

## اثر نانوذرات اکسید مس و فواصل آبیاری بر پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی، اجزای عملکرد دانه و محتوای اسانس گیاه رازیانه

آمنه نادری<sup>۱</sup> و ریحانه عموآقایی<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> فیزیولوژی گیاهی گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهرکرد

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۰۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱۰/۲۰)

### چکیده

امروزه علاقه در استفاده از نانوذرات برای تقویت تحمل تنش‌ها و القای تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی در حال افزایش است. این مطالعه با هدف بررسی اثر محلول‌پاشی برگ‌گی نانوذرات اکسید مس (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر برخی صفات بیوشیمیایی و زراعی گیاه رازیانه در شرایط مختلف رطوبتی (فواصل آبیاری ۱، ۲ و ۳ روزه) انجام شد. نتایج نشان داد که افزایش فواصل آبیاری، بطور معنی‌داری باعث کاهش محتوای کلروفیل  $a$ ،  $b$ ، ارتفاع، بیوماس، تعداد دانه در گیاه، وزن صد دانه و عملکرد دانه و افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز شد. محلول‌پاشی برگ‌گی نانوذرات اکسید مس تحت تنش کم آبی با تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تنش اکسیداتیو را کاهش و محتوای کلروفیل  $a$ ،  $b$  در برگ را افزایش داد. همچنین دو بار محلول‌پاشی برگ‌گی (در مرحله پنج برگگی و قبل از گلدهی) با غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر اغلب اثر مثبتی بر روی بیوماس، ارتفاع، وزن صد دانه، عملکرد دانه، شاخص برداشت، درصد اسانس و عملکرد اسانس استخراج شده از بخش هوایی گیاه رازیانه داشت. در مقابل اثر محلول‌پاشی با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر اکسید مس بر روی بیشتر صفات فوق و میزان اسانس گیاه کمتر از اثر غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات بود. بنابراین، استفاده از غلظت مناسب نانوذرات اکسید مس، تحمل گیاه، عملکرد دانه و محتوای اسانس بخش هوایی گیاه رازیانه تحت تنش کم آبی را بهبود می‌دهد.

کلمات کلیدی: پراکسیداز، تنش کم آبی، خسارت اکسیداتیو، سوپراکسید دیسموتاز، شاخص برداشت، محتوای کلروفیل

### مقدمه

اثر ضدباکتریایی روی هلیکوباکتر پیلوری (عامل ایجادکننده زخم و سرطان معده) دارد و بذره‌های آن را محرک تولید هورمون‌های زنانه می‌دانند. در مصرف سستی بذر رازیانه همانند سیاه دانه و کنجد بر روی نان گندم به عنوان طعم‌دهنده به کار می‌رود. به هر حال مصرف بیش از حد رازیانه سمی است و اسانس آن نباید به مصرف داخلی برسد (دوازده امامی و

رازیانه گیاهی چندساله است که از قدیمی‌ترین، مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی تیره چتریان به شمار می‌آید. مهم‌ترین بخش گیاه رازیانه، بذر آن است که اثر نیرودهنده، مقوی، اشتهاآور، آرام‌کننده، قاعده‌آور، زیادکننده ترشحات شیر و بادشکن دارد (امیدیگی، ۱۳۸۸). همچنین عصاره گیاه رازیانه

\* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: rayhanehamooaghiae@yahoo.com

علاوه بر این، افزایش تولید برخی متابولیت‌های ثانویه که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند نیز به پاکروبی ROS تحت تنش کمک می‌کند (عموآقایی و مجیدی، ۱۴۰۰).

تحقیقات نشان می‌دهد که علاوه بر رشد و عملکرد دانه، میزان اسانس و تولید انواع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی نیز تا حد زیادی تابع میزان آبیاری است. یک پژوهش نشان داد که با افزایش فواصل آبیاری درصد و عملکرد اسانس در سه گیاه اسطوخودوس، رزماری و زوفا افزایش یافت (کوچکی و ثابت تیموری، ۱۳۹۱). در مقابل، افزایش فاصله آبیاری از ۶۰ به ۱۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر، ارتفاع بوته، تعداد چتر در بوته، تعداد دانه در چتر، وزن هزار دانه، عملکرد بیولوژیکی، عملکرد دانه، درصد اسانس و عملکرد اسانس گیاه زنیان را کاهش داد (رضایی چیاپه و همکاران، ۱۳۹۱). نوروزی شهری و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی اثر خشکی بر توده‌های رازیانه بومی ایران گزارش کردند که با وجود افزایش معنی‌دار درصد اسانس دانه تحت شرایط تنش خشکی در مقایسه با شاهد، به دلیل افت چشمگیر عملکرد دانه، عملکرد کل اسانس که از حاصلضرب درصد اسانس و عملکرد دانه حاصل می‌شود، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. یک فرضیه پیشنهاد شده که هر تنشی که رشد را بیشتر از فتوسنتز مهار کند منجر به تجمع متابولیت‌های ثانویه می‌شود. خشکی یکی از تنش‌هایی است که با کاهش فشار تورگر در سلول، رشد را محدود می‌کند و همین امر موجب انتقال مواد فتوسنتزی به سمت مسیر تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Caretto et al., 2015). در مقابل، شدت بالای تنش کم‌آبی، فتوسنتز را مختل و تأمین اسکلت کربنی برای تولید متابولیت‌های ثانویه را محدود می‌کند. بنابر این در اکثر موارد سطح ملایم خشکی اثر مثبت اما شدت زیاد تنش اثر بازدارنده بر تولید متابولیت‌های ثانویه دارد. احمدی خاندانقلی و همکاران (۱۳۹۶) در بررسی تأثیر سه سطح آبیاری (۸۰، ۱۴۰ و ۱۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیرکلاس A به ترتیب به عنوان آبیاری نرمال، تنش ملایم و تنش شدید) بر رازیانه اعلام کردند که تنش ملایم باعث افزایش مقدار اسانس در دانه شد اما

همکاران، ۱۳۸۷). این گیاه عمدتاً به منظور استفاده از اسانس حاصل از آن در صنایع مختلف غذایی، نوشابه‌سازی، داروسازی، آرایشی و بهداشتی کشت می‌شود. تمام پیکر گیاه حاوی اسانس است. اما مقدار اسانس در قسمت‌های مختلف آن متفاوت است. مقدار متوسط اسانس در برگ‌ها، ۱ تا ۱/۵ درصد و در ریشه ۰/۶ تا ۰/۷ درصد است، درحالی‌که مقدار آن در میوه به ۲ تا ۶٪ می‌رسد (امیدبگی، ۱۳۸۸). اسانس رازیانه دارای ده‌ها ترکیب ترپنی است که مهم‌ترین آنها آنتول، فنکول و متیل کایکول است. رشد و میزان اسانس گیاه رازیانه تابع میزان دسترسی این گیاه به آب در طی رشد رویشی و زایشی است (دوازده امامی و همکاران، ۱۳۸۷).

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که پاسخ‌های متنوعی از تغییرات متابولیسم سلولی گرفته تا تغییر در میزان رشد و باروری گیاهان را در گیاه ایجاد می‌کند (Sourour et al., 2017). تنش خشکی با ایجاد اختلال در تبادلات گازی در برگ و میزان فتوسنتز، تغییر ساینز منابع، اختلال در بارگیری آوندها و جذب و انتقال مواد موجب کاهش بیوماس، عملکرد دانه، بازده و کیفیت محصولات می‌شود (Farooq et al., 2009). برای مثال یک مطالعه نشان داد که رازیانه گیاهی با نیاز آبی متوسط است و در مزرعه دور آبیاری ۷ تا ۱۰ روز یکبار برای این گیاه مناسب بود اما با افزایش بیشتر فواصل آبیاری، ارتفاع، وزن خشک کل، تعداد انشعاب‌های فرعی و تعداد چتر در متر مربع، تعداد چتر در بوته، تعداد چتر بارور در انشعاب اصلی و فرعی، تعداد چترک در چتر، وزن هزار دانه و عملکرد دانه رازیانه کاهش یافت (کوچکی و همکاران، ۱۳۸۵). تحت تنش خشکی، بسته شدن روزنه سبب کاهش ورودی CO<sub>2</sub> به برگ‌ها می‌شود و با کاهش فتوسنتز، الکترون‌های بیشتری به مسیر شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) هدایت می‌شوند و آسیب‌های اکسیداتیو در سلول‌ها در نهایت منجر به کاهش رشد و عملکرد دانه گیاهان می‌شود. در این حالت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گاپاکول پراکسیداز (POD) فعال می‌شوند تا ROS را خنثی کنند (Sourour et al., 2017).

مشابه با یون مس، اثرات منفی و مثبت برای نانوذرات حاوی مس نیز در گیاهان مختلف گزارش شده است. یک مطالعه نشان داد که کاربرد نانوذرات مس عملکرد و کیفیت دانه سویا را بهبود می‌دهد (Ngo *et al.*, 2014). نتایج مطالعه Yasmeeen و همکاران (۲۰۱۷) نیز مبین آن بود که استفاده از غلظت ۲۵ پی‌پی‌ام نانوذرات مس با تأثیر بر فرآیندهای تجزیه نشاسته، گلیکولیز و سیکل تری کربوکسیلیک اسید موجب افزایش وزن هزار دانه، طول سنبله، تعداد دانه در هر سنبله و عملکرد گندم تحت تنش خشکی شد. همچنین Dimpka و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی اثر کاربرد نمک‌ها و نانوذرات اکسید مس و اکسید روی به دو صورت خاکی و برگی سه هفته بعد از جوانه‌زنی دریافتند که نانوذرات همانند فرم‌های یونی عناصر روی و مس، رشد بخش هوایی و عملکرد دانه گندم تحت تنش خشکی را به طور معنی‌داری افزایش دادند و باعث افزایش محتوای N, K, Zn, B, Cu در بخش هوایی و N, K, Zn, B, Cu در دانه شدند. مطالعه Hernandez- Hernandez و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که محلول‌پاشی با غلظت کم نانوذرات مس اثر مثبت بر تجمع مواد فعال مانند محتوای ویتامین C در میوه داشت و اثرات نامطلوب شوری بر کیفیت و کمیت گوجه‌فرنگی را تعدیل کرد. در مقابل علائم سمیت غلظت‌های بالای نانوذرات اکسید مس بصورت کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی در آرابیدوپسیس (Nair and Chung, 2014) و افزایش تجمع مالون دی‌آلدئید و بیان ژن Cu-Zn SOD درخیار (Mosa *et al.*, 2018) در گیاهان نیز گزارش شده است. براساس بررسی منابع ذکرشده در بالا ممکن است استفاده از نانوذرات برای بهبود عملکرد کیفی و کمی و افزایش تحمل به تنش‌های محیطی در گیاهان مفید باشد، اما لازم است دانش کافی در مورد چگونگی اثرات آنها بر گیاهان در دسترس شود تا بتوان اثرات منفی آنها را به حداقل رساند.

در شرایط کاهش نزولات آسمانی در سال‌های اخیر و معضل کم‌آبی و افزایش هزینه آب مصرفی در بسیاری از مناطق کشور، تیمار با نانوذرات ممکن است یکی از روش‌های ساده و نوین برای بهبود بیوماس، عملکرد دانه و تحمل تنش

کمترین مقدار اسانس دانه تحت تنش شدید به دست آمد. درحالی‌که هر دو سطح تنش ملایم و شدید باعث کاهش بیوماس رازیانه شد. براساس اطلاعات فوق، یافتن راهکارهایی برای غلبه بر تنش اکسیداتیو ناشی از کم‌آبی و کاهش اثرات منفی تنش خشکی بر رشد و عملکرد گیاهان دارویی برای افزایش عملکرد کل متابولیت‌های ثانویه ضروری است.

با پیشرفت نانوتکنولوژی علاقه به استفاده از نانوذرات در مدیریت تنش‌ها و تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان افزایش یافته است. نانوذرات، اتم‌ها یا مولکول‌هایی با ابعاد بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی متفاوتی را نسبت به ترکیبات پایه‌ای که از آنها بوجود آمده‌اند، از خود نشان می‌دهند و خواص آنها بستگی به ترکیب شیمیایی، اندازه و شکل ذرات دارد (Zhao *et al.*, 2020). یکی از نانوذراتی که در کشاورزی استفاده از آن روز به روز در حال افزایش است، نانوذرات حاوی مس است که برای مدیریت تغذیه گیاهان و کنترل عوامل بیماری‌زا به کار می‌رود. بسیاری از اثرات نانوذرات حاوی مس بر گیاهان ممکن است مرتبط با یون‌های مس ره‌اشده از این نانوذرات باشد (Kasana *et al.*, 2017). مس به‌عنوان جزیی از ساختمان پروتئین، برای عملکرد طبیعی بیش از ۳۰ آنزیم، که اکثراً واکنش‌های اکسیداسیون را کاتالیز می‌کنند، از جمله SOD و سیتوکروم c اکسیداز مورد نیاز است و در فتوسنتز، متابولیسم پروتئین و کربوهیدرات نقش مهمی دارد (Adrees *et al.*, 2015). کمبود عنصر مس سبب کاهش فتوسنتز و رشد غیرمعمول لوله گرده و میکروسپور می‌شود و بر تشکیل دانه، بذر و میوه تأثیر منفی می‌گذارد و در نتیجه موجب کاهش عملکرد می‌گردد (Graham, 1975).

علیرغم عملکردهای ضروری، مس در غلظت‌های بالا به سرعت برای گیاهان سمی می‌شود و سبب بروز علائم متعدد سمیت، از جمله کلروز و نکروز و همچنین کاهش قابل توجه در تولید زیست‌توده و محتوای معدنی گیاه می‌شود. در واقع، سطوح بالای مس داخل سلولی، دستگاه فتوسنتز را مختل می‌کند، که منجر به اختلالات متابولیکی چندگانه و در نتیجه ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود (Adrees *et al.*, 2015).

به راحتی قابل جذب برای گیاه باشند و از رسوب یا به هم چسبیدن آنها جلوگیری شود.

اولین مرحله محلول‌پاشی نانوذرات اکسید مس بعد از اولین بار اعمال فاصله آبیاری سه روزه، روی گیاهان یک ماهه انجام شد. مرحله دوم محلول‌پاشی نانوذرات اکسید مس قبل از گلدهی انجام گرفت و آبیاری گیاه با فواصل ۱، ۲، ۳ روز نیز تا پایان آزمایش (۱۲۰ روز پس از کاشت) ادامه یافت. پس از اتمام گلدهی، تعداد چتر و ارتفاع گیاه اندازه‌گیری شد. از هر گلدان نمونه برگ تازه برداشت و به فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد آزمایشگاه منتقل شد تا برای اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده شود.

با رسیدن بذرها و زرد شدن گیاه عملیات برداشت بذر انجام گرفت. حدود ۱۱۰ روز پس از کاشت، میوه‌ها در گیاه تشکیل شد و با رسیدن بذرها و زرد شدن گیاه عملیات برداشت بذر انجام گرفت. بعد از خشک شدن تعداد بذر موجود در چترهای هر گلدان شمارش شد و وزن کل آنها به عنوان عملکرد دانه و نیز وزن ۱۰۰ دانه آنها اندازه‌گیری شد. علاوه بر این گیاهان برداشت شده و وزن خشک یا همان بیوماس بخش هوایی گیاهان اندازه‌گیری شد. شاخص برداشت از نسبت عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیک (بیوماس) گیاهان هر گلدان محاسبه شد.

**اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی:** برای اندازه‌گیری کلروفیل کل ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه پهنک برگ در هاون به کمک استون ۸۰ درصد سائیده شد و با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شد و حجم عصاره با افزودن استون ۸۰٪ به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۳۳ نانومتر خوانده شد. سپس میزان کلروفیل *a* و کلروفیل *b* طبق فرمول پیشنهادی (Lichtenthaler (1987) بر حسب میلی‌گرم در وزن تر برگ محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید، ۰/۲ گرم از نمونه‌های برگ فریز شده در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک (TCA)، ۰/۱ درصد سائیده شد و شدت جذب مربوط به تشکیل کمپلکس قرمز رنگ حاصل از واکنش

کم‌آبی همزمان با افزایش تولید اسانس در گیاهان دارویی نسبتاً متحمل به خشکی مانند رازیانه باشد. لذا در پژوهش حاضر اثر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس بر فیزیولوژی، عملکرد دانه و میزان اسانس گیاه رازیانه تحت تنش کم‌آبی بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

آزمایش بصورت فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بصورت گلدانی و در گلخانه دانشگاه شهرکرد اجرا شد. برای این منظور بذر رازیانه از شرکت پاکان بذر خریداری شد و پس از ضدعفونی سطحی، در گلدان‌های ۲ کیلویی پر شده با مخلوط کود پوسیده حیوانی و خاک به نسبت ۱:۴ کاشته و آبیاری با آب معمولی با فاصله یک روزه شروع شد. بعد از یک ماه از اجرای این رژیم آبیاری و رشد کردن گیاهان رازیانه به اندازه کافی، تیمار گلدان‌ها با سه سطح فواصل آبیاری (۱، ۲، ۳ روزه) آغاز شد. لازم به یادآوری است که رازیانه یک گیاه با نیاز آبی متوسط است و در مزرعه متداول دور آبیاری معمولاً ۷ تا ۱۰ روز یکبار است اما شرایط در گلخانه و با توجه به بافت خاک متفاوت است. در این مطالعه با توجه به اینکه خاک مورد استفاده شنی لومی بوده و چون میزان و حجم آب مصرف شده در هر گلدان محدود و شرایط گلخانه نسبتاً گرم و خشک و تبخیر آب زیاد بوده، آبیاری با فواصل نزدیک ضروری بود.

به منظور کاهش آثار تنش کم‌آبی، محلول‌پاشی نانوذرات اکسید مس (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) انجام شد. این غلظت‌ها براساس پایین‌ترین مقادیر بکار برده شده در مقالات سایر محققان از جمله (Faraz et al., 2022)، انتخاب شد. در این آزمایش از پودر نانوذرات اکسید مس با سایز ۴۰ نانومتر و خلوص ۹۹ درصد (US3070CAS) خریداری شده از شرکت Research US Nanomaterials Inc استفاده شد. مخلوط نانوذرات با آب، قبل از استفاده به مدت ۶۲۰ ثانیه به وسیله امواج اولتراسوند با قدرت ۹۰-۸۰ هرتز و دور ۱۰۰ سونیکیت شدند تا نانوذرات به حالت سوسپانسیونی در آمده و

تیوباریتوریک (TBA) با مالون دی‌آلدئید (MDA) در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی هم در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت از ضریب خاموشی معادل  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  استفاده شد (Heath and Packer, 1968).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها، بافت برگ در بافر استخراج، ساییده و سانتریفوژ شد و روشن‌آور حاصل، برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مطابق با روش توصیف‌شده به وسیله عمواقایی و همکاران (۱۴۰۱) براساس تبدیل نیتروبلو تترازولیوم (NBT) به فورمازان در حضور نور و ظهور رنگ تخمین زده شد. یک واحد فعالیت SOD، معادل مقدار آنزیمی که ۵۰ درصد احیای نوری NBT را ممانعت می‌کند، تعریف شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز مطابق روش قبلاً توصیف شده به وسیله عمواقایی و مجیدی (۱۴۰۰)، مخلوط واکنش شامل  $3/35$  میکرولیتر گایاکول،  $3$  میلی‌لیتر از بافر فسفات و  $50$  میکرولیتر عصاره گیاهی حاوی آنزیم  $4/5$  میکرولیتر هیدروژن پراکسید بود. تغییرات جذب نوری محلول در طول موج  $470$  نانومتر در طی دو دقیقه (با فواصل  $30$  ثانیه) برآورد شد که مبین مصرف  $\text{H}_2\text{O}_2$  بود. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی  $26/61 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری درصد اسانس، گیاهان جمع‌آوری شده در سایه خشک گردیدند. سپس با استفاده از کلونجر استخراج اسانس از بخش هوایی گیاهان انجام شد. همچنین عملکرد کل اسانس در هر گلدان از حاصلضرب بیوماس در میزان اسانس بدست آمد.

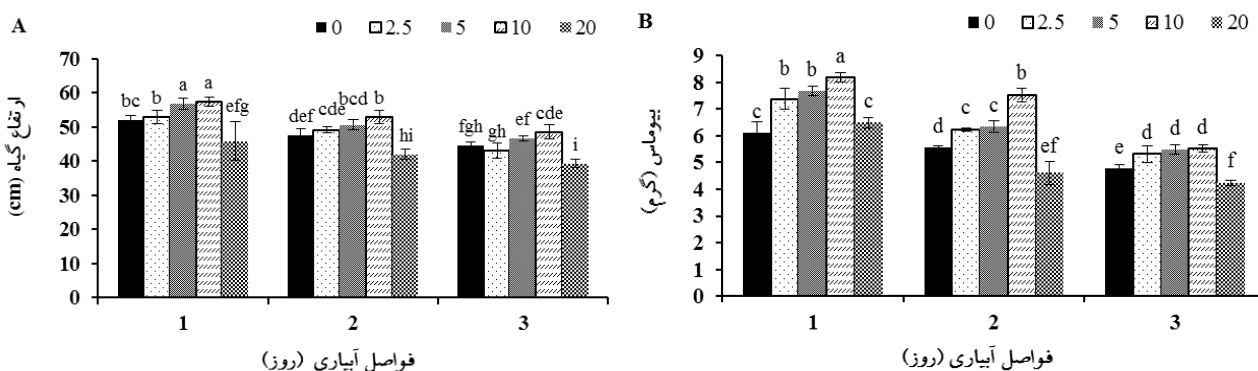
در این پژوهش، آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با سه سطح فواصل آبیاری (۱، ۲، ۳ روز) و پنج غلظت نانوذرات اکسید مس (صفر،  $2/5$ ،  $5$ ،  $10$  و  $20$  میلی‌گرم بر لیتر) اجرا شد. آنالیز واریانس داده‌ها با نرم‌افزار SAS نسخه ۲۰ و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال  $5\%$  انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

## نتایج

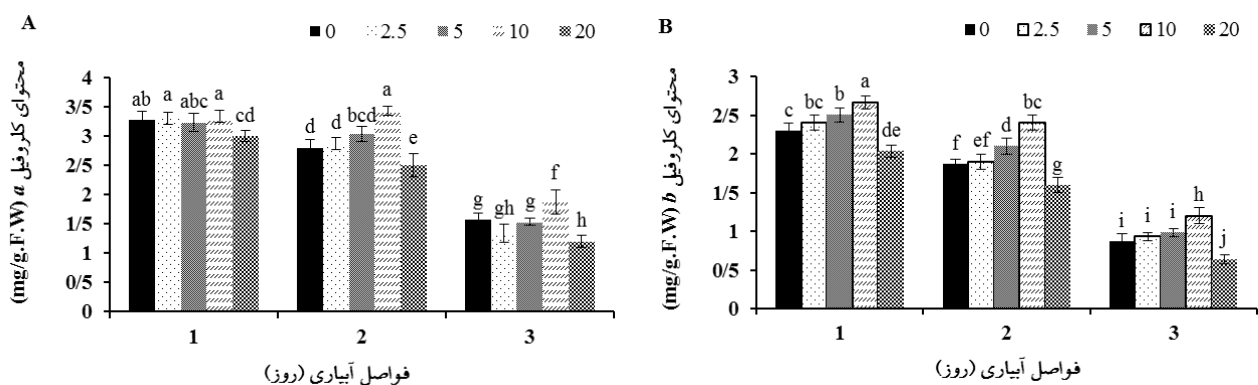
تأثیر تنش کم آبی و نانوذرات اکسید مس بر ارتفاع و بیوماس گیاه رازیانه: نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش فواصل آبیاری به ۲ و ۳ روز، ارتفاع و بیوماس گیاه در حد معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۱). در همه سطوح آبیاری کاربرد غلظت  $2/5$  میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اثر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه نداشت اما با افزایش غلظت نانوذرات ارتفاع بطور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین ارتفاع و بیوماس با کاربرد  $10$  میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات بدست آمد که در فواصل آبیاری ۱، ۲ و ۳ روزه ارتفاع گیاه را به ترتیب  $10/35$ ،  $11/1$  و  $11/89$  درصد و بیوماس گیاه را به ترتیب  $33/87$ ،  $35/61$  و  $15/48$  درصد نسبت به شاهد این گروه‌ها افزایش داد. در مقابل با کاربرد غلظت  $20$  میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات در همه فواصل آبیاری، ارتفاع و بیوماس در حد معنی‌داری نسبت به غلظت  $10$  میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات و در اغلب موارد حتی نسبت به شاهد این گروه‌ها کاهش یافت (شکل ۱).

**تأثیر نانوذرات اکسید مس و فواصل آبیاری بر رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ رازیانه:** با افزایش فواصل آبیاری به ۲ و ۳ روز، محتوای کلروفیل  $a$  و کلروفیل  $b$  در حد معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۲). در فاصله آبیاری یک روزه، کاربرد غلظت‌های  $2/5$ ،  $5$  و  $10$  میلی‌گرم بر لیتر نانو-ذرات اکسید مس اثر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل  $a$  نداشت اما در فواصل آبیاری ۲ و ۳ روزه کاربرد غلظت  $10$  میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس محتوای کلروفیل  $a$  را به ترتیب  $22/61$  و  $19/65$  درصد افزایش داد که نسبت به شاهد این گروه‌ها معنی‌دار بود.

کاربرد  $10$  میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات بیشترین تأثیر را بر محتوای کلروفیل  $b$  داشت و در فواصل آبیاری ۱، ۲ و ۳ روزه بیوماس گیاه را به ترتیب  $15/94$ ،  $29/03$  و  $37/93$  درصد نسبت به شاهد این گروه‌ها افزایش داد. در مقابل با کاربرد غلظت  $20$  میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات در همه فواصل آبیاری محتوای



شکل ۱- تأثیر بر همکنش فواصل آبیاری (۱، ۲ و ۳ روزه) و غلظت نانوذرات اکسید مس (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر) بر ارتفاع (A) و بیوماس بخش هوایی (B) گیاه رازیانه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری با هم ندارند.



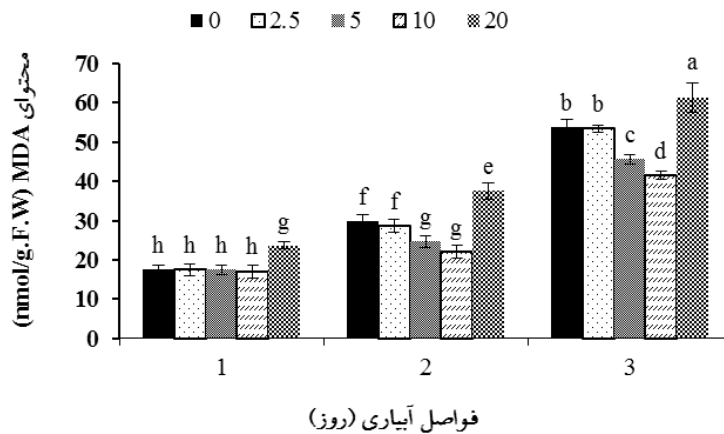
شکل ۲- تأثیر بر همکنش فواصل آبیاری (۱، ۲ و ۳ روزه) و غلظت نانوذرات اکسید مس (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر) بر محتوای کلروفیل a (A) و کلروفیل b (B) در برگ گیاه رازیانه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری با هم ندارند.

۳. در فواصل آبیاری ۲ و ۳ روزه فقط با کاربرد غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس محتوای مالون دی‌آلدئید در حد معنی‌داری نسبت به شاهد این گروه‌ها کاهش یافت و برعکس با کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نسبت به شاهد این گروه‌ها افزایش یافت (شکل ۳).

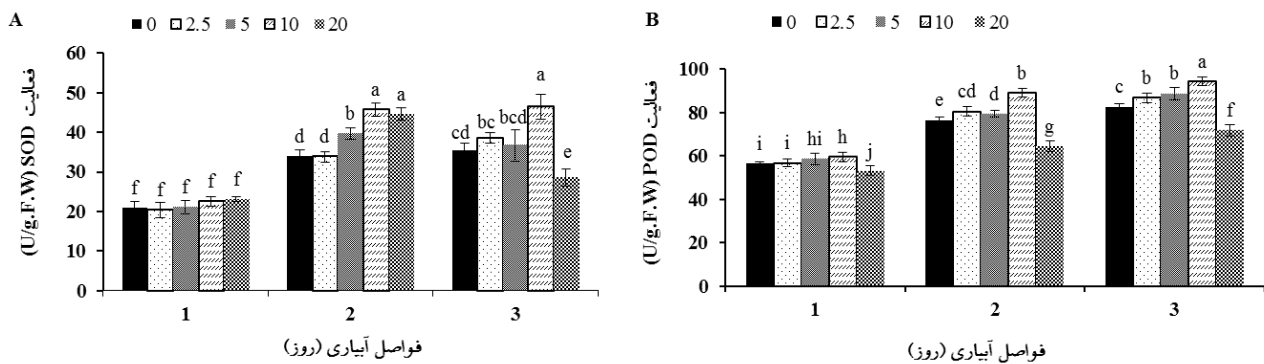
با افزایش فواصل آبیاری به ۲ و ۳ روزه، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در حد معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۴). در فاصله آبیاری یک روزه هیچ کدام از غلظت‌های نانوذرات اکسید مس تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ایجاد نکرد اما غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس میزان فعالیت

کلروفیل a و b در حد معنی‌داری نسبت به شاهد این گروه‌ها کاهش یافت (شکل ۲).

**تأثیر نانوذرات اکسید مس و فواصل آبیاری بر محتوای مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی:** با افزایش فواصل آبیاری به ۲ و ۳ روزه، محتوای مالون دی‌آلدئید در حد معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۳). در فاصله آبیاری یک روزه کاربرد غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس اثر معنی‌داری بر محتوای مالون دی‌آلدئید نداشت اما با کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس محتوای مالون دی‌آلدئید افزایش معنی‌دار ۳۴/۵۸ درصدی را نسبت به شاهد گروه خود نشان داد (شکل



شکل ۳- تأثیر بر همکنش فواصل آبیاری (۱، ۲ و ۳ روزه) و غلظت نانوذرات اکسید مس (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بر محتوای مالون دی‌آلدئید در برگ رازیانه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

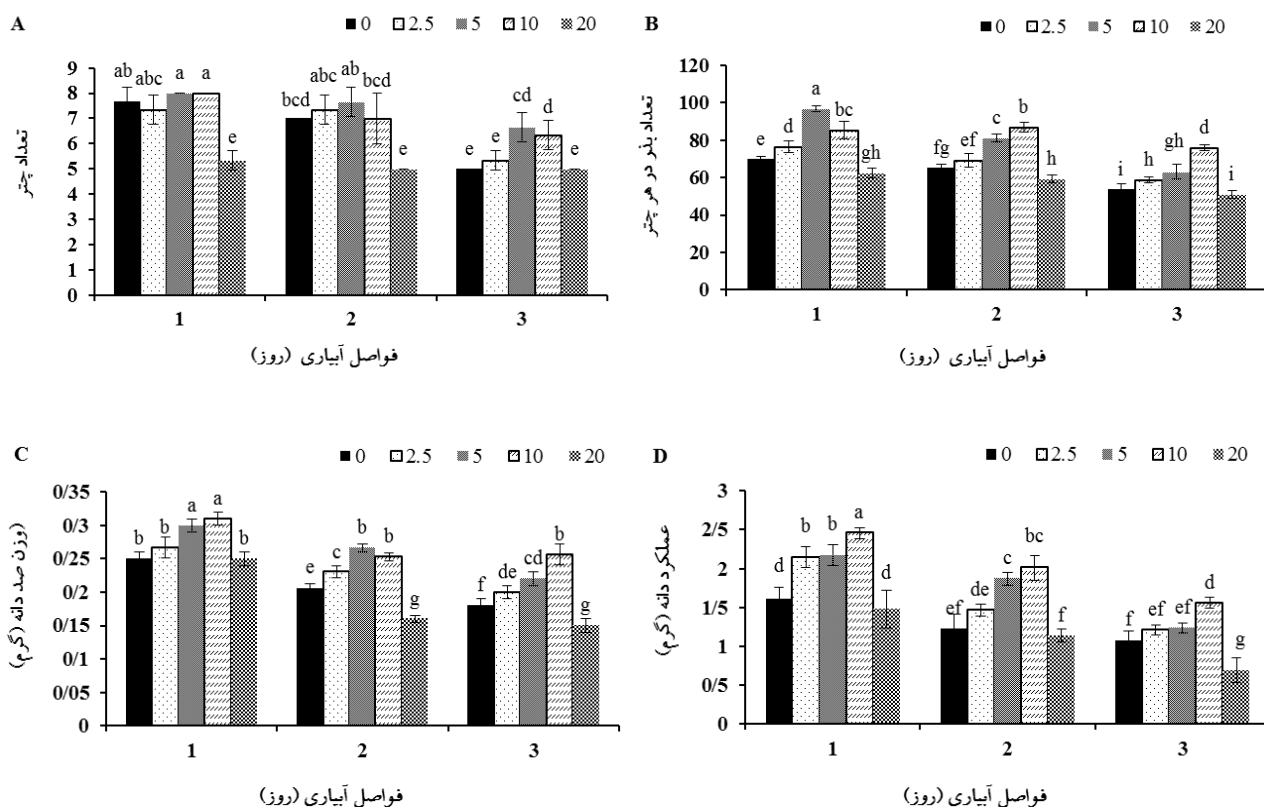


شکل ۴- تأثیر بر همکنش فواصل آبیاری (۱، ۲ و ۳ روزه) و غلظت نانوذرات اکسید مس (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (A) و پراکسیداز (B) در برگ رازیانه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

شاهد این گروه‌ها کاهش یافت. با کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات در فواصل آبیاری ۲ روزه مشابه غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات باقی ماند اما در فواصل آبیاری سه روزه بطور معنی‌داری نسبت به شاهد این گروه کاهش یافت (شکل ۴).

**تأثیر نانوذرات اکسید مس و فواصل آبیاری بر عملکرد و اجزای عملکرد رازیانه:** نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش فواصل آبیاری عملکرد و اجزای عملکرد در حد معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۵). بر طبق نتایج، در فاصله آبیاری ۱ و ۲ روزه کاربرد غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر

آنزیم پراکسیداز را نسبت به شاهد این گروه به ملایمت به ترتیب افزایش و کاهش داد (شکل ۴). در فواصل آبیاری ۲ و ۳ روزه بیشترین اثرات با کاربرد غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس حاصل شد. در فواصل آبیاری ۲ و ۳ روزه کاربرد غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به ترتیب ۳۱/۵۴ و ۳۰/۹۴ درصد و فعالیت آنزیم پراکسیداز را به ترتیب ۱۶/۴۲ و ۱۴/۲۸ درصد افزایش داد که نسبت به شاهد این گروه‌ها معنی‌دار بود. در فواصل آبیاری ۲ و ۳ روزه با کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به



شکل ۵- تأثیر بر همکنش فواصل آبیاری (۱، ۲ و ۳ روزه) و غلظت نانوذرات اکسید مس (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بر تعداد چتر (A)، تعداد دانه در چتر (B)، وزن صد دانه (C) و عملکرد دانه (D) در گیاه رازیانه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

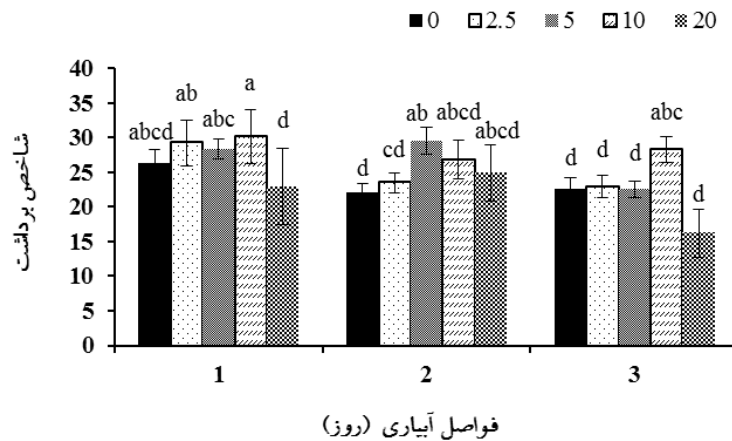
آبیاری دو روزه فقط با کاربرد غلظت‌های ۵ و ۱۰ نانوذرات (۳۳/۷۷ و ۲۱/۳۲ درصد) و در فاصله آبیاری سه روزه فقط با کاربرد غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس (۲۵/۱۲ درصد) بطور معنی‌داری نسبت به شاهد این گروه‌ها افزایش یافت. در همه سطوح آبیاری شاخص برداشت با کاربرد غلظت ۲۰ نسبت به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات کاهش یافت و به سطح معادل یا کمتر از آن در شاهد هر گروه رسید (شکل ۶).

**تأثیر نانوذرات اکسید مس و فواصل آبیاری بر میزان اسانس گیاه رازیانه:** با افزایش فواصل آبیاری به ۲ و ۳ روز، محتوای اسانس در حد معنی‌داری نسبت به شاهد به ترتیب افزایش و کاهش یافت (شکل ۷). در همه سطوح آبیاری کاربرد غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس بطور معنی‌داری محتوای اسانس را افزایش داد. در فاصله

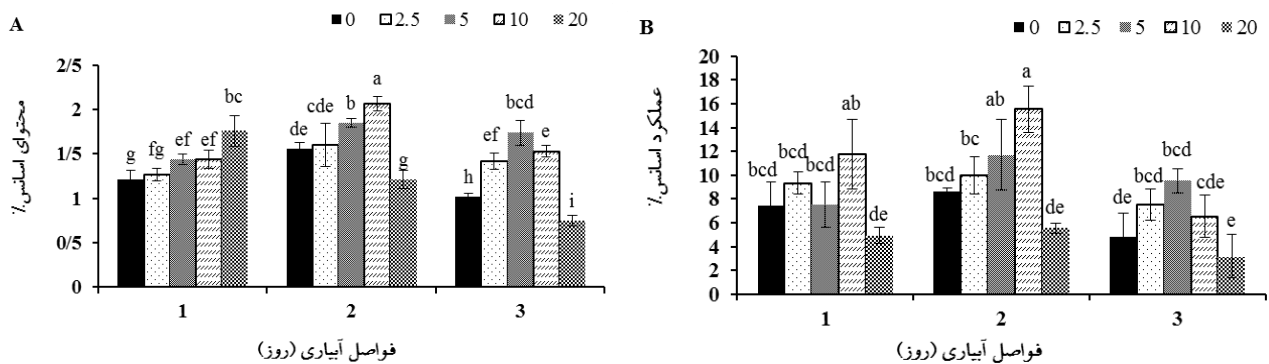
نانوذرات اکسید مس اثر معنی‌داری بر تعداد چتر نداشت اما در فاصله آبیاری سه روزه اثر مثبت تیمار با این غلظت‌های نانوذرات بر تعداد چتر هم معنی‌دار بود. در همه سطوح آبیاری اسپری غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس با افزایش معنی‌دار تعداد دانه در چتر و وزن صد دانه، بطور معنی‌داری عملکرد دانه را نسبت به شاهد این گروه‌ها افزایش داد. در همه سطوح آبیاری تعداد چتر، تعداد دانه در چتر و وزن صد دانه و عملکرد دانه با کاربرد غلظت ۲۰ نسبت به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات کاهش یافت و به سطح معادل یا کمتر از آن در شاهد هر گروه رسید (شکل ۵).

افزایش فواصل آبیاری اثر معنی‌داری بر شاخص برداشت نداشت. در فاصله آبیاری یک روزه کاربرد غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس در حد معنی‌داری بر شاخص برداشت را تغییر نداد. شاخص برداشت در فاصله





شکل ۶- تأثیر بر همکنش فواصل آبیاری (۱، ۲ و ۳ روزه) و غلظت نانوذرات اکسید مس (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بر شاخص برداشت گیاه رازیانه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.



شکل ۷- تأثیر بر همکنش فواصل آبیاری (۱، ۲ و ۳ روزه) و غلظت نانوذرات اکسید مس (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بر درصد (A) و عملکرد (B) اسانس بخش هوایی گیاه رازیانه. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

نانوذرات اکسید مس باعث افزایش ۸۰/۴۱ درصدی عملکرد اسانس نسبت به شاهد این گروه شد که این اثر معنی‌دار بود. در همه سطوح آبیاری کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس باعث کاهش غیرمعنی‌دار عملکرد اسانس نسبت به شاهد این گروه‌ها گردید (شکل ۷).

#### بحث

اگر چه رازیانه گیاهی با نیاز آبی متوسط است و در مزرعه متداول دور آبیاری معمولاً ۷ تا ۱۰ روز یکبار است اما در این مطالعه با توجه به بافت شنی لومی خاک، محدود بودن حجم

آبیاری یک روزه بیشترین محتوای اسانس با کاربرد غلظت ۲۰ اما در فواصل ۲ و ۳ روزه به ترتیب با کاربرد غلظت ۱۰ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس بدست آمد. در فواصل ۲ و ۳ روزه کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس باعث کاهش معنی‌دار محتوای اسانس نسبت به شاهد این گروه‌ها شد.

در فاصله آبیاری ۱ و ۳ روزه کاربرد غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس در مقایسه با شاهد این گروه‌ها اثر معنی‌داری بر عملکرد اسانس نداشت اما در فاصله آبیاری دو روزه کاربرد غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر

داد (شکل ۱ و ۲). عقیده بر آن است که رهایی مس زیاد در غلظت بالای نانوذرات مس موجب آسیب کروماتین و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، و تخریب کلروفیل و افت فرآیند فتوسنتز می‌شود و این امر منجر به کاهش رشد و در مواردی حتی منتهی به مرگ گیاه می‌شود (Kasana et al., 2017). کاهش محتوای کلروفیل تحت غلظت بالای نانوذرات نقره در خردل سیاه (Amooaghaie, et al., 2018) و در پاسخ به غلظت‌های بالای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در زنیان (عموآقایی و همکاران، ۱۴۰۰) هم گزارش شده است.

نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش فواصل آبیاری موجب آسیب به غشاهای سلولی شد (شکل ۳) و برای تعدیل این تنش اکسیداتیو، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه رازیانه تحت تنش کم‌آبی افزایش یافت (شکل ۴). نتایج مشابهی توسط سالارغریبار و فرح‌بخش (۱۳۹۴) نیز در گیاه رازیانه تحت تنش کم‌آبی (۵۰ و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) گزارش شده است. محلول‌پاشی با نانوذرات اکسید مس با غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بر گیاه رازیانه تحت تنش کم آبی موجب تقویت بیشتر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز) شد (شکل ۴) و در نتیجه محتوای مالون دی‌آلدئید برگ رازیانه را تحت تنش کم‌آبی کاهش داد (شکل ۳). بطور مشابهی Taran و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که کاربرد نانوذرات مس با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT و SOD، سطح تجمع مالون دی‌آلدئید را در یک اکوتیپ استپی گندم کاهش داد. مس جز ساختمانی Cu-SOD بوده و علاوه بر این به عنوان یک ریزمغذی با بهبود توان کلی گیاه توان مقابله با تنش‌ها و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد. به هر حال غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید تولید مالون دی‌آلدئید را افزایش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه رازیانه را کاهش داد (شکل‌های ۴ و ۵). بطور مشابهی اثر منفی غلظت بالای نانوذرات روی و اکسید روی بر پایداری غشا در گندم و گوجه‌فرنگی (Amooaghaie, et al., 2017) و افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید و تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

آب مصرفی برای هر گلدان و شرایط گرم گلخانه، حتی فواصل آبیاری ۲ و ۳ روزه، ارتفاع و بیوماس گیاه رازیانه را نسبت به آبیاری نرمال (فاصله آبیاری ۱ روزه) کاهش داد (شکل ۱). افت رشد گیاه رازیانه با کاهش محتوای کلروفیل (شکل ۲) و احتمالاً افت کارایی فتوسنتز در این گیاه همسو و مرتبط بود. در حقیقت با افزایش تنش آب و کاهش فشار تورژسانس سلول‌های محافظ روزه، روزه‌ها بسته و فتوسنتز محدود شده و در نتیجه ارتفاع و بیوماس گیاه نیز کاهش می‌یابد. همچنین تنش خشکی سبب کاهش فشار تورژسانس سلولی و به دنبال آن کاهش نمو سلولی و رشد اندام‌های گیاه می‌شود (Sourour et al., 2017). علاوه بر این، افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به واکنش‌های دفاعی به جای رشد نیز از دلایلی است که موجب کاهش ارتفاع و بیوماس گیاه رازیانه در شرایط کم‌آبی شد. به هر حال کاربرد نانوذرات اکسید مس نه تنها در شرایط نرمال بلکه تحت تنش کم‌آبی نیز باعث افزایش محتوای کلروفیل (شکل ۲) و در نتیجه افزایش بیوماس و ارتفاع گیاه رازیانه (شکل ۱) نسبت به گیاهان شاهد شد. بطور مشابهی Ahmed و همکاران (۲۰۲۱) نیز با بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات مس و نقره بر گیاه گندم تحت آبیاری معادل ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی اعلام کردند تیمار با غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات مس، اثر مثبتی بر شاخص پایداری کلروفیل و محتوای پتاسیم برگ داشت و بطور مطلوبی هدایت روزه‌ای، پارامترهای مرفولوژیکی رشد و عملکرد دانه را در سطوح مختلف ظرفیت زراعی افزایش داد. احتمالاً اثر نانوذرات اکسید مس بر افزایش وزن ماده خشک و کلروفیل گیاه رازیانه مرتبط با رهایی یون مس از نانوذرات در گیاه و نقش این عنصر در تشکیل کلروفیل، فتوسنتز، متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نیتروژن و بالاخره فعال کردن آنزیم‌های مهم گیاهی است. علاوه بر این، مس با تأثیر بر متابولیسم نیتروژن و دخالت در سنتز اسیدآمینه تریپتوفان و تولید اکسین باعث طویل شدن سلول‌ها و در نتیجه افزایش ارتفاع گیاه می‌شود (Adrees et al., 2015). به هر حال غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید مس، بیوماس و ارتفاع و میزان کلروفیل گیاه را کاهش

در زنیان در پاسخ به غلظت بالای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (عمواقایی و همکاران، ۱۴۰۱، عمواقایی و مجیدی، ۱۴۰۰) نیز قبلاً گزارش شده است.

احتمالاً تنش کم‌آبی با کاهش محتوای کلروفیل و افت فتوسنتز و با ایجاد تنش اکسیداتیو و صرف انرژی برای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، موجب کاهش انتقال فرآورده‌های حاصل از فتوسنتز به دانه در حال پر شدن و در نهایت کاهش عملکرد دانه و اجزای آن در گیاهان آبیاری شده با فواصل ۲ و ۳ روزه شد (شکل ۵). به‌طور مشابهی موسوی و همکاران (۱۳۹۱) هم گزارش کردند که با کاهش آبیاری در مرحله گلدهی و پرشدن دانه، تعداد چتر در بوته، تعداد دانه در چتر، عملکرد دانه، شاخص برداشت و راندمان مصرف آب برای تولید دانه در رازیانه کاهش یافت. پیشنهاد شده است که کاهش تعداد دانه در چتر در گیاهان تحت تنش خشکی در مرحله پر شدن دانه ممکن است به علت عقیم‌شدن تعدادی از گل‌های چتر باشد و کاهش در پرشدن دانه‌ها هم به دلیل کاهش در فعالیت منبع‌ها و آنزیم‌های سنتز نشاسته و کاهش تأمین مواد پرورده اتفاق می‌افتد. همچنین کاهش طول دوره گلدهی و پر شدن دانه‌ها سبب کاهش تعداد و وزن دانه می‌شود و با کاهش این اجزا در نهایت عملکرد دانه تحت تنش خشکی کاهش می‌یابد (Alqudah et al., 2011). به هر حال محلول‌پاشی با نانوذرات اکسید مس باعث افزایش اجزای عملکرد و تولید دانه در رازیانه هم در شرایط نرمال و هم تحت فواصل آبیاری ۲ و ۳ روزه شد (شکل ۵). به‌طور مشابهی اثر مثبت محلول‌پاشی نانوذرات مس بر روی عملکرد دانه و اجزای آن در گندم (Hafeez et al., 2015) تحت شرایط بدون تنش و در گیاه سویا (Dimpka et al., 2017) تحت تنش خشکی و در برنج تحت تنش آرسنیک (Liu et al., 2018) گزارش شده است. معلوم شده است که مس بطور مؤثری بر دوام گرده و تندش میکروسپور و تشکیل بذر و میوه اثر دارد (Graham, 1975). بنابراین احتمالاً رهایی مس از نانوذرات موجب بهبود این فرایندها شده و همچنین با افزایش فتوسنتز و به تبع آن با بهبود پر شدن دانه، موجب تقویت عملکرد دانه

گیاهان رازیانه خصوصاً تحت شرایط تنش کم‌آبی شد. مشابه با نتایج این تحقیق Nguyen و همکاران (۲۰۲۲) نیز دریافتند که تیمار با نانوذرات مس با بهبود محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و مهار تنش اکسیداتیو، موجب افزایش تعداد کل دانه و عملکرد دانه ذرت تحت تنش خشکی شد. نصیری و همکاران (۱۴۰۱) نیز گزارش کردند کاربرد نانوذرات اکسید مس در غلظت ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر با بهبود کلروفیل و افزایش فعالیت کاتالاز، تحمل خشکی پنبه را تقویت کرد و وزن هزار دانه و عملکرد دانه این گیاه را در شرایط بدون تنش و همچنین تحت تنش خشکی افزایش داد اما کاربرد غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات این صفات را کاهش داد.

از سوی دیگر نتایج این آزمایش نشان داد کاربرد نانوذرات اکسید مس با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر تحت فواصل آبیاری ۲ و ۳ روزه باعث کاهش تعداد چتر، تعداد دانه در چتر، وزن صد دانه، و عملکرد دانه گیاه رازیانه نسبت به شاهد هر گروه شد (شکل ۵). به‌طور مشابهی غلظت بالای نانوذرات اکسید روی و اکسید مس طول غلاف، تعداد غلاف در بوته، بیوماس، عملکرد دانه، شاخص برداشت، پروتئین دانه و میزان سبزی‌نگی (SPAD) در گیاه لوبیا چیتی را کاهش داد درحالی‌که غلظت‌های کم نانوذرات اثر مثبتی بر این صفات داشت (بهبودی و همکاران، ۱۳۹۲). اثر مثبت و منفی غلظت‌های کم و زیاد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه گیاه زنیان تحت شرایط بدون تنش و تحت تنش شوری نیز قبلاً گزارش شده است (عمواقایی و مجیدی، ۱۴۰۰).

عدم تفاوت معنی‌دار شاخص برداشت رازیانه در فواصل مختلف آبیاری (شکل ۵) نشان می‌دهد تنش کم‌آبی عملکرد بیولوژیک (بیوماس) و عملکرد دانه گیاه رازیانه را در حد مشابهی کاهش داده است. اما بهبود شاخص برداشت در گیاهان تیمار شده با نانوذرات اکسید مس بیانگر آن است که این تیمار عملکرد دانه را بیش از عملکرد بیولوژیک (بیوماس) افزایش داده است. به‌طور مشابهی، اثر مثبت غلظت کم نانوذرات اکسید مس بر میزان شاخص برداشت در لوبیا چیتی گزارش

شده است (بهبودی و همکاران، ۱۳۹۲). این اثر احتمالاً مرتبط با اثر مثبت یون‌های مس رهاشده از نانوذرات بر فرآیند گلدیمی و تشکیل دانه است. چون ثابت شده است که مس بر رشد زایشی و عملکرد دانه بیش از رشد رویشی اثر دارد (Hill et al., 1979).

نتایج این تحقیق نشان داد که در مقایسه با آبیاری نرمال، آبیاری با فواصل ۲ روزه محتوای اسانس را افزایش اما آبیاری با فواصل ۳ روزه آن را کاهش داد (شکل ۶) که مشابه با نتایج سالارغریبار و فرحبخش (۱۳۹۴) روی درصد اسانس در گیاه رازیانه تحت تنش کم‌آبی ملایم و شدید بود. پیشنهاد شده است تحت تنش خشکی بسته شدن روزنه‌ها و کاهش جذب  $CO_2$  سبب افت مصرف NADPH در چرخه کالوین می‌شود. در نتیجه متابولیسم سلولی به طرف مسیرهای بیوسنتزی که اکسی‌والانت‌های احیا را مصرف می‌کنند (از جمله سنتز متابولیت‌های ثانویه احیا مانند الکل‌تئیدها، ایزوپرنوئیدها و فنلیک‌ها) سوق داده می‌شود. بنابراین در برخی از گیاهان در شرایط تنش، تولید متابولیت‌های ثانویه افزایش می‌یابد (Selmar and Kleinwachte, 2013). به هر حال تحت تنش خشکی شدید به دلیل آسیب شدید فتوسنتز و کاهش مواد اولیه مورد نیاز برای سنتز متابولیت‌های ثانویه و اختصاص بیشتر مواد فتوسنتزی برای تولید ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی مانند پرولین و صرف انرژی برای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است باعث کاهش تولید متابولیت‌های ثانویه شود. در این تحقیق، احتمالاً نانوذرات اکسید مس با تأثیر مثبت بر حفظ کلروفیل و در نتیجه فتوسنتز و همچنین با فعال‌سازی سیستم دفاعی و تعدیل اثرات اکسیداتیو ناشی از تنش کم‌آبی باعث ارسال بیشتر فرآورده‌های فتوسنتزی به مسیرهای بیوسنتزکننده اسانس در گیاه رازیانه شده است (شکل ۶). علاوه بر این، افزایش اسانس ممکن است مستقیماً مرتبط با مس رهاشده از نانوذرات باشد. اثر غلظت‌های کم مس به عنوان یک الیسیاتور برای تحریک تولید مواد فنلی، رزمارینیک اسید و اسانس در مریم گلی گزارش شده است (Pirooz et al., 2022). معلوم شده است که نانوذرات با تأثیر بر تولید پراکسید هیدروژن همانند یک

الیسیاتور تولید اسانس در گیاهان را تحریک می‌کنند. پراکسید هیدروژن در غلظت زیاد مخرب است اما در غلظت کم به عنوان یک سیگنال عمل کرده و مسیرهای دفاعی و سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان را فعال می‌کند (Marslin et al., 2017). مشابه با نتایج ما اثر الیسیاتوری نانوذرات  $TiO_2$  و  $SiO_2$  بر تولید اسانس در رازیانه (Bahreini et al., 2015)، نانوذرات اکسید مس بر تولید مواد فنلی و فلاونوئیدها در ریحان (Nazir et al., 2021) و نانوذرات مس بر تولید اسانس در نعناع فلفلی (Nemati et al., 2018) نیز قبلاً گزارش شده است. به هر حال کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس محتوای اسانس را کاهش داد که احتمالاً مرتبط با سمیت نانوذرات بود. بطور مشابهی غلظت‌های بالای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اسانس و عملکرد اسانس گیاه زنیان را تحت شرایط بدون تنش و تحت تنش شوری کاهش داد درحالی‌که غلظت‌های کم این نانوذرات اثر مثبتی بر درصد اسانس گیاه داشت (عموآقایی و مجیدی، ۱۴۰۰). با توجه به اینکه نانوذرات اکسید مس با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بر گیاه رازیانه حتی تحت فواصل آبیاری ۱ روزه (آبیاری نرمال) باعث افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید شد می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این غلظت نانوذرات خود با رهایی مقادیر زیاد فلز سنگین مس موجب القای تنش اکسیداتیو شده است. بنابراین احتمالاً غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید مس با تشدید تنش اکسیداتیو در شرایط کم‌آبی منجر به کاهش کلروفیل و آسیب‌رسانی به آنزیم‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های درگیر در سنتز اسانس شده است و در نتیجه رشد، عملکرد دانه و اسانس گیاه رازیانه در این غلظت کاهش یافته است.

#### تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از دانشگاه شهرکرد برای پشتیبانی مالی و در اختیار گذاشتن گلخانه و سایر تجهیزات برای اجرای عملیات آزمایشگاهی تقدیر می‌شود.

## منابع

- احمدی خاندانقلی، یوسف، اکبری، غلامعلی، ایزدی دربندی، علی، و اله دادی، ایرج (۱۳۹۶). تأثیر تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد اکوتیپ‌های مختلف رازیانه. *مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی*، ۱۰(۱)، ۱۷۳-۱۸۲.  
<https://doi.org/10.22077/escs.2017.540>
- امیدبگی، رضا (۱۳۸۸). تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات قدس رضوی.
- بهبودی، فریده، اله دادی، ایرج، و محمدی گل‌تپه، ابراهیم (۱۳۹۲). اثر ورمی‌کمپوست حاوی نانو ذرات اکسید مس و اکسید روی بر برخی ویژگی‌های زراعی لوبیا چیتی. *نشریه تولید گیاهان زراعی*، ۶(۳)، ۳۳-۴۹.  
 doR: 20.1001.1.2008739.1392.6.3.3.3
- دوازده امامی، سعید، و مجنون حسینی، ناصر (۱۳۸۷). زراعت و تولید برخی گیاهان دارویی و ادویه‌ای. چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران.
- رضایی چیان، اسماعیل، زهتاب سلماس، سعید، قاسمی گل‌عدانی، کاظم، دل‌آذر، عباس (۱۳۹۱). واکنش‌های فیزیولوژیک رازیانه به محدودیت آب. *نشریه بوم‌شناسی کشاورزی*، ۴(۴)، ۳۴۷-۳۵۵.  
 doi: 10.22067/JAG.V4I4.17827
- سالارپورغریبا، ف. و فرح‌بخش، ح. (۱۳۹۴). تأثیر کم آبیاری و اسید سالیسیک بر اسانس و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه رازیانه. *مجله به‌زراعی کشاورزی*، ۱۷(۳)، ۷۱۳-۷۲۷.  
 doi: 10.22059/jci.2015.54381
- عمواقایی، ر.، مجیدی، م. و فرهادیان، ص. (۱۴۰۱). اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر تحمل تنش شوری در گیاه زنیان (*Carum copticum*). *مجله فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۱۹ (۴۸)، ۱۹-۳۳.  
 doR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.3.4
- عمواقایی، ریحانه، و مجیدی، مینا (۱۴۰۰). تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر پاسخ‌های بیوشیمیایی، رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه زنیان (*Carum copticum*) تحت تنش شوری. *مجله روابط خاک و گیاه*، ۱۲(۳)، ۵۱-۳۳.  
 doi: 10.47176/jspi.12.3.07661
- موسوی، غلامرضا، ثقه‌الاسلامی، محمد جواد، و موسوی، سید مهدی (۱۳۹۱). تأثیر تنش خشکی و مقادیر نیتروژن بر عملکرد و راندمان مصرف آب رازیانه (*Foeniculum vulgare Mill.*). *مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی*، ۵(۲)، ۱۴۵-۱۳۵.  
 doi: 10.22077/escs.2013.121
- کوچکی، علیرضا، نصیری محلاتی، مهدی و عزیزی، الهام (۱۳۸۵). اثر فواصل مختلف آبیاری و تراکم بر عملکرد و اجزاء عملکرد دو توده بومی رازیانه. *نشریه پژوهش‌های زراعی ایران*، ۴(۱)، ۱۳۱-۱۴۰.  
 doi: 10.22067/GSC.V4I1.1323
- کوچکی، علیرضا. و ثابت تیموری، مژگان (۱۳۹۱). تأثیر فواصل آبیاری، نوع کود و مرحله برداشت بر درصد و عملکرد اسانس سه گیاه دارویی: اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*)، رزماری (*Rosemarinus officinalis*) و زوفا (*Hyssopus officinalis*) در شرایط مشهد. *نشریه پژوهش‌های زراعی ایران*، ۱۰(۳)، ۴۸۵-۴۹۴.  
 doi: 10.22067/GSC.V10I3.17667
- نوروزی شهری، فریده، پوریوسف، مجید، توکلی، افشین، صبا، جلال، و یزدی‌نژاد، علیرضا (۱۳۹۴). ارزیابی کاربرد برخی از توده‌های رازیانه (*Foeniculum vulgare Mill.*) بومی ایران تحت شرایط تنش خشکی. *علوم گیاهان زراعی ایران*، ۴۶(۱)، ۴۹-۵۶.  
 doi: 10.22059/IJFCS.2015.54045
- نصیری، محسن، صفری، هوشمند، و پورهادیان، حسین (۱۴۰۱). بررسی اثر نانوذره مس بر خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و عملکرد گیاه دارویی پنیرک تحت شرایط تنش خشکی. *مجله فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۱۱(۸۴)، ۴۷-۳۵.  
 doR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.3.4
- Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., Zia-ur-Rehman, M., Irshad, M. K., & harwana, S. A. (2015). The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 8148-8162. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4496-5>.

- Ahmed, F., Javed, B., Razzaq, A., & Mashwan, Z. R. (2021). Applications of copper and silver nanoparticles on wheat plants to induce drought tolerance and increase yield. *IET Nanobiotechnology*, 15, 68-78. <https://doi.org/10.1049/nbt2.12002>.
- Alqudah, A. M., Samarah, N. H., & Mullen, R. E. (2011). Drought stress effect on crop pollination, seed set, yield and quality. In: *Alternative Farming Systems, Biotechnology, Drought Stress and Ecological Fertilisation, Sustainable Agriculture* (ed. Lichtfouse, E.). DOI: 10.1007/978-94-007-0186-1-6.
- Amooaghaie, R., Norouzi, M., & Saeri, M. (2017). Impact of zinc and zinc oxide nanoparticles on the physiological and biochemical processes in tomato and wheat. *Botany*, 95(5), 441-445. DOI: 10.1139/cjb-2016-0194.
- Amooaghaie, R., Tabatabaei, F., & Ahadi, A. (2018). Alterations in *HO-1* expression, heme oxygenase activity and endogenous NO homeostasis modulate antioxidant responses of *Brassica nigra* against nano silver toxicity. *Journal of Plant Physiology*, 228, 75-84. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.01.012>.
- Bahreini, M., Omid, M., Bondarian, F., & Gholibaygian, M. (2015). Metabolites screening of nano elicited *in vitro* Iranian (*Foeniculum vulgare*). *American Journal of Biology and Life Science*, 3(5), 194-198.
- Caretto, S., Linsalata, V., Colella, G., Mita, G., & Lattanzio, V. (2015). Carbon fluxes between primary metabolism and phenolic pathway in plant tissues under stress. *International Journal of Molecular Science*, 16, 26378-26394. doi: 10.3390/ijms161125967.
- Dimpka, C. O., Bindraban, P. S., Fugice, J., Agyin-Birikorang, S., Singh, U., & Hellums, D. (2017). Composite micronutrient nanoparticles and salts decrease drought stress in soybean. *Agronomy for Sustainable Development*, 37, 5. Doi: 10.1007/s13593-016-0412-8. 1-13.
- Faraz, A., Faizan, M., Hayat, Sh., & Alam, P. (2022). Foliar application of copper oxide nanoparticles increases the photosynthetic efficiency and antioxidant activity in *Brassica juncea*. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2022/5535100>.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185-212. <https://doi.org/10.1051/agro:2008021>.
- Graham, R. (1975) Male sterility in wheat plants deficient in copper. *Nature*, 254, 514-515. doi: 10.1038/254514a0.
- Hernandez-Hernandez, H., Quitarro-Gutierrez, T., Gregorio Cadenas-Pliego, G., Ortega-Ortiz, H., Hernandez-Fuentes, A. D., de la Fuente, M. C., Valdes-Reyna, J., & Juarez-Maldonado, A. (2019). Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants. *Plants (Basel)*, 8(10), 355. doi: 10.3390/plants8100355.
- Hafeez, A., Razzaq, A., Mahmood, T., & Ghan zab, H. M. (2015) Potential of copper nano particles to increase growth and yield of wheat. *Journal of Nanoscience Advance Technology*, 1(1), 6-11.
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast: I Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysic*, 125, 189-198.
- Hill, J., Robson, A. D., & Loneragan, J. F. (1979). The effect of copper and nitrogen supply on the distribution of copper in dissected wheat grain. *Australian Journal of Agricultural Research*, 30, 233-237.
- Kasana, R. C., Panwar, N. R., Kaul, R. K., & Kumar, P. (2017). Biosynthesis and effects of copper nanoparticles on plants. *Environmental Chemistry Letters*, 15, 233-240. doi: 10.1007/s10311-017-0615-5.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology*, 148, 350-382.
- Liu, J., Simms, M., Song, S., King, R. S., & Cobb, G. B. (2018). Physiological effects of copper oxide Nanoparticles and arsenic on the growth and life cycle of rice (*Oryza sativa japonica* 'Koshihikari'). *Environmental Science and Technology*, 52, 13728-13737. DOI: 10.1021/acs.est.8b03731.
- Marslin, G., Shecba, C. J., & Franklin, G. (2017) Nanoparticles alter secondary metabolism in plants via ROS burst. *Frontier in Plant Science*, 8, Article 832. doi: 10.3389/fpls.
- Mosa, K. A., El-Naggar, M., Ramamoorthy, K., Alawadhi, H., Elnaggar, A., Wartanian, S., Ibrahim, E., & Hani, H. (2018). Copper nanoparticles induced genotoxicity, oxidative dismutase (SOD) gene expression in cucumber (*Cucumis sativus*) Plants. *Frontiers in Plants Science*, 9, 827. doi.org/10.3389/fpls.2018.00872.
- Nair, P. M., & Chung, I. M. (2014). Impact of copper oxide nanoparticles exposure on *Arabidopsis thaliana* growth, root system development, root lignification, and molecular level changes. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 12709-12722. doi: 10.1007/s11356-014-3210-3.
- Nazir, S., Jan, H., Zaman, G., Khan, T., Ashraf, H., Meer, B., Zia, M., Drouet, S., Hano, C., & Abbasi, B. H. (2021). Copper oxide (CuO) and manganese oxide (MnO) nanoparticles induced biomass accumulation, antioxidants biosynthesis and abiotic elicitation of bioactive compounds in callus cultures of *Ocimum basilicum* (Thai basil). *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 49, 625-633. <https://doi.org/10.1080/21691401.2021.1984935>.
- Nemati Lafmeiani, Z., Jafari, A., Moradi, A., & Ladan moghadam, P. (2018). Impact of foliar application of copper sulphate and copper nanoparticles on some morpho-physiological traits and essential oil composition of peppermint *Herba Polonica*, 64(2),13-24. DOI: 10.2478/hepo-2018-0006.

- Ngo, Q. B., Dao, T. H., Nguyen, H. C., Tran, X. T., Nguyen, T. V., Khuu, T. D., & Huynh, T. H. (2014). Effects of nanocrystalline powders (Fe, Co, and Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (Vietnamese species DT-51). *Advances in Natural science: Nanoscience and Nanotechnology*, 5, 015016. doi: 10.1088/2043-6262/5/1/015016.
- Nguyen, D. V., Nguyen, H. M., Le, N. T., Nguyen, K. H., Le, H. M., Nguyen, A. T., Dinh, N. T. T., Hoang, S. A., & Ha, C. V. (2022). Copper nanoparticle application enhances plant growth and grain yield in maize under drought stress conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41, 364-375. <https://doi.org/10.1101/2020.02.24.963132>.
- Pirooz, P., Amooaghaie, R., Ahadi, A., Sharififar, F., & Torkzadeh-Mahani, M. (2022). Silicon and nitric oxide synergistically modulate the production of essential oil and rosmarinic acid in *Salvia officinalis* under Cu stress. *Protoplasma*, 259(4), 905-916. doi: 10.1007/s00709-021-01708-z.
- Selmar, D., & Kleinwachter, M. (2013). Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 42, 558-566.
- Sourour, A., Afef, O., Mounir, R., & Mongi, B. (2017). A review: Morphological, physiological, biochemical and molecular plant responses to water deficit stress. *The International Journal of Engineering and Science (IJES)*, DOI: 10.9790/1813-0601010104. 1-4.
- Taran, N., Storozhenko, V., Sviatlova, N., Batsmanova, & Shvartau, V. (2017). Effect of zinc and copper nanoparticles on drought resistance of wheat seed lings. *Nanoscale Research Letters*, 12, 60. Doi: 10-1186/s11671-017-1839-9.
- Yasmeen, F., Iqbal, N., Razzaq, A., & Komatsu, S. (2017). Proteomic and physiological analyses of wheat seeds exposed to copper and iron nanoparticles. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1865, 28-42. doi: 10.1016/j.bbapap.2016.10.001.
- Zhao, L., Lu, L., Wang, A., Zhang, H., Huang, M., Wu, H., Xing, B., Wang, Z., & Ji, R. (2020) Nano-biotechnology in agriculture: Use of nanomaterials to promote plant growth and stress tolerance. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 68(7), 1935-1947. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06615>.

# The effect of CuO nanoparticles and irrigation intervals on antioxidant responses, yield components and essential oil content in *Foeniculum vulgare* Mill.

Ameneh Naderi<sup>1</sup> and Rayhaneh Amooaghaie<sup>\*2</sup>

<sup>1,2</sup> Plant Biology Department, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

<sup>2</sup> Biotechnology Research Institute, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

(Received: 25/09/2022, Accepted: 10/01/2023)

## Abstract

*Eryngium caucasicum* from the Apiaceae family, is native to the northern regions of Iran and has significant medicinal and nutritional properties. This paper has provided detailed morpho-anatomical characteristics of the leaves, peduncles, leaf tail, stem, and roots of *Eryngium caucasicum* by bright-field light microscopy. Also, the amount of phenol, flavonoid, and antioxidant activity with a spectrophotometer and the analysis of essential compounds of the aerial part with GC and GCMS have been presented. Morpho-anatomical features include the dicot-like leaves with palmate venation, isolateral mesophyll with palisade tissue on the upper and lower regions of the leaf, and much reduced spongy parenchyma; characteristic arrangement of the mechanical collenchyma tissue, especially in leaves; and characteristic wrinkles in the leaf cuticle. The stem and peduncle with longitudinal ribs contain collenchyma; there is a presence of aerenchyma in the peduncle and root; calcium oxalate druses and secretory channels in all the studied plant parts; and an absence of sclerenchyma in all investigated parts of the plant. The aerial parts of *E. caucasicum* had 37% essential oil, 53.9 mg of flavonoids per gram of dry matter, 48.79 mg per gram of dry matter, and 62.97 percent antioxidant activity. The main compounds in the essential oil of the aerial part include Piperitone (48.78%),  $\beta$ -Sesquiphellandrene (12.64%), and (Z)-Falcarinol (7.85%), and (Z)  $\beta$ -Farnesene (6.36 percent).

**Keywords:** Chlorophyll content, Harvest index, Oxidative damage, Peroxidase, Superoxide dismutase, Water deficit

Corresponding author, Email: rayhanehamooaghaie@yahoo.com