نشریه فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۵، شماره ۷۴، مهر و آبان ۱۴۰۵ صفحه: ۲۱-۴۲
https://doi.org/10.22034/jispp.15.74.21

مقاله پژوهشی

اثر نانوذرات اکسید تیتانیوم و متیل جاسمونات بر پاسخ فیزیولوژیکی و بیان ژن‌های کلیدی دخیل در بیوسنتز لیمونن در گیاه دارویی زرین‌گیاه (*Dracocephalum kotschyi*)

مژگان مصاحبه، حمید سبحانیان*، عنایت‌اله یزدان پناه، غلامرضا بخشی خانیکی
گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، صندوق پستی ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران

چکیده

با توجه به ارزش دارویی، نیاز به توسعه راهکارهای مؤثر برای افزایش عملکرد اسانس و تقویت پاسخ‌های فیزیولوژیکی زرین‌گیاه است. از سوی دیگر، سازوکارهای اثرگذاری الیسیتورهای نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل جاسمونات (MeJA) بر این گیاه ناشناخته مانده است. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی اثر جداگانه و ترکیبی این الیسیتورها بر پاسخ فیزیولوژیکی، بیان ژن‌های بیوسنتز لیمونن، و عملکرد اسانس در زرین‌گیاه انجام شد. بعد از استقرار نشاها در گلدان‌های پلاستیکی، TiO_2 (با غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و MeJA (با غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) به‌طور جداگانه و در ترکیب با هم در سه نوبت با فاصله سه هفته بر روی زرین‌گیاه محلول‌پاشی شدند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین محلول‌پاشی، نمونه‌گیری صورت گرفت. نتایج نشان داد که هر دو الیسیتور به‌طور جداگانه و در ترکیب با هم به شیوه‌ای وابسته به غلظت بر صفات اثر گذاشتند. کاربرد ترکیبی نانوذرات TiO_2 و MeJA به‌صورت هم‌افزایی سبب بهبود صفات زرین‌گیاه شد. به ویژه، تیمار ۲ میلی‌مولار MeJA همراه با ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پلی‌فنول اکسیداز)، قندهای محلول و کاروتنوئیدها شد. علاوه‌براین، این تیمار بیان ژن‌های کلیدی *GPPS* و *LS* درگیر در بیوسنتز لیمونن را به ترتیب تا ۳/۴ و ۲/۹ برابر و عملکرد اسانس را تا ۲/۶ برابر در مقایسه با شاهد مضاعف بهبود بخشید. در کل، این تیمار ترکیبی با ایجاد اثر هم‌افزایی، سبب بهبود فعالیت سامانه آنتی‌اکسیدانی، اسمولیت‌ها، بیان ژن‌های کلیدی بیوسنتز لیمونن، و عملکرد اسانس زرین‌گیاه شد.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، لیمونن، نانوذرات، هورمون

مقدمه

گیاه زرین‌گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Bioss) از تیره نعناعیان، یکی از گیاهان اندمیک و منحصر به فرد ایران است که عمدتاً در مناطق کوهستانی زاگرس، به‌ویژه در استان‌های اصفهان و چهارمحال و بختیاری در ارتفاعات ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ متری با بارندگی حداقل ۳۰۰ میلی‌متر در سال یافت می‌شود

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۶/۱۰، بازنگری: ۱۴۰۴/۰۷/۰۱، پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۸، اولین انتشار: ۱۴۰۵/۰۸/۰۸

* نویسنده مسئول، رایانامه: hamid.sobhanian@pnu.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/

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

(Zamani *et al*., 2025). این گیاه نیمه‌چوبی با ارتفاع ۱۰ تا ۲۰ سانتی‌متر، دارای برگ‌های تخم‌مرغی شکل و گل‌های سفید متمایل به زرد است که از اردیبهشت تا تیر ماه ظاهر می‌شوند. از نظر اکولوژیکی، زرین‌گیاه در مناطق استپی و نیمه‌استپی با خاک‌های سنگلاخی رشد می‌کند و به‌دلیل برداشت بی‌رویه و تخریب رویشگاه‌ها، در معرض خطر انقراض قرار دارد (Moghaddam *et al*., 2022). از جنبه اقتصادی، این گیاه به‌عنوان یک گونه با ارزش در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی- بهداشتی کاربرد دارد. ترکیبات شیمیایی اصلی آن شامل لیمونن، ژرانیول، زانتومیکرول و آپی‌ژنین است که مسئول خواص دارویی متنوعی همچون اثرات ضدسرطانی، ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و کاهنده تب و دردهای مفصلی هستند. از میان ترکیبات موجود در اسانس زرین‌گیاه، لیمونن به خاطر خواص ضدمیکروبی، ضدویروسی، ضدسرطانی، ضدالتهاب، و آنتی‌اکسیدانی از اهمیت بالایی برخودار است (Vieira *et al*., 2018). مسیر بیوسنتز لیمونن شامل دو آنزیم کلیدی ژرانیل دی‌فسفات سنتاز (GPPS) و لیمونن سنتاز (LS) است که مورد توجه محققان قرار دارند (Dudley *et al*., 2020).

اهمیت دارویی لیمونن محققان را به سمت استفاده از محرک‌ها و الیسیتورها جهت افزایش تولید این ترکیب با ارزش اقتصادی هدایت کرده است. از جمله مهمترین الیستورها می‌توان به نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) اشاره داشت. نانوذرات TiO_2، یکی از الیسیتورهای مهم در حوزه القاء تولید متابولیت‌های ثانویه هستند. اثر مثبت نانوذرات TiO_2 بر خصوصیات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان گزارش شده است (Gai *et al*., 2025). پاسخ گیاهان به این نانوذرات وابسته به نوع گونه، مرحله رویشی و ماهیت نانوذرات است. از نظر مکانیزم‌های بکارگیری، نانوذرات TiO_2 سبب تسریع تبدیل مواد غیرآلی به مواد آلی، تقویت فعالیت آنزیم روبیسکو و دیگر فرآیندهای کلیدی سلول می‌شوند (Khajavi *et al*., 2019). هر چند هنوز سازوکارهای دقیق تأثیرگذاری نانوذرات TiO_2 بر گیاهان معلوم نیست، اما پژوهشگران پیشنهاد داده‌اند که این نانوذرات سبب تحریک فرایندهای کلیدی مثل سامانه آنتی‌اکسیدانت شده و از این طریق شرایط لازم برای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه با ارزش دارویی را فراهم می‌کنند (Shenavaie *et al*., 2022).

متیل جاسمونات (MeJA) یکی دیگر از الیسیتورهای مهم گیاهی به شمار می‌رود. گزارش‌ها نشان‌دهنده آن است که MeJA بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گوناگونی نظیر رسیدن میوه، پیری برگ، رشد ریشه، غده‌دهی، توسعه گل، جوانه‌زنی، و محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی تأثیر می‌گذارد (Ahmad *et al*., 2025). علاوه‌براین، این هورمون با القاء فعالیت آنزیم‌های درگیر در واکنش‌های بیوسنتزی سبب تحریک تولید ترکیبات دفاعی نظیر ترپنوییدها، آلکالوییدها و پلی‌فنل‌ها می‌شود (Nabi *et al*., 2021). در نتیجه این فرآیند، پاسخ‌های دفاعی و حافظتی گیاهان در برابر محرک‌های محیطی القاء می‌شوند. با توجه به گونه گیاهی و مرحله رشد، غلظت و زمان تیمار، MeJA اثرات متفاوتی بر رشد و نمو گیاهان دارویی بر جا می‌گذارد. به‌طورکلی، استفاده از شبه‌هورمون MeJA در غلظت بهینه مفید است (Sohn *et al*., 2022).

پژوهش‌های متعددی در خصوص استفاده از الیستورهای TiO_2 و MeJA برای افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه و بهبود صفات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاهان دارویی انجام شده است. برای مثال، Qiu و همکاران (۲۰۲۵) تأثیر MeJA بر گیاه دارویی داودی را مورد بررسی قرار داده‌اند. مشاهدات آنها نشان داده است که غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر MeJA سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی می‌شود. همچنین، Allahverdi و همکاران (۲۰۲۳) اثر محلول‌پاشی TiO_2 (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و MeJA (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) را بر گل محمدی بررسی کرده‌اند. آنها نشان داده‌اند که الیسیتور TiO_2 (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و MeJA (۱ میلی‌مولار) سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات فنلی و مقدار اسانس شدند. در مطالعه دیگری، مزارعی و همکاران (۱۳۹۸) اثر محلول‌پاشی با نانوذره TiO_2 (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) را در مریم‌گلی بررسی کرده‌اند. بر اساس مشاهدات

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

آن‌ها، بیشترین سطح کلروفیل، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، میزان فنل و غلظت پرولین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 حاصل شد. در پژوهش دیگری، Nazariyan و همکاران (۲۰۱۹) تأثیر کاربرد برگی غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار MeJA را بر گیاه شیرین‌بیان بررسی کرده‌اند. کاربرد برگی MeJA به ویژه در غلظت ۵۰ میکرومولار سبب بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی یعنی کاروتنوئیدها، کلروفیل، قندهای محلول و پرولین شد. به‌علاوه، اسکندری و همکاران (۱۳۹۸) تأثیر MeJA با غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار را بر خصوصیات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گشنیز ارزیابی نموده‌اند. نتایج آنها نشان داده است که استفاده از MeJA سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، وزن تر و خشک اندام هوایی و کاهش نشت یونی شد. در نهایت، Ahmadi و همکاران (۲۰۲۰) تأثیر TiO_2 را بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گل‌ناز یخی ارزیابی کرده‌اند. نتایج مؤید این مطلب بود که تیمار نانوذره سبب افزایش سطح رنگیزه‌های فتوسنتزی نظیر کلروفیل، فنل و فلاونوئید برگی می‌شود. در مجموع، پژوهشگران دریافتند که الیسیتورها می‌توانند وضعیت فیزیولوژیکی گیاه را بهبود بخشد و در عین حال بر سیستم آنتی‌اکسیدانت آنزیمی تأثیر مثبت برجا بگذارد. یافته‌های این پژوهش‌ها بستری را فراهم می‌کند تا بر مبنای آن، غلظت‌های بهینه الیسیتورها، نحوه و زمان تیمار، و سایر اطلاعات مهم برای طراحی و اجرای مطالعات بعدی تعیین شود.

با توجه به گزارشات بالا، الیسیتورهای TiO_2 و MeJA سبب افزایش برخی صفات و در حین حال سبب کاهش برخی صفات دیگر در گیاهان می‌شوند. این اثرات به‌نوبه‌خود وابسته به گونه گیاهی، غلظت و مدت زمان تیمار نانوذره، مرحله رشدی گیاه و غیره هستند. بنابراین، ضرورت دارد تا تأثیر جداگانه و ترکیبی این الیسیتورها در گونه‌های مختلف گیاهی مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی اثر جداگانه و ترکیبی نانوذرات TiO_2 و MeJA بر پاسخ فیزیولوژیکی، بیان ژن‌های کلیدی دخیل در بیوسنتز لیمونن، و عملکرد اسانس در زرین‌گیاه انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمار آزمایشی: بذور گیاه دارویی زرین‌گیاه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذور فوق درون سینی‌های پلاستیکی نشاء حاوی پیت‌ماس: کوکوپیت: ماسه به نسبت ۱:۱:۱ کشت شدند. بعد از گذشت شش هفته و رشد کافی، نشاءها به گلدان‌های پلاستیکی حاوی کوکوپیت: پرلیت: ماسه به نسبت ۱:۲:۳ منتقل شدند. شرایط گلخانه به شکل دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد روز، فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۶۰ درصد و شدت نور ۱۰۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ تنظیم شد. گلدان‌ها هر سه روز یکبار با آب آبیاری (۵۰ میلی‌لیتر) و هر هفته یکبار با محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند. این پژوهش در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار صورت گرفت.

بعد از گذشت حدود شش هفته از انتقال زرین‌گیاه به گلدان‌ها و با استقرار گیاهان (به عبارتی، حدود سه ماه بعد از کشت بذور) در گلدان‌های پلاستیکی ۲/۵ کیلوگرمی، TiO_2 با غلظت (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) (Allahverdi *et al*., 2023) و هورمون MeJA با غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار (Allahverdi *et al*., 2023) به‌طور جداگانه و در ترکیب باهم در سه نوبت با فاصله سه هفته بر روی برگ‌های زرین‌گیاه محلول‌پاشی شدند. غلظت‌های نانوذره TiO_2 براساس مطالعات گذشته انتخاب شدند چرا که هم به عنوان بهترین غلظت برای القاء پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه در نظر گرفته می‌شوند (Allahverdi *et al*., 2023) و هم به عنوان غلظت بهینه که خطر مسمومیت برای مصرف‌کننده ندارند (Boutillier *et al*., 2020). براساس مطالعات گذشته (Lopes *et al*., 2025)، محلول MeJA، نانوذره TiO_2 یا ترکیب آنها (۱۵ میلی‌لیتر) توسط آبپاش پلاستیکی بر روی برگ‌های زرین‌گیاه اسپری شد تا احتمال دریافت تقریباً برابر محلول توسط گیاهان فراهم شود. ترکیب تیمارها (۱۶ عدد) در جدول ۱ آورده شده است.

براساس منابع (Lopes *et al*., 2025)، از آب‌مقطر (حاوی ۰/۰۵ تریتون ۸۰) جهت تهیه محلول MeJA استفاده شد چرا که برخلاف حلال‌های رایجی نظیر اتانول بر صفات گیاهی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

جدول ۱- ترکیبات تیماری مورداستفاده در این پژوهش

تیمارها (MeJA)	شاهد TiO_2	TiO_2 100 mg/l	TiO_2 200 mg/l	TiO_2 300 mg/l
شاهد	شاهد دوگانه	TiO_2 100 mg/l	TiO_2 200 mg/l	TiO_2 300 mg/l
0.5 mM	MeJA 0.5 mM	TiO_2 100 mg/l+MeJA 0.5 mM	TiO_2 200 mg/l+MeJA 0.5 mM	TiO_2 300 mg/l+MeJA 0.5 mM
1 mM	MeJA 1 mM	TiO_2 100 mg/l+MeJA 1 mM	TiO_2 200 mg/l+MeJA 1 mM	TiO_2 300 mg/l+MeJA 1 mM
2 mM	MeJA 2 mM	TiO_2 100 mg/l+MeJA 2 mM	TiO_2 200 mg/l+MeJA 2 mM	TiO_2 300 mg/l+MeJA 2 mM

اثرگذار نیست. در اینجا، از تریتون ۸۰ استفاده شد تا امکان چسبندگی MeJA به سطح برگ را فراهم کند. بعد از گذشت ٤۸ ساعت از آخرین محلول‌پاشی، نمونه‌گیری از برگ‌های زرین‌گیاه صورت گرفت. در کنار تیمارهای TiO_2 و MeJA، برگ زرین‌گیاه شاهد (یا بدون تیمار) با آب‌مقطر محلول‌پاشی شد. جهت بررسی مولکولی، نمونه‌های برگی در مرحله گلدهی مربوط به گیاهان شاهد و تیمارها در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد در فریزر نگه‌داری شد.

در این پژوهش، از نانوذرات TiO_2 (شرکت سیگما) استفاده شد. سایر ویژگی‌های نانوذرات عبارت بودند از: نوع ساختار سه‌بعدی: آناتاز؛ جرم مولی ۷۹/۸۷ گرم بر مول؛ چگالی ٤/۲٦ گرم بر میلی‌لیتر؛ خلوص نانو پودر: ۹۹/۹۹ درصد؛ اندازه نانوذرات: ۲۵ نانومتر؛ رنگ نانو پودر: سفید. جهت تهیه سوسپانسیون نانوذرات، غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آب‌دیونیزه استفاده شد. به منظور پراکنده‌سازی سوسپانسیون از سونیکاسیون (160W, 35KHz) به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. تا زمان استفاده، سوسپانسیون نانوذرات روی همزن مغناطیسی نگهداری شد تا از تراکم مجدد ذرات جلوگیری شود.

نشت الکترولیت: ابتدا ۰/۵ گرم بافت برگی تازه با آب مقطر شستشو شده و درون فالکون ۱۵ میلی‌لیتری از آب دیونیزه در دمای ۲۵ °C برای یک شبانه‌روز حفظ شد (Lutts *et al*., 1996). در ادامه، ضریب هدایت الکتریکی اول (EC_1) ثبت شد. در مرحله بعدی، لوله‌های آزمایش در حمام بن‌ماری به مدت ٤۵ دقیقه با دمای ۱۰۰ °C قرار گرفتند. سپس، نمونه‌ها در دمای ۲۵ °C خنک شده و متعاقباً ضریب هدایت الکتریکی دوم (EC_2) ثبت شد. در پایان، نشت الکترولیت با استفاده از رابطه زیر بدست آمد:

$$ELI= (EC_1/EC_2) \times 100.$$

غلظت فلانوئیدها: از سنجش کالریمتری آلومینیوم کلرید برای تعیین محتوی فلاونوئیدهای کل زرین‌گیاه استفاده شد (Chang *et al*., 2002). نخست، ۱ میلی‌لیتر عصاره متانولی تهیه‌شده از نمونه برگی با ۳۰۰ میکرولیتر محلول ۵ درصد $NaNO_2$ (وزنی/حجمی) و ٤ میلی‌لیتر آب‌مقطر مخلوط شد و بعد از گذشت ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول ۱۰ درصد $AlCl_3$ (وزنی/حجمی)، ۲ میکرولیتر محلول ۱ مولار NaOH و ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر به آن اضافه شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه از گرماگذاری، جذب آن در ٤۱۵ نانومتر در تاریکی ثبت شد. مقدار فلاونوئیدها برحسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک نمونه برآورد شد.

قندهای محلول: برای سنجش غلظت قندهای محلول، اول ۰/۵ گرم نمونه برگی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درصد ترکیب شد. سپس، عصاره به مدت ۱۵ دقیقه بر روی شیکر با ۳۵۰ دور در دقیقه تکان خورد و متعاقباً به مدت ۱۵دقیقه در ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از افزودن ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون به فاز رویی، مقدار جذب نور در طول‌موج ٦۳۰ نانومتر خوانده شد و از گلوکز خالص برای تهیه محلول استاندارد استفاده شد (Yang *et al*., 2015).

رنگدانه‌های فتوسنتزی: نخست، ۱ گرم از بافت تازه برگی با ۱۰ میلی‌لیتر از استون ۸۰ درصد در هاون سرد خرد شده و متعاقباً از کاغذ صافی گذرانده شد. عصاره حاصل با دور ۵ هزار در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای تعیین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

جذب نمونه‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. با استون ۸۰ درصد، اسپکتروفتومتر کالیبره شد و مقدار جذب عصاره در طول‌موج‌های ٦٤٥، ٦٦٣، ٤٧٠ و ٦٧٥ نانومتر تعیین شد تا متعاقباً میزان کلروفیل و کاروتنوئید محاسبه شود (Arnon, 1949). فرمول‌های محاسبه غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها عبارت بودند از:

Chl a = 19.3 (A663) - 0.86 (A645) V/100 W
Chl b= 19.3 (A645) - 3.6 (A663) V/100 W
Car = 100(A470) - 3.27(mg chl a) - 104(mg chl b) / 227
Chl t = 20.2 (A675) + 8.02 (A663) V/100 W

در این فرمول‌ها، V حجم محلول صاف‌شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)؛ A جذب نور در طول‌موج‌های ٦٤٥، ٦٦٣، ٤٧٠ و ٦٧٥ نانومتر؛ W وزن تر نمونه بر حسب گرم.

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پلی‌فنل اکسیداز (PPO): نخست، ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه برگی در نیتروژن مایع خرد شد و متعاقباً با ۱ میلی‌لیتر از بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار سرد هموژنایز شد. محلول همگن در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و برای مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ در هر دقیقه سانتریفیوژ شد. در آخر، محلول روشناور برای برآورد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی بکارگرفته شد.

فعالیت آنزیم CAT با تعیین سرعت محوشدن رادیکال پراکسید هیدروژن برآورد شد. نخست، ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی عصاره آنزیمی، پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (با pH برابر ٦/٨) تهیه شد. با افزودن پراکسید هیدروژن به مخلوط واکنش، جذب در طول‌موج ۲٤۰ نانومتر و به مدت ۱ دقیقه توسط اسپکتروفتومتر با ضریب خاموشی $mM^{-1}\ CM^{-1}$ ۰/۰٤۳ خوانده شد. در نهایت، فعالیت CAT بر مبنای تغییر جذب در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه ارائه شد (Dhindsa *et al*., 1981).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم SOD، از روش Beyer و Fridovich (۱۹۸۷) استفاده شد. نخست، ۳۰۰ میکرولیتر بافر واکنش حاوی ترایتون ایکس-۱۰۰ (۰/۰۲۵ درصد)، ۵ میکرولیتر از بافر ریبوفلاوین ۲ میکرومولار، متیونین ۱۲ میلی‌مولار، بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (با pH برابر ۷) و نیتروبلو تترازولیوم ۷۵ میکرومولار به هر لوله آزمایش افزوده شد. واکنش‌ها بر مبنای احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم و توانایی آنزیم SOD در مهار این واکنش‌ها سنجیده شد. فعالیت آنزیم SOD در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر با ضریب خاموشی $mM^{-1}\ CM^{-1}$ ۲۱/۱ سنجیده شد. در نهایت، فعالیت آنزیم SOD بر مبنای واحد آنزیم در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین برآورد شد.

فعالیت آنزیم PPO با استفاده از تکنیک ریموند برآورد شد. اول، لوله‌های آزمایش در حمام آب داغ با دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. درادامه، پیروکالول ۰/۰۲ مولار و بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH ٦ به لوله‌ها افزوده شدند. سپس، ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی افزوده و تغییرات جذب در ٤۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر با ضریب خاموشی $mM^{-1}\ CM^{-1}$ ۲/٤۷ ثبت شد. در نهایت، فعالیت PPO بر مبنای تغییر جذب در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه ارائه شد (Bayrak *et al*., 2020).

عملکرد اسانس: برای خشک‌کردن نمونه‌های برگی زرین‌گیاه، برگ‌ها در شرایط تاریکی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس، برگ‌های خشکیده به کمک آسیاب سرامیکی خرد و مخلوط شدند. در ادامه، ۲۵ گرم از نمونه برگی جوشانده شد. بعد از گذشت حدود سه ساعت از جوش‌آمدن، وزن اسانس از طریق دستگاه کلونجر برآورد شد. در پایان، وزن اسانس تقسیم بر وزن خشک نمونه شد تا عملکرد اسانس گیاهان زرین‌گیاه به دست آید (Arvin and Firouzeh, 2023).

بررسی بیان ژن: برای استخراج RNA نمونه‌های برگی از دستورالعمل شرکت کیت استخراج RNA (GenExir Plant DNA Extraction Kit) استفاده شد. برای اطمینان از کیفیت مناسب نمونه‌ها، RNA برگی با آنزیم نوکلئازی DNase1 تیمار شد تا RNA خالص و عاری از DNA حاصل آید. خلوص RNA با خواندن جذب نمونه‌ها در طول‌موج‌های ۲۸۰ و ۲٦۰ نانومتر توسط دستگاه نانودراپ تأیید شد. علاوه‌براین،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

جدول ۲- آغازگرهای ژن‌های موردمطالعه

نام ژن	توالی آغازگر	طول قطعه
18s-rRNA	F: CCAGGCCCCGATGAGTAGGA R: TTTCCCCTCTTCGGCCTTC	۱۶۵
LS	F:CCGGAATTCGAAGGAGATATACATATGGAAC R:CCGGAATTCTTATGCAAATGGTTCAAACA	۱۷۶
GPPS	F:CGCGGATCCGATGTTCGACTTCAACAAATAC R:CGCGGATCCATGTTCGACTTCAACAAATAC	۱۸۴

یکپارچگی RNA با ژل آگارز ۱/۵ درصد تأیید شد. سنتز cDNA نیز مطابق با دستورالعمل شرکت کیت سنتز cDNA (YTA-cDNA Synthesis Kit) انجام شد. از اطلاعات ژنی موجود در پایگاه NCBI و ابزار Primer3 برای طراحی آغازگرهای لازم برای بررسی بیان ژن‌های *GPPS* و *LS* استفاده شد (جدول ۲). برای انتخاب بهترین آغازگرها، معیارهای Tm، درصد GC، وجود ساقه‌حلقه و دایمرها لحاظ شدند. واکنش Real-time PCR شامل ۱۵ میکرولیتر ddH_2O، ۱ میکرولیتر Primer R (10 pmol/µl)، ۱ میکرولیتر Primer F (10 pmol/µl)، ۲ میکرولیتر cDNA (1 µg/µl) و ۳ میکرولیتر SYBR (5X) بود. برای آنالیز بیان ژن با رنگ SYBR Green، از ۵ میکرولیتر واکنش Real-time PCR استفاده شد. از 18s-rRNA به‌عنوان ژن مرجع و جهت نرمال‌سازی و سنجش بیان نسبی ژن‌ها استفاده شد. در کل، دو تکرار تکنیکی (تعداد تکرار برای هر نمونه) و سه تکرار بیولوژیکی (تعداد تکرار برای هر تیمار) لحاظ شد. این تعداد از تکرار براساس توصیه ابراهیمی و همکاران (۱۳۹۷) و سایر محققان اتخاذ شد که امکان سنجش پایدار بیان ژن را فراهم می‌کند. برای تعیین تغییرات کمی بیان ژن‌های *GPPS* و *LS* بین تیمارهای گوناگون از روش Pfaffl (۲۰۰۱) استفاده شد.

نتایج حاصل از بررسی صفات زرین‌گیاه (نشت الکترولیت، فلونوئید، قندها، کلروفیل کل، کاروتنوئید، فعالیت SOD، APX، CAT، بیان *GPPS* و *LS*، و عملکرد اسانس) به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار برای هر تیمار ارائه شدند. با تحلیل واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین LSD در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵، اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌های شاهد و تیمارها تعیین شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تیمار زرین‌گیاه با الیسیتورهای MeJA و نانوذرات TiO_2 گویای این مطلب بود که اثرات اصلی و متقابل این دو الیسیتور بر صفات مورد بررسی زرین‌گیاه در سطح ۱ یا ۵ درصد معنی‌دار بود. بنابراین، اثرات TiO_2 و MeJA بر تک تک صفات موردمطالعه مورد بحث قرار خواهد گرفت (جدول ۳).

نشت الکترولیت: شکل ۱، تأثیر MeJA و نانوذرات TiO_2 بر نشت الکترولیت در زرین‌گیاه را نشان می‌دهد. براساس نتایج، کاربرد جداگانه نانوذرات TiO_2 (۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) موجب افزایش معنادار نشت الکترولیت شد. در مقابل، کاربرد جداگانه MeJA نشت الکترولیت را به‌طور اندکی کاهش داد. کاربرد ترکیبی نانوذرات TiO_2 همراه با MeJA (۱ و ۲ میلی‌مولار)، نشت الکترولیتی کمتری نسبت به تیمار جداگانه TiO_2 (۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) نشان داد. به‌طورکلی، بیشترین و کمترین نشت الکترولیت در تیمارهای ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 + ۲ میلی‌مولار MeJA یافت شدند. مؤثرترین ترکیب تیماری، کاربرد هم‌زمان ۲ میلی‌مولار MeJA و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 بود که باعث کاهش ٤٤ درصدی نشت الکترولیت نسبت به تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 شد (شکل ۱).

بر مبنای نتایج ما، افزایش غلظت نانوذرات TiO_2 موجب افزایش معنادار نشت الکترولیت شد که نشان‌دهنده ایجاد تنش اکسیداتیو است. به‌طور مشابهی، Panahirad و همکاران

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

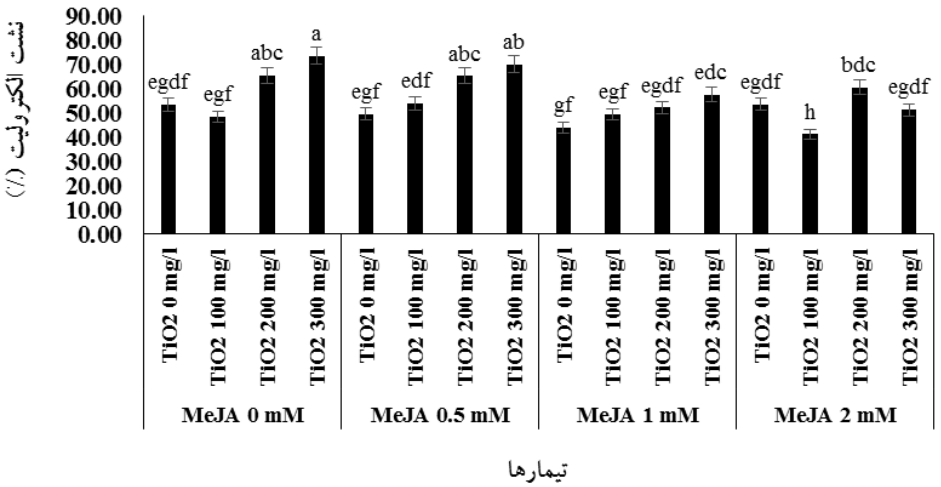
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات زرین‌گیاه تحت تأثیر نانوذرات TiO_2 و MeJA

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		نشت الکترولیت	فلونوئید	قندها	کلروفیل کل	کاروتنوئید
MeJA	۳	۲۹۱/۵۹**	۵۸۷/۴۳**	۷/۲۳**	۰/۰۲۲**	۰/۸۰**
نانوذرات	۳	۶۵۰/۲۶**	۶۰۲/۸۱**	۴/۵۰**	۰/۰۲۱**	۱/۰۸**
MeJA × نانوذرات	۹	۹۰/۷۸*	۱۲۹/۲۶*	۰/۶۱*	۰/۰۰۹*	۰/۱۱*
خطا	۳۲	۴۰/۸۸	۵۶/۳۵	۰/۲۵	۰/۰۰۳	۰/۰۴
ضریب تغییرات	-	۱۱/۴۹	۱۲/۹۵	۱۱/۲۱	۱۱/۴	۱۲/۹۸

ادامه جدول ۳-

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		SOD	CAT	PPO	بیان *GPPS*	بیان *LS*	عملکرد اسانس
MeJA	۳	۲۵/۱۰**	۳۴۴/۱۴**	۰/۰۲۸**	۴/۰۹**	۲/۱۰**	۰/۳۹**
نانوذرات	۳	۲۳/۳۴**	۲۵۲/۹۹**	۰/۰۳۱**	۳/۲۰**	۲/۷۳**	۰/۰۹**
MeJA × نانوذرات	۹	۰/۶۸*	۳۷/۲۱**	۰/۰۰۲*	۰/۳۶**	۲/۶۸*	۰/۰۷*
خطا	۳۲	۰/۲۴	۱۲/۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۷۸	۰/۰۲	۰/۰۰۹
ضریب تغییرات	-	۸/۹	۱۵/۱۲	۱۳/۲	۱۳/۱۸	۸/۱۳	۹/۲۴



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل‌جاسمونات (MJ) بر نشت الکترولیت برگ زرین‌گیاه. مقدارها، میانگین سه تکرار مستقل هستند. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

(۲۰۲۴) دریافته‌اند که غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 باعث افزایش نشت الکترولیت، مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن می‌شود و همزمان صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مهم گیاه سرخارگل را بهبود می‌بخشد. براساس نتایج ما، تیمار MeJA اثر محافظتی اندکی بر محافظت غشاء سلولی داشت. در مطالعه مشابهی، اسکندری و همکاران (۱۳۹۸) نشان داده‌اند که کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار MeJA سبب کاهش نشت یونی گشنیز می‌شود. یافته‌های ما حاکی از اثر هم‌افزایی MeJA

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

و TiO_2 در فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی گیاه بود. هم‌راستا با مشاهدات ما، Allahverdi و همکاران (۲۰۲۳) دریافته‌اند که محلول‌پاشی TiO_2 و MeJA منجر به کاهش آسیب غشایی در گل‌محمدی می‌شود.

در توجیه مشاهدات مطالعه ما می‌توان گفت که نانوذرات TiO_2 باعث تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در سلول‌های گیاهی می‌شوند. در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها، نانوذرات TiO_2 در زنجیره‌های الکترونی اختلال ایجاد می‌کنند و تولید ROS را افزایش می‌دهند. ROSها نیز به نوبه خود لیپیدها را در غشاهای سلولی اکسید می‌کنند و مالون دی‌آلدئید (MDA) را تشکیل می‌دهند که نشانگر پراکسیداسیون لیپید است. این امر باعث تخریب یکپارچگی غشا و افزایش نشت یون می‌شود (Marslin *et al*., 2017). شبه‌هورمون MeJA نیز نشت الکترولیت را عمدتاً از طریق فعال‌سازی آبشاری سیگنالی کاهش می‌دهد که ثبات و ترمیم غشا را تحت تنش تقویت می‌کند. به عبارتی، MeJA توسط گیرنده COI1 در کمپلکس SCF-COI1 شناسایی می‌شود؛ این امر موجب یوبیکیتینه‌شدن و تجزیه مهارکننده JAZ می‌شود. این فرآیند، فاکتورهای رونویسی مانند MYC2 را آزاد می‌کند که به افزایش بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر می‌شود. این آنزیم‌ها، ROS را تخریب می‌کنند و از پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب غشایی ناشی از ROS جلوگیری می‌کنند. اثر قوی‌تر ترکیب تیماری نسبت به تیمارهای جداگانه TiO_2 و MeJA ناشی از این حقیقت است که مکانیسم‌های بالا با تقویت یکپارچگی غشای پلاسمایی، آسیب اکسیداتیو را به حداقل رسانده و در نتیجه نشت مواد محلول از غشاء را کاهش می‌دهند (Nabi *et al*., 2021).

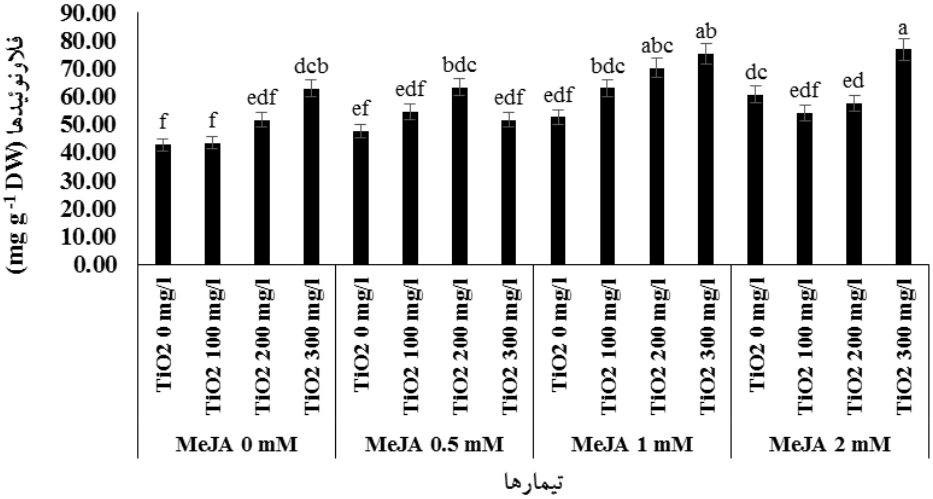
فلاونوئیدها: نتایج نشان داد که کاربرد MeJA در غلظت ۲ میلی‌مولار موجب افزایش محتوای فلاونوئیدها نسبت به شاهد شد. همچنین، تیمار TiO_2 در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش معنادار فلاونوئیدها شد. در تیمارهای ترکیبی، اثر هم‌افزایی قابل‌توجهی بین MeJA و TiO_2 مشاهده شد. به‌طور مشخص، غلظت ۲ میلی‌مولار MeJA همراه با ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 به‌عنوان مؤثرترین تیمار شناسایی شد که بیشترین افزایش را در تجمع فلاونوئیدها ایجاد کرد. این تیمار منجر به افزایش ۱/۸ برابری محتوای فلاونوئیدها نسبت به شاهد مضاعف (بدون تیمار TiO_2 یا MeJA) شد. در مرتبه بعد، غلظت ۱ میلی‌مولار MeJA همراه با ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 سبب افزایش ۱/۷ برابری محتوای فلاونوئیدها نسب به شاهد مضاعف شد. این ترکیبات تیماری نه‌تنها برتری معنی‌داری نسبت به شاهد داشتند، بلکه عملکرد آنها از تیمارهای جداگانه نیز بیشتر بود (شکل ۲).

در توافق با مشاهدات ما در خصوص تأثیر مثبت MeJA، Nyanasaigran و همکاران (۲۰۲٤) اثر MeJA بر گیاه دارویی پرپین را مورد مطالعه قرار داده‌اند. یافته‌های آنها نشان داده است که غلظت ۱ میلی‌مولار MeJA سبب افزایش محتوای فلاونوئیدها می‌شود. هم‌راستا با یافته‌های ما درباره اثر مثبت TiO_2، Ahmadi و همکاران (۲۰۲۰) در آزمایشی بر روی اثر TiO_2 بر صفات فیزیولوژیکی گیاه گل‌نازیخی نشان داده‌اند که تیمار نانوذره منجر به افزایش سطح فنل و فلاونوئید برگی در این گیاه شد. همچنین، idasA و ynainehC (۲۲۰۲) با مطالعه تأثیر غلظت ۰٦ میلی‌گرم بر لیتر $_2$OiT بر گیاه دارویی کاکوتی دریافته‌اند که تیمار نانوذرات سبب افزایش محسوس مقدار فلاونوئیدها می‌شود. نتایج ما نشان‌دهنده پتانسیل بالای روش‌های القای ترکیبی (استفاده همزمان از $_2$OiT و AJeM) در افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاهی است. به‌طور مشابهی، idrevhallA و همکاران (۳۲۰۲) دریافته‌اند که محلول‌پاشی $_2$OiT و AJeM منجر به افزایش مقدار فنل و فلاونوئیدها در گل‌محمدی می‌شوند.

در توجیه یافته‌های مطالعه حاضر می‌توان اینگونه استنباط کرد که نانوذرات TiO_2 مسیرهای سیگنالینگ وابسته به ROS را فعال می‌کنند که به نوبه خود ژن‌های بیوسنتز فلاونوئید (مثل *PAL*، *CHS* و *FLS*) را تنظیم می‌کنند. برای مثال، گزارش شده است که نانوذرات TiO_2 (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) فعالیت آنزیم PAL را تا چند برابر افزایش می‌دهند و محتوای فنول‌ها و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]



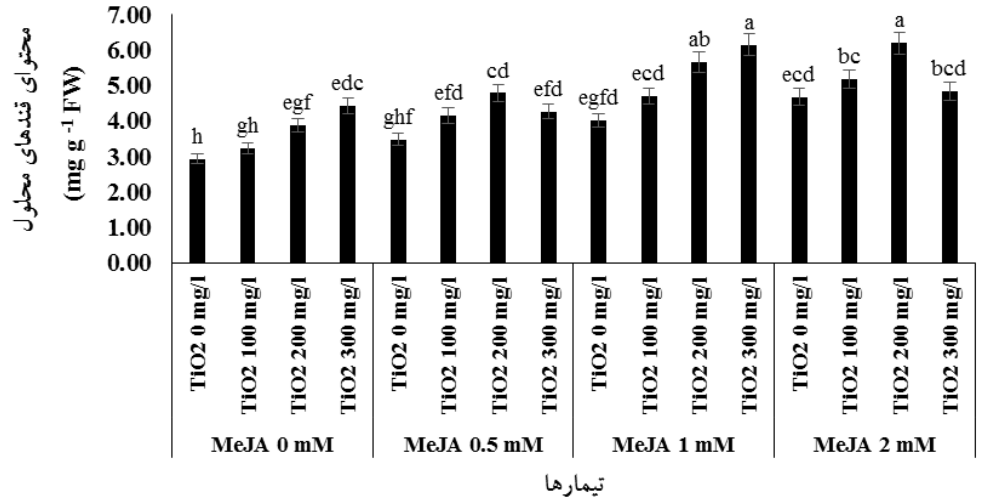
شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل‌جاسمونات (MJ) بر محتوای فلاونوئیدهای زرین‌گیاه. مقدارها، میانگین سه تکرار مستقل هستند. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

فلاونوئیدهای کل را بالا می‌برند (Marslin *et al*., 2017). شبه‌هورمون MeJA نیز بیوسنتز فلاونوئیدها را از طریق یک مکانیسم مولکولی هماهنگ که با درک آن از طریق کمپلکس گیرنده مشترک COI1-JAZ آغاز می‌شود، افزایش می‌دهد، جایی که مهارکننده JAZ توسط پروتئازوم S۲۶ یوبیکوئیتینه و تخریب می‌شود و در نتیجه فاکتورهای رونویسی مثل MYC2 آزاد می‌شوند که ژن‌های پاسخ‌دهنده به JA را فعال می‌کنند. این فاکتور به همراه سایر فاکتورهای رونویسی، کمپلکس MYB-bHLH-WD40 را تشکیل می‌دهند که به نواحی پروموتر ژن‌های کلیدی مسیر فلاونوئید (مثل چالکون سنتاز، چالکون ایزومراز، فلاوانون ۳- هیدروکسیلاز، دی هیدروفلاونول ردوکتاز و آنتوسیانیدین سنتاز) متصل می‌شود و با افزایش بیان آنها سبب بهبود تولید فلاونوئیدها می‌شوند (Jeyasri *et al*., 2023). تیمار ترکیبی TiO_2 و MeJA با القاء همزمان مسیرهای پیام‌رسانی و تنظیم ترانسکریپتوم سبب تقویت اثرگذاری این دو الیسیتور بر محتوای فلاونوئیدها گیاه می‌شود (Shenavaie *et al*., 2022).

قندهای محلول: بررسی داده‌های مربوط به محتوای قندهای محلول در زرین‌گیاه تحت تأثیر تیمارهای نانوذرات TiO_2 و MeJA نشان داد که هر دو عامل به‌تنهایی و در ترکیب با یکدیگر اثرات قابل‌توجهی بر این شاخص فیزیولوژیک دارند. کاربرد جداگانه TiO_2 (به‌ویژه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) موجب افزایش محتوای قندهای محلول نسبت به شاهد شد، درحالی‌که کاربرد جداگانه MeJA در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار سبب افزایش قندها نسبت به شاهد شد. با این وجود، تعامل ترکیبی این دو الیسیتور نتایج قابل‌توجه‌تری را آشکار ساخت. به‌طوری‌که تیمارهای ۱ میلی‌مولار MeJA همراه با ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 و همچنین ۲ میلی‌مولار MeJA همراه با ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 موجب افزایش حدود دو برابری تجمع قندهای محلول برگ زرین‌گیاه شدند. در مرتبه بعدی، تیمار ۱ میلی‌مولار MeJA همراه با ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 باعث یک افزایش ۱/۹ برابری در غلظت قندهای محلول شد (شکل ۳).

در توافق با نتایج ما، Nyanasaigran و همکاران (۲۰۲۴) اثر MeJA بر گیاه دارویی پرپین را مورد مطالعه قرار داده‌اند. یافته‌های آنها نشان داده است که غلظت ۱ میلی‌مولار MeJA سبب افزایش محتوای قندهای محلول می‌شود. همچنین، Nazariyan و همکاران (۲۰۱۹) نشان داده‌اند که کاربرد برگی MeJA به ویژه در غلظت ۵۰ میکرومولار سبب بهبود قندهای محلول در شیرین‌بیان شد. هم‌راستا با یافته‌های ما، Panahirad و همکاران (۲۰۲۴) دریافته‌اند که TiO_2 (۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) باعث افزایش غلظت قندهای محلول در گیاه دارویی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل‌جاسمونات (MJ) بر محتوای قندهای محلول زرین‌گیاه. مقدارها، میانگین سه تکرار مستقل هستند. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

سرخارگل می‌شود. همسو با مشاهدات ما، اثر هم‌افزایی TiO_2 و MeJA بر تولید و تجمع قندها و فنول‌ها در مطالعه Tabarifard و همکاران (۲۰۲۵) در گیاه کلپوره نیز گزارش شده است.

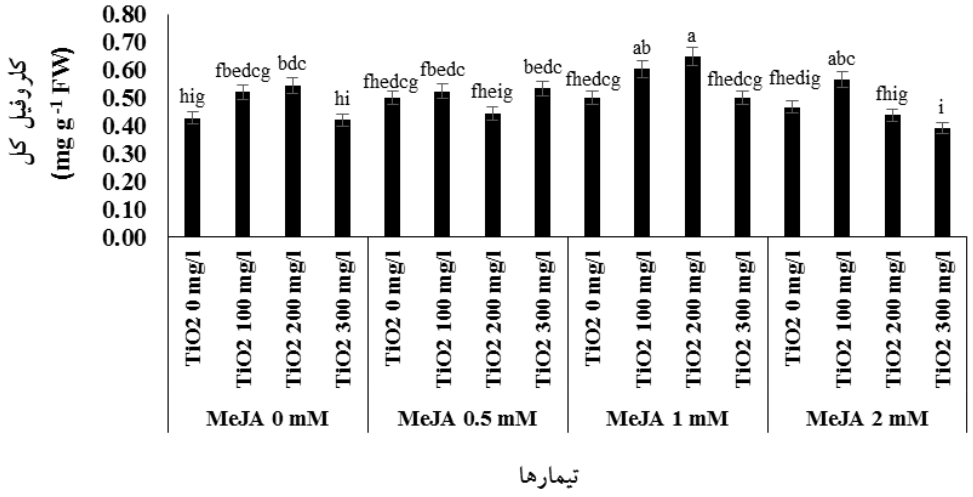
در توجیه یافته‌های ما می‌توان گفت که مکانیسم‌های مولکولی که نانوذرات TiO_2 از طریق آنها بر محتوای قند محلول در گیاهان تأثیر می‌گذارند، شامل تعاملات پیچیده‌ای است که بر فتوسنتز، متابولیسم کربوهیدرات، فعالیت‌های آنزیمی و مسیرهای پاسخ به تنش تأثیر می‌گذارند. برای مثال، نانوذرات TiO_2 با بهینه‌سازی تثبیت کربن فتوسنتزی و هدایت جریان متابولیک به سمت سنتز ساکارز از طریق تنظیم افزایشی آنزیم ساکارز- فسفات سنتاز، محتوای قند محلول را افزایش می‌دهند (Farahi *et al.*, 2023). قندها به نوبه خود به عنوان اسمولیت‌ها و سوبستراهای انرژی برای دفاع تجمع می‌یابند که این امر با تقویت سامانه آنتی‌اکسیدانت با واسطه TiO_2 تسهیل می‌شود (Gai *et al.*, 2025). سیگنال‌دهی MeJA نیز به نوبه خود می‌تواند تثبیت کربن فتوسنتزی را در بافت‌های سبز گیاه افزایش دهد و در نهایت منجر به تجمع سیستمیک قندهای محلول به عنوان بخشی از تخصیص مجدد منابع دفاعی گیاه شود (Nabi *et al.*, 2021). اثر هم‌افزایی نانوذرات TiO_2 و MeJA در مطالعه ما نشان‌دهنده آن است که غلظت‌های بهینه شبه‌هورمون MeJA می‌تواند پاسخ‌های فیزیولوژیک القاشده توسط نانوذرات TiO_2 را تقویت کند و منجر به افزایش تولید قندهای محلول شود.

کلروفیل کل: کاربرد TiO_2 (به‌ویژه غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) موجب افزایش محتوای کلروفیل کل شد. در مقابل، غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 سبب اثر معکوس شد. از سوی دیگر، تیمار جداگانه MeJA محتوای کلروفیل را تعدیل نکرد. اثر ترکیبی این دو الیسیتور قابل توجه‌تر بود و تلفیق ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 با ۱ میلی‌مولار MeJA به‌طور هم‌افزایی محتوای کلروفیل را به حداکثر رساند (با ۱/۵ برابر افزایش نسبت به شاهد مضاعف). در مرتبه بعدی، تیمار ترکیبی ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 با ۱ میلی‌مولار MeJA توانست مقدار کلروفیل کل را تا ۱/۳ برابر نسبت به شاهد مضاعف افزایش دهد (شکل ٤).

هم‌راستا با مشاهدات ما، Nazariyan و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی تأثیر MeJA (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بر شیرین‌بیان دریافته‌اند که MeJA (۵۰ میکرومولار) منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کاروتنوئیدها شد. همسو با نتایج ما، مزارعی و همکاران (۱۳۹۸) و همچنین Ahmadi و همکاران (۲۰۲۰) دریافته‌اند که محلول‌پاشی TiO_2 سبب افزایش سطح رنگیزه‌های فتوسنتزی شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]



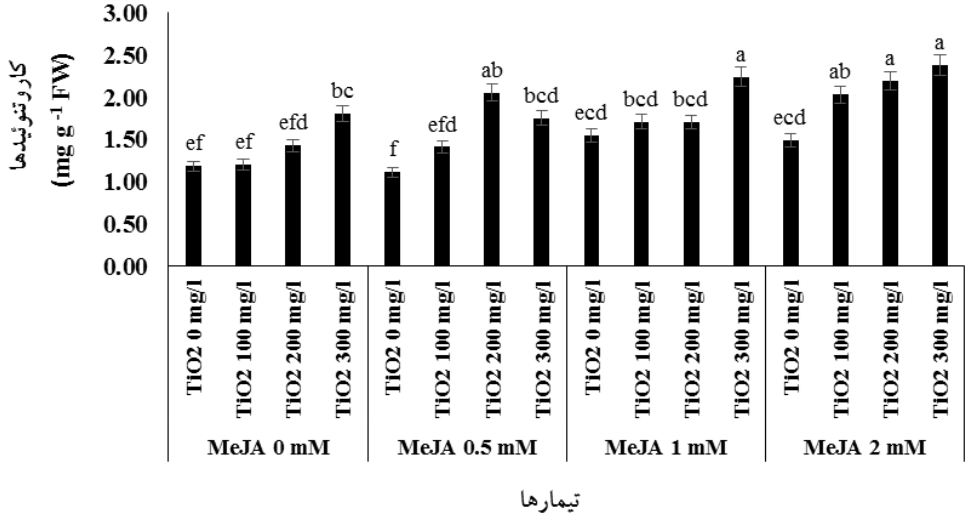
شکل ٤- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل‌جاسمونات (MJ) بر محتوای کلروفیل کل زرین‌گیاه. مقدارها، میانگین سه تکرار مستقل هستند. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

در توضیح اثر هم‌افزایی نانوذرات TiO_2 و MeJA بر زرین گیاه می‌توان اینگونه استنباط کرد که این الیسیتورها با فعالسازی مسیرهای پیام‌رسانی اختصاصی و مشترک سبب تعدیل اثرگذاری خود بر بیوسنتز و تجزیه مولکول کلروفیل می‌شوند. نانوذرات TiO_2 از طریق بهینه‌سازی برداشت نور، فعال‌سازی آنزیمی، تعدیل آنتی‌اکسیدانی، بر محتوای کلروفیل تأثیر می‌گذارند. غلظت‌های ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلروفیل را افزایش می‌دهند، درحالی‌که غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث آسیب ناشی از ROS (Farahi *et al*., 2023) می‌شوند. نانوذرات TiO_2 سبب افزایش سنتز گاما آمینولوولینیک اسید (پیش‌ساز کلروفیل) و سطح سیتوکینین ایزوپنتیل آدنین (فعال-ساز کلروفیل سنتاز) می‌شوند. با افزایش بیان ناقل‌های مواد مغذی، نانوذرات TiO_2 جذب Mg^{2+} و Fe^{2+} را بهبود می‌بخشند که برای تشکیل حلقه کلروفیل ضروری هستند (Gai *et al*., 2025). شبه‌هورمون MeJA نیز محتوای کلروفیل را با تعدیل بیان ژن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و متابولیسم نیتروژن افزایش می‌دهد. این شبه‌هورمون با تنظیم افزایشی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آسیب ناشی از ROS را بهبود می‌بخشد و در نتیجه از تخریب کلروفیل جلوگیری می‌کند. همزمان، با افزایش فراوانی پروتئین D1 از طریق افزایش بیان ژن‌های *psbA* و *psbB* ، کمپلکس فتوسیستم II را تثبیت می‌کند و انتقال کارآمد الکترون را تضمین کرده و مهار نوری را کاهش می‌دهد (Tang *et al*., 2023).

کاروتنوئیدها: نتایج شکل ۵ نشان داد که کاربرد همزمان MeJA و نانوذرات TiO_2، اثر هم‌افزایی قابل‌توجهی بر افزایش محتوای کاروتنوئیدهای زرین‌گیاه داشت. هر چند افزایش غلظت هر یک از این عوامل به‌تنهایی (به ویژه MeJA در غلظت ۲ میلی‌مولار) منجر به افزایش کاروتنوئیدها نسبت به شاهد شد، با این حال بیشترین افزایش زمانی مشاهده شد که بالاترین غلظت‌های این دو عامل به‌صورت ترکیبی اعمال شدند. به‌ویژه، تیمار ترکیبی ۲ میلی‌مولار MeJA و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات TiO_2، مؤثرترین تیمار در افزایش کاروتنوئیدهای برگی بود به‌طوری‌که محتوای کاروتنوئیدها را تا دو برابر نسبت به شاهد افزایش داد. در مرتبه بعدی، تیمار ۱ میلی‌مولار MeJA و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات TiO_2 توانست غلظت کاروتنوئیدهای برگی زرین‌گیاه را تا ۱/۸ برابر افزایش دهد (شکل ۵).

همسو با یافته‌های ما، Nazariyan و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی بر روی اثر MeJA (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بر گیاه شیرین‌بیان، نشان داده‌اند که کاربرد برگی MeJA به ویژه در غلظت ۵۰ میکرومولار سبب بهبود غلظت کاروتنوئیدها در شیرین‌بیان شد. هم‌راستا با نتایج ما، Asadi و Cheniany

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]



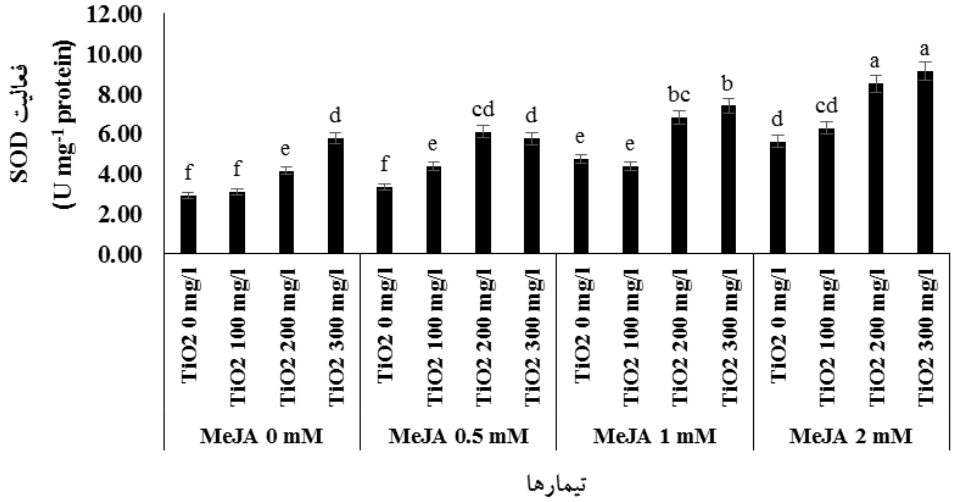
شکل ۵- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل‌جاسمونات (MJ) بر محتوای کاروتنوئیدهای زرین‌گیاه. مقدارها، میانگین سه تکرار مستقل هستند. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

(۲۰۲۲) با ارزیابی اثر غلظت ٦٠ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 بر گیاه دارویی کاکوتی گزارش کرده‌اند که این تیمار سبب افزایش معنی‌دار غلظت کاروتنوئیدها شد. در توافق با نتایج ما در خصوص اثر هم‌افزایی TiO_2 و MeJA بر کاروتنوئیدهای برگی زرین‌گیاه، Allahverdi و همکاران (۲۰۲۳) با ارزیابی اثر محلول‌پاشی TiO_2 و MeJA بر گل‌محمدی نشان داده‌اند که ترکیبات با TiO_2 (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و MeJA (۱ میلی‌مولار) باعث بیشترین افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گل‌محمدی شدند.

در خصوص توضیح یافته‌های این مطالعه درباره اثر هم‌افزایی MeJA و TiO_2 بر غلظت کاروتنوئیدها می‌توان اینگونه استنباط کرد که هر کدام از این الیسیتورها از طریق مسیرهای اختصاصی و مشترک سبب تحریک مسیرهای بیوسنتزی کاروتنوئیدها می‌شوند. مکانیسم‌های مولکولی که نانوذرات TiO_2 به کمک آنها بر محتوای کاروتنوئید در گیاهان تأثیر می‌گذارند، شامل تعاملات پیچیده‌ای بین خواص نانوذرات، پاسخ‌های گیاه و مسیرهای بیوشیمیایی است. برای مثال، بیان فیتوئن سنتاز (PSY) به عنوان آنزیم محدودکننده سرعت در سنتز کاروتنوئید، تحت تنش ناشی از TiO_2 تحریک می‌شود (Gai *et al*., 2025). شبه‌هورمون MeJA نیز به‌نوبه‌خود با افزایش بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز کاروتنوئید، محتوای کاروتنوئید را در گیاهان افزایش می‌دهد. این امر منجر به افزایش تولید و تجمع کاروتنوئیدهای مختلف مانند بتاکاروتن می‌شود (Nabi *et al*., 2021). طبیعتاً، سازوکارهای TiO_2 و MeJA در افزایش کاروتنوئیدها روی همرفته سبب بهبود بیشتر تولید کاروتنوئیدها در مقایسه با کاربرد جداگانه این الیسیتورها می‌شود. با این حال، هنوز مطالعات بیشتری برای شناسایی سازوکارهای مولکولی تقابل TiO_2 و MeJA و نقش آنها در مسیرهای پیام‌رسانی مشترک لازم است.

فعالیت آنزیم SOD: با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر کاربرد جداگانه MeJA موجب افزایش فعالیت آنزیم SOD در زرین‌گیاه شد، به‌طوری‌که با غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار MeJA، فعالیت آنزیم روندی صعودی نشان داد. نانوذرات TiO_2 نیز به‌تنهایی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت SOD داشتند؛ به‌طوری‌که در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، فعالیت این آنزیم افزایش یافت. در مورد کاربرد ترکیبی این دو عامل، نتایج حاکی از اثر هم‌افزایی قابل‌توجه بود؛ به‌ویژه تیمارهای تیمار ۲ میلی‌مولار MeJA و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 و همچنین ۲ میلی‌مولار MeJA و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 به ترتیب منجر به افزایش حدود ۳ و ۲/۷ برابری فعالیت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]



شکل ٦- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل‌جاسمونات (MJ) بر فعالیت آنزیم SOD برگ زرین‌گیاه. مقدارها، میانگین سه تکرار مستقل می‌باشند. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

SOD نسبت به شاهد مضاعف شدند. بر این اساس، مؤثرترین تیمار ترکیبی برای حداکثر تحریک فعالیت آنزیم SOD، ترکیب ۲ میلی‌مولار MeJA با ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات TiO_2 است (شکل ٦).

در توافق با یافته‌های ما، Qiu و همکاران (۲۰۲۵) با بررسی تأثیر MeJA بر گیاه دارویی داودی نشان داده‌اند که MeJA (۱ میلی‌گرم بر لیتر) سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی می‌شود. همسو با یافته‌های ما، Panahirad و همکاران (۲۰۲٤) نشان داده‌اند که TiO_2 باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD در گیاه سرخارگل شد. این محققان پیشنهاد داده‌اند که TiO_2 احتمالاً از طریق تحریک تولید ROSها سبب فعال‌سازی سامانه آنتی‌اکسیدانت و مسیرهای پیام‌رسانی مهم گیاهی می‌شود. به‌طور مشابهی، مزارعی و همکاران (۱۳۹۸) نشان داده‌اند که محلول‌پاشی TiO_2 (به ویژه ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) سبب افزایش فعالیت SOD در مریم‌گلی شد. آنها پیشنهاد کرده‌اند که TiO_2 به خاطر اندازه کوچک خود و امکان نفوذ راحت‌تر به سلول‌های برگی به راحتی می‌تواند بر صفات فیزیوبیولوژیکی تأثیر بسزایی بگذارد.

اثر هم‌افزایی TiO_2 و MeJA بر فعالیت آنزیم SOD طبیعتاً نتیجه اجماع اثراتی است که هر یک از این الیسیتورها بر فعالسازی سیستم آنتی‌اکسیدانت می‌گذارند. در توضیح مشاهدات مطالعه ما می‌توان گفت که نانوذرات TiO_2 به دلیل خواص فوتوکاتالیستی، تولید ROS مثل $O_2^{\bullet-}$ را القا می‌کنند. لازم به ذکر است که نانوذرات سبب القای تولید ROS می‌شوند و اینگونه فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت آنزیمی و غیرآنزیمی را فعال می‌کنند (Marslin *et al*., 2017). این خاصیت القاکنندگی تنش اکسیداتیو توسط نانوذرات TiO_2 نه تنها سبب بروز علائم پژمردگی گیاه نمی‌شود بلکه سبب القاء مسیرهای پیام‌رسانی گوناگونی در گیاه می‌شود تا صفات مورفولوژیکی (نظیر معماری ریشه برای جذب آب و مواد مغذی) و فیزیولوژیکی (نظیر غلظت اسمولیت‌ها) را بهبود بخشد (Gohari *et al*., 2020). این تنش اکسیداتیو، رونویسی ژن‌های رمزگردان آنزیم SOD را از طریق مسیرهای پاسخ‌دهنده به تنش القاء می‌کند. نانوذرات TiO_2 همچنین دسترسی به کوفاکتور فلزی (Mn ،Cu/Zn) را افزایش می‌دهند که برای کارکرد و ساختار آنزیم TiO_2 اهمیت دارند (Alabdallah *et al*., 2024). توانایی MeJA در افزایش فعالیت SOD نیز با نقش آن در تنظیم سطح ROS، فعال‌کردن مسیرهای دفاع آنتی‌اکسیدانی و تعامل با سایر مولکول‌های سیگنالینگ مرتبط است (Tang *et al*., 2023).

فعالیت آنزیم CAT: بررسی تأثیر جداگانه و ترکیبی نانوذرات TiO_2 و MeJA بر فعالیت آنزیم CAT نشان داد که

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

تأثیر ترکیبی این دو عامل بسیار بیشتر از کاربرد منفرد آن‌هاست. نکته کلیدی در اثر ترکیبی این بود که حضور هم‌زمان TiO_2 و MeJA موجب تقویت قابل‌توجه فعالیت آنزیم CAT شد، به‌طوری‌که بیشترین افزایش فعالیت این آنزیم در تیمار ترکیبی ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 همراه با ۱ میلی‌مولار MeJA مشاهده شد. این ترکیب تیماری سبب افزایش ۳/۲ برابری فعالیت آنزیم CAT در گیاه زرین‌گیاه شد. بنابراین، بهینه‌ترین تیمار برای حداکثر تحریک فعالیت آنزیم CAT، کاربرد هم‌زمان نانوذرات TiO_2 در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به همراه MeJA در غلظت ۱ میلی‌مولار است که نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی این دو ترکیب الیسیتوری در بهبود پاسخ‌های آنزیمی است. در مرتبه بعدی، تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 همراه با ۲ میلی‌مولار MeJA قرار داشت که سبب افزایش ۲/۹ برابری فعالیت CAT در گیاه زرین‌گیاه شد (شکل ۷).

هم‌راستا با یافته‌های ما، Nyanasaigran و همکاران (۲۰۲٤) با ارزیابی تأثیر MeJA بر گیاه دارویی پرپین دریافته‌اند که MeJA باعث افزایش فعالیت آنزیم CAT شد. همسو با نتایج مطالعه اخیر، یافته‌های Gohari و همکاران (۲۰۲۰) تأیید کرده‌اند که استفاده از نانوذرات TiO_2 (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) منجر به افزایش فعالیت CAT در گیاه دارویی بادرشبو می‌شود. به‌طور مشابهی، مزارعی و همکاران (۱۳۹۸) گزارش کرده‌اند که محلول‌پاشی TiO_2 (به ویژه ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) سبب افزایش فعالیت CAT در مریم‌گلی می‌شود. هم‌راستا با نتایج ما در خصوص اثر هم‌افزایی TiO_2 و MeJA بر فعالیت CAT، Shenavaie و همکاران (۲۰۲۲) دریافته‌اند که تیمار همزمان MeJA (۰/۵ میلی‌مولار) و TiO_2 (۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) سبب افزایش بیشتری در فعالیت آنزیم CAT در مقایسه با تیمارهای جداگانه شد.

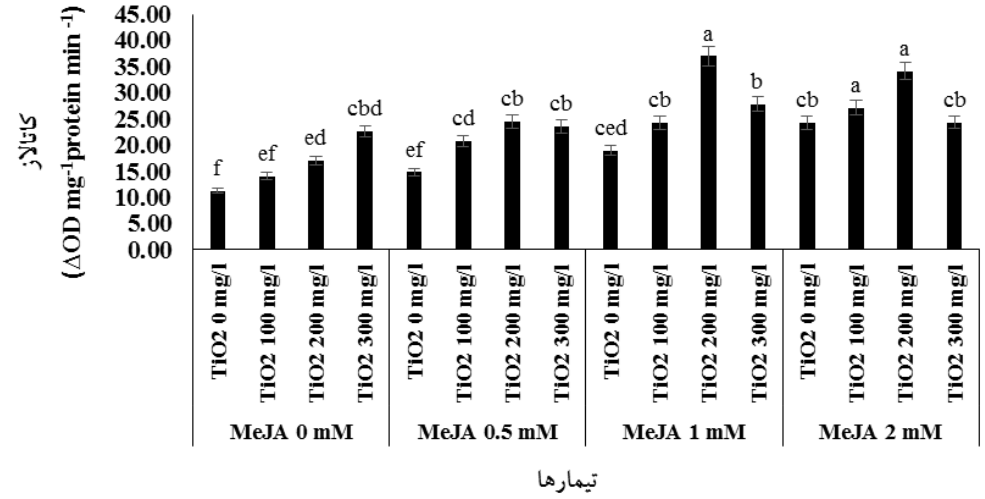
در توجیه افزایش فعالیت آنزیم CAT بعد از تیمار الیسیتورها در مطالعه ما می‌توان گفت که تأثیر نانوذرات TiO_2 بر این آنزیم توسط مکانیسم فعال‌سازی سیگنال‌دهی تنش کنترل می‌شود. این تعاملات بیشتر توسط مرحله رشد گیاه، عوامل محیطی (به عنوان مثال، شدت نور) و خواص فیزیکوشیمیایی نانوذرات کنترل می‌شوند (Gai *et al*., 2025). تیمار با MeJA نیز سبب افزایش سطح رونوشت ژن‌های کدکننده CAT و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود که منجر به غلظت بالاتر این آنزیم‌ها و متعاقباً افزایش فعالیت آنها می‌شوند (Nazariyan *et al*., 2019). اما اینکه مکانیزم تقابلی الیسیتورهای TiO_2 و MeJA در افزایش فعالیت آنزیم CAT چیست، هنوز جای سوال دارد و نیازمند پژوهش‌های بیشتر است.

فعالیت آنزیم PPO: تحلیل شکل ۸ نشان داد که فعالیت آنزیم PPO در زرین‌گیاه تحت تأثیر معنادار غلظت‌های مختلف MeJA و نانوذرات TiO_2 قرار داشت. به‌طور مجزا، غلظت ۲MeJA میلی‌مولار موجب تحریک فعالیت آنزیم PPO شد. به‌موازات این، نانوذرات TiO_2 نیز به‌صورت وابسته به غلظت، فعالیت آنزیم را افزایش دادند، به‌طوری‌که حداکثر تحریک در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. در شرایط کاربرد ترکیبی، اثرات هم‌افزایی قابل‌توجهی دیده شد؛ به‌ویژه تیمار هم‌زمان ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 همراه با ۱ میلی‌مولار MeJA به عنوان مؤثرترین ترکیب، موجب افزایش ۲/٤ برابری فعالیت آنزیم PPO شد. در مرتبه بعدی، ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 همراه با ۲ میلی‌مولار MeJA منجر به یک افزایش ۲/۳ برابری در فعالیت آنزیم PPO شد (شکل ۸).

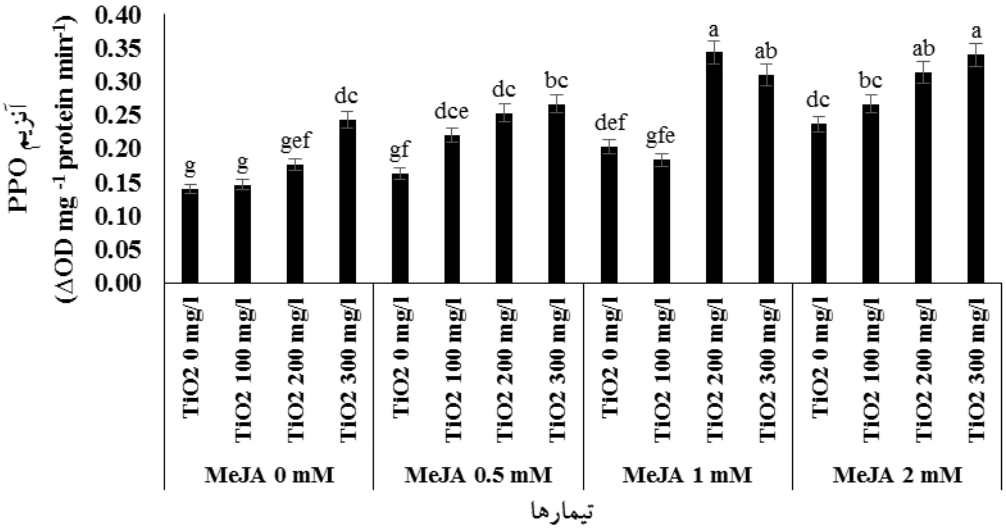
در توفق با مشاهدات مطالعه اخیر، Nyanasaigran و همکاران (۲۰۲٤) نشان داده‌اند که غلظت ۱ میلی‌مولار MeJA سبب افزایش فعالیت آنزیم PPO در گیاه دارویی پرپین می‌شود. همسو با مشاهدات ما، مزارعی و همکاران (۱۳۹۸) دریافتند که محلول‌پاشی TiO_2 (به ویژه ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز در مریم‌گلی شد. هم‌راستا با مشاهدات ما در خصوص تأثیر هم‌افزایی TiO_2 و MeJA بر فعالیت PPO، Shenavaie و همکاران (۲۰۲۲) دریافته‌اند که ترکیب ۱ میلی‌مولار MeJA و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 سبب افزایش فعالیت PPO شد. این محققان نشان داده‌اند که این دو الیسیتور از طریق القا مسیرهای درگیر در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]



شکل ۷- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل‌جاسمونات (MJ) بر فعالیت آنزیم CAT برگ زرین‌گیاه. مقدارها، میانگین سه تکرار مستقل هستند. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ است.



شکل ۸- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل‌جاسمونات (MJ) بر فعالیت آنزیم PPO برگ زرین‌گیاه. مقدارها، میانگین سه تکرار مستقل هستند. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ است.

پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی می‌شوند.

در توضیح مشاهدات ما می‌توان گفت که نانوذرات TiO_2 فعالیت آنزیم PPO را از طریق چند مسیرهای متعددی تعدیل می‌کنند. برای مثال، ROSهای حاصل از تیمار TiO_2 سبب فعالسازی فاکتورهای رونویسی مثل MYB می‌شوند که به پروموتر ژن رمزگردان PPO متصل می‌شوند و بیان آن را القاء می‌کنند (Marslin *et al.*, 2017). همچنین، MeJA می‌تواند فعالیت آنزیم PPO را از طریق اثرات مستقیم بر بیان ژن و فعالیت آنزیم و همچنین به‌طور غیرمستقیم با تأثیرگذاری بر سطح ترکیبات فنلی و سیستم آنتی‌اکسیدانی تعدیل کند (Tang *et al.*, 2023). آنزیم PPO نیز به نوبه خود اکسیداسیون ترکیبات فنلی به کینون‌ها را کاتالیز می‌کند و دفاع گیاه در برابر عوامل تنش‌زا را ارتقا می‌بخشد. در رابطه با کاربرد توأم TiO_2 و MeJA می‌توان گفت که غلظت‌های بهینه این دو عامل می‌توانند پاسخ بیوشیمیایی زرین‌گیاه را به‌طور هماهنگ تقویت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

کند اما اینکه چه سازوکارهایی در این فرایند دخیل هستند، هنوز به‌طور دقیق معلوم نیست و نیاز به انجام مطالعات RNA-seq است.

بیان ژن *GPPS* و *LS*: در این مطالعه، تأثیر غلظت‌های مختلف MeJA و TiO_2 به‌صورت جداگانه و ترکیبی بر بیان ژن‌های *GPPS* و *LS* در زرین‌گیاه بررسی شد. کاربرد جداگانه نانوذرات TiO_2 فقط در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش بیان ژن‌ها شد، به‌طوری‌که با افزایش غلظت تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، روند صعودی محسوسی در تغییرات بیان ژن‌ها مشاهده شد. به‌طور مشابه، تیمار MeJA به‌تنهایی نیز بیان *GPPS* و *LS* را به‌طور دوز وابسته تقویت کرد و غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار دارای بیشترین اثر القایی بودند. با این حال، ترکیب همزمان این دو عامل، اثر هم‌افزایی محسوسی ایجاد کرد؛ به‌ویژه تیمار ترکیبی ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 همراه با ۲ میلی‌مولار MeJA به‌عنوان مؤثرترین تیمار، به ترتیب موجب افزایش ۳/٤ و ۲/۹ برابری بیان ژن‌های *GPPS* و *LS* شد. در مرتبه بعدی، تیمار ترکیبی ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 همراه با ۱ میلی‌مولار MeJA به ترتیب سبب افزایش ۳/۱ و ۲/٤ برابری بیان ژن‌های *GPPS* و *LS* در زرین‌گیاه شد (شکل ۹).

هم‌راستا با نتایج ما در خصوص اثر مثبت MeJA بر بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، Tang و همکاران (۲۰۲۳) نشان داده‌اند که MeJA (۱ میلی‌مولار) به طور مؤثری سطح بیان فنیل‌آلانین آمونیاک لیاز (PvPAL)، ٤- کوماروئیل CoA لیگاز (Pv4CL)، کومارات ٤- هیدروکسیلاز (PvC4H) و تیروزین آمینوترانسفراز (PvTAT) را افزایش می‌دهد که در مسیر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی نعناع چمنی نقش دارند. در توافق با یافته‌های ما در خصوص تأثیر مثبت نانوذرات TiO_2 بر بیان ژن‌های بیوسنتزی، آبیاری (۱٤۰۲)، اثر نانوذرات TiO_2 را بر بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز آلکالوئیدهای گیاه پریوش یعنی*STR*، *SGD*، *DAT* و *PRX* مورد مطالعه قرار داده است. نتایج نشان داد که استفاده از محلول‌پاشی نانوذرات TiO_2 سبب افزایش بیان این ژن‌ها می‌شود. در رابطه با اثر همزمان MeJA و TiO_2 بر بیان ژن‌های بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، هنوز مطالعه‌ای وجود ندارد که سازوکار دقیق تأثیر هم‌افزایی آنها را گزارش کرده باشد.

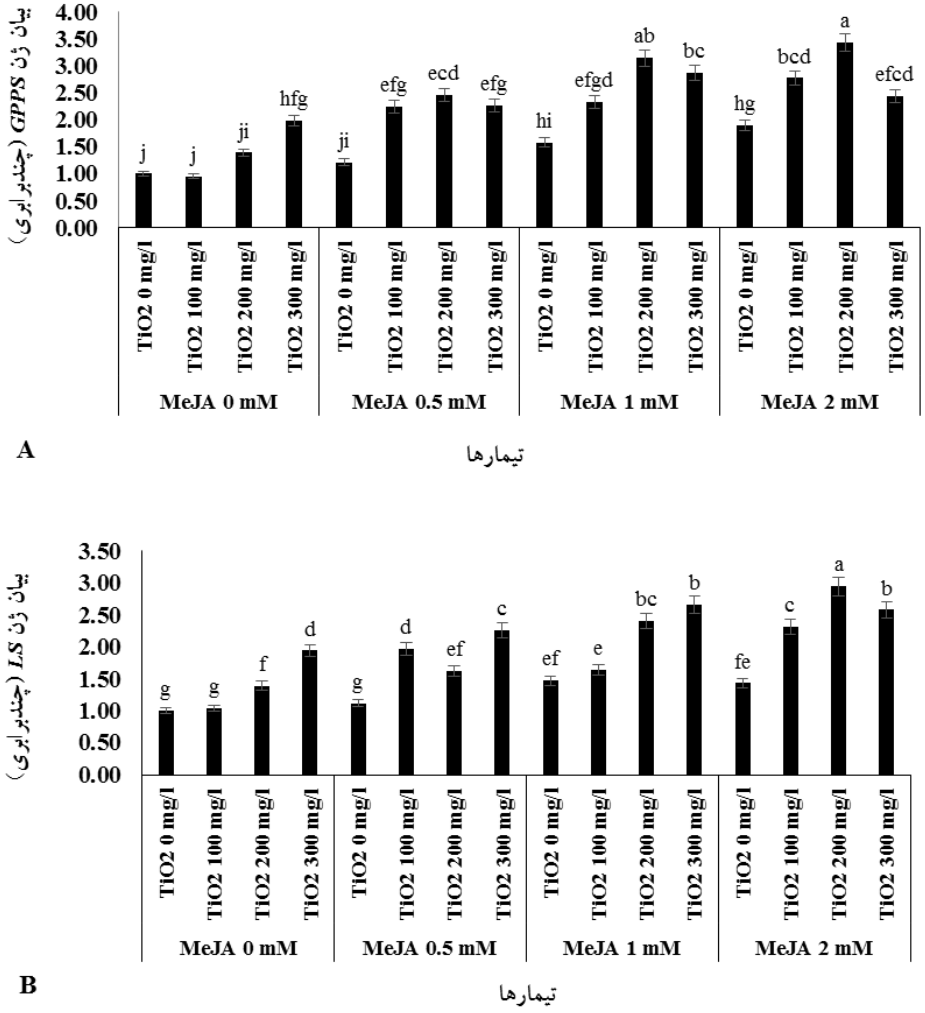
پتانسیل تقویتی کاربرد همزمان MeJA و TiO_2 نشان‌دهنده کارایی استراتژی کاربرد توأم محرک‌های شیمیایی و نانوذرات در تنظیم مسیرهای متابولیکی مرتبط با تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی است. اما اینکه دقیقاً این ترکیب الیسیتوری چگونه بر ترانسکریپتوم گیاه تأثیر می‌گذارد، هنوز معلوم نیست و لذا باید به تأثیر جداگانه آنها بپردازیم. در توضیح یافته‌های ما می‌توان گفت که نانوذرات TiO_2 سبب افزایش بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز ترپن‌ها می‌شوند (Gai *et al*., 2025). در واقع، نانوذرات TiO_2 بیوسنتز ترپن را عمدتاً از طریق موارد زیر افزایش می‌دهند: افزایش تنظیم آنزیم‌های مسیر ترپن از طریق فاکتورهای رونویسی پاسخ‌دهنده به تنش؛ افزایش پیش‌سازهای فتوسنتزی و تأمین ATP، فعال‌سازی مسیرهای JA/ABA که به بیان ژن ترپن همگرا می‌شوند (Khajavi *et al*., 2019). همچنین، MeJA به عنوان یک پیام‌رسان مولکولی عمل می‌کند که آبشار سیگنالینگ پیچیده‌ای را آغاز می‌کند که منجر به فعال‌شدن فاکتورهای رونویسی می‌شود که الگوهای بیان ژن‌های درگیر در فرآیندهای مختلف سلولی (از جمله پاسخ‌های تنش و متابولیسم ثانویه) را کنترل می‌کنند (Ho *et al*., 2020).

عملکرد اسانس: تحلیل شکل ۱۰ نشان می‌دهد که کاربرد جداگانه TiO_2 (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و MeJA هر دو به‌طور معنی‌داری بر افزایش عملکرد اسانس زرین‌گیاه مؤثر هستند. در کاربرد ترکیبی، اثر هم‌افزایی بین این دو الیسیتور بر عملکرد اسانس مشاهده شد به‌طوری‌که بیشترین افزایش عملکرد اسانس هنگامی رخ داد که ترکیب ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 همراه با ۲ میلی‌مولار غلظت MeJA استفاده شد. این ترکیب تیماری سبب افزایش ۲/٦ برابری عملکرد اسانس زرین‌گیاه شد. بنابراین، مؤثرترین تیمار برای حداکثر تولید اسانس، ترکیب ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 بهمراه ۲ میلی‌مولار MeJA می‌باشد (شکل ۱۰).

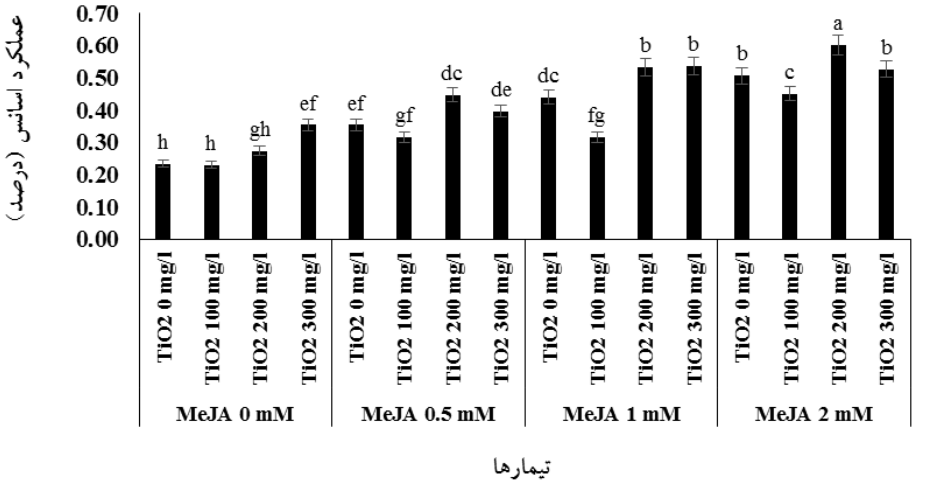
هم‌راستا با یافته‌های ما در خصوص تأثیر MeJA،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]



شکل ۹- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل‌جاسمونات (MJ) بر بیان ژن *GPPS* (A) و *LS* (B) زرین‌گیاه. مقدارها، میانگین سه تکرار مستقل هستند. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ است.



شکل ۱۰- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (TiO_2) و متیل‌جاسمونات (MJ) بر عملکرد اسانس زرین‌گیاه. مقدارها، میانگین سه تکرار مستقل هستند. حروف غیرمشابه گویای وجود اختلافات معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

Moghadam و همکاران (۲۰۲٤) نشان داده‌اند که MeJA از طریق القاء فعالیت lncRNAها سبب تعدیل محتوای اسانس و اجزاء تسکیل‌دهنده آن در گیاه دارویی سرخارگل ارغوانی می‌شود. به عنوان مثال، lncRNAهای SAT و NEC3 در بیوسنتز آلکالوئیدها و همچنین NES1 و CFAT در بیوسنتز ترکیبات آروماتیک، فنیل پروپانوئیدها و ترپنوئیدها نقش دارند. در توافق با نتایج ما درباره اثر TiO_2، Gohari و همکاران (۲۰۲۰) نیز تأیید کرده‌اند که استفاده از نانوذرات TiO_2 (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) منجر به افزایش اسانس گیاه دارویی بادرشبو می‌شود. همچنین، Panahirad و همکاران (۲۰۲٤) نشان داده‌اند که غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 باعث افزایش محتوای اسانس در گیاه دارویی سرخارگل می‌شود. در توافق با مشاهدات ما در مورد اثر هم‌افزایی TiO_2 و MeJA بر عملکرد اسانس زرین‌گیاه، Allahverdi و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی تأثیر محلول‌پاشی TiO_2 و MeJA بر گل‌محمدی دریافته‌اند که این الیسیتورها سبب افزایش ۳۰ درصدی مقدار اسانس می‌شوند.

در توضیح مشاهدات ما می‌توان اینگونه استنباط کرد که نانوذرات TiO_2 احتمالاً بر بیان ژن‌های کلیدی درگیر در بیوسنتز ترکیبات اسانس نقش دارد. برای مثال، گزارشات حاکی از تأثیر نانوذرات TiO_2 بر فعالیت فنیل‌آلانین آمونیالیاز (به عنوان یک آنزیم مهم برای متابولیسم فنیل‌پروپانوئیدها) هستند که در نتیجه ترکیبات فنلی اسانس را افزایش می‌دهند (Khajavi *et al*., 2019). نخست MeJA به شکل فعال زیستی خود تبدیل می‌شود. این مولکول سپس توسط کمپکس گیرنده کو-رسپتوری COI1–JAZ دریافت می‌شود. این اتصال باعث تخریب پروتئین‌های بازدارنده JAZ و القاء عوامل رونویسی مانند MYC می‌شود. سپس، MYCهای فعال‌شده به ناحیه پروموتور ژن‌های پاسخ‌دهنده به ژاسمونات متصل شده و رونویسی ژن‌های کلیدی در مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه (مانند آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و غیره) را افزایش می‌دهند (Ho *et al*., 2020). الیسیتور نانوذرات TiO_2 با متیل جاسمونات هم‌افزایی می‌کنند و محتوای اسانس را احتمالاً از طریق تقویت بیان ژن‌های ترپن‌ستاز افزایش می‌دهند که در تولید اجزاء مهم اسانس نقش دارند. به عنوان گواه مدرک، Shenavaie و همکاران (۲۰۲۲) نشان داده‌اند که تیمار ترکیبی (۱ میلی‌مولار MeJA و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات TiO_2) مقدار منتول را تا ٤٤ درصد در نعناع فلفلی افزایش داد.

نتیجه‌گیری

این پژوهش نشان داد که کاربرد ترکیبی نانوذرات TiO_2 و MeJA (به ویژه، ۲ میلی‌مولار MeJA همراه با ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2) در زمان آغاز گلدهی با ایجاد اثر هم‌افزایی، سبب بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مولکولی زرین‌گیاه مثل عملکرد اسانس، بیان ژن‌های کلیدی بیوسنتز لیمونن، و فعالیت سامانه آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی می‌شود. نتایج این پژوهش از سه جنبه کابردی برای حوزه تحقیقات و تولید زرین‌گیاه حائز اهمیت است: ۱- کاربرد توأم نانوذرات TiO_2 و MeJA به عنوان یک راهبرد مؤثر و کم‌خطر می‌تواند در سطح گلخانه‌ای برای افزایش اسانس استفاده شود؛ ۲- این پژوهش بستری نوین برای بهینه‌سازی تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش (مانند لیمونن) از طریق القای همزمان مسیرهای سیگنالینگ و بیان ژن‌های کلیدی در زرین‌گیاه فراهم می‌کند؛ ۳- امکان افزایش بهره‌وری انسانس به ازای گیاه و کاهش اتکا به برداشت از عرصه‌های طبیعی را فراهم می‌سازد که گامی مهم در جهت حفاظت از این گونه اندمیک و تأمین پایدار مواد اولیه صنایع دارویی از زرین‌گیاه است.

تشکر و قدردانی

کمال سپاسگزاری را از همکارانی داریم که ما را در اجرای این مطالعه مساعدت نمودند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

منابع

آبیاری، محمد (۱۴۰۲). تأثیر نانوذرات اکسید تیتانیوم بر بیان ژن‌های درگیر در تولید متابولیت های ثانویه گیاه دارویی پریوش (*Catharanthus roseus*). *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵*(۲)، ۸۳-۱۰۰. https://doi.org/10.22103/jab.2023.20229.1430

ابراهیمی، امین، عامریان، محمدرضا، و بیرقدار کشکولی، آرمان (۱۳۹۷). آنالیز پایداری بیان برخی از ژن‌های مرجع به منظور مطالعات بیان ژن در برنج با استفاده از Real-time PCR. *علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۹*(۴)، ۱۵۱-۱۶۰. https://doi.org/10.22059/ijfcs.2018.232809.654314

اسکندری، مرتضی، سعادتی، صفورا، پناهی، شاداب، اخبارفر، قاسم، و قبادی، سیروس (۱۳۹۸). اثر متیل جاسمونات بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گشنیز در شرایط تنش شوری. *فرآیند و کارکرد گیاهی، ۸*(۳۰)، ۲۴۳-۲۵۶. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23222727.1398.8.30.15.9

مزارعی، ایوب، موسوی‌نیک، سیدمحسن، قنبری، احمد، و فهمیده، لیلا (۱۳۹۸). اثر محلول‌پاشی دی‌اکسید تیتانیوم بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تنش خشکی. *مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۱۲*(۲)، ۵۳۹-۵۵۳. https://doi.org/10.22077/escs.2019.1369.1304

Ahmad, B., Dar, T. A., Muskan, U. U., Humaira, S., Jahan, A., Dar, M. I., & Bashir, S. (2025). Interplay of methyl jasmonate with other phytohormones during abiotic stress tolerance: An overview. *Biotechnological Applications of Jasmonates,* 85-103. https://doi.org/10.1201/9781003595694-5

Ahmadi, L., Kolahi, M., Mohajjel Shoja, H., & Mohajel Kazemi, E. (2020). Effect of TiO_2 nanoparticles on physiological and anatomical characteristics of Baby sun rose (*Aptenia cordifolia*). *Cell and Tissue Journal, 11*(3), 188-203. https://doi.org/10.52547/JCT.11.3.203

Alabdallah, N. M., Alluqmani, S. M., Almarri, H. M., & Al-Zahrani, A. A. (2024). Physical, chemical, and biological routes of synthetic titanium dioxide nanoparticles and their crucial role in temperature stress tolerance in plants. *Heliyon, 10*(4). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26537

Allahverdi, Z., Yadegari, M., & Moghaddam, M. (2023). Investiganting the effect of methyl jasmonate and titanium dioxide nanoparticles on physiological and phytochemical variations of *Rosa damascena* Mill. essential oil. *ECO Phytochemistry of Medicinal Plants, 11*(1), 109-129.

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology, 24*(1), 1. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1

Arvin, P, & Firouzeh, R. (2023). Study of some physiological traits, yield and essential oil contents of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. in natural habitats. *Plant Process and Function, 12*(53), 3.

Asadi, A, & Cheniany, M. (2022). Enhancing effect of titanium dioxide nanoparticles on growth, phenolic metabolites production and antioxidant potential of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Russian Journal of Plant Physiology, 69*(4), 74. https://doi.org/10.1134/S1021443722040021

Bayrak, S., Ozturk, C., Demir, Y., Alım, Z., & Kufrevioglu, O. I. (2020). Purification of polyphenol oxidase from potato and investigation of the inhibitory effects of phenolic acids on enzyme activity. *Protein and Peptide Letters, 27*(3), 187-192. https://doi.org/10.2174/0929866526666191002142301

Boutillier, S., Fourmentin, S., & Laperche, B. (2020). Food additives and the future of health: An analysis of the ongoing controversy on titanium dioxide. *Futures, 122*, 102598. https://doi.org/10.1016/j.futures.2020.102598

Beyer, W. F, & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry, 161*(2), 559-566. https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis, 10*(3). https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748

Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. A. M. E. L. A., & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany, 32*(1), 93-101. https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.93

Dudley, Q. M., Karim, A. S., Nash, C. J., & Jewett, M. C. (2020). In vitro prototyping of limonene biosynthesis using cell-free protein synthesis. *Metabolic Engineering, 61*, 251-260. https://doi.org/10.1016/j.ymben.2020.05.006

Farahi, S. M. M., Yazdi, M. E. T., Einafshar, E., Akhondi, M., Ebadi, M., Azimipour, S., Mahmoodzadeh, H., & Iranbakhsh, A. (2023). The effects of titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles on physiological, biochemical, and antioxidant properties of Vitex plant (*Vitex agnus-castus* L.). *Heliyon, 9*(11). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22144

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

Gai, X., Xu, X., Jiang, N., Zhang, D., Zhang, Y., Kim, Y., Xuan, Y., & Li, D. (2025). TiO_2 nanomaterial promotes plant growth and disease resistance. *Plant Signaling and Behavior, 20*(1), Article 2512943. https://doi.org/10.1080/15592324.2025.2512943

Gohari, G., Mohammadi, A., Akbari, A., Panahirad, S., Dadpour, M. R., Fotopoulos, V., & Kimura, S. (2020). Titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. *Scientific Reports, 10*(1), Article 912. https://doi.org/10.1038/s41598-020-57794-1

Ho, T. T., Murthy, H. N., & Park, S. Y. (2020). Methyl jasmonate induced oxidative stress and accumulation of secondary metabolites in plant cell and organ cultures. *International Journal of Molecular Sciences, 21*(3), Article 716. https://doi.org/10.3390/ijms21030716

Jeyasri, R., Muthuramalingam, P., Karthick, K., Shin, H., Choi, S. H., & Ramesh, M. (2023). Methyl jasmonate and salicylic acid as powerful elicitors for enhancing the production of secondary metabolites in medicinal plants: An updated review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 153*(3), 447-458. https://doi.org/10.1007/s11240-023-02485-8

Khajavi, M., Rahaie, M., & Ebrahimi, A. (2019). The effect of TiO_2 and SiO_2 nanoparticles and salinity stress on expression of genes involved in parthenolide biosynthesis in Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.). *Caryologia, 72*(1), 3-14. https://doi.org/10.13128/cayologia-246

Lopes, A. S., Dias, T. J., Henschel, J. M., da Silva, J. H. B., de Oliveira Sousa, V. F., Targino, V. A., & Batista, D. S. (2025). Methyl jasmonate mitigates drought stress in purple basil by enhancing photosynthesis and secondary metabolism. *Journal of Plant Growth Regulation, 44*(1), 233-246. https://doi.org/10.1007/s00344-024-11392-x

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*, 389-398. https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134

Marslin, G., Sheeba, C. J., & Franklin, G. (2017). Nanoparticles alter secondary metabolism in plants via ROS burst. *Frontiers in Plant Science, 8*, 832. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00832

Moghaddam, H. H., Emadi, F., Esmaeil-Jamaat, E., Kamalinejad, M., & Alijaniha, F. (2022). Plants from genus Dracocephalum in Iran: Pharmacology and phytochemistry overview. *Current Drug Discovery Technologies, 19*(5), 1-26. https://doi.org/10.2174/1570163819666220428123059

Moghadam, A., Taghizadeh, M. S., Haghi, R., Tahmasebi, A., Niazi, A., & Ebrahimie, E. (2024). Exploring novel insights: Methyl jasmonate treatment reveals novel lncRNA-mediated regulation of secondary metabolite biosynthesis pathways in *Echinacea purpurea*. *Food Bioscience, 57*, 103457. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103457

Nabi, N., Singh, S., & Saffeullah, P. (2021). Responses of in vitro cell cultures to elicitation: Regulatory role of jasmonic acid and methyl jasmonate: A review. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 57*, 341-355. https://doi.org/10.1007/s11627-020-10140-6

Nazariyan, R., Vatankhah, E., Amanifar, S., & Vafadar, M. (2019). Effects of methyl jasmonate on some physiological and biochemical responses of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) at different salinity levels. *Journal of Plant Process and Function, 7*(27), 59-74.

Nyanasaigran, L., Ramasamy, S., Gautam, A., Guleria, P., Kumar, V., & Yaacob, J. S. (2024). Methyl jasmonate elicitation improves the growth performance and biosynthesis of antioxidant metabolites in *Portulaca oleracea* through ROS modulation. *Industrial Crops and Products, 216*, 118709. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118709

Panahirad, S., Dadpour, M., Gohari, G., & Fotopoulos, V. (2024). Simultaneous application of titanium dioxide (TiO_2) and zinc oxide (ZnO) nanoparticles ameliorates lead (Pb) stress effects in medicinal plant *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Plant Stress, 13*, 100546. https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100546

Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research, 29*(9), e45. https://doi.org/10.1093/nar/29.9.e45

Qiu, Y., Zhang, L., Yang, D., Chen, J., Zhang, X., & Zhang, H. (2025). Effects of exogenous methyl jasmonate on the growth and physiological characteristics of medicinal *Chrysanthemum morifolium* Ramat under drought stress. *Scientia Horticulturae, 354*, 114278. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.114278

Shenavaie, A., Ganjeali, A., Vaezi Kakhki, M. R., Cheniany, M., & Mashreghi, M. (2022). Plant elicitation and TiO_2 nanoparticles application as an effective strategy for improving the growth, biochemical properties, and essential oil of peppermint. *Physiology and Molecular Biology of Plants, 28*(7), 1391-1406. https://doi.org/10.1007/s12298-022-01215-2

Sohn, S. I., Pandian, S., Rakkammal, K., Largia, M. J. V., Thamilarasan, S. K., Balaji, S., ... & Ramesh, M. (2022). Jasmonates in plant growth and development and elicitation of secondary metabolites: An updated overview. *Frontiers in Plant Science, 13*, 942789. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.942789

Tabarifard, M., Cheniany, M., & Khalilian-Movahhed, M. (2025). Artificial neural network prediction and elicitation of flavones and rosmarinic acid in teucrium polium calli by methyl jasmonate and nano-sized TiO_2. *Iranian Journal of*

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

Science, 1-18. https://doi.org/10.1007/s40995-025-01798-x

Tang, H., Hu, J., Zhao, M., Cao, L., & Chen, Y. (2023). Comparative study of the physiological responses, secondary metabolites, and gene expression of medicinal plant *Prunella vulgaris* L. treated with exogenous methyl jasmonate and salicylic acid. *Acta Physiologiae Plantarum, 45*(2), 20. https://doi.org/10.1007/s11738-022-03498-0

Vieira, A. J., Beserra, F. P., Souza, M. C., Totti, B. M., & Rozza, A. L. (2018). Limonene: Aroma of innovation in health and disease. *Chemico-Biological Interactions, 283*, 97-106. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.02.007

Yang, Y., Han, X., Liang, Y., Ghosh, A., Chen, J., & Tang, M. (2015). The combined effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and lead (Pb) stress on Pb accumulation, plant growth parameters, photosynthesis, and antioxidant enzymes in *Robinia pseudoacacia* L. *PLoS ONE, 10*(12), e0145726. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145726

Zamani, S., Bakhshi, D., Ebadi, M. T., & Sahraroo, A. (2025). Phytochemical profile and antioxidant activity of *Dracocephalum kotschyi* boiss. affected by environmental conditions of cultivation regions. *BMC Plant Biology, 25*(1), 968. https://doi.org/10.1186/s12870-025-06949-1

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

Effect of TiO_2 nanoparticles and methyl-jasmonate on physiological response and expression of key genes involved in limonene biosynthesis in the medicinal plant *Dracocephalum kotschyi*

Mojgan Mosahebeh, Hamid Sobhanian*, Enayatollah Yazdanpanah, Gholamreza Bakshi Khaniki

Department of Biology ،Payame Noor University (PNU), P.O. Box 19395-4697, Tehran, Iran

Abstract

Given the medicinal value, there is a need to develop effective strategies to enhance the essential oil yield and strengthen the physiological responses of *Dracocephalum kotschyi*. On the other hand, the mechanisms of action of elicitors such as titanium dioxide nanoparticles (TiO_2) and methyl jasmonate (MeJA) on this plant remain unknown. Therefore, this study aimed to investigate the individual and combined effects of these elicitors on the physiological response, the expression of limonene biosynthesis genes, and the essential oil yield in *D. kotschyi*. After seedlings were established in plastic pots, TiO_2 (at concentrations of 100 and 200 mg/L) and MeJA (at a concentration of 0.5 mM) were sprayed separately and in combination onto the *D. kotschyi* plants in three rounds at three-week intervals. Sampling was performed 48 h after the last spraying. The results showed that both elicitors, individually and in combination, affected the traits in a concentration-dependent manner. The combined application of TiO_2 nanoparticles acted synergistically to improve the traits of *D. kotschyi*. In particular, the treatment with 0.5 mM MeJA along with 200 mg/L TiO_2 led to an increase in the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, and polyphenol oxidase), soluble sugars, and carotenoids. Furthermore, this treatment enhanced the expression of the key genes *GPPS* and *LS* involved in limonene biosynthesis by 3.9- and 3.4-fold, respectively, and increased the essential oil yield by 3.6-fold compared to the double control. Overall, this combined treatment, by creating a synergistic effect, improved the activity of the antioxidant system, osmolytes, the expression of key genes in limonene biosynthesis, and the essential oil yield of *D. kotschyi*.

Keywords: Hormones, Limonene, Medicinal Plants, Nanoparticles

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.22034/jispp.15.74.21]

Received: sep. 01, 2025; Revised: sep. 23, 2025; Accepted: sep. 30, 2025; Published Online: Oct. 30, 2026
*Corresponding Author: hamid.sobhanian@pnu.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.