 <sup>ab</sup>	1.17 <sup>abo</sup>	0.01 <sup>hn</sup>	0.17 <sup>ej</sup>	0.0007 <sup>fi</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.023 <sup>lj</sup>		
		آریان شهر	30.16 <sup>ag</sup>	9.18 <sup>ob</sup>	17.48 <sup>ab</sup>	1.07 <sup>df</sup>	0.02 <sup>fk</sup>	3.00 <sup>a</sup>	0.0014 <sup>ab</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.011 <sup>ty</sup>		
		نصرآباد	17.39 <sup>ks</sup>	4.14 <sup>qx</sup>	7.70 <sup>mu</sup>	1.11 <sup>af</sup>	0.01 <sup>h-q</sup>	0.16 <sup>fm</sup>	0.0007 <sup>fi</sup>	0.0001 <sup>eg</sup>	0.044 <sup>a</sup>		
		باغستان	15.18 <sup>ct</sup>	2.64 <sup>wc</sup>	5.71 <sup>ry</sup>	1.10 <sup>b-f</sup>	0.02 <sup>gm</sup>	0.11 <sup>hr</sup>	0.0005 <sup>bn</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.013 <sup>qx</sup>		
		سرایان	10.48 <sup>sv</sup>	2.27 <sup>yc</sup>	5.12 <sup>vy</sup>	1.09 <sup>b-f</sup>	0.01 <sup>jq</sup>	0.12 <sup>hr</sup>	0.0005 <sup>bn</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.024 <sup>li</sup>		
		110 ppm	Gazar	گازار	20.49 <sup>br</sup>	4.61 <sup>nv</sup>	8.67 <sup>kt</sup>	1.11 <sup>af</sup>	0.02 <sup>ej</sup>	0.14 <sup>go</sup>	0.0006 <sup>fk</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.018 <sup>k-q</sup>
				بیرجند	25.25 <sup>ba</sup>	6.55 <sup>jm</sup>	11.84 <sup>em</sup>	1.08 <sup>ef</sup>	0.01 <sup>jq</sup>	0.16 <sup>fi</sup>	0.0010 <sup>ede</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.015 <sup>ov</sup>
هاشمیه	5.01 <sup>w</sup>			0.89 <sup>od</sup>	1.82 <sup>za</sup>	1.10 <sup>b-f</sup>	0.01 <sup>mq</sup>	0.14 <sup>go</sup>	0.0006 <sup>fk</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.015 <sup>pw</sup>		
قاین	23.96 <sup>on</sup>			7.65 <sup>gk</sup>	12.34 <sup>el</sup>	1.11 <sup>af</sup>	0.008 <sup>opq</sup>	0.15 <sup>go</sup>	0.0006 <sup>fk</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.018 <sup>kr</sup>		
آیسک	31.89 <sup>abo</sup>			5.24 <sup>ms</sup>	7.11 <sup>pw</sup>	1.10 <sup>b-f</sup>	0.008 <sup>opq</sup>	0.16 <sup>fk</sup>	0.0008 <sup>eg</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.009 <sup>x-z</sup>		
سرند	3.44 <sup>v</sup>			0.18 <sup>d</sup>	0.84 <sup>z</sup>	1.12 <sup>af</sup>	0.01 <sup>k-q</sup>	0.10 <sup>hr</sup>	0.0003 <sup>mp</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.013 <sup>rx</sup>		
آریان شهر	22.46 <sup>gp</sup>			6.44 <sup>jn</sup>	9.84 <sup>br</sup>	1.09 <sup>ef</sup>	0.04 <sup>bd</sup>	0.11 <sup>hr</sup>	0.0005 <sup>fo</sup>	0.0001 <sup>eg</sup>	0.011 <sup>ty</sup>		
نصرآباد	17.69 <sup>js</sup>			3.98 <sup>qx</sup>	7.80 <sup>mu</sup>	1.07 <sup>df</sup>	0.03 <sup>def</sup>	0.10 <sup>hr</sup>	0.0003 <sup>mp</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.023 <sup>jk</sup>		
باغستان	16.73 <sup>ms</sup>			4.35 <sup>pw</sup>	8.18 <sup>kl</sup>	1.08 <sup>ef</sup>	0.01 <sup>lq</sup>	0.13 <sup>bp</sup>	0.0006 <sup>fk</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.010 <sup>v-z</sup>		
سرایان	18.04 <sup>js</sup>			6.24 <sup>ko</sup>	11.09 <sup>ep</sup>	1.14 <sup>af</sup>	0.01 <sup>mq</sup>	0.06 <sup>pr</sup>	0.0002 <sup>po</sup>	0.0001 <sup>eg</sup>	0.017 <sup>ls</sup>		

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by the same letter are not significantly different based on protected LSD.

جدول ۵. ادامه

سطح تنش Stress level	سطوح نانو- nano-level	اکوتیپ Ecotype	کلروفیل A Chlorophyll A ug/g fw	کلروفیل B Chlorophyll B ug/g fw	کاروتنوئید Carotenoid ug/g fw	پروتئین Protein mg/g	پلی فنل Polyphenol oxidase Mc/min/mg pro	فنیل الاین PAL Mc/min/mg pro	کاتالاز Catalase Mc/min/mg pro	گایاکول Guaiacol peroxidase mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	آسکوربات Ascorbate mM <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>
خشکی کامل Drought stress	شاهد Control	Gazar	23.50 <sup>dn</sup>	6.03 <sup>kq</sup>	10.21 <sup>gq</sup>	1.16 <sup>ae</sup>	0.01 <sup>jq</sup>	0.09 <sup>kr</sup>	0.0003 <sup>lp</sup>	0.0003 <sup>be</sup>	0.015 <sup>ea</sup>
		Birjand	14.72 <sup>pt</sup>	3.38 <sup>tb</sup>	6.61 <sup>qx</sup>	1.09 <sup>cf</sup>	0.03 <sup>ede</sup>	0.10 <sup>jr</sup>	0.0005 <sup>gm</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.018 <sup>kq</sup>
		Hashemieh	24.95 <sup>bl</sup>	10/61 <sup>ede</sup>	14.14 <sup>bg</sup>	1.12 <sup>af</sup>	0.01 <sup>j-q</sup>	0.15 <sup>gn</sup>	0.0006 <sup>fk</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.037 <sup>bed</sup>
		Qaen	31.02 <sup>ae</sup>	8.42 <sup>fi</sup>	15.39 <sup>bd</sup>	1.21 <sup>a</sup>	0.01 <sup>k-q</sup>	0.10 <sup>jr</sup>	0.0005 <sup>io</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.041 <sup>ad</sup>
		Ayask	20.87 <sup>hp</sup>	5.45 <sup>mr</sup>	9.98 <sup>gq</sup>	1.10 <sup>bf</sup>	0.01 <sup>l-q</sup>	0.18 <sup>ei</sup>	0.0007 <sup>eh</sup>	0.0001 <sup>fg</sup>	0.036 <sup>def</sup>
		Sarand	20.85 <sup>hp</sup>	5.18 <sup>mr</sup>	9.62 <sup>ks</sup>	1.15 <sup>ae</sup>	0.01 <sup>i-p</sup>	0.16 <sup>fi</sup>	0.0007 <sup>fi</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.009 <sup>s-z</sup>
		Ariyan shahr	10.46 <sup>sv</sup>	2.03 <sup>zd</sup>	3.82 <sup>wz</sup>	1.09 <sup>cf</sup>	0.006 <sup>pq</sup>	0.11 <sup>it</sup>	0.0005 <sup>io</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.017 <sup>kr</sup>
		Nasrabad	18.86 <sup>kt</sup>	4.25 <sup>qx</sup>	8.68 <sup>kt</sup>	1.14 <sup>af</sup>	0.01 <sup>h-o</sup>	0.16 <sup>gm</sup>	0.0007 <sup>fi</sup>	0.0001 <sup>efg</sup>	0.036 <sup>de</sup>
		Baghestan	17.49 <sup>js</sup>	3.94 <sup>rx</sup>	7.64 <sup>au</sup>	1.10 <sup>bf</sup>	0.01 <sup>i-p</sup>	0.06 <sup>r</sup>	0.0008 <sup>efg</sup>	0.0001 <sup>efg</sup>	0.007 <sup>yz</sup>
		Sarayan	31.77 <sup>abc</sup>	10.59 <sup>ele</sup>	14.71 <sup>bf</sup>	1.09 <sup>cf</sup>	0.02 <sup>l-i</sup>	0.22 <sup>og</sup>	0.0010 <sup>ede</sup>	0.0003 <sup>bc</sup>	0.010 <sup>ty</sup>
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک. از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.	شاهد Control	Gazar	24.06 <sup>en</sup>	6.39 <sup>no</sup>	11.74 <sup>dn</sup>	1.12 <sup>af</sup>	0.01 <sup>l-q</sup>	0.09 <sup>kr</sup>	0.0003 <sup>lp</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.013 <sup>ex</sup>
		Birjand	27.16 <sup>ah</sup>	8.87 <sup>oi</sup>	11.09 <sup>ep</sup>	1.09 <sup>cf</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.09 <sup>kr</sup>	0.0004 <sup>jp</sup>	0.0001 <sup>efg</sup>	0.041 <sup>abe</sup>
		Hashemieh	19.29 <sup>br</sup>	4.55 <sup>ov</sup>	8.75 <sup>kt</sup>	1.13 <sup>af</sup>	0.005 <sup>q</sup>	0.24 <sup>ele</sup>	0.0011 <sup>ed</sup>	0.0002 <sup>bcd</sup>	0.021 <sup>in</sup>
		Qaen	33.65 <sup>a</sup>	10.35 <sup>ede</sup>	9.65 <sup>ts</sup>	1.10 <sup>bf</sup>	0.01 <sup>h-n</sup>	0.12 <sup>kr</sup>	0.0006 <sup>fk</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.009 <sup>s-z</sup>
		Ayask	23.67 <sup>dn</sup>	9.37 <sup>dg</sup>	12.60 <sup>ek</sup>	1.17 <sup>ad</sup>	0.04 <sup>abc</sup>	0.09 <sup>jr</sup>	0.0004 <sup>kp</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.030 <sup>g</sup>
		Sarand	21.47 <sup>hp</sup>	4.78 <sup>mv</sup>	9.11 <sup>jt</sup>	1.13 <sup>af</sup>	0.01 <sup>k-q</sup>	0.16 <sup>gn</sup>	0.0007 <sup>fi</sup>	0.0002 <sup>def</sup>	0.006 <sup>z</sup>
		Ariyan shahr	31.32 <sup>ab</sup>	11.04 <sup>ed</sup>	15.03 <sup>bee</sup>	1.09 <sup>cf</sup>	0.006 <sup>pi</sup>	0.41 <sup>b</sup>	0.0016 <sup>a</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.016 <sup>mt</sup>
		Nasrabad	16.20 <sup>ns</sup>	3.75 <sup>rz</sup>	7.99 <sup>mt</sup>	1.15 <sup>ae</sup>	0.009 <sup>mu</sup>	0.11 <sup>kr</sup>	0.0005 <sup>io</sup>	0.0004 <sup>a</sup>	0.021 <sup>fi</sup>
		Baghestan	16.75 <sup>ms</sup>	3.90 <sup>rx</sup>	7.43 <sup>ov</sup>	1.08 <sup>cf</sup>	0.005 <sup>q</sup>	0.06 <sup>ph</sup>	0.0004 <sup>jp</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.015 <sup>ev</sup>
		Sarayan	12.75 <sup>qu</sup>	3.21 <sup>vb</sup>	5.19 <sup>ty</sup>	1.07 <sup>cf</sup>	0.04 <sup>ab</sup>	0.08 <sup>mr</sup>	0.0003 <sup>lp</sup>	0.0001 <sup>g</sup>	0.016 <sup>ms</sup>

Means in each column followed by the same letter are not significantly different based on protected LSD.

### نتیجه‌گیری کلی

میزان عملکرد داشتند. ممکن است غلظت بالای نانو نقره اثرات سمی برای این صفات داشته باشد. نانو ذرات نقره در سطح ۵۵ پی‌پی‌ام نسبت به سطح شاهد و ۱۱۰ پی‌پی‌ام اثر بهتری داشته است. نانو ذرات به‌واسطه خاصیت آب‌دوستی با آزاد کردن کم‌کم ذرات آب به بنه کمک می‌نمایند که در سطح تنش خشکی به‌خوبی عمل نمایند. همچنین خاک‌های مرطوب و باتلاقی مناسب رشد زعفران نیست زیرا در چنین خاک‌هایی بنه زعفران سریعاً پوسیده می‌شود؛ بنابراین آبیاری زیاد منجر به پوسیدگی بنه می‌شود که نانو ذرات با خاصیت ضد میکروبی و قارچی و آب‌دوستی که دارند از پوسیدگی جلوگیری می‌کنند.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده می‌توان نتیجه گرفت که نانو نقره در گیاهان همانند تنش خشکی باعث ایجاد تنش می‌شود، در نتیجه گیاه برای مقابله با این تنش و حفظ بقای خود تغییراتی را در مکانیسم‌های حیاتی خود ایجاد می‌کند. صفات کلروفیل b، کارتنوئید و فنیل آلانین آمونیلایز در شرایط تنش خشکی تحت نانو ذرات نقره با غلظت ۵۵ پی‌پی‌ام بیشترین تولید را در اکوتیپ قاین و آربین‌شهر نشان دادند که بیانگر عملکرد بالای صفات در این شرایط نسبت به شاهد است. صفات کلروفیل a، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز تحت تنش خشکی در شاهد بیشترین

### منابع

- Aggarwal, A., Sharma, I., Tripathi, B.N., Munjal, A.K., Baunthiyal, M., Sharma, V., 2011. Photosynthesis: Overviews on Recent Progress & Future Perspective. Edition: First, Chapter: Metal toxicity and Photosynthesis: IK International Publishing House. New Delhi, pp.16, 229-236.
- Amiri Oughan, H., Ahmadi, M.R., Moghadam, M., Valizadeh, M., Shakiba, M.R., 2002. Heritability of seed yield and yield components in rapeseed (*Brassica napus*) under drought stress and normal conditions. *Journal of Seed and Plant*. 18(2), 179-199.
- Alirezaee, F., Kiarostami, K.H., Hossein Zadeh Namin, M., 2014. The effect of nano silver on compounds phenoli and rosmarinic acid in callus tissue culture of lavender. First National Congress of Biology and Natural Sciences Iran. Tehran. [In Persian].
- Asada, K., 1992. Ascorbate Peroxidase –A Hydrogen Peroxide Scavenging Enzyme in Plants. *Physiologia Plantarum*. 85(2), 235-241.
- Asgari, M., Azimi, M.H., Hamzehi, Z., Mortazavi, S.N., Khodabandelu, F., 2013. Effect of nano- silver and sucrose on vase life of Tuberose (*Polianthes tuberosa* cv. peril) cut flowers. *International Journal of Agronomy and Plant Production*. 4(4), 680-687.
- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*. 23, 112-121.
- Elmo, M., Beyer, Jr., 1976. Effect of silver ion, carbon dioxide, and oxygen on ethylene action and metabolism. *Plant Physiology*. 63(1), 169-173.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72, 248-254.
- Breusegem, F.V., Vranova, E., Dat, J.F., Inze, D., 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science*. 161, 405-414.
- Cedervall, T., Lynch, I., Lindman, S., Berggard, T., Thulin, E., Nilsson, H., Dawson, K.A., Linse, S., 2007. Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104(7), 2050-2055.
- Chance, B., Maehly, A.C., 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*. 2, 764-755.
- Cheng, Q., 2006. Structural diversity and functional novelty of new carotenoid biosynthesis genes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 33(7), 552-559.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van, M.M., Inzé, D., Van Breusegem, F., 2000. Dual action of the active oxygen species

- during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 57(5), 779-795.
- Devlin, M.R., Withman, F.H., 2002. *Plant Physiology*. CBs publishers and distributors, Chapter 12.
- Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R., 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Experimental Botany*. 52(358), 1101-1109.
- Eckharti, U., Grimm, B., Hortensteiner, S., 2004. Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants. *Plant Molecular Biology*. 56, 1-14.
- Ekhtiyari, R., Moraghebi, F., 2012. The study of the effects of nano silver technology on salinity tolerance of cumin seed (*Cuminum cyminum* L.). *Plant and Ecosystem*. 7(25), 99-107.
- Ghorbanli, M., Kiapour, A., 2012. Copper-induced changes on pigments and activity of non-enzymatic and enzymatic systems in *Portulaca oleracea* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 28(2), 235-247. [In Persian with English Summary].
- Hariri, F., Omidi, M., Shafi'i, M., Parvanhe, S., 2009. Production and exacerbation of the genes expression of the carotenoid biosynthesis pathway by genetic engineering. *Regional Conference of Food and Biotechnology*, Kermanshah, Islamic Azad University, Kermanshah Branch. [In Persian with English Summary].
- Hatami, M., Ghorbanpour, M., 2014. Defense enzyme activities and biochemical variations of *Pelargonium zonale* in response to nanosilver application and dark storage. *Turkish Journal of Biology*. 38(1), 130-139.
- Hatami, M., Hatamzadeh, A., Ghasemnezhad, M., Hasan sajadi, R., Ghorbanpour, M., 2014. Changes in antioxidant enzymes activity in two *Pelargonium zonale* cultivars by nanosilver oarticles during dark storage. *Journal of Plant Production Technology*. 13(2), 99-108. [In Persian with English Summary].
- Hamrahi, S., Habibi, D., Madani, H., Mashhadi Akbar Boojar, M., 2008. Effect of cycocel and micronutrients on antioxidants rates as indices of drought resistance of rapeseed. *New Finding in Agriculture*. 2(3), 316-329. [In Persian with English Summary]
- Hong, F., Zhou, J., Liu, C., Yang, F., Wu, C., Zheng, L., Yang, P., 2005. Effect of nano-TiO<sub>2</sub> on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. *Biological trace element research*. 105(1-3), 269-279.
- Inze, D., Montagu, M. V., 2000. Oxidative stress in plants. *Cornwall Great Britain*. 336p.
- Jone, R., Cattro, A., Travaglio, D., 1997. Chlorophyll content as index of ethylene inside culture vessels. *Acta Horticulturae*. 447, 229-230.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S., 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. *Plant Soil and Environment*. 54(6), 262-270.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S., 2009. Heavy metal toxicity: effect on plant growth, biochemical parameters metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production*. 3(3), 65-76.
- Keyhani, E., Keyhani, J., 2004. Hypoxia/anoxia as signaling for increased alcohol dehydrogenase activity in saffron (*Crocus sativus* L.) corm. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1030, 449-457.
- Khodakovskaya, M.V., Kim, B.S., Kim, J.N., Alimohammadi, M., Dervishi, E., Mustafa, T., Cernqla, C.E., 2012. Carbon nanotubes as plant growth regulators: effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. *Small*. 9(1), 115-123.
- Lentini, Z., Mussell, H., Mutschler, M.A., Earle, E. D., 1988. Ethylene generation and reversal of ethylene effects during development in vitro rapid-cycling *Brassica campertis* L. *Plant Science*. 54, 75-81.
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 148, 350-382.
- Lynch, I., Dawson, K.A., Linse, S., 2006. Detecting cryptic epitopes created by nanoparticles. *Science's STKE*. (327), pp17.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., Kolmakov, A., 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment*. 408(16), 3053-3061.

- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7(9), 405-410.
- Molina, R.V., Valero, M., Navarro, Y., Guardiola, J.L., García-Lui. A., 2005. Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). *Scientia Horticulturae*. 103(3), 361-379.
- Moore, M.N., 2006. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environ International Corporation*. 32(8), 967-976.
- Moosavi, A., Tavakkol-Afshari, R., Sharif-Zadeh, F., Ayneband, A., 2009. Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase, and peroxidase activities of four amaranth cultivars. *Journal of Food, Agriculture and Environment (JFAE)*. 7(3), 353-358.
- Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*. 22(5), 867-880.
- Najafi, S., Jamei, R., 2014. Effect of silver nanoparticles and  $Pb(NO_3)_2$  on the yield and chemical composition of mung bean (*Vigna radiata*). *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. 10(1), 316-325.
- Najafi, S., Heidari, R., Jamei, R., 2013. Influence of silver nanoparticles and magnetic field on phytochemical, antioxidant activity compounds and physiological factors of *Phaseolus vulgaris*. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*. 3(21), 812-2816.
- Park, H.J., Kim, S.H., Kim, H.J., Choi, S. H., 2006. A new composition of nanosized silica-silver for control of various plant diseases. *Journal of Plant Pathology*. 22(3), 295-302.
- Purvis, A.C., 1980. Sequence of chloroplast degreening in calamondin fruit as influenced by ethylene and  $AgNO_3$ . *Journal Plant Pathology*. 66(4), 624-627.
- Raei, M., Angaji, A., Omid, M., Khodayari, D., 2014. Effect of abiotic elicitors on tissue culture of *Aloe vera*. *International Journal of Biosciences (IJB)*. 5(1), 74-81.
- Reid, MS., Evans, R.Y., Dodge, L.L., 1989. Ethylene and silver thiosulfate influence opening of cut rose flowers. *Horticultural Sciences*. 114(3), 436-44.
- Resende, M.L.V., Nojosa, G.B.A., Cavalcanti, L.S., Aguilar, M.A.G., Silva, L.H.C.P., Perez, J.O., Andrade, G.C.G., Carvalho, G.A., Castro, R.M., 2002. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). *Plant Pathology*. 51, 621-628.
- Rezvani, N., Sorooshzadeh, A., Farhadi, N., 2012. Effect of nano-silver on growth of saffron in flooding stress. *World Academy of Science. Engineering & Technology*. 6(1), 517-522.
- Rodriguez, F.I., Esch, J.J., Hall, A.E., Binder, B.M., Schaller, G.E., Bleecker, A.B., 1999. A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from Arabidopsis. *Science*. 12, 996-998.
- Rostami, M., Mohammadparast, B., Golfam, R., 2013. Effect of Different Levels of Salt Stress on the Concentration of Saffron Leaf Elements (*Crocus Sativus* L.), National Conference on Agricultural Science and Technology, Malayer, Malayer University. [In Persian].
- Roustan, J.P., Latche, A., Fallot, J., 1990. Inhibition ethylene production and stimulation of carrot somatic embryogenesis by salicylic acid. *Biologia Plantarum*. 32, 273-276.
- Safavi, K., 2012. Evaluation of Using Nanomaterial in Tissue Culture Media and Biological activity. Second International Conference on Ecological, Environmental and Biological Sciences. 13-14 October 2012, Bali, Indonesia.
- Shao, H.B., Liang, M.A., Shao, M.A., Wang, B.C., 2005. Changes of anti-oxidative enzymes and membrane peroxidation for soil water deficits among 10 wheat genotypes at seedling. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 42(2), 107-113.
- Somner, A., Neiman, E., Steffens, J.C., Mayer, A.M., Harel, E., 1994. Import, Targeting and Processing of a Plant Polyphenol Oxidase. *Journal Plant Physiology*. 105(4), 1301-1311.
- Tian, X., Li, Y., 2006. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. *Biologia Plantarum*. 50(4), 775-778.
- Vanaja, V., Annadurai, G., 2013. Coleus aromaticus leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles and its bactericidal activity. *Applied Nanoscience*. 3(3), 217-223.
- Vitoria, A.P., Cunha, M., Da., Azevedo, R.A., 2006. Ultra structural changes of Radish leaf



- exposed to cadmium. *Environmental and Experimental Botany*. 58(1-3), 47-52.
- Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y., Tan, R. Y., 2006. Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. *Nitric Oxide*. 15(4), 351-358.
- Zhao, J., Davis, L.C., Verpoorte, R., 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 23(4), 283-333.
- Zhang, Z., Pang, X., Duan, X., Ji, Z.L., Jiang, Y., 2005. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry* 90 (1), 47-52.