

اثر نانوذرات اکسید روی بر خصوصیات فیزیولوژیکی ترتیزک ساقه آغوش (*Lepidium perfoliatum* L.) تحت تنش دمایی پایین

عارفه سنجولی، بتول مهدوی*، شهاب مداح حسینی و محمدرضا دهقانی

گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

چکیده

گیاه دارویی ترتیزک ساقه آغوش گیاهی یک ساله از خانواده شب‌بوها (Brassicaceae) است. تنش دمایی پایین، یکی از عوامل محیطی مهم محدودکننده کشت و کار گیاهان است. ترکیبات زیادی در زمینه کاهش اثرات زیان‌آور این تنش، مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در این پژوهش به منظور بررسی اثر نانوذرات اکسید روی بر خصوصیات فیزیولوژیکی ترتیزک ساقه آغوش تحت تنش دمایی پایین، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل دما در سه سطح (۲۵) (شاهد)، ۵ و ۱- درجه سلسیوس) و محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند. نتایج نشان داد که استفاده از نانوذرات اکسید روی در شرایط اعمال تنش دمایی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز بلافاصله بعد از تنش و سه روز پس از اعمال تنش گردید. با کاهش دما از ۲۵ درجه سلسیوس به ۱- درجه سلسیوس، عدم محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی سبب افزایش نشت الکترولیت بلافاصله بعد از تنش و سه روز پس از اعمال تنش شد. همچنین محلول‌پاشی با نانوذرات اکسید روی به ویژه با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر میزان خسارت به غشا و نشت الکترولیت را به طور مؤثری کاهش داد. در دمای ۱- درجه سلسیوس، محلول‌پاشی با نانوذرات اکسید روی سبب کاهش میزان پرولین هم بلافاصله بعد از تنش و هم سه روز پس از اعمال تنش گردید. به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که کاربرد محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر معنی‌داری در کاهش اثرات تنش دمایی پایین در گیاه ترتیزک ساقه آغوش داشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، تنش سرما، گیاه دارویی، نانوذرات

مقدمه

گونه‌ای از گیاهان گلدار در خانواده براسیکاسه

گیاه دارویی ترتیزک ساقه آغوش (*Lepidium perfoliatum* L.) (Brassicaceae) است که با نام‌های رایج Claspig

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۳/۱۹، بازنگری: ۱۴۰۴/۰۷/۱۶، پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۲، اولین انتشار: ۱۴۰۵/۰۲/۱۲

* نویسنده مسئول، رایانامه: b.mahdavi@vru.ac.ir



حق انتشار این مستند، متعلق به انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران است. © ۱۴۰۳

این مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط بر استناد صحیح به مقاله و با رعایت شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است:

Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

pepperweed و Perfoliate pepperwort شناخته می‌شود. این گیاه بومی اروپا و آسیا است و در سایر نقاط جهان به‌عنوان یک گونه شناخته‌شده یافت می‌شود (CABI Compendium, 2016). ترتیزک ساقه آغوش در برخی کشورهای خاورمیانه مانند مصر، عربستان، عراق، ایران و پاکستان وجود دارد (Amin, 2005). این گیاه یکساله یا دوساله است و ساقه‌ای را با حداکثر ارتفاع نزدیک به ۶۰ سانتی‌متر تولید می‌کند. این گونه در زمین‌های بایر، دریاچه‌های خشک‌شده، بیابان‌ها، کنار جاده‌ها، دامنه‌های شنی، تا ارتفاع ۲۵۰۰ متر از سطح دریا یافت می‌شود. گل‌های گونه لیپیدیوم کامل و دوجنسی هستند. این گیاه در بهار شکوفه می‌دهد (CABI Compendium, 2016) و تعداد زیادی دانه کوچک، سبک و موسیلاژی تولید می‌کند (Tang et al., 2010). صدها سال است که از این دانه‌ها در نسخه‌های طب سنتی ایران استفاده می‌شود. دانه‌ها با قرار گرفتن در آب لعابی تولید می‌کنند که در درمان سنگ کلیه، گلودرد، گرفتگی صدا و سرفه مصرف سنتی دارد (Koocheki et al., 2009). در چین این گونه گاهی اوقات به‌عنوان سبزی خورده می‌شود (CABI Compendium, 2016). در آسیای مرکزی از جوشانده برگ ترتیزک ساقه آغوش در درمان سردرد استفاده می‌شود و دانه‌ها یکی از اجزای درمان خستگی هستند (Eisenman et al., 2012).

تنش دمای پایین یکی از عوامل محدودکننده مهم در رشد، کیفیت و توزیع جغرافیایی گیاهان است (Guan et al., 2023). دما برای گیاهان تنش‌غیرزیستی ایجاد می‌کند، از سوی دیگر دما عامل محیطی مهمی است که از فصلی به فصل دیگر تغییر می‌کند و دستخوش نوسانات غیرقابل پیش‌بینی و زودگذر روزانه است. تنش‌های دمای پایین شامل تنش سرما (دماهای بالای صفر) و تنش انجماد (دماهای زیر صفر) هستند (Ding et al., 2019). واکنش گیاهان به تنش دمای پایین را می‌توان به واکنش‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی طبقه‌بندی کرد (Soualiou et al., 2022). همچنین با توسعه مداوم فناوری زیست‌شناسی مولکولی، مکانیسم‌هایی که گیاهان از طریق آنها به دماهای پایین پاسخ می‌دهند، به تدریج روشن

شده است. در سطوح فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، گیاهان مجموعه‌ای از مواد تنظیم‌کننده اسمزی مانند قندهای محلول، پرولین و ترکیبات پلی‌آمین را برای تثبیت ساختار غشای سلولی و حذف ROS تولید می‌کنند (Li et al., 2022). تجمع بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) یک پاسخ فیزیولوژیک گیاهان به تنش دمای پایین است که منجر به پراکسیداسیون غشا، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، اختلال متابولیک، کاهش رشد ریشه و در نهایت توقف رشد گیاه می‌شود (Singh et al., 2016; Anwar et al., 2020). تغییر فاز فیزیکی غشای سلولی از فاز کریستالی مایع به فاز جامد ژل مانند به عنوان رویداد اولیه ناشی از تنش سرما شناخته می‌شود و باعث انرژی ناکافی، نشت یون و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود. سطوح ROS بیش از حد منجر به از هم گسیختگی غشا و در نهایت مرگ سلولی می‌شود (Liang et al., 2020).

تاکنون برای محافظت از گیاهان در برابر آسیب سرما و دمای پایین، از مواد شیمیایی مختلفی مانند پلی‌آمین‌ها، اسید ۷-آمینو بوتیریک (GABA)، متیل جاسمونات (MeJA) و اتیلن استفاده شده است (Ngaffo Mekontso et al., 2021).

مصرف عناصر کم‌مصرف (Fe, Zn و Mn) از طریق کاهش اثرات منفی یون‌های سمی نیز می‌تواند مقاومت گیاهان را در برابر تنش افزایش دهد (El-Fouly et al., 2011). تغذیه مناسب تحت شرایط تنش می‌تواند تا حدی به گیاه در تحمل تنش‌های مختلف کمک کند. عنصر روی از عناصر کم‌مصرف ضروری است که تولید ROS را کاهش می‌دهد و فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی مانند پراکسیداز (POD) را افزایش می‌دهد. بنابراین، روی نقش محافظتی در بقای گیاه در شرایط تنش خشکی دارد (Foroutan et al., 2018). عنصر روی برای بسیاری از آنزیم‌هایی که برای پایداری بافت‌های سلولی، ادغام پروتئین، تولید اکسین و سنتز گرده مورد نیاز هستند، مورد نیاز است و کمبود آن گیاهان را برای تکمیل چرخه زندگی یا واکنش آنزیمی محدود می‌کند. علاوه بر این، بر کیفیت محصول تأثیر منفی می‌گذارد. کمبود شدید آن منجر به

پرویلین و افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD)، به‌طور قابل توجهی بهبود بخشیدند (Song *et al.*, 2021).

در رابطه با میزان حساسیت گیاه ترتیزک ساقه آغوش به سرما اطلاعات دقیقی در منابع معتبر یافت نشد، این گیاه در مناطق معتدل و سردسیر رشد می‌کند و از جنس *Lepidium* است که بسیاری از گونه‌های این جنس تحمل سرما و حتی یخبندان را دارند (CABI Compendium, 2016). با توجه به مطالعات کمی که در رابطه با این گیاه وجود دارد این تحقیق با هدف بررسی اثر نانوذرات اکسید روی بر خصوصیات فیزیولوژیکی ترتیزک ساقه آغوش تحت تنش دماهای پایین اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در اتاقک رشد با قابلیت تنظیم گام‌به‌گام دما در دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان انجام شد. گیاه ترتیزک ساقه آغوش توسط مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی کرمان با کد هرباریومی ۹۱۷۱ شناسایی گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. دو عامل مورد آزمایش شامل دما در سه سطح (۲۵) (شاهد)، ۵ و -۱ درجه سلسیوس) و محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی در چهار سطح (شاهد (آب‌مقطر)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر با ۰/۰۵ درصد Tween 20 بود.

به‌منظور اجرای آزمایش، قبل از کشت تمامی بذرها ضدعفونی شده و سپس ۱۰ عدد بذر به گلدان‌های پلاستیکی با ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر و قطر ۱۳ سانتی‌متر حاوی ماسه، پرلایت و کوکوپیت با نسبت ۱:۱:۱ انتقال یافت. تمامی گلدان‌ها تا مرحله هشت برگی (تقریباً یک ماه پس از کشت) در اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. عملیات تنک‌کردن با دست نیز در این مدت صورت گرفت و تعداد گیاهچه‌های موجود در هر گلدان به پنج عدد کاهش یافت.

برای آماده‌کردن محلول و افزایش حلالیت نانوذرات اکسید روی این نانو ذره با ابعاد ۳۰-۱۰ نانومتر به آب دوبار تقطیر

آسیب گیاه در اثر دما یا عفونت قارچی می‌شود (Toor *et al.*, 2020).

فناوری نانو در زمره فناوری‌های جدیدی است که هنوز در مرحله آغازین رشد خود قرار دارد. حوزه کاربرد نانوذره‌ها تنوع بسیار زیادی دارد. نانوپودرها مخلوطی از ذره‌ها با ابعادی بین ۱ تا ۱۰ نانومتر هستند (Jordan *et al.*, 2018). در حقیقت علم نانو همه عرصه‌های دانش را تحت تأثیر قرار داده و علم کشاورزی نیز از این قاعده مستثنا نیست (Jordan *et al.*, 2018). نانوذرات فلزی و اکسید فلزی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی متفاوتی را در مقایسه با ترکیبات توده‌ای خود نشان می‌دهند. نانومواد را می‌توان برای طراحی کودهای جدید استفاده کرد (Mosanna and Behrozyar, 2015). به دلیل اینکه دیواره سلول گیاهی به‌عنوان یک مانع برای ورود آسان هر عامل خارجی به درون سلول‌های گیاهی عمل می‌کند، نانوذرات که قطر کمتری نسبت به قطر منفذ دیواره سلولی دارند به راحتی می‌توانند از منافذ دیواره عبور کنند. نانوذرات در سطح برگ از طریق منافذ روزنه‌ای وارد گیاه می‌شوند و سپس به بافت‌های مختلف منتقل می‌گردند (Nair *et al.*, 2010).

نانوذرات به‌عنوان یکی از روش‌های مؤثر کاهش تنش‌های غیرزیستی عمل می‌کنند. در پژوهشی مشخص شد که تیمار نانوذرات اکسید روی به‌طور قابل توجهی فعالیت پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز و همچنین محتوای پرویلین و کربوهیدرات‌ها را در شرایط آبیاری خوب و تنش خشکی افزایش می‌دهد. در حقیقت تیمار نانوذرات اکسید روی به‌طور مؤثری تحمل به خشکی را با افزایش فعالیت آنزیم‌ها و محتوای محافظت‌کننده اسمزی تحت تنش خشکی بهبود می‌بخشد (Foroutan *et al.*, 2018). همچنین نشان داده شده است که کاربرد محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی به‌طور قابل توجهی تنش سرمازدگی را در گیاهچه‌های برنج کشت‌شده به روش هیدروپونیک کاهش می‌دهد و باعث بهبود ارتفاع بوته، طول ریشه و زیست‌توده خشک می‌شود. در این آزمایش نانوذرات اکسید روی تنش اکسیداتیو ناشی از سرما را با کاهش سطوح پراکسید هیدروژن،

جدول ۱- خصوصیات نانوذرات اکسید روی (ZnO-N) مورد استفاده

درجه خلوص	اندازه (nm)	رنگ	فاز کریستالی	مورفولوژی	دانسیته (g/cm ³)
۹۹٪	۳۰-۱۰	سفید	تک کریستال	کروی	۶۰۶/۵

اضافه شد و با استفاده از دستگاه فراصوت (اولتراسونیک) به مدت ۳۰ دقیقه پراکنده شد. پس از آن، محلول به مدت یک ساعت روی دستگاه همزن قرار گرفت تا مانع آگلومره یا کلوخه شدن نانو ذرات شود. سپس از این محلول برای ساخت غلظت‌های مورد نیاز استفاده شد. خصوصیات نانوذرات اکسید روی در جدول ۱ آورده شده است.

اولین محلول‌پاشی با نانوذرات اکسید روی در مرحله هشت برگی صورت گرفت. بعد از گذشت یک هفته مرحله دوم محلول‌پاشی انجام شد (Subbaiah et al., 2016) پس از گذشت سه روز از آخرین محلول‌پاشی ۱۲ گلدان به‌عنوان دمای شاهد در اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سلسیوس باقی ماندند و بقیه گلدان‌ها به اتاقک رشد با دمای ۵ درجه سلسیوس (خوسرمایی) منتقل شدند، پس از گذشت ۲۴ ساعت دما به تدریج و با آهنگ یک درجه سلسیوس در ساعت کاهش یافت تا به دمای منفی یک درجه سلسیوس برسد، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در این دما نگهداری شدند (Lei et al., 2019). سپس تمامی گلدان‌ها جهت بازیابی به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک طی دو مرحله یکبار بلافاصله بعد از اعمال تنش دمایی (زمان صفر) و بار دیگر سه روز پس از اعمال تنش صورت گرفت. نمونه‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع قرار داده شد و سپس به فریزر ۸۰- منتقل شد.

در این پژوهش صفات نشت الکترولیت، محتوای پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز در دو مرحله بلافاصله بعد از تنش و سه روز بعد از تنش اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری نشت الکترولیت: ابتدا به اندازه یک سانتی‌متر از جوان‌ترین برگ هر گیاه جدا شده و با آب مقطر شستشو داده شد. سپس در لوله‌های آزمایش حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر

قرار گرفت. لوله‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و به مدت ۲۴ ساعت توسط یک شیکر تکان داده شدند و پس از آن اندازه‌گیری نشت یونی محلول (L₁) صورت گرفت. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس اتوکلاو شدند و در نهایت نشت یونی محلول (L₂) بعد از به تعادل رسیدن با دمای محیط اندازه‌گیری شد و محاسبه میزان نشت یونی (خسارت به غشای سلولی) از رابطه زیر صورت گرفت (Lutts et al., 1996):

$$EL (\%) = (L_1/L_2) \times 100$$

اندازه‌گیری محتوای پرولین: ۲/۰ گرم برگ با ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالسیلیک اسید سه درصد در هاون چینی به طور کامل ساییده و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر از این محلول را با ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین مخلوط نموده و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید به هر لوله اضافه و به مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری قرار گرفت. بلافاصله بعد از خارج کردن از حمام به مدت چند دقیقه در حمام یخ قرار گرفتند. سپس به لوله‌ها ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه کرده و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شدند. لوله‌ها برای مدتی در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند، در این مدت داخل لوله آزمایش دو فاز از هم جدا می‌شود از فاز رویی برای تعیین غلظت پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد (Bates et al., 1973).

اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول: ۲/۰ گرم برگ تازه را با استفاده از ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی ساییده و محلول حاصل را در لوله فالكون ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰ قرار داده شد. سپس محلول رویی جدا شده و عمل استخراج دوباره با اتانول ۷۰ درصد صورت گرفت. به ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره استخراج ۳ میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه‌شده (۲۰۰ میلی‌گرم آنترون به علاوه ۱۰۰ میلی‌لیتر

از تنش) با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شدند. رسم منحنی و جدول‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار Word و Excel انجام شد.

نتایج

نشت الکترولیت: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر دمای پایین، نانوذرات اکسید روی و اثر متقابل آن‌ها بر میزان نشت الکترولیت بلافاصله بعد از اعمال تنش دمایی (زمان صفر) در سطح یک درصد معنی‌دار است (جدول ۲). در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تفاوتی بین غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی بر میزان نشت الکترولیت وجود نداشت. با کاهش دما و در دماهای پنج و منفی یک درجه سلسیوس میزان نشت الکترولیت در گیاهچه‌های ترتیزک ساقه آغوش افزایش یافت و کاربرد نانوذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش میزان نشت الکترولیت در این دماها شد و غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با شاهد (صفر میلی‌گرم در لیتر) تفاوتی نداشت (شکل A-۱).

نتایج حاصل از نمونه‌برداری که سه روز پس از اعمال تنش صورت گرفت نشان داد که اثر متقابل دما و محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی در سطح پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تفاوتی بین غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی بر میزان نشت الکترولیت مشاهده نشد. با کاهش دما و در دمای پنج درجه سلسیوس میزان نشت الکترولیت افزایش یافت و کاربرد نانوذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش میزان نشت الکترولیت در این دما شد. بیش‌ترین میزان نشت الکترولیت در دمای منفی یک درجه سلسیوس و عدم محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر در همین دما نداشت. محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در دمای منفی یک درجه سلسیوس سبب کاهش میزان نشت الکترولیت در گیاهچه‌های ترتیزک ساقه آغوش شد

اسید سولفوریک ۷۲ درصد) اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت. سپس میزان جذب آن با اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر قرائت و مقدار قندهای محلول محاسبه شد (Irigoyen et al., 1992).

عصاره‌گیری برای سنجش فعالیت آنزیمی و پروتئین:

۰/۲ گرم از بافت گیاهی تازه منجمدشده در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار با $\text{pH}=7$ در دمای ۴-۰ درجه سلسیوس ساییده و عصاره‌گیری شد. سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴-۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها و پروتئین‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

سوپراکسید دیسموتاز: ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با

۱ میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز که شامل بافر فسفات پتاسیم ($\text{pH}=7/8$)، نیتروبولوترازولیوم، ال‌متیونین، EDTA و ربیوفلاوین است مخلوط شد. جهت انجام واکنش مخلوط را به مدت ۱۵ دقیقه در اتاقک نور قرار داده و میزان جذب نوری آن در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد (Giannopolitis and Ries, 1997).

پراکسیداز: در این روش ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی

۲/۷۷ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار ($\text{pH}=7$)، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه یک درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۱۳ میلی‌مولار و ۳۳ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد (Pandolfini et al., 1992).

کاتالاز: ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک

میلی‌لیتر از محلول اندازه‌گیری کاتالاز که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر پتاسیم ($\text{pH}=7$) و ۱۵ میکرومول پراکسید هیدروژن است مخلوط کرده و سپس جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه خوانده شد (Chanes and Mahely, 1996).

تجزیه و تحلیل داده‌ها بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار و به صورت مجزا برای هر یک از دو مرحله نمونه‌برداری (بلافاصله پس از تنش و یه روز بعد

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر دماهای پایین و نانوذرات اکسید روی بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی ترتیزک ساقه آغوش بلافاصله بعد از تنش

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		نشست الکترولیت	پرولین
دما	۲	۲۴۹/۴۶ **	۴/۰۷ **
نانوذرات اکسید روی	۳	۳۷/۹۴ **	۷/۳۰ **
دما × نانوذرات اکسید روی	۶	۱۸/۶۵ **	۳/۴۲ **
خطای آزمایش	۲۴	۳/۸۹	۰/۱۳
ضریب تغییرات (%)	--	۱۰/۴۶	۷/۱۱

**، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح یک درصد، پنج درصد و غیرمعنی دار

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر دماهای پایین و نانوذرات اکسید روی بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی ترتیزک ساقه آغوش سه روز بعد از تنش

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		نشست الکترولیت	پرولین
دما	۲	۴۳۲/۹۹ **	۱۴/۰۲ **
نانوذرات اکسید روی	۳	۱۱۹/۰۲ **	۰/۸۷ *
دما × نانوذرات اکسید روی	۶	۴۱/۸۰ *	۰/۷۲ *
خطای آزمایش	۲۴	۱۱/۶۹	۰/۲۵
ضریب تغییرات (%)	--	۱۳/۹۰	۱۰/۳۸

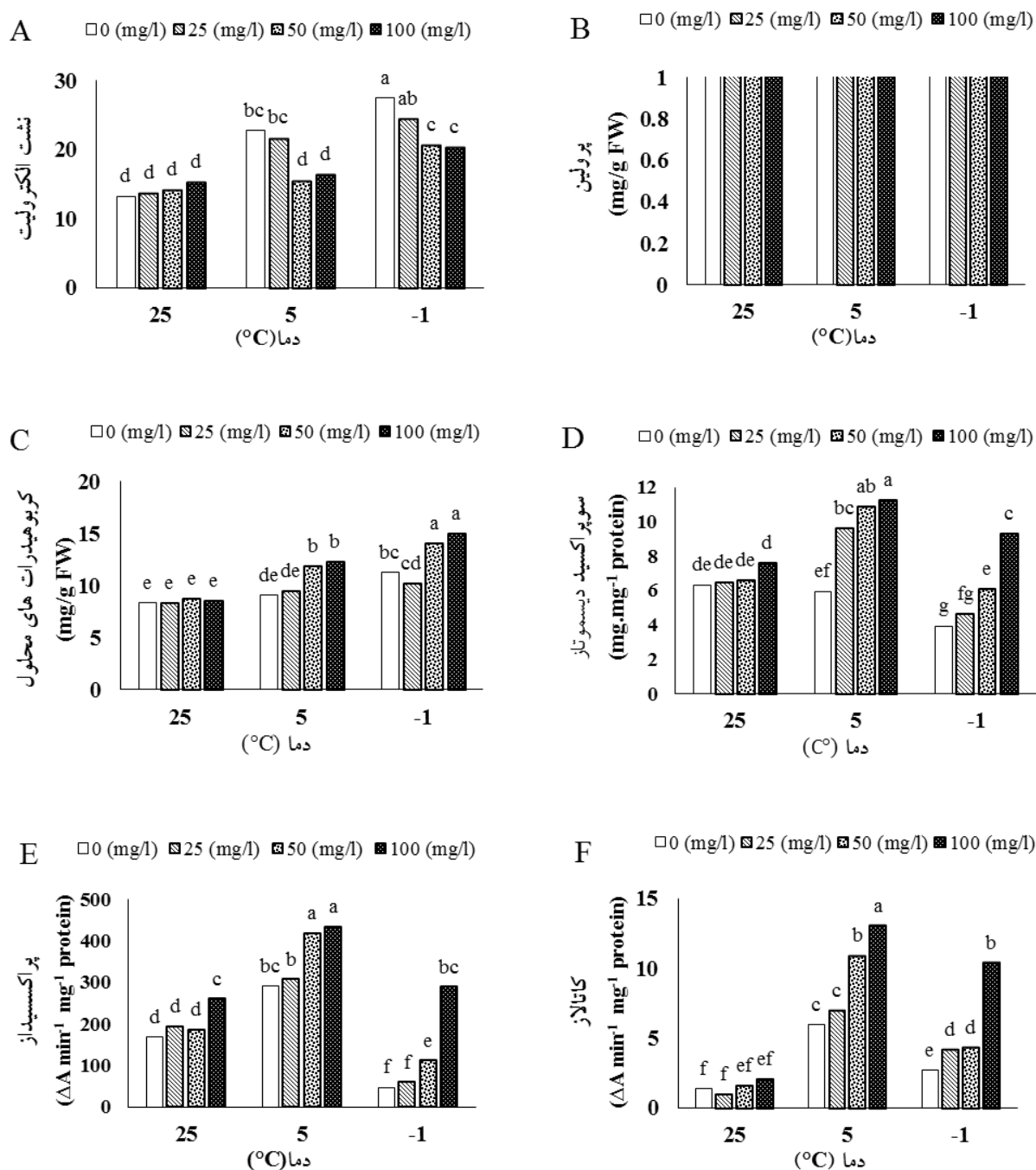
**، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح یک درصد، پنج درصد و غیرمعنی دار

(شکل ۲-A).

محتوای پرولین: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که اثر دمای پایین، محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی و اثر متقابل آن‌ها بر میزان پرولین در گیاهچه‌های ترتیزک ساقه آغوش بلافاصله پس از اعمال تنش دمایی در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تفاوتی بین غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی بر میزان پرولین وجود نداشت. درحالی‌که در دمای ۵ درجه سلسیوس کاربرد نانوذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش میزان پرولین شد. با کاهش دما و در دمای منفی یک درجه سلسیوس میزان پرولین در مقایسه با دمای ۲۵ درجه سلسیوس افزایش یافت و کاربرد نانوذرات اکسید روی در همه

غلظت‌ها سبب کاهش میزان پرولین در دمای منفی یک درجه سلسیوس شد ((شکل ۱-B)).

نتایج حاصل از نمونه‌برداری که سه روز پس از اعمال تیمار دمایی صورت گرفت نشان داد که اثر متقابل دما و محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی بر میزان پرولین در سطح پنج درصد معنی دار شد (جدول ۳). در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تفاوتی بین غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی بر میزان پرولین وجود نداشت. با کاهش دما و در دماهای پنج و منفی یک درجه سلسیوس میزان پرولین افزایش یافت و مشاهده شد که در دمای پنج درجه سلسیوس محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی بر میزان پرولین اثری نداشت. درحالی‌که در دمای منفی یک درجه سلسیوس محلول‌پاشی با غلظت ۵۰

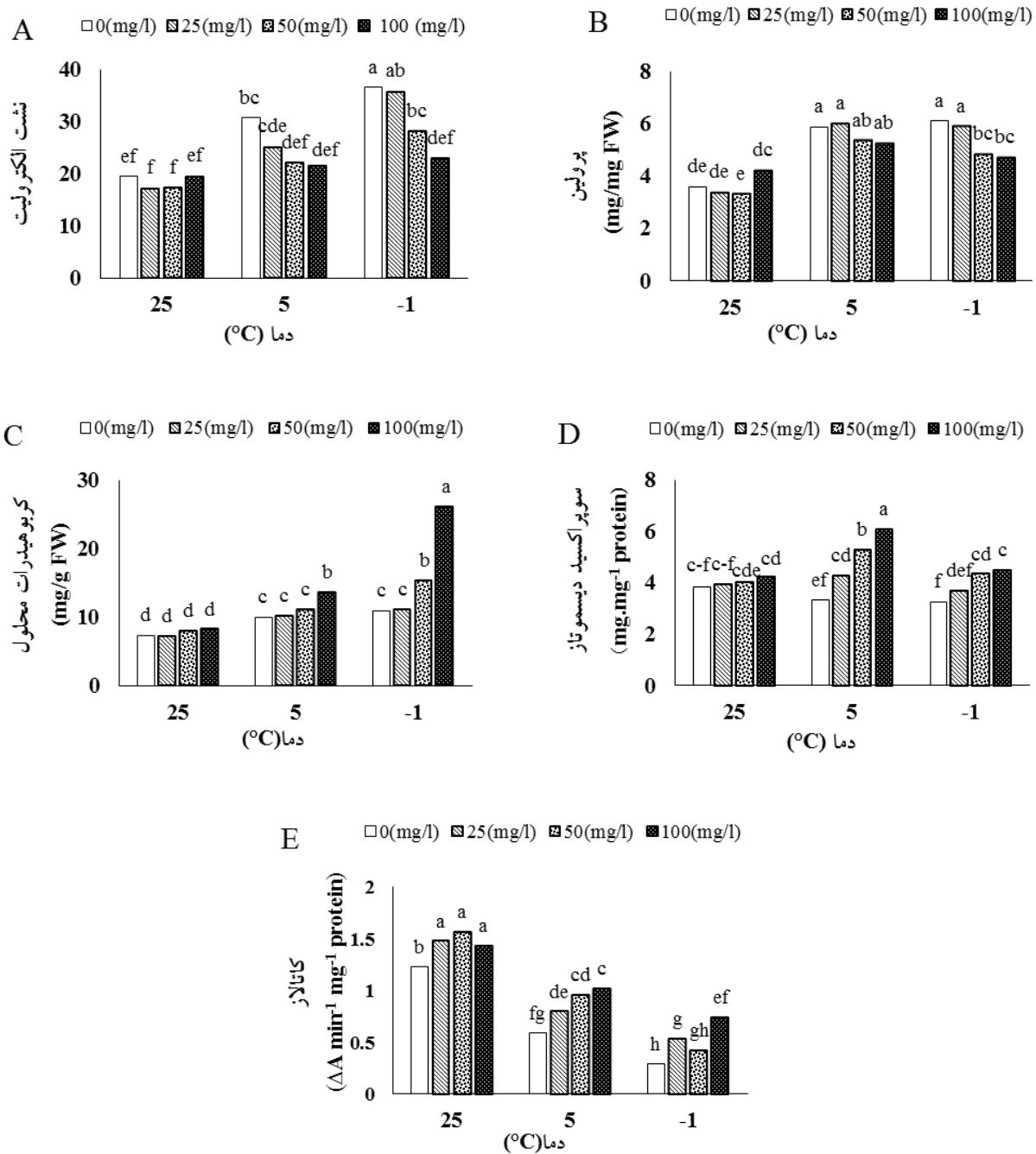


شکل ۱- اثرات محلول پاشی نانوذرات اکسید روی بلافاصله بعد از اعمال تیمار دمایی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه ترتیزک ساقه آغوش

و اثر متقابل آن‌ها بر کربوهیدرات محلول در گیاهچه‌های ترتیزک ساقه آغوش بلافاصله پس از اعمال تنش دمایی و سه روز بعد از اعمال تنش دمایی در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲ و ۳). در دمای ۲۵ درجه سلسیوس میزان کربوهیدرات محلول در تیمارهای کودی مختلف تفاوتی نداشت. همچنین با کاهش دما و در دمای پنج درجه سلسیوس

۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش میزان پرولین در گیاهچه‌های ترتیزک ساقه آغوش شد که غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی داری با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نداشت (شکل B-۲).

کربوهیدرات محلول: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که اثر دمای پایین، محلول پاشی نانوذرات روی



شکل ۲- اثرات محلول پاشی نانوذرات اکسید روی سه روز بعد از اعمال تیمار دمایی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه ترتیزک ساقه آغوش

کربوهیدرات محلول افزایش یافت و کاربرد نانوذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش بیشتر آن در این دما شد و درحقیقت تفاوتی بین این دو غلظت مشاهده نشد (شکل ۲-۱).

سه روز بعد از اعمال تنش دمایی، در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تفاوتی بین غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید

میزان کربوهیدرات محلول در مقایسه با شاهد تفاوتی نداشت. کاربرد نانوذرات اکسید روی در دمای ۵ درجه سلسیوس با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش کربوهیدرات محلول در مقایسه با شاهد (صفر میلی‌گرم در لیتر) شد که تفاوت معنی‌داری با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در همین دما نداشت. در دمای منفی یک درجه سلسیوس میزان

دیسموتاز سه روز بعد از اعمال تیمار دمایی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در کلیه غلظت‌های نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با شاهد (صفر میلی‌گرم در لیتر) تفاوتی نداشت، اما با کاهش دما و در دمای ۵ درجه سلسیوس محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی سبب افزایش فعالیت این آنزیم در مقایسه با عدم محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی شد. هم‌چنین مشخص شد که در دمای منفی یک درجه سلسیوس فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اثر محلول‌پاشی با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت که تفاوتی با غلظت ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نداشت (شکل D-۲).

آنزیم پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار دمایی، محلول‌پاشی نانو ذرات روی و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز بلافاصله بعد از اعمال تنش دمایی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). در دمای ۲۵ درجه سلسیوس کاربرد نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در زمان صفر شد. کاربرد نانو ذرات اکسید روی با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در این دما نداشت (شکل E-۱). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم پراکسیداز با کاهش دما به ۵ درجه سلسیوس بلافاصله بعد از اعمال تنش دمایی افزایش یافت ولی با ادامه کاهش دما و در دمای منفی یک درجه سلسیوس میزان فعالیت آن کاهش یافت. در تیمار ۵ درجه سلسیوس کاربرد نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد شد. محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر اثر معنی‌داری بر فعالیت این آنزیم در این دما نداشت. در تیمار منفی یک درجه سلسیوس محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش فعالیت این آنزیم شد. در حالیکه غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری با شاهد (صفر میلی‌گرم در لیتر) نداشت. بنابراین می‌توان گفت کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در دمای منفی یک درجه سلسیوس و عدم محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی مشاهده گردید که

روی بر میزان کربوهیدرات محلول وجود نداشت. با کاهش دما و در دماهای پنج و منفی یک درجه سلسیوس میزان کربوهیدرات محلول در مقایسه با شاهد افزایش یافت. محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش میزان کربوهیدرات محلول در دمای ۵ درجه سلسیوس گردید. در حالیکه سایر غلظت‌های محلول‌پاشی اثری بر میزان کربوهیدرات محلول در این دما نداشت. در دمای منفی یک درجه سلسیوس کاربرد نانو ذرات اکسید روی با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش کربوهیدرات محلول در گیاهچه‌های ترتیزک ساقه آغوش گردید. در حقیقت بیش‌ترین میزان کربوهیدرات محلول در دمای منفی یک درجه سلسیوس و کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی مشاهده شد (شکل C-۲).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار دمایی، محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بلافاصله بعد از اعمال تنش دمایی و سه روز بعد از اعمال تیمار دمایی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴ و ۵). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس (شاهد) در کلیه غلظت‌های نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با شاهد تفاوتی نداشت. با کاهش دما به منفی یک درجه سلسیوس فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بلافاصله پس از اعمال تیمار دمایی کاهش یافت و کاربرد نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش فعالیت این آنزیم در این دما گردید. هم‌چنین مشاهده شد که در دمای منفی یک درجه سلسیوس تفاوتی بین محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر و عدم محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز وجود نداشت. در حالیکه در دمای ۵ درجه سلسیوس فعالیت این آنزیم در تمامی غلظت‌های نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با شاهد (صفر میلی‌گرم در لیتر) افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل D-۱).

در این پژوهش مشاهده شد که فعالیت آنزیم سوپراکسید

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر دماهای پایین و محلول پاشی نانوذرات اکسید روی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بلافاصله بعد از اعمال تیمار دمایی در گیاه ترتیزک ساقه آغوش

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز
دما	۲	۱۷۴۰۵۰/۸۵ **	۳۸/۸۴ **
نانوذرات اکسید روی	۳	۴۵۲۶۶/۱۴ **	۲۴/۹۸ **
دما × نانوذرات اکسید روی	۶	۶۴۹۶/۴۲ **	۵/۲۴ **
خطای آزمایش	۲۴	۷۱۴/۲۵	۰/۷۵
ضریب تغییرات (%)	--	۱۱/۶۲	۱۲/۳۳

**، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد، پنج درصد و غیرمعنی‌دار

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر دماهای پایین و محلول پاشی نانوذرات اکسید روی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سه روز بعد از اعمال تیمار دمایی در گیاه ترتیزک ساقه آغوش

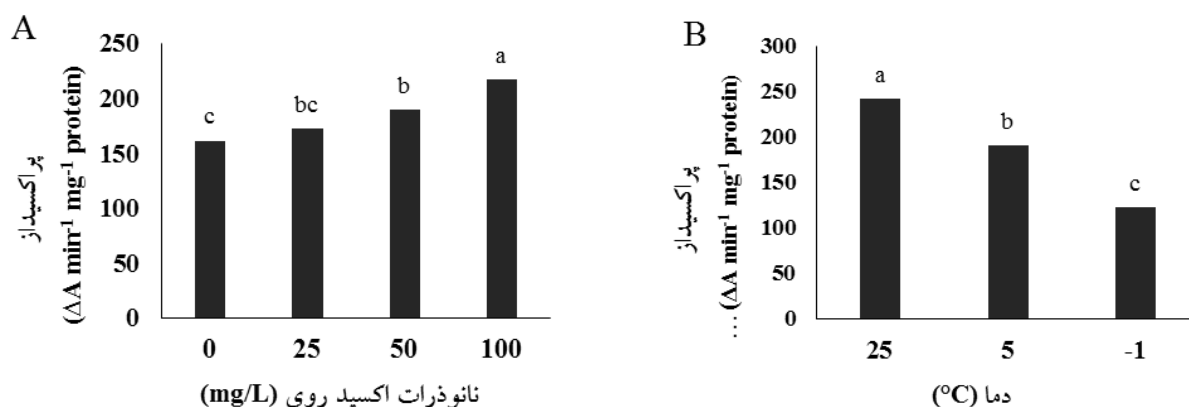
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز
دما	۲	۴۳۲۱۴/۴۹ **	۲/۳۳ **
نانوذرات اکسید روی	۳	۵۳۸۵/۱۲ **	۰/۲۱ **
دما × نانوذرات اکسید روی	۶	۱۱۴۶/۵۲ ns	۰/۸۱ **
خطای آزمایش	۲۴	۵۷۶/۵۶	۰/۲۰
ضریب تغییرات (%)	--	۱۲/۹۳	۱۱/۵۹

**، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد، پنج درصد و غیرمعنی‌دار

تفاوت معنی‌داری با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر در همین دما نداشت و بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم در دمای ۵ درجه سلسیوس و محلول پاشی نانوذرات اکسید روی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر در همین دما نداشت (شکل E-۱).

نتایج حاصل از نمونه‌برداری که سه روز پس از اعمال تنش صورت گرفت نشان داد که اثر متقابل سرما و محلول پاشی نانوذرات اکسید روی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار نبود (جدول ۵). با کاهش دما به پنج و منفی یک درجه سلسیوس کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز مشاهده شد و با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. بنابراین می‌توان گفت بیش‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در

غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل A, B-۳). آنزیم کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار دمایی، محلول پاشی نانوذرات روی و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم کاتالاز بلافاصله بعد از اعمال تیمار دمایی در سطح یک درصد و سه روز بعد از اعمال تیمار دمایی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴ و ۵). نتایج نشان داد که تأثیر محلول پاشی در تیمارهای مختلف بلافاصله بعد از اعمال تیمار دمایی یکسان نبوده بطوریکه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تفاوتی بین غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی بر میزان فعالیت این آنزیم وجود نداشته است. درحالی‌که در دمای ۵ درجه سلسیوس در مقایسه با دمای ۲۵ درجه در تیمارهای محلول پاشی نانوذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰



شکل ۳- اثرات محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی (A) و تنش دمای پایین (B) سه روز بعد از اعمال تیمار دمایی بر آنزیم پراکسیداز گیاه ترتیزک ساقه آغوش

محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش میزان نشت الکترولیت در گیاهچه‌های ترتیزک ساقه آغوش در هر دو زمان نمونه‌برداری گردید (شکل A-۱ و شکل A-۲). افزایش نشت الکترولیت در شرایط تنش دمایی در گیاهانی چون کلزا (Lei et al., 2019) و یولاف (Liu et al., 2013) گزارش شده است اما پژوهش‌های انجام‌شده بر روی گیاه ترتیزک ساقه آغوش بسیار محدود است و تا کنون اثر دمای پایین بر خصوصیات فیزیولوژیکی این گیاه بررسی نشده است. افزایش نشت الکترولیت احتمالاً به دلیل تنش آبی ناشی از سرماست (Hmnam et al., 2022). علاوه بر این افزایش نشت الکترولیت در گیاهانی که در معرض سرما قرار می‌گیرند به علت نشت یون‌های معدنی و آلی، به زوال غشا نسبت داده شده است (Sayed et al., 2020; Gadallah et al., 2019). درحقیقت مقدار رسانایی نسبی یکی از شاخص‌های مؤثر برای ارزیابی غیرمستقیم توانایی پاسخ گیاه به تنش دمای پایین است و درجه آسیب غشای سلولی با تداوم تنش دمای پایین تشدید می‌شود (Liu et al., 2013). در تحقیقاتی روی گیاه بادرنجبویه دنایی نشان داده شد که استفاده از نانوذرات روی در شرایط تنش خشکی میزان نشت الکترولیت را در این گیاه کاهش داد (Karimian and Samiei, 2023). هم‌چنین کاهش نشت الکترولیت تحت تنش‌های غیرزیستی با استفاده از نانوذرات اکسید روی در ذرت

میلی‌گرم در لیتر افزایش معنی‌داری مشاهده شد. در دمای منفی یک درجه سلسیوس فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با دمای ۵ درجه سلسیوس کمتر و معنی‌دار بود و در کلیه تیمارهای کودی غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از میانگین بالاتری برخوردار بود (شکل F-۱).

سه روز پس از اعمال تیمار دمایی، در دمای ۲۵ درجه سلسیوس فعالیت آنزیم کاتالاز در تمامی غلظت‌های نانوذرات اکسید روی در گیاهچه‌های ترتیزک ساقه آغوش در مقایسه با شاهد (صفر میلی‌گرم در لیتر) افزایش معنی‌داری را نشان داد. با کاهش دما به پنج و در نهایت منفی یک درجه سلسیوس فعالیت این آنزیم کاهش یافت و کاربرد نانوذرات اکسید روی سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در دمای ۵ درجه سلسیوس گردید. در دمای منفی یک درجه سلسیوس محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با شاهد (صفر میلی‌گرم در لیتر) گردید (شکل E-۲).

بحث

در این مطالعه مشاهده شد که با کاهش دما به پنج درجه سلسیوس و در نهایت منفی یک درجه سلسیوس میزان نشت الکترولیت هم در نمونه‌برداری بلافاصله بعد از اعمال تیمار دمایی و هم سه روز بعد از اعمال تیمار دمایی افزایش یافت.

پاسخ به سرما و سایر تنش‌های اسمزی، بسیاری از املاح مربوطه مانند کربوهیدرات‌های محلول و اسیدهای آمینه را جمع می‌کنند (Laxmi Kamal et al., 2021). روی (Zn) نقش محوری در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نشاسته، به طور مستقیم و یا غیرمستقیم با تعدیل آنزیم‌های دخیل در تبدیل نشاسته به گلوکز یا قند، ایفا می‌کند (Suganya et al., 2020). علاوه بر این، روی در حفظ پتانسیل و ساختار غشاء، سنتز تریپتوفان و عملکرد به عنوان یک کوفاکتور تنظیمی در سنتز پروتئین نقش دارد (Taran et al., 2017) و می‌تواند در افزایش محتوی کربوهیدرات‌های محلول در شرایط تنش نقش داشته باشد. گزارش شده است که کاربرد نانوذرات اکسید روی در گیاه بادام‌زمینی سبب افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول کل می‌شود (El-Metwally et al., 2018). همچنین در گیاه کلم (*Brassica oleracea*) افزایش محتوی پرولین و کربوهیدرات‌های محلول با استفاده از غلظت‌های مختلف نانوذرات روی گزارش شده است (Awan et al., 2020).

همچنین در این آزمایش مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز با کاهش دما به پنج درجه سلسیوس در نمونه‌برداری بلافاصله بعد از اعمال تیمار دمایی، نسبت به دمای منفی یک درجه سلسیوس افزایش یافت (شکل ۱-D, E, F). در نمونه‌برداری بلافاصله سه روز بعد از اعمال تیمار دمایی روند فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز همانند نمونه‌برداری بلافاصله بعد از اعمال تیمار دمایی بود. درحالی‌که فعالیت آنزیم پراکسیداز با کاهش دما کاهش یافت و کاربرد نانوذرات اکسید روی سبب افزایش فعالیت این آنزیم شد (شکل ۳-A, B).

در بعضی از گیاهان که توانایی خوگیری به سرما را دارند، ترکیبات آنتی‌اکسیدان با خنثی کردن یا از بین بردن رادیکال‌های آزاد، با این ترکیبات سمی مقابله می‌کنند (Joshi et al., 2007). Liu و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که فعالیت آنزیم پراکسیداز در یولاف وحشی (*Avena nuda*) تحت دمای پایین بیشتر از دمای معمولی بود. اما با گذشت زمان، فعالیت آنزیم پراکسیداز به شدت کاهش یافت، که نشان می‌دهد دمای پایین

(Rizwan et al., 2019) و نانوذرات آهن در گندم (Adrees et al., 2020) گزارش شده است.

با کاهش دما به منفی یک درجه سلسیوس محتوی پرولین هم در نمونه‌برداری بلافاصله بعد از اعمال تیمار دمایی و هم سه روز بعد از اعمال تیمار دمایی، افزایش یافت و کاربرد نانوذرات اکسید روی در این دما سبب کاهش میزان پرولین گردید (شکل B-۱ و شکل B-۲). بررسی‌های انجام‌شده بر روی اثر تنش سرما بر محتوی پرولین در گیاهان نشان داد که تغییر محتوی پرولین در پاسخ به تنش سرما در درجه اول به ژنوتیپ گیاه بستگی دارد (Bastam et al., 2013; Sayyari et al., 2013). در تحقیقات انجام‌شده روی گیاه برنج مشاهده شد که پنج روز پس از اعمال تنش سرما به شدت سطوح پرولین در برگ گیاه برنج نسبت به شاهد افزایش یافت و استفاده از محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی پیش از اعمال تنش سرما، به طور قابل توجهی محتوی پرولین را کاهش داد (Song et al., 2021) که نتایج پژوهش ما بر روی گیاه ترتیزک ساقه آغوش با آن مطابقت داشت. در پژوهشی دیگر در گیاه یولاف وحشی (*Avena nuda*) افزایش محتوی پرولین پس از قرار گرفتن در معرض تنش سرما مشاهده شده است. همچنین گزارش شده است که در دمای منفی ۱۰ درجه سلسیوس، گیاه مقادیر بیشتری پرولین نسبت به دمای ۱ درجه سلسیوس انباشته کرده است (Verbruggen and Hermans, 2008).

نتایج همچنین نشان داد در هر دو زمان نمونه‌برداری با کاهش دما میزان کربوهیدرات محلول افزایش می‌یابد و کاربرد نانوذرات اکسید روی سبب افزایش بیش‌تر آن در گیاهچه‌های ترتیزک ساقه آغوش می‌گردد. در نمونه‌برداری سه روز بعد از اعمال تیمار دمایی، در دمای در دمای منفی یک درجه سلسیوس، بیشترین میزان کربوهیدرات محلول در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی دیده شد در حالی‌که در نمونه‌برداری بلافاصله بعد از اعمال تیمار دمایی غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند و هر دو سبب افزایش میزان کربوهیدرات محلول شدند (شکل C-۱ و شکل C-۲). به‌طورکلی گیاهان در

SOD را فعال می‌کند. افزایش قابل توجه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تأثیر نانوذرات اکسید روی احتمالاً باعث افزایش مهار ROS می‌شود و به بهبود تعادل ردوکس و تاب‌آوری سلولی کمک می‌کند (Emamverdian et al., 2022). نقش روی در عملکرد آنتی‌اکسیدانی نه تنها به افزایش حذف رادیکال‌های آزاد از طریق مشارکت در ساختار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مرتبط است، بلکه به کنترل تشکیل رادیکال‌های آزاد نیز مربوط می‌شود (Cakmak, 2000).

به‌طورکلی این تحقیق نشان داد که نانوذرات اکسید روی تحمل به تنش دمای پایین را در گیاه دارویی ترتیزک ساقه آغوش بهبود بخشیده است. محلول‌پاشی این گیاه با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی سبب کاهش اثرهای تنش دمای پایین به‌ویژه در دمای منفی یک درجه سلسیوس شد. نانوذرات اکسید روی با کاهش میزان نشت الکترولیت، افزایش کربوهیدرات محلول، افزایش سنتز پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و جلوگیری از تخریب غشاهای سلولی سبب افزایش مقاومت به دمای پایین در گیاه ترتیزک ساقه آغوش شد. برای درک بهتر سازوکار تأثیر نانوذرات اکسید روی بر تحمل تنش دمای پایین در گیاه ترتیزک ساقه آغوش و شناسایی روش‌های مناسب با کارایی بالا جهت استفاده از آنها در بهبود مقاومت گیاهان در برابر دمای پایین، نیاز به مطالعات بیشتری وجود دارد.

سنتز آنزیم پراکسیداز را تحت تأثیر قرار داده است. با توجه به مشاهدات Zhao و همکاران (۲۰۱۳) در ارقام گوجه‌فرنگی مشخص شد که فعالیت‌های بیشتر کاتالاز و پراکسیداز می‌تواند با تحمل سرما همبستگی مثبت داشته باشد. در پژوهشی مشخص شد فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم متحمل گیاه کلزا تحت تنش سرما به طور چشمگیری افزایش می‌یابد، درحالی‌که فعالیت این آنزیم در رقم حساس اندکی افزایش یافت (Lei et al., 2019). همچنین Song و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که در گیاهچه‌های برنج تحت تنش سرما به میزان زیادی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز نسبت به شاهد کاهش یافت و کاربرد نانوذرات اکسید روی سبب افزایش فعالیت این آنزیم‌ها گردید. در پژوهشی آمده است که کاربرد نانوذرات اکسید روی باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش شوری در گیاهچه انبه شد (Elsheery et al., 2020). روی به عنوان یک کاتالیزور، نقش فعال‌کننده یا سازنده در بسیاری از آنزیم‌ها در گیاهان دارد (Sturikova et al., 2018) و به‌عنوان یک کوفاکتور ساختاری در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند Cu/Zn- سوپراکسید دیسموتاز (SOD) عمل می‌کند و به پاکسازی ROS و تعادل ردوکس سلولی کمک می‌کند (Ahmed et al., 2024; Adil et al., 2022). همچنین Marreiro و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که روی از سلول‌ها در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند، زیرا یک جز ساختاری SOD است. Maret (۲۰۱۳) گزارش داد که روی باعث کمبود مس می‌شود و آنزیم‌های وابسته به مس مانند

منابع

- Adil, M., Bashir, S., Bashir, S., Aslam, Z., Ahmad, N., Younas, T., Asghar, R., Alkahtani, J., Dwiningsih, Y., & Elshikh, M. S. (2022). Zinc oxide nanoparticles improved chlorophyll contents, physical parameters, and wheat yield under salt stress. *Frontiers in Plant science*, 13, 932861. DOI: 10.3389/fpls.2022.932861
- Adrees, M., Khan, Z. S., Ali, S., Hafeez, M., Khalid, S., ur Rehman, M. Z., Hussain, A., Hussain, K., Shahid Chatha, S. A., & Rizwan, M. (2020). Simultaneous mitigation of cadmium and drought stress in wheat by soil application of iron nanoparticles. *Chemosphere*, 238, 124681-124691. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.124681
- Ahmed, N., Deng, L., Narejo, M., Baloch, I., Deng, L., Chachar, S., Li, Y., Li, J., Bozdar, B., Chachar, Z., Hayat, F., Chachar, M., Gong, L., & Tu, P. (2024). Bridging agrosience and human nutrition: Zinc nanoparticles and biochar as catalysts for enhanced crop productivity and biofortification. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1435086. DOI: 10.3389/fpls.2024.1435086
- Amin, G. H. (2005). Medicinal plants of Iran. *Journal of Food Process Engineering*, 33, 51-64.

- Anwar, A., Wang, J., Yu, X., He, C., & Li, Y. (2020). Substrate application of 5-aminolevulinic acid enhanced low-temperature and weak-light stress tolerance in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Agronomy*, 10(4), 472. DOI: 10.3390/agronomy10040472
- Awan, S., Shahzadi, K., Javad, S., Tariq, A., Ahmad, A., & Ilyas, S. (2021). A preliminary study of influence of zinc oxide nanoparticles on growth parameters of *Brassica oleracea* var italic. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 20(1), 18-24. DOI: 10.1016/j.jssas.2020.10.003
- Bastam, N., Baninasab, B., & Ghobadi, C. (2013). Improving salt tolerance by exogenous application of salicylic acid in seedlings of pistachio. *Plant Growth Regulation*, 69, 275-284. DOI:10.1007/s10725-012-9770-7
- Bates, L. S., Waldren, R. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. DOI: 10.1007/BF00018060
- CABI Compendium. (2016). *Lepidium perfoliatum* (clasping pepperweed). <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.115212>
- Cakmak, I. (2000). Possible roles of zinc in protecting plant cell from damage by reactive oxygen species. *New Phytology*, 146, 185-205. DOI: 10.1046/j.1469-8137.2000.00630.x
- Chanes, B., & Mahely, A. C. (1996). Assay of Catalase and Peroxidase. *Methods in Enzymology*. Academic Press. DOI:10.1016/S0076-6879(55)02300-8
- Ding, Y., Shi, Y., & Yang, S. (2019). Advances and challenges in uncovering cold tolerance regulatory mechanisms in plants. *New Phytologist*, 222(4), 1690-1704. DOI: 10.1111/nph.15696
- Eisenman, S. W., Zaurov, D. E., & Struwe, L. (2012). *Medicinal Plants of Central Asia. Uzbekistan and Kyrgyzstan*. Springer Science and Business Media, Berlin, Germany. DOI: 10.3390/plants12162950
- El-Fouly, M. M., Mobarak, Z. M., & Salama, Z. A. (2011). Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum aestivum* L. *African Journal of Plant Science*, 5, 314-322. <https://doi.org/10.5897/AJPS.9000165>
- El-Metwally, I. M., Doaa, M. R., & Abo-Basha, A. E. A. M. (2018). Response of peanut plants to different foliar applications of nano-iron, manganese and zinc under sandy soil conditions. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 8(2), 474-482. DOI:10.36632/mejas/2018.8.2.13
- Elsheery, N. I., Sunoj, V. S. J., Wen, Y., Zhu, J. J., Muralidharan, G., & Cao, K. F. (2020). Foliar application of nanoparticles mitigates the chilling effect on photosynthesis and photoprotection in sugarcane. *Plant Physiology and Biochemistry*, 149, 50-60. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.01.035
- Emamverdian, A., Hasanuzzaman, M., Ding, Y., Barker, J., Mokhberdoran, F., & Liu, G. (2022). Zinc oxide nanoparticles improve *Pleioblastus pygmaeus* plant tolerance to arsenic and mercury by stimulating antioxidant defense and reducing the metal accumulation and translocation. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1435086. DOI: 10.3389/fpls.2022.841501
- Foroutan, L., Solouki, M., Abdossi, V., & Fakheri, B. A. (2018). The effects of zinc oxide nanoparticles on enzymatic and osmoprotectant alternations in different *Moringa peregrina* populations under drought stress. *International Journal of Basic Science in Medicine*, 3(4), 178-187. DOI:10.15171/ijbsm.2018.31
- Gadallah, F. M., El-Yazal, S., & Abdel-Samad, G. A. (2019). Physiological changes in leaves of some mango cultivars as response to exposure to low temperature degrees. *International Journal of Horticultural Science*, 3, 266-273. DOI:10.15406/hij.2019.03.00141
- Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59(2), 309-314. DOI: 10.1104/pp.59.2.309
- Guan, Y., Hwarari, D., Korboe, H. M., Ahmad, B., Cao, Y., Movahedi, A., & Yang, L. (2023). Low temperature stress-induced perception and molecular signaling pathways in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 207, 105190. DOI: 10.1016/J.ENVEXPBOT.2022.105190
- Hmmam, I., Ali, A. E., Saleh, S. M., Khedr, N., & Abdellatif, A. (2022). The role of salicylic acid in mitigating the adverse effects of chilling stress on "Seddik" mango transplants. *Agronomy*, 12(6), 1369-1376. <https://doi.org/10.3390/agronomy12061369>
- Irigoyen, J. J., Einerich, D. W., & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84(1), 55-60. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x>
- Jordan, J., Singh, K., & Canas-Carrell, J. (2018). Carbon-based nanomaterials elicit changes in physiology, gene expression, and epigenetics in exposed plants: A review. *Current Opinion in Environmental Science and Health*, 6, 29-35. DOI: 10.1016/j.coesh.2018.07.007
- Joshi, S. C., Chandra, S., & Palni, L. M. S. (2007). Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. *Photosynthetica*, 45, 594-600. DOI: 10.1007/s11099-007-0102-5

- Karimian, Z., & Samiei, L. (2023). ZnO nanoparticles efficiently enhance drought tolerance in *Dracocephalum kotschyi* through altering physiological, biochemical and elemental contents. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1063618-1063627. DOI: 10.3389/fpls.2023.1063618
- Koocheki, A., Taherian, A. R., Razavi, S. M. A., & Bostan, A. (2009). Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfoliatum* seeds. *Food Hydrocolloids*, 23, 2369-2379. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.06.014>
- Laxmi, Kamal, A., Kumar, V., Muthukumar, M., & Bajpai, A. (2021). Morphological indicators of salinity stress and their relation with osmolyte associated redox regulation in mango cultivars. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 30, 918-929. DOI: 10.1007/s13562-021-00735-4
- Lei, Y. A. N., Shah, T., Cheng, Y., Yan, L. U., Zhang, X. K., & Zou, X. L. (2019). Physiological and molecular responses to cold stress in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 18(12), 2742-2752. DOI: 10.1016/S2095-3119(18)62147-1
- Li, J., Zhang, Z., Chong, K., & Xu, Y. (2022). Chilling tolerance in rice: Past and present. *Journal of Plant Physiology*, 268, 153576. DOI: 10.1016/j.jplph.2021.153576
- Liang, S. M., Kuang, J. F., Ji, S. J., Chen, Q. F., Deng, W., Min, T., Shan, W., Chen, J. Y., & Lu, W. J. (2020). The membrane lipid metabolism in horticultural products suffering chilling injury. *Food Quality and Safety*, 4(1), 9-14. DOI: 10.1093/fqsafe/fyaa001
- Liu, W., Yu, K., He, T., Li, F., Zhang, D., & Liu, J. (2013). The low temperature induced physiological responses of *Avena nuda* L., a cold-tolerant plant species. *The Scientific World Journal*, 13-20. DOI: 10.1155/2013/658793
- Lutts, S., Kinet, J. M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, 78(3), 389-398. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134>
- Maret, W. (2013). Zinc biochemistry: From a single zinc enzyme to a key element of life. *Advances in Nutrition*, 4(1), 82-91. DOI:10.1080/01904167.2018.1510517
- Marreiro, D. D. N., Cruz, K. J. C., Morais, J. B. S., Beserra, J. B., Severo, J. S., & De Oliveira, A. R. S. (2017). Zinc and oxidative stress: Current mechanisms. *Antioxidants*, 6(2), 24-33. DOI: 10.3390/antiox6020024
- Mosanna, R., & Behrozyar, E. K. (2015). Morpho-physiological response of maize (*Zea mays* L.) to zinc nano-chelate foliar and soil application at different growth stages. *Journal on New Biological Reports*, 4(1), 46-50.
- Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y., & Kumar, D. S. (2010). Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science*, 179, 154-163. DOI:10.1016/j.plantsci.2010.04.012
- Ngaffo Mekontso, F., Duan, W., Cisse, E. H. M., Chen, T., & Xu, X. (2021). Alleviation of postharvest chilling injury of carambola fruit by γ -aminobutyric acid: Physiological, biochemical, and structural characterization. *Frontiers in Nutrition*, 8, 752583. DOI: 10.3389/fnut.2021.752583
- Pandolfini, T., Gabbriellini, R., & Comparini, C. (1992). Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant, Cell and Environment*, 15(6), 719-725. DOI:10.1111/j.1365-3040.1992.tb01014.x
- Rizwan, M., Ali, S., ur Rehman, M. Z., Adrees, M., Arshad, M., Qayyum, M. F., Ali, L., Hussain, A., Chatha, S. A. S., & Imran, M. (2019). Alleviation of cadmium accumulation in maize (*Zea mays* L.) by foliar spray of zinc oxide nanoparticles and biochar to contaminated soil. *Environmental Pollution*, 248, 358-367. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.02.031
- Sayed, A. A., Gadallah, F. M., El-Yazal, M. A. S., & Abdel-Samad, G. A. (2020). Impact of exposure to low temperature degrees in field conditions on leaf pigments and chlorophyll fluorescence in leaves of mango trees. *Journal of Horticulture and Plant Research Online*, 2020, 07-24. DOI:10.18052/www.scipress.com/JHPR.10.30
- Sayyari, M., Ghanbari, F., Fatahi, S., & Bavandpour, F. (2013). Chilling tolerance improving of watermelon seedling by salicylic acid seed and foliar application. *Notulae Scientia Biologicae*, 5(1), 67-73. DOI: 10.15835/nsb.5.1.8293
- Singh, R., Singh, S., Parihar, P., Mishra, R. K., Tripathi, D. K., Singh, V. P., Chauhan, D. K., & Prasad, S. M. (2016). Reactive oxygen species (ROS): Beneficial companions of plants' developmental processes. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1299. DOI: 10.3389/fpls.2016.01299
- Song, Y., Jiang, M., Zhang, H., & Li, R. (2021). Zinc oxide nanoparticles alleviate chilling stress in rice (*Oryza sativa* L.) by regulating antioxidative system and chilling response transcription factors. *Molecules*, 26(8), 2196-2202. DOI: 10.3390/molecules26082196
- Soualiou, S., Duan, F., Li, X., & Zhou, W. (2022). Crop production under cold stress: An understanding of plant responses, acclimation processes, and management strategies. *Plant Physiology and Biochemistry*, 190, 47-61. DOI: 10.1016/j.plaphy.2022.08.024
- Sturikova, H., Krystofova, O., Huska, D., & Adam, V. (2018). Zinc, zinc nanoparticles and plants. *Journal of Hazardous Materials*, 349, 101-110. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2018.01.040
- Subbaiah, L. V., Krishna, T. N., Prasad, V., Krishna, T. G., Sudhakar, P., Reddy, B., & Pradeep, T. (2016). Novel effects of nanoparticulate delivery of zinc on growth, productivity and zinc bio-fortification in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(19), 3778-3788. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b00838

- Suganya, A., Saravanan, A., & Manivannan, N. (2020). Role of zinc nutrition for increasing zinc availability, uptake, yield, and quality of maize (*Zea mays* L.) grains: An overview. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(15), 2001-2021. DOI: 10.1080/00103624.2020.1820030
- Tang, A. J., Tian, M. H., & Long, C. L. (2010). Dormancy and germination in short-lived *Lepidium perfoliatum* L. (Brassicaceae) seeds. *Pakistan Journal of Botany*, 42, 201-211.
- Taran, N., Storozhenko, V., Svetlova, N., Batsmanova, L., Shvartau, V., & Kovalenko, M. (2017). Effect of zinc and copper nanoparticles on drought resistance of wheat seedlings. *Nanoscale Research Letters*, 12(1), 60. DOI: 10.1186/s11671-017-1839-9
- Toor, M. D., Adnan, M., Javed, M. S., Habibah, U., Arshad, A., Din, M. M., & Ahmad, R. (2020). Foliar application of Zn: Best way to mitigate drought stress in plants; A review. *International Journal of Applied Research*, 6(8), 16-20. DOI: 10.22271/allresearch
- Verbruggen, N., & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids*, 35, 753-759. DOI: 10.1007/s00726-008-0061-6
- Zhao, L., Sun, Y., Hernandez-Viezcas, J. A., Servin, A. D., Hong, J., Niu, G., Peralta-Videa, J. R., Duarte-Gardea, M., & Gardea-Torresdey, J. L. (2013). Influence of CeO₂ and ZnO nanoparticles on cucumber physiological markers and bioaccumulation of Ce and Zn: A life cycle study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(49), 11945-11951. DOI: 10.1021/jf404328e

The effect of zinc oxide nanoparticles on the physiological characteristics of *Lepidium perfoliatum* L. under low-temperature stress

Arefeh Sanchooli, Batool Mahdavi*, Shahab Madah Hosseini, and
Mohammad Reza Dehghani

Department of Genetics and Plant Production, Agriculture College, Vali-e-Asr University of
Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

Abstract

The medicinal plant, clasping pepperweed (*Lepidium perfoliatum* L.), is an annual plant from the Brassicaceae family. Low-temperature stress is one of the important environmental factors limiting plant cultivation. Many compounds have been used to reduce the harmful effects of this stress. In this study, the effect of zinc oxide nanoparticles on the physiological characteristics of the *Lepidium perfoliatum* L. under low-temperature stress was an experiment conducted as a factorial design in a completely randomized design with three replications. The experimental treatments included temperature at three levels (25 (control), 5, and -1°C) and foliar application of zinc oxide nanoparticles at four levels (0, 25, 50, and 100 mg/L). Results showed that in temperature stress conditions, zinc oxide nanoparticle foliar spray increased peroxidase, catalase, and superoxide dismutase enzyme activities immediately and three days after the stress. By decreasing the temperature from 25°C to -1°C, the non-application of zinc oxide nanoparticles increased electrolyte leakage immediately and three days after the stress. Also, zinc oxide nanoparticle foliar spray in 100 mg/l and 50 mg/l reduced the amount of damage to the membrane and electrolyte leakage. At a temperature of -1°C, zinc oxide nanoparticle foliar spray decreased proline both immediately after and three days after stress. In general, it can be stated that the use of 100 mg/l and 50 mg/l zinc oxide nanoparticles had a significant effect on reducing the effects of low-temperature stress in the *Lepidium perfoliatum*.

Keywords: Antioxidant enzymes, Cold stress, Medicinal plant, Nanoparticles, Proline

Received: Jun. 09, 2025; Revised: Oct. 08, 2025; Accepted: Oct. 14, 2025; Published Online: May. 02, 2026

*Corresponding Author: b.mahdavi@vru.ac.ir



Copyright © 2025 Iranian Society of Plant Physiology, Published by Isfahan University of Technology press. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.