

ISSN: 3041-9638

<https://jrpsm.asnrkh.ac.ir/>

Open Access

Research Article

Identification of chemical compounds and comparison of antibacterial activities of clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) with nisin

M. A. Najafi¹ , Sh. Shabani² and J. Farmani³¹ Department of Food Science and Technology, Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.² Department of Food Science and Technology, Rudaki Institute of Higher Education, Tonekabon, Iran.³ Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.

Received: 28 Apr 2026

Accepted: 14 Aug 2026

Published: 08 Sep 2026

Corresponding**Author:**

Mohammad Ali Najafi

Email:

najafi413@yahoo.com

Keywords:Bacteriocin,
Antibacterial, Plant,
Natural preservative**Citation:**

M. A. Najafi., Sh. Shabani., J. Farmani (2026). Identification of chemical compounds and comparison of antibacterial activities of clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) with nisin. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 4(2), 1-8. **Doi:**10.22034/jrpsm.2026.579834.1110

Extended Abstract

Background and Objectives: One of the important and global challenges of public health is foodborne diseases, which impose huge economic losses on the economy of societies. Among them, pathogenic bacteria play an important role. The negative effects of chemical preservatives on human health and the increasing resistance of many microbes to common antimicrobial agents have necessitated the identification of safe and effective alternatives. Today, the use of low-risk preservatives such as plant essential oils and bacteriocins has received attention. The antimicrobial effects of essential oils depend on the type and amount of their constituent components. The amount of these compounds is affected by factors such as plant type, species, soil composition, plant organ, age, climatic conditions of the growing region, essential oil extraction method, and harvest date. Clove is a plant belonging to the Myrtaceae family and is known by the scientific name *Syzygium aromaticum*. The chemical components of clove essential oil, especially eugenol, have a high contribution to its antimicrobial properties. Nisin is an antimicrobial peptide produced by *Lactococcus lactis*. It is the only bacteriocin that has received permission for use as a preservative for food from FAO and WHO. The aim of this study was to identify the chemical components of commercial Iranian clove bud essential oil (distilled with water) and compare its antimicrobial properties with nisin on controlling the growth of some of the most important foodborne disease-causing bacteria in order to identify the most effective antimicrobial compound agent.

Materials and Methods: In this study, dried clove buds were obtained from a local market (Zabol, Iran). Essential oil extraction was performed using a Clevenger apparatus (water distillation) under controlled temperature. After extraction, the type and amount of chemical compounds of clove essential oil were identified using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). In this study, six bacterial strains include *Listeria monocytogenes* NCTC 11994, *Staphylococcus aureus* Bristol A9596, *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, and *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 were purchased in lyophilized form from the Microbial Collection of the Scientific and Industrial Research Organization of Iran. The strains were activated under controlled conditions using Tryptone Soya Broth (TSB) and Tryptone Soya Agar (TSA) media. Next, the antibacterial effects of the obtained essential oil and nisin were evaluated by agar diffusion methods against target strains with a population of 10⁶ CFU/ml and the results were reported in terms of mm of inhibitory zone. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the antimicrobial agents were determined by microdilution and 96-well plates containing TSB media. The prepared dilutions of the essential oil ranged from 0.3 to 40 mg/ml and nisin ranged from 4.8 to 0.1023 µg/ml. The obtained data were analyzed using SAS version 9.1 software and the means were compared by Duncan's multiple range test at the 5% level.

Results: GC-MS analysis of clove essential oil showed that 93.66% of the total components, including 17 different components, were identified. The most important compounds identified were eugenol (54.27%), trans-β-caryophyllene (21.13%), and eugenol acetate (11.18%). The antibacterial activity of clove essential oil and nisin by agar diffusion method showed a significant effect on the growth of all strains ($p < 0.05$). The highest and lowest growth inhibitory effects of clove essential oil were recorded against gram-negative strains *Escherichia coli* (29.6 mm) and *Salmonella typhimurium* (11.2 mm), respectively. Nisin showed the highest effect on the growth inhibition of gram-positive strains compared to gram-negative strains ($p < 0.05$). The highest nisin growth inhibition zone was determined against *Listeria monocytogenes* (14.3 mm) and the lowest value was determined for the gram-negative strain *Salmonella typhimurium* (8.6 mm) ($p < 0.05$). The antibacterial agents studied in this study showed different effects on MIC and MBC values. The highest MIC and MBC values were obtained from the effect of clove essential oil on *Salmonella typhimurium* strain with values of 2500 and 5000 µg/ml, respectively, and the lowest values were obtained against *Escherichia coli* strain with values of 156 and 156 µg/ml. The lowest nisin MIC value was recorded at a concentration of 63 µg/ml against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aerogenesa* strains, which indicated the greater sensitivity of these strains.

Conclusion: Nisin and clove essential oil showed significant growth inhibitory effects. The results of the microdilution antibacterial test showed that nisin was more effective compared to clove essential oil ($p < 0.05$). Clove essential oil was able to effectively control the growth of *Escherichia coli* strain. The results of this study showed that despite the difference in the amounts of the constituent components of clove essential oil compared to other published scientific reports, it can be considered as an alternative to chemical preservatives. In this regard, it is necessary to pay attention to the target strain and the concentration of the antibacterial agent. However, the final confirmation of the use of the studied compounds requires clinical and applied research in food.





دسترسی رایگان

مقاله پژوهشی

شماره شاپا: ۳۰۴۱-۹۶۳۸

شناسایی ترکیبات شیمیایی و مقایسه خواص ضدباکتریایی اسانس

میخک (*Syzygium aromaticum*) با نیسین

محمد علی نجفی^۱، شیما شعبانی^۲ و جمشید فرمانی^۳

^۱ گروه علوم و صنایع غذایی، کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

^۲ گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی رودکی، تنکابن، ایران.

^۳ گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۰۸

نویسنده مسئول:

محمد علی نجفی

ایمیل:

najafi413@yahoo.com

واژه‌های کلیدی:

باکتریوسین، ضدباکتری، گیاه، نگهدارنده طبیعی.

چکیده

سابقه و هدف: از چالش‌های مهم و جهانی بهداشت عمومی، بیماری‌های ناشی از مصرف خوراکی‌هاست که زبان‌های اقتصادی هنگفتی را به اقتصاد جوامع تحمیل می‌نماید. در این بین باکتری‌های بیماری‌زا نقش مهمی دارند. اثرات منفی نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان و مقاومت روزافزون بسیاری از میکروب‌ها در برابر عوامل ضد میکروبی رایج، لزوم شناسایی جایگزین‌های ایمن و مؤثر را موجب شده است. امروزه بکارگیری نگهدارنده‌های کم خطر مانند اسانس‌های گیاهی و باکتریوسین‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند. اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها تابع نوع و مقدار اجزاء سازنده آنها قرار دارد. مقدار این ترکیبات تحت تاثیر عواملی مانند نوع گیاه، گونه، ترکیب خاک، اندام گیاه، سن، شرایط آب و هوایی منطقه رشد، روش اسانس گیری و تاریخ برداشت قرار دارد. میخک، گیاهی متعلق به خانواده میرتاسه (Myrtaceae) بوده و با نام علمی *Syzygium aromaticum* شناخته می‌شود. اجزای شیمیایی اسانس میخک، به‌ویژه اوژنول، سهم بالایی در خواص ضد میکروبی آن دارند. نیسین پپتید ضد میکروبی است که توسط *Lactococcus lactis* تولید می‌شود. این ماده تنها باکتریوسینی است که مجوز استفاده خوراکی به‌عنوان نگهدارنده را از FAO و WHO دریافت کرده است. هدف از این پژوهش، شناسایی اجزای شیمیایی سازنده اسانس میخک تجاری ایران (تقطیر با آب) و مقایسه خواص ضد میکروبی آن با نیسین بر کنترل رشد برخی از مهم‌ترین باکتری‌های مولد بیمارهای غذایی بود تا مؤثرترین ترکیب ضد میکروب معرفی گردد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، جوانه‌های میخک خشک شده از بازار محلی (زابل، ایران) تهیه گردید. اسانس گیری به کمک دستگاه کلونجر (تقطیر با آب) تحت دمای کنترل شده انجام شد. پس از آب گیری، نوع و مقدار ترکیبات شیمیایی اسانس میخک به کمک کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) شناسایی شدند. در این پژوهش شش سویه باکتریایی شامل لیستریا منوسیتوزنز NCTC 11994، استافیلوکوکوس اورئوس Bristol A9596، باسیلوس سرئوس ATCC 9634، اشریشیا کلی ATCC 25922، پseudomonas آئروژینوزا ATCC 27853 و سالمونلا تیفی موریوم ATCC 14028 بصورت لیوفلیزه از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری گردیدند. فعال سازی سویه‌ها تحت شرایط کنترل شده و با استفاده از محیط کشت‌های تریپتون سوی مایع (TSB) و تریپتون سوی آگار (TSA) صورت پذیرفت. در ادامه، اثرات ضدباکتریایی اسانس و نیسین به روش‌های انتشار در آگار در برابر سویه‌های هدف با جمعیت 10^6 CFU/ml ارزیابی و نتایج برحسب میلی متر هاله بازدارنده گزارش گردید. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عوامل ضد میکروبی به روش میکرودايلوشن و پلیت ۹۶ خانه حاوی محیط کشت TSB تعیین شد. رقت‌های تهیه شده اسانس از ۰/۳ تا ۴۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ و نیسین از ۴/۸ تا ۱۰۲۳۰ $\mu\text{g/ml}$ متغیر بود. تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده با بهره‌گیری از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام و مقایسه میانگین توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت پذیرفت.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل نتایج آزمون GC-MS ترکیبات اسانس میخک نشان داد در مجموع ۹۳/۶۶٪ کل اجزاء سازنده، شامل ۱۷ جزء مختلف شناسایی گردیدند. مهمترین ترکیبات شناسایی شده شامل اوژنول (۵۴/۲۷٪)، ترنس-بتا-کارپوفلن (۲/۱۳٪) و اوژنول استات (۱۱/۱۸٪) بود. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس میخک و نیسین به روش انتشار در آگار اثر معناداری بر مهار رشد تمامی سویه‌های ثبت نمود ($p < 0.05$). بیشترین و کمترین اثر مهارکنندگی رشد باکتریایی اسانس میخک به ترتیب در برابر سویه‌های گرم منفی /اشریشیاکلی (۲۹/۶ mm) و سالمونلا تیفی موریوم (mm) ثبت شد. نیسین بیشترین تاثیرگذاری را بر مهار رشد سویه‌های گرم مثبت در مقایسه با گرم منفی نشان داد ($p < 0.05$). بیشترین هاله بازدارندگی رشد نیسین در برابر سویه لیستریا منوسیتوزنز (۱۴/۳ mm) و کمترین مقدار برای سویه گرم منفی سالمونلا تیفی موریوم (۸/۶ mm) تعیین گردید ($p < 0.05$). عوامل ضدباکتریایی مورد بررسی در این پژوهش تاثیرات متفاوتی را بر مقادیر MIC و MBC نشان دادند. بیشترین مقادیر MIC و MBC از تاثیر اسانس میخک بر سویه سالمونلا تیفی موریوم به ترتیب با مقادیر ۲۵۰ $\mu\text{g/ml}$ و ۵۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ ، و کمترین مقادیر نیز در برابر سویه اشریشیاکلی با مقادیر ۱۵۶ $\mu\text{g/ml}$ و ۱۵۶ $\mu\text{g/ml}$ بدست آمد. کمترین مقدار MIC نیسین با غلظت ۶۳ $\mu\text{g/ml}$ در برابر بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و پseudomonas آئروژینوز ثبت گردید که نشان دهنده حساسیت بیشتر این سویه‌ها بود.

نتیجه گیری: نیسین و اسانس میخک تاثیرات مهارکنندگی رشد قابل توجهی را نشان دادند. نتایج آزمون ضدباکتریایی میکرودايلوشن نشان داد نیسین در مقایسه با اسانس میخک مؤثرتر است ($p < 0.05$). اسانس میخک بخوبی توانست رشد سویه اشریشیاکلی را کنترل نماید. نتایج این پژوهش نشان داد علیرغم تفاوت در مقادیر ترکیبات سازنده اسانس میخک در مقایسه با سایر گزارشات علمی منتشر شده، می‌تواند به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی مورد توجه قرار گیرد. در این خصوص ضروریست به سویه هدف و غلظت عامل ضدباکتریایی توجه گردد، باین‌وجود، تأیید نهایی بکارگیری ترکیبات مورد بررسی، نیازمند انجام پژوهش‌های بالینی و کاربردی در مواد غذایی است.

نحوه استناد:

نجفی، م.، ع. شعبانی، ش.، فرمانی، ج. (۱۴۰۵). شناسایی ترکیبات شیمیایی و مقایسه خواص ضدباکتریایی اسانس میخک (*Syzygium aromaticum*) با نیسین. مجله پژوهش در متابولیت‌های گیاهی، دوره ۴، شماره ۲، صفحات: ۸-۱.
Doi: 10.22034/jrpsm.2026.579834.1110

مقدمه

بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده از چالش‌های مهم جهانی در زمینه بهداشت عمومی محسوب می‌شوند که علاوه بر به خطر انداختن سلامت مصرف‌کنندگان، زیان‌های اقتصادی قابل توجهی را به صنایع غذایی و درمانی تحمیل می‌کنند. آمارهای جهانی، شیوع بالای این گروه از بیماری‌ها را نشان می‌دهد بطوری‌که تنها در کشور آمریکا جمعیت بیماران سالانه به حدود ۴۸ میلیون نفر رسیده است (Shahbazi and Shavis, 2019). در این بین باکتری‌های بیماری‌زا سهم قابل توجهی را بخود اختصاص داده‌اند. تاکنون سویه‌های بیماری‌زای مانند *اشریشیا کلی*، *لیستریا مونوسیتوزنز*، *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلا تیفی موری*، *پسودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به تکرار از مواد غذایی جداسازی شده‌اند (Najafi et al., 2023; Shahbazi and Shavis, 2019). اثرات مهارکنندگی نگهدارنده‌های شیمیایی بر رشد میکروب‌های مولد فساد غذایی و قیمت ارزان موجب گسترش مصرف آنها در صنایع غذایی شده است. پیشرفت‌های علمی اخیر اثرات سوء افزودنی‌های شیمیایی بر سلامت انسان را ثابت نموده است. در کنار این عوامل مقاومت روزافزون بسیاری از میکروب‌ها در برابر ترکیبات ضد میکروبی رایج، مطالعاتی را با هدف شناسایی جایگزین‌های ایمن و مؤثر برای کنترل رشد باکتری‌های مقاوم برانگیخته و از این رو یافتن نگهدارنده‌های طبیعی و ایمن به‌عنوان جایگزین مطمئن به یک ضرورت تبدیل شده است (Firouzi et al., 2020; Dashtisarmadi et al., 2024). از جمله ترکیباتی که امروزه به عنوان مهارکننده رشد میکروب‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند می‌توان به اسانس‌های گیاهی و متابولیت‌های میکروبی مانند باکتریوسین‌ها اشاره نمود. اسانس‌ها از سابقه طولانی در طب سنتی و طعم دهنده‌گی مواد غذایی برخوردار هستند. این ترکیبات حاصل متابولیت‌های ثانویه گیاهی بوده و به دلیل زیست تخریب پذیری فاقد اثرات جانبی بر محیط زیست هستند (Kor et al., 2026). بررسی منابع علمی گذشته نشان می‌دهد اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها عمدتاً به وجود مشتقات فنیل پاراپنوتید و پروپنوتید ارتباط دارد که باعث اثرات مهارکنندگی رشد و کشندگی بر روی سویه‌های مشخص میکروبی می‌گردد (Nada et al., 2022). مقادیر ترکیبات سازنده اسانس‌ها از عوامل مختلفی مانند نوع گیاه، نژاد، شرایط پرورش گیاه (داشت، کاشت و برداشت)، بخش گیاهی اسانس‌گیری شده، سن، شرایط جغرافیایی و نیز روش اسانس‌گیری تأثیر می‌پذیرند (Dashtisarmadi et al., 2024; Haro-González et al., 2021). میخک، گیاهی متعلق به خانواده میرتاسه (Myrtaceae) بوده که با نام علمی *Syzygium aromaticum* شناخته می‌شود. این گیاه درختی تاجی کشیده می‌تواند تا ارتفاع ۸ الی ۱۰

متری رشد نماید. جوانه میخک غنی از اسانس بوده و مقدار آن به حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد وزن خشک می‌رسد (Michel et al., 2021). بررسی منابع علمی گذشته اثرات بی‌حس‌کننده، ضد التهابی، حشره‌کشی، ضد دیابتی، ضد توموری و تسکین دهنده درد دندان را نشان می‌دهد. همچنین گزارشات متفاوتی از اثرات ضد میکروبی اسانس جوانه میخک در دسترس است (Nada et al., 2025; Wadi et al., 2025). نیسین پپتید ضد میکروبی است که توسط باکتری *Lactococcus lactis* تولید می‌شود، این ماده تنها باکتریوسین کلاس I است که مجوز استفاده خوراکی به‌عنوان نگهدارنده زیستی را از سازمان‌های بین‌المللی مانند FAO و WHO دریافت کرده است (Alhaithloul et al., 2020). نیسین از ۳۴ اسیدآمینه و پنج حلقه (متیل)-لانتیونین تشکیل شده و از فعالیت ضد میکروبی گسترده‌ای در برابر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌ها برخوردار است. از آنجا که این ماده به آسانی توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک پستانداران تجزیه می‌شود، خطری برای سلامت انسان ندارد (Alhaithloul et al., 2020; Bennett et al., 2021). هدف از این پژوهش، شناسایی و تعیین مقادیر اجزای شیمیایی سازنده اسانس (تقطیر آبی) جوانه میخک تجاری ایران و مقایسه خواص ضد میکروبی آن با نیسین بر کنترل رشد برخی از مهم‌ترین باکتری‌های مولد بیماری غذایی بود تا مؤثرترین ترکیب ضد میکروب معرفی گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد اولیه: جوانه‌های میخک خشک شده از بازار محلی (زابل، ایران)، تمامی محیط‌های کشت و ترکیبات شیمیایی از شرکت مرک (دارمشتات، آلمان) و باکتریوسین نیسین از شرکت سیگما-آلدْرِیچ (دورست، انگلستان) به‌صورت بسته‌بندی شده خریداری گردیدند. سویه‌های باکتریایی مورد استفاده نیز از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به‌صورت لیوفلیزه سفارش داده شدند.

استخراج اسانس و آنالیز GC-MS: نمونه گیاهی تهیه شده پس از تأیید گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زابل به آزمایشگاه منتقل، و به کمک حلال آب و دستگاه کلونجر تحت دمای کنترل شده، اسانس‌گیری شدند. با هدف تعیین نوع و مقادیر اجزاء شیمیایی اسانس، از دستگاه GC-MS شامل بخش‌های کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7890A (آمریکا)، ستون DB-5 (طول ۳۰ m متر و قطر داخلی ۲۵۰ μm) و طیف‌سنج جرمی مدل Agilent 5975C با انرژی یونیزاسیون حدود ۷۰ eV استفاده گردید. انتقال اسانس به داخل ستون توسط گاز هلیوم با سرعت ۱/۱-۰/۹ ml/min و تحت دمای ۳۰ تا ۲۵۰°C صورت پذیرفت. اجزاء سازنده از مقایسه

ساعت تحت شرایط ذکر شده گرمخانه گذاری شده و در انتها مقدار کدورت هر خانه به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (سسیل، انگلستان) در طول موج ۶۲۰ نانومتر تعیین گردید. غلظت MIC به عنوان کمترین غلظت اسانس و یا نیسین متوقف کننده رشد، و MBC به عنوان کمترین غلظت موثر بر مرگ ۹۹/۹ سویه هدف ثبت شد. جهت اطمینان بیشتر، از خانه‌های منتخب نمونه برداری و کشت تأییدیه در پلیت TSA انجام شد (Saravani pak *et al.*, 2021).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌های این پژوهش با بهره‌گیری از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام و مقایسه میانگین توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح ۵ درصد انجام شد. تمامی آزمون در سه تکرار انجام شدند.

نتایج و بحث

آنالیز GC-MS: در این پژوهش نتایج حاصل از شناسایی نوع و مقدار اجزاء شیمیایی شناسایی شده اسانس میخک و مقایسه آن با گزارش باراک^۴ و همکاران (۲۰۲۵) در خصوص اجزاء شیمیایی اسانس میخک کشور ترکیه، در جدول ۱ آورده شده است.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از دستگاه GC-MS وجود ترکیباتی متنوعی را در اسانس میخک نشان داد. در این پژوهش ۱۷ جزء شیمیایی متفاوت اسانس جوانه میخک و در مجموع ۹۳/۶۶٪ کل ترکیبات شناسایی شدند. مهمترین ترکیبات با سهم بالای ۵ درصد به ترتیب به اوزنول (۵۴/۲۷٪)، ترنس-بتا-کاریوفلن (۲۱/۱۳٪) و اوزنول استات (۱۱/۱۸٪) اختصاص داشت. گزارش باراک و همکاران (۲۰۲۵) نشان می‌دهد آنان ۱۰ جزء شیمیایی متفاوت با سهم ۹۹/۰۵٪ از کل اجزاء سازنده را شناسایی نموده‌اند. در گزارش آنان بیشترین سهم به ترتیب به اجزاء اوزنول (۷۲٪)، استیل اوزنول (۱۱٪) و بتا-کاریوفلن (۸/۵٪) تعلق داشت. مقایسه نتایج دو پژوهش شباهت‌ها و تفاوت‌هایی بارزی را در نوع و مقدار اجزاء شیمیایی شناسایی شده نشان می‌دهد. در هر دو گزارش بیشترین مقدار جزء شیمیایی به اوزنول اختصاص داشت هرچند در مقدار با یکدیگر تفاوت داشتند. این تفاوت‌ها احتمالاً در ارتباط با عوامل تاثیرگذاری مانند گونه، ترکیب خاک، سن گیاه، شرایط آب و هوایی منطقه رشد، مدیریت مزرعه و نیز روش اسانس گیری و تاریخ برداشت بوده است (Dashtisarmadi *et al.*, 2024; Haro-González *et al.*, 2021).

نتایج بدست آمده با طیف‌های جرمی آلکان‌های ۷ تا ۲۲ کربنه ترکیبات استاندارد و نیز فرهنگ ترکیبات طبیعی شناسایی شدند (Carvalho *et al.*, 2018).

تکثیر سویه‌های باکتریایی: جهت فعال سازی سویه‌های هدف شامل لیستریامنوسیتوزنز NCTC 11994، استافیلوکوکوس/اورئوس Bristol A9596، باسیلوس سرئوس ATCC 9634، شریشیا کلی ATCC 25922، پseudomonas آئروژینوزا ATCC 27853 و سالمونلا تیفی‌موریوم ATCC 14028، بسته شیشه‌ای لیوفلیزه تحت شرایط استریل شکسته و پاز انتقال به محیط کشت تریپتوسوی مایع (TSB^۲)، برای مدت یک شبانه روز گرمخانه گذاری (پارس آزما، ایران) شدند. دمای گرم‌خانه برای باسیلوس سرئوس ۳۰ °C و برای سایر سویه‌ها ۳۷ °C بود. از تکنیک کشت خطی بر روی محیط کشت تریپتوسوی آگار (TSA^۳) جهت تهیه کلنی خالص استفاده شد. سپس از هر سویه یک کلنی خالص را انتخاب نموده و به محیط کشت TSB منتقل گردید. گرمخانه گذاری تحت شرایط کنترل شده و برای ۲۴ h ادامه یافت. برای آزمون میکروبی از هر سوسپانسیون میکروبی، رقتی با جمعیت ۱۰^۶ CFU/ml به روش نیم مک فارلند تهیه شد (Carvalho *et al.*, 2018).

آزمون ضد میکروبی به روش سنجش انتشار در آگار: مقدار ml ۱ از سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند هر سویه، به طور جداگانه، با ml ۱۵ محیط کشت نوترینت آگار مذاب به خوبی مخلوط گردید. سپس در هر پلیت سه حفره با قطر ۶ mm ایجاد و به هر کدام مقدار ۱۵۷ μl اسانس میخک (۲۰ درصد) و یا نیسین اضافه و با محیط کشت نوترینت آگار (۷۵ w/v) پر گردید. محلول نیسین به کمک حلال دی‌متیل سولفوکسید (۱۰ درصد) و فیلتر سرنگی (۰/۲ μm) آماده شد. در این آزمون کنترل منفی محلول Tween 80 با غلظت v/v ۰/۵٪ در نظر گرفته شد. پلیت‌های تهیه شده مطابق بخش قبل، گرم‌خانه‌گذاری و اثر ضدباکتریایی با اندازه‌گیری هاله عدم رشد باکتری تعیین برحسب mm گزارش گردید (Bennett *et al.*, 2021).

آزمون تعیین MIC و MBC به روش میکرودایلوشن: مقادیر MIC و MBC اسانس میخک و نیسین در برابر سویه‌های هدف (۱۰^۶ CFU/ml) به کمک آزمون میکرودایلوشن و پلیت ۹۶ خلنه تعیین شد. رقت‌های تهیه شده اسانس از ۳۰۰ تا ۴۰۰۰ μg/ml و نیسین از ۴/۸ تا ۱۰۲۳/۰ μg/ml متغیر بود. در این آزمون کنترل‌های منفی (خلنه حاوی محیط کشت TSB بدون باکتری) و مثبت (خلنه حاوی محیط کشت + سویه هدف و بدون عامل ضدباکتریایی) در نظر گرفته شدند. پلیت‌های آماده شده به مدت ۴۸

^۴ Barak

^۲ Tryptic Soy Broth

^۳ Tryptic Soy Agar

جدول ۱- مقایسه نوع و مقدار اجزاء سازنده اسانس میخک در نمونه هدف (T1) و گزارش باراک و همکاران (۲۰۱۷) (T2).

Table 1- Comparison of the type and amount of clove essential oil components in the target sample (T1) and the report of Barak et al. (2017) (T2).

Balak et al. (2017) (12).

ردیف	T1		T2			
	ترکیب شیمیایی	RI	%	ترکیب شیمیایی	RI	%
	Chemical composition			Chemical composition		
1	Furfural	841	0.38	α -Pinene	928	0.7
2	α -Cubebene	1249	0.19	D-Limonene	1030	0.46
3	Eugenol	1353	54.27	Estragole	1202	0.9
4	Trans- β -Caryophyllene	1401	21.13	(E)-Cinnamaldehyde	1275	1.2
5	β -Duprezianene	1415	0.03	Eugenol	1374	72
6	α -Guaiene	1419	0.01	β -Caryophyllene	1425	8.5
7	(Z)- β -Farnesene	1443	0.16	Humulene	1458	3.2
8	α -Himachalene	1451	0.19	Calemenene	1527	0.5
9	Murolene	1471	1.49	Acetyl eugenol	1535	11
10	Germacrene D	1495	0.25	Caryophyllene	1587	0.6
11	Eugenol acetate	1503	11.18	-	-	-
12	β -Sesquiphellandrene	1513	0.92	-	-	-
13	σ -cadinene	1547	3.11	-	-	-
14	Humulene oxide	1553	0.02	-	-	-
15	10-epi- α -cubebol	1561	0.01	-	-	-
16	Isolongifolanone	1595	0.03	-	-	-
17	Davanol acetate	1648	0.02	-	-	-
	جمع		93.66	جمع		99.06
	Total			Total		

RI : Retention Index.

نخست به وجود مقادیر بالای ترکیبات فنلیک به‌ویژه اوژنول و اوژنول استات مربوط می‌شود (Maha et al., 2025; Kor et al., 2026). در مجموع سویه‌های گرم منفی در مقایسه با انواع گرم مثبت نسبت به اسانس‌ها حساسیت کمتری دارند که به تفاوت ویژگی‌های دیواره سلولی آنها باز می‌گردد. اجزاء لیپوپلی‌ساکاریدی دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی باعث افزایش مقاومت سلولی و کاهش نفوذپذیری ترکیبات اسانس می‌شود. اما این لایه نمی‌تواند مانع ورود اجزاء آب دوست و کوچک ملکول اسانس‌ها گردد. در مقابل لایه پتیدوگلیکانی دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت از مقاومت کمتری در برابر نفوذ عوامل ضدباکتریایی موجود در اسانس‌ها برخوردارست. ماهیت چربی دوستی ترکیبات شیمیایی اسانس می‌تواند موجب برهم ریختن نظم ساختمانی اجزاء سازنده غشا سلولی (فسفولیپیدی، پلی‌ساکاریدی و اسیدهای چرب) شود که در نتیجه مقدار نفوذپذیری غشاء سلولی افزایش می‌یابد. گزارش شده اوژنول با تجزیه غشاء سلولی و ایجاد منافذ سلولی اثر کنترلی بر رشد باکتری‌ها دارد. اخلاص در فعالیتهای حیاتی غشاء سلولی با تراوش ترکیبات درون سلولی به خارج و در نهایت اخلاص در فعالیتهای سلول و مرگ آن همراه است. با این حال هیچ قانون کلی برپایه مقاومت بیشتر باکتری‌های منفی در قیاس با گرم مثبت وجود نداشته و با واقعیت نتایج بدست آمده تطبیق ندارد (Dashtisarmadi et al., 2024; Khwaza & Aderibigbe., 2025; Freitas et al., 2025).

فعالیت ضدباکتریایی اسانس میخک و نیسین به روش انتشار در آگار: نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس میخک و نیسین به روش انتشار در آگار و بر علیه سویه‌های گرم مثبت (لیستریا منوسیتوزنز، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس) و گرم منفی (سالمونلا تیفی موریوم، پseudomonas آئروژنز و اشریشیاکلی) در جدول ۲ آورده شده است. ترکیبات ضدباکتریایی مورد بررسی (اسانس میخک و نیسین) اثر معناداری بر مهار رشد سویه‌های هدف داشتند ($p < 0.05$). در تمامی موارد اسانس میخک (در غلظت ۲۰٪) در مقایسه با نیسین اثر نیرومندتری را بر مهار رشد سویه‌های هدف نشان داد ($p < 0.05$). بیشترین و کمترین اثر مهارکنندگی رشد اسانس میخک بترتیب در برابر سویه‌های گرم منفی اشریشیاکلی (۲۹/۶ mm) و سالمونلا تیفی موریوم (۱۱/۲ mm) ثبت شد. در منابع علمی گذشته نتایج مشابهی از تاثیر اسانس میخک بر مهار رشد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا منوسیتوزنز، سالمونلا تیفی و کلبسیلا پنومونیه (Maha et al., 2025) همچنین سویه‌های pseudomonas آئروژنز و باسیلوس سرئوس (Vafaei malekabadi et al., 2021) منتشر شده که با نتایج بدست آمده از این پژوهش هم سو است. اثر بازدارندگی اسانس بر رشد میکروبها به دو عامل مهم اجزاء شیمیایی اسانس (بلحاظ نوع و مقدار) و وضعیت حیاتی میکروارگانیسم نسبت داده شده است. خواص ضد میکروبی اجزای شیمیایی اسانس میخک، در درجه

جدول ۲- اثر ضدباکتریایی اسانس میخک و نیسین (mm) بر سویه‌های هدف به روش سنجش انتشار در آگار
Table 2- Antibacterial effect of clove essential oil and nisin (mm) on target strains by agar diffusion assay

Tween 80	بازدارندگی نیسین (mm) Inhibition zone of nisin (mm)	بازدارندگی اسانس میخک (mm) Inhibition zone of clove essential oil (mm)	میکروارگانیسم Microorganism	
NE	14.3 ± 0.2 A,c	19.3 ± 0.1 C,a	لیستریا مونوسیتوژنز <i>Listeria monocytogenes</i>	گرم مثبت Gram positive
NE	11.1 ± 0.4 B,d	26.3 ± 0.1 B,a	استافیلوکوکوس اورئوس <i>Staphylococcus aureus</i>	
NE	12.9 ± 0.2 B,d	25.8 ± 0.2 B,b	باسیلوس سرئوس <i>Bacillus cereus</i>	
NE	8.6 ± 0.1 D,c	11.2 ± 0.3 E,b	سالمونلا تیفی‌موریم <i>Salmonella Typhimurium</i>	گرم منفی Gram negative
NE	10.0 ± 0.1 C,d	14.5 ± 0.2 D,b	پسودوموناس آئروژنز <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
NE	9.2 ± 0.3 D,b	26.6 ± 0.2 A,a	اشریشیا کلی <i>Escherichia coli</i>	

حروف بزرگ و کوچک یکسان بترتیب در هر ستون و ردیف نشان دهنده عدم تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد است. NE: عدم تاثیر گذاری. داده‌ها بصورت میانگین ± احراف معیار آورده شده‌اند.

میکروبی مورد بررسی (اسانس میخک و نیسین) در برابر سویه‌های هدف را نشان می‌دهد. عوامل ضدباکتریایی مورد بررسی در این پژوهش تاثیرات متفاوتی را بر مقادیر MIC و MBC نشان دادند. بیشترین مقادیر MIC و MBC از تأثیر اسانس میخک بر سویه سالمونلا تیفی‌موریم به ترتیب با مقادیر ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ µg/ml و کمترین میزان در برابر سویه اشریشیا کلی با مقدار ۱۵۶ µg/ml ثبت شد.

کمترین مقدار MIC نیسین با غلظت ۶۳ µg/ml بر علیه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و پسودوموناس آئروژنز بدست آمد که نشان دهنده حساسیت بیشتر این سویه‌ها بود. نتایج نشان دادند شدت تأثیرگذاری تحت تأثیر نوع، و غلظت عامل ضد میکروبی و سویه باکتریایی قرار دارد.

ارزیابی خواص ضدباکتریایی نیسین نشان داد سویه‌های گرم مثبت از حساسیت بالاتری برخوردارند ($p < 0.05$). بنابر نتیجه بدست آمده بیشترین هاله بازدارندگی رشد نیسین برای سویه لیستریا مونوسیتوژنز (۱۴/۳ mm) و کمترین مقدار در برابر سویه گرم منفی سالمونلا تیفی‌موریم (۸/۶ mm) اختصاص داشت ($p < 0.05$). این نتایج با گزارشات پیشین درخصوص حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در برابر نیسین مطابقت دارد (Li et al., 2025; Huang et al., 2025). در توضیح این رخداد گزارش شده نیسین ابتدا با مسدود کردن سنتز پپتیدوگلیکان رشد باکتری را متوقف نموده و در ادامه با ایجاد منافذی در غشای سلولی باعث تجزیه سلول می‌شود (Chen et al., 2025).

مقادیر MIC و MBC اسانس میخک و نیسین: جدول ۳
داده‌های حاصل از تعیین مقادیر MIC و MBC ترکیبات ضد

جدول ۳- تعیین مقادیر MIC و MBC اسانس میخک و نیسین (µg/ml) در برابر سویه‌های هدف به روش میکروذیلوشن
Table 3- Determination MIC and MBC values of clove essential oil and nisin (µg/ml) against target strains by microdilution method

عامل ضدباکتریایی Antibacterial agent		MIC/MBC	میکروارگانیسم Microorganism	
نیسین (µg/ml) Nisin (µg/ml)	اسانس میخک (µg/ml) Clove essential oil (µg/ml)			
125	625	MIC	لیستریا مونوسیتوژنز <i>Listeria monocytogenes</i>	گرم مثبت Gram positive
250	625	MBC	استافیلوکوکوس اورئوس <i>Staphylococcus aureus</i>	
63	313	MIC	باسیلوس سرئوس <i>Bacillus cereus</i>	
125	313	MBC		
63	313	MIC		
63	625	MBC		
125	2500	MIC	سالمونلا تیفی‌موریم <i>Salmonella Typhimurium</i>	گرم منفی Gram negative
250	5000	MBC	پسودوموناس آئروژنز <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
63	1250	MIC	اشریشیا کلی <i>Escherichia coli</i>	
125	2500	MBC		
125	156	MIC		
125	156	MBC		

نتیجه گیری

اشرشیاکلی اختصاص داشت. نیسین و اسانس میخک تاثیرات مهارکنندگی رشد قابل توجهی را بروز دادند که نشان می‌دهد از قابلیت مناسبی جهت جایگزینی با نگهدارنده‌های شیمیایی برخوردار هستند. در این خصوص ضروریست به نوع سویه میکروبی و غلظت اسانس میخک و یا نیسین توجه داشت. باین‌وجود، تأیید نهایی بکارگیری ترکیبات مورد بررسی، نیازمند انجام پژوهش‌های بالینی و کاربردی در مواد غذایی است.

اسانس‌ها با دارا بودن اثرات ضد میکروبی قوی و درعین حال سازگاری قابل توجه با بدن انسان و محیط زیست، از پتانسیل مناسبی جهت ارتقاء سلامت جامعه برخوردارند. در این پژوهش ترکیبات شیمیایی سازنده اسانس میخک شناسایی و خواص ضدباکتریایی آن در قیاس با نیسین در برابر برخی سویه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. کمترین غلظت مهارکنندگی رشد به اسانس میخک در برابر سویه

منابع

- Alhaithloul, H.A., Soliman, M. H., Ameta, K. L., El-Esawi, M. A., & Elkelish, A. (2020). Changes in ecophysiology, osmolytes, and secondary metabolites of the medicinal plants of *Mentha piperita* and *Catharanthus roseus* subjected to drought and heat stress. *Biomolecules*, 10, 43-64.
- Barak, T. H., Gültekin, E., Senturk, T. B., & Ozdemir, K. (2025). Evaluation of commercial *Syzygium aromaticum* L. (clove) essential oil samples from market in accordance with the European Pharmacopoeia 10.0 criteria. *Journal of Research in Pharmacy*, 28 (4), 1088-1098.
- Bennett, S., Said, L. B., Lacasse, P., Malouin, F., & Fliss I. (2021). Susceptibility to Nisin, Bactofencin, Pediocin and Reuterin of Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* Causing Bovine Mastitis. *Antibiotics*, 10, 1-12.
- Carvalho, M., Albano, H., & Teixeira, P. (2018). In Vitro Antimicrobial Activities of Various Essential Oils Against Pathogenic and Spoilage Microorganisms. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 5, 41-48.
- Chen, X., Bai, H., Mo, W., Zheng, X., Chen, H., Yin, Y., & et al. (2025). Lactic Acid Bacteria Bacteriocins: Safe and Effective Antimicrobial Agents. *Int J Mol Sci*, 26 (9), 4124.
- Dashtisarmadi, K., Najafi, M. A., Miri, M., & Najafi, Q. S. (2024). Antimicrobial properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) separately and in combination on inhibiting the growth of some food spoilage bacteria. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 2 (2), 59-72. [In Persian]
- Freitas, V. D. d., Coelho, E. L. J., Moreira, J. M. A. R., Dutra, V., Sousa, V. R. F., & Almeida, A. d. B. P. F. d. (2025). Antibacterial Activity of Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum*) Against Oxacillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* Isolated from Dogs with Otitis Externa. *Pathogens*, 14, 709.
- Firouzi, A.F., Baghaeifar, S., Taheri, E., Farhodi, S. J. M., Safi, M., Seyyed, S. N., & et al. (2020). Enhanced anticancer potency of doxorubicin in combination with curcumin in gastric adenocarcinoma. *J Biochem Mol Toxicol*, e22486.
- Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M., & Espinosa-Andrews, H. (2021). Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*, 26, 6387.
- Huang, M., Li, F., He, W., & Zhong, Q. (2025). Synergistic antibacterial activities of nisin with tea polyphenol, and rhamnolipid against *Bacillus cereus* and the applications in pasteurized milk and cooked rice. *Food Bioscience*, 71, 107110.
- Kor, N., Alinaghizadeh, M. M., Heydari, F., Molaei, R., Hajipour, P., Azizi, S., & Sakhaee, E. (2026). The Antibacterial and Wound-Healing Effects of Clove (*Syzygium aromaticum*) Essential Oil on Burn Wounds Contaminated with *Pseudomonas aeruginosa* in Rats. *Veterinary and Comparative Biomedical Research*, 3 (1), 1 – 11.
- Li, L. Q., Yu, Y. B., Zhang, S. Y., Liu, Z. C., Pan, L. Y., Liang, T. X., & et al. (2025). Antibacterial Stability of Novel Nisin/Carboxylic Curdlan Complexes. *Foods*, 14 (23), 4007.
- Maha, M. B., Hanaa, M. H., Maha O. A. O., Waled, M. A., Salma, M. G., Sameh, A. K., & et al. (2025). Effects of clove (*Syzygium aromaticum*) extract on antibacterial activity, phytochemical properties, and storage quality of flavored milk beverages. *Journal of Dairy Science*, 108, 4, 3300-3313.
- Michel, I., Lobietti, M., Danthu, P., Penot, E., Velonjara, F., Jahiel, M., & Michels, T. (2021). Agroforestry innovation by smallholders facing uncertainty: The case of clove-based cropping systems in Madagascar. *European Journal of Agronom*, 123, 126218.
- Nada, H. G., Mohsen, R., Zaki, E. M., & Aly, A. A. (2022). Evaluation of chemical composition, antioxidant, antibiofilm and antibacterial potency of essential oil extracted from gamma irradiated clove (*Eugenia caryophyllata*). *Food Meas. Charact*, 16, 673–686.
- Najafi, M. A., Ayinechi, A., Bahmani, Z. A., & Najafi, Q.A. (2023). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of basil (*Ocimum basilicum* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and cumin (*Cuminum cyminum* L.) in comparison with nisin. *New Findings in Veterinary Medicine*, 6, 2, 98-107. [In Persian].
- Saravani Pak, E., Najafi, M. A., Tavakoli, M., & Soltani Tehrani, N. (2021). Evaluation antimicrobial effects of new edible film from Persian gum incorporated with Saffron extract and nisin, on chicken fillets under chilled conditions. *New Findings in Veterinary Microbiology*, 4, 23-36. [In Persian].
- Shahbazi, Y., & Shavis, N. (2019) Antimicrobial effects of *Mentha spicata* essential oil and methanolic carrot extract against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* fish soup. *Pharm Biomed Res*, 2019; 5(1): 32-38.
- Vafaei Malekabadi, A., Karimi .E., & Eskouian .E. (2021). Comparison of antioxidant, antibacterial, and cytotoxic effects of clove essence and clove essence

nanoemulsion. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 29 (3), 26-37. [In Persian].

Wadi, M. A. (2025). Evaluation of antibacterial activity and chemical analysis of clove aqueous extract (*Syzygium aromaticum*). *BMC Complement Med Ther*, 21, 25, 146.⁵

ISSN: 3041-9638

<https://jrpsm.asnrkh.ac.ir/>

Open Access

Research Article

In vitro antifungal activity of plant-derived metabolites against *Curvularia tsudae* isolated from *Lawsonia* roots

M. Moshayedi¹, H. Rahanandeh²  and A. Sharifi Eshkalak³¹ Member of the Agricultural and Natural Resources Engineering Organization of Gilan Province, Rasht, Iran.² Department of Plant protection, Ra.C., Islamic Azad University, Rasht, Iran.³ Member of the Agricultural and Natural Resources Engineering Organization of Gilan Province, Rasht, Iran.

Received: 04 Jun 2026

Accepted: 01 Sep 2026

Published :08 Sep 2026

Corresponding**Author:**

Hadi Rahanandeh

Email:

rahanandeh@iau.ac.ir

Keywords:Essential oils,
Mycelial growth
inhibition, Spore
germination,
Biological control**Citation:**

Moshayedi, M.,
Rahanandeh, H.,
Sharifi Eshkalak, A.
(2026). In vitro
antifungal activity of
plant-derived
metabolites against
Curvularia tsudae
isolated from
Lawsonia
roots. *Journal of*
Research in Plant
Metabolites, 4(2), 9-
21.
Doi:10.22034/jrpsm.2
026.570645.1105

Extended Abstract

Background and Objectives: Ornamental coniferous plants play an essential role in urban green spaces, parks, and landscape design due to their aesthetic value, ecological functions, and adaptability to diverse environmental conditions. Among these plants, Lawson cypress (*Chamaecyparis lawsoniana*) is widely cultivated because of its desirable growth form, foliage color, and ornamental appeal. However, root decline and root-associated disorders represent a major constraint to the sustainability and visual quality of these plants. Such disorders are frequently associated with soil-borne and root-associated fungi, particularly dematiaceous fungi, which may persist as saprophytes or endophytes and become opportunistic pathogens under stress conditions. Species belonging to the genus *Curvularia* have increasingly been reported from the rhizosphere and root tissues of ornamental and woody plants and are often linked to symptoms such as reduced vigor, chlorosis, and progressive decline. Climate change-related stresses, including fluctuations in temperature and soil moisture, can further disturb the balance between host plants and associated microorganisms, facilitating the pathogenic behavior of otherwise latent fungi. Management of root-associated fungal diseases traditionally relies on chemical fungicides. Although effective in the short term, repeated fungicide applications raise concerns regarding the development of resistant fungal populations, environmental contamination, and potential risks to human health. Consequently, there is growing interest in environmentally friendly alternatives, particularly plant-derived metabolites and essential oils, which are rich in bioactive compounds with documented antifungal properties. The present study aimed to isolate and identify a fungal species associated with root decline symptoms in *C. lawsoniana* and to evaluate the in vitro antifungal activity of selected plant essential oils against the identified isolate. In addition, the efficacy of these natural products was compared with commonly used chemical fungicides to assess their potential as sustainable disease management options.

Materials and Methods: Root samples were collected from Lawson cypress plants exhibiting decline and root rot symptoms in Guilan Province, northern Iran. After surface sterilization, root segments were plated on potato dextrose agar (PDA), and the dominant fungal isolate was purified through successive subculturing. Morphological identification was conducted based on colony characteristics and microscopic features of conidiophores and conidia. Molecular identification was performed by amplification and sequencing of the internal transcribed spacer (ITS) region of rDNA using universal primers ITS5 and ITS4. The obtained sequence was compared with reference sequences in the GenBank database using BLAST analysis. Phylogenetic relationships were inferred using the Neighbor-Joining method, and the evolutionary stability of branches was assessed by bootstrap analysis. Twelve plant essential oils, including thyme (*Thymus vulgaris*), ajwain (*Trachyspermum ammi*), kakuti (*Ziziphora clinopodioides*), lemongrass (*Cymbopogon citratus*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), peppermint (*Mentha piperita*), lavender (*Lavandula angustifolia*), fennel (*Foeniculum vulgare*), myrtle (*Myrtus communis*), eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), galbanum (*Ferula gummosa*), and Persian hogweed (*Heracleum persicum*), were evaluated for antifungal activity. Antifungal assays were conducted using three complementary in vitro methods: disk diffusion, poisoned food (medium incorporation), and spore germination tests at different concentrations. Five chemical fungicides—mancozeb, thiophanate-methyl, copper oxychloride, iprodione + carbendazim (Rovral-TS), and Bordeaux mixture—were tested at 2000 mg L⁻¹ as chemical controls. All experiments were arranged in a completely randomized factorial design with three replications. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA), and mean comparisons were performed using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.05$.

Results: Based on morphological traits and ITS rDNA sequence analysis, the fungal isolate obtained from Lawson cypress roots was identified as *Curvularia tsudae* and deposited in GenBank under accession number PX096193. Phylogenetic analysis confirmed that the isolate clustered within the *Curvularia tsudae* species complex, consistent with previous reports indicating limited species-level resolution of the ITS region within this genus. The disk diffusion assay revealed significant differences among essential oils in their ability to inhibit mycelial growth. Thyme essential oil exhibited the highest inhibitory effect, while several other oils showed limited or no significant activity compared with the control. In the poisoned food assay, a stronger antifungal response was observed. Thyme, ajwain, and lemongrass essential oils completely inhibited mycelial growth of *C. tsudae* at higher concentrations, indicating pronounced antifungal efficacy. Other essential oils displayed moderate to low inhibitory effects, with inhibition generally increasing as concentration increased. Spore germination assays demonstrated that lemongrass and ajwain essential oils were the most effective in suppressing spore germination, whereas thyme essential oil showed a moderate inhibitory effect. In contrast, all tested chemical fungicides completely inhibited spore germination, confirming their high efficacy under laboratory conditions. Evaluation of fungicidal versus fungistatic activity revealed that thyme, ajwain, and lemongrass essential oils exerted true fungicidal effects, as no fungal regrowth occurred after transfer to fresh medium. Kakuti essential oil, however, exhibited a fungistatic effect, allowing fungal regrowth after removal of the treatment. Chemical fungicides varied in their mode of action, with some acting fungicidally and others primarily fungistatically.

Conclusion: This study demonstrated that *Curvularia tsudae* is associated with root decline symptoms in Lawson cypress and highlighted the considerable in vitro antifungal potential of selected plant-derived essential oils against this fungus. In particular, thyme, ajwain, and lemongrass essential oils showed strong inhibitory effects on mycelial growth and spore germination and exhibited fungicidal activity comparable, though not identical, to that of chemical fungicides. Although chemical fungicides achieved complete inhibition of spore germination, the observed efficacy of certain essential oils underscores their potential as environmentally friendly alternatives or complementary tools in integrated disease management strategies. These findings support further investigations under greenhouse and field conditions to evaluate the practical applicability, formulation stability, and phytotoxicity of these natural products. Overall, plant essential oils represent promising candidates for reducing reliance on synthetic fungicides and promoting sustainable management of root-associated fungal diseases in ornamental plants.



اثر ضدقارچی متابولیت‌های گیاهی بر *Curvularia tsudae* جداسازی شده از ریشه لاوسون در شرایط

آزمایشگاهی

مهسا مشیدی^۱، هادی رهاننده^۲ و آرش شریفی اشک^۳

^۱ عضو سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، رشت، ایران.

^۲ گروه گیاه‌پزشکی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

^۳ عضو سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، رشت، ایران.

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۱۴

چکیده

سابقه و هدف: درختچه‌های زینتی سوزنی‌برگ، به‌ویژه سرو لاوسون (*Chamaecyparis lawsoniana*)، نقش مهمی در فضاهای سبز شهری و مناظر زینتی ایفا می‌کنند. با این حال، اختلالات ریشه‌ای و زوال تدریجی این گیاهان که اغلب با حضور قارچ‌های خاکزاد و قارچ‌های تیره‌رنگ همراه است، می‌تواند موجب کاهش کیفیت، دوام و ارزش زیباشناختی آن‌ها شود. در سال‌های اخیر، گونه‌هایی از جنس *Curvularia* به‌عنوان قارچ‌های فرصت‌طلب مرتبط با زوال ریشه در گیاهان زینتی گزارش شده‌اند. هم‌زمان، وابستگی گسترده به قارچ‌کش‌های شیمیایی برای مدیریت این بیماری‌ها با پیامدهایی نظیر بروز مقاومت، آلودگی محیط‌زیست و مخاطرات سلامت انسانی همراه بوده است. در این راستا، متابولیت‌ها و اسانس‌های گیاهی به‌عنوان منابع طبیعی ترکیبات زیست‌فعال، توجه زیادی را به‌عنوان گزینه‌هایی زیست‌سازگار و کم‌خطر جلب کرده‌اند. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که برخی اسانس‌های گیاهی قادرند رشد ریشه‌ای و جوانه‌زنی اسپور قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی را مهار کنند، اما اطلاعات مربوط به اثر آن‌ها بر قارچ‌های مرتبط با زوال ریشه سرو لاوسون محدود است. هدف از این پژوهش، جداسازی و شناسایی یک قارچ همراه با علائم زوال ریشه سرو لاوسون و ارزیابی فعالیت ضدقارچی اسانس‌ها و متابولیت‌های گیاهی منتخب علیه جدایه شناسایی شده در شرایط آزمایشگاهی، و مقایسه کارایی آن‌ها با قارچ‌کش‌های شیمیایی متداول بود.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های ریشه از درختان سرو لاوسون دارای علائم زوال و پوسیدگی ریشه از استان گیلان جمع‌آوری شد. پس از ضدعفونی سطحی، قطعات ریشه روی محیط کشت PDA کشت داده شدند و جدایه قارچی غالب پس از چند مرحله زیرکشت به‌صورت خالص جداسازی گردید. شناسایی ریخت‌شناسی بر اساس ویژگی‌های کلنی و مشخصات میکروسکوپی انجام شد. شناسایی مولکولی با تکثیر ناحیه ITS rDNA و توالی‌یابی انجام و جایگاه فیلوژنتیکی جدایه با استفاده از روش Neighbor-Joining تعیین گردید. برای ارزیابی فعالیت ضدقارچی، اسانس ۱۲ گیاه دارویی شامل آویشن، زنیان، کاکوتی، علف لیمو، رزماری، نعنای فلفلی، اسطوخودوس، رازیانه، مورد، اکالیپتوس، باریجه و گلپر تهیه شد. آزمایش‌های ضدقارچی با استفاده از سه روش دیسک دیفیوژن، اختلاط با محیط کشت (poisoned food) و آزمون جوانه‌زنی اسپور در غلظت‌های مختلف انجام گرفت. همچنین، اثر پنج قارچ‌کش شیمیایی متداول شامل مانکوزب، تیوفانات‌متیل، اکسی‌کلوروس، رورال‌تی‌اس و بردو در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌عنوان شاهد شیمیایی بررسی شد. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و فاکتوریل با سه تکرار اجرا گردید. داده‌ها با تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تحلیل شدند.

یافته‌ها: بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و آنالیز توالی ITS rDNA، جدایه قارچی جداسازی شده از ریشه سرو لاوسون به‌عنوان *Curvularia tsudae* شناسایی و توالی آن در پایگاه GenBank ثبت شد. تحلیل فیلوژنتیکی نشان داد که جدایه مورد مطالعه درون مجموعه گونه‌ای نزدیک به *C. tsudae* قرار می‌گیرد. نتایج آزمون دیسک دیفیوژن نشان داد که اثر ضدقارچی اسانس‌های گیاهی به‌طور معنی‌داری به نوع اسانس و غلظت وابسته است. اسانس آویشن بیشترین مهارت رشد ریشه‌ای قارچ را در این روش نشان داد، در حالی که برخی اسانس‌ها اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند. در روش اختلاط با محیط کشت، اسانس‌های آویشن، زنیان و علف لیمو در غلظت‌های بالا موجب مهار کامل رشد ریشه‌ای *C. tsudae* شدند و بالاترین فعالیت ضدقارچی را نشان دادند. سایر اسانس‌ها اثر مهارتی متوسط تا ضعیف داشتند. افزایش غلظت اسانس‌ها به‌طور کلی با افزایش درصد بازدارندگی رشد قارچ همراه بود. در آزمون جوانه‌زنی اسپور، اسانس‌های زنیان و علف لیمو بیشترین ممانعت از جوانه‌زنی اسپور را ایجاد کردند، در حالی که اسانس آویشن اثر مهارتی متوسطی نشان داد. در مقابل، تمامی قارچ‌کش‌های شیمیایی مورد بررسی به‌طور کامل از جوانه‌زنی اسپور جلوگیری کردند. از نظر نوع اثر، اسانس‌های آویشن، زنیان و علف لیمو دارای خاصیت قارچ‌کشی واقعی بودند، در حالی که اسانس کاکوتی عمده‌تأثیر قارچ‌ایستایی نشان داد. نتایج این پژوهش بیانگر پتانسیل قابل توجه برخی اسانس‌های گیاهی به‌عنوان گزینه‌هایی زیست‌سازگار و مکمل برای مهار قارچ‌های مرتبط با زوال ریشه سرو لاوسون است.

نویسنده مسئول:

هادی رهاننده

ایمیل:

rahanandeh@iau.ac.ir

واژه‌های کلیدی:

اسانس‌های گیاهی، مهار رشد ریشه‌ای، جوانه‌زنی اسپور، کنترل زیستی

نحوه استناد:

جهانبخشی، ف.، ابدالی مشهدی، ع.، موسوی، س. ا.، لطفی، ا. (۱۴۰۵). ارزیابی پرایمینگ بدر بر رفتار جوانه‌زنی گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd.) و فعالیت‌های آنزیمی در شرایط تنش نیترات سرب. مجله پژوهش در متابولیت‌های گیاهی، دوره ۴، شماره ۱، صفحات: ۹-۲۱. Doi:10.22055/psy.2023.4635.3106

مقدمه

در این میان، اسانس‌ها و متابولیت‌های ثانویه گیاهی به‌عنوان منابع طبیعی ترکیبات زیست‌فعال، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. این ترکیبات دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی از جمله اثرات ضدقارچی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی هستند و توانایی مهار رشد بسیاری از قارچ‌های مرتبط با گیاهان را نشان داده‌اند (Nazzero et al., 2017; Sharifi-Rad et al., 2017). مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که اسانس‌هایی نظیر آویشن، نعنای فلفلی، اکالیپتوس و اسطوخودوس می‌توانند رشد ریشه‌ای و جوانه‌زنی اسپور قارچ‌های مختلف را در شرایط آزمایشگاهی به‌طور معنی‌داری کاهش دهند (Hyldgaard et al., 2015; Bajpai et al., 2020).

علاوه بر اثر مستقیم بر قارچ‌ها، برخی متابولیت‌های گیاهی قادرند پاسخ‌های دفاعی گیاه را از طریق تنظیم مسیرهای مقاومت القایی تقویت کرده و تحمل گیاه نسبت به تنش‌های زیستی را افزایش دهند (Kumar et al., 2020). هم‌زمان، پیشرفت‌های اخیر در فناوری‌های استخراج و فرمولاسیون اسانس‌ها، امکان کاربرد مؤثرتر این مواد طبیعی را فراهم کرده است (Prakash et al., 2018; Sharifi-Rad et al., 2020).

بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف جداسازی و شناسایی یک قارچ همراه با علائم زوال ریشه در لاوسون و ارزیابی فعالیت ضدقارچی متابولیت‌ها و اسانس‌های گیاهی منتخب علیه این جدایه در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. نتایج این مطالعه می‌تواند به توسعه راهکارهای زیست‌سازگار برای مهار قارچ‌های مرتبط با اختلالات ریشه‌ای گیاهان زینتی و کاهش وابستگی به قارچ‌کش‌های شیمیایی کمک نماید.

مواد و روش‌ها

گیاهان مورد استفاده در آزمایش: در این تحقیق از اسانس ۱۲ گیاه دارویی مختلف شامل اکالیپتوس (*Eucalyptus globules*)، آویشن (*Thymus vulgaris*)، کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides*)، نعنای فلفلی (*Mentha piperita*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*)، رازیانه (*Foeniculum vulgare*)، مورد (*Myrtus communis*)، باریجه (*Ferula gummosa*)، گلپر (*Heracleum persicum*)، اسطوخودوس (*Lavandulla angustifolia*)، علف لیمو (*Cymbopogon citratus*) و زنیان (*Trachyspermum copticum*) استفاده شد.

جدایه‌ی قارچی و شرایط کشت آن: به‌منظور جداسازی قارچ‌های همراه با علائم زوال ریشه، نمونه‌هایی از درخت‌های سرو لاوسون (*Chamaecyparis lawsoniana*) دارای علائم پوسیدگی ریشه و طوقه از منطقه کلاچای (37.07° N, 50.00° E) در استان گیلان جمع‌آوری شد. قطعاتی به طول ۲-۳ سانتی‌متر از ناحیه حداقل جمع‌آوری سالم و دارای علائم انتخاب و پس از شست‌وشو با آب

درختچه‌های زینتی سوزنی‌برگ نقش مهمی در طراحی فضاهای سبز شهری، پارک‌ها و مناظر تزیینی ایفا می‌کنند و حفظ سلامت آن‌ها از جنبه‌های زیباشناختی و اکولوژیک اهمیت ویژه‌ای دارد. در میان این گیاهان، لاوسون (*Chamaecyparis lawsoniana*) به‌دلیل فرم رشدی مناسب، رنگ متمایز شاخ و برگ و سازگاری نسبی با شرایط محیطی، به‌طور گسترده در طراحی منظر مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال، لندام‌های زیرزمینی این گیاه، به‌ویژه ریشه، می‌توانند تحت تأثیر تنش‌های زیستی و حضور قارچ‌های خاکزاد و همراه با ریشه دچار اختلال عملکرد و زوال تدریجی شوند که این موضوع در سال‌های اخیر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Burgess et al., 2016).

قارچ‌های همراه ریشه، به‌ویژه گونه‌های تیره‌رنگ (Dematiaceae) (*fungi*)، به‌طور گسترده از ریزوسفر و بافت‌های زیرزمینی گیاهان زینتی و درختان گزارش شده‌اند و برخی از آن‌ها با علائمی نظیر کاهش رشد، زردی شاخ و برگ و ضعف عمومی گیاه همراه هستند. این قارچ‌ها می‌توانند به‌صورت ساپروفیت یا اندوفیت در گیاه حضور داشته باشند، اما در شرایط تنش‌زا نقش آن‌ها به‌عنوان پاتوژن‌های فرصت‌طلب برجسته‌تر می‌شود (Hyde et al., 2020).

در سال‌های اخیر، شواهد علمی نشان داده‌اند که تغییرات اقلیمی، از جمله افزایش دما، بروز تنش خشکی، نوسانات شدید رطوبتی و تغییر الگوهای بارندگی، می‌توانند تعادل میان گیاهان و میکروارگانیسم‌های همراه آن‌ها را بر هم زده و منجر به تشدید بیماری‌های گیاهی شوند. در چنین شرایطی، قارچ‌هایی که پیش‌تر به‌صورت ساپروفیت یا اندوفیت غیرآسیب‌زا در بافت‌های گیاهی حضور داشتند، ممکن است در اثر تضعیف سیستم دفاعی گیاه یا فراهم‌شدن شرایط مناسب برای رشد قارچ، به عوامل بیماری‌زای فرصت‌طلب تبدیل شوند. این پدیده به‌عنوان یکی از پیامدهای مهم تغییر اقلیم، در گیاهان زینتی و درختان فضای سبز که اغلب تحت تنش‌های هم‌زمان محیطی قرار دارند، اهمیت ویژه‌ای یافته است (Bebber & Gurr, 2015; Velásquez et al., 2018).

مدیریت اختلالات قارچی ریشه در گیاهان زینتی معمولاً متکی بر مصرف قارچ‌کش‌های شیمیایی است. اگرچه این ترکیبات در کوتاه‌مدت می‌توانند رشد قارچ‌ها را مهار کنند، اما استفاده مکرر از آن‌ها با پیامدهایی نظیر توسعه مقاومت در جمعیت‌های قارچی، آلودگی محیط‌زیست و نگرانی‌های مرتبط با سلامت انسان همراه است (Lucas et al., 2015; Zhao et al., 2022). این چالش‌ها سبب شده است که پژوهش‌های اخیر بر توسعه راهکارهای جایگزین و کم‌خطرتر برای مدیریت بیماری‌های قارچی تمرکز یابند.

محاسبه گردید. پایداری شاخه‌ها با آزمون بوت‌استرپ (۱۰۰۰ تکرار) ارزیابی و تنها مقادیر بالاتر از ۳۰٪ نمایش داده شدند. به‌منظور ریشه‌دار کردن درخت، یک گونه خارج‌گروه (outgroup) از یک جنس نزدیک انتخاب شد. در صورت نیاز، استفاده از نشانگرهای مولکولی مکمل مانند TEF1- α و β -tubulin در مطالعات آینده می‌تواند دقت تفکیک گونه‌های نزدیک را افزایش دهد.

تهیه اسانس گیاهان: گیاهان مورد مطالعه شامل ۱۲ گونه اسانس‌دار بودند که بخشی از آن‌ها (مانند مورد، گلپر و اکالیپتوس) از طبیعت استان گیلان جمع‌آوری شدند و سایر گونه‌ها (از جمله آویشن، زنیان، مرزه و اسطوخودوس) از مزارع کشت‌شده و فروشگاه‌های معتبر در شهر رشت تهیه گردیدند. شناسایی علمی تمامی گونه‌ها در دانشکده کشاورزی تأیید شد و نمونه‌های شاهد هر گیاه به‌صورت خشک‌شده در آزمایشگاه گیاه‌پزشکی دانشگاه نگهداری شدند. برای تهیه و استخراج اسانس‌های مورد مطالعه به‌شرح زیر از دستگاه کلونجر استفاده گردید. بدین صورت که ۵۰ گرم از بافت‌های خشک شده هر گیاه کاملاً خرد و به‌صورت جداگانه در بالن یک لیتری کلونجر به همراه مقداری آب ریخته شد و به‌مدت سه ساعت اسانس آن‌ها به روش تقطیر جداسازی گردید. از سولفات سدیم برای آب‌گیری از اسانس استفاده شد و اسانس‌های استخراج شده تا زمان استفاده، در چهار درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند (Ranjbar *et al.*, 2008).

قارچ‌کش‌های مورد استفاده: به منظور مقایسه فعالیت ضد قارچی اسانس‌های گیاهی از قارچ‌کش‌های شیمیایی مانکوزب (Mancozeb 80% WP)، تیوفانات متیل (Thiophanate-methyl 70% WP)، اکسی کروور مس (Copper oxychloride 35% WP)، اپیریدیون+کاربندازیم (Iprodione + Carbendazim 52.5% WP)، "Rovral"، بردو (Bordeaux mixture 20% SC) در غلظت 1 mg. l^{-1} ۲۰۰۰ ماده موثره به‌روش اختلاط با محیط کشت از شرکت آریا شیمی استفاده شد.

ارزیابی‌بازدارندگی از رشد قارچ در روش دیسک: به‌منظور بررسی اثر بازدارندگی اسانس‌های گیاهان مورد آزمایش، ابتدا محیط کشت PDA پس از استریل کردن تا دمای حدود ۴۵ سلسیوس سرد شد. سپس درون پتری‌دیش‌های ۱۰ سانتی‌متری ریخته شد و پس از انعقاد کامل محیط کشت، با چوب پنبه سوراخ کن یک دیسک قارچی به‌قطر شش میلی‌متر از حاشیه پرگنه کشت یک هفته‌ای آن تهیه شد و در وسط پتری قرار داده شد و تا زمانی که قطر پرگنه رشد به سه سانتی‌متر رسید (حدود ۷۲ ساعت) پتری‌دیش‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوباتور نگهداری شدند. سپس دیسک‌های کاغذی شش میلی‌متری پادتن طب استریل شده نیز در

جاری، به‌مدت ۶۰ ثانیه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ ضدعفونی سطحی شدند. سپس نمونه‌ها سه بار با آب مقطر استریل شسته و روی محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) کشت داده شدند.

پلیت‌ها در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس انکوبه شدند و کلنی‌های رشدیافته به‌منظور دستیابی به کشت خالص، چندین بار زیرکشت داده شدند. جدایه‌های خالص در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردیدند. شناسایی اولیه جدایه قارچی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی کلنی شامل رنگ، بافت میسلیم و مشخصات کنیدی‌ها انجام شد.

شناسایی مولکولی: شناسایی مولکولی جدایه قارچی با تکثیر ناحیه داخلی فاصله‌گذار رونویسی‌شده (ITS rDNA) با استفاده از آغازگرهای عمومی (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAG-3' و ITS4 (3'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Zhou *et al.*, 2022). استخراج DNA ژنومی از میسلیم تازه رشدیافته قارچ با استفاده از کیت تجاری Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany) و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. کیفیت و کمیت DNA استخراج‌شده با استفاده از دستگاه NanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific) و الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ ارزیابی شد.

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل $12.5 \mu\text{L}$ مستر میکس ۲× (Amplicon, Denmark)، $1 \mu\text{L}$ از هر آغازگر ($10 \mu\text{M}$)، DNA $2 \mu\text{L}$ الگو (تقریباً $50 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$) و آب دیونیزه استریل تا حجم نهایی انجام شد. برنامه حرارتی PCR شامل یک مرحله دناتوراسیون اولیه در 95°C به مدت ۵ دقیقه، به‌دنبال آن ۳۵ چرخه دناتوراسیون در 95°C به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در 55°C به مدت ۳۰ ثانیه و امتداد در 72°C به مدت ۱ دقیقه، و در نهایت یک مرحله امتداد نهایی در 72°C به مدت ۷ دقیقه بود. واکنش فاقد DNA الگو به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد.

محصولات PCR پس از بررسی روی ژل آگارز ۱٪، با استفاده از کیت QIAquick PCR Purification Kit خالص‌سازی و توسط شرکت MacroGen (Korea) به روش توالی‌یابی Sanger تعیین توالی شدند. توالی‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزارهای BioEdit v7.2 و Chromas v2.6 ویرایش و سپس با استفاده از الگوریتم BLASTn با توالی‌های موجود در پایگاه داده GenBank مقایسه شدند.

برای بررسی روابط فیلوژنتیکی، درخت فیلوژنتیکی بر اساس توالی Neighbor-Joining (NJ) ($\approx 536 \text{ bp}$) در نرم‌افزار MEGA X ترسیم شد. هم‌ترازی توالی‌ها با الگوریتم ClustalW انجام و فواصل تکاملی بر اساس مدل p-distance

هیچ گونه رشدی در آنها مشاهده نگردیده بود، مجدداً روی محیط کشت PDA فاقد ترکیبات مورد بررسی کشت داده شده و قارچ‌کشی که باعث مرگ ریشه قارچ شده و هیچ رشدی روی محیط کشت PDA مشاهده نگردید، به عنوان MFC گزارش شد (Irkin & Korukluoglu, 2007).

اثر تیمارهای مختلف بر میزان جوانه زنی اسپور: در این آزمایش، همانند روش قبل، پس از بسته شدن محیط کشت PDA حاوی اسانس در غلظت‌های تعیین شده، چند قطره از سوسپانسیون تهیه شده از اسپورهای قارچی در سه منطقه از سطح تشتک پتری ریخته شد و روی هر کدام یک عدد لامل قرار داده شد. به این ترتیب سه تکرار این آزمایش در یک تشتک پتری انجام گردید. تشتک‌های پتری به انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند و بعد از گذشت ۲۴ ساعت، محیط کشت از اطراف محل لامل‌ها برش داده شده و در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰ برابر در میدان دید مختلف برای هر تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تعداد اسپورهای جوانه زده و زده شمارش و در نهایت درصد بازدارگی از جوانه زنی اسپور مشابه درصد بازدارگی از رشد میسلیومی قارچ محاسبه شد. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با مقایسه میانگین به روش Duncan در سطح احتمال ۵ درصد و در ۳ تکرار انجام گرفت. اسپورهایی که طول لوله تندش آن‌ها از قطر اسپور بیشتر بود، به عنوان جوانه زده شمارش شدند (Tatsadjieu et al., 2009). جهت رعایت اصول آزمایش و کاهش خطای یک تشتک شاهد با اضافه نمودن آب مقطر استریل به محیط کشت نیز برای هر قارچ در نظر گرفته شد.

روش‌های آماری و نرم افزارهای مورد استفاده: آنالیزهای تجزیه واریانس (ANOVA) در این مطالعه براساس طرح آزمایشی فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. مقایسه و گروه‌بندی میانگین‌ها براساس روش چند دامنه‌ای دانکن ($p \leq 0.05$) انجام گردید. رسم نمودارهای مورد نظر در محیط نرم افزار Microsoft Excel 2021 انجام شد.

نتایج و بحث

شناسایی ریخت‌شناسی، مولکولی و جایگاه فیلوژنتیکی جدایه قارچی

ویژگی‌های ریخت‌شناسی جدایه قارچی: جدایه قارچی پس از کشت بر روی محیط PDA در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رشد نسبتاً سریعی نشان داد و کلنی‌ها پس از ۷ روز دارای سطحی مخملی تا پنبه‌ای با حاشیه‌های نسبتاً منظم بودند. رنگ کلنی در مراحل اولیه رشد خاکستری روشن بوده و به تدریج با افزایش سن کلنی به

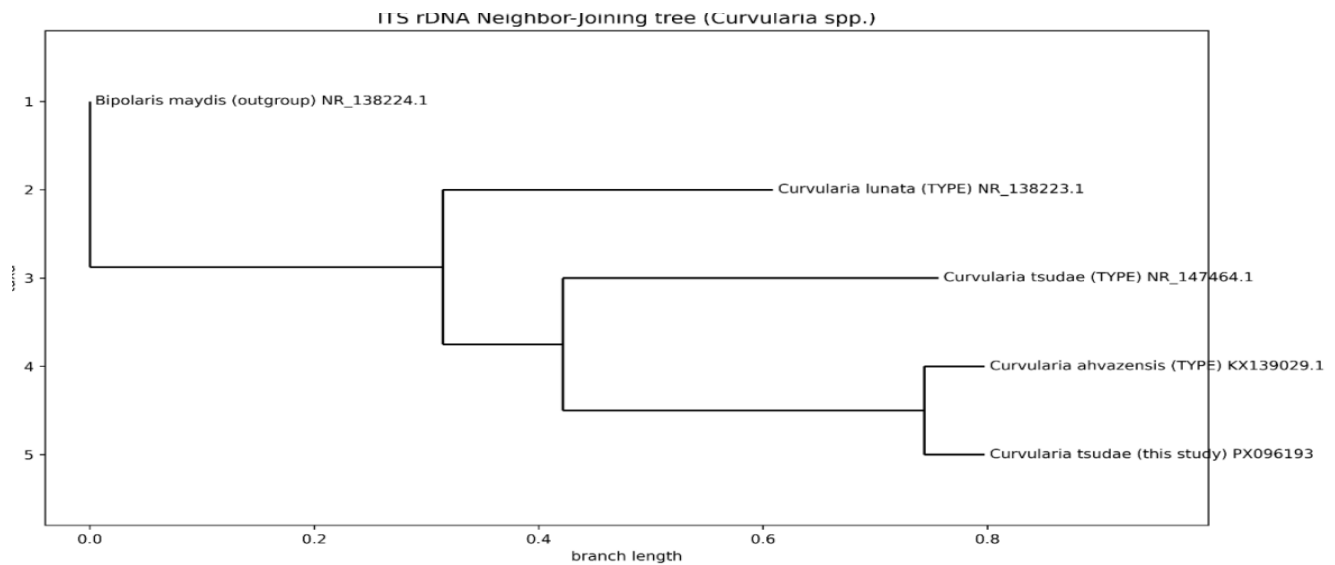
فاصله ۱۰ میلی‌متری حاشیه پرگنه قرار داده شد و از غلظت‌ها، مقدار ۱۰ میکرولیتر اسانس توسط سمپلر روی دیسک‌های کاغذی بارگذاری شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آزمایش فاکتوریل انجام شد به طوری که در همه غلظت‌های اسانس (۱، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام) و همه گیاهان با سه تکرار انجام شد فاکتورهای این آزمایش نوع گیاه و غلظت اسانس بود. در نهایت در فواصل زمانی مختلف (تا ۵ روز) میزان رشد پرگنه از روبرو، چپ و راست اندازه گیری شد. همچنین برای کاهش خطای آزمایش آب مقطر استریل به عنوان تیمار شاهد استفاده گردید (Hadian et al., 2006).

ارزیابی بازدارندگی اسانس و قارچ‌کش از رشد قارچ در روش اختلاط با محیط کشت: برای بررسی اثرات بازدارندگی اسانس‌های گیاهان مختلف مورد آزمایش و قارچ‌کش‌ها از روش اختلاط اسانس یا قارچ‌کش با محیط کشت استفاده شد. لذا پس از اتوکلاو نمودن محیط کشت PDA و سرد شدن آن غلظت‌های مختلف ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام اسانس گیاهان مذکور و غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام ماده موثره قارچ‌کش‌ها و اسانس در محیط کشت تهیه و در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به تشتک‌های پتری یکبار مصرف سترون منتقل شدند. پس از آن، از حاشیه‌ی پرگنه قارچ بلوک‌های میسلیومی به قطر شش میلی‌متر توسط چوب پنبه سوراخ کن سترون جدا شده و در شرایط سترون زیر هود در مرکز تشتک‌های پتری با رقت‌های متفاوت اسانس گیاهان مختلف مورد آزمایش و قارچ‌کش‌ها قرار داده شدند. تشتک‌های پتری به مدت پنج روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد و در تیمار شاهد از آب مقطر سترون به جای اسانس‌ها و قارچ‌کش‌ها استفاده شد (Hadian et al., 2006). درصد بازدارندگی از رشد قارچ توسط غلظت‌های مختلف از فرمول $MGI = (DC - DT) / DC \times 100$ محاسبه شد (Moslem & El-kholie, 2009). در این فرمول به ترتیب MGI = درصد بازدارندگی از رشد، DC = قطر رشد پرگنه تیمار شاهد و DT = قطر رشدی پرگنه تیمار در غلظت‌های مختلف اسانس‌ها و قارچ‌کش‌ها است.

تعیین میزان غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت قارچ‌کشی (MFC) اسانس‌های مورد بررسی: برای مشخص نمودن غلظت بازدارندگی (MIC) اسانس‌های گیاهان و قارچ‌کش‌ها، بدین صورت عمل گردید که اسانس‌های مختلف در غلظت‌های متفاوت و با محیط کشت مخلوط شد. در پایان کمترین غلظتی که موجب بازدارندگی کامل از رشد قارچ گردید به عنوان MIC در نظر گرفته شد. همچنین برای بررسی قارچ‌کشی، قارچ‌کش‌ها (MFC) ترکیبات مختلف مورد بررسی، غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام از MIC را که

تا ۴ دیواره عرضی (سپتوم) بودند. سلول میانی کنیدی‌ها متورم‌تر از سلول‌های انتهایی مشاهده شد که از ویژگی‌های شاخص جنس *Curvularia* به‌شمار می‌رود. ابعاد کنیدی‌ها در محدوده گزارش‌شده برای گونه‌های نزدیک به *Curvularia tsudae* قرار داشت. مجموعه این ویژگی‌های ریخت‌شناسی، تعلق جدایه به جنس *Curvularia* را تأیید می‌کرد.

قهوه‌ای تیره تا زیتونی متمایل به سیاه تغییر یافت. سطح زیرین کلنی (reverse) به رنگ قهوه‌ای تیره مشاهده شد. تولید رنگدانه‌های تیره در محیط کشت از ویژگی‌های بارز این جدایه بود که با ماهیت قارچ‌های تیره‌رنگ (dematiaceous fungi) مطابقت دارد. بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد کنیدیوفورها ساده یا گاهی منشعب، قهوه‌ای‌رنگ و دارای دیواره‌های صاف بودند. کنیدی‌ها خمیده تا اندکی داسی‌شکل، قهوه‌ای روشن تا تیره، صاف، و دارای ۳



شکل ۱- درخت فیلوژنتیکی بر اساس ناحیه ITS rDNA برای ایزوله قارچی به‌دست آمده از ریشه سرو لاوسون (*Chamaecyparis lawsoniana*) و گونه‌های منتخب جنس *Curvularia*. درخت با استفاده از روش Neighbor-Joining و بر اساس فاصله ژنتیکی محاسبه‌شده به روش identity رسم شد. ایزوله این مطالعه (PX096193) درون مجموعه گونه‌ای (*species complex*) مربوط به *Curvularia tsudae* قرار گرفت. با توجه به قدرت تفکیک محدود ناحیه ITS در جنس *Curvularia*، تفکیک دقیق گونه‌ای امکان‌پذیر نبوده و شناسایی در سطح جنس و ارتباط فیلوژنتیکی گزارش شده است. گونه *Bipolaris maydis* به‌عنوان outgroup برای ریشه‌دار کردن درخت استفاده شد.

Figure 1- Neighbor-Joining phylogenetic tree based on the ITS rDNA region of the fungal isolate obtained from roots of *Chamaecyparis lawsoniana* and selected species of the genus *Curvularia*. Genetic distances were calculated using the identity model. The isolate from the present study (PX096193) clustered within the *Curvularia tsudae* species complex. Due to the limited discriminatory power of the ITS region in *Curvularia*, species-level resolution was not achieved, and identification is therefore reported at the genus level with phylogenetic affinity. *Bipolaris maydis* was used as the outgroup to root the tree.

کمپلکس گونه‌ای نزدیک به *Curvularia tsudae* نشان داد. این الگوی خوشه‌بندی با گزارش‌های پیشین در مورد ساختار فیلوژنتیکی جنس *Curvularia* مطابقت دارد؛ به‌گونه‌ای که در مطالعات مختلف نشان داده شده است گونه‌های نزدیک این جنس اغلب در تحلیل‌های مبتنی بر ITS به‌صورت هم‌پوشان یا با تفکیک محدود ظاهر می‌شوند (Manamgoda et al., 2015; Tan et al., 2018). چنین هم‌پوشانی فیلوژنتیکی به‌ویژه در مجموعه‌های گونه‌ای نزدیک (*Curvularia* species complexes) پدیده‌ای شناخته‌شده است و پیش‌تر نیز گزارش شده است. در مطالعات کاربردی مشابه که تمرکز آن‌ها بر بررسی فعالیت‌های زیستی، از جمله ارزیابی اثرات ضدقارچی متابولیت‌های گیاهی بوده است، شناسایی در سطح جنس به‌عنوان چارچوب تاکسونومیک کافی و پذیرفته‌شده برای تفسیر نتایج

شناسایی مولکولی بر اساس ناحیه ITS: تکثیر ناحیه ITS rDNA با استفاده از آغازگرهای ITS4 و ITS5 منجر به تولید یک باند واضح با طول تقریبی ۵۳۶ جفت‌باز شد. توالی حاصل پس از ویرایش و حذف نواحی کم‌کیفیت، با استفاده از الگوریتم BLASTn با توالی‌های موجود در پایگاه داده GenBank مقایسه گردید. نتایج مقایسه توالی نشان داد که جدایه مورد مطالعه بیشترین درصد شباهت را با توالی‌های ثبت‌شده متعلق به گونه *Curvularia tsudae* داشت. بر این اساس، جدایه مورد بررسی با کد PX096193 به‌عنوان *C. tsudae* شناسایی شد.

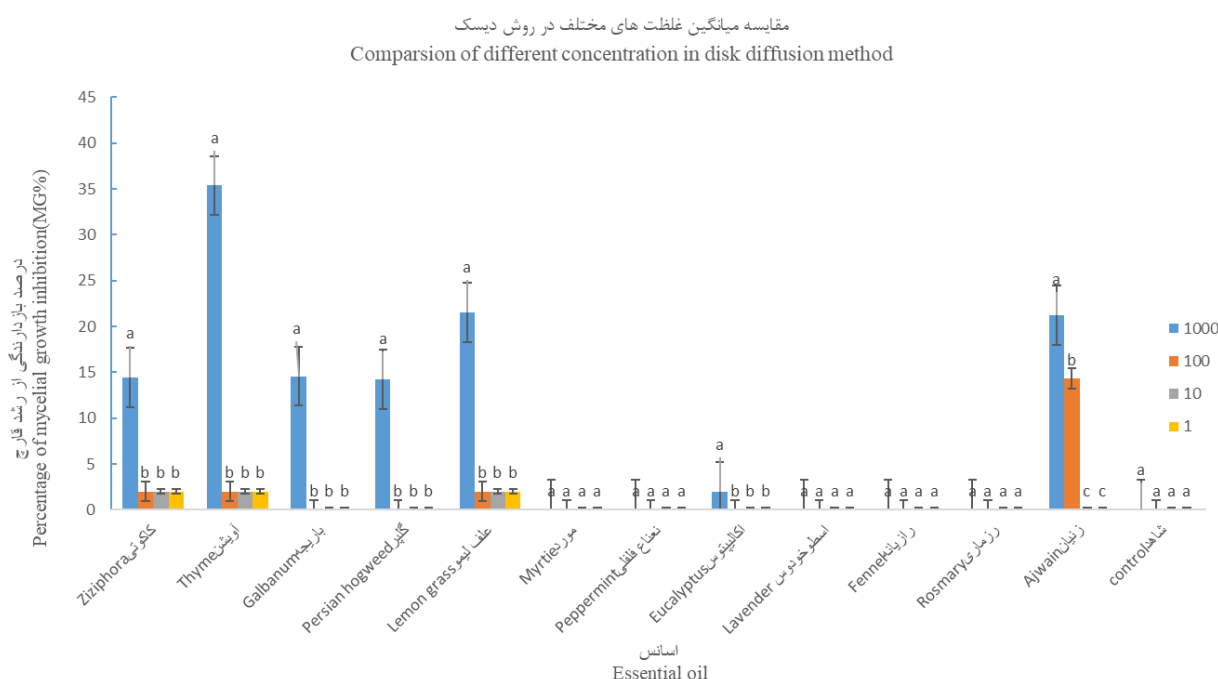
تحلیل فیلوژنتیکی: تحلیل توالی ناحیه ITS rDNA نشان داد که جدایه PX096193 جداشده از ریشه سرو لاوسون در کلاد جنس *Curvularia* قرار گرفت و درخت فیلوژنتیکی قرابت آن را با اعضای

اسطوخودوس، رازیانه و رزماری اثر بازدارندگی ناچیزی داشته و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان ندادند.

تفاوت مشاهده‌شده در کارایی ضدقارچی اسانس‌ها را می‌توان به ماهیت و غلظت ترکیبات فعال زیستی آن‌ها نسبت داد. اسانس آویشن که بالاترین درصد مهار را نشان داد، به‌طور گسترده‌ای به دلیل حضور ترکیبات فنولی غالب مانند تیمول و کارواکرول به‌عنوان یکی از قوی‌ترین اسانس‌های ضدقارچی شناخته می‌شود که با تخریب غشای سلولی و اختلال در تعادل یونی سلول قارچی موجب مهار رشد می‌گردند (Marchese et al., 2016). همچنین گزارش شده است که اسانس علف‌لیمو به‌دلیل وجود ترکیباتی نظیر سیترال می‌تواند رشد قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد (Pavela, 2015). اثرات ضدقارچی زنیان نیز در مطالعات مختلف تأیید شده و فعالیت آن به ترکیبات مونوترپنی و فنولی موجود در اسانس نسبت داده شده است (Sharifi-Rad et al., 2017). همخوانی نتایج این پژوهش با مطالعات پیشین نشان می‌دهد که اسانس‌های غنی از ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی می‌توانند به‌عنوان گزینه‌های طبیعی و زیست‌سازگار در مهار قارچ‌های بیماری‌زا، به‌ویژه در شرایط آزمایشگاهی، مورد توجه قرار گیرند.

عملکردی مورد استفاده قرار گرفته است (Marin-Felix et al., 2020). بر این اساس، جایگاه فیلوژنتیکی به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر، مبنای قابل اتکایی برای تحلیل نتایج زیستی مطالعه فراهم می‌کند و هدف اصلی پژوهش که بررسی پتانسیل ضدقارچی متابولیت‌های گیاهی است، بدون نیاز به تفکیک گونه‌ای دقیق‌تر، به‌طور کامل پوشش داده می‌شود (شکل ۱).

تأثیر اسانس‌های گیاهی بر رشد قارچ عامل بیماری در روش دیسک: نتایج آزمون دیسک دیفیوژن نشان داد که اثر بازدارندگی اسانس‌های گیاهی بر رشد قارچ *C. tsudae* به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع اسانس و غلظت مصرفی قرار دارد (شکل ۲). در بالاترین غلظت مورد بررسی، اسانس آویشن (*Thymus vulgaris*) با ۳۵/۳۶٪ بیشترین مهار رشد قارچ را نشان داد و به‌طور معنی‌داری در گروه آماری برتر قرار گرفت. پس از آن، اسانس‌های علف‌لیمو (*Cymbopogon citratus*) با ۲۱/۵۰٪ و زنیان (*Trachyspermum ammi*) با ۲۱/۲۳٪ مهار رشد قابل توجهی ایجاد کردند. اسانس‌های باریجه (*Galbanum*)، کاکوتی (*Ziziphora sp.*) و گلپر (*Heracleum persicum*) به ترتیب با ۱۴/۵۶٪، ۱۴/۴۳٪ و ۱۴/۲۳٪ اثر مهاری متوسطی داشتند. سایر اسانس‌ها از جمله مورد، نعنای فلفلی،



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس‌های گیاهی روی قارچ *Curvularia tsudae* در روش انتشار از دیسک

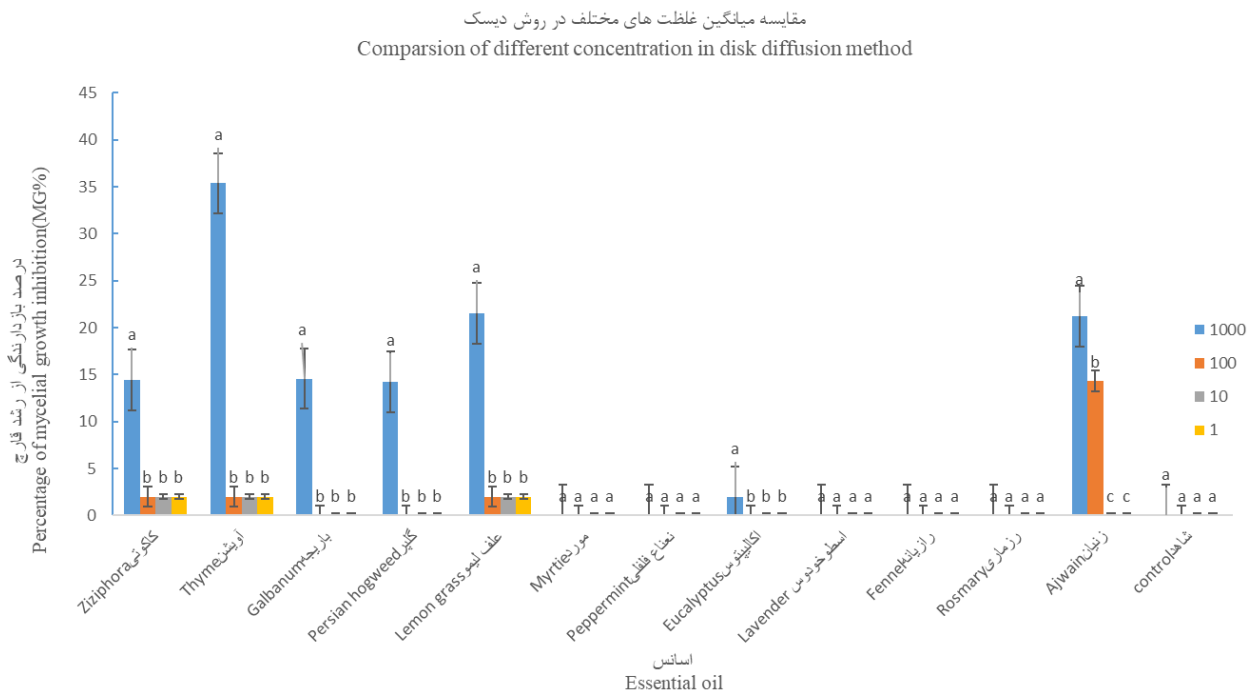
Figure 2- Antifungal Effect of Plant Essential Oils at Various Concentrations against *Curvularia tsudae* by the Disk Diffusion Method

اسانس و غلظت مصرفی قرار داشت. در بالاترین غلظت مورد آزمایش (2000 ppm)، اسانس‌های آویشن (*Thymus vulgaris*)، زنیان (*Cymbopogon citratus*) و علف‌لیمو (*Trachyspermum ammi*) موجب مهار کامل رشد ریشه‌ای قارچ شدند و بالاترین سطح فعالیت ضدقارچی را نشان دادند. در مقابل، اسانس‌های اسطوخودوس،

تأثیر اسانس‌های گیاهی و قارچ‌کش‌ها بر رشد قارچ عامل بیماری در روش اختلاط با محیط کشت: نتایج حاصل از روش اختلاط اسانس‌های گیاهی با محیط کشت نشان داد که تمامی اسانس‌های مورد بررسی قادر به کاهش رشد ریشه‌ای قارچ بودند، هرچند شدت این اثر بازدارندگی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع

در تمامی اسانس‌ها افزایش غلظت منجر به کاهش معنی‌دار رشد ریشه‌ای قارچ شد که بیانگر وابستگی پاسخ قارچ به دوز اسانس است (شکل ۳).

اکالیپتوس و رازیانه اگرچه نتوانستند رشد قارچ را به‌طور کامل متوقف کنند، اما با ایجاد بیش از ۷۵ درصد بازدارندگی، اثر مهاری قابل توجهی از خود نشان دادند. سایر اسانس‌ها کاهش رشد کمتری ایجاد کرده و در گروه‌های آماری پایین‌تر قرار گرفتند. به‌طور کلی،



شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس‌های گیاهی روی قارچ *Curvularia tsudae* در روش اختلاط با محیط کشت

Figure 3-Antifungal Effect of Plant Essential Oils at Different Concentrations on *Curvularia tsudae* by the Culture Medium Incorporation Technique

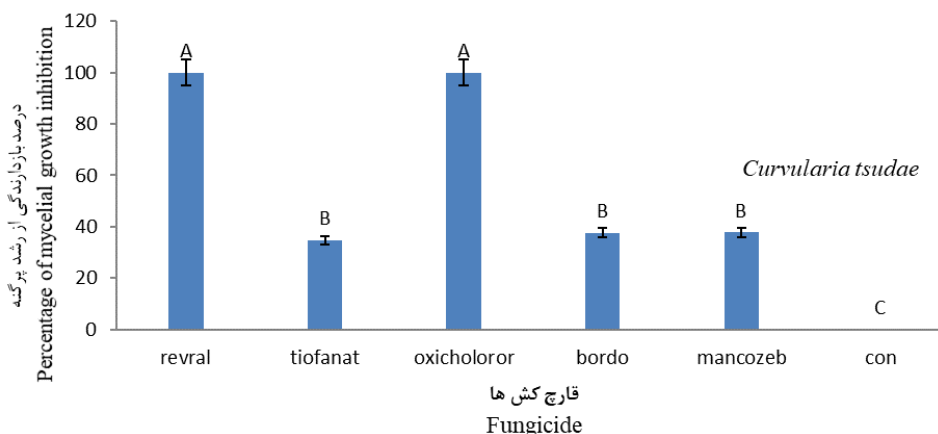
مثال، اسانس‌های آویشن و زنیان در روش اختلاط با محیط کشت موجب مهار کامل یا قابل توجه رشد *Fusarium solani* و *Fusarium graminearum* شده‌اند (Khalili et al., 2022). همچنین گزارش شده است که برخی اسانس‌های گیاهی می‌توانند رشد *Fusarium oxysporum* را در شرایط آزمایشگاهی به‌طور معنی‌داری کاهش دهند (Davari and Ezazi, 2022). هم‌راستایی این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که مکانیسم اثر ترکیبات فعال اسانس‌ها، به‌ویژه ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی، می‌تواند طیف وسیعی از قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی را تحت تأثیر قرار دهد و محدود به یک جنس خاص نباشد.

مقایسه نتایج این روش با آزمون دیسک دیفیوژن نشان داد که برخی اسانس‌ها در محیط کشت فعالیت ضدقارچی قوی‌تری از خود بروز می‌دهند. این تفاوت می‌تواند به ویژگی‌های فیزیوشیمیایی اسانس‌ها از جمله فراریت بالا، توزیع یکنواخت‌تر ترکیبات فعال در محیط آگار، تماس مستقیم‌تر ریشه قارچی با اسانس و افزایش غلظت مؤثر واقعی نسبت داده شود (Balouiri et al., 2016). بر این اساس، روش اختلاط با محیط کشت می‌تواند ارزیابی دقیق‌تری از توان واقعی

الگوی گروه‌بندی آماری نشان داد که در اغلب اسانس‌ها، غلظت‌های مختلف در سه گروه آماری مجزا قرار گرفتند، در حالی که در اسانس زنیان، تمامی غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند که این موضوع بیانگر حساسیت بالاتر قارچ نسبت به تغییرات غلظت این اسانس است. نتایج به‌دست‌آمده با گزارش‌های پیشین در زمینه اثر ضدقارچی اسانس‌های گیاهی بر قارچ‌های وابسته به جنس‌های *Curvularia* و *Bipolaris* هم‌راستا است. در مطالعات مختلف، اسانس آویشن به‌عنوان یکی از مؤثرترین اسانس‌ها در مهار رشد گونه‌هایی از *Curvularia* و *Bipolaris* معرفی شده و این اثر عمدتاً به حضور ترکیبات فنولی فعالی مانند تیمول و کارواکرول نسبت داده شده است (Dubey et al., 2010; Marchese et al., 2016). همچنین گزارش شده است که اسانس علف‌لیمو، قادر به مهار رشد ریشه‌ای گونه‌های وابسته به جنس *Bipolaris* و سایر قارچ‌های لکه‌برگی است (Pawar and Thaker, 2006; Pavela, 2015).

علاوه بر قارچ‌های وابسته به جنس‌های *Curvularia* و *Bipolaris*، اثرات ضدقارچی اسانس‌های گیاهی مشابه بر روی قارچ‌های خاکزاد مهمی نظیر گونه‌های *Fusarium* نیز گزارش شده است. به‌عنوان

مس و رورال تی اس داشتند که به‌طور کامل رشد ریشه‌ای قارچ را مهار کردند. سه قارچکش دیگر در یک گروه آماری و بالاتر از شاهد قرار گرفتند (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میانگین درصد بازداری از رشد پرگنه قارچ *Curvularia tsudae* با استفاده از پنج قارچ‌کش (حروف غیر متشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها در سطح ۵٪ است).

Figure 4- Comparison of the mean percentage inhibition of *Curvularia tsudae* mycelial growth using five fungicides (different letters indicate significant differences among treatments at the 5% level).

بسیار مؤثری مهار کند و حتی در برخی غلظت‌ها به مهار کامل منجر شود (Pawar and Thaker, 2006; Pavela, 2015). همچنین گزارش شده است که اسانس زنیان، تولنایی بالایی در اختلال فرآیند جوانه‌زنی اسپور از طریق برهم‌زدن یکپارچگی غشای سلولی، مهار فعالیت آنزیم‌های کلیدی و جلوگیری از تشکیل لوله تندش دارد (Bakkali et al., 2008; Marchese et al., 2016).

در مقابل، اسانس‌هایی که در این مطالعه اثر مهاری ضعیفی نشان دادند یا تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشتند، احتمالاً فاقد غلبه ترکیبات فنولی یا آلدئیدی فعال بوده یا دارای ترکیباتی با توان نفوذ محدود به دیواره و غشای اسپور هستند. در مطالعات مقایسه‌ای نشان داده شده است که ترکیباتی مانند لیمونن و لینالول در مقایسه با سیترال، تیمول و کارواکرول، اثر ضدقارچی ضعیف‌تری به‌ویژه در مرحله جوانه‌زنی اسپور دارند (Cowan, 1999; Nazzaro et al., 2017). این موضوع می‌تواند توجیه‌کننده کارایی پایین برخی اسانس‌ها در پژوهش حاضر باشد. در مجموع، نتایج این بخش نشان می‌دهد که اگرچه جوانه‌زنی اسپور مرحله‌ای حساس در چرخه زندگی قارچ *C. tsudae* محسوب می‌شود، اما مهار مؤثر آن به ماهیت شیمیایی ترکیبات غلب اسانس وابسته است و تنها اسانس‌هایی با ترکیب مناسب می‌توانند این مرحله را به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر قرار دهند. این یافته‌ها ضرورت انتخاب هدفمند اسانس‌های گیاهی را در راهبردهای مدیریت زیست‌سازگار بیماری‌های قارچی برجسته می‌سازد.

ضدقارچی اسانس‌های گیاهی ارائه دهد و برای بررسی کارایی زیستی این ترکیبات روش مناسب‌تری محسوب شود. براساس نتایج آماری همه قارچکش‌ها در کاهش رشد ریشه‌ای قارچ *C. tsudae* مؤثر بودند. بیشترین تأثیر را دو قارچکش اکسی کلرور

تأثیر اسانس‌ها و قارچ‌کش‌ها بر جوانه‌زنی اسپور قارچ: ارزیابی اثر اسانس‌های گیاهی بر جوانه‌زنی اسپور قارچ *C. tsudae* نشان داد که پاسخ قارچ به تیمارهای مختلف به‌طور معنی‌داری به نوع اسانس وابسته است ($P \leq 0.01$). در غلظت ۲۰۰ ppm، اسانس‌های زنیان و علف‌لیمو با ایجاد ۲۶/۶۷ درصد مهار جوانه‌زنی اسپور بیشترین اثر بازداری را نشان دادند و در بالاترین گروه آماری قرار گرفتند. این یافته بیانگر توان بالای این اسانس‌ها در مهار مرحله آغازین رشد قارچ است؛ مرحله‌ای که نقش تعیین‌کننده‌ای در شروع آلودگی و استقرار پاتوژن دارد. در سطح بعدی، اسانس باریجه با ۱۷/۳۳ درصد بازداری اثر مهاری متوسطی از خود نشان داد، در حالی که اسانس آویشن با ۱۳/۳۳ درصد مهار جوانه‌زنی اسپور در گروه آماری میانی قرار گرفت. همچنین اسانس‌های کاکوتی و رازیانه به‌ترتیب با ۱۰/۶۷ و ۹/۳۳ درصد مهار، کاهش محدود اما قابل اندازه‌گیری در جوانه‌زنی اسپور ایجاد کردند. در مقابل، اسانس‌های گشنیز، اسطوخودوس و رزماری تنها اثر مهاری اندکی نشان دادند و اسانس‌های مورد، نعنای فلفلی و اکالیپتوس اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند که بیانگر کارایی ضعیف آن‌ها در مهار این مرحله از چرخه زندگی قارچ است. برتری مشاهده‌شده برای اسانس‌های زنیان و علف‌لیمو با گزارش‌های پیشین درباره نقش ترکیبات فعال خاص در مهار جوانه‌زنی اسپور هم‌خوانی دارد. مطالعات نشان داده‌اند که اسانس علف‌لیمو و جزء اصلی آن سیترال (citral) قادر است جوانه‌زنی کنیدی/اسپور قارچ‌های وابسته به جنس *Curvularia* و سایر قارچ‌های لکه‌برگی را به‌طور

تیوفانات متیل در مرحله جوانه زنی اسپور، کارایی بالاتری نسبت به مراحل بعدی رشد ریشه های نشان می دهند، زیرا این مرحله فاقد ساختارهای دفاعی کامل بوده و حساسیت بیشتری به ترکیبات شیمیایی دارد (Brent and Hollomon, 2007). با وجود کارایی بالای قارچ کش ها، مقایسه این نتایج با اثر اسانس های گیاهی مؤثر در پژوهش حاضر نشان می دهد که برخی اسانس ها می توانند بدون ایجاد مهار کامل، کاهش معنی داری در جوانه زنی اسپور ایجاد کنند. این موضوع بیانگر پتانسیل اسانس های گیاهی به عنوان گزینه های مکمل یا جایگزین کم خطرتر در چارچوب راهبردهای مدیریت تلفیقی بیماری ها و کاهش وابستگی به قارچ کش های شیمیایی است (جدول ۱).

در کنار اسانس های گیاهی، بررسی اثر قارچ کش های شیمیایی نشان داد که هر پنج قارچ کش مورد آزمون شامل رورال تی اس، مانکوزب، بردو، اکسی کلرور مس و تیوفانات متیل موجب مهار کامل (۱۰۰ درصدی) جوانه زنی اسپور قارچ *C. tsudae* شدند. مهار کامل جوانه زنی در حضور این قارچ کش ها با گزارش های پیشین همخوانی دارد که نشان می دهند ترکیبات تماسی و سیستمیک، به ویژه قارچ کش های مسی و بنزیمیدازولی، از طریق اختلال در فرآیندهای حیاتی مانند تقسیم سلولی، تنفس میتوکندریایی و عملکرد آنزیم های کلیدی، قادر به توقف کامل جوانه زنی اسپور قارچ های بیماری زای گیاهی هستند (Agrios, 2005; FRAC, 2023). همچنین گزارش شده است که قارچ کش هایی مانند مانکوزب و

جدول ۱- مقایسه میانگین تاثیر غلظت 2000 mg. l^{-1} اسانس های گیاهان و قارچ کش های مورد مطالعه در میزان بازدارندگی از جوانه زنی اسپورهای قارچ

Curvularia tsudae

Table 1- Comparison of the mean effect of 2000 mg. l^{-1} concentrations of plant essential oils and the studied fungicides on the inhibition of spore germination of *Curvularia tsudae*

اسانس Essential oil	درصد بازدارندگی در غلظت 2000 mg. l^{-1} Inhibition percentage at 2000 mg. l^{-1}
زنیان	26.67 ^b
باریجه	17.34 ^c
گلپر	5.34 ^{efg}
آویشن	13.34 ^c
علف لیمو	26.67 ^b
مورد	1.34 ^g
نعناع فلفلی	0 ^g
اکالیپتوس	16 ^c
اسطوخودوس	4 ^{fg}
رازیانه	9.34 ^{def}
رزماری	2.67 ^g
کاکوتی	10.67 ^{de}
شاهد	0 ^g
رورال	100 ^a
متیل تیوفانات	100 ^a
مانکوزب	100 ^a
اکسی کلرور	100 ^a
بردو	100 ^a
	100 ^a

اعداد متن، میانگین درصد بازدارندگی سه تکرار هستند. بر اساس روش چند دامنه ای دانکن (Duncan)، میانگین هایی که در یک ستون با حروف یکسان نشان داده شده اند، از نظر آماری تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند.

The numbers represent the mean percentage of inhibition from three replications. According to the Least Significant Difference (LSD) test, means within a column followed by the same letters are not significantly different from each other.

پس از انتقال به محیط PDA فاقد اسانس شدند که بیانگر خاصیت قارچ کشی واقعی این تیمارهاست. همچنین قارچ کش شیمیایی رورال تی اس نیز اثر قارچ کشی کامل علیه *C. tsudae* نشان دادند. در مقابل، اسانس کاکوتی و قارچ کش اکسی کلرور مس پس از انتقال دیسک ها به محیط فاقد ماده مؤثره، مجدداً امکان رشد قارچ را فراهم کردند که این موضوع نشان دهنده خاصیت قارچ ایستایی آنهاست. تفاوت در ماهیت قارچ کشی یا قارچ ایستایی اسانس ها و قارچ کش ها

ارزیابی فعالیت قارچ کشی و قارچ ایستایی اسانس های گیاهی و قارچ کش های شیمیایی بر *Curvularia tsudae*: نتایج آزمون بازکشت کشت از تیمارهایی که در آنها رشد قارچ مشاهده نشد، نشان داد که نوع اثر اسانس ها و قارچ کش ها بر *C. tsudae* متفاوت بوده و می توان آنها را به دو گروه قارچ کش (Fungicidal) و قارچ ایستا (Fungistatic) طبقه بندی کرد (جدول ۲). در این بررسی، اسانس های زنیان، علف لیمو و آویشن موجب عدم رشد مجدد قارچ

شرایط آزمایش، گونه قارچی و غلظت وابسته است (Mazarei & Rafati, 2019). اکسی کلرور مس نیز که به‌طور گسترده در مدیریت بیماری‌های گیاهان زینتی مورد استفاده قرار می‌گیرد، عمدتاً با مهار فعالیت آنزیمی و جلوگیری از رشد قارچ عمل می‌کند و در بسیاری از موارد خاصیت قارچ‌ایستایی دارد (Lamichhane et al., 2018). در این آزمایش، به‌دلیل تغییر رنگ شدید محیط کشت در تیمار مانکوزب و تیوفانات متیل و عدم امکان تشخیص دقیق رشد یا جوانه‌زنی اسپور، ارزیابی ماهیت قارچ‌کشی یا قارچ‌ایستایی این قارچ‌کش‌ها امکان‌پذیر نبود. در مجموع، نتایج این بخش نشان می‌دهد که اسانس‌های گیاهی منتخب، به‌ویژه زنیان، علف لیمو و آویشن، علاوه بر مهار رشد، قادر به ایجاد اثر قارچ‌کشی واقعی علیه *C. tsudae* هستند و می‌توانند به‌عنوان گزینه‌های زیست‌سازگار در مدیریت بیماری‌های قارچی گیاهان زینتی مورد توجه قرار گیرند.

عمدتاً به ترکیبات شیمیایی غالب، غلظت مواد مؤثره و حساسیت جدایه قارچی نسبت داده می‌شود (Reedy et al., 2008; Bakkali et al., 2008).

بررسی‌های شیمیایی پیشین نشان داده‌اند که اسانس‌های زنیان و آویشن، منجر به مرگ سلول قارچی می‌شوند و به همین دلیل اغلب اثر قارچ‌کشی ایجاد می‌کنند (Purkait et al., 2020; Sharifi-Rad et al., 2017). مشاهده اثر قارچ‌کشی این اسانس‌ها بر *C. tsudae* با گزارش‌های پیشین درباره اثر آن‌ها بر قارچ‌های بیماری‌زای دیگر از جنس‌های *Bipolaris*، *Alternaria* و *Fusarium* همخوانی داشت (Kedia et al., 2015; Nazzaro et al., 2017).

در مقابل، اسانس کاکوتی با وجود داشتن ترکیبات فنلی فعال، در این مطالعه تنها خاصیت قارچ‌ایستایی نشان داد. این الگو پیش‌تر نیز در برخی قارچ‌های بیماری‌زا از جنس‌های *Aspergillus* و *Sclerotinia* گزارش شده و بیانگر آن است که اثر این اسانس به

جدول ۲- اثر قارچ‌کشی یا قارچ‌ایستایی اسانس‌ها و قارچ‌کش‌ها در غلظت 2000 mg. l^{-1} روی قارچ عامل بیماری

Table 2- Fungicidal or fungistatic effects of essential oils and fungicides at 2000 mg. l^{-1} concentration on *Curvularia tsudae*

<i>Curvularia tsudae</i>	اسانس Essential oil
FC	زنیان Ajwain
FC	علف لیمو Lemon grass
FC	آویشن Thyme
FS	کاکوتی Ziziphora
-	تیوفانات متیل Thiophanate-methyl
-	مانکوزب Mancozeb
FS	اکسی کلرور مس Copper Oxychloride
FC	رورال تی اس Revral-TS

FS:Fungistat, FC:Fungicide

نشان دادند. همچنین، قارچ‌کش‌های شیمیایی مورد بررسی موجب مهار کامل جوانه‌زنی اسپور شدند که بیانگر کارایی بالای آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی است. به‌طور کلی، یافته‌های این تحقیق حاکی از پتانسیل قابل توجه برخی اسانس‌های گیاهی به‌عنوان گزینه‌هایی زیست‌سازگار و مکمل در مدیریت بیماری‌های قارچی گیاهان زینتی بوده و ضرورت انجام مطالعات تکمیلی به‌منظور ارزیابی کارایی عملی آن‌ها در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای را نشان می‌دهد.

منابع

- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (5th ed.). Academic Press.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* 46(2): 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، یک جدایه قارچی متعلق به جنس *Curvularia* از ریشه‌های سرو لاوسون جداسازی شد و جایگاه گونه‌ای آن با استفاده از ناحیه ITS rDNA مورد تأیید قرار گرفت. نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی نشان داد که اسانس‌های گیاهی از نوع اثر ضدقارچی تفاوت معنی‌داری دارند؛ به‌طوری‌که اسانس‌های زنیان، آویشن و علف لیمو بیشترین میزان مهار رشد رویشی و جلوگیری از جوانه‌زنی اسپور را نشان داده و واجد خاصیت قارچ‌کشی بودند، در حالی که برخی اسانس‌ها مانند کاکوتی عمدتاً اثر قارچ‌ایستایی از خود

Balouri, M., Sadiki, M., and Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6(2): 71–79.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): 564–582.

Davari, M., and Ezazi, R. (2022). Mycelial inhibitory effects of antagonistic fungi, plant essential oils and propolis

against five phytopathogenic *Fusarium* species. *Archives of Microbiology* 204(8): 480.

Hadian, J., Fakhr, T. S., Ghorbanpour, M., Salehi, P., and Haji, E. B. (2006). A phytochemical study of *Cymbopogon parkeri* Stapf essential oil, and its biological activity against some phytopathogenic fungi. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 37: 425–443.

Irkin, R., and Korukluoglu, M. (2007). Control of *Aspergillus niger* with garlic, onion and leek extracts. *African Journal of Biotechnology* 6(4): 384–387.

Khalil, M., Serale, N., Diab, F., Baldini, F., Portincasa, P., Lupidi, G., and Vergani, L. (2022). Beneficial effects of carvacrol on in vitro models of metabolically-associated liver steatosis and endothelial dysfunction: A role for fatty acids in interfering with carvacrol binding to serum albumin. *Current Medicinal Chemistry* 29(30): 5113–5129.

Mazarei, Z., and Rafati, H. (2019). Nanoemulsification of *Satureja khuzestanica* essential oil and pure carvacrol; comparison of physicochemical properties and antimicrobial activity against food pathogens. *LWT* 100: 328–334.

Moslem, M. A., and El-Kholie, E. M. (2009). Effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seeds and leaves extract on some plant pathogenic fungi. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12(14): 1045.

Prakash, B., Kujur, A., Yadav, A., Kumar, A., Singh, P. P., and Dubey, N. K. (2018). Nanoencapsulation: An efficient technology to boost the antimicrobial potential of plant essential oils in food system. *Food Control*, 89, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.018>

Pawar, V. C., and Thaker, V. S. (2006). In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses* 49(4): 316–324. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2006.01241.x>

Purkait, S., Bhattacharya, A., Bag, A., and Chattopadhyay, R. R. (2020). Synergistic antibacterial, antifungal and antioxidant efficacy of cinnamon and clove essential oils in combination. *Archives of Microbiology* 202: 1439–1448.

Ranjbar, H., Farzaneh, H., Hadian, J., Mirjalili, M. H., and Sharifi, R. (2008). Antifungal effects of some plant essential oils on postharvest diseases in strawberry fruit. *Journal of Research and Reconstruction in Agriculture and Horticulture* 81: 54–60. (in Persian with English summary).

Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M. (2020). Biological activities of essential oils: From plant chemoeology to traditional healing systems. *Molecules*, 25(21), 4877. <https://doi.org/10.3390/molecules25214877>

Tatsadjieu, N. L., Dongmo, P. J., Ngassoum, M. B., Etoa, F. X., and Mbofung, C. M. F. (2009). Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries. *Food Control* 20: 161–166.

Zhao, P., Cao, L., Wang, C., Zheng, L., Li, Y., Cao, C., and Huang, Q. (2022). Metabolic pathways reveal the effect of fungicide-loaded metal-organic frameworks on the growth of wheat seedlings. *Chemosphere* 307: 135702.

Bajpai, V. K., Sharma, A., and Baek, K. H. (2020). Antifungal efficacy of plant essential oils and their constituents against phytopathogenic fungi. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127, 1–15.

Bebber, D. P., and Gurr, S. J. (2015). Crop-destroying fungal and oomycete pathogens challenge food security. *Fungal Genetics and Biology*, 74, 62–64.

Burgess, T. I., Scott, J. K., McDougall, K. L., Stukely, M. J., Crane, C., Dunstan, W. A., and Hardy, G. E. S. J. (2017). Current and projected global distribution of *Phytophthora cinnamomi*, one of the world's worst plant pathogens. *Global Change Biology*, 23(4), 1661–1674..

Hongsanan, S., Hyde, K. D., Phookamsak, R., Wanasinghe, D. N., McKenzie, E. H. C., Sarma, V. V., and Xie, N. (2020). Refined families of Dothideomycetes: Orders and families incertae sets in Dothideomycetidae. *Mycosphere: Journal of Fungal Biology*, 11. Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2015). Essential oils and their antimicrobial mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1–24.

Kumar, P., Dubey, R. C., and Maheshwari, D. K. (2020). Induced systemic resistance mediated by natural compounds. *Plant Growth Regulation*, 90, 1–15.

Lucas, J. A., Hawkins, N. J., and Fraaije, B. A. (2015). The evolution of fungicide resistance. *Advances in Applied Microbiology*, 90, 29–92.

Velásquez, A. C., Castroverde, C. D. M., and He, S. Y. (2018). Plant–pathogen interactions under climate change. *Current Biology*, 28, R619–R634.

Manamgoda, D. S., Rossman, A. Y., Castlebury, L. A., Chukeatirote, E., & Hyde, K. D. (2015). A taxonomic and phylogenetic re-appraisal of the genus *Curvularia* (Pleosporaceae): human and plant pathogens. *Phytotaxa*, 212(3), 175–198. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.212.3.1>

Tan, Y. P., Crous, P. W., and Shivas, R. G. (2018). Cryptic species of *Curvularia* in the culture collection of the Queensland Plant Pathology Herbarium. *Mycoskeys*, 35, 1–25. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.35.25665>

Marin-Felix, Y., Hernández-Restrepo, M., and Crous, P. W. (2020). Multi-locus phylogeny of the genus *Curvularia* and description of ten new species. *Mycological Progress*, 19, 559–588. <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01576-6>

Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., and Nabavi, S. M. (2016). Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food chemistry*, 210, 402–414.

Pavela, R. (2015). Essential oils for the development of eco-friendly pest management strategies: A review. *Industrial Crops and Products*, 76, 174–187.

Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., and Daglia, M. (2017). Biological activities of essential oils: From plant chemoeology to traditional healing systems. *Molecules*, 22(1), 70.

Dubey, N. K., Shukla, R., Kumar, A., Singh, P., and Prakash, B. (2010). Prospects of botanical pesticides in sustainable agriculture. *Current Science*, 98(4), 479–480.

Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., and De Feo, V. (2017). Effect of essential oils on pathogenic microorganisms. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86.

Kedia, A., Prakash, B., Mishra, P. K., Singh, P., & Dubey, N. K. (2015). Antifungal and antiaflatoxinigenic properties of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil. *Food Control*, 55, 59–65.

Lamichhane, J. R., Osdaghi, E., Behlau, F., Köhl, J., Jones, J. B., and Aubertot, J. N. (2018). Thirteen decades of

antimicrobial copper compounds applied in agriculture. A review. *Agronomy for sustainable development*, 38(3), 28.

Reedy, J. L., Filler, S. G., and Heitman, J. (2008). Elucidating the antifungal mechanism of action. *Trends in Microbiology*, 16, 276–283.

ISSN: 3041-9638

<https://jrpsm.asnrkh.ac.ir/>

Open Access

Research Article

Studying the effect of using silicon nanoparticles on some morphophysiological and biochemical characteristics of dill under the climatic conditions of Isfahan-Iran

M. Raei¹, H. A. Asadi-Gharneh¹  and M. Abrahimi²

¹Department of Horticulture, Institute of Agriculture, Water, Food and Nutraceuticals, Isf.C., Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

²Forests and Rangelands Research Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Sari, Iran.

Received: 16 May 2026

Accepted: 01 Sep 2026

Published: 01 Sep 2026

Corresponding Author:

Hossein Ali Asadi-Gharneh

Email:

asadigharneh@iau.ac.ir

Keywords:

Anthocyanin, Dill populations, Reducing sugars, Foliar spraying, Nanosilicon dioxide

Citation:

Raei, M., Asadi-Gharneh, H. A., Abrahimi, M (2026). Studying the effect of using silicon nanoparticles on some morphophysiological and biochemical characteristics of dill under the climatic conditions of Isfahan-Iran. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 4(2), 23-39.

Doi:10.22034/jrpsm.2026.581899.1114

Extended Abstract

Background and objectives: Investigating the effects of the application of nanoparticles, including silicon, on plants has attracted the attention of many researchers today. A review of the available sources shows that most of the research has been on the effects of nanoparticles on agricultural plants, and medicinal plants, despite their high importance, have received less attention. Therefore, the lack of available information regarding the effect of silicon nanoparticles on medicinal plants, especially dill, and also due to the influence of environmental and genetic factors on the growth of medicinal plants and the importance of identifying the indigenous populations of the region and studying their phytochemical compounds with the aim of selecting the best ones, extracting essential oils and improving the breed, makes the necessity of implementing this experiment more obvious than ever. Therefore, this experiment was carried out with the aim of investigating the effect of silicon nanoparticles on some morphophysiological and biochemical characteristics of dill in the climatic conditions of Isfahan-Iran.

Materials and Methods: This experiment was conducted to investigate the effect of silicon nanoparticles on some morphophysiological and biochemical characteristics of dill (*Anethum graveolens* L.) in the climatic conditions of Isfahan, Iran, as a factorial in a randomized complete block design with three replications. In this experiment, the effect of silicon nanoparticles (nanosilicon dioxide, SiO₂) at four levels including 0, 25, 50 and 100 mg.L⁻¹ was investigated on 10 dill populations including Harand, Dezfoul, Gorgan, Hamedan, Tehran, Ghaenat, Behbahan, Kashan, Ardestan and Shiraz. Seeds of different dill populations were collected from different regions of the country and identified by the Agricultural Research Center and Natural Resources of Isfahan Province. Seeds were sown in rows in 1.5 m² plots with a row spacing of 1 m and a plant spacing of 50 cm. Silicon nanoparticles were used as a foliar spray in the first two stages of plant growth and 10 days after that. Drip irrigation and all maintenance were performed during the growth and development period. In this experiment, plant fresh and dry weight, stem and root length, total chlorophyll content, chlorophyll a/b ratio, anthocyanin content, reducing sugar content, proline content, ascorbate peroxidase enzyme activity and essential oil content were investigated. Statistical analyses were performed as factorial in a randomized complete block design using SAS9.4 software. Comparison of mean traits was performed using two-way analysis of variance and Duncan's test.

Results: The results of the analysis of variance of traits showed that the effect of silicon nanoparticles and population and their interaction on the traits of plant fresh and dry weight, stem and root length, total chlorophyll content and chlorophyll b/a ratio, anthocyanin, reducing sugars, proline and ascorbate peroxidase enzyme activity had statistically significant differences. The highest plant fresh and dry weight and essential oil content were observed in the foliar spray treatment of 50 mg.L⁻¹ nanosilicon concentration × Hamedan population. The highest stem and root length, total chlorophyll content, reducing sugars content and ascorbate peroxidase enzyme activity were obtained in the foliar spray treatment of 50 mg.L⁻¹ nanosilicon concentration × Dezfoul population. Based on the results of comparing the mean traits, the highest chlorophyll a/b ratio belonged to the foliar spray treatment of 50 mg.L⁻¹ nanosilicon × Ghaenat population. The results of comparing the mean traits showed that the highest anthocyanin and proline content was observed in the foliar spray treatment of 100 mg.L⁻¹ nanosilicon × Dezfoul population. The compounds observed in dill essential oil were α-Thujene, α-Pinene, Myrcene, Carvone, α-phellandrene and Limonene. The highest and lowest compounds in the essential oil were Carvone and α-Thujene, respectively. The highest amounts of α-Thujene, Myrcene and Limonene were observed in the foliar spray treatment of 50 mg.L⁻¹ nanosilicon × Hamedan population.

Conclusion: It seems that the cultivation of Hamedan population and foliar spraying of 50 mg.L⁻¹ of silicon nanoparticles in the climatic conditions of Isfahan-Iran will be a suitable option for cultivation in similar environmental conditions due to the achievement of greater plant weight and essential oil production (and the highest amount of α-Thujene, Myrcene and Limonene).





تأثیر نانوذرات سیلیکون بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شوید در شرایط آب‌وهوایی اصفهان

مجتبی راعی^۱، حسینعلی اسدی قارنه^۱  و مرتضی ابراهیمی^۲

^۱گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمندها، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.
^۲مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران.

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۲۶

چکیده

سابقه و هدف: بررسی اثرات کاربرد نانوذرات از جمله سیلیکون بر گیاهان، امروزه مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است. بررسی منابع موجود نشان می‌دهد که اغلب پژوهش‌ها در رابطه با اثر نانوذرات بر گیاهان زراعی بوده است و گیاهان دارویی علیرغم اهمیت بالای آن‌ها توجه کم‌تری را به خود معطوف داشته‌اند. بنابراین کمبود اطلاعات موجود در رابطه با اثر نانوذرات سیلیکون بر گیاهان دارویی به ویژه گیاه شوید و اثر عوامل محیطی و ژنتیکی بر رشد این گیاهان، ضرورت اجرای این آزمایش را بیش از پیش آشکار می‌سازد. علاوه بر این، اهمیت شناسایی جمعیت‌های بومی منطقه و مطالعه ترکیبات فیتوشیمیایی آن‌ها باهدف انتخاب برترین‌ها و اصلاح نژاد این مساله را بیش از پیش حایز اهمیت می‌سازد. لذا این آزمایش با هدف بررسی تأثیر کاربرد نانوذرات سیلیکون بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شوید در شرایط آب‌وهوایی اصفهان به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش اثر نانوذرات سیلیکون (نانوسیلیکون دی‌اکساید، SiO_2) در چهار سطح شامل ۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بر ۱۰ جمعیت شوید شامل هرنه، دزفول، گرگان، همدان، تهران، قائنات، بهبهان، کاشان، اردستان و شیراز بررسی شد. بذور جمعیت‌های مختلف گیاه شوید از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری و توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان شناسایی شدند. بذور به صورت ردیفی در کرت‌های ۱/۵ مترمربعی با فاصله ردیف یک متر و فاصله بین بوته ۵۰ سانتی‌متر کشت شدند. نانوذرات سیلیکون به‌صورت محلول‌پاشی در دو مرحله ۲۰ و ۳۰ روز پس از کاشت (۴ و ۱۰ برگی بوته) مورد استفاده قرار گرفت. آبیاری به صورت قطره‌ای و کلیه مراقبت‌های داشت طی دوره رشد و نمو انجام گرفت. در این آزمایش وزن تر و خشک بوته، طول ساقه و ریشه، محتوای کلروفیل کل، نسبت کلروفیل a/b، محتوای آنتوسیانین، محتوای قندهای احیا، محتوای پرولین، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و محتوای اسانس مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل‌های آماری به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و با استفاده از نرم افزار SAS9.4 انجام شد. مقایسه میانگین صفات با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون دانکن صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که اثر نانوذرات سیلیکون و جمعیت و نیز اثر متقابل آن‌ها بر صفات وزن تر و خشک بوته، طول ساقه و ریشه، محتوای کلروفیل کل و نسبت کلروفیل a/b، آنتوسیانین، قندهای احیا، پرولین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بودند. بیش‌ترین وزن تر و خشک بوته و محتوای اسانس در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت همدان مشاهده شد. بیش‌ترین طول ساقه و ریشه، میزان کلروفیل کل، محتوای قندهای احیا و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول به دست آمد. براساس نتایج مقایسه میانگین صفات، بیش‌ترین نسبت کلروفیل a/b به تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت قائنات تعلق داشت. نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیش‌ترین محتوای آنتوسیانین و پرولین در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول مشاهده شد. بیش‌ترین میزان آلفا-توجن (α -Thujene)، میرسن (Myrcene) و لیمونن (Limonene) در تیمار محلول‌پاشی ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت همدان مشاهده شدند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد کشت جمعیت همدان و محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات سیلیکون در شرایط آب و هوایی اصفهان- ایران به دلیل دستیابی به وزن بوته و تولید اسانس بیشتر (و بیش‌ترین میزان آلفا-توجن، میرسن و لیمونن) گزینه مناسبی جهت کشت در شرایط محیطی مشابه خواهد بود.

نویسنده مسئول:

حسینعلی اسدی قارنه

ایمیل:

asadigharneh@iau.ac.ir

واژه‌های کلیدی:

آنتوسیانین، جمعیت‌های شوید، قندهای احیا، محلول‌پاشی، نانوسیلیکون دی‌اکساید

نحوه استناد:

راعی، م.، اسدی قارنه، ح.ع.، ابراهیمی. (۱۴۰۵). تأثیر نانوذرات سیلیکون بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شوید در شرایط آب و هوایی اصفهان. مجله پژوهش در متابولیت‌های گیاهی، دوره ۴، شماره ۲، صفحات: ۲۳-۳۹.

Doi:10.22034/jrpsm.2026.581899.1114

مقدمه

استفاده روزافزون از گیاهان دارویی و فرآورده‌های دارویی حاصل از آن‌ها نقش این گیاهان را در چرخه اقتصادی جهانی بسیار پررنگ کرده است، به‌طوری‌که مصرف رو به افزایش آن‌ها به کشورهای در حال توسعه محدود نبوده و در کشورهای پیشرفته نیز توسعه فراوانی یافته است. صرف‌نظر از ارزش اقتصادی گیاهان دارویی، این گیاهان قابل تطبیق با روش‌های کشت ارگانیک هستند که تمایل تولیدکننده‌ها و مصرف‌کننده‌ها را به همراه دارد (Ahmadi and Omid, 2018). گیاه شوید (*Anethum graveolens*) یکی از گیاهان دارویی است که دارای خواص زیادی در طب مدرن و سنتی می‌باشد. این گیاه متعلق به خانواده چتریان، یکساله، علفی و معطر بوده که منشأ آن نواحی شرقی مدیترانه است (Zahedi and Asadi, 2024). تمام پیکر گیاه شوید حاوی اسانس است. مقدار اسانس شوید در اندام‌های مختلف و شرایط اقلیمی متفاوت بسیار متغیر است. تحقیقات نشان می‌دهد که اسانس آن از شروع ساقه‌دهی به‌تدریج افزایش می‌یابد و تا مرحله گلدهی به حداکثر رسیده و از این مرحله به بعد به‌تدریج از میزان آن کاسته می‌شود (Chahal et al., 2017).

تنش‌های محیطی مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را مختل می‌کنند (Coskun et al., 2016; Luyckx et al., 2017; Yousefi et al., 2025). در حال حاضر یک راه مطلوب به منظور مقابله با تنش‌های محیطی، استفاده از گیاهان متحمل به شرایط تنش‌زا می‌باشد. افزایش تحمل گیاهان از راه‌های مختلف شامل شناسایی جمعیت‌ها، ژنوتیپ‌ها و ارقام متحمل، روش‌های به‌نژادی و استفاده از برخی تنظیم‌کننده‌های رشد است (Yousefi et al., 2025 a,b). استفاده از سیلیکون باعث فعالیت بیشتر مکانیسم‌های دفاعی گیاه و مقابله با تنش می‌شود و می‌تواند در بهبود خسارت‌های وارد شده به گیاه نقش مؤثری داشته باشد.

سیلیکون به عنوان یک تنظیم‌کننده آنزیمی مهم و یک عنصر مفید زیست‌فعال برای رشد گیاه در طول تنش در نظر گرفته می‌شود (Wang et al., 2019; Verma et al., 2021). اشکال مختلف سیلیکون می‌توانند به عنوان کاهش‌دهنده‌های تنش زیستی و غیرزیستی همراه با اثرات مفید آن بر رشد و بهره‌وری گیاه در طول تنش استفاده شوند (Verma et al., 2020). همچنین اشاره شده است که سیلیکون ممکن است در دیواره‌های بافت‌های اپیدرمی و عروقی تک‌لپه‌ای‌ها تجمع یابد تا انتقال جذب آب را همراه با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت فتوسنتزی افزایش دهد (Wang et al., 2019; Younis et al., 2020). نتایج به دست آمده از تحقیقات گذشته نشان داده است که سیلیکون به دلیل حفظ فعالیت

فتوسنتزی بالا و استفاده کارآمد از نور و انتقال محصولات جذب شده به مخزن سبب افزایش عملکرد گیاه می‌شود (Yang et al., 2025). کاربرد سیلیکون فاکتورهای رشد درونی را افزایش می‌دهد و منجر به توسعه ریشه‌های متراکم‌تر (قطر، مساحت، حجم و طول ریشه) و زیست‌توده شاخساره گیاهان تحت تنش می‌شود. سیلیکون همچنین افزایش انعطاف‌پذیری دیواره سلولی در ناحیه رشد و افزایش نسبت ریشه به شاخه و افزایش توانایی جذب آب را تحریک می‌کند (Verma et al., 2021). سیلیکون نقش مهمی در متعادل کردن جذب، انتقال و توزیع مواد معدنی به بخش‌های هوایی گیاهان در طول تنش ایفا می‌کند (Verma et al., 2020). زیرا تجمع مواد مغذی، یعنی منیزیم، نیتروژن، پتاسیم، فسفر، کلسیم، آهن، روی، منگنز و مس، را در گیاهان در شرایط تنش افزایش می‌دهد (Iqbal et al., 2023). غلظت بالای سیلیکون در برگ‌های گیاه، بیوسنتز رنگدانه‌های کلروفیل را افزایش داده و تجزیه آن به دلیل تنش را کاهش می‌دهد. افزایش سطح رنگدانه‌ها به خودی خود باعث بهبود پاسخ‌های فتوسنتزی می‌شود (Verma et al., 2020). کاربرد سیلیکون در گیاهان تحت تنش ممکن است فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز را افزایش دهد (Verma et al., 2020). از این رو، سیلیکون به طور مثبت سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی در گیاهان را تنظیم می‌کند و توسط سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی برای کاهش آسیب اکسیداتیو در گیاهان تحت تنش، سم‌زدایی گونه‌های اکسیژن فعال را انجام می‌دهد (Kim et al., 2017). محققان بیان کردند که افزایش ارتفاع گیاه در شرایط کاربرد سیلیکون می‌تواند به دلیل رسوب سیلیکون در بافت‌های گیاه باشد که باعث ایستادگی برگ‌ها و ساقه می‌شود (Jain et al., 2017). بررسی اثرات کاربرد نانوذرات از جمله سیلیکون بر گیاه، امروزه مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است. بررسی منابع موجود نشان می‌دهد که اغلب پژوهش‌ها در رابطه با اثر نانوذرات بر گیاهان زراعی بوده است و گیاهان دارویی علیرغم اهمیت بالای آن‌ها توجه کمتری را به خود معطوف داشته‌اند. بنابراین کمبود اطلاعات موجود در رابطه با اثر کاربرد نانوذرات سیلیکون بر گیاهان دارویی به ویژه گیاه شوید و همچنین به دلیل تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی بر رشد گیاهان دارویی و اهمیت شناسایی جمعیت‌های بومی منطقه و مطالعه ترکیبات فیتوشیمیایی آن‌ها باهدف انتخاب برترین‌ها، استخراج اسانس و اصلاح نژاد، ضرورت اجرای این آزمایش را بیش از پیش آشکار می‌سازد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت مزرعه‌ای در شهرستان نجف آباد، استان اصفهان، ایران با موقعیت جغرافیایی طول $5^{\circ}38'32''$ شمالی و عرض

کلروفیل کل و نسبت کلروفیل a/b: به منظور اندازه‌گیری میزان کلروفیل کل و نسبت کلروفیل a/b، از روش Lichtenthaler and Buschmann, (2001) استفاده شد.

محتوای آنتوسیانین: به منظور بررسی تیمارهای آزمایش بر محتوای آنتوسیانین از روش Wagner (1979) استفاده شد. بدین منظور ۰/۲۵ گرم برگ گیاه با یک میلی‌لیتر متانول یک درصد اسیدی (۹۹ به ۱ به ترتیب متانول و اسید کلرید ریک) کاملاً ساییده شد. عصاره درون فالتون ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه جذب آن به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت و توسط فرمول زیر رنگیزه آنتوسیانین محاسبه شد.

رابطه ۱: $\text{عرض کووت} \times \text{ضریب خاموشی} / \text{حجم}$

نهایی محلول $\times$ ضریب رقت $\times A550 = \text{غلظت آنتوسیانین}$

ضریب خاموشی $= 33000 \text{ cm}^{-2} \text{ mol}^{-1}$

محتوای قندهای احیا: محتوای قندهای احیا با استفاده از روش رنگ‌سنجی (Somogyi (1952) اندازه‌گیری شد. ۵۰ میلی‌گرم از نمونه خشک و آسیاب‌شده در ۱ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد داغ در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار سانتریفیوژ شد. سپس، سوپرناتانت جمع‌آوری شده و مرحله بالا تا ۳ بار بر روی رسوبات باقی‌مانده تکرار شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از عصاره با ۱ میلی‌لیتر معرف مسی Somogyi (حاوی سولفات مس، سدیم کربنات، سدیم بی‌کربنات، پتاسیم سدیم تارتارات و سدیم سولفات) مخلوط و در حمام آب جوشان به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه حرارت داده و رنگ قرمز آجری مشاهده شد. پس از سرد شدن، ۱ میلی‌لیتر معرف آرسنومولیدات و ۳ میلی‌لیتر آب مقطر به مخلوط افزوده شد و جذب محلول در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. مقدار قند نمونه‌ها بر اساس منحنی استاندارد گلوکز محاسبه و با استفاده از رابطه زیر به صورت میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش گردید و در نهایت به صورت درصد به دست آمد.

رابطه ۲: $\text{Sugar (mg/g DW)} = C \times V \times DF / W$

که در آن: C: غلظت به دست‌آمده از منحنی استاندارد (mL/mg)، V: حجم نهایی عصاره (mL)، DF: ضریب رقت و W: وزن نمونه خشک (g) می‌باشند.

محتوای پرولین: برای اندازه‌گیری محتوای پرولین به روش Bates et al., (1973) عمل شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: ابتدا برای تهیه عصاره آنزیمی، بافت تازه گیاهی در هاون سرد و در حضور بافر استخراج حاوی ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیم با pH 7.0، ۰/۱ میلی‌مولار

"۵۵'۲۱'۵۱ شرقی و ارتفاع از سطح دریا ۱۶۰۰ متر به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به انجام شد. در این پژوهش اثر کاربرد سطوح مختلف نانوذرات سیلیکون بر ۱۰ جمعیت مختلف شوید (*Anethum graveolens*) شامل هرنه، دزفول، گرگان، همدان، تهران، قائنات، بهبهان، کاشان، اردستان و شیراز مورد مطالعه قرار گرفت. تیمار نانوذرات سیلیکون نیز در چهار سطح شامل ۱- شاهد (آب مقطر)، ۲- غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر، ۳- غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و ۴- غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود.

بذور جمعیت‌های مختلف گیاه شوید از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری و توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان شناسایی شدند. کاربرد نانوذرات سیلیکون به صورت محلول‌پاشی بر روی برگ در دو مرحله ابتدای رشد گیاه و ۱۰ روز پس از آن انجام گرفت.

تهیه محلول نانوذرات سیلیکون: به منظور تهیه تیمارهای نانوذرات سیلیکون مورد نظر از نانو سیلیکون دی‌اکساید (SiO_2) شرکت فاین نانو تهران با اندازه ذرات ۲۰-۳۰ نانومتر استفاده و غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آن تهیه شد. کاربرد نانوذرات سیلیکون به صورت محلول‌پاشی بر روی برگ گیاه در دو مرحله ۲۰ و ۳۰ روز پس از کاشت (۴ و ۱۰ برگی بوته) انجام گرفت. پس از آماده‌سازی زمین جهت کشت، ۴۵ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنی و ۴۰ کیلوگرم در هکتار کود فسفوری مورد استفاده قرار گرفت. بذور به صورت ردیفی در کرت‌های ۱/۵ مترمربعی (طول ۱/۵ متر در عرض یک متر) با فاصله ردیف یک متر و فاصله بین بوته ۵۰ سانتی‌متر کشت شدند. بین جمعیت‌های مختلف فاصله ۰/۵ متری در نظر گرفته شد. آبیاری به صورت قطره‌ای و کلیه مراقبت‌های داشت طی دوره رشد و نمو انجام گرفت. کشت در ۲۰ فروردین‌ماه و برداشت در ۳۰ اردیبهشت‌ماه (۴۰ روز پس از کاشت، به منظور ممانعت از ورود گیاه به مرحله زایشی) صورت گرفت.

وزن تر و خشک بوته و طول ساقه و ریشه: به منظور بررسی اثر تیمارهای آزمایش بر وزن تر و خشک بوته و طول ساقه و ریشه، پنج بوته از هر تیمار برداشت شده و پس از اندازه‌گیری طول ساقه و ریشه و جدا نمودن اجزای بوته، وزن تر و خشک بوته (پس از قرارگیری به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) محاسبه گردید. به منظور بررسی طول ریشه، خاک اطراف ریشه (پس از آبیاری و رسیدن رسوب خاک به حد مطلوب) به طور کامل توسط بیل خارج و به آرامی ریشه از خاک جداسازی و شسته شد. سپس طول بلندترین ریشه از ابتدا تا انتهای ریشه توسط خطکش اندازه‌گیری شد.

SAS9.4 انجام شد. مقایسه میانگین صفات با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون دانکن در سطح ۱ و ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که اثر نانوذرات سیلیکون و جمعیت و نیز اثر متقابل آن‌ها بر صفات وزن تر و خشک بوته، طول ساقه و ریشه، محتوای کلروفیل کل و نسبت کلروفیل a/b، آنتوسیانین، قندهای احیا، پرولین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز دارای اختلاف آماری معنی‌دار بودند (جدول ۱).

وزن و طول بوته: نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیش‌ترین وزن تر و خشک بوته (۳۷/۳ و ۲/۱۹ میلی گرم در بوته) در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت همدان (فاقد اختلاف آماری معنی‌دار با تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول) مشاهده شد. کاربرد نانوذرات سیلیکون باعث افزایش وزن تر و خشک گیاه در اغلب جمعیت‌های شوید در مقایسه با شاهد شد. کم‌ترین وزن تر و خشک بوته نیز به ترتیب در تیمارهای محلول‌پاشی غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت قائنات با میزان ۱۱/۶۴ گرم بر بوته و شاهد × جمعیت قائنات با میزان ۰/۸۷ گرم بر بوته به دست آمد (جدول ۲).

باتوجه به نتایج مقایسه میانگین، بیش‌ترین طول ساقه و ریشه در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول به ترتیب با میزان ۴۸/۲۷ و ۳۰/۴۰ سانتی‌متر به دست آمد. کم‌ترین میزان این صفات نیز به تیمار محلول‌پاشی غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت قائنات با میزان ۱۳/۱۱ و ۸/۳۰ سانتی‌متر اختصاص داشت (جدول ۲).

محتوای کلروفیل کل و نسبت کلروفیل a/b: میزان کلروفیل کل تحت تاثیر محلول‌پاشی نانوذرات سیلیکون افزایش یافت. نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیش‌ترین محتوای کلروفیل کل (۱۵/۰۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) به تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول تعلق داشت. کم‌ترین میزان این صفت نیز در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت قائنات (۵/۳۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) به دست آمد (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین صفات، بیش‌ترین نسبت کلروفیل a/b (۲/۰۱) در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت قائنات مشاهده شد. کم‌ترین میزان این صفت نیز در تیمار شاهد × جمعیت هرنند (۱/۲۷) به دست آمد (جدول ۳).

EDTA (اتیلن‌دی‌آمین تترااستیک اسید)، ۲٪ PVPP (پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون) و ۲ میلی مولار آسکوربات همگن شد. سپس نمونه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و سوپرناتانت به‌عنوان عصاره آنزیمی استفاده شد. برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، مخلوط واکنش نهایی شامل ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم با pH 7.0، ۰/۵ میلی مولار آسکوربات، ۰/۱ میلی مولار EDTA و ۰/۱ میلی مولار H₂O₂ در حجم نهایی ۱ میلی لیتر تهیه شد. واکنش با افزودن عصاره آنزیمی آغاز شد و کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۱۰ تا ۳۰ ثانیه ثبت گردید. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی ۲.۸ میلی مولار معکوس بر سانتی‌متر محاسبه و به‌صورت فعالیت ویژه بر واحد پروتئین گزارش شد.

رابطه ۳:

$$\text{APX activity (Umg}^{-1}\text{protein)} = (\Delta A_{29} / \text{min} \times V_t) / (2.80 \times V_s \times C_p)$$

Cp = غلظت پروتئین عصاره (mg mL⁻¹)

محتوای اسانس: در ادامه آزمایش با هدف بررسی محتوای اسانس، براساس نتایج به دست آمده از صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی یک جمعیت برتر (همدان)، متوسط (شیراز) و ضعیف (گرگان) انتخاب شد.

به منظور جداسازی اسانس گیاه شوید، پس از اعمال تیمار، نمونه‌های گیاهی از هر تیمار برداشت و در شرایط سایه خشک و سپس خرد گردید. برای اسانس‌گیری از دستگاه کلونجر استفاده شد (Rustaiyan *et al.* 2006). بدین منظور ۸۰ گرم از بافت گیاهی خشک درون دستگاه کلونجر در محیط آبی (تا جایی که سطح گیاه را کامل آب بپوشاند) به مدت دو ساعت عصاره‌گیری شد. اسانس به‌وسیله ۱۰ میلی لیتر n-هگزان بدون آب جمع‌آوری شد و مخلوط به دست آمده به دستگاه کروماتوگرافی گازی منتقل شد (Kazemi, 2002). درنهایت برای شناسایی اسانس از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل Hewlett-Packard با ستون موئینه به طول ۵۰ متر و دتکتور از نوع انتخابگر جرمی Hp-5970 استفاده شد. انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترونولت و درجه حرارت ۲۵۰ درجه سانتیگراد برای تولید منبع یون، رقیق کردن نمونه‌ها به روش شکافت با نسبت ۱:۱۰۰، ستون موئینه به طول ۵۰ متر و قطر داخلی ۰/۲ میلی لیتر، ضخامت فیلم ۲۵ میکرومتر و ذرات از جنس متیل سیلیکون کراس لینک شده، فاز متحرک گاز هلیوم با سرعت یک میلی لیتر در دقیقه و برنامه دمایی از ۶۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با تغییرات چهار درجه و دمای قسمت تزریق ۲۰۰ درجه سانتیگراد (Lord and Pawliszyn, 2000).

تجزیه و تحلیل‌های آماری: تجزیه و تحلیل‌های آماری به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و با استفاده از نرم افزار

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس میانگین مربعات وزن تر و خشک بوته، طول ساقه و ریشه، محتوای کلروفیل کل و نسبت کلروفیل a/b، محتوای آنتوسیانین، محتوای قندهای احیا، محتوای پرولین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط کاربرد نانوذرات سیلیکون بر جمعیت‌های مختلف شوید

Table 1- Results of the analysis of variance of the mean square of fresh and dry plant weight, stem and root length, total chlorophyll content and chlorophyll a/b ratio, anthocyanin content, reducing sugar content, proline content and ascorbate peroxidase enzyme activity under the conditions of application of silicon nanoparticles on different dill populations.

محتوای کلروفیل کل Total chlorophyll content	طول ریشه Root length	طول ساقه Stem length	وزن خشک بوته Dry plant weight	وزن تر بوته Fresh plant weight	درجه آزادی df	منابع تغییرات SOV
0.048 ns	1.209 ns	4.052 ns	0.0001 ns	1.366 ns	2	تکرار Replication
45.571 **	454.986 **	748.478 **	1.356 **	379.766 **	3	نانوذرات سیلیکون Silicon nanoparticles
54.907 **	249.909 **	637.895 **	1.002 **	317.903 **	9	جمعیت شوید Dill populations
0.438 **	4.757 **	12.962 **	0.018 **	8.281 **	27	نانوذرات سیلیکون × جمعیت شوید Silicon nanoparticles × Dill populations
0.210	1.127	3.181	0.000	2.248	78	خطا Error
4.74	5.92	6.55	0.77	6.38	-	ضریب تغییرات CV
فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ascorbate peroxidase enzyme activity	محتوای پرولین proline content	محتوای قند احیا reducing sugar content	محتوای آنتوسیانین anthocyanin content	نسبت کلروفیل a/b chlorophyll a/b ratio	درجه آزادی df	منابع تغییرات SOV
0.0001 ns	0.008 ns	0.001 ns	0.001 ns	0.003 ns	2	تکرار Replication
0.009 **	0.054 **	1.478 **	15.950 **	0.067 **	3	نانوذرات سیلیکون Silicon nanoparticles
0.233 **	0.073 **	1.078 **	19.008 **	0.288 **	9	جمعیت شوید Dill populations
0.0001 **	0.008 **	0.013 **	0.707 **	0.015 **	27	نانوذرات سیلیکون × جمعیت شوید Dill × Silicon nanoparticles populations
0.000001	0.008	0.001	0.001	0.003	78	خطا Error
1.13	26.75	2.34	0.65	3.37	-	ضریب تغییرات CV

* و ** به ترتیب دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد و ns فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

* and **: respectively significant at the level of 5% and 1% and ns: no significant difference

افزایش محتوای آنتوسیانین در اغلب جمعیت‌های شوید در مقایسه با شاهد شد. کم‌ترین محتوای آنتوسیانین نیز در تیمار شاهد × جمعیت قائنات با میزان ۱/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به دست آمد (جدول ۳).

محتوای آنتوسیانین: نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیش‌ترین محتوای آنتوسیانین (۷/۱۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به تیمار محلول‌پاشی غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول تعلق داشت. کاربرد نانوذرات سیلیکون باعث

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف نانوذرات سیلیکون × جمعیت‌های مختلف شوید بر صفات وزن تر و خشک بوته، طول ساقه و

ریشه و محتوای کلروفیل کل

Table 2- Results of the comparison of the average interaction effect of different levels of silicon nanoparticles × different dill populations on the traits of fresh and dry plant weight, stem and root length and total chlorophyll content.

محتوای کلروفیل کل Total chlorophyll content (mg.g ⁻¹)		طول ریشه Root length (cm)		طول ساقه Stem length (cm)		وزن خشک بوته Dry plant weight (g. plant ⁻¹)		وزن تر بوته Fresh plant weight (g. plant ⁻¹)		جمعیت شوید Dill populations	ذرات نانو سیلیکون Silicon nanoparticles
10.45	g-j	18.00	l-o	30.00	hi	1.37	g-j	23.30	g-j	Hamedan همدان	شاهد Control
7.78	pq	12.77	v	18.30	q-t	0.98	q-s	16.73	q-s	Harand هرنند	
7.77	pq	13.50	t-v	20.47	o-r	1.06	n-q	18.10	n-q	Behbahan بهبهان	
8.40	m-p	15.00	q-t	24.23	l-n	1.20	k-n	20.47	k-n	Kashan کاشان	
8.05	n-p	14.03	r-v	22.07	n-p	1.14	m-p	19.37	m-p	Shiraz شیراز	
12.20	de	19.00	j-m	33.37	e-g	1.42	g-i	24.13	g-i	Dezfoul دزفول	
6.07	t-v	10.00	w	17.80	r-t	0.90	rs	15.30	rs	Gorgan گرگان	
10.30	h-j	17.53	m-o	28.37	i-k	1.32	i-k	22.43	i-k	Tehran تهران	
5.84	uv	9.53	w	17.47	st	0.87	t	14.77	s	Ghaenat قائنات	
9.35	kl	17.07	n-p	26.51	j-l	1.26	j-m	21.40	j-m	Ardestan اردستان	
12.04	de	25.00	de	38.33	bc	1.85	bc	31.40	bc	Hamedan همدان	۲۵ میلی گرم بر لیتر 25 mg.L ⁻¹
8.33	n-p	16.57	o-q	20.70	o-q	1.20	k-n	20.47	k-n	Harand هرنند	
8.73	l-n	18.00	l-o	24.20	l-n	1.32	i-k	22.43	i-k	Behbahan بهبهان	
9.74	jk	19.57	i-l	29.60	hi	1.55	e-g	26.40	e-g	Kashan کاشان	
9.31	kl	18.57	k-n	26.17	kl	1.43	g-i	24.27	g-i	Shiraz شیراز	
13.33	bc	24.67	de	39.50	b	1.84	bc	31.30	bc	Dezfoul دزفول	
7.25	qr	12.50	v	19.00	q-s	1.04	o-r	17.60	o-r	Gorgan گرگان	
11.46	ef	22.70	fg	33.67	d-f	1.71	cd	29.10	cd	Tehran تهران	
5.39	v	8.30	w	13.11	u	1.01	s	11.64	t	Ghaenat قائنات	
10.89	f-i	21.70	gh	29.13	h-j	1.63	de	27.70	de	Ardestan اردستان	
13.86	b	29.03	ab	46.90	a	2.19	a	37.30	a	Hamedan همدان	۵۰ میلی گرم بر لیتر 50 mg.L ⁻¹
10.20	ij	20.40	h-j	25.40	lm	1.35	g-j	23.03	g-j	Harand هرنند	
11.18	fg	21.27	g-i	30.50	g-i	1.47	f-h	25.07	f-h	Behbahan بهبهان	
10.84	f-i	24.00	ef	36.50	cd	1.71	cd	29.00	cd	Kashan کاشان	
10.70	g-i	22.10	gh	31.90	f-h	1.60	d-f	27.23	d-f	Shiraz شیراز	
15.09	a	30.40	a	48.27	a	2.12	a	36.00	a	Dezfoul دزفول	
8.53	m-o	15.03	q-t	23.00	m-o	1.17	l-o	19.90	l-o	Gorgan گرگان	
13.47	b	27.77	bc	40.73	b	1.88	b	32.03	b	Tehran تهران	
8.23	n-p	15.03	q-t	25.00	lm	1.15	m-p	19.50	m-p	Ghaenat قائنات	
11.99	de	26.10	cd	34.13	d-f	1.82	bc	31.00	bc	Ardestan اردستان	
10.98	f-h	21.03	g-i	31.40	f-h	1.65	de	28.03	de	Hamedan همدان	۱۰۰ میلی گرم بر لیتر 100 mg.L ⁻¹
7.18	q-s	14.57	r-u	18.50	q-t	1.01	p-s	17.13	p-s	Harand هرنند	
7.80	o-q	13.70	s-v	20.60	o-r	1.08	n-q	18.43	n-q	Behbahan بهبهان	
9.13	k-m	15.37	p-s	24.50	l-n	1.39	g-j	23.70	g-j	Kashan کاشان	
8.63	l-n	13.13	uv	19.87	p-s	1.30	i-l	22.10	i-l	Shiraz شیراز	
12.60	cd	21.50	gh	35.50	c-e	1.67	de	28.43	de	Dezfoul دزفول	
6.71	r-t	9.17	w	15.63	tu	0.99	q-s	16.80	q-s	Gorgan گرگان	
10.87	f-i	19.73	h-j	26.00	kl	1.54	e-g	26.20	e-g	Tehran تهران	
6.46	s-u	8.67	w	15.67	tu	0.89	t	15.10	s	Ghaenat قائنات	
9.77	jk	15.70	p-r	26.67	j-l	1.48	f-h	25.20	f-h	Ardestan اردستان	

ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

Columns with the same letters do not have statistically significant differences according to Duncan's test.

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین اثرمتقابل سطوح مختلف نانوذرات سیلیکون × جمعیت‌های مختلف شوید بر صفات نسبت کلروفیل a/b، محتوای آنتوسیانین، محتوای قندهای احیا، محتوای پرولین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

Table 3- Results of the comparison of the average interaction effect of different levels of silicon nanoparticles × different dill populations on the traits of chlorophyll a/b ratio, anthocyanin content, reducing sugar content, proline content and ascorbate peroxidase enzyme activity

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ascorbate peroxidase enzyme activity ($\mu\text{M H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$)		محتوای پرولین proline content ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)		محتوای قند احیا reducing sugar content (%)		محتوای آنتوسیانین anthocyanin content ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)		نسبت کلروفیل chlorophyll a/b ratio		جمعیت شوید Dill populations	ذرات نانو سیلیکون Silicon nanoparticles
0.47	g	0.38	b-k	1.56	j	4.11	q	1.47	r-t	همدان Hamedan	شاهد Control
0.22	x	0.23	k-o	1.00	rs	2.48	ee	1.27	u	هرند Harand	
0.25	v	0.25	i-o	1.20	p	2.94	aa	1.64	j-m	بهبهان Behbahan	
0.38	o	0.29	f-o	1.30	o	3.47	wx	1.49	p-t	کاشان Kashan	
0.30	r	0.27	g-o	1.22	p	3.23	z	1.57	l-q	شیراز Shiraz	
0.50	e	0.39	a-i	1.70	gh	4.36	n	1.80	d-g	دزفول Dezful	
0.15	aa	0.20	m-o	0.99	st	2.11	ii	1.87	b-e	گرگان Gorgan	
0.43	j	0.36	c-l	1.54	jk	4.02	r	1.48	q-t	تهران Tehran	
0.12	dd	0.17	o	0.94	t	1.91	jj	1.81	d-g	قائنات Ghaenat	
0.39	n	0.32	d-n	1.40	m	3.64	u	1.57	l-q	اردستان Ardestan	
0.50	e	0.42	a-f	1.80	f	5.00	j	1.51	o-s	همدان Hamedan	۲۵ میلی گرم بر لیتر 25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
0.24	w	0.24	j-o	1.23	p	2.88	bb	1.47	st	هرند Harand	
0.28	t	0.26	h-o	1.33	no	3.51	w	1.56	m-q	بهبهان Behbahan	
0.41	l	0.34	d-l	1.50	kl	4.00	r	1.58	k-p	کاشان Kashan	
0.33	q	0.31	e-o	1.46	l	3.81	t	1.66	i-l	شیراز Shiraz	
0.54	b	0.45	a-e	2.01	d	5.23	h	1.74	f-i	دزفول Dezful	
0.17	y	0.22	l-o	1.19	p	2.40	ff	1.90	bc	گرگان Gorgan	
0.47	g	0.40	a-h	1.75	fg	4.76	m	1.55	m-s	تهران Tehran	
0.13	cc	0.50	a-c	1.00	rs	2.16	hh	1.92	ab	قائنات Ghaenat	
0.44	i	0.37	b-k	1.72	g	4.16	p	1.75	f-h	اردستان Ardestan	
0.51	d	0.41	a-g	2.20	b	6.41	e	1.56	m-s	همدان Hamedan	۵۰ میلی گرم بر لیتر 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
0.26	u	0.24	j-o	1.50	kl	3.55	v	1.40	t	هرند Harand	
0.29	s	0.26	i-o	1.80	f	4.31	o	1.59	k-o	بهبهان Behbahan	
0.42	k	0.32	d-n	1.70	gh	5.06	i	1.57	l-q	کاشان Kashan	
0.34	p	0.28	g-o	1.74	g	4.80	l	1.80	c-g	شیراز Shiraz	
0.55	a	0.42	a-f	2.39	a	6.61	d	1.73	g-j	دزفول Dezful	
0.17	y	0.20	m-o	1.32	no	3.45	x	1.89	b-d	گرگان Gorgan	
0.48	f	0.35	d-l	2.07	c	6.12	f	1.80	d-g	تهران Tehran	
0.14	bb	0.18	no	1.36	mn	2.74	cc	2.01	a	قائنات Ghaenat	
0.45	h	0.32	d-m	1.87	e	5.55	g	1.67	h-k	اردستان Ardestan	
0.50	e	0.50	ab	1.65	hi	7.01	b	1.50	o-s	همدان Hamedan	۱۰۰ میلی گرم بر لیتر 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
0.25	v	0.29	f-o	1.05	rs	2.69	dd	1.49	p-t	هرند Harand	
0.29	s	0.33	d-m	1.21	p	3.37	y	1.63	k-n	بهبهان Behbahan	
0.40	m	0.38	b-j	1.40	m	3.90	s	1.50	o-s	کاشان Kashan	
0.33	q	0.36	d-l	1.31	no	4.09	q	1.54	n-s	شیراز Shiraz	
0.53	c	0.52	a	1.86	e	7.10	a	1.77	fg	دزفول Dezful	
0.16	z	0.24	j-o	1.09	q	2.92	aa	1.82	c-g	گرگان Gorgan	
0.47	g	0.46	a-d	1.64	i	6.70	c	1.50	o-s	تهران Tehran	
0.13	cc	0.22	l-o	1.07	qr	2.28	gg	1.83	b-f	قائنات Ghaenat	
0.43	j	0.44	a-e	1.50	kl	4.93	k	1.58	k-p	اردستان Ardestan	

ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

Columns with the same letters do not have statistically significant differences according to Duncan's test.

به دست آمد. کم‌ترین میزان این صفت نیز به تیمار شاهد × جمعیت قائنات با میزان ۰/۱۲ میکرومول H_2O_2 بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین اختصاص داشت (جدول ۳).

محتوای اسانس: نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که اثر نانوذرات سیلیکون و جمعیت و نیز اثر متقابل نانوذرات سیلیکون × جمعیت بر صفت محتوای اسانس دارای اختلاف آماری معنی‌دار بودند (جدول ۴). بررسی نتایج محتوای اسانس نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان این صفت به ترتیب به تیمار محلول‌پاشی ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانوسیلیکون × جمعیت همدان با میزان ۱/۸۸ درصد و تیمار شاهد × جمعیت گرگان با میزان ۱/۲۱ درصد تعلق داشت (جدول ۵). ترکیبات مشاهده شده در اسانس شوید عبارت بودند از α -Thujene، α -Pinene، Myrcene، Carvone، α -phellandrene و Limonene. بیش‌ترین و کم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس نیز Carvone و α -Thujene بودند. بیش‌ترین میزان ترکیبات α -Thujene، Myrcene و Limonene در تیمار محلول‌پاشی ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانوسیلیکون × جمعیت همدان مشاهده شدند (جدول ۶).

محتوای قندهای احیا: بررسی نتایج محتوای قندهای احیا نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان این صفت به ترتیب به تیمار کاربرد ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول با میزان ۲/۳۹ درصد و تیمار شاهد × جمعیت قائنات با میزان ۰/۹۴ درصد تعلق داشت (جدول ۳).

محتوای پرولین: محتوای پرولین تحت تاثیر محلول‌پاشی نانوذرات سیلیکون افزایش یافت. نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیش‌ترین محتوای پرولین (۰/۵۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول مشاهده شد. کاربرد نانوذرات سیلیکون باعث افزایش محتوای پرولین در اغلب جمعیت‌های شوید در مقایسه با شاهد شد. کم‌ترین میزان این صفت نیز در تیمار شاهد × جمعیت قائنات (۰/۱۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) به دست آمد (جدول ۳).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: باتوجه به نتایج مقایسه میانگین، بیش‌ترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول با میزان ۰/۵۵ میکرومول H_2O_2 بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس میانگین مربعات محتوای اسانس در شرایط کاربرد نانوذرات سیلیکون بر جمعیت‌های مختلف شوید

Table 4- Results of the analysis of variance of the mean square of the essential oil content under the conditions of application of silicon nanoparticles on different dill populations

محتوای اسانس Essential oil content	درجه آزادی df	منابع تغییرات SOV
0.0004 ns	2	تکرار Replication
0.470 **	3	نانوذرات سیلیکون Silicon nanoparticles
0.049 **	2	جمعیت شوید Dill populations
0.0007 **	6	نانوذرات سیلیکون × جمعیت شوید Dill populations × Silicon nanoparticles
0.0002	22	خطا Error
0.835	-	ضریب تغییرات CV

* و ** به ترتیب دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد و ns فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

* and **: respectively significant at the level of 5% and 1% and ns: no significant difference

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف نانوذرات سیلیکون × جمعیت‌های مختلف شوید بر محتوای اسانس

Table 5- Results of the comparison of the average interaction effect of different levels of silicon nanoparticles × different dill populations on the essential oil content

محتوای اسانس Essential oil content	جمعیت شوید Dill populations	ذرات نانو سیلیکون Silicon nanoparticles
1.31	Hamedan همدان	شاهد Control
1.25	Shiraz شیراز	
1.21	Gorgan گرگان	
1.65	Hamedan همدان	۲۵ میلی گرم بر لیتر 25 mg.L ⁻¹
1.55	Shiraz شیراز	
1.52	Gorgan گرگان	
1.88	Hamedan همدان	۵۰ میلی گرم بر لیتر 50 mg.L ⁻¹
1.63	Shiraz شیراز	
1.61	Gorgan گرگان	
1.72	Hamedan همدان	۱۰۰ میلی گرم بر لیتر 100 mg.L ⁻¹
1.79	Shiraz شیراز	
1.72	Gorgan گرگان	

ستون‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

Columns with the same letters do not have statistically significant differences according to Duncan's test.

جدول ۶- نوع و درصد ترکیبات اسانس شوید تحت سطوح مختلف نانوذرات سیلیکون در جمعیت‌های همدان، شیراز و گرگان

Table 6- Type and percentage of dill essential oil compounds under different levels of silicon nanoparticles in the populations of Hamedan, Shiraz and Gorgan

Hamedan, Shiraz and Gorgan												RI	R-index	Composition of essential compounds
100			50			25			شاهد Control					
mg.L ⁻¹			میلی گرم بر لیتر			میلی گرم بر لیتر			میلی گرم بر لیتر					
گرگان	شیراز	همدان	گرگان	شیراز	همدان	گرگان	شیراز	همدان	گرگان	شیراز	همدان			
0.62	0.66	0.72	0.91	0.94	0.97	0.91	0.93	0.96	0.8	0.8	0.9	936	1	α -Thujene
2.7	2.7	2.8	2.8	2.9	2.9	2.7	2.8	2.7	3.1	3.1	3.0	94811111	2	α -Pinene
1.9	1.8	1.9	1.9	2.1	2.2	1.9	1.8	1.9	1.9	1.8	1.9	99822222	5	Myrcene
28.2	30.1	34.7	37.1	40.7	46.6	40.1	43.5	49.8	31.3	34.2	38.6	1006	6	Carvone
13.7	15.5	17.1	15.8	17.9	19.6	17.7	20.0	21.9	19.1	21.3	23.1	1011	7	α -phellandrene
10.0	11.7	14.6	10.6	12.3	15.3	9.8	11.3	14.1	8.4	9.8	12.2	1050	11	Limonene

می‌شود رشد ریشه افزایش یابد که خود افزایش جذب عناصر غذایی و آب و در نتیجه افزایش تجمع ماده خشک در لندام هوایی را در پی دارد (Kumar *et al.*, 2025). همچنین سیلیکون با کمپلکس کردن یون‌های فلزی سمی موجود در محیط ریشه، سبب بهبود رشد گیاه می‌گردد (Verma *et al.*, 2020). براساس نتایج Teixeira *et al.*, (2022) بیان کردند که در روش محلول‌پاشی سیلیکون، اثرات فیزیولوژیکی آن در کاهش تنش ناشی از کمبود آب برابر یا حتی بیشتر از کاربرد ریشه‌ای بود. (Camargo and Keeping, 2021) عنوان کردند که رسوب سیلیکون روی برگ‌ها در روش محلول‌پاشی باعث بهبود جذب نور خورشید، افزایش ظرفیت فتوسنتز و افزایش تجمع ماده خشک می‌شود. (Hussain *et al.*, 2021) نشان دادند که محلول‌پاشی سیلیکون سبب بهبود شاخص کلروفیل و وزن خشک و حجم ریشه می‌شود. همچنین کاربرد سیلیکون از طریق افزایش

سیلیکون نقش چشمگیری در رشد، تغذیه، مقاومت در برابر تنش‌های گوناگون و عملکرد دارد (Thakral *et al.*, 2021). سیلیکون با افزایش تحرک ریزمغذی‌ها و در دسترس بودن عناصر غذایی، عملکرد را افزایش می‌دهد (Khan., 2025). سیلیکون می‌تواند تحمل به تنش در گیاه را با تغییر میزان اسمولیت‌ها مانند پرولین، گلیسین‌بتائین، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، کربوهیدرات‌ها، قند محلول و آمینواسیدها افزایش دهد که منجر به افزایش تجمع ماده خشک در گیاه می‌گردد (Manimaran *et al.*, 2025). سیلیکون، تنظیم اسمزی را بهبود بخشیده و از طریق افزایش سطح اسمولیت‌ها در افزایش فعالیت فتوسنتزی و رشد بهتر به ویژه در شرایط تنش مؤثر است (Kang *et al.*, 2026) که بهبود رشد و تجمع ماده خشک را در پی دارد. نتایج Khan *et al.*, (2024) نشان داد که سیلیکون در بهبود رشد طولی ریشه و اندام هوایی گیاهان مؤثر است. کاربرد سیلیکون موجب

افزایش می‌یابد. کاربرد سیلیکون نیز با تاثیر بر متابولیسم قندها، موجب افزایش قندهای محلول و در نتیجه پتانسیل اسمزی می‌شود (Ulloa *et al.*, 2021). گزارش شده است که در شرایط تنش افزایش پرولین و قندهای محلول موجب حفظ تورژانس سلول‌ها شده و به بهبود جذب آب حتی در پتانسیل‌های پایین آب خاک کمک می‌کند (Alam *et al.*, 2025). گزارش شده است که تولید پرولین با قندهای محلول ارتباط دارد، زیرا یکی از مسیرهای تولید پرولین، گلوتامات است و با افزایش تولید قندهای محلول، میزان گلوتامات افزایش می‌یابد و سنتز پرولین بیشتر می‌شود (Alikhani and Mahmoudi, 2019). همچنین بیان شده است که کاربرد سیلیکون از طریق افزایش جذب نیتрат و آمینواسیدهای آزاد، افزایش محتوای پرولین و قندهای محلول برگ گندم را در پی داشت که در نهایت پتانسیل اسمزی گیاه را بهبود بخشید (Hajiboland *et al.*, 2016). با کاربرد کودهای زیستی، محتوای قندهای محلول و پرولین افزایش یافته که باعث افزایش ظرفیت اسمزی می‌شود. این امر خود منجر به افزایش شیب پتانسیل آب و در نتیجه بهبود جذب آب و رشد گیاه در شرایط تنش می‌گردد (Asghari *et al.*, 2020). برخی محققان بیان داشتند که محلول‌پاشی سیلیکون از طریق افزایش استحکام برگ‌ها به دلیل رسوب آن در لایه اپیدرم و افزایش هدایت روزنه‌ای، افزایش سطح برگ و فتوسنتز را در پی دارد (Hajipour and Jabarzadeh, 2018). همچنین گزارش شده است که کاربرد سیلیکون با افزایش حجم ریشه و محتوای کربوهیدرات‌ها و اسیدهای آمینه موجب افزایش سطح برگ می‌شود (Trejo-Téllez *et al.*, 2020). با بهبود تنظیم اسمزی از طریق افزایش سطح اسمولیت‌ها در تیمار با سیلیکون، افزایش فعالیت فتوسنتزی و رشد بهتر در شرایط تنش مشاهده شد (Hameed *et al.*, 2021). نقش سیلیکون در بهبود تنظیم اسمزی، فعالیت آنزیمی، سنتز، ذخیره‌سازی و حفظ قند پیش از این گزارش شده است (Wang *et al.*, 2019). قندهای ساکارز، فروکتوز و ترهالوز، اسیدهای آمینه‌های پرولین، گلیسین و آلانین و سایر مواد حاوی نیتروژن و گوگرد، نقش‌های حیاتی در کاهش رادیکال‌های آزاد، محافظت از غشاها و آنزیم‌ها و حفظ تعادل اسمزی دارند (Handa *et al.*, 2018). اسیدهای آمینه‌ی پرولین یک محلول اسمزی سازگار است که در شرایط تنش به غلظت‌های بالایی در سلول‌های گیاهی می‌رسد. میزان تجمع پرولین در سلول‌های گیاهی به عنوان نشانه زیستی تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد (Haghighi *et al.*, 2022). (Shayesteh Pahangeh *et al.*, 2022) بیان کردند که پرولین سبب تنظیم اسمزی، ذخیره کربن و نیتروژن برای استفاده در طول دوره بهبود تنش، پایداری پروتئین‌ها و غشاها و پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد. سیلیکون با تغییر میزان پرولین، گلاسیسین‌بتائین، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، کربوهیدرات‌ها، قند محلول

سطح برگ سبب بهبود توانایی برگ‌ها در جذب نور و ظرفیت فتوسنتزی شده و رشد گیاه را افزایش می‌دهد. (Badem and Söylemez, 2022) افزایش رشد به واسطه کاربرد سیلیکون را به بهبود طول و وزن خشک ریشه مرتبط دانستند. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که کاربرد سیلیکون (تا غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) سبب بهبود محتوای کلروفیل کل شد. تاثیر سیلیکون بر رشد گیاه می‌تواند به دلیل افزایش استحکام برگ‌ها، تاثیر بر فراساختار کلروپلاست و نیز افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ باشد (Rastogi *et al.*, 2021). کاربرد سیلیکون می‌تواند از طریق سمیت‌زدایی گونه‌های رادیکال آزاد القاشده تحت تنش، از تخریب کلروفیل و آنزیم‌های دخیل در سنتز آن جلوگیری کند و موجب بهبود کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II گردد (Qin *et al.*, 2016). نتایج (Badem and Söylemez, 2022) نشان داد که بخشی از افزایش محتوای کلروفیل به واسطه محلول‌پاشی سیلیکون به افزایش وزن و حجم ریشه مرتبط است. همچنین بیان کردند که کاربرد سیلیکون می‌تواند با افزایش طول و وزن خشک ریشه و بهبود جذب آب و عناصر غذایی، محتوای کلروفیل را بهبود بخشد. محلول‌پاشی سیلیکون از طریق افزایش محتوای کلروفیل و بهبود فرایندهای فتوسنتزی و انتقال بیش‌تر مواد فتوسنتزی به ریشه، سبب افزایش وزن و حجم ریشه شد. محلول‌پاشی با نانوسیلیکون سبب افزایش بیوسنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند محتوای کلروفیل کل و دیگر ویژگی‌های فیزیولوژیکی شد. همچنین کاربرد نانوسیلیکون موجب بهبود فسفریلاسیون اکسیداتیو، پلیمریزاسیون پروتئین و فعالیت‌های آنزیمی شد (Alharbi *et al.*, 2022). سیلیکون با بهبود تعادل آبی، تحریک سیستم آنزیمی و فعال نمودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش سنتز ترکیب‌های فنلی، تعادل هورمونی و سنتز کلروفیل بر افزایش فتوسنتز، تولید زیست توده و مقاومت گیاهان به تنش مؤثر است (Kim *et al.*, 2017; Ahmad *et al.*, 2019). کاربرد سیلیکون با تقویت مکانیسم‌های مقاومتی از جمله ترشح اسیدهای آلی شده و با تاثیر بر فعالیت آنزیم‌ها، افزایش محتوای آنتوسیانین را در پی دارد (Vieira-Filho and Monteiro, 2022). گزارش شده است که کاربرد سیلیکون از طریق جذب نیترات بیشتر، بهبود آمینواسیدهای آزاد و افزایش محتوای پرولین و قندهای محلول، محتوای آنتوسیانین برگ گندم را افزایش داد (Hajiboland *et al.*, 2016). همچنین گزارش شده است که محلول‌پاشی سیلیکون تحت شرایط تنش با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای اسمولیت‌های سازگار و آنتوسیانین و کاهش محتوای پراکسید هیدروژن، موجب کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید رازیانه شد (Mosapour Yahyaabadi and Asgharipour, 2016). زمان تنش، پتانسیل اسمزی از طریق تجمع محلول‌های سازگار (قندهای محلول و پرولین) در سیتوپلاسم

است (Emamveridian *et al.*, 2018). در حقیقت تولید ترکیب‌های اسانسی به عنوان یک پاسخ دفاعی از طرف گیاه برای مقابله با شرایط تنش در نظر گرفته می‌شود (Ghorbanpour *et al.*, 2016). یکی از اصلی‌ترین سازوکارهایی که تحت آن سیلیکون تنش را در گیاهان کاهش می‌دهد کمک به تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس‌ها در گیاه است. از جمله متابولیت‌های دیگری نیز که افزایش آن‌ها در اثر حضور سیلیکون گزارش شده است می‌توان به اسیدهای آلی، ترکیب‌های فنولی و فالونوئیدی اشاره کرد. به نظر می‌رسد با توجه به تأثیر سیلیکون در افزایش رشد و نمو گیاه، می‌توان یکی از دلایل بیشتر شدن میزان اسانس را افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه دانست که این افزایش می‌تواند منجر به تولید بیشتر اسانس شود (Yang *et al.*, 2025). اسانس هر گیاه دارای چند ترکیب اصلی و غالب است که نسبت به سایر ترکیبات آن درصد بیشتری را به خود اختصاص داده و تعیین کننده خواص کلی آن اسانس هستند. ترکیبات اصلی اسانس شوید شامل لیمونین، آلفا فلاندرون و کارون می‌باشد (Krüger and Hammer, 1996). رشد و نمو گیاهان و همچنین سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه در آن‌ها به میزان زیادی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی در سازگار نمودن گیاه با تغییرات محیطی مانند انواع تنش‌ها دارد (Yang *et al.*, 2018). محلول‌پاشی نانو سیلیکون باعث تغییر در میزان اسانس گیاه شوید شد. نتایج این آزمایش نشان داد که تأثیر تیمار با نانو سیلیکون موجب افزایش درصد اسانس در مقایسه با شاهد شد. نتایج آزمایش Xu *et al.*, (2024) نشان داد که افزودن سیلیکون و کلسیم سبب بهبود عملکرد و کیفیت روغن اسانسی نعنای شد. همچنین کاربرد سیلیکون و کلسیم ترکیب اسانس را تغییر داده و موجب افزایش محتوای کارون، لیمونن و اوسیمین شد. همچنین مشاهده شد که سیلیکون و کلسیم می‌توانند فتوسنتز و جذب مواد مغذی را تنظیم کنند تا عملکرد گیاه افزایش و با تنظیم سنتز ترپنوئیدها، محتوای اجزای اسانس تغییر و کیفیت اسانس بهبود یابد (Xu *et al.*, 2024). گزارش شده است که تغذیه سیلیسیم و تنش کم‌آبی، ترکیب اسانس گل محمدی را از طریق افزایش غلظت ترکیبات الکلی مونوترپنوئیدی غیرحلقوی شامل سیترونلول، سیترونلول استات، ژرانیول و اوژنول تغییر داد (Farahani *et al.*, 2021). این محققان همچنین افزایش غلظت متیل اوژنول و هپتادکان در اسانس را با کاربرد سیلیسیم مشاهده کردند، در حالی که، غلظت ترکیبات آلکانی در اسانس کاهش یافت. Hassan *et al.*, (2024) گزارش کردند که کاربرد سیلیکون، تولید متابولیت‌های ثانویه را در محصولات دارویی تحت شرایط تنش افزایش می‌دهد. Mukarram *et al.*, (2023) نیز بیان کردند که نانوذرات سیلیکون، بیوسنتز اسانس را افزایش می‌دهد. (Tajik Esmaeili 2025) نیز بیان

و آمینواسیدها، تحمل به تنش در گیاه را افزایش می‌دهد (Yin *et al.*, 2016; Hajiboland *et al.*, 2016; Bezerra *et al.*, 2019). گزارش کردند که کاربرد سیلیکون از طریق افزایش پتانسیل آب و محتوای نسبی آب در برگ‌ها، سطح سیلیکون در آن‌ها را افزایش داد و پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه را بهبود بخشید. علاوه بر این، سیلیکون تجمع پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان را در ارقام مقاوم به خشکی و حساس تحت تنش آب افزایش داد. این نتایج حکایت از وجود نقش موثر سیلیکون بر افزایش سطح پرولین یا فعالیت آسکوربات پراکسیداز در حذف گونه‌های فعال اکسیژن داشت. Hameed *et al.*, (2021) بیان کردند که در شرایط تنش با کم شدن تعرق گیاه، در ابتدا چرخه زانتوفیل به منظور جلوگیری از تخریب کلروپلاست فعال شده و مزاد الکترون‌های برانگیخته شده‌ی نشت کرده از غشای تیلاکوئید را خنثی و به حرارت تبدیل نموده و دمای برگ افزایش می‌یابد. اما با افزایش سطح تنش و مختل شدن چرخه گزانتوفیل مسیر زیست ساخت کاروتنوئیدها متوقف شده و احتمالاً مسیر زیست‌ساخت برخی آنتی‌اکسیدانت‌ها مانند آلفاتوکوفرول و یا اسیدهای آمینه‌ای مانند پرولین فعال می‌شود. کاربرد سیلیکون سبب تقلیل اثرات منفی تنش و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌شود و با افزایش آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیدپراکسیداز، محتوای کلروفیل را حفظ می‌نماید (Camargo and Keeping, 2021). سیلیکون در سطح برگ از طریق روزنه و یا کرک‌ها وارد گیاه شده و از طریق جریان شیره سلولی به اندام‌های مختلف انتقال می‌یابد و با نفوذ در ساقه و برگ باعث استحکام فیزیکی اندام‌ها می‌شود (Ullah *et al.*, 2025). همچنین فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی، تبادلات گازی و سیستم آنتی‌اکسیدانی را بهبود می‌بخشد که نتیجه آن افزایش کارایی گیاه است (Etesami and Jeong, 2018). با این حال به نظر می‌رسد یکی از دلایل اصلی کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها در غلظت بالای سیلیکون (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر)، شروع پاسخ فوق حساسیت و سمی شدن سلول‌ها به دلیل ارتباط بیشتر محرک‌ها با آن‌ها و ایجاد اثر بازخوردی و عدم بیان ژن‌های مؤثر باشد (Hazrati Jahan *et al.*, 2017). نتایج مطالعه Ahmad *et al.*, (2019) نشان داد که کاربرد سیلیکون از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش گونه‌های فعال اکسیژن شده و میزان پراکسید هیدروژن (محتوای مالون دی آلدئید) کاهش و پرولین افزایش می‌یابد. زیرا سیلیکون نقشی حیاتی در جذب آب ریشه، هموستاز مواد معدنی و مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی دارد (Hussain *et al.*, 2021; Mostofa *et al.*, 2021).

یکی از اصلی‌ترین سازوکارهایی که تحت آن سیلیکون اثر تنش در گیاهان را کاهش می‌دهد، کمک به تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه

آروماتیک، فعالیت مهارکنندگی رادیکال نشان داده‌اند (Ben Hsouna et al., 2017). ویژگی‌های لیپوفیلیک مونوترپن‌ها می‌تواند به غشاهای سلولی نفوذ کند، سیالیت را افزایش دهد و آنزیم‌های جاسازی شده را مهار کند. همچنین اثر اجزای اصلی اسانس مانند کاروون بر ظرفیت نگهداری آب مشاهده شده است (Mujović et al., 2024). گزارش شده است که اجزای اسانس مانند کاروون و لیمون با حذف رادیکال‌های آزاد و مهار یون‌های فلزی پیش‌اکسیدان، اثرات اکسیدانی را کاهش می‌دهند و در نتیجه ساختار پروتئین را تثبیت کرده و ظرفیت هیدراتاسیون را حفظ می‌کنند (Mujović et al., 2024). کاروون، لیمون و سایر ترپنوئیدها که به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی خود شناخته شده‌اند، می‌توانند گونه‌های فعال اکسیژن را حذف و از آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها ممانعت کنند (Mujović et al., 2024).

نتیجه گیری

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که بیش‌ترین وزن تر و خشک بوته و محتوای اسانس در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت همدان مشاهده شد. بیش‌ترین طول ساقه و ریشه، میزان کلروفیل کل، محتوای قندهای احیا و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول به دست آمد. براساس نتایج مقایسه میانگین صفات، بیش‌ترین نسبت کلروفیل a/b به تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت قائنات تعلق داشت. نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیش‌ترین محتوای آنتوسیانین و محتوای پرولین در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت دزفول مشاهده شد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که اسانس شوید دارای ترکیباتی از جمله α -Thujene، α -Pinene، Myrcene، Carvone، α -phellandrene و Limonene بود. Carvone و α -Thujene بیش‌ترین و کم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس را نشان دادند. در میان تیمارهای مورد بررسی، تیمار محلول‌پاشی ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت همدان، بیش‌ترین میزان α -Limonene، Myrcene و α -Thujene را نشان داد. لذا به نظر می‌رسد به دلیل دستیابی به بیش‌ترین بیش‌ترین وزن تر و خشک بوته و محتوای اسانس (و بیش‌ترین میزان α -Thujene، Myrcene و Limonene) در تیمار محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون × جمعیت همدان، کشت جمعیت همدان و محلول‌پاشی غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو سیلیکون گزینه مناسبی جهت کشت در شرایط محیطی مشابه خواهد بود.

کردند که کاربرد سیلیکون، صفات رشدی و فیتوشیمیایی و محتوای اسانس را افزایش داد. آن‌ها بیان کردند که اجزای اصلی اسانس شناسایی شده شامل کارواکرول، تیمول، لینالول و پاراسیمن بودند. نتایج Rezghiyan et al., (2025) نشان داد که محلول‌پاشی ۱/۵ میلی مولار نانو سیلیکون سبب دستیابی به بیش‌ترین میزان اسانس در گیاه شاهدانه شد. بیش‌ترین میزان کانابیدیول در اسانس نیز در تیمار ۰/۵ میلی مولار نانو سیلیکون به دست آمد. Amiripour et al., (2021) نیز عنوان کردند با افزایش غلظت سیلیکون، عملکرد اسانس افزایش یافت. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که ترکیبات اسانس شوید عبارت بودند از α -Thujene، α -Pinene، Myrcene، Carvone، α -phellandrene و Limonene و بیش‌ترین ترکیب موجود در اسانس نیز Carvone بود. نتایج بررسی‌های صورت گرفته نشان داد که تغییرات در غلظت و ترکیب اجزای مختلف اسانس را می‌توان به شرایط آب و هوایی و مناطق جغرافیایی مختلف و همچنین متابولیسم، بلوغ و بخشی از گیاه که اسانس از آن استخراج می‌شوند، نسبت داد (Bhatia et al., 2023). علاوه بر این، زمان برداشت، شرایط نگهداری و تکنیک‌های استخراج همگی بر عملکرد و ترکیب روغن ضروری تأثیر می‌گذارند (Jianu et al., 2021). اجزای اصلی در مرحله رویشی آلفا-فلاندرن، لیمون، بتا-فلاندرن و پارا-سیمن هستند و پارا-سیمن، کاروون و اتر شوید به عنوان اجزای اصلی در طول دوره گلدهی شناسایی شدند (Milenković et al., 2024). شوید حاوی طیف وسیعی از ترکیبات اسانس، کاروون، لیمون، اسید چرب، رطوبت، پروتئین، کربوهیدرات، فیبر، خاکستر و عناصر معدنی مانند کلسیم، پتاسیم، منیزیم، فسفر، سدیم، ویتامین A و نیاسین است (Kaur and Arora, 2010). ترکیب Carvone بیشتر در صنایع غذایی و لبنی کاربرد دارد و علاوه بر آن چندین کاربرد Carvone به عنوان عطر و طعم دهنده، کاربرد در زمینه پزشکی از جمله ضد میکروب (de Carvalho et al., 2006)، ضد سرطان (Islam, 2019) و تنظیم‌کننده سیستم ایمنی (Raphael and Kuttan, 2003) اهمیت این مونوترپن را توجیه می‌کند. همچنین گزارش شده است که Carvone نمی‌تواند در آب حل شود، اما می‌تواند در حلال‌های آلی حل شود. این ترکیب در صنایع طعم‌دهنده، آروماتراپی و خوشبوکننده هوا بسیار ارزشمند است و همچنین دارای خواص ضد قارچی، آنتی‌اکسیدانی و حشره‌کشی و همچنین ضد سرطانی است (Kaur et al., 2021). ترکیبات موجود در اسانس به ویژه کاروون و لیمون می‌توانند با حذف گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد از لیپیدها در برابر اکسیداسیون محافظت کنند (Zolfaghari et al., 2023). اگرچه اسانس فاقد ترکیبات فنلی کلاسیک است، اما فعالیت مهارکنندگی متوسط آن را می‌توان به مونوترپن‌های اکسیژن‌دار مانند کاروون و لیمون نسبت داد که علیرغم نداشتن گروه‌های هیدروکسیل

منابع

- Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alam, P., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., and Ali, S. (2019). Silicon (Si) supplementation alleviates NaCl toxicity in mung bean (*Vigna radiata* L.) through the modifications of physio-biochemical attributes and key antioxidant enzymes. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38, 70–82.
- Ahmadi, K., and Omid, H. (2018). The effect of drought stress on physiological traits, peroxidase activity and grain yield of five populations of *Lallemantia royleana* Benth. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 34(3), 412–429.
- Alam, T., Jalil, S., Jilani, Gh., Chaudhry, A.N., Ul-Haq, Z., Naz, I., Khan, M.A., Yang, X., Brestic, M., Skalicky, M., and El Sabagh, A. (2025). Enhancing crop resilience to water stress through iron nanoparticles: A critical review of applications and implications. *Plant Stress*, 16, 100905. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2025.100905>
- Alharbi, K., Osman, H. S., Rashwan, E., Hafez, E. M., and Omara, A. E. D. (2022). Stimulating the growth, anabolism, antioxidants, and yield of rice plants grown under salt stress by combined application of bacterial inoculants and nano-silicon. *Plants*, 11(24), 3431. <https://doi.org/10.3390/plants11243431>
- Alikhani, S., and Mahmoudi Zarandi, M. (2019). Effect of coinoculation with endomycorrhiza, *Pseudomonas aeruginosa* and *Rhizobium meliloti* on *Medicago sativa* under water stress. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 32(1), 155–166.
- Amiripour, A., Ghanbari Jahromi, M., Soori, M. K., and Mohammadi Torkashvand, A. (2021). Changes in essential oil composition and fatty acid profile of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves under salinity and foliar-applied silicon. *Industrial Crops and Products*, 168(3), 113599. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113599>
- Asghari, B., Khademian, R., and Sedaghati, B. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) confer drought resistance and stimulate biosynthesis of secondary metabolites in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) under water shortage condition. *Scientia Horticulturae*, 263, 109–132.
- Badem, A., and Söylemez, S. (2022). Effects of nitric oxide and silicon application on growth and productivity of pepper under salinity stress. *Journal of King Saud University-Science*, 34, 102189.
- Bates, L. S., Waldern, R. P., and Tear, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205–207.
- Ben Hsouna, A., Ben Halima, N., Smaoui, S., and Hamdi, N. (2017). Citrus Lemon Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities with Its Preservative Effect against *Listeria Monocytogenes* Inoculated in Minced Beef Meat. *Lipids Health and Disease*, 16: 146.
- Bezerra, B. K. L., Lima, G. P. P., Reis, A. R. D., Silva, M. D. A., and Camargo, M. S. D. (2019). Physiological and biochemical impacts of silicon against water deficit in sugarcane. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41, 189. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2980-0>
- Bhatia, S., Al-Harrasi, A., Jawad, M., Shah, Y.A., Al-Azri, M.S., Ullah, S., Anwer, M.K., Aldawsari, M.F., Koca, E., and Aydemir, L.Y. (2023). A Comparative Study of the Properties of Gelatin (Porcine and Bovine)-Based Edible Films Loaded with Spearmint Essential Oil. *Biomimetics*, 8: 172.
- Camargo, M. S., and Keeping, M. G. (2021). Silicon in sugarcane: Availability in soil, fertilization and uptake. *Silicon*, 13, 3691–3701.
- Chahal, K., Monika, A. K., Bhardwaj, U., and Kaur, R. (2017). Chemistry and biological activities of *Anethum graveolens* L.(dill) essential oil: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(2), 295–306.
- de Carvalho, C.C.C.R., & da Fonseca, M.M.R. (2006). Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene. *Food Chemistry*, 95(3): 413–422. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.003>
- Emamverdian, A., Ding, Y., Xie, Y., and Sangari, S. (2018). Silicon Mechanisms to Ameliorate Heavy Metal Stress in Plants. *Biomed Research International*, 2018, 8492898. <https://doi.org/10.1155/2018/8492898>
- Etesami, H., and Jeong, B. R. (2018). Silicon (Si): Review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147, 881–896.
- Farahani, H., Sajedi, N. A., Madani, H., Changizi, M., and Naeini, M. R. (2021). Effect of foliar-applied silicon on flower yield and essential oil composition of Damask rose (*Rosa damascena* Miller) under water deficit stress. *Springer Nature*.
- Fattahi, B., Arzani, K., Souri, M. K., and Barzegar, M. (2019). Effects of cadmium and lead on seed germination, morphological traits, and essential oil composition of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Industrial Crops and Products*, 138, 111584. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111584>
- Ghorbanpour, M., Asgari Lajayer, H., and Hadian, J. (2016). Influence of copper and zinc on growth, metal accumulation and chemical composition of essential oils in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Medicinal Plants*, 15, 132–144.
- Haghighi, T. M., Saharkhiz, M. J., Kavooosi, G., and Jowkar, A. (2022). Monitoring amino acid profile and protein quality of *Licorice (Glycyrrhiza glabra* L.) under drought stress, silicon nutrition and mycorrhiza inoculation. *Scientia Horticulturae*, 295, 110808.
- Hajiboland, R., Cherghvareh, L., and Dashtebani, F. (2016). Effect of silicon supplementation on wheat plants under salt stress. *Journal of Plant Process and Function*, 5(18), 1–12.
- Hajipour, H., and Jabarzadeh, Z. (2018). Growth and photosynthetic responses of chrysanthemum to foliar application of sodium and calcium silicate. *Journal of plant process and function*, 6(19), 138–129.
- Hameed, A., Ahmed, M.Z., Hussain, T., Aziz, E., Ahmad, N., Gul, B., and Nielsen, B.L. (2021). Effects of Salinity Stress on Chloroplast Structure and Function. *Cells*, 10(8), 2023. <https://doi.org/10.3390/cells10082023>
- Handa, N., Kohli, S. K., Kaur, R., Sharma, N., and Bali, P. (2018). Role of compatible solutes in enhancing antioxidative defense in plants exposed to metal toxicity. In B. B. Dhiman (Ed.), *Plants under metal and metalloid stress: Responses, tolerance and remediation* (pp. 207–228). Springer Nature.

- Hassan, K. M., Ajaj, R., Abdelhamid, A. N., Ebrahim, M., Hassan, I. F., Hassan, F. A. S., Alam-Eldein, Sh. M., and Ali, M. A. A. (2024). Silicon: A powerful aid for medicinal and aromatic plants against abiotic and biotic stresses for sustainable agriculture. *Horticulturae*, 10(8), 806. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10080806>
- Hazrati Jahan, R., Zare, N., Dezhsetan, S., and Sheikhzadeh Mosaddeg, P. (2017). Enhanced taxol-precursor. *Journal of System and Management Sciences*, 33, 73–89.
- Hussain, S., Mumtaz, M., Manzoor, S., Shuxian, L., Ahmed, I., Skalicky, M., Brestic, M., Rastogi, A., Ulhassan, Z., Shafiq, I., Suleyman, I., Allakhverdiev, A., Khurshid, H., Yang, W., and Liu, W. (2021). Foliar application of silicon improves growth of soybean by enhancing carbon metabolism under shading conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 159, 43–52.
- Iqbal, M., Khan, R., Nazir, F., Maheshwari, Ch., Chopra, P., Chhillar, H., and Sreenivasulu, N. (2023). Mineral nutrients in plants under changing environments: A road to future food and nutrition security. *The Plant Genome*, 16(4), e20362. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20362>
- Islam, M.T. (2019). Literature & scientifically carvone is an anticancer agent. *Pharmacologyonline*, 2: 24-30. <https://B2n.ir/d31982>
- Jain, R., Singh, S. P., Singh, A., Singh, S., Tripathi, P., Ram, K., Gaur, A., Jain, N., Shukla, S. K., Chandra, A., and Solomon, S. (2017). Changes in growth, yield, juice quality and biochemical attributes of sugarcane in response to orthosilicic acid granules. *Sugar Tech*, 19(3), 300–304.
- Jain, R., Singh, S. P., Singh, A., Singh, S., Tripathi, P., Ram, K., Gaur, A., Jain, N., Shukla, S. K., Chandra, A., and Solomon, S. (2017). Changes in growth, yield, juice quality and biochemical attributes of sugarcane in response to orthosilicic acid granules. *Sugar Tech*, 19(3), 300-304.
- Jianu, C., Stoin, D., Cocan, I., David, I., Pop, G., Lukinich-Gruia, A.T., Mioc, M., Mioc, A.S., oica, C., and Muntean, D. (2021). In Silico and In Vitro Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Potential of Mentha × Smithiana R. GRAHAM Essential Oil from Western Romania. *Foods*, 10: 815.
- Kang, X., Zou, Y., Liu, X., Shi, W., Leng, Y., Niu, Z., and Zeng, X. (2026). Silicon Improves Salt Tolerance through Osmotic Adjustment, Enhancing Antioxidant Capacity and Up-Regulating Ions Transporter Genes Expression in *Vigna radiata* L. *Russian Journal of Plant Physiology*, 73(1). <https://doi.org/10.1134/S1021443725605543>
- Kaur, G.J., and Arora, D.S. (2010). Bioactive potential of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* belonging to the family Umbelliferae. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4: 087–094.
- Kaur, V., Kaur, R., and Bhardwaj, U. (2021). A review on dill essential oil and its chief compounds as natural biocide. *Flavour and Fragrance Journal*, 36: 412–431.
- Kazemi, F. (2002). *Effect of different drying methods and Essential method of obtaining on the essential qualitative and essential oil components Roman chamomile flowers* [Dissertation]. Tarbiat Modares University.
- Khan, A. L. (2025). Silicon: A valuable soil element for improving plant growth and CO₂ sequestration. *Journal of Advanced Research*, 71, 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.05.027>
- Khan, A.L. (2024). Silicon: A valuable soil element for improving plant growth and CO₂ sequestration. *J Adv Res*, 71, 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.05.027>
- Kim, Y. H., Khan, A. L., Waqas, M., and Lee, I. J. (2017). Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. *Frontiers in Plant Science*, 8, 510. <https://doi.org/doi:10.3389/fpls.2017.00510>
- Krüger, H., and Hammer, K. (1996). A New Chemotype of *Anethum graveolens* L. *Journal of Essential Oil Research*, 8(2), 205–206. <https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700596>
- Kumar, A., Choudhary, A., Kaur, H., Singh, Kh., Guha, S., Choudhary, D. R., Sonkar, A., Mehta, S., and Husen, A. (2025). Exploring the role of silicon in enhancing sustainable plant growth, defense system, environmental stress mitigation and management. *Discover Applied Sciences*, 7(5), 406. <https://doi.org/10.1007/s42452-025-06866-w>
- Lichtenthaler, H. K., and Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, F4(1). <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>
- Lord, H., and Pawliszyn, J. (2000). Evolution of solid-phase microextraction technology. *Journal of Chromatography A*, 885(1-2), 153–193.
- Manimaran, G., Duraisamy, S., Subramaniam, T., Rangasamy, A., Alagarsamy, S., James, P., Selvamani, S., Perumal, D., Veerappan, M., Arunan, Y.R., and Periakaruppan, J. (2025). Silicon-driven approaches to salinity stress tolerance: Mechanisms, uptake dynamics, and microbial transformations. *Plant Stress*, 16, 100825. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2025.100825>
- Milenković, L., Ilić, Z.S., Stanojević, L., Danilović, B., Šunić, L., Kevrešan, Ž., Stanojević, J., and Cvetković, D. (2024). Chemical composition and bioactivity of dill seed (*Anethum graveolens* L.) essential oil from plants grown under shading. *Plants*, 13: 886.
- Mosapour Yahyaabadi, H., and Asgharipour, M. R. (2016). Effects of drought stress and its interaction with silicon on stimulates the antioxidant system and lipid peroxidation in Fennel (*Foeniculum vulgare*). *Plant process and function*, 5(16), 71-84.
- Mostofa, M. G., Rahman, M. M., Ansary, M. M. U., Keya, S. S., Abdelrahman, M., Miah, M. G., Phan Tran, L.-S., and Zaynab, Z. (2021). Silicon in mitigation of abiotic stress-induced oxidative damage in plants. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41(6), 918–934. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1892582>
- Mujović, M., Šojić, B., Peulić, T., Kocić-Tanackov, S., Ikonić, P., Božović, D., Teslić, N., Županjac, M., Novaković, S., and Jakanović, M. (2024). Effects of Dill (*Anethum graveolens*) Essential Oil and Lipid Extracts as Novel Antioxidants and Antimicrobial Agents on the Quality of Beef Burger. *Foods*, 13: 896.
- Mukarram, M., Khan, M., Kurjak, D., Lux, A., and Corpas, F. J. (2023). Silicon nanoparticles (SiNPs) restore photosynthesis and essential oil content by upgrading

enzymatic antioxidant metabolism in lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) under salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1116769>

Nakano, Y., and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5), 867-880.

Qin, L., Kang, W., Qi, Y., Zhang, Zh., and Wang, N. (2016). The influence of silicon application on growth and photosynthesis response of salt stressed grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(3). <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2087-9>

Raphael, T.J., & Kuttan, G. (2003). Immunomodulatory activity of naturally occurring monoterpenes carvone, limonene, and perillid acid. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 25(2): 285-294. <https://doi.org/10.1081/iph-120020476>

Rastogi, A., Yadav, S., Hussain, S., Kataria, S., Hajhashemi, Sh., Kumari, P., Yang, X., and Brestic, M. (2021). Does silicon really matter for the photosynthetic machinery in plants...? *Plant Physiology and Biochemistry*, 169, 40-48.

Rezghiyan, A., Esmaceli, H., and Farzaneh, M. (2025). Nanosilicon application changes the morphological attributes and essential oil compositions of hemp (*Cannabis sativa* L.) under water deficit stress. *Scientific Reports*, 27(15), 3400. doi:10.1038/s41598-025-87611-6

Rustaiyan, A., Masoudi, S., Ameri, N., Samiee, K., and Monfared, A. (2006). Volatile constituents of *Ballota aucheri* Boiss., *Stachys benthamiana* Boiss. and *Perovskia abrotanoides* Karel. growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 18(2), 218-221.

Sharma, A., Singh, R. K., Singh, P., Vaishnav, A., Guo, D. -J., Verma, K. K., and Srivastava, R. B. L. (2021). Insights into the bacterial and nitric oxide-induced salt tolerance in sugarcane and their growth-promoting abilities. *Microorganisms*, 9(11), 2203. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112203>

Shayesteh Pahangeh, E., Aliarab, A., Sadati, S.-E., Espahbodi, K., and Karimian, Z. (2022). Effect of soil moisture content on survival, growth, and physiological characteristics of wild cherry (*Prunus avium* L.) seedlings. *Iranian Journal of Forest*, 13, 57-69.

Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, 195, 19-23.

Tajik Esmaceli, S. (2025). Biostimulant effects of silicon-rich horsetail extract on morphological and growth characteristics of *Zataria multiflora*. *Current Applied Sciences*. <https://doi.org/10.22034/cas.2025.228771>

Teixeira, G. C. M., de Mello Prado, R., and Rocha, A. M. S. (2022). Low absorption of silicon via foliar in comparison to root application has an immediate antioxidant effect in mitigating water deficit damage in sugarcane. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 208(6), 805-814.

Thakral, V., Bhat, J. A., Kumar, N., Myaka, B., Sudhakaran, S., Patil, G., Sonah, H., Shivaraj, S. M., and Deshmukh, R. (2021). Role of silicon under contrasting biotic and abiotic stress conditions provides benefits for climate smart cropping. *Environmental and Experimental Botany*, 189, 104545. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104545>

Trejo-Téllez, L. I., García-Jiménez, A., Escobar-Sepúlveda, H. F., Ramírez-Olvera, S. M., Bello-Bello, J. J., and Gómez-Merino, F. C. (2020). Silicon induces hormetic dose-response effects on growth and concentrations of chlorophylls, amino acids and sugars in pepper plants during the early developmental stage. *Peer Journal*, 8(e9224), 1-28.

Ullah, M. S., Mahmood, A., Alawadi, H. F. N., Seleiman, M. F., Khan, B. A., Javaid, M. M., Wahid, A., Abdullah, F., Wasonga, D. O., and Alawadi, H. F. N. (2025). Silicon-mediated modulation of maize growth, metabolic responses, and antioxidant mechanisms under saline conditions. *BMC Plant Biology*, 25(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-06013-4>

Ulloa, M., Nunes-Nesi, A., da Fonseca-Pereira, P., Poblete-Grant, P., Reyes-Díaz, M., and Cartes, P. (2021). The effect of silicon supply on photosynthesis and carbohydrate metabolism in two wheats (*Triticum aestivum* L.) cultivars contrasting in response to phosphorus nutrition. *Plant Physiology and Biochemistry*, 169, 236-248. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.11.022>

Verma, K. K., Song, X. P., Li, D. M., Singh, M., Rajput, V. D., Malviya, M. K., and Li, Y. R. (2020). Interactive role of silicon and plant-rhizobacteria mitigating abiotic stresses: A new approach for sustainable agriculture and climate. [Publication information incomplete; assumed to be a review or research article].

Verma, K. K., Song, X. P., Zeng, Y., Guo, D. J., Singh, M., Rajput, V. D., and Li, Y. R. (2021). Foliar application of silicon boosts growth, photosynthetic leaf gas exchange, antioxidative response and resistance to limited water irrigation in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 582-592.

Vieira-Filho, O., and Monteiro, F.A. (2022). Silicon improves photosynthetic activity and induces antioxidant enzyme activity in *Tanzania guinea* grass under copper toxicity. *Plant Stress*, 3, 100045.

Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, 64(1), 88-93.

Wang, Y., Zhang, B., Jiang, D., Chen, G., and Wang, X. (2019). Silicon improves photosynthetic performance by optimizing thylakoid membrane protein components in rice under drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 158, 117-124.

Xu, L., Wang, F., Liu, Y., Wang, M., Chen, X., Wang, E., and Yan, J. (2024). Beneficial elements silicon and calcium can be used as supplements to improve the yield and quality of the *Mentha spicata* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 214, 118506. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118506>

Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., and Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 762.

Yang, Y., Huang, L., Yu, L., Zhu, F., Chang, J., Li, M., Wang, Sh., Wang, Ch., and Zhan, H. (2025). Silicon Accumulation and Photosynthetic Capacity of *Dendrocalamus brandisii* in Response to Sodium Silicate Foliar Application Across Vegetative Phenological Stages. *Plants*, 14(17), 2624. <https://doi.org/10.3390/plants14172624>

Yin, L., Wang, S., Tanaka, K., Fujihara, S., Itai, A., Den, X., and Deng, X. (2016). Silicon-mediated changes in polyamines participate in silicon-induced salt tolerance in

Sorghum bicolor L. *Plant, Cell and Environment*, 39(1), 245–258.

Younis, A. A., Khattab, H., and Emam, M. M. (2020). Impacts of silicon and silicon nanoparticles on leaf ultrastructure and TaPIP1 and TaNIP2 gene expressions in heat stressed wheat seedlings. *Biologia Plantarum*, 64(1), 343–352.

Yousefi, F., Abdali Mashhadi, A., Lotfi Jalal Abadi, A., Shafeinia, A., Jalily, S. and Soltani, N. (2025). The effect of spraying tryptophan on the physiological characteristics of the periwinkle plant (*Catharanthus roseus* L.) under drought stress. *BMC Plant Biology*, 25, 1782. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12870-025-07831-w>

Yousefi, F., Abdali Mashhadi, A., Lotfi Jalal Abadi, A., Shafeinia, A., Jalily, S. and Soltani, N. (2025). Evaluation

of the expression pattern of TIAs pathway genes in response to Tryptophan amino acid treatment and drought stress in *Catharanthus roseus*. *Plos one*, 20(10), e0333313. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0333313>

Zahedi, M., and Asadi-Gharneh, H.A. (2024). Essential Oil as Influenced by Foliar Application of Polyamines. *Journal of Medicinal Plants and By-products*. 2: 353-360. https://jmpb.areeo.ac.ir/article_129705.html

Zolfaghari, A., Bazargani-Gilani, B., and Aghajani, N. (2023). Edible Film Based on Corn Zein Containing Dill Extract and Essential Oil/ β -Cyclodextrin Inclusion Complex: Shelf Life Enhancement of Common Carp Fillet. *Food Sciences & Nutrition*. 11: 4275–4288.

ISSN: 3041-9638

<https://jrpsm.asnrkh.ac.ir/>

Open Access

Research Article

Study of the Effects of Iron and Zinc Nano-Fertilizers on Phenolic and Antioxidant Compounds of Grape (*Vitis vinifera* L.) cv. 'Bidaneh Sefid' at Two Stages: Veraison and Ripening

S. Khodabakhsh zadeh¹, M. Rasouli², F. Borna³ and M. Maleki¹ ¹ Department of Biology, Malayer University, Malayer, Iran² Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran.³ Department of Horticultural Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

Received: 22 May 2026

Accepted: 01 Sep 2026

Published: 01 Sep 2026

Corresponding**Author:**

Masoume Maleki

Email:

masoumemaleki@gmail.com

Keywords:

Anthocyanin, Foliar nutrition, Flavonoid, Resveratrol.

Citation:

Khodabakhsh zadeh, S., Rasouli, M., Borna, F., & Maleki, M. (2026). Study of the Effects of Iron and Zinc Nano-Fertilizers on Phenolic and Antioxidant Compounds of Grape (*Vitis vinifera* L.) cv. 'Bidaneh Sefid' at Two Stages: Veraison and Ripening. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 4(2), 41-56.

Doi:10.22034/jrpsm.2026.593311.1126

Extended Abstract

Background and Objective: Grape (*Vitis vinifera* L.) is one of the most important horticultural crops worldwide, possessing high nutritional and medicinal values due to its diverse phenolic and antioxidant compounds, including flavonoids, anthocyanins, and resveratrol. Foliar nutrition with micronutrient nano-fertilizers has been introduced as an efficient and environmentally friendly approach to improve the quality of horticultural products. Iron and zinc elements play a crucial role as cofactors of key enzymes in the biosynthetic pathways of phenolic compounds. Considering the lack of information regarding the effects of iron and zinc nano-fertilizers on the quality of 'Bidaneh Sefid' grape cultivar, this study was conducted to investigate different concentrations of nano-chelated iron (0, 2000, and 3000 mg L⁻¹) and nano-chelated zinc (0, 1000, and 2000 mg L⁻¹) on the biochemical and antioxidant compounds of grape at two phenological stages, namely veraison and ripening.

Materials and Methods: This research was conducted during 2014–2018 at the research collection of Malayer University (Hamadan province, Iran). Fifteen-year-old grapevines of Bidaneh Sefid cultivar were trained using the pergola system. Treatments consisted of three levels of nano-chelated iron (0, 2000, and 3000 mg L⁻¹) and three levels of nano-chelated zinc (0, 1000, and 2000 mg L⁻¹), which were applied as foliar sprays at two stages: Veraison and full ripening. Foliar application was performed during early morning hours using a hand sprayer until runoff, and 0.2% Tween 20 was added to all solutions. Leaf sampling was conducted at both stages, and measured traits included chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, total flavonoids, total anthocyanins, total phenols, and resveratrol. Photosynthetic pigments were assayed using spectrophotometry based on Lichtenthaler's equations. Total anthocyanin content was measured using spectrophotometry in acidic methanol with chlorophyll interference correction. Total flavonoids and total phenols were determined using aluminum chloride and Folin-Denis methods, respectively. Resveratrol was quantified using reversed-phase HPLC at 306 nm. The experiment was arranged as a completely randomized design with three replications, and data were analyzed using SAS software with Duncan's multiple range test at a significance level of 1%. Principal component analysis (PCA) and weighted composite index (WCI) were calculated.

Results: The results showed that different treatments had significant effects on all measured traits at both phenological stages. At both veraison and ripening stages, the Fe 2000 mg L⁻¹ treatment exhibited the greatest effect on increasing chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoid contents, followed by Zn 1000 and 2000 mg L⁻¹ treatments. In contrast, Fe 3000 mg L⁻¹ caused a reduction in photosynthetic pigments in most cases. Total leaf flavonoid content reached its maximum in the Fe 2000 mg L⁻¹ treatment at both veraison (225.91 mg g⁻¹ DW) and ripening (288.57 mg g⁻¹ DW) stages. Total anthocyanin content at the ripening stage reached its highest value (1.89 mg g⁻¹ DW) under the Zn 1000 mg L⁻¹ treatment, while both iron concentrations exhibited decreasing effects. Total phenol content of berry skin at the ripening stage showed the greatest increases in Fe 2000 (132.88) and Zn 2000 (139.55 mg g⁻¹ DW) treatments. Resveratrol content of berry skin reached its maximum at the veraison stage in the Fe 2000 mg L⁻¹ treatment (110.44 µg g⁻¹ DW, more than 2.5 times the control), and at the ripening stage in the Zn 2000 mg L⁻¹ treatment (100.13 µg g⁻¹ DW). Elemental concentrations in leaves were also affected by treatments, and antagonistic effects between iron and zinc were observed at the ripening stage. The PCA results, integrated with the WCI, identified Fe 2000 as the most effective treatment for concurrently improving the physiological, biochemical, and nutritional traits of grapevine.

Conclusion: The results demonstrated that nano-chelated iron at 2000 mg L⁻¹ at both veraison and ripening stages had the best effect on increasing antioxidant compounds of 'Bidaneh Sefid' grape cultivar. Nano-chelated zinc at 1000 mg L⁻¹ is recommended for increasing anthocyanin content, and at 2000 mg L⁻¹ for increasing resveratrol at the ripening stage. The concentration of 3000 mg L⁻¹ iron is not recommended due to its inhibitory effects. Simultaneous application of iron and zinc requires precise management of concentration and application timing due to their antagonistic interactions.



مطالعه اثر نانو کودهای آهن و روی بر ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی انگور رقم بیدانه سفید *Vitis vinifera* L.) در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی

ساره خدابخش‌زاده^۱، موسی رسولی^۲، فاطمه برنا^۳ و معصومه ملکی^۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

^۲ گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) قزوین، ایران.

^۳ گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۰

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

نویسنده مسئول:

معصومه ملکی

ایمیل:

masoumemaleki@gmail.com

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین،

تغذیه برگ، فلاونوئید، رسوراترول

نحوه استناد:

جهانبخشی، ف.، ابدالی مشهدی، ع.، موسوی، س. ا.، لطفی، ا. (۱۴۰۵). ارزیابی پرایمینگ بدر بر رفتار جوانه‌زنی گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd.) و فعالیت‌های آنزیمی در شرایط تنش نیترا سرب. مجله پژوهش در متابولیت‌های گیاهی، دوره ۴، شماره ۲، صفحات: ۴۱-۵۶.

Doi:10.22034/jrpsm.2026.593311.1126

چکیده

سابقه و هدف: انگور (*Vitis vinifera* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات باغی جهان است که به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی متنوعی نظیر فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و رسوراترول، ارزش تغذیه‌ای و دارویی بالایی دارد. تغذیه برگ با نانوکودهای ریزمغذی به‌عنوان روشی کارآمد و سازگار با محیط‌زیست برای بهبود کیفیت محصولات باغی مطرح شده است. عناصر آهن و روی به‌عنوان کوفاکتورهای آنزیم‌های کلیدی در مسیرهای بیوسنتزی ترکیبات فنلی نقش تعیین‌کننده‌ای ایفا می‌کنند. با توجه به کمبود اطلاعات درباره تأثیر نانوکودهای آهن و روی بر کیفیت انگور رقم بیدانه سفید، این پژوهش با هدف بررسی غلظت‌های مختلف نانوکودهای کلات آهن (صفر، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و کلات روی (صفر، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر ترکیبات بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی انگور در دو مرحله فنولوژیکی غوره‌گی و رسیدگی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش طی سالهای ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۷ در کلکسیون تحقیقاتی دانشگاه ملایر (استان همدان) انجام شد. تاکهای رقم بیدانه سفید با سن ۱۵ سال به روش داربستی-آلاچیقی پرورش یافتند. تیمارها شامل سه سطح نانوکود کلات آهن (صفر، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سه سطح نانوکود کلات روی (صفر، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند که در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی کامل به‌صورت محلول‌پاشی برگ اعمال شدند. محلول‌پاشی در ساعات اولیه صبح با سمپاش دستی تا حد رواناب انجام گرفت و ۰/۲ درصد توین ۲۰ به کلیه محلولها افزوده شد. نمونه‌برداری از برگ‌ها در هر دو مرحله انجام شد و صفات مورد اندازه‌گیری شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، فنل کل و رسوراترول بودند. سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی با روش اسپکتروفتومتری و بر اساس معادلات لیشتنتالر انجام گرفت. اندازه‌گیری آنتوسیانین کل با استفاده از روش اسپکتروفتومتری در متانول اسیدی و با تصحیح تداخل کلروفیل صورت پذیرفت. فلاونوئید کل با روش آلومینیوم کلرید و فنل کل با روش فولین-دنیس اندازه‌گیری شدند. رسوراترول با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در فاز معکوس و در طول موج ۳۰۶ نانومتر سنجش گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) و شاخص ترکیب وزنی (WCI) محاسبه گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیمارهای مختلف تأثیر معنی‌داری بر تمامی صفات مورد بررسی در هر دو مرحله فنولوژیکی داشتند. در هر دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی، تیمار آهن ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر افزایش کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید داشت و پس از آن تیمار روی ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند. در مقابل، آهن ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در اکثر موارد باعث کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. فلاونوئید کل برگ در تیمار آهن ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله غوره‌گی (۲۲۵/۹۱) و رسیدگی (۲۸۸/۵۷) میلی‌گرم برگرم) به حداکثر رسید. آنتوسیانین کل در مرحله رسیدگی تحت تأثیر روی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به بیشترین مقدار (۱/۸۹ میلی‌گرم برگرم) رسید، در حالی که هر دو غلظت آهن اثر کاهشی داشتند. فنل کل پوست میوه در مرحله رسیدگی در تیمارهای آهن ۲۰۰۰ (۱۳۲/۸۸) و روی ۲۰۰۰ (۱۳۹/۵۵) میلی‌گرم برگرم) بیشترین افزایش را نشان داد. رسوراترول پوست میوه در مرحله غوره‌گی در تیمار آهن ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با ۱۱۰/۴۴ میکروگرم برگرم (بیش از ۲/۵ برابر شاهد) و در مرحله رسیدگی در تیمار روی ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با ۱۰۰/۱۳ میکروگرم برگرم به حداکثر رسید. غلظت عناصر در برگ نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت و اثرات آنتاگونیستی بین آهن و روی در مرحله رسیدگی مشاهده شد. نتایج PCA همراه با WCI، آهن ۲۰۰۰ را به‌عنوان مؤثرترین تیمار در بهبود هم‌زمان صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و تغذیه‌ای انگور معرفی کرد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که نانوکود آهن با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی، بهترین تأثیر را بر افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی انگور رقم بیدانه سفید دارد. نانوکود روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای افزایش آنتوسیانین و غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای افزایش رسوراترول در مرحله رسیدگی توصیه می‌شود. غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر آهن به دلیل اثرات مهاری، قابل توصیه نمی‌باشد. کاربرد آهن و روی نیازمند مدیریت دقیق غلظت و زمان مصرف به دلیل اثرات آنتاگونیستی آنهاست.

مقدمه

بیش از ۹۰ درصد از انگورهای تجاری جهان از گونه *Vitis vinifera* هستند (Williams *et al.*, 2018). تغذیه معدنی یکی از عوامل کلیدی در افزایش تولید و بهبود کیفیت انگور به‌شمار می‌رود (Arshad *et al.*, 2006). کوددهی برگ، به‌ویژه با استفاده از نانوکودها، به‌عنوان روشی کارآمد برای تأمین عناصر غذایی، نقش قابل توجهی در افزایش کیفیت محصولات باغی داشته است. به‌عنوان مثال، تحقیقات نشان داده است که محلول‌پاشی برگ عناصر ریزمغذی می‌تواند کیفیت انگور را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشد (Ali *et al.*, 2021). تغذیه مناسب معدنی برای رشد و نمو اندام‌های مختلف گیاهی از جمله میوه‌ها ضروری است و کمبود هر عنصر می‌تواند منجر به اختلالات فیزیولوژیکی متعددی شود که در میوه‌ها به‌صورت ناهنجاری در فرایند رسیدگی ظاهر می‌شوند (Bondada, 2016).

نقش عناصر معدنی در تاکستان بسیار متنوع است و عمدتاً از طریق تأثیر بر متابولیت‌های اولیه و ثانویه حاصل از فتوسنتز، مانند کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آلی، پروتئین‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و ترکیبات معطر، اعمال می‌شود (Bravdo *et al.*, 2000). بین وضعیت تغذیه‌ای تاک، باردهی جوانه‌ها و کیفیت حبه رابطه‌ای قوی وجود دارد (Monteiro *et al.*, 2021). استفاده از نانوکودها به‌عنوان جایگزینی برای کودهای مرسوم، امکان آزادسازی تدریجی و کنترل‌شده عناصر غذایی در خاک را فراهم می‌کند (Naderi & Danesh Shahraki, 2011). افزون بر این، کاربرد کودها به روش محلول‌پاشی برگ نسبت به کاربرد خاکی، علاوه بر کاهش آلودگی زیست‌محیطی، به مقدار کمتری از کود نیاز دارد (Lanauskas *et al.*, 2006). عنصر روی با شرکت در ساخت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، از آسیب‌های اکسیداتیو در شرایط تنش جلوگیری می‌کند (Tisdale *et al.*, 2003). تأثیر مثبت کاربرد روی و ترکیبات آن، بر بهبود رشد و کیفیت انگور به اثبات رسیده است؛ به‌گونه‌ای که محلول‌پاشی روی باعث افزایش عملکرد و بهبود خصوصیات بیوشیمیایی انگورهای رومیزی شده است (Ali *et al.*, 2021). همچنین، آهن نقش مهمی در تعیین سطح مطلوب فلاونوئیدها در گیاهان دارد؛ به‌گونه‌ای که کاربرد برگ آهن می‌تواند تجمع فلاونوئیدها را در حبه‌های انگور افزایش دهد (Shi *et al.*, 2018). مطالعات نشان داده است که کاربرد برگی آهن بر محتوای آنتوسیانین و بیان ژن‌های مرتبط در انگور رقم زراعی Cabernet Sauvignon تأثیر متفاوتی داشت (Shi *et al.*, 2017).

دانه و پوست انگور حاوی ترکیبات فعال بیولوژیکی متعددی از جمله فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها، آنتوسیانین‌ها و ترانس-رسوراترول هستند

(Iriti & Faoro, 2006). ترکیبات فنلی موجود در انگور به دو گروه فلاونوئیدها (شامل کاتچین، اپی‌کاتچین، کورستین، میرسیتین و آنتوسیانین‌ها) و غیرفلاونوئیدها (شامل اسیدهای فنلی، هیدروکسی‌بنزوات و هیدروکسی‌سینامیک) طبقه‌بندی می‌شوند (Middleton *et al.*, 2000). آنتوسیانین‌ها رنگ‌ده‌های فلاونوئیدی هستند که عامل ایجاد رنگ‌های قرمز تا بنفش و آبی در میوه‌ها و گل‌ها می‌باشند و در انگور به‌صورت گلوکوزیدها و استیل‌گلوکوزیدها گزارش شده‌اند (Nejatian, 2006). میوه انگور از نظر پلی‌فنول‌ها بسیار غنی است، به‌گونه‌ای که ۶۰ تا ۷۰ درصد پلی‌فنول‌های آن در دانه متمرکز شده است (Lanauskas *et al.*, 2006). ترکیبات فنلی اصلی پوست میوه نیز شامل پروآنتوسیانین، الایژنیک اسید، کامپروفرول و ترانس-رسوراترول می‌باشند (Shi *et al.*, 2003).

رسوراترول به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان قوی، بیشتر در انگورهای قرمز تجمع می‌یابد و توانایی جلوگیری از رشد سلول‌های سرطانی و کاهش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی را دارد (Meggico *et al.*, 2010). در انگورهای اروپایی (*Vitis vinifera*)، بخش عمده رسوراترول در پوست میوه انباشته شده و مقدار بسیار کمی در گوشت و دانه وجود دارد، در حالی که در انگورهای آمریکایی، دانه‌ها نیز مقادیر قابل‌توجهی از این ترکیب را ذخیره می‌کنند (Jayaprakash, 2003). رابطه مستقیمی بین محتوای عناصر خاک و محتوای ترکیبات فنلی و رسوراترول در انگور وجود دارد و غلظت فلزاتی مانند روی و آهن می‌تواند بر سنتز این ترکیبات مؤثر باشد (Acuña-Avila *et al.*, 2016). رقم بیدانه سفید در میان ارقام انگور، کمترین محتوای فنل کل را دارد و ترکیبات فنلی موجود در آن نقش مهمی در کیفیت میوه از جمله رنگ، عطر و طعم، سفتی بافت و فرایند پیری ایفا می‌کنند. افزایش فنل کل در میوه انگور می‌تواند ناشی از کاهش کلروفیل و آغاز سنتز ترکیبات فنلی هم‌زمان با دوره تغییر رنگ حبه‌ها باشد (Pileh & Ghasemzadeh, 2017).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که محلول‌پاشی روی و آهن، بر خصوصیات کمی و کیفی انگور مؤثر است (Ahmed *et al.*, 1997; Ali *et al.*, 2021) و کاربرد این عناصر می‌تواند محتوای قندها، اسید آسکوربیک و مواد جامد محلول را در حبه‌های انگور افزایش دهد (Ali *et al.*, 2021). همچنین، کاربرد برگ ماس و آهن کلاته بر عملکرد، کیفیت، فتوسنتز و غلظت عناصر ریز مغذی انگور رومیزی تأثیر مثبت داشته است (Ma *et al.*, 2019). مصرف ریز مغذی‌ها به‌ویژه آهن، روی و منگنز تأثیرات مطلوبی بر شاخص‌های عملکرد، تشکیل میوه بهتر و تولید میوه در واحد سطح دارد و با تأثیر بر فعالیت‌های فتوسنتزی و مسیرهای متابولیکی مهم، منجر به تولید مقادیر بالاتری از متابولیت‌های اولیه می‌شود (Mohebi *et al.*, 2022).

۱۳۹۳ تا ۱۳۹۷ در کلکسیون تحقیقاتی شماره یک دانشگاه ملایر، واقع در استان همدان، انجام شد. این کلکسیون در کیلومتر ۴ جاده اراک، با طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۴۹ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۱۷ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۷۸۰ متر از سطح دریا قرار دارد. میانگین بارندگی سالانه منطقه ۲۴۲ میلی‌متر است (جدول ۱). تاک‌های مورد آزمایش از رقم بیدانه سفید (*Vitis vinifera* L.) با سن تقریبی ۱۵ سال بودند که از نظر شرایط رشد و هرس یکسان بوده و به روش داربستی-آلاچیقی پرورش داده می‌شدند. سیستم آبیاری به صورت قطره‌ای بود.

هدف از این تحقیق، مطالعه تأثیر محلول‌پاشی برگی نانوکودهای آهن و روی بر تغییرات ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی انگور رقم بیدانه سفید (*Vitis vinifera* L.) در دو مرحله فنولوژیکی غوره‌گی و رسیدگی، و همچنین تعیین غلظت بهینه این نانوکودها برای دستیابی به بالاترین سطح کیفی در شرایط باغی منطقه ملایر بود.

مواد و روش‌ها

مشخصات منطقه و مواد گیاهی: این پژوهش طی سال‌های

جدول ۱- تجزیه شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1- Chemical analysis of the experimental site soil

ویژگی Parameter	CaCO ₃ % کربنات سدیم	هدایت الکتریکی EC (ds/m)	اسیدیته pH	روی Zn (mg/L)	آهن Fe (mg/L)
مقدار Value	22.37	0.142	7.69	0.0363	1.837

شد. جذب نوری عصاره‌ی رقیق‌شده در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل JENUS UV-1200 و در برابر حلال شاهد (استون ۸۰ درصد) اندازه‌گیری شد. غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید:

$$\text{رابطه ۱: } C_a = 12.25(A_{663.2}) - 2.79(A_{646.8}) \text{ : کروفیل } a$$

$$\text{رابطه ۲: } C_b = 21.51(A_{646.8}) - 5.1(A_{663.2}) \text{ : کروفیل } b$$

رابطه ۳:

$$C_{x+c} = \frac{1000A_{470} - 1.8C_a - 85.02C_b}{198} : (C_{x+c}) \text{ کاروتنوئیدهای کل}$$

سنجش میزان آنتوسیانین‌ها: برای استخراج و سنجش آنتوسیانین کل، از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد (Rabino & Mancinelli, 1986). مقدار یک گرم از بافت خشک شده گیاهی در هاون چینی به همراه ۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول اسیدی (شامل یک درصد اسید کلریدریک حجمی/حجمی) به طور کامل ساییده و هموژن شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شدند تا استخراج کامل شود. پس از این دوره، مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ در سانتی‌فیوژ قرار گرفت و فاز رویی که حاوی آنتوسیانین‌ها بود، برای سنجش جدا گردید. جذب نوری فاز رویی در دو طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر و در برابر حلال شاهد (متانول اسیدی ۱ درصد) اندازه‌گیری شد. برای تصحیح اثرات تداخلی ناشی از حضور کلروفیل و محصولات تخریبی آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر، از فرمول ارائه شده استفاده گردید. بدین ترتیب، مقدار جذب تصحیح‌شده (A) برای هر عصاره مطابق رابطه زیر محاسبه شد:

$$A = A_{530} - (0.25 \times A_{657})$$

تیمارها و نحوه محلول‌پاشی: نانوکودهای مورد استفاده (کلات آهن و کلات روی) از شرکت ایرانی خضراء تهیه و پیش از استفاده، عناصر آن‌ها سنجش شدند. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح نانوکود کلات آهن (صفر به عنوان شاهد، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سه سطح نانوکود کلات روی (صفر به عنوان شاهد، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند که در دو مرحله فنولوژیکی رشد میوه، شامل مرحله غوره‌گی (تغییر رنگ حبه) و مرحله رسیدگی کامل، به صورت محلول‌پاشی برگی اعمال شدند. محلول‌پاشی با استفاده از سمپاش دستی ۱۰ لیتری در ساعات اولیه صبح و پیش از افزایش دمای هوا، تا حد رولناب (آب‌چکان) روی تمامی بخش‌های هوایی تاک‌ها انجام گرفت. به منظور افزایش جذب و پخش‌شدگی محلول‌ها، ۰/۲ درصد حجمی ماده فعال‌سطحی توین ۲۰ به کلیه محلول‌های تیماری اضافه گردید. تاک‌های گروه شاهد نیز تنها با محلول آب مقطر و توین ۲۰ (بدون نانوکود) محلول‌پاشی شدند.

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری از دو بخش مختلف گیاه شامل پوست حبه و برگ‌های انگور، در هر یک از دو مرحله فنولوژیکی (غوره‌گی و رسیدگی) انجام گرفت. نمونه‌های برداشت‌شده بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و برای انجام آنالیزهای مربوطه آماده‌سازی و نگهداری شدند.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید بر اساس روش Lichtenthaler (1987) انجام گرفت. بدین منظور، ۰/۲ گرم از بافت تازه‌ی گیاهی در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به طور کامل هموژنه (سائیده) شد. عصاره‌ی حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید و سپس حجم آن با استون ۸۰ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر تنظیم

محلول به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و عصاره رویی در ظروف پوشانده شده با ورقه آلومینیومی جمع‌آوری گردید. رسوب مجدداً دو بار دیگر با ۶۰ میلی‌لیتر متانول خالص عصاره‌گیری شد. عصاره‌های ترکیبی با متانول خالص به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شدند. اندازه‌گیری کمی رسوراترول با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) در فاز معکوس انجام شد (Lopez *et al.*, 2001) ستون ODS-C18 (۴/۶×۲۵۰) میلی‌متر، اندازه ذرات ۵ میکرومتر) و فاز متحرک ایزوکراتیک شامل متانول ۱۰۰ و اسید استیک ۵ درصد آبی با جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. پس از عبور عصاره‌ها از فیلتر سرسوزنی ۰/۴۵ میکرومتر، ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه تزریق گردید. شناسایی در طول موج ۳۰۶ نانومتر انجام شد و زمان بازداری رسوراترول حدود ۳۷ دقیقه در نظر گرفته شد. از آشکارساز Syknm S3210 UV/Vis استفاده شد و غلظت نمونه‌ها از روی سطح زیر پیک و با استفاده از منحنی استاندارد رسوراترول (شرکت سیگما، آمریکا) محاسبه گردید.

سنجش عناصر روی و آهن: برای اندازه‌گیری غلظت عناصر روی و آهن، ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه‌های گیاهی خشک‌شده در کروزه‌های چینی قرار داده شد و به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در کوره‌ی الکتریکی به خاکستر تبدیل گردید. سپس به هر کروزه ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال افزوده شد و کروزه‌ها به مدت کوتاهی بر روی حمام بن‌ماری (آب گرم) با حرارت ملایم قرار گرفتند تا خاکستر کاملاً در اسید حل شود. محلول حاصل از کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد و عصاره‌ی صاف‌شده در بالن ژوژه جمع‌آوری گردید. در نهایت، حجم نهایی عصاره با افزودن آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر تنظیم شد. سپس غلظت روی و آهن در عصاره‌های حاصل با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل AS 52 S AOAC International, 2006) بر اساس روش (ConterAA 700 -) اندازه‌گیری شد. تمامی سنجش‌ها با سه تکرار انجام گرفت و غلظت نهایی عناصر بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه گزارش شد.

آنالیز آماری: آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. داده‌های حاصله با آزمون ANOVA و با نرم افزار SAS تجزیه آماری شدند. آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تعیین معنی دار بودن تفاوت آماری میان تیمارها در سطح احتمال ۰/۰۱ و بکار رفت. رسم نمودارها نیز با نرم افزار EXCEL نسخه ۲۰۱۶ انجام شد. تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) و شاخص ترکیب وزنی (WCI) با نرم افزار R انجام شد.

که در آن A_{657} و A_{530} به ترتیب مقادیر جذب اندازه‌گیری‌شده در طول موج‌های ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر هستند. از سیانیدین-۳-گلوکوزید به عنوان استاندارد استفاده شد.

سنجش مقدار فلاونوئید کل: برای استخراج ترکیبات فلاونوئیدی کل، یک گرم از پودر نمونه‌های برگ با استفاده از متانول خالص (۱۰۰ درصد) عصاره‌گیری شد. عصاره‌های متانولی حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شده و سپس تحت تبخیر حلال قرار گرفتند. باقیمانده‌ی خشک در متانول مجدداً حل و پس از عبور از فیلتر، برای سنجش کمی فلاونوئیدها آماده گردید. اندازه‌گیری بر اساس روش اسپکتروفتومتری با استفاده از معرف آلومینیوم کلرید انجام شد (Seymohammadi *et al.*, 2026). حجم مناسب عصاره برای نمونه‌های برگ ۰/۱ میلی‌لیتر تعیین شد. به غلظت معینی از نمونه‌ها ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات یک مولار افزوده شده و در نهایت با ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم نهایی رسیدند. پس از ورتکس کردن و ۳۰ دقیقه ملندگاری، جذب محلول‌ها با دستگاه UV-Vis اسپکتروفتومتر در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت نهایی فلاونوئیدهای کل در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین و بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم ماده خشک محاسبه شد.

سنجش ترکیبات فنلی کل: برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل، از روش اسپکتروفتومتری با معرف Folin-Denis بر اساس روش (Ranganna 1986) استفاده شد. میزان ۰/۱ گرم از نمونه‌های پوست حبه و برگ توسط متانول ۸۰ درصد در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت استخراج گردید. عصاره‌های حاصل پس از صاف کردن با کاغذ صافی واتمن شماره ۱، تغلیظ و مجدداً در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شدند. سپس حجم یک میلی‌لیتر از عصاره با یک میلی‌لیتر معرف Folin-Denis و دو میلی‌لیتر محلول اشباع سدیم کربنات مخلوط گردید. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در تاریکی، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis قرائت شد. برای تهیه منحنی استاندارد از اسید تانیک استفاده گردید و غلظت فنل کل نمونه‌ها بر اساس منحنی حاصل محاسبه و به صورت میلی‌گرم اسید تانیک در هر گرم وزن خشک گزارش شد.

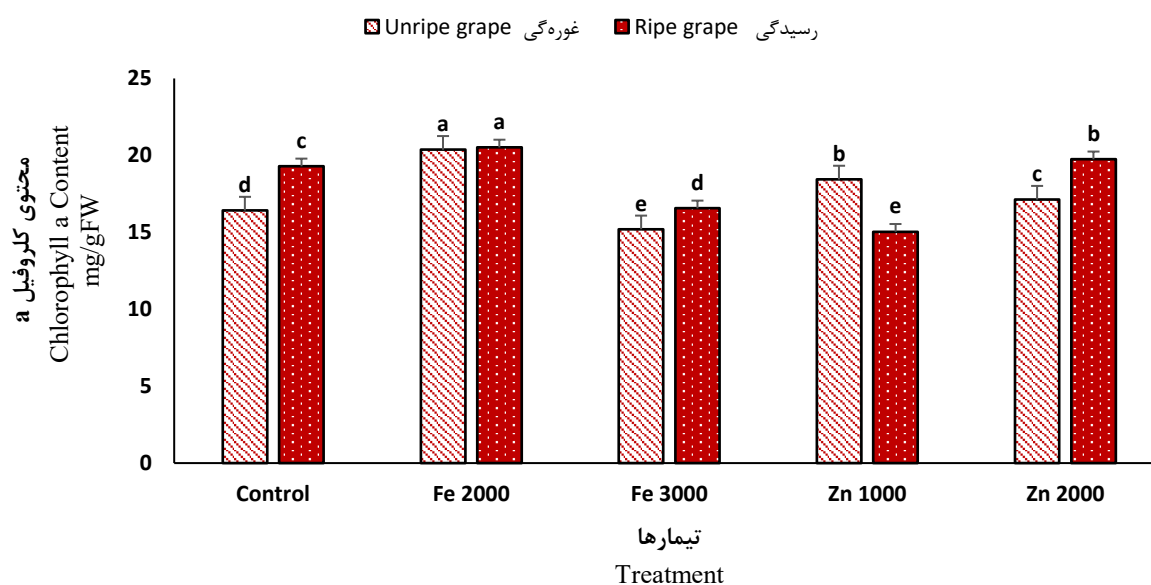
سنجش رسوراترول: استخراج رسوراترول بر اساس روش‌های (Soleas *et al.* 1995) و (Bavaresco *et al.* 1997) با تغییرات جزئی انجام شد. ده گرم از حبه‌ها و برگ‌ها به‌طور جداگانه در هاون خرد شده، با ۶۰ میلی‌لیتر متانول خالص در ارلن‌مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شد.

نتایج و بحث

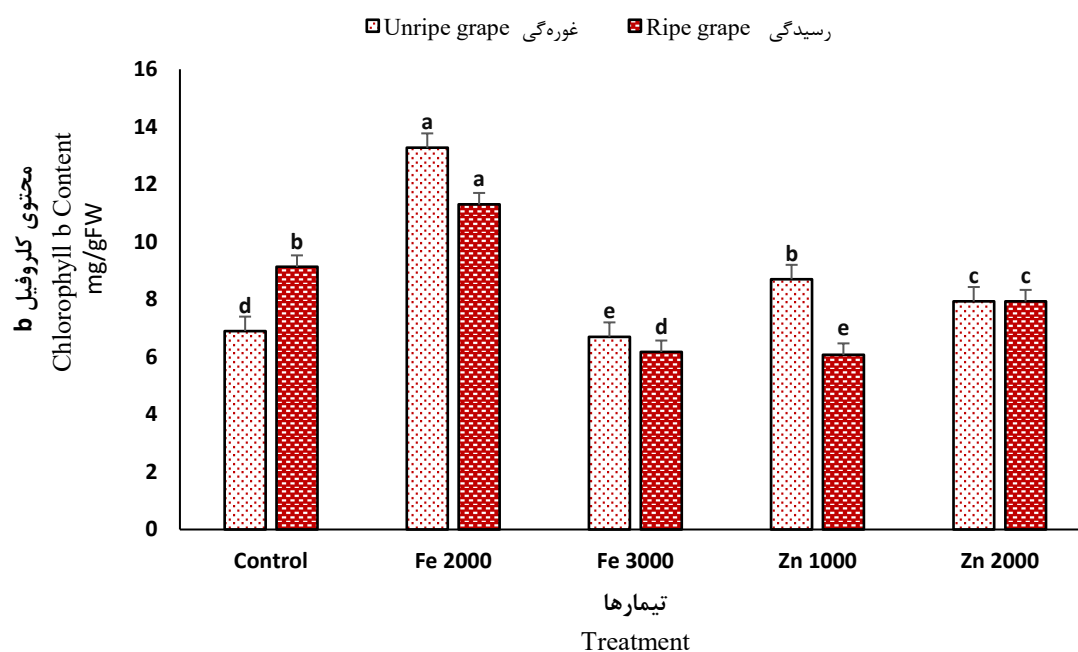
اثر نلنو کود کلات آهن و روی بر محتوای رنگیزه‌های

فتوسنتزی برگ: نتایج نشان داد که هر دو نانوکود تأثیر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید در هر دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی داشتند ($p < 0/01$). در مرحله غوره‌گی، تیمار آهن ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر بیشترین افزایش کلروفیل a (۲۰/۳۷)، کلروفیل b (۱۳/۲۷) و کاروتنوئید (۵/۲۳) را داشت و پس از آن روی ۱۰۰۰

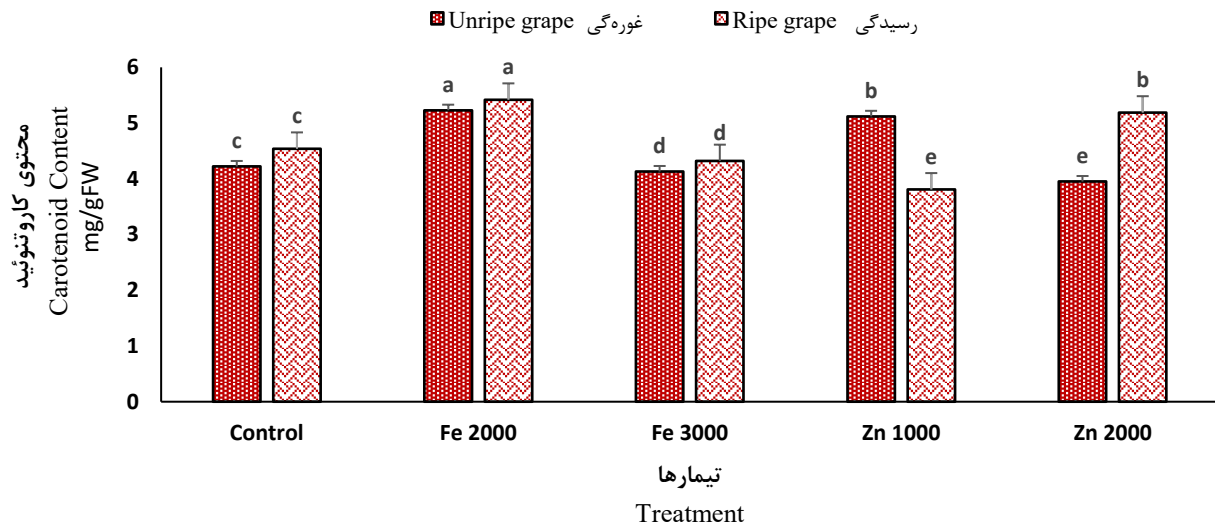
میلی گرم در لیتر قرار گرفت. آهن ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر در اکثر موارد کاهش معنی‌دار رنگیزه‌ها را نسبت به شاهد نشان داد (شکل‌های ۱). در مرحله رسیدگی، الگوی مشابهی مشاهده شد و آهن ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر افزایش کلروفیل a (۲۰/۵۲)، کلروفیل b (۱۱/۳) و کاروتنوئید (۵/۴۲) داشت. این یافته با نتایج Peyvandi *et al.* (2012) همسو است و نشان می‌دهد پاسخ رنگیزه‌های فتوسنتزی به آهن وابسته به غلظت است و افزایش بیش از حد آن اثر تنش‌زا دارد.



الف



ب.



ث

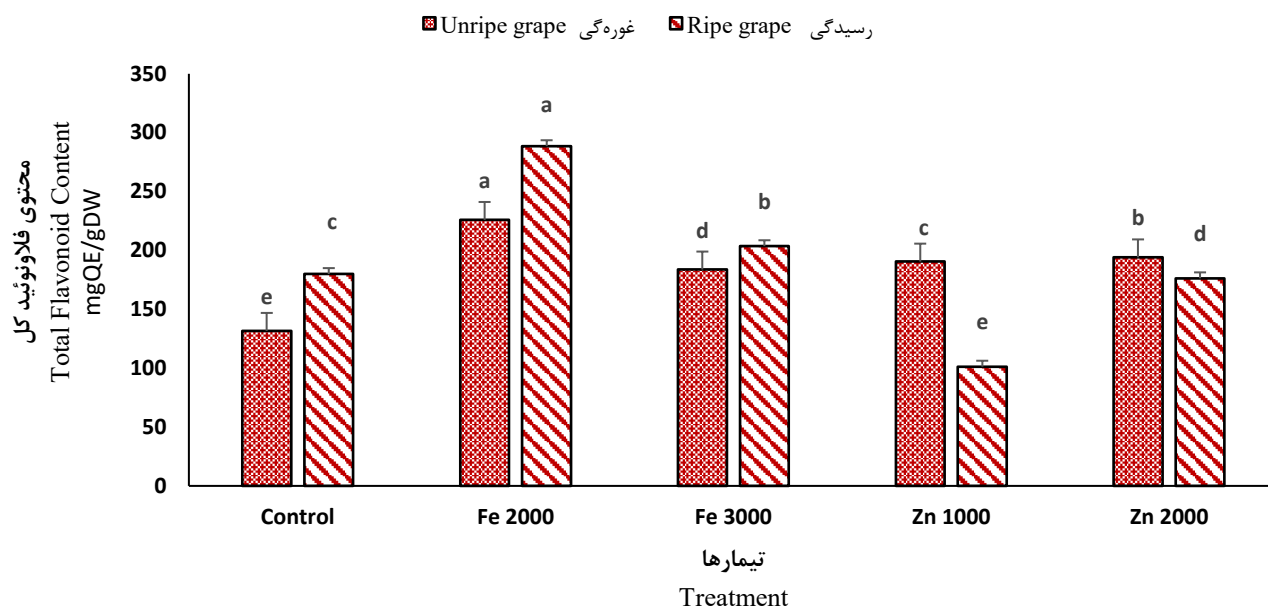
شکل ۱- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر محتوی کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب) و کارتنوئید (ث) برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 1- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on the total chlorophyll a (A), chlorophyll b (B) and carotenoid (C) content of grape leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).

خشک، تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که به‌طور کلی تأثیر نانو کود کلات آهن در هر دو مرحله رشد انگور بیشتر از نانو کود کلات روی بود. همچنین، کاربرد نانو کود کلات آهن با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو مرحله رشد، بیشترین تأثیر را بر افزایش محتوای فلاونوئید برگ داشت. این یافته‌ها با نتایج Kamali et al. (2013) همسو می‌باشد، آن‌ها گزارش کردند که کاربرد عناصر ریزمغذی آهن، روی باعث افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه و ساقه، فلاونوئید و آنتوسیانین در گیاه اسفناج گردید.

اثر نانو کود کلات آهن و روی بر آنتوسیانین‌های کل برگ: نتایج حاصل از اندازه‌گیری آنتوسیانین کل برگ در مرحله غوره‌گی نشان داد که تیمارهای نانو کود کلات آهن و روی در هیچ‌یک از غلظت‌های مورد بررسی، تأثیر افزایش معنی‌داری بر محتوای آنتوسیانین نسبت به شاهد نداشتند. به‌طوری که مقادیر آنتوسیانین در تیمارهای آهن ۲۰۰۰ (۱/۰۷)، آهن ۳۰۰۰ (۱/۱۵)، روی ۱۰۰۰ (۱/۰۵) و روی ۲۰۰۰ (۱/۰۹) نسبت به شاهد (۱/۲۷) تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. با این حال، تیمار نانو کود کلات روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، اثر کاهشی بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشت و مقدار آنتوسیانین را به ۱/۰۵ رساند. در مقابل، اثر کاهشی تیمار نانو کود کلات آهن با غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۱/۱۵) از بقیه تیمارها کمتر بود (شکل ۳).

اثر نانو کود کلات آهن و روی بر فلاونوئیدهای برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر تأثیر بر محتوای فلاونوئید برگ در هر دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، تمامی تیمارهای نانو کود کلات آهن و روی نسبت به شاهد اثر مثبت و معنی‌داری بر محتوای فلاونوئید در مرحله غوره‌گی داشتند. در این مرحله، تیمار نانو کود کلات آهن با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۲۲۵/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، بیشترین تأثیر را نسبت به شاهد (۱۳۱/۶۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) نشان داد، در حالی که غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۱۸۳/۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، کمترین تأثیر را در بین تیمارها بر محتوای فلاونوئید برگ داشت (شکل ۲). در مرحله رسیدگی، هر دو غلظت نانو کود کلات آهن (۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث افزایش معنی‌دار محتوای فلاونوئید گردیدند، به‌گونه‌ای که اثر افزایشی غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۲۸۸/۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، بیشتر از غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۲۰۳/۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. در مقابل، تیمار نانو کود کلات روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۱۰۱/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، نسبت به شاهد (۱۷۹/۹۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) اثر کاهشی بر محتوای فلاونوئید در مرحله رسیدگی نشان داد. تیمار روی با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز با میانگین ۱۷۶/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن



شکل ۲- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر فلاونوئید کل برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 2- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on the total flavonoid content of grape leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).

رنگدانه‌هاست، در حالی که کاهش شدید آن در تیمار روی ۲۰۰۰ (۰/۹۸) و نیز اثر کاهشی هر دو غلظت آهن (۲۰۰۰ و ۳۰۰۰) در مرحله رسیدگی، نشان‌دهنده اثر مهاری و احتمالاً سمی غلظت‌های بالای این فلزات بر متابولیسم ثانویه برگ است. یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج Meggio *et al.* (2010) که در شرایط کمبود آهن، افزایش آنتوسیانین را گزارش کردند، تا حدی همسو است. با این حال، پژوهش Meggio و همکاران صرفاً در شرایط کمبود آهن انجام شده و تأثیر غلظت‌های مختلف آهن (به‌ویژه غلظت‌های بالا) را بررسی نکرده است. در پژوهش حاضر، نشان داده شد که غلظت متوسط آهن (۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر) اثر کاهشی بر آنتوسیانین دارد که احتمالاً به دلیل غلظت بالای آهن و ایجاد سمیت سلولی از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن است.

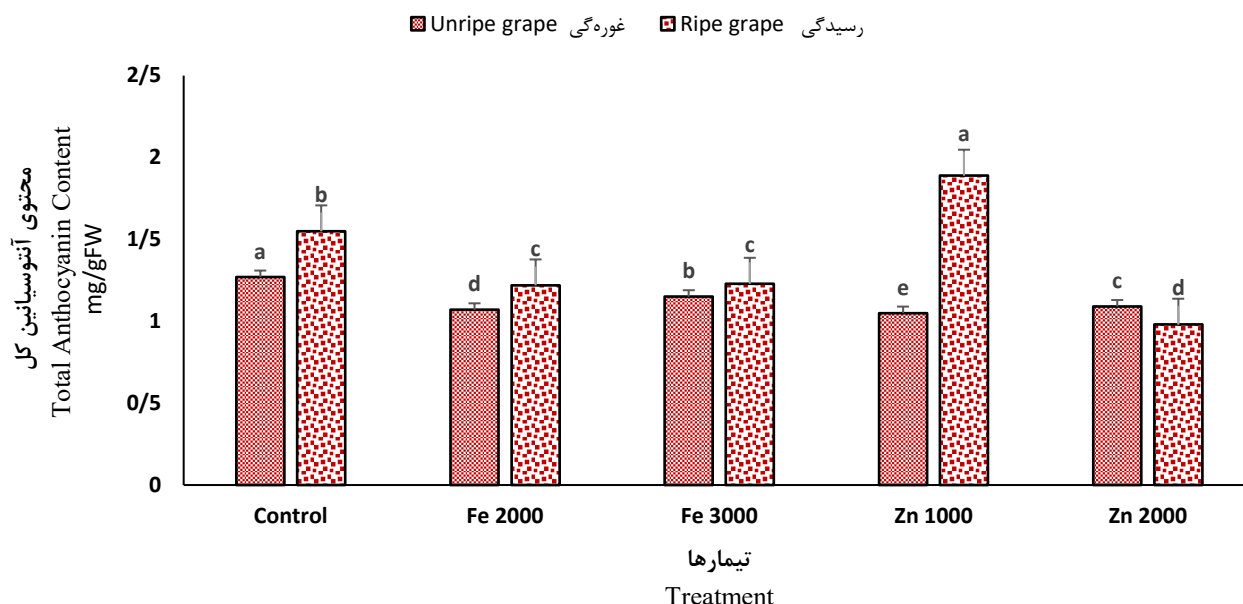
اثر نانو کود کلات آهن و روی بر فنل کل موجود در برگ و پوست میوه: در مرحله غوره‌گی، تیمارها تأثیر معنی‌داری بر فنل کل پوست نداشتند و مقادیر در تیمارهای روی ۱۰۰۰ (۱۱۰/۴۵) و روی ۲۰۰۰ (۱۱۷/۱۰) نسبت به شاهد (۱۴۶/۰۳) تفاوت معنی‌داری نشان ندادند، اما آهن ۳۰۰۰ باعث کاهش معنی‌دار به ۷۷/۲۰ (پایین‌ترین مقدار) و آهن ۲۰۰۰ به ۸۴/۸۶ گردید (شکل ۴). در برگ غوره‌گی، آهن ۳۰۰۰ بیشترین افزایش را از ۱۳۷/۷۵ به ۱۶۱/۳۵ داشت، در حالی که روی ۲۰۰۰ کاهش شدیدی به ۷۷/۶۶ نشان داد. در مرحله رسیدگی، کلیه تیمارها باعث افزایش معنی‌دار

در مرحله رسیدگی، الگوی پاسخ به تیمارها تغییر چشمگیری یافت. تیمار نانو کود کلات روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر با افزایش از ۱/۵۵ در شاهد به ۱/۸۹، بیشترین تأثیر را بر افزایش محتوای آنتوسیانین برگ در مرحله رسیدگی داشت. در مقابل، تیمارهای نانو کود کلات آهن در هر دو غلظت ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم بر لیتر، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، اما هر دو نسبت به شاهد (۱/۵۵) اثر کاهشی بر محتوای آنتوسیانین برگ در این مرحله از رشد داشتند. تیمار نانو کود کلات روی با غلظت ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر با مقدار ۰/۹۸، نسبت به همه تیمارها، اثر کاهشی بیشتری بر محتوای آنتوسیانین برگ در مرحله رسیدگی داشت.

پایداری آنتوسیانین‌ها تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله pH، دما، نور، اکسیژن، یون‌های فلزی و سایر ترکیبات همراه قرار دارد (Khanafari *et al.*, 2009). تحقیقات پیشین نشان داده‌اند که کمبود یا بیش‌بود آهن در انگور، با تأثیر بر بیان ژن‌های کلیدی مسیر بیوسنتز محتوای آنتوسیانین را تعدیل می‌کند و تنها غلظت‌های متوسط آهن منجر به افزایش معنی‌دار این ترکیبات می‌شود (Shi *et al.*, 2017). همچنین مصرف روی در شرایط کمبود این عنصر، با تأثیر بر بیان ژن‌های مسیر فنیل پروپانویید، تجمع آنتوسیانین‌ها را در پوست میوه افزایش می‌دهد. در تحقیق حاضر، افزایش معنی‌دار آنتوسیانین برگ در تیمار روی ۱۰۰۰ (۱/۸۹ نسبت به شاهد ۱/۵۵) نشان‌دهنده اثر تحریکی غلظت متوسط روی بر بیوسنتز این

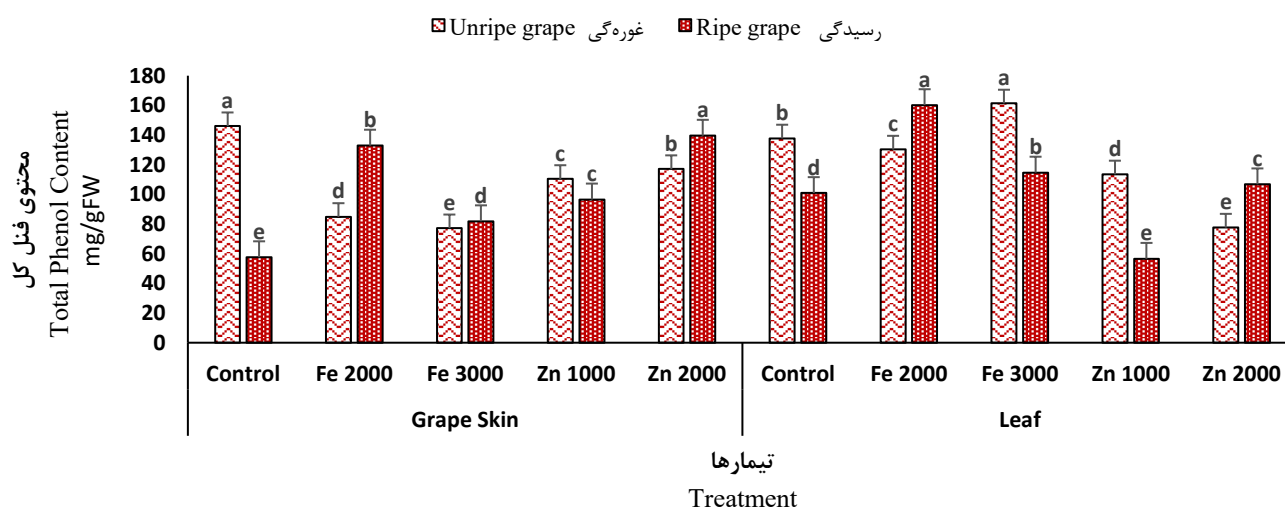
افزایش از ۱۰۰/۹ به ۱۶۰/۱۸ بیشترین تأثیر را نشان داد، در حالی که روی ۱۰۰۰ کاهش به ۵۶/۵۸ و روی ۲۰۰۰ افزایش خفیفی به ۱۰۶/۷۸ داشت.

فصل پوست شدند و آهن ۲۰۰۰ با ۱۳۲/۸۸ (بیش از دو برابر شاهد ۵۷/۶۶)، روی ۲۰۰۰ با ۱۳۹/۵۵ و روی ۱۰۰۰ با ۹۶/۵۷ بیشترین افزایش را داشتند (شکل ۶). در برگ رسیدگی، آهن در هر دو غلظت (۲۰۰۰ و ۳۰۰۰) افزایش معنی‌دار داشت و آهن ۲۰۰۰ با



شکل ۳- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر آنتوسیانین کل برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 3- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on the total Anthocyanin content of grape leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).



شکل ۴- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر محتوای فنل کل موجود در پوست میوه و برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 4- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on the total Phenol content in grape skin, flesh, and leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).

آهن با غلظت متوسط (۴۶ میکرومولار) با تأثیر بر بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز، محتوای آنتوسیانین میوه را افزایش می‌دهد، در

پاسخ متفاوت بافت‌ها نشان‌دهنده اولویت‌بندی متابولیسم گیاه در تخصیص منابع به بافت‌های تولیدمثلی در مرحله رسیدگی است.

اثر مهاری آهن در بافت‌های غیرپوست غوره (صفر شدن رسوراترول در برگ با Fe ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر) یک یافته بسیار مهم است که نشان می‌دهد آهن اضافی در مراحل اولیه رشد، ممکن است مسیر بیوسنتز رسوراترول را در بافت‌های رویشی مهار کند و تمام منابع را به سمت پوست (که نقش محافظتی از دانه دارد) هدایت نماید (Shi et al., 2017; Yan et al., 2026). مطالعه Jeandet (1991) نشان داد که تولید رسوراترول از مرحله غوره‌گی تا رسیدگی کاهش می‌یابد. اگرچه یافته‌های پژوهش حاضر در مورد کاهش رسوراترول در مرحله رسیدگی (در تیمار شاهد) با این مطالعه همسو است، اما مطالعه Jeandet (1991) به تأثیر تغذیه معدنی بر این روند نپرداخته و صرفاً تغییرات طبیعی رسوراترول را گزارش کرده است. یافته جدید پژوهش حاضر این است که کاربرد نانوکودها می‌تواند این روند طبیعی را معکوس کند، به نحوی که آهن ۲۰۰۰ در مرحله غوره‌گی باعث افزایش ۲/۵ برابری رسوراترول پوست شد (۱۱۰/۴۴ در مقابل ۴۲/۳۸ شاهد). همچنین، برخلاف پژوهش Jeandet (1991) که فقط مرحله رسیدگی را بررسی کرده است، پژوهش حاضر نشان داد که مرحله غوره‌گی پاسخ‌دهی بیشتری به آهن دارد، که این خود قابل توجه است.

اثر نانو کود کلات آهن و روی بر غلظت آهن و روی برگ: نتایج مربوط به اثر تیمارها بر غلظت آهن برگ در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی در شکل ۶ ارائه شده است ($p \leq 0/01$). در مرحله غوره‌گی، تمامی تیمارها نسبت به شاهد (۳۱/۲ میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک) افزایش معنی‌داری داشتند و بیشترین غلظت آهن در تیمار آهن ۳۰۰۰ با ۳/۸۱ میکروگرم بر گرم مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها برتری معنی‌داری نشان داد، در حالی که روی ۲۰۰۰ کمترین تأثیر را داشت، هرچند نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. در مرحله رسیدگی، کلیه تیمارها نسبت به شاهد (۲/۴۳ میکروگرم بر گرم) افزایش معنی‌داری داشتند و آهن ۲۰۰۰ با ۵/۱۸ بیشترین تأثیر را نشان داد و به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها برتر بود، در حالی که روی ۲۰۰۰ با ۲/۹۱ کمترین افزایش را نسبت به شاهد داشت.

نتایج مربوط به اثر تیمارها بر غلظت روی برگ در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی در شکل ۷ ارائه شده است ($p \leq 0/01$). در مرحله غوره‌گی، بیشترین غلظت روی در تیمار روی ۱۰۰۰ با میانگین ۶/۵۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک (نسبت به شاهد ۳/۲۳) مشاهده شد و آهن ۲۰۰۰ با ۴/۵۵ افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت، اما روی ۲۰۰۰ با ۲/۴۰ کاهش معنی‌داری نشان داد. در مرحله رسیدگی، الگوی پاسخ تغییر یافت و روی ۲۰۰۰ با ۶/۱۰ بیشترین افزایش را داشت و پس از آن روی ۱۰۰۰ با ۲/۲۰ قرار گرفت، در حالی که آهن ۲۰۰۰ با ۱/۵۶ کاهش معنی‌دار و آهن ۳۰۰۰ با ۱/۸۷

حالی که کمبود یا بیش‌بود آن باعث کاهش این ترکیبات می‌شود (Shi et al., 2017). مصرف روی در شرایط کمبود، با افزایش بیان ژن‌های مسیر فنیل پروپانویید، تجمع ترکیبات فنولی در پوست میوه را افزایش می‌دهد (Song et al., 2015). یافته‌های حاضر با این مکانیسم‌ها همخوانی دارد و نقش تعیین‌کننده غلظت و زمان مصرف کودهای ریزمغذی را در بهبود کیفیت فنولی انگور تأیید می‌کند. در بررسی‌های Shi et al. (2003) روی انگور، کاربرد روی باعث افزایش معنی‌دار فنل کل شد که با نتایج حاضر (افزایش فنل پوست با روی ۲۰۰۰ در مرحله رسیدگی) همسو است.

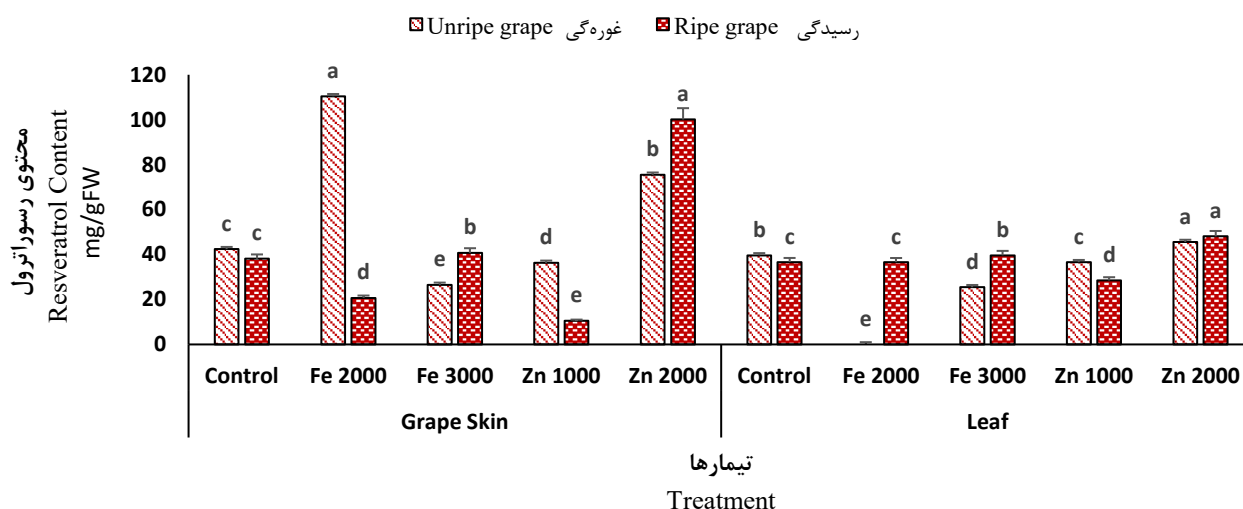
اثر نانو کود کلات آهن و روی بر رسوراترول: نتایج مربوط به اثر تیمارها بر محتوای رسوراترول در پوست و برگ انگور در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی در شکل ۵ ارائه شده است ($p \leq 0/01$). در مرحله غوره‌گی، بیشترین میزان رسوراترول پوست در تیمار آهن ۲۰۰۰ با میانگین ۱۱۰/۴۴ میکروگرم بر گرم وزن خشک (نسبت به شاهد ۴۲/۳۸) و پس از آن روی ۲۰۰۰ با ۷۵/۵۰ مشاهده شد، در حالی که آهن ۳۰۰۰ با ۲۶/۵۱ کمترین تأثیر را داشت و حتی از روی ۱۰۰۰ (۳۶/۳۰) نیز پایین‌تر بود. در برگ غوره‌گی، روی ۲۰۰۰ با ۴۵/۵۸ بیشترین افزایش را نشان داد و شاهد (۳۹/۶۳) و روی ۱۰۰۰ (۳۶/۵۹) تفاوت معنی‌داری نداشتند، اما آهن ۳۰۰۰ باعث کاهش به ۲۵/۴۶ گردید و قبل‌توجه اینکه آهن ۲۰۰۰ هیچ رسوراترولی در برگ نشان نداد. در مرحله رسیدگی، الگوی پاسخ تغییر یافت و روی ۲۰۰۰ با ۱۰۰/۱۳ بیشترین تأثیر را بر رسوراترول پوست داشت (نسبت به شاهد ۳۸/۱۴)، در حالی که روی ۱۰۰۰ (۱۰/۵۲) و آهن ۲۰۰۰ (۲۰/۷۲) کاهش معنی‌دار و آهن ۳۰۰۰ (۴۰/۷۷) تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. در برگ رسیدگی، روی ۲۰۰۰ با ۴۸/۰۸ بیشترین افزایش را داشت و آهن ۳۰۰۰ (۳۹/۶۴) با شاهد (۳۶/۶۵) تفاوتی نداشت، اما روی ۱۰۰۰ (۲۸/۴۸) کاهش معنی‌دار و آهن ۲۰۰۰ (۳۶/۶۳) تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت.

پوست انگور، هدف اصلی تولید رسوراترول است و واکنش آن به کودها بسیار شدیدتر از برگ است. نانوکلات آهن با دوز ۲۰۰۰ در مرحله غوره‌گی، یک محرک فوق‌العاده قوی برای افزایش رسوراترول پوست است (۱۱۰/۴۴) اما همین تیمار در برگ، رسوراترول را به صفر می‌رساند. این یعنی آهن به صورت اختصاصی سنتز رسوراترول را به بافت پوست هدایت می‌کند و احتمالاً از طریق فعال‌سازی مسیر فنیل‌آلانین آمونیاک لیزاز در پوست عمل می‌نماید (Hasan & Bae, 2017; Wang et al., 2016).

نانوکلات روی با دوز ۲۰۰۰ در مرحله رسیدگی، بهترین تیمار برای افزایش رسوراترول در هر دو بافت است و در پوست به ۱۰۰/۱۳ می‌رسد. این نشان می‌دهد که روی نقش کلیدی در مرحله پایانی رسیدن و تبدیل ترکیبات فنولی به رسوراترول دارد.

میلی گرم در لیتر در مرحله غوره گی نه تنها افزایشی در غلظت روی برگ ایجاد نکرد، بلکه باعث کاهش معنی دار آن نسبت به شاهد گردید (از ۶/۵۷ به ۲/۴۰ میکروگرم بر گرم) که احتمالاً ناشی از اثرات تداخلی یا سمیت روی در غلظت‌های بالا بوده و می‌تواند جذب سایر عناصر را مختل کرده و سبب کاهش جذب روی از طریق مکانیسم‌های تنظیمی در گیاه گردد (Tisdale *et al.*, 2003)؛ این موضوع اهمیت تعیین غلظت بهینه کود را در مراحل مختلف رشد نشان می‌دهد.

تفاوت معنی داری با شاهد (۲/۶۶) نداشت. به طور کلی، کاربرد برگی نانوکود کلات روی به طور مؤثری غلظت روی برگ را در هر دو مرحله افزایش داد، هرچند پاسخ به غلظت و مرحله رشدی وابسته بود؛ بیشترین افزایش در مرحله غوره گی در روی ۱۰۰۰ (۶/۵۷) و در مرحله رسیدگی در روی ۲۰۰۰ (۶/۱۰) مشاهده شد که نشان‌دهنده افزایش جذب روی با افزایش غلظت در مراحل پیشرفته تر رشد است. این یافته با نتایج Ali *et al.* (2021) مبنی بر افزایش جذب روی در انگورهای رومیزی در پاسخ به کاربرد برگی این عنصر همسو است. افزایش غلظت روی از ۱۰۰۰ به ۲۰۰۰

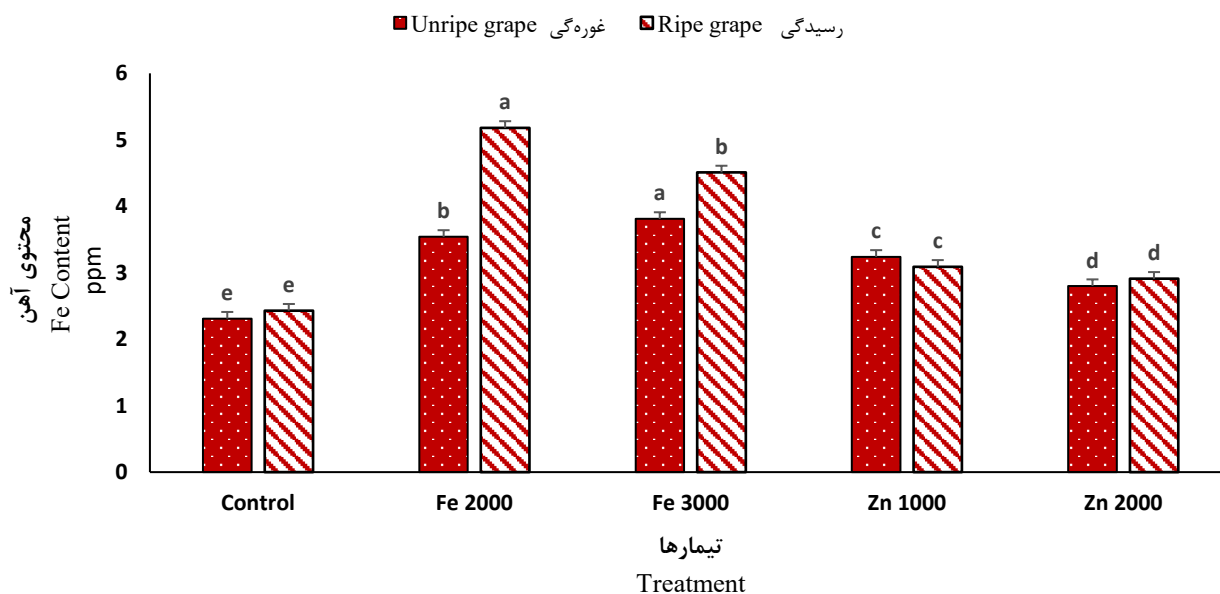


شکل ۵- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر محتوی رسوراترول موجود در پوست و برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 5- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on resveratrol content in grape skin, and leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).

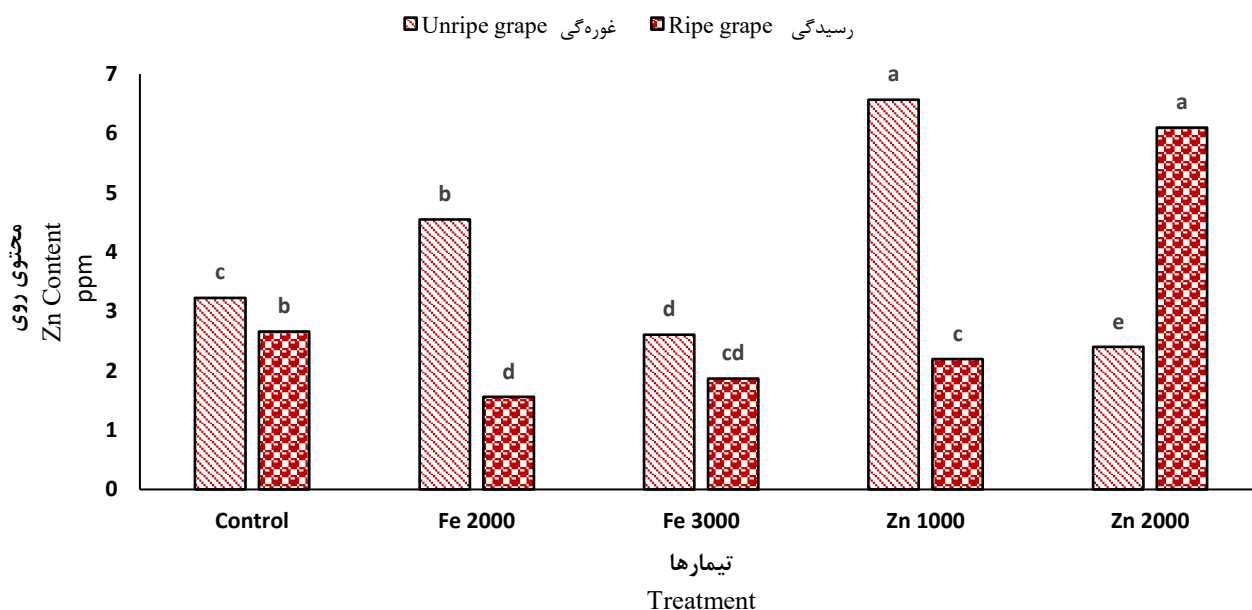
(2020) مطابقت داشت. نانوکودها با فراهم کردن بیشترین سطح تماس برای واکنش‌های متابولیکی، سبب افزایش سرعت فتوسنتز شده و آهن نیز با هدف‌گیری دیواره سلولی، کارایی فرآیندهای بیوشیمیایی را افزایش می‌دهد (Obaid Al-Shahbani *et al.*, 2022). کاهش غلظت روی در اثر کاربرد آهن را می‌توان به دلایل زیر نسبت داد: آهن و روی از سیستم‌های انتقال مشابهی در ریشه و برگ استفاده می‌کنند و حضور بیش از حد آهن می‌تواند جذب روی را مهار کند (Shanmugan *et al.*, 2011). همچنین افزایش غلظت آهن ممکن است بیان ژن‌های مسئول انتقال روی را کاهش دهد (Dubeaux *et al.*, 2015).

تأثیر تیمارهای آهن بر غلظت روی برگ نیز قابل توجه بود. در مرحله غوره گی، آهن ۲۰۰۰ باعث افزایش معنی دار روی برگ (۴/۵۵) میکروگرم بر گرم) شد که احتمالاً به دلیل بهبود وضعیت تغذیه‌ای کلی گیاه و افزایش جذب سایر عناصر است (Shi *et al.*, 2018). در مقابل، در مرحله رسیدگی، هر دو غلظت آهن (۲۰۰۰ و ۳۰۰۰) باعث کاهش غلظت روی برگ (به ترتیب ۱/۵۶ و ۱/۸۷ میکروگرم بر گرم) شدند که نشان‌دهنده رقابت آنتاگونیستی بین آهن و روی در مراحل پیشرفته تر رشد است. این رقابت با نتایج Mohebi *et al.* (2022) در مورد برهمکنش آهن و روی در لنگور همخوانی دارد. افزایش غلظت روی با کاربرد آهن با نتایج Fakharzadeh *et al.*



شکل ۶- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر عنصر آهن برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 6- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on Fe content of grape leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).



شکل ۷- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر عنصر روی برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 7- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on Zn content of grape leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).

نانوکودهای کلات آهن و روی در مراحل غوره‌گی و رسیدگی را نشان می‌دهد (شکل ۸). دو مؤلفه اصلی اول (PC1 و PC2) به ترتیب ۴۱/۶ درصد و ۲۰/۵ درصد از واریانس کل داده‌ها را تبیین کردند که مجموعاً ۶۲/۱ درصد از تغییرات کل را پوشش می‌دهند. این میزان

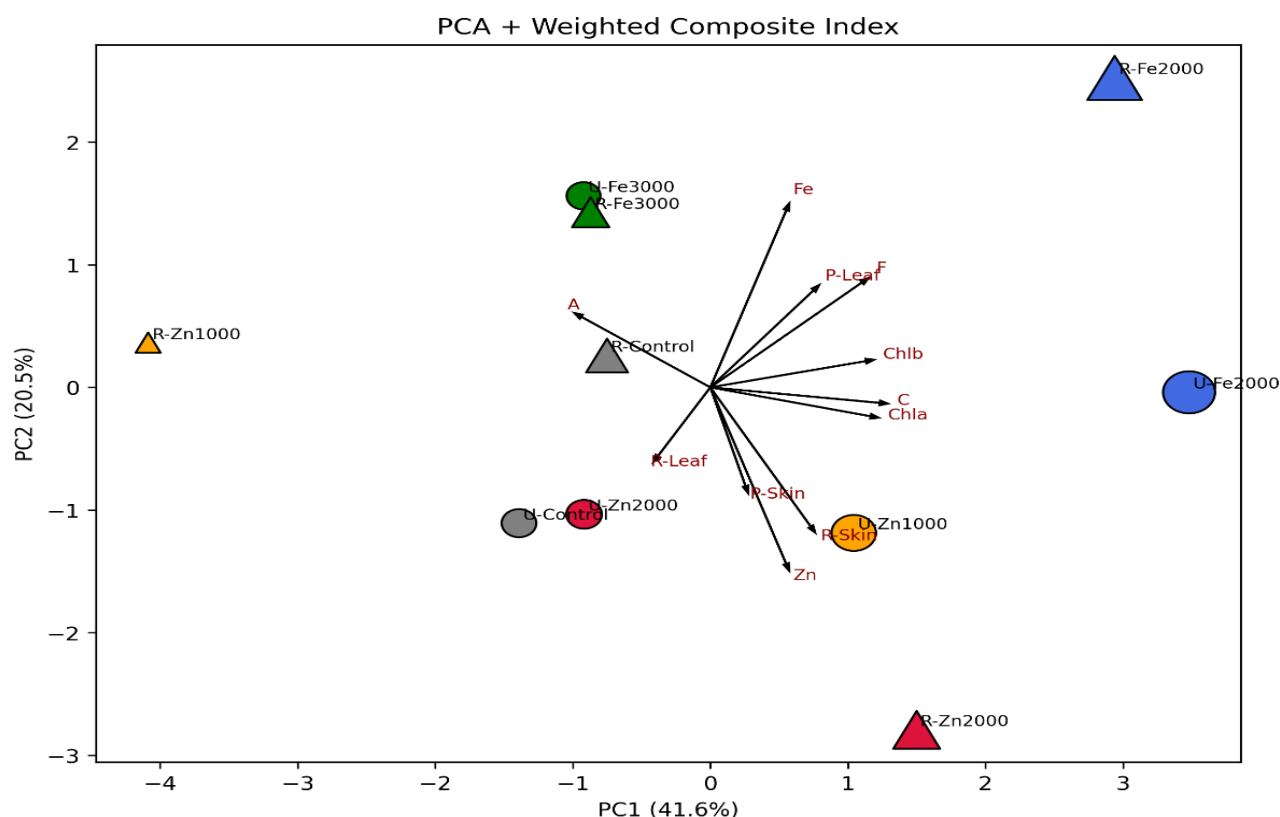
ارزیابی پاسخ انگور به نانو کودهای آهن و روی با تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و شاخص ترکیبی وزنی (WCI): نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) همراه با شاخص ترکیبی وزنی (WCI)، ارزیابی پاسخ چندمتغیره انگور به تیمارهای مختلف

بر اساس شاخص ترکیبی وزنی که عملکرد کلی هر تیمار را بر اساس ترکیب وزنی همه متغیرها نشان می‌دهد (Hasanshahi *et al.*, 2015). تیمارهایی که حباب‌های بزرگ‌تری دارند، از عملکرد کلی بهتری در ترکیب همزمان همه صفات برخوردار بوده‌اند. بر این اساس، تیمارهای آهن ۲۰۰۰ در مرحله غوره‌گی و رسیدگی دارای بزرگ‌ترین حباب‌ها هستند که نشان‌دهنده برتری کلی این دو تیمار در بیشتر صفات اندازه‌گیری شده است. در مقابل، تیمارهای آهن ۳۰۰۰ در مرحله غوره‌گی و روی ۱۰۰۰ در مرحله رسیدگی دارای حباب‌های کوچک‌تری هستند که تأییدکننده اثرات منفی غلظت‌های نامناسب کود بر عملکرد کلی است. نتایج نشان داد که با وجود بیشترین مقدار آنتوسیانین در تیمار روی ۱۰۰۰ در مرحله رسیدگی، اندازه حباب این تیمار نسبتاً کوچک است که نشان می‌دهد عملکرد عالی در یک صفت خاص نمی‌تواند جایگزین عملکرد ضعیف در سایر صفات شود و اهمیت توجه به مجموعه‌ای از ترکیبات کیفی را نشان می‌دهد. موقعیت متمایز تیمار روی ۱۰۰۰ در مرحله رسیدگی در جهت آنتوسیانین نشان می‌دهد که روی با غلظت متوسط در مرحله رسیدگی، محرک اختصاصی بیوسنتز آنتوسیانین است، در حالی که غلظت بالای روی باعث افزایش رسوراترول می‌شود که نشان‌دهنده نقش وابسته به غلظت روی در هدایت مسیرهای متابولیکی ثانویه است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی برگی نانوکودهای کلات آهن و روی، تأثیر معنی‌دار و وابسته به غلظت و مرحله رشدی بر ترکیبات بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی انگور رقم 'بیدانه سفید' دارد. در بین تیمارها، نانوکود آهن با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی، بیشترین تأثیر مثبت را بر افزایش کلروفیل، کاروتنوئید، فلاونوئید، فنل کل و رسوراترول نشان داد. همچنین نانوکود روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله رسیدگی، بیشترین افزایش آنتوسیانین را به همراه داشت. در مقابل، غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکود آهن در اکثر صفات اثر کاهشی و مهارکننده داشت و برای بهبود کیفیت انگور توصیه نمی‌شود. همچنین اثرات آنتاگونیستی بین آهن و روی در مرحله رسیدگی مشاهده شد که نشان‌دهنده نیاز به مدیریت دقیق غلظت و زمان مصرف این عناصر است. به‌طور کلی، بهترین راهکار برای افزایش کیفیت آنتی‌اکسیدانی انگور رقم 'بیدانه سفید'، کاربرد نانوکود آهن ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله غوره‌گی و نانوکود روی ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله رسیدگی (بسته به ترکیب هدف) می‌باشد.

برای تفسیر الگوهای غالب در داده‌های پیچیده بیوشیمیایی قابل قبول است. بررسی جهت و طول بردارهای متغیرها نشان می‌دهد که کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید همبستگی مثبت قوی با یکدیگر داشته و در یک جهت قرار گرفته‌اند که از نظر فیزیولوژیکی قابل انتظار است، زیرا این رنگیزه‌ها همگی در فرآیند فتوسنتز نقش دارند. فلاونوئید و فنل برگ نیز با یکدیگر همبستگی مثبت متوسط نشان دادند و در نزدیکی رسوراترول پوست قرار گرفتند که بیانگر همبستگی مثبت بین این ترکیبات فنلی است. در مقابل، آنتوسیانین در جهتی جدا از سایر متغیرها قرار گرفته که نشان‌دهنده الگوی مستقل با پاسخ متفاوت این ترکیب نسبت به سایر صفات است. قرار گرفتن آنتوسیانین در جهتی متفاوت از کلروفیل‌ها و آهن نشان می‌دهد که تغییرات این ترکیب الزاماً همسو با بهبود وضعیت تغذیه‌ای یا افزایش فتوسنتز نیست. آنتوسیانین‌ها بخشی از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه محسوب می‌شوند و سنتز آن‌ها علاوه بر وضعیت تغذیه‌ای، تحت تأثیر مرحله رشد، شدت نور، تنش‌های محیطی و تنظیم ژنتیکی مسیر فنیل‌پروپانوئید قرار دارد (He *et al.*, 2010). بنابراین انتظار نمی‌رود که این ترکیب همواره با افزایش کلروفیل یا آهن همبستگی مثبت داشته باشد. همچنین، بردارهای مربوط به غلظت آهن و روی در جهت‌های مخالف یکدیگر قرار گرفتند که بیانگر رابطه آنتاگونیستی بین این دو عنصر در جذب و متابولیسم است و با یافته‌های قبلی این مطالعه مبنی بر کاهش غلظت روی در اثر کاربرد آهن در مرحله رسیدگی همسو می‌باشد. بر اساس موقعیت تیمارها در نمودار، تیمار شاهد در مرکز نمودار و نزدیک به مبدأ قرار دارد که نشان‌دهنده شرایط پایه است. تیمار آهن (۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، به‌ویژه در مرحله رسیدگی، در جهت بردارهای کلروفیل‌ها، فلاونوئید و آهن قرار گرفته‌اند و هم‌زمان دارای بزرگ‌ترین شاخص ترکیب وزنی (اندازه حباب بزرگ‌تر) هستند. این موضوع نشان می‌دهد که این تیمار از نظر مجموع صفات مورد بررسی، عملکرد مطلوب‌تری نسبت به سایر تیمارها داشته است. در مقابل، تیمار روی ۱۰۰۰ در مرحله رسیدگی در ناحیه‌ای مخالف بسیاری از صفات فتوسنتزی و تغذیه‌ای قرار گرفته و دارای کوچک‌ترین شاخص ترکیبی است که بیانگر عملکرد ضعیف‌تر این تیمار در مقایسه با سایر تیمارها است. از سوی دیگر، در مرحله غوره‌گی تیمار روی ۱۰۰۰ در جهت روی قرار گرفته است که با بیشترین غلظت روی در این تیمار (۶۵۷ میکروگرم بر گرم) هماهنگی دارد. همچنین تیمارهای روی ۲۰۰۰ و آهن ۳۰۰۰ در موقعیت‌های میانی قرار گرفته‌اند که نشان می‌دهد اثر آن‌ها بر صفات مورد بررسی حد واسطه بوده و پاسخ یکنواختی در تمامی شاخص‌ها ایجاد نکرده‌اند.



شکل ۸- نمودار دوبعدی تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) همراه با شاخص ترکیبی وزن‌دار (WCI) برای ارزیابی پاسخ انگور به نانوکودهای کلات آهن و روی. اندازه حباب‌ها نشان‌دهنده شاخص ترکیبی وزن‌دار است. F، فلاونوئید؛ A، آنتوسیانین؛ Chl a، کلروفیل a؛ Chl b، کلروفیل b؛ C، کاروتنوئید؛ P-Skin، فنول کل پوست انگور؛ P-Leaf، فنول کل برگ؛ R-Skin، رسوراترول پوست انگور؛ R-Leaf، رسوراترول برگ؛ Fe، غلظت آهن؛ Zn، غلظت روی؛ U، مرحله غوره‌گی؛ R، مرحله رسیدگی.

Figure 8- Two-dimensional Principal Component Analysis (PCA) biplot integrated with the Weighted Composite Index (WCI) for evaluating grapevine responses to nano-chelated iron (Fe) and zinc (Zn) fertilizers. Bubble size represents the Weighted Composite Index (WCI). Abbreviations: F: Flavonoid; A, Anthocyanin; Chl a, Chlorophyll a; Chl b, Chlorophyll b; C, Carotenoid; P-Skin, Total Phenol in Grape Skin; P-Leaf, Total Phenol in Leaf; R-Skin, Resveratrol in Grape Skin; R-Leaf, Resveratrol in Leaf; Fe, Iron concentration; Zn, Zinc concentration; U, Unripe stage; R, Ripe stage.

منابع

- Acuña-Avila, P. E., Vásquez-Murrieta, M. S., Hernández, M. O. F., & del Socorro López-Cortéz, M. (2016). Relationship between the elemental composition of grapeyards and bioactive compounds in the Cabernet Sauvignon grapes *Vitis vinifera* harvested in Mexico. *Food Chemistry*, 203, 79-85. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.031>
- Ahmed, F. F., Akl, A. M., & El-Morsy, F. M. (1997). Yield and quality of Banaty' grapes in response to spraying iron and zinc. *HortScience*, 32(3), 516D-516. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.32.3.516D>
- Ali, I., Wang, X., Abbas, W. M., Hassan, M. U., Shafique, M., Tareen, M. J., Fiaz, S., Ahmed, W., & Qayyum, A. (2021). Quality responses of table grapes 'Flame Seedless' as effected by foliarly applied micronutrients. *Horticulturae*, 7(11), 462. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7110462>
- AOAC International. (2006). *Official Method 975.03, Metals in Plants and Pet Foods, Atomic Absorption Spectrophotometric Method*. Association of Official Analytical Chemists.
- Arshad, M., Gerigourian, V., Nazemieh, A., Mostoufi, Y., & Khalighi, A. (2006). Investigation on effects of nitrogen and potassium spray on qualitative characteristics and some of effective physiological factors in bearing of *Vitis vinifera* L. 'Soltani'. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 7(3), 135-146. <https://sid.ir/paper/80863/en> (In Persian)
- Bavaresco, L., Cantu, E., Fregoni, M., & Trevisan, M. (1997). Constitutive stilbene contents of grapevine cluster stems as potential source of resveratrol in wine. *Vitis*, 36(3), 115-118. <https://doi.org/10.5073/vitis.1997.36.115-118>
- Bondada, B. (2016). Nutritional aspects of grape (*Vitis vinifera* L.) clusters afflicted with sour shrivel is related to functionality of its vascular tissues. *American Journal of Plant Sciences*, 7(9), 1367-1387. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.79131>
- Bravdo, B. A. (2000). Effect of mineral and salinity on grape production and wine quality. *Acta Horticulturae*, 512, 23-30. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.512.2>
- Dubeaux, G., Zelazny, E., & Vert, G. (2015). Getting to the root of plant iron uptake and cell-cell transport: Polarity

- matters!. *Communicative & Integrative Biology*, 8(3), e1038441. <https://doi.org/10.1080/19420889.2015.1038441>
- Fakharzadeh, S., Hafizi, M., Baghaei, M.A. et al. (2020).** Using Nanochelating Technology for Biofortification and Yield Increase in Rice. *Scientific Reports*, 10, 4351. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60189-x>
- Hasan, M. M., & Bae, H. (2017).** An overview of stress-induced resveratrol synthesis in grapes: Perspectives for resveratrol-enriched grape products. *Molecules*, 22(2), 294. <https://doi.org/10.3390/molecules22020294>
- Hasanshahi, H., Irvani, H., Daneshvar Ameri, Zh., & Kalantari, Kh. (2015).** Measure and comparison of economic, social and ecological sustainability of farming systems in the Marvdasht plain. *Desert*, 20(2), 231-239. <https://doi.org/10.22059/jdesert.2015.56485>
- He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., ... & Duan, C. Q. (2010).** Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*, 15(12), 9057-9091. <https://doi.org/10.3390/molecules15129057>
- Iriti, M., & Faoro, F. (2006).** Grape phytochemicals: A bouquet of old and new nutraceuticals for human health. *Medical Hypotheses*, 67(4), 833-838. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2006.03.049>
- Jayaprakasha, G. K., Selvi, T., & Sakariah, K. K. (2003).** Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, 36(2), 117-122. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00116-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00116-3)
- Jeandet, P., Bessis, R., & Gautheron, B. (1991).** The production of resveratrol (3, 5, 4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(1), 41-46. <https://doi.org/10.5344/ajev.1991.42.1.41>
- Kamali, M., Eftekhari, A., & Heidari, M. (2013).** Investigating the effect of iron chelate and iron chelate nano-fertilizers on the quantitative and qualitative traits of some native spinach populations in Iran [in Persian]. Paper presented at the First National Conference on Agriculture and Sustainable Natural Resources, Tehran, Iran. <https://civilica.com/doc/258070>
- Khanafari, A., Mansoubi, M., & Arbabian, S. (2009).** Evaluation of anthocyanin production ability in Rhizobium in symbiotic and free-living states [in Persian]. *Journal of Microbiology Knowledge*, 1(10), 53-62.
- Lanauskas, J., Uselis, N., Valiūškaite, A., & Viškelis, P. (2006).** Effect of foliar and soil applied fertilizers on strawberry healthiness, yield and berry quality. *Agronomy Research*, 4(Special issue), 247-250.
- Lichtenthaler, H. K. (1987).** Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in Enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Lopez, M., Martinez, F., Del Valle, C., Orte, C., & Miro, M. (2001).** Analysis of phenolic constituents of biological interest in red wines by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 922(1-2), 359-363. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00913-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00913-X)
- Ma, J., Zhang, M., Liu, Z., Chen, H., Li, Y. C., Sun, Y., ... & Zhao, C. (2019).** Effects of foliar application of the mixture of copper and chelated iron on the yield, quality, photosynthesis, and microelement concentration of table grape (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae*, 254, 106-115. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.075>
- Meggio, F., Zarco-Tejada, P. J., Núñez, L. C., Sepulcre-Cantó, G., González, M. R., & Martín, P. (2010).** Grape quality assessment in vineyards affected by iron deficiency chlorosis using narrow-band physiological remote sensing indices. *Remote Sensing of Environment*, 114(9), 1968-1986. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2010.04.004>
- Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.
- Mohebi, H., Ebady, A., Taheri, M., Zarabi, M., & Bihamta, M. (2022).** The effect of different levels of foliar application of zinc, iron, and manganese micronutrients on reproductive characteristics and yield of *Vitis vinifera* grapes in some vineyards of Zanjan province. *Journal of Horticultural Science*, 36(2), 443-457. <https://doi.org/10.22067/JHS.2021.71776.1078> (In Persian)
- Monteiro, A. I., Malheiro, A. C., & Bacelar, E. A. (2021).** Morphology, physiology and analysis techniques of grapevine bud fruitfulness: A review. *Agriculture*, 11(2), 127. <https://doi.org/10.3390/agriculture11020127>
- Naderi, M., & Danesh Shahraki, A. (2011).** Application of nanotechnology in optimizing the formulation of chemical fertilizers [in Persian]. *Nanotechnology*, 4(165), 20-22. <https://sid.ir/paper/457104/fa>
- Nejatian, M. A. (2006).** Collection and preliminary evaluation of grapevine cultivars of Qazvin province [in Persian]. *Seed and Plant*, 22(4), 319-338.
- Obaid Al-Shahbani, I. R., & Abu Al-Mikh Al-Mamouri, M. T. (2022).** Effect of Adding Bio-Fertilizer and Spraying Nano-and Chelated Iron Fertilizer on the Nutrient Content of Orange Seedling Leaves. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1060, No. 1, p. 012012). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1060/1/012012>
- Peyvandi, M., Mirza, M., & Kamali Jamakani, Z. (2012).** The Effect of Nano Fe Chelate and Fe Chelate on the Growth and Activity of some Antioxidant. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 2(5), 25-32. <http://ncmbjpiau.ir/article-1-121-en.html>
- Pileh, F., & Ghasemzadeh, R. (2017).** Diversity evaluation of biochemical parameters and antioxidant activity in some commercial grape cultivars. *Research in Pomology*, 2(1), 45-60.
- Rabino, I., & Mancinelli, A. L. (1986).** Light, temperature, and anthocyanin production. *Plant Physiology*, 81(3), 922-924. <https://doi.org/10.1104/pp.81.3.922>
- Ranganna, S. (1986).** *Handbook of Analysis and Quality Control of Fruit and Vegetable Products* (2nd ed.). Tata McGraw-Hill Education.
- Seydmohammadi, L., Borna, F., Negaresh, K., & Zare Bavani, M. R. (2026). Comprehensive analysis of antioxidant activity and bioactive phytochemicals in the endemic *Klasea khuzistanica* (Mozaff.) Mozaff. ex Hidalgo.: phenolics, flavonoids, and phytoecdysteroids. *Natural Product Research*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/14786419.2026.2690080>
- Shanmugam, V., Lo, J. C., Wu, C. L., Wang, S. L., Lai, C. C., Connolly, E. L., ... & Yeh, K. C. (2011).** Differential

expression and regulation of iron regulated metal transporters in *Arabidopsis halleri* and *Arabidopsis thaliana*—the role in zinc tolerance. *New Phytologist*, 190(1), 125-137.

Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in grape seeds—Biochemistry and functionality. *Journal of Medicinal Food*, 6(4), 291-299. <https://doi.org/10.1089/109662003772519831>

Shi, P., Li, B., Chen, H., Song, C., Meng, J., Xi, Z., & Zhang, Z. (2017). Iron supply affects anthocyanin content and related gene expression in berries of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon. *Molecules*, 22(2), 283. <https://doi.org/10.3390/molecules22020283>

Shi, P., Song, C., Chen, H., Duan, B., Zhang, Z., & Meng, J. (2018). Foliar applications of iron promote flavonoids accumulation in grape berry of *Vitis vinifera* cv. Merlot grown in the iron deficiency soil. *Food Chemistry*, 253, 164-170. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.109>

Soleas, G., Goldberg, D., Diamandis, E., Karumanchiri, A., Yan, J., & Ng, E. (1995). A derivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(3), 346-353. <https://doi.org/10.5344/ajev.1995.46.3.346>

Song, C. Z., Liu, M. Y., Meng, J. F., Chi, M., Xi, Z. M., & Zhang, Z. W. (2015). Promoting effect of foliage sprayed zinc sulfate on accumulation of sugar and phenolics in berries of *Vitis vinifera* cv. Merlot growing on zinc deficient soil. *Molecules*, 20(2), 2536-2554. <https://doi.org/10.3390/molecules20022536>

Tisdale, S. L., Nelson, W. L., Beaton, J. D., & Havlin, J. L. (2003). *Soil Fertility and Fertilizers* (5th ed.). Prentice-Hall of India.

Wang, J., Sun, Y., Wang, H., Guan, X., & Wang, L. (2016). Resveratrol synthesis under natural conditions and after ultraviolet-C irradiation in grape leaves at different leaf developmental stages. *HortScience*, 51(6), 727-731. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.51.6.727>

Williams, L. E., Dokoozlian, N. K., & Wample, R. (2018). Grape. In *The Physiology of Fruit Growth* (pp. 85-133). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203719299-4>

Yan, Y., Tian, B., Li, X., Wang, Y., Shi, Y., Jiang, K., ... & Li, P. (2026). The polyphenol trade off: leaf protection vs fruit attraction in apples driven by the phlorizin glycosyltransferase PGGT1. *New Phytologist*, 250(1), 591-601. <https://doi.org/10.1111/nph.70923>

ISSN: 3041-9638

<https://jrpsm.asnrkh.ac.ir/>

Open Access

Research Article

Investigating the Antioxidant Response of the Cyanobacterium *Nostoc* sp. as a Biofertilizer under Polyethylene Glycol-Induced Osmotic Stress after Gamma Irradiation

E. Lamizadeh¹, A. Hassani¹ , M. Norzadeh Haddad² and H. Etesami³¹Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.²Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran.³Department of Soil Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 03 Jun 2026

Accepted: 01 Sep 2026

Published: 01 Sep 2026

Corresponding Author:

Akbar Hassani

Email:

akbar.hassani@znu.ac.ir

Keywords:Biofertilizer, *Nostoc* sp., Gamma Irradiation, Reactive oxygen species, Superoxide dismutase, Peroxidase, Cross-tolerance.**Citation:**

Lamizadeh, E., Hassani, A., Norzadeh Haddad, M., & Etesami, H. (2026). Investigating the Antioxidant Response of the Cyanobacterium *Nostoc* sp. as a Biofertilizer under Polyethylene Glycol-Induced Osmotic Stress after Gamma Irradiation. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 4(2), 57-67.
Doi:10.22034/jrpsm.2026.584825.1117

Extended Abstract

Background and Objective: The cyanobacterium *Nostoc* sp. is recognized as a valuable biofertilizer in sustainable agriculture due to its capacity for nitrogen fixation, production of bioactive metabolites, and enhancement of soil fertility. However, soil osmotic stress is one of the most critical abiotic stresses that severely limits the growth and performance of these biofertilizers. A novel approach to improving stress tolerance involves the application of physical pre-treatments, such as gamma irradiation, to induce defense mechanisms and establish cross tolerance. The present study was designed to investigate the hypothesis that gamma irradiation can enhance the resistance of *Nostoc* sp. to osmotic stress through the proactive activation of its antioxidant system. To this end, changes in reactive oxygen species (ROS) levels and the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in response to the interaction between gamma irradiation and osmotic stress were evaluated.

Materials and Methods: The experiment was conducted as a factorial based on a completely randomized design with three replications. The first factor consisted of gamma irradiation pretreatment at six dose levels (0, 20, 50, 100, 500, and 1000Gy), and the second factor was osmotic stress. ROS levels were quantified using fluorimetry and the DCFH-DA probe. SOD activity was determined based on the inhibition of nitro blue tetrazolium (NBT) reduction, while POD activity was assayed spectrophotometrically using pyrogallol as a substrate. Data were analyzed via two-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test at a significance level of $p \leq 0.01$.

Results: The results revealed that the main effects of gamma irradiation and osmotic stress, as well as their interaction, on all three biochemical parameters were significant at the $p \leq 0.01$ level. In nonirradiated samples, the application of osmotic stress led to a substantial increase in ROS levels (approximately 17-fold compared to the control) and a subsequent decline in SOD and POD activities at high osmotic stress levels. Conversely, prophylactic irradiation at moderate doses (50 and 100Gy) significantly prevented excessive ROS accumulation. The most notable finding was that in samples pre-treated with a 100Gy dose, SOD activity under stress conditions surged from 31.13 to 92.41 units (an approximate 3-fold increase), and POD activity escalated from 12.45 to 74.03 units (an approximate 6-fold increase). Although high irradiation doses (500 and 1000Gy) alone exhibited detrimental effects, when combined with osmotic stress, the samples pretreated with 100Gy demonstrated the optimal protective performance.

Conclusion: The findings of this study indicate that gamma irradiation at moderate doses (50 and 100Gy) can serve as an effective strategy to enhance osmotic stress resistance in the cyanobacterium *Nostoc* sp. This phenomenon is elucidated by the cross tolerance mechanism. Mild irradiation primes the cell to counteract the severe ROS accumulation induced by osmotic stress through the generation of a basal ROS level and the proactive activation of SOD and POD enzymes. In other words, irradiation triggers an "early warning system" and shifts the cellular tolerance threshold. These findings hold significant practical implications for the production of drought tolerant biofertilizers. Gamma pre-treatment can be implemented as a straightforward and cost effective industrial process to improve the efficacy of *Nostoc* sp. in saline soils, which comprise a substantial proportion of agricultural lands. Ultimately, this research provides a scientific foundation for the development of a new generation of irradiated biofertilizers capable of tolerating multiple environmental stresses.





دسترسی رایگان

مقاله پژوهشی

شماره شایا: ۳۰۴۱-۹۶۳۸

بررسی واکنش آنتی‌اکسیدانی سیانوباکتر *Nostoc sp.* به‌عنوان یک کود زیستی در تنش اسمزی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول پس از پر تودهی گاما

الهام لامی‌زاده^۱، اکبر حسنی^{۱*}، مهدی نورزاده حداد^۲، حسن اعتصامی^۳

^۱گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

^۲پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران.

^۳گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۱۳

چکیده

مقدمه: سیانوباکتری *Nostoc sp.* به‌دلیل توانایی تثبیت نیتروژن، تولید متابولیت‌های زیست‌فعال و بهبود حاصلخیزی خاک، به‌عنوان یک کود زیستی ارزشمند در کشاورزی پایدار شناخته می‌شود. با این حال، تنش اسمزی خاک یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که رشد و عملکرد این کودهای زیستی را به شدت محدود می‌کند. یکی از رویکردهای نوین برای افزایش تحمل به تنش، استفاده از پیش‌تیمارهای فیزیکی نظیر پرتوتابی گاما به منظور القای مکانیسم‌های دفاعی و ایجاد تحمل متقاطع است. پژوهش حاضر با هدف بررسی این فرضیه طراحی شد که پرتوتابی گاما می‌تواند از طریق فعال‌سازی پیشگیرانه سیستم آنتی‌اکسیدانی، مقاومت *Nostoc sp.* را به تنش اسمزی افزایش دهد. بدین منظور، تغییرات سطح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز (POD) در پاسخ به اثر متقابل پرتوتابی گاما و تنش اسمزی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل پرتوتابی گاما در شش سطح دوز (۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ گری) به‌عنوان پیش‌تیمار و فاکتور دوم شامل تنش اسمزی بود. سطح ROS با روش فلوریمتری و پروب DCFH-DA اندازه‌گیری شد. فعالیت SOD بر اساس مهار احیای NBT و فعالیت POD با روش اسپکتروفتومتری و سوبسترای پیروگالول سنجیده شد. داده‌ها با آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۰/۰۱ تحلیل گردیدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اثر اصلی پرتوتابی، اثر اصلی تنش اسمزی و اثر متقابل آن‌ها بر هر سه شاخص بیوشیمیایی در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بودند. در نمونه‌های بدون پیش‌تیمار پرتوتابی، اعمال تنش اسمزی منجر به افزایش سطح ROS (تا حدود ۱۷ برابر شاهد) و متعاقب آن کاهش فعالیت SOD و POD در دوزهای بالای تنش اسمزی گردید. اما پرتوتابی پیش‌گیرانه با دوزهای متوسط (۵۰ و ۱۰۰ گری) به طور معنی‌داری از افزایش ROS جلوگیری کرد. قابل توجه‌ترین یافته آن بود که در نمونه‌های پیش‌تیمار شده با دوز ۱۰۰ گری، فعالیت SOD در شرایط وجود تنش از ۳۱/۱۳ به ۹۲/۴۱ واحد افزایش یافت و فعالیت POD نیز از ۱۲/۴۵ به ۷۴/۰۳ واحد رسید (افزایش حدود ۴/۹۴ برابری). دوزهای بالای پرتوتابی (۵۰۰ و ۱۰۰۰ گری) به تنهایی اثرات مخربی داشتند، اما در ترکیب با تنش اسمزی، نمونه‌های پیش‌تیمار شده با دوز ۱۰۰ گری بهترین عملکرد حفاظتی را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که پرتوتابی گاما با دوز (۵۰-۱۰۰ گری) می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش مقاومت به تنش اسمزی در سیانوباکتری *Nostoc sp.* به کار رود. این پدیده از طریق مکانیسم تحمل متقاطع توجیه می‌شود. پرتوتابی خفیف با القای سطح پایه ROS و فعال‌سازی پیشگیرانه آنزیم‌های SOD و POD، سلول را برای مقابله با افزایش شدید ROS ناشی از تنش اسمزی آماده می‌کند. به عبارت دیگر، پرتوتابی «سیستم هشدار اولیه» را فعال کرده و آستانه تحمل سلول را جابه‌جا می‌سازد. این یافته پیامدهای عملی مهمی برای تولید کودهای زیستی مقاوم به خشکی دارد. پیش‌تیمار گاما می‌تواند به‌عنوان یک فرآیند صنعتی ساده و کم‌هزینه، کارایی *Nostoc sp.* را در خاک‌های شور که بخش قابل توجهی از اراضی کشاورزی را تشکیل می‌دهند، بهبود بخشد. این پژوهش پایه علمی برای توسعه نسل جدیدی از کودهای زیستی پرتوتابی شده با قابلیت تحمل به تنش‌های چندگانه محیطی فراهم می‌آورد.

نویسنده مسئول:

اکبر حسنی

ایمیل:

akbar.hassani@znu.ac.ir

واژه‌های کلیدی:

کود زیستی، *Nostoc sp.*، پرتوتابی گاما، گونه‌های فعال اکسیژن، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، تحمل متقاطع.

نحوه استناد:

لامی زاده، ا.، حسنی، ا.، نورزاده حداد، م.، اعتصامی، ح. (۱۴۰۵). بررسی واکنش آنتی‌اکسیدانی سیانوباکتر *Nostoc sp.* به‌عنوان یک کود زیستی در تنش اسمزی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول پس از پر تودهی گاما. مجله پژوهش در متابولیت‌های گیاهی، دوره ۴، شماره ۱، صفحات: ۵۷-۶۷.
Doi:10.22034/jrpsm.2026.584825.1117

مقدمه

در سال‌های اخیر، کودهای زیستی مبتنی بر سیانوباکتری به‌عنوان راهکاری پایدار برای کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی نیتروژنه و ارتقای بهره‌وری کشاورزی مورد توجه فزاینده قرار گرفته‌اند (et al., 2023 Hassani and Nourzadeh Haddad, 2017; Rashid). در این میان، جنس *Nostoc sp.* به‌دلیل توانایی تثبیت بیولوژیک نیتروژن، تولید متابولیت‌های ثانویه زیست‌فعال از جمله ترکیبات فنلی، اگزوپلی‌ساکاریدها و اسیدهای آمینه محافظ و نیز برخورداری از سازگاری فیزیولوژیک بالا، یکی از امیدبخش‌ترین گزینه‌ها برای توسعه کودهای زیستی مقاوم به تنش به شمار می‌رود. با وجود این، عملکرد این نوع کود زیستی در خاک‌های شور و رطوبت کم به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد؛ زیرا این تنش‌ها از طریق القای تنش اسمزی و افزایش بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS^2)، موجب آسیب به غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA شده و در نهایت سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول را مختل می‌سازد (Meeks and Elhai, 2002; Whitton and Potts, 2012).

تنش اسمزی، که به صورت تجربی از طریق پلی‌اتیلن گلیکول (PEG6000) شبیه‌سازی شده است، با به چالش کشیدن تورژسانس سلولی و هموستاز اسمزی، این چشم‌انداز را پیچیده‌تر می‌کند. با توجه به اینکه هر دو عامل استرس‌زا اغلب در مسیرهای سیگنالینگ مشابهی همگرا می‌شوند، مفهوم تحمل متقابل به عنوان یک حوزه کلیدی تحقیق پدیدار شده است. شواهد قانع‌کننده‌ای وجود دارد که پیش‌شرط بندی سیانوباکتری‌ها به عوامل استرس‌زای خاص می‌تواند آنها را برای تاب‌آوری بیشتر در برابر چالش‌های محیطی بعدی آماده کند. با وجود این بینش‌ها، اثرات تعاملی و هم‌افزایی تابش گاما و تنش اسمزی در نوستوک تا حد زیادی حل‌نشده باقی مانده است (Nadarajah, 2020; ukxel et al., 2025).

در همین راستا، یکی از رویکردهای نوین برای ارتقای تحمل موجودات زنده نسبت به تنش‌های محیطی، بهره‌گیری از پیش‌تیمارهای فیزیکی مانند پرتوتابی گاما است. پرتوتابی در دوزهای مناسب می‌تواند با ایجاد یک سطح پایه از ROS و فعال‌سازی پیش‌دستانه سامانه‌های آنتی‌اکسیدانی، مکانیسم تحمل متقاطع (*cross-tolerance*) را القا کند (Gulcin, 2025). در این پدیده، مواجهه اولیه با یک تنش خفیف (پرتوتابی گاما) سلول را برای مقابله مؤثرتر با تنش‌های شدیدتر و از ماهیتی متفاوت مانند تنش اسمزی آماده می‌سازد (Mishra et al., 2023). به بیان دیگر، پرتوتابی می‌تواند همچون نوعی «واکسیناسیون متابولیک» عمل کند و از طریق تغییر در الگوی بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای آنتی‌اکسیدانی و متابولیسم ثانویه، آستانه تحمل سلولی را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد. این ویژگی، به‌ویژه در مورد کودهای زیستی که باید در شرایط

محیطی نامساعد عملکرد مؤثر خود را حفظ کنند، از اهمیت کاربردی ویژه‌ای برخوردار است (Kumar et al., 2024).

در یک پژوهش مشخص شد که پرتودهی UV-B باعث افزایش معنی‌دار تولید ROS در *Nostoc sphaeroides* شده و هم‌زمان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD^3) را به‌عنوان یک مکانیسم تطبیقی افزایش می‌دهد (Kaur et al., 2021)، همچنین تنش اسمزی القاشده توسط پلی‌اتیلن گلیکول (PEG^4) نیز اثر مشابهی بر فعالیت SOD داشت. نوستوک به‌دلیل انعطاف‌پذیری متابولیکی بالا، مدلی مناسب برای مطالعه مکانیسم‌های تحمل تنش اکسیداتیو در ارگانیسم‌های فتوسنتزکننده است (Gupta Chatterjee et al. 2022; and Vyas, 2021). در یک مطالعه مشخص شد که ROS سیانوباکتری‌ها تحت تأثیر تنش‌های فیزیکی و شیمیایی، یکی از شاخص‌های اولیه بروز تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود (Wang et al., 2023) در همین راستا، آنزیم پراکسیداز (POD^5) به عنوان یکی از اجزای کلیدی سیستم آنتی‌اکسیدانی در ارگانیسم‌های فتوسنتزکننده شناخته می‌شود.

(Zhang et al., 2021). افزایش فعالیت آن پاسخی مستقیم به تجمع پراکسید هیدروژن محسوب می‌شود فعال‌سازی POD نقش مهمی در تحمل تنش‌های چندگانه در سیانوباکتری‌ها ایفا می‌کند (Pandy et al., 2022). همچنین در تحقیقی دیگر تنش اسمزی ناشی از PEG باعث افزایش هم‌زمان فعالیت SOD و POD در سیانوباکتری‌ها شده و این افزایش با کاهش آسیب‌های اکسیداتیو همراه بوده است (Zhuang et al., 2024; Rahman et al., 2025). نتایج تحقیقات سایر محققان نشان داد که ترکیب تنش اسمزی با سایر تنش‌ها معمولاً اثرات تشدیدکننده‌ای بر شدت آسیب اکسیداتیو دارد (Saini Wang. et al., 2026; et al., 2026). علاوه بر این، تأیید شده است که ترکیب تنش‌های فیزیکی و اسمزی می‌تواند منجر به افزایش شدیدتر ROS نسبت به تنش‌های منفرد شود و این افزایش با تحریک هم‌زمان فعالیت SOD و POD همراه است (Cui et al., 2026; Rahman et al., 2025).

با وجود مطالعات انجام‌شده، بیشتر پژوهش‌های پیشین اثر پرتودهی و تنش اسمزی را به‌صورت جداگانه بررسی کرده‌اند و اطلاعات محدودی درخصوص اثرات هم‌زمان پرتوهای یون‌ساز (گاما) و تنش اسمزی القاشده توسط PEG6000 بر سیستم آنتی‌اکسیدانی نوستوک وجود دارد. علاوه بر این، بسیاری از یافته‌های موجود از مطالعات گیاهی اقتباس شده‌اند و نقش مسیرهای تنفسی و پاسخ‌های اختصاصی به انواع مختلف ROS در سیانوباکتری‌ها به‌طور کامل روشن نشده است. همچنین گزارش شده است که بررسی هم‌زمان ROS، SOD و POD می‌تواند دیدگاه جامع‌تری نسبت به سازوکارهای تنظیمی سیانوباکتری‌ها در شرایط تنش ترکیبی فراهم

⁴ Polyethylene Glycol⁵ Peroxidase² Reactive Oxygen Species³ Superoxide Dismutase

پس از اجرای تیمارها در زمان‌های از پیش تعیین شده، نمونه‌ها برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی پس از ۱۴ روز در مرحله رشد لگاریتمی برداشت شده و بلافاصله جهت اندازه‌گیری شاخص‌های تنش اکسیداتیو به کار رفتند. برای ارزیابی وضعیت تنش اکسیداتیو، میزان گونه‌های فعال اکسیژن به عنوان شاخص اولیه القای تنش، و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در مراحل بعدی اندازه‌گیری شد. گونه‌های فعال اکسیژن درون سلولی به عنوان شاخص اولیه پاسخ به استرس با استفاده از $2',7'$ -دی کلروفلورسین دی استات (DCFH-DA) اندازه‌گیری شدند. سلول‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در تاریکی با ۲۰ میکرومولار DCFH-DA انکوبه شدند و فلورسانس به ترتیب در طول موج‌های تحریک و انتشار ۴۸۵ و ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. سطوح ROS به صورت شدت فلورسانس نسبی بیان شدند (Wang H, and Joseph JA. 1999).

فعالیت SOD بر اساس روش مهار احیای نیتروبلو ترزازولیوم (NBT^{6}) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات، متیونین، NBT، $EDTA^{7}$ و ریبوفلاوین بود. پس از شروع واکنش، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در معرض نور قرار گرفتند. جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت SOD به صورت مقدار آنزیمی که باعث ۵۰٪ مهار احیای NBT می‌شود تعریف گردید.

محلول کاری سوپسترا با رقیق کردن ۱۰۰ میکرولیتر سوپسترای SOD تا ۲۰ میلی‌لیتر با بافر SOD 1X تهیه و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد به صورت جداگانه نگهداری شد. نمونه‌ها تحت شرایط مشخص شده توسط کیت تجزیه و تحلیل شدند و جذب در طول موج سنجش توصیه شده توسط سازنده اندازه‌گیری شد. نمونه‌های شاهد و کنترل مناسب نیز اضافه شدند و فعالیت SOD از درجه مهار سیگنال محاسبه و پس از نرمال سازی به کل پروتئین محلول، به صورت U میلی گرم^{-۱} پروتئین بیان شد (Dhindsa et al., 1981).

فعالیت POD با استفاده از پیروگالول به عنوان سوپسترا در بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار pH ۶ حاوی ۰/۵٪ (w/v) پیروگالول و ۰/۲۷٪ H_2O_2 (v/v) به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. افزایش جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد ثبت شد. یک واحد فعالیت POD به عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تولید ۱ میلی گرم پورپوروگالین در ۲۰ ثانیه تحت شرایط سنجش تعریف شد. غلظت پروتئین با روش برادفورد با استفاده از آلبومین به عنوان استاندارد تعیین شد.

(Chance and Maehly, 1955; Shannon et al., 1966) این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بیولوژیکی مستقل برای هر تیمار طراحی و اجرا شد. به منظور حصول اطمینان از دقت و تکرارپذیری نتایج، تمامی اندازه‌گیری‌ها تحت شرایط رشد کاملاً یکسان صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گردید.

آورد پرسش اساسی این پژوهش آن است که آیا سیستم دفاع آنتی اکسیدانی نوستوک در برابر دوزهای افزایشی پرتو گاما پاسخی خطی دارد یا با آستانه‌های شکست ساختاری مواجه می‌شود؟ و مهم‌تر از آن، آیا القای تنش اسمزی پیشگیرانه با PEG6000 می‌تواند از طریق مکانیسم تحمل متقاطع، مقاومت رادیولوژیک این سویه را پس از پرتو دهی ارتقا دهد؟ بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف کمی سازی میزان تولید ROS، ارزیابی پویایی فعالیت آنزیم‌های SOD و POD، و بررسی اثرات متقابل پرتو دهی گاما و تنش اسمزی در نوستوک طراحی و اجرا گردید.

با وجود پتانسیل بالای این رویکرد، تاکنون مطالعات محدودی به بررسی اثر پیش تیمار پرتوتابی گاما بر افزایش مقاومت سیانوباکتری‌ها پرداخته شده است و اطلاعات کمی در مورد اثرات هم زمان و مکانیسم تحمل متقاطع در *Nostoc sp.* وجود دارد. بنابراین پرسش اساسی مطرح در این تحقیق این است که آیا پرتوتابی با دوز مشخص می‌تواند با تعدیل سطح ROS و بهبود فعالیت آنزیم‌های SOD و POD، کارایی این ریز موجود را در شرایط تنش اسمزی حفظ کرده یا حتی افزایش دهد؟

مواد و روش‌ها

گونه *Nostoc sp.* (IBRC-M 50056) از مرکز ذخایر زیستی ایران (IBRC، ایران، البرز) تهیه و تحت شرایط استریل در محیط کشت BG11 نگهداری شد. محیط کشت حاوی ۱/۵ گرم $NaNO_3$ ، ۴۰ میلی گرم K_2HPO_4 ، ۷۵ میلی گرم $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۳۶ میلی گرم $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ، ۶ میلی گرم اسید سیتریک، سیترات آمونیوم فریک، ۱ میلی گرم EDTA و محلول استاندارد عناصر کمیاب BG11 در هر لیتر بود. pH قبل از استریل کردن روی ۷/۶-۷/۱ تنظیم شد. کشت‌ها در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتیگراد در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتیگراد تحت دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۵۰ تا ۱۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه کشت داده شدند. هوادهی مداوم با استفاده از پمپ هوای آکواریوم برای حفظ شرایط کشت همگن انجام شد. محیط کشت قبل از استفاده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد اتوکلاو شد. هر فلاسک نشان دهنده یک تکرار بیولوژیکی بود و تمام تیمارها در سه تکرار انجام شد. در این پژوهش، اثر پرتو دهی گاما در شش سطح دوز (صفر، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ گری) پس از اعمال تنش اسمزی ناشی از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ با غلظت ۱۰ درصد، بر میزان گونه‌های فعال اکسیژن و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در سیانوباکتری نوستوک بررسی گردید. به منظور مطالعه پاسخ سامانه آنتی اکسیدانی نوستوک در برابر تنش‌های محیطی، نمونه‌ها در معرض تیمارهای یاد شده قرار گرفتند.

⁷ Ethylenediaminetetraacetic Acid

⁶ Nitro Blue Tetrazolium

همچنین اثر متقابل این دو عامل بر هر سه شاخص بیوشیمیایی شامل میزان گونه‌های فعال اکسیژن، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بوده است. مقادیر میانگین مربعات برای اثر متقابل پرتودهی و تنش اسمزی در هر سه شاخص به ترتیب ۸۸/۷۵ برای ROS، ۶۵/۲۲ برای SOD و ۴۸/۹۱ برای POD نسبت به اثرات اصلی، حاکی از آن است که پاسخ سیستم آنتی‌اکسیدانی نوستوک به پرتودهی به شدت تحت تأثیر سطح تنش اسمزی قرار دارد و بالعکس. همچنین مقادیر میانگین مربعات خطا برای هر سه شاخص (۲/۱۴، ۱/۸۵ و ۱/۱۲) در مقایسه با میانگین مربعات تیمارها بسیار پایین‌تر است که بیانگر دقت و تکرارپذیری آزمایش بود.

جدول ۱- آنالیز واریانس دوطرفه برای بررسی اثر پرتودهی، PEG و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص‌های بیوشیمیایی

Table 1- Two-way analysis of variance to examine the effect of irradiation, PEG, and their interaction on biochemical indices

منبع تغییرات (CV)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات ROS (MS)	میانگین مربعات SOD (MS)	میانگین مربعات POD (MS)
پرتودهی (Irradiation)	5	145.62**	85.41**	62.33**
تنش اسمزی (Osmotic stress)	1	210.34**	120.15**	95.80**
پرتودهی * تنش اسمزی (Irradiation * Osmotic stress)	5	88.75**	65.22**	48.91**
خطا (Error)	24	2.14	1.85	1.12



شکل ۲- رشد سیانوباکتر نوستوک پرتودهی شده در محیط کشت BG11 و پلی‌اتیلن گلیکول پس از ۱۴ روز

Figure 2- Growth of irradiated cyanobacterium Nostoc in BG11 and polyethylene glycol culture medium after 14 days



شکل ۱- رشد سیانوباکتر نوستوک پرتودهی شده در محیط کشت BG11 پس از ۱۴ روز

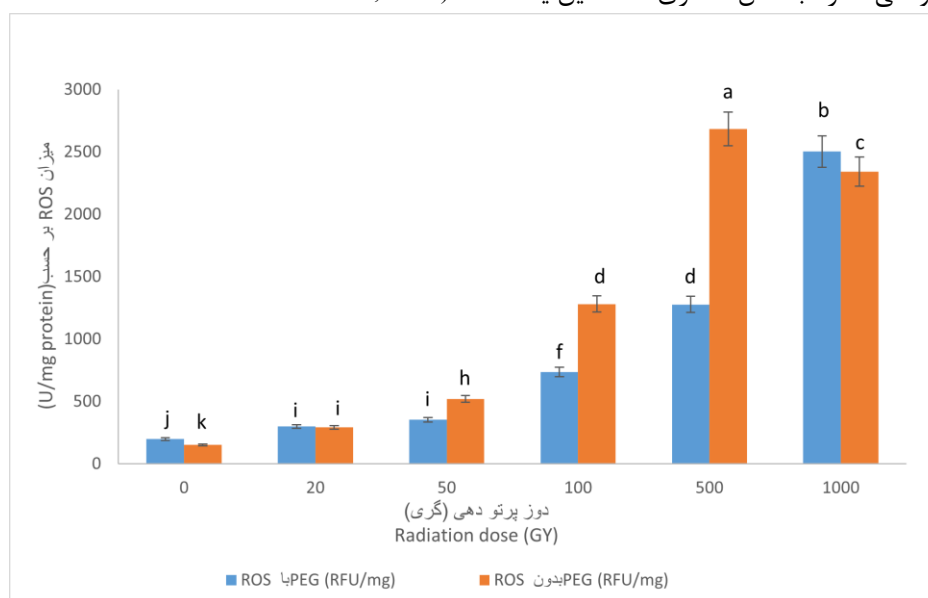
Figure 1- Growth of irradiated cyanobacterium Nostoc in BG11 culture medium after 14 days

نشان داد، به طوری که در دوز ۵۰۰ گری (بدون PEG) به بالاترین مقدار خود یعنی ۲۶۸۳/۶۸ رسید که نسبت به شاهد افزایشی حدود ۱۷/۸ برابری را نشان می‌دهد. در دوز ۱۰۰۰ گری (بدون PEG) سطح ROS اندکی کاهش یافت (۲۳۴۰/۱۸)، که احتمالاً بازتاب آسیب شدید به دستگاه فتوسنتزی و کاهش ظرفیت تولید ROS در اثر تخریب سلولی گسترده است. این الگوی افزایش-کاهش در انتهای

شکل ۱ و ۲ به ترتیب رشد سیانوباکتر نوستوک پرتودهی شده (در دوزهای مختلف پرتوتابی) در محیط کشت BG11 و محیط کشت BG11 و پلی‌اتیلن گلیکول پس از ۱۴ روز را نشان می‌دهد. همان‌طور که در (شکل ۳) مشاهده می‌شود، سطح ROS در تیمار شاهد (بدون پرتودهی، بدون PEG) برابر با برابر با ۱۵۰/۸۶ واحد بود. با افزایش دوز پرتودهی، سطح ROS روند افزایشی معنی‌داری

بیانگر آن است که ظرفیت سازگاری نوستوک در برابر تنش‌های چندگانه محدود بوده و در شرایط تنش شدید، مکانیسم‌های دفاعی سلولی دچار ناکارآمدی می‌شوند (Shang *et al.*, 2025). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که پرتودهی گامای نوستوک منجر به افزایش دوز-وابسته سطح ROS می‌شود. این یافته با مطالعات پیشین بر روی سیانوباکتری‌ها همخوانی دارد. به طوری که محققان گزارش کردند که پرتودهی UV-B باعث افزایش معنی‌دار ROS در گونه‌ای از نوستوک می‌شود که با مکانیسم آسیب به زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم‌ها مرتبط است (Singh, S *et al.*, 2024). همچنین در پژوهشی دیگر مشخص شد که پرتودهی گاما بر روی *Synechocystis* PCC6803 باعث اختلال در تعادل اکسایش-احیا سلولی و افزایش تولید سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می‌شود (Jantaro *et al.*, 2014).

طیف دوز، در شکل ۳ به‌وضوح قابل مشاهده است. حضور PEG6000 در تمامی سطوح پرتودهی موجب کاهش معنی‌دار سطح ROS گردید. این اثر در دوزهای بالا بارزتر بود؛ در دوز ۵۰۰ گری، حضور PEG سطح ROS را از ۲۶۸۳/۶۸ به ۱۲۷۷/۱۰ کاهش داد (کاهش ۵۲/۴٪)، و در دوز ۱۰۰۰ گری از ۲۳۴۰/۱۸ به ۲۵۰۲/۵۲ افزایش یافت که نشان می‌دهد در بالاترین دوز، PEG قادر به مهار کامل تولید ROS نبوده است. این الگو بیانگر آن است که پیش‌تیمار اسمزی با PEG تا آستانه‌ای مشخص می‌تواند از طریق مکانیسم تحمل متقاطع، شدت تنش اکسیداتیو ناشی از پرتودهی را تعدیل کند. بطوریکه در دوز ۱۰۰۰ گری، تنش ترکیبی منجر به افزایش ROS نسبت به پرتودهی منفرد شد (۲۵۰۲/۵۲ در مقابل ۲۳۴۰/۱۸ RFU/mg protein)، که نشان‌دهنده فروپاشی سیستم‌های دفاعی در دوزهای بسیار بالای پرتودهی همراه با تنش اسمزی است. این یافته



شکل ۳- نمودار تأثیر پرتودهی بر سطح ROS (RFU/mg) در حضور و عدم حضور PEG

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (Mean $\pm$ SE) ارائه شده‌اند و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0.01$ بر اساس آزمون Tukey هستند.

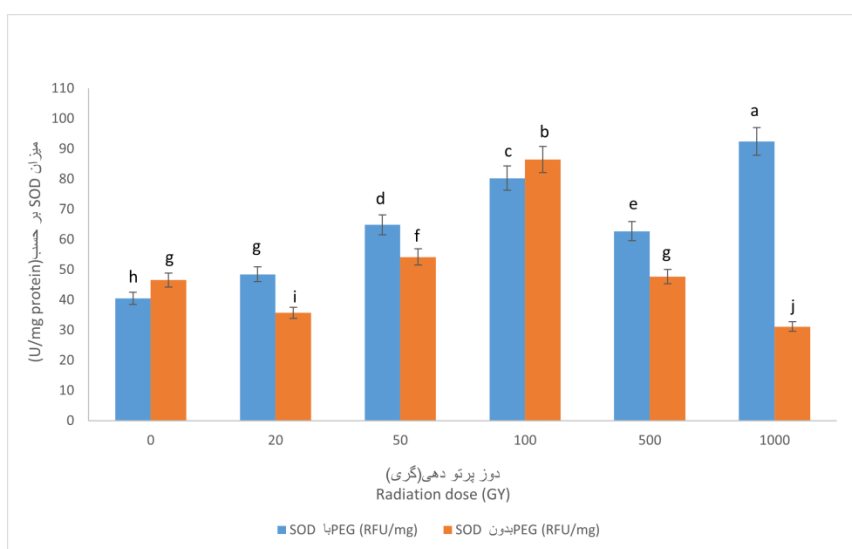
Figure 3 - Graph of the effect of irradiation on ROS levels (RFU/mg) in the presence and absence of PEG. Data are presented as mean $\pm$ standard error (Mean $\pm$ SE) and different letters indicate significant differences between treatments at the $p < 0.01$ level based on Tukey's test.

۳۱/۱۳ کاهش یافت که نشان‌دهنده تخریب پروتئین‌های آنزیمی در اثر پرتودهی حاد است. حضور PEG6000 تأثیر قابل توجهی بر فعالیت SOD داشت. در دوز ۱۰۰۰ گری، حضور PEG فعالیت SOD را از ۳۱/۱۳ به ۹۲/۴۱ Umg^{-1} protein افزایش داد که بالاترین مقدار ثبت‌شده در کل آزمایش است. این یافته نشان می‌دهد که پیش‌تیمار اسمزی می‌تواند از طریق القای بیان ژن‌های مرتبط با دفاع آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت SOD را حتی در شرایط پرتودهی حاد حفظ کند و با نتایج دیگر تحقیقات مرتبط همخوانی دارد (Mishra *et al.*, 2023). در دوز ۱۰۰ گری نیز حضور PEG فعالیت SOD را از ۸۶/۳۹

شکل ۴ روند تغییرات فعالیت SOD در پاسخ به دوزهای مختلف پرتودهی را به صورت الگویی دوفازی و غیرخطی نشان می‌دهد. بر این اساس فعالیت SOD در تیمار شاهد (بدون PEG) برابر با برابر با $46/56 \text{ Umg}^{-1}$ protein بود. با افزایش دوز پرتودهی، فعالیت این آنزیم ابتدا کاهش (دوز ۲۰ گری: ۳۵/۶۸) و سپس افزایش تدریجی نشان داد و در دوز ۱۰۰ گری به اوج خود رسید ($86/39 \pm 0/33$). این الگوی دوفازی نشان‌دهنده یک پاسخ تطابقی است که در آن سلول در دوزهای متوسط قادر به فعال‌سازی دفاع آنتی‌اکسیدانی است. با این حال، در دوز ۱۰۰۰ گری (بدون PEG)، فعالیت SOD به

که تنش اسمزی با القای بیان ژن‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو، سلول را برای مقابله با تنش‌های ثانویه آماده می‌کند (Hossain *et al.*, 2013). همچنین گزارش شده است که در *Nostoc commune*، تنش اسمزی موجب افزایش معنی‌دار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) می‌شود (Ehling *et al.*, 2002). در تمام دوزها بجز دوز ۱۰۰ گری، تنش ترکیبی منجر به افزایش SOD شده است که این را می‌توان به مکانیسم‌های احتمالی شامل فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی متقاطع (مسیرهای وابسته به کلسیم یا MAPK)، تثبیت پروتئین توسط PEG به‌عنوان اسموپروتکتانت، و تغییرات اپی‌ژنتیک است که بیان ژن‌های دفاعی را تقویت می‌کند مرتبط دانست (Wurzing *et al.*, 2011).

به ۸۰/۲۳ کاهش داد، که احتمالاً بازتاب تقسیم منابع سلولی بین پاسخ به دو تنش هم‌زمان است. این الگو با نتایج مطالعات انجام‌شده بر روی *Anabaena* و همچنین گونه‌های مختلف سیانوباکتری‌ها همخوانی دارد (Srivastava *et al.*, 2005; Latifi *et al.*, 2009). در تحقیقات مشابه نیز این نتایج تأیید شده است که بیان ژن‌های sodB (Mn-SOD) و sodC (Cu/Zn-SOD) به‌طور متفاوتی به تنش اکسیداتیو پاسخ می‌دهند که تغییرات پیچیده فعالیت کل SOD را توجیه می‌کند (Saed-Moucheshi *et al.*, 2021). کاهش اولیه SOD در ۲۰ گری احتمالاً ناشی از تأخیر در پاسخ سلولی، آسیب مستقیم به آنزیم، و اختلال در سنتز پروتئین است. افزایش در ۱۰۰ گری نشان‌دهنده فعال‌سازی کامل سیستم دفاعی است (Fedurayev *et al.*, 2018) در مطالعه‌ای بر روی *Anabaena sp.* نشان داده شد.



شکل ۴- نمودار تأثیر پرتودهی بر سطح SOD (RFU/mg) در حضور و عدم حضور PEG.

داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (Mean $\pm$ SE) ارائه شده‌اند و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0.01$ بر اساس آزمون Tukey هستند.

Figure 4- Graph of the effect of irradiation on SOD levels (RFU/mg) in the presence and absence of PEG. Data are presented as mean $\pm$ standard error (Mean $\pm$ SE) and different letters indicate significant differences between treatments at the $p < 0.01$ level based on Tukey's test.

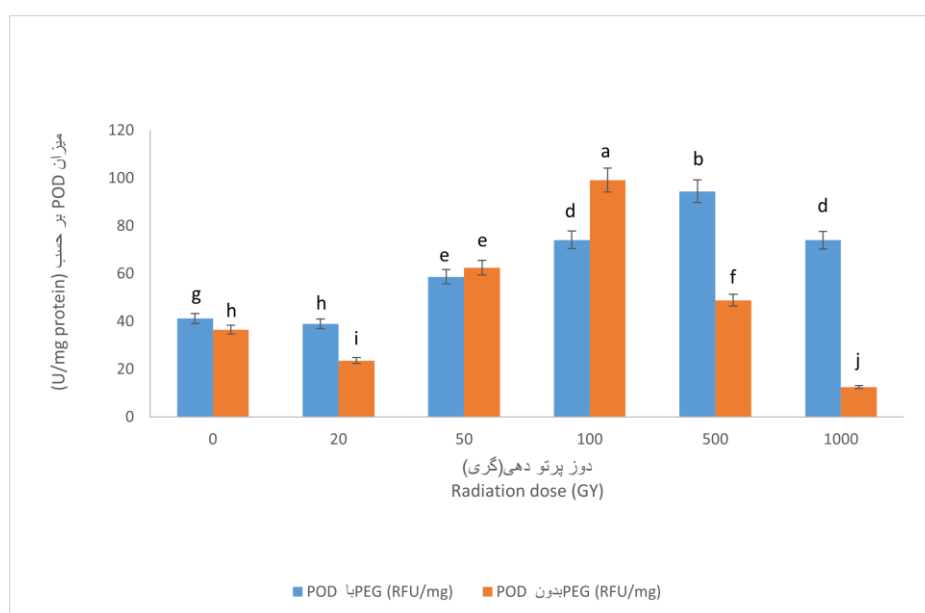
POD به شدت کاهش یافت (۱۲/۴۵) که پایین‌ترین مقدار در کل آزمایش است و نشان‌دهنده فروپاشی سیستم آنتی‌اکسیدانی در دوزهای حاد پرتودهی است. حضور PEG6000 در دوزهای بالا اثر محافظتی بارزی بر فعالیت POD داشت. در دوز ۱۰۰۰ گری، حضور PEG فعالیت POD را از ۱۲/۴۵ به ۷۴/۰۳ Umg^{-1} افزایش داد (افزایش ۴/۹۴ برابری)، و در دوز ۵۰۰ گری از ۴۸/۸۳ به ۹۴/۴۴ رسید. این یافته‌ها به‌روشنی نشان می‌دهند که تنش اسمزی پیش‌گیرانه می‌تواند از تخریب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برابر پرتودهی حاد جلوگیری کرده و ظرفیت دفاعی سلول را حفظ نماید.

روند تغییرات فعالیت POD در غیاب PEG، همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده، الگویی مشابه SOD اما با دامنه تغییرات متفاوت داشت. فعالیت POD در تیمار شاهد (بدون PEG) برابر با $36/53 \text{ Umg}^{-1}$ بود. روند تغییرات POD در غیاب PEG مشابه SOD بود؛ با افزایش دوز پرتودهی، فعالیت POD ابتدا کاهش (دوز ۲۰ گری: ۲۳/۵۸) و سپس افزایش یافت و در دوز ۱۰۰ گری به حداکثر مقدار خود رسید (۹۹/۱۶). این مقدار بیانگر فعال‌سازی شدید سیستم تجزیه پراکسید هیدروژن در پاسخ به تجمع ROS در دوزهای متوسط است. در دوز ۱۰۰۰ گری (بدون PEG)، فعالیت

Nostoc muscorum نشان داده شد که فعالیت پراکسیداز در پاسخ به تنش‌های محیطی مختلف، از جمله تنش اکسیداتیو و اسمزی، افزایش می‌یابد و نقش کلیدی در حفظ تعادل اکسایش-احیا سلولی و محافظت از غشاهای سلولی در برابر پراکسیداسیون لیپیدی دارد و فعالیت پراکسیداز (POD) در پاسخ به تنش‌های محیطی، الگوی وابسته به شدت و ترکیب تنش نشان داد (Farooqui et al., 2017). در شرایط پرتودهی منفرد با دوز حاد، کاهش معنی‌داری در فعالیت POD مشاهده شد که بیانگر فروپاشی ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول است، در مقابل، پیش‌تیمار با PEG6000 موجب حفظ و حتی افزایش فعالیت این آنزیم در همان دوز پرتودهی گردید؛ پدیده‌ای که از آن به عنوان تحمل متقاطع یاد می‌شود (Farooqui et al., 2017). این یافته با نتایج مربوط به نقش پیش‌تیمار اسمزی در فعال‌سازی پیشگیرانه مسیرهای دفاعی همخوانی دارد (Chieb and Gachomo, 2023) و شواهد تجربی مستقیمی برای فرضیه مربوط به برتری فیزیولوژیک سیانوباکتری‌ها در شرایط تنش چندگانه فراهم می‌آورد (Paerl and Paul, 2012).

(Lai et al., 2007). در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که پاسخ سیستم آنتی اکسیدانی نوستوک به پرتودهی گاما خطی نیست و دارای آستانه‌های مشخص است. در دوزهای متوسط (۵۰-۱۰۰ گری)، سلول قادر به فعال‌سازی مؤثر SOD و POD در پاسخ به افزایش ROS است، در حالی که در دوزهای حاد (۵۰۰-۱۰۰۰ گری)، تجمع بیش از حد ROS منجر به تخریب آنزیم‌های دفاعی و فروپاشی سیستم آنتی اکسیدانی می‌شود. حضور PEG6000 به عنوان پیش‌تیمار اسمزی، این آستانه شکست را به سمت دوزهای بالاتر جابه‌جا کرد و از طریق مکانیسم تحمل متقاطع، مقاومت رادیولوژیک نوستوک را به طور معنی‌داری ارتقا داد.

از مقایسه نتایج می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت POD الگوی دوفازی مشابه SOD داشته است به نحوی که کاهش در ۲۰ گری (۲۳/۵۸ U/mg protein)، کاهش ۳۵/۴٪، اوج در ۱۰۰ گری (۹۹/۱۶ protein)، افزایش ۱۷۱/۵٪، و کاهش شدید در ۱۰۰۰ گری (۱۲/۴۵ U/mg protein)، کاهش ۶۵/۹٪. این الگو با نقش POD در حذف H_2O_2 و سایر پراکسیدها سازگار است. در مطالعه‌ای بر روی



شکل ۵- نمودار تأثیر پرتودهی بر سطح POD (RFU/mg) در حضور و عدم حضور PEG. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (Mean $\pm$ SE) ارائه شده‌اند و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح $p < 0.01$ بر اساس آزمون Tukey هستند.

Figure 5 - Graph of the effect of irradiation on POD level (RFU/mg) in the presence and absence of PEG. Data are presented as mean $\pm$ standard error (Mean $\pm$ SE) and different letters indicate significant differences between treatments at the $p < 0.01$ level based on Tukey's test.

نشان داد که پاسخ این ریزجاندار به پرتودهی گاما غیرخطی و وابسته به دوز است. در دوزهای پایین تا متوسط (۲۰ تا ۱۰۰ گری)، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با فعال‌سازی مؤثر آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز (POD) همراه بود که

نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، اثرات مستقل و متقابل پرتودهی گاما و تنش اسمزی ناشی از PEG6000 بر سیستم آنتی اکسیدانی سیانوباکتری *Nostoc sp.* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به وضوح

بهترین عملکرد محافظتی را نشان داد و به عنوان آستانه بهینه برای القای پاسخ‌های دفاعی بدون ایجاد آسیب غیرقابل جبران شناسایی شد. این یافته‌ها پیامدهای عملی مهمی در زمینه تولید کودهای زیستی مقاوم به تنش دارند. پیش‌تیمار گاما با دوز کنترل‌شده می‌تواند به عنوان یک راهکار کم‌هزینه و قابل اجرا در مقیاس صنعتی، کارایی *Nostoc sp.* را در شرایط تنش‌زای محیطی مانند خشکی بهبود بخشد. این پژوهش می‌تواند به عنوان یک مبانی علمی برای توسعه نسل جدیدی از کودهای زیستی پرتوانی‌شده با قابلیت تحمل به تنش‌های چندگانه قلمداد گردد.

منابع

- Arslan Yuksel, E., Yagci Ergul, S., Yuce, M., Aydin, M., Taspinar, M. S., & Agar, G. (2025). Naringenin Alleviates Drought Stress on Wheat by Regulating Physiological and Biochemical Systems and the Expression of Drought-Related Genes. *Journal of Crop Health*, 77(5), 143.
- Chance, B., and Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
- Chatterjee, P., Schafran, P., Li, F. W., and Meeks, J. C. (2022). Nostoc talks back: Temporal patterns of differential gene expression during establishment of anthoceros-nostoc symbiosis. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 35(10), 917-932.
- Chieb, M., and Gachomo, E. W. (2023). The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. *BMC plant biology*, 23(1), 407.
- Cui, H., Sun, J., Tang, Y., and Wang, Y. (2026). Physiological Evaluation of Drought Resistance in Five Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Cultivars using PEG-induced Stress. *Legume Research-An International Journal*, 49(4), 593-598.
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P., and 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>
- Ehling-Schulz, M., Schulz, S., Wait, R., Görg, A., and Scherer, S. (2002). The UV-B stimulon of the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune* comprises early shock proteins and late acclimation proteins. *Molecular Microbiology*, 46(3), 827-843.
- Farooqui, A., Suhail, S., and Zeeshan, M. (2017). Cadmium induced oxidative stress and biochemical responses in cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 64(1), 124-132.
- Fedoreyeva, L. I. (2024). ROS as signaling molecules to initiate the process of plant acclimatization to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(21), 11820.
- Fedurayev, P. V., Mironov, K. S., Gabrielyan, D. A., Bedbenov, V. S., Zorina, A. A., Shumskaya, M., & Los, D. A. (2018). Hydrogen peroxide participates in perception and
- بیانگر توانایی سلول در حفظ تعادل اکسایش-احیا و القای پاسخ تطابقی است. در مقابل، دوزهای بالای پرتودهی (۵۰۰ و ۱۰۰۰ گری) به دلیل تولید بیش از حد ROS و ناتوانی سیستم دفاعی در مهار تنش اکسیداتیو، منجر به فروپاشی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش معنی‌دار رشد گردید. از مهم‌ترین یافته‌های این تحقیق، اثبات پدیده تحمل متقاطع در *Nostoc sp.* است. اعمال پیش‌تیمار اسمزی PEG6000، نه تنها سطح ROS را در دوزهای بالای پرتودهی به‌طور معنی‌داری کاهش داد، بلکه توانست فعالیت آنزیم‌های SOD و POD را تا سطحی بالاتر از نمونه‌های بدون پیش‌تیمار حفظ و حتی افزایش دهد. این امر نشان می‌دهد که القای یک تنش خفیف (اسمزی) می‌تواند سلول را برای مقابله مؤثرتر با تنش بیشتر (پرتودهی) آماده سازد. به طور کلی، دوز ۱۰۰ گری در ترکیب با پیش‌تیمار اسمزی، transduction of cold stress signal in *Synechocystis*. *Plant and Cell Physiology*, 59(6), 1255-1264.
- Gupta, V., and Vyas, D. (2021). Antimicrobial effect of a cyclic peptide Nostophycin isolated from wastewater cyanobacteria, *Nostoc calcicola*. *Curr. Bot*, 12, 94-101.
- Gulcin, İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. *Archives of toxicology*, 99(5), 1893-1997.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... and Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- Hasani, A., & Nouzadeh Haddad, M. (2017). Effect of ammonium nitrate and free amino acids on the nitrate accumulation in radish. *Water and Soil Science*, 26(4.1), 67-78.
- Hossain, M. A., Bhattacharjee, S., Armin, S. M., Qian, P., Xin, W., Li, H. Y., Burritt, D. J., Fujita, M., and Tran, L. S. P. (2015). Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: Insights from ROS detoxification and scavenging. *Frontiers in Plant Science*, 6, 420. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00420>
- Hossain, M. S., and Okino, T. (2024). Cyanoremediation of heavy metals (As (v), Cd (ii), Cr (vi), Pb (ii)) by live cyanobacteria (*Anabaena variabilis*, and *Synechocystis* sp.): an eco-sustainable technology. *RSC advances*, 14(15), 10452-10463.
- Jain, S., Prajapat, G., Abrar, M., Ledwani, L., Singh, A., and Agrawal, A. (2017). Cyanobacteria as efficient producers of mycosporine-like amino acids. *Journal of Basic Microbiology*, 57(9), 715-727.
- Jantaro, S., Baebprasert, W., Piyamawadee, C., Sodsua, O., and Incharoensakdi, A. (2014). Exogenous spermidine alleviates UV-induced growth inhibition of *Synechocystis* sp. PCC 6803 via reduction of hydrogen peroxide and malonaldehyde levels. *Applied biochemistry and biotechnology*, 173(5), 1145-1156.
- Kaur, H., Chakraborty, N., Juglan, K. C., and Kumar, H. (2021). Volumetric and acoustic behavior of PEG-200 and PEG-600 in aqueous d-mannitol solutions at different temperatures. *Journal of Solution Chemistry*, 50(8), 1079-1102.
- Kumar, T., Wang, J. G., Xu, C. H., Lu, X., Mao, J., Lin, X.

- Q., ... & Liu, H. B. (2024). Genetic engineering for enhancing sugarcane tolerance to biotic and abiotic stresses. *Plants*, 13(13), 1739.
- Lai, Q. X., Bao, Z. Y., Zhu, Z. J., Qian, Q. Q., & Mao, B. Z. (2007). Effects of osmotic stress on antioxidant enzymes activities in leaf discs of PSAG12-IPT modified gerbera. *Journal of Zhejiang University Science B*, 8(7), 458-464.
- Latifi, A., Ruiz, M., and Zhang, C. C. (2009). Oxidative stress in cyanobacteria. *FEMS microbiology reviews*, 33(2), 258-278.
- Meeks, J. C., and Elhai, J. (2002). Regulation of cellular differentiation in filamentous cyanobacteria in free-living and plant-associated symbiotic growth states. *Microbiology and molecular biology reviews*, 66(1), 94-121.
- Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A., & Shen, G. (2023). Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1110622.
- Nadarajah, K. K. (2020). ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants. *International journal of molecular sciences*, 21(15), 5208.
- Pandey, N., Patel, A., Tiwari, S., and Prasad, S. M. (2022). Differential response of copper nanoparticles and ionic copper on growth, chlorophyll fluorescence, oxidative stress, and antioxidant machinery of two paddy field cyanobacteria. *Ecotoxicology*, 31(6), 933-947.
- Paerl, H. W., and Paul, V. J. (2012). Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water research*, 46(5), 1349-1363.
- Potts, M. (1994). Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiological reviews*, 58(4), 755-805.
- Rahman, M. A., Khatun, M. T., Mim, A. K., Khandocar, M. P., Rahman, A., Hasan, M. H., ... and Islam, M. S. (2025). Oxidative stress in DNA damage and neurodegenerative diseases: unveiling the mechanisms and therapeutic opportunities. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 1-20.
- Rashid, A., Schutte, B. J., Ulery, A., Deyholos, M. K., Sanogo, S., Lehnhoff, E. A., & Beck, L. (2023). Heavy metal contamination in agricultural soil: environmental pollutants affecting crop health. *Agronomy*, 13(6), 1521.
- Rao, M. J., Duan, M., Zhou, C., Jiao, J., Cheng, P., Yang, L., ... & Zheng, B. (2025). Antioxidant defense system in plants: reactive oxygen species production, signaling, and scavenging during abiotic stress-induced oxidative damage. *Horticulturae*, 11(5), 477.
- Saed-Moucheshi, A., Sohrabi, F., Fasihfar, E., Baniasadi, F., Riasat, M., & Mozafari, A. A. (2021). Superoxide dismutase (SOD) as a selection criterion for triticale grain yield under drought stress: a comprehensive study on genomics and expression profiling, bioinformatics, heritability, and phenotypic variability. *BMC plant biology*, 21(1), 148.
- Saini, S., Sharma, P., Pooja, P., Thakur, R., and Sharma, A. (2026). Unveiling the effective role of nitric oxide on seed germination and early seedling growth of lentil (*Vicia lens* (L.) Coss. and Germ.) under PEG-induced drought stress. *Biologia*, 81(3), 73.
- Sha, W., Cai, F., Li, Y., Wang, Y., Liu, C., Wang, R., and Gao, P. (2021). Biomarker responses and histological damage in the gill, liver, and gonad of *Cyprinus carpio* with benzo (a) pyrene exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(43), 61290-61301.
- Shang, J. L., Xie, Y. X., Shi, L. Y., Diao, S. R., & Guan, J. Y. (2025). Molecular mechanisms of *Nostoc* flagelliforme environmental adaptation: A comprehensive review. *Plants*, 14(11), 1582.
- Shannon, L. M., Kay, E., and Lew, J. Y. (1966). Peroxidase isozymes from horseradish roots. *Journal of Biological Chemistry*, 241(9), 2166-2172. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)96680-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)96680-3)
- Singh, A. P., Gupta, A., Singh, P. R., Jaiswal, J., and Sinha, R. P. (2024). Synergistic effects of salt and ultraviolet radiation on the rice-field cyanobacterium *Nostochopsis lobatus* HKAR-21. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 23(2), 285-302.
- Singh, S. P., Häder, D. P., and Sinha, R. P. (2010). Cyanobacteria and ultraviolet radiation (UVR) stress: Mitigation strategies. *Ageing Research Reviews*, 9(2), 79-90. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2009.05.004>
- Srivastava, A. K., Bhargava, P., and Rai, L. C. (2005). Salinity and copper-induced oxidative damage and changes in the antioxidative defence systems of *Anabaena doliolum*. *World journal of microbiology and biotechnology*, 21(6), 1291-1298.
- Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., and Zhu, J. K. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, 45(4), 523-539.
- Wang, H., and Joseph, J. A. (1999). Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(5-6), 612-616. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00107-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00107-0)
- Wang, L., Yang, T., Pan, Y., Shi, L., Jin, Y., and Huang, X. (2023). The metabolism of reactive oxygen species and their effects on lipid biosynthesis of microalgae. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 11041.
- Wang, S., Pan, Z., He, S., Cheng, C., Wu, L., She, Y., ... and Xie, L. (2026). Adaptation strategies of cyanobacteria under trace tetracycline stress: a comparative study of toxigenic and non-toxigenic strains. Available at SSRN 6758165.
- Whitton, B. A., and Potts, M. (2012). Introduction to the cyanobacteria. In *Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time* (pp. 1-13). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Wright, D. J., Smith, S. C., Joardar, V., Scherer, S., Jervis, J., Warren, A., ... and Potts, M. (2005). UV irradiation and desiccation modulate the three-dimensional extracellular matrix of *Nostoc commune* (Cyanobacteria). *Journal of Biological Chemistry*, 280(48), 40271-40281.
- Wurzinger, B., Mair, A., Pfister, B., & Teige, M. (2011). Cross-talk of calcium-dependent protein kinase and MAP kinase signaling. *Plant signaling & behavior*, 6(1), 8-12.
- Zhang, K., Zhang, Y., Sun, J., Meng, J., and Tao, J. (2021). Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 158, 475-485.
- Zhuang, Z., Li, J., Shen, P., Zhao, Z., and Tang, B. Z. (2024). Exploring and leveraging aggregation effects on

reactive oxygen species generation in photodynamic therapy. *Aggregate*, 5(4), e540.

ISSN: 3041-9638

<https://jrpsm.asnrkh.ac.ir/>

Open Access

Research Article

Physiological response of Periwinkle (*Vinca minor* L.) to different levels of ultraviolet radiation

A. Shayganfar¹, M. mirzaei¹, H. Mumivand² and S. F. Mirahmadi³¹Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran.²Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.³Department of Agriculture and Natural Resources, Technical and Engineering Faculty, Velayat University, Iranshahr, Iran.

Received: 27 May 2026

Accepted: 01 Sep 2026

Published: 01 Sep 2026

Corresponding Author:

Alireza Shayganfar

Email:

Shyganfar.a.r@gmail.com

Keywords:

UV-B radiation, Oxidative stress, Total phenol, Intermittent irradiation pattern

Extended Abstract

Background and objectives: Ultraviolet (UV) radiation, as a part of the electromagnetic spectrum, has significant consequences for plant physiology. The increased depletion of the stratospheric ozone layer due to industrial activities has led to an increase in UV-B radiation reaching the Earth's surface. This radiation acts as an oxidative stressor and, by generating reactive oxygen species (ROS), damages cellular components such as DNA, proteins, and membrane lipids. In response, plants employ complex defense mechanisms, including enzymatic (e.g., catalase and peroxidase) and non-enzymatic (e.g., phenols and carotenoids) antioxidant systems. Among these, medicinal plants are of particular importance due to their inherent ability to produce valuable secondary metabolites. Periwinkle (*Vinca minor* L.), from the Apocynaceae family, is a medicinal and ornamental plant containing valuable indole alkaloids such as vincamine, known for its modulating effects on cerebral blood circulation and neuroprotective properties. However, the physiological responses of this plant to UV radiation, especially considering the variable of radiation pattern (intermittent vs. continuous), have been less studied. This research was designed and conducted to investigate the effect of different types of UV radiation (UV-A and UV-B) under two patterns of intermittent and continuous irradiation on the physiological characteristics, antioxidant defense system, and secondary metabolite content of periwinkle.

Materials and Methods: This research was conducted as a completely randomized design with 7 treatments and 3 replications in the greenhouse of Malayer University (Hamedan, Iran). Periwinkle plantlets, after in vitro culture in MS medium and rooting, were transferred to pots containing Hoagland's solution. After one week of establishment, they were exposed to UV radiation treatments for 9 days. The treatments included: control (only fluorescent light), intermittent UV-A, continuous UV-A, intermittent UV-B, continuous UV-B, intermittent UV-AB, and continuous UV-AB. UV radiation was applied using 40-watt broadband lamps manufactured by Q-Lab (USA), providing the closest match to the natural solar spectrum, for 45 minutes in the middle of the 16-hour photoperiod. The intermittent pattern consisted of three 15-minute periods with 15-minute intervals, and the continuous pattern involved 45 minutes of uninterrupted radiation. At the end of the treatment period, leaf samples were harvested and immediately frozen in liquid nitrogen. The measured traits included the activity of antioxidant enzymes (catalase, peroxidase, and ascorbate peroxidase), malondialdehyde (MDA) content, photosynthetic pigments (chlorophyll a, b, and carotenoids), total phenol, proline, soluble sugars, and fresh and dry root weight.

Results: The results showed that UV radiation had a significant effect on most of the measured physiological traits. In the enzymatic defense sector, the highest catalase enzyme activity was observed in the intermittent UV-A treatment (0.44), and the highest ascorbate peroxidase activity was recorded in the intermittent UV-AB treatment (0.55), both showing a significant difference from the control. However, guaiacol peroxidase activity was not affected by the treatments. Regarding photosynthetic pigments, the intermittent UV-B treatment exhibited a powerful photoprotection strategy, marked by a significant peak in carotenoids (0.93 mg/g) and a sharp decline in chlorophyll b (0.1 mg/g). The continuous UV-B treatment also showed the highest chlorophyll a (0.85 mg/g) but failed to increase carotenoids significantly. Total phenol content increased significantly compared to the control only in the intermittent UV-B treatment (28.49 mg GAE/g), identifying it as the most effective elicitor of the phenylpropanoid pathway. A key and unexpected finding was the significant decrease in malondialdehyde in all UV treatments compared to the control, indicating the remarkable efficiency of the plant's antioxidant defense system. Soluble sugar content decreased significantly in the intermittent UV-B treatment, reflecting the consumption of carbon reserves to supply the energy and carbon skeletons required for the biosynthesis of defensive metabolites. Proline changes were significant only in the continuous UV-B treatment, showing a decrease compared to the control. Fresh and dry root weight showed no significant change under any treatment.

Conclusion: This study demonstrated, for the first time, that the physiological response of periwinkle to UV radiation depends not only on the type of spectrum but also on the irradiation pattern. Intermittent UV-B, as the most efficient elicitor, achieved a level of cellular protection by coordinated induction of enzymatic (increased catalase) and non-enzymatic (significant increase in total phenol and carotenoids) antioxidant defenses, reducing lipid peroxidation even below the control level. This defensive success was accompanied by the consumption of sugar reserves, highlighting the metabolic cost of these responses. In contrast, continuous UV-B, by decreasing proline and failing to increase phenols and carotenoids, likely exceeded the plant's tolerance threshold. From a practical perspective, intermittent UV-B irradiation could be considered as a targeted, non-chemical strategy to enhance valuable secondary metabolites in the commercial cultivation of this medicinal plant.

Citation:

Shayganfar, A., mirzaei, M., Mumivand, H., & Mirahmadi, S. F. (2026). Physiological response of Periwinkle (*Vinca minor* L.) to different levels of ultraviolet radiation. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 4(2), 69-84. Doi:10.22034/jrpsm.2026.588772.1123



پاسخ فیزیولوژیک پیچ تلگرافی (*Vina minor L.*) به سطوح مختلف پرتو فرابنفش

علیرضا شایگان فر^۱، مرجان میرزایی^۱، حسن مومیوند^۲ و سیدفاضل میراحمدی^۳

^۱گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

^۲گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

^۳گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه ولایت، ایرانشهر، ایران.

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۰۶

نویسنده مسئول:

علیرضا شایگان فر

ایمیل:

Shayganfar.a.r@gmail.com

چکیده مبسوط

سابقه و هدف: پرتو فرابنفش (UV) به عنوان بخشی از طیف الکترومغناطیسی، پیامدهای قابل توجهی برای فیزیولوژی گیاهان به همراه دارد. افزایش تخریب لایه اوزون استراتوسفر ناشی از فعالیت‌های صنعتی بشر، به افزایش میزان پرتو فرابنفش B در سطح زمین منجر شده است. این پرتو به عنوان یک تنش اکسیداتیو عمل کرده و با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، به اجزای سلولی از جمله DNA، پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی آسیب می‌رساند. در پاسخ، گیاهان سازوکارهای دفاعی پیچیده‌ای شامل سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (مانند کاتالاز و پراکسیداز) و غیرآنزیمی (مانند فنل‌ها و کاروتنوئیدها) را به کار می‌گیرند. در این میان، گیاهان دارویی به دلیل توانایی ذاتی در تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. پیچ تلگرافی (*Vina minor L.*) از خانواده خرزهره (Apocynaceae)، گیاهی دارویی و زینتی است که دارای آلکالوئیدهای ایندولی ارزشمندی نظیر وینکامین با اثرات تعدیل‌کنندگی بر گردش خون، مغز و محافظت عصبی است. با این حال، پاسخ‌های فیزیولوژیک این گیاه به پرتو فرابنفش، به ویژه با در نظر گرفتن متغیر الگوی تابش (منقطع در مقابل پیوسته)، کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر انواع مختلف پرتو فرابنفش (UV-A و UV-B) در دو الگوی تابش منقطع و پیوسته بر ویژگی‌های فیزیولوژیک، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و محتوای متابولیت‌های ثانویه گیاه پیچ تلگرافی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها: این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۳ تکرار در گلخانه دانشگاه ملایر (همدان) اجرا گردید. نشاهای پیچ تلگرافی پس از کشت درون‌شیشه‌ای در محیط MS و ریشه‌دار شدن، به گلدان‌های حاوی محلول هوگلدن منتقل و پس از یک هفته استقرار، به مدت ۹ روز تحت تیمارهای پرتو فرابنفش قرار گرفتند. تیمارها شامل شاهد (فقط نور فلورسنت)، UV-A منقطع، UV-A پیوسته، UV-B منقطع، UV-B پیوسته، UV-AB منقطع و UV-AB پیوسته بودند. تابش فرابنفش با استفاده از لامپ‌های ۴۰ واتی باند پهن ساخت شرکت Q-Lab آمریکا (با بیشترین تطبیق با طیف طبیعی خورشید) به مدت ۴۵ دقیقه در میانه دوره نوری ۱۶ ساعته اعمال شد. الگوی منقطع شامل سه دوره ۱۵ دقیقه‌ای با فواصل ۱۵ دقیقه‌ای و الگوی پیوسته شامل ۴۵ دقیقه تابش مداوم بود. پس از پایان دوره تیمار، نمونه‌های برگ‌ی برداشت و در نیتروژن مایع منجمد گردیدند. صفات اندازه‌گیری شده شامل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز)، محتوای مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کاروتنوئید)، فنل کل، پرولین، قندهای محلول و وزن تر و خشک ریشه بودند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که پرتو فرابنفش تأثیر معنی‌داری بر اغلب صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده داشت. در بخش دفاع آنزیمی، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار UV-A منقطع (۰/۴۴) و بیشترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز در تیمار UV-AB منقطع (۰/۵۵) مشاهده شد که هر دو اختلاف معنی‌داری با شاهد داشتند. با این حال، فعالیت گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. در بخش رنگیزه‌های فتوسنتزی، تیمار UV-B منقطع با بیشینه معنی‌دار کاروتنوئیدها (۰/۹۳ میلی‌گرم بر گرم) و کاهش شدید کلروفیل b (۰/۱۱ میلی‌گرم بر گرم)، استراتژی حفاظت نوری قدرتمندی را به نمایش گذاشت. تیمار UV-B پیوسته نیز با بیشینه کلروفیل a (۰/۸۵ میلی‌گرم بر گرم) همراه بود، اما در افزایش کاروتنوئیدها ناموفق بود. محتوای فنل کل تنها در تیمار UV-B منقطع افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد یافت (۲۸/۴۹ میلی‌گرم GAE بر گرم) و آن را به عنوان مؤثرترین محرک مسیر فنیل‌پروپانوئید معرفی کرد. یافته‌های کلیدی و غیرمنتظره، کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدهید در تمام تیمارهای پرتو فرابنفش نسبت به شاهد بود که بر کارایی چشمگیر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه دلالت داشت. میزان قندهای محلول در تیمار UV-B منقطع به طور معنی‌داری کاهش یافت که نشان‌دهنده مصرف ذخایر کربنی برای تأمین انرژی و اسکلت‌های کربنی مورد نیاز بیوسنتز متابولیت‌های دفاعی بود. تغییرات پرولین تنها در تیمار UV-B پیوسته معنی‌دار شد که به صورت کاهش نسبت به شاهد مشاهده گردید. وزن تر و خشک ریشه در هیچ‌یک از تیمارها تغییر معنی‌داری نشان نداد.

نتیجه‌گیری: این پژوهش برای نخستین بار نشان داد که پاسخ فیزیولوژیک پیچ تلگرافی به پرتو فرابنفش، نه تنها به نوع طیف، بلکه به الگوی تابش نیز وابسته است. تیمار فرابنفش B منقطع به عنوان کارآمدترین محرک، با القای هماهنگ دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (افزایش کاتالاز) و غیرآنزیمی (افزایش معنی‌دار فنل کل و کاروتنوئیدها)، به چنان سطحی از محافظت سلولی دست یافت که پراکسیداسیون لیپیدی را حتی به زیر سطح شاهد کاهش داد. این موفقیت دفاعی با مصرف ذخایر قندی همراه بود که نشان‌دهنده هزینه متابولیکی این پاسخ‌هاست. در مقابل، تیمار UV-B پیوسته با کاهش پرولین و ناتوانی در افزایش فنل و کاروتنوئید، احتمالاً آستانه تحمل گیاه را پشت سر گذاشت. از منظر کاربردی، تابش منقطع UV-B می‌تواند به عنوان یک راهبرد غیرشیمیایی و هدفمند برای افزایش متابولیت‌های ثانویه ارزشمند در کشت تجاری این گیاه دارویی مدنظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پرتو

فرابنفش B، تنش

اکسیداتیو، فنل کل، الگوی

تابش منقطع.

نحوه استناد:

شایگان‌فر، ع.، میرزایی، م.، مومیوند، م.، میراحمدی، ف. (۱۴۰۵). پاسخ فیزیولوژیک پیچ تلگرافی (*Vina minor L.*) به سطوح مختلف پرتو فرابنفش. مجله پژوهش در متابولیت‌های گیاهی، دوره ۴، شماره ۲، صفحات: ۶۹-۸۴.

Doi:10.22034/jrpsm.2026.588772.1123

مقدمه

پرتو فرابنفش (UV) بخشی از طیف الکترومغناطیسی بین اشعه X و نور مرئی است که به‌طور متداول به پرتوهای فرابنفش A (۴۰۰-۳۱۵ نانومتر)، فرابنفش B (۳۱۵-۲۸۰ نانومتر) و فرابنفش C (۲۸۰-۱۰۰ نانومتر) تقسیم می‌شود. اگرچه لایه اوزون استراتوسفری عملاً همه پرتوهای فرابنفش C و بخش عمده فرابنفش B را جذب می‌کند، اما افزایش تخریب این لایه به‌علت فعالیت‌های بشر منجر به افزایش میزان پرتو فرابنفش B در سطح زمین شده است (Paul and Gwynn-Jones, 2003). پرتو فرابنفش B به‌عنوان زیان‌بارترین شکل از نور خورشید که به سطح زمین می‌رسد، می‌تواند به اجزای سلولی گیاهان آسیب وارد کند و به‌عنوان یک تنش اکسیداتیو عمل نماید (Johnny et al., 2010). این تنش اثرات مستقیم و غیرمستقیمی از جمله تغییرات ساختار سه‌بعدی و تخریب DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها، و همچنین ایجاد اختلال در فتوسنتز، رشد و مورفولوژی گیاهان دارد. در پاسخ به این تنش، گیاهان مکانیسم‌های حفاظتی متنوعی را به کار می‌گیرند. در بعد فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، آن‌ها ممکن است ترکیبات جذب‌کننده پرتو فرابنفش B مانند فلاونوئیدها را در اپیدرم برگ تولید کنند و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه خود را افزایش دهند (Searles et al., 2001). این متابولیت‌های ثانویه، از جمله آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی، علاوه بر نقش غربالگری پرتوهای فرابنفش، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی نیز عمل کرده و به بقای گیاه تحت شرایط نامساعد کمک می‌کنند (Jacobs, 2014). با این حال، پاسخ گیاهان به پرتو فرابنفش B مطلق نیست و بسته به میزان شار، طول مدت تابش و برهم‌کنش با دیگر عوامل محیطی، می‌تواند نقش تنظیم‌کنندگی یا تخریبی داشته باشد (Zhang and Björn, 2009). جالب توجه است که افزایش متابولیت‌های ثانویه حتی می‌تواند توسط شدت‌های بسیار پایین پرتوهای فرابنفش که هیچ آسیب قابل‌رؤیت یا اثر منفی بر رشد ندارند نیز القا شود (Kataria and Guruprasad, 2014).

در این میان، گیاهان دارویی به دلیل توانایی ذاتی خود در تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. یکی از این گیاهان، پیچ تلگرافی (*Vinca minor* L.)، گیاهی پایا، علفی و خزنده از خانواده خرزهره (Apocynaceae) است. این گیاه دارای خواص قابض، تصفیه‌کننده خون، التیام‌بخش و مدر بوده و در طب سنتی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد داشته است (Rezaei et al., 2015). ارزش دارویی عمده این گیاه به حضور آلکالوئیدهای ایندولی آن، به‌ویژه از نوع ایورنامین^۳، مربوط می‌شود. همچنین

ترکیباتی نظیر وینکامین، وینبلاستین و وینکرسین که در این گیاه یافت می‌شوند، دارای اثرات ضد توموری، آنتی میکروتوبولی و تعدیل‌کنندگی بر گردش خون مغز هستند (Vas and Gulyas, 2005).

اهمیت بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه پیچ تلگرافی به پرتو فرابنفش با مرور پژوهش‌های پیشین آشکارتر می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که پرتو فرابنفش می‌تواند به‌عنوان یک محرک مؤثر، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه ارزشمند را در گیاهان دارویی تحت تأثیر قرار دهد. به‌طور مشخص، در گیاه پیوش (*Catharanthus roseus* L.) که خوشاوند نزدیک پیچ تلگرافی است و مسیر بیوسنتزی مشابهی برای تولید ایندول آلکالوئیدها دارد، تابش پرتو فرابنفش B منجر به تغییرات دینامیکی در متابولیت‌ها، به‌ویژه آلکالوئیدها، و افزایش تجمع آن‌ها شده است (Zhang and Björn, 2009). حتی ترکیب تحریک‌کننده‌هایی نظیر متیل جاسمونات و پرتو فرابنفش B، تجمع وینبلاستین و وینکریستین را بیش از سایر تیمارها افزایش داده است (Rady et al., 2021). علاوه بر این، مشخص شده است که گونه‌های مختلف جنس *Vinca* دارای پروفایل‌های فیتوشیمیایی متنوعی هستند؛ به‌طوری‌که *V. minor* L. از نظر محتوای آلکالوئیدی غنی‌ترین است و خوشاوندان آن می‌توانند سرشار از فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنلی باشند (Chen et al., 2017). این ترکیبات فنلی، از جمله فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها، نه‌تنها به‌عنوان فیلترهای محافظ در برابر پرتو فرابنفش در اپیدرم برگ تجمع می‌یابند، بلکه خاصیت آنتی‌اکسیدانی قدرتمندی نیز دارند (Leelaprakash et al., 2011). از سوی دیگر، واکنش گیاهان به پرتو فرابنفش صرفاً به افزایش متابولیت‌های ثانویه محدود نمی‌شود و شبکه پیچیده‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیک را در بر می‌گیرد. پرتو فرابنفش B می‌تواند به‌طور مستقیم با کاهش فعالیت رویسکو، تخریب یکپارچگی تیلکوئیدها و غیرفعال‌سازی فتوسیستم II، آهنگ فتوسنتز را کاهش دهد (Barbato et al., 1995). این تنش اکسیداتیو، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه را نیز به چالش می‌کشد. پژوهش‌ها حاکی از آن است که تابش پرتو فرابنفش می‌تواند منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز شود (Sarghein et al., 2011)؛ و هم‌زمان، شاخص‌های آسیب‌غشایی مانند مالون‌دی‌آلدهید را افزایش دهد (Pourakbar and Abedzadeh, 2014). حتی گزارش‌هایی مبنی بر تشکیل کریستال‌هایی در پراکسی‌زوم سلول‌ها به دلیل افزایش فعالیت کاتالاز تحت تنش پرتو فرابنفش وجود دارد که نشان از

³. Eburnamine

ریزنمونه‌ها در اتاقک رشد به مدت دو ماه، مریستم انتهایی در محیط کشت MS ریشه‌دار شد. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده برای توسعه بیشتر سیستم ریشه، به گلدان‌های حاوی محلول هوگلند (با ترکیب استاندارد) منتقل گردیدند. پس از یک هفته استقرار در محیط کشت هیدروپونیک، تیمارهای پرتو فرابنفش بر روی گیاهان اعمال شد.

مکان و زمان اجرای آزمایش: این تحقیق طی سال‌های ۱۴۰۱-۱۴۰۲ در گلخانه و آزمایشگاه گروه علوم ومهندسی باغبانی دانشگاه ملایر واقع در استان همدان به اجرا درآمد. این مکان در طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۸۴ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۲۶ دقیقه و در ارتفاع ۱۷۸۰ متری از سطح دریا قرار دارد. میانگین بارندگی سالانه منطقه ۲۴۲ میلی‌متر است. گلخانه مورد استفاده دارای جهت شمالی-جنوبی، پوشش پلی‌کربنات و مجهز به سیستم خنک‌کننده (پوشال و پنکه)، تهویه جانبی و سایبان بود. میانگین دمای روزانه گلخانه در طول دوره آزمایش بین ۲۲ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی بین ۶۰ تا ۷۰ درصد ثبت گردید.

تیمارهای آزمایشی و شرایط اعمال پرتو فرابنفش: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. به این منظور، پس از طی دوره استقرار در محلول هوگلند، گلدان‌ها به مدت ۹ روز تحت تیمارهای مختلف پرتو فرابنفش قرار گرفتند. برای کنترل شرایط نوری، از اتاقک‌های رشد با ابعاد ۱۲۰ × ۷۰ × ۴۰ سانتی‌متر مستقر در فضای گلخانه استفاده شد؛ بنابراین دما و رطوبت اتاقک‌ها تابع شرایط گلخانه بود. هر اتاقک رشد به ۴ لامپ فلورسنت مهتابی جهت تأمین روشنایی پایه و بسته به تیمار، یک یا دو لامپ پرتو فرابنفش مجهز بود. لامپ‌های فرابنفش مورد استفاده، ساخت شرکت Q-Lab آمریکا و از نوع لامپ‌های ۴۰ وات و باند پهن بودند که بیش‌ترین تطبیق را با پرتو فرابنفش B و پرتو فرابنفش A دریافتی از نور خورشید در سطح زمین داشتند و بنابراین بهترین شبیه‌سازی ممکن از شرایط طبیعی را فراهم می‌نمودند. فاصله لامپ‌ها از سطح گلدان‌ها ۵۰ سانتی‌متر تنظیم گردید. در هر اتاقک، سه گلدان به‌عنوان سه تکرار زیست‌شناختی قرار داده شدند.

دوره نوری پایه برای تمامی تیمارها ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود و اعمال پرتو فرابنفش در میانه دوره روشنایی انجام می‌شد. تیمارهای آزمایشی به‌شرح زیر تعریف شدند:

۱. شاهد: تنها ۵ لامپ فلورسنت (بدون هیچ‌گونه پرتو فرابنفش).
۲. فرابنفش A منقطع: یک لامپ UV-A؛ تابش به مدت ۴۵ دقیقه در میانه دوره روشنایی به‌صورت ناپیوسته در سه دوره ۱۵ دقیقه‌ای با فواصل ۱۵ دقیقه‌ای.
۳. فرابنفش A پیوسته: یک لامپ UV-A؛ تابش به مدت ۴۵ دقیقه پیوسته در میانه دوره روشنایی.

واکنش ساختاری گیاه به این تنش است (Sarghein et al., 2011). بنابراین، واضح است که مطالعه هم‌زمان تغییرات در محتوای متابولیت‌های ثانویه و پاسخ‌های دفاعی فیزیولوژیک در گیاه پیچ تلگرافی، برای ترسیم تصویری جامع از چگونگی پاسخ این گیاه دارویی ارزشمند به سطوح مختلف پرتو فرابنفش و بهره‌برداری هدفمند از آن ضروری است.

شدت و کیفیت نور از فاکتورهای اقلیمی بسیار مهم و غیرقابل کنترلی هستند که بر رشد، نمو و تولید متابولیت‌های گیاهی تأثیر می‌گذارند. با توجه به تغییرات اقلیمی و افزایش پرتو فرابنفش در سطح زمین، بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاهان به این پرتو اهمیتی دوچندان یافته است. رهیافت‌های تجربی نشان می‌دهند که درک کامل روند رویدادهای سیگنال‌دهی و پارامترهای مسئول اولیه القاشده به وسیله پرتو فرابنفش، به‌ویژه در گیاهان دارویی، می‌تواند به بهره‌برداری هدفمند از این عامل محیطی برای افزایش کمی و کیفی مواد مؤثره کمک کند. با این وجود، واکنش گیاهان زینتی-دارویی ارزشمندی مانند پیچ تلگرافی به سطوح مختلف پرتو فرابنفش کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر انواع مختلف پرتو فرابنفش بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی در گیاه پیچ تلگرافی طراحی شد تا از این طریق بتوان به بهترین ترکیب تیماری برای افزایش راندمان کمی و کیفی مواد مؤثره دست یافت. در راستای این اهداف، فرض شد که برای کاهش اثرات نامطلوب پرتو فرابنفش، علاوه بر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز افزایش می‌یابد و سایر شاخص‌های فیزیولوژیک نظیر آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (پرولین، مالون‌دی‌آلدید) نیز تحت تأثیر این تیمارها قرار می‌گیرند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط کشت اولیه: در این پژوهش، نشاهای گیاه پیچ تلگرافی (*V. minor* L.) از پژوهشکده گل و گیاهان زینتی محلات تهیه و به گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر منتقل شدند. ترکیب بستر کشت برای کلبه نشاها به‌صورت یکسان و شامل مخلوطی از خاک باغچه، پرلیت، ماسه و کوکوپیت با نسبت‌های حجمی مساوی (۱:۱:۱:۱) در نظر گرفته شد. پس از طی یک دوره تقریبی ۲۰ روزه برای استقرار و سازگاری گیاهان با شرایط جدید و حصول اطمینان از شروع رشد رویشی، برگ‌های جوان از بخش رأسی گیاهان جدا شده و برای کشت درون‌شیشه‌ای مورد استفاده قرار گرفتند. برای ضدعفونی سطحی، ریزنمونه‌های برگ‌ی ابتدا به مدت ۵ ثانیه در اتانول ۹۶ درصد غوطه‌ور و سپس با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. در مرحله بعد، ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۳ درصد به مدت ۲۰ دقیقه انجام گرفت. پس از قرار دادن

میلی‌لیتری منتقل شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. مخلوط واکنش شامل ۴۰۰ میکرولیتر بافر، ۳۰۰ میکرولیتر H_2O_2 و ۳۰ میکرولیتر از عصاره روشناور (سوپرناتانت) بود. تغییرات جذب نور بلافاصله هر ۱۰ ثانیه به مدت ۲ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-1800) ثبت گردید.

رنگی‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئید): محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید کل به روش (1987) Lichtenthaler اندازه‌گیری شد. به این منظور، ۰/۱ گرم از برگ تازه وزن شد و در هاون چینی با نیتروژن مایع به‌خوبی پودر گردید. پودر حاصل با ۱۰ میلی‌لیتر استون خالص مخلوط و عصاره به فالتکون ۱۵ میلی‌لیتری منتقل گردید. پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه، جذب محلول رویی در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۲ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. از استون خالص به‌عنوان بلانک (شاهد) برای صفر کردن دستگاه استفاده گردید و غلظت رنگی‌ها بر اساس روابط استاندارد زیر محاسبه و مقدار رنگی‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

$$Ca (\mu g/mL) = (11.24 \times A_{662}) - (2.04 \times A_{645})$$

کلروفیل a

$$Cb (\mu g/mL) = (20.13 \times A_{645}) - (4.19 \times A_{662})$$

کلروفیل b

$$C(a+b) (\mu g/mL) = (7.05 \times A_{662}) + (18.09 \times A_{645})$$

کلروفیل کل

$$C(x+c) (\mu g/mL) = (1000 \times A_{470} - 1.90 \times Ca - 63.14 \times Cb)$$

214 / غلظت کاروتنوئید

$$(mg/g FW) = (C \times V) / (C \times 10) / (0.1 \times 1000) = C \times 0.1$$

(W × 1000) مقدار رنگی‌ها

C: غلظت رنگی‌ها ($\mu g/mL$); V: حجم حلال (استون) بر حسب میلی‌لیتر; W: وزن تر نمونه گیاهی بر حسب گرم; ضریب تبدیل میکروگرم به میلی‌گرم: ۱۰۰۰

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD): فعالیت آنزیم پراکسیداز طبق روش MacAdam et al. (1992) سنجش شد. مشابه مراحل قبل، ۰/۳ گرم از نمونه برگ با نیتروژن مایع پودر شد و ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم به آن افزوده گردید. پس از سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه، از روشناور برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. تغییرات جذب نور در طول موج ۴۷۵ نانومتر هر ۱۰ ثانیه به مدت ۲ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرائت و ثبت گردید. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی. ($mM^{-1} cm^{-1}$) ۲۶/۶ بر اساس میزان H_2O_2 احیا

۴. فرابنفش B منقطع: یک لامپ UV-B؛ تابش به مدت ۴۵ دقیقه ناپیوسته در سه دوره ۱۵ دقیقه‌ای با فواصل ۱۵ دقیقه‌ای.

۵. فرابنفش B پیوسته: یک لامپ UV-B؛ تابش به مدت ۴۵ دقیقه پیوسته.

۶. فرابنفش AB منقطع: یک لامپ UV-A و یک لامپ UV-B؛ تابش هم‌زمان هر دو به مدت ۴۵ دقیقه ناپیوسته در سه دوره ۱۵ دقیقه‌ای.

۷. فرابنفش AB پیوسته: یک لامپ UV-A و یک لامپ UV-B؛ تابش هم‌زمان هر دو به مدت ۴۵ دقیقه پیوسته.

نمونه‌برداری: پس از پایان دوره ۹ روزه اعمال تیمارها، بخش هوایی گیاهان (شامل ساقه و برگ) جدا شد. بلافاصله، هر نمونه گیاهی به‌طور جداگانه درون کیسه‌های زیپ‌کیپ قرار گرفته، در معرض نیتروژن مایع منجمد و سپس برای نگهداری تا زمان انجام سنجش‌های بیوشیمیایی، به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک

پراکسیداسیون لیپیدهای غشا (مالون‌دی‌آلدهید): میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا از طریق سنجش محتوای مالون‌دی‌آلدهید (MDA) و بر اساس روش واکنش با تیوباربیتوریک اسید (TBA) مطابق با پروتکل Buege and Aust (1978) اندازه‌گیری شد. به این منظور، ۰/۵ گرم از نمونه برگ تازه در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد (TCA) آسیاب گردید. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شد. سپس، محلول رویی به مدت ۲۵ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از کاهش سریع دما با یخ خردشده، مجدداً به مدت ۵ دقیقه با همان سرعت قبل سانتریفیوژ گردید. در نهایت، جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. برای حذف اثر ترکیبات اضافی، مقدار جذب در ۶۰۰ نانومتر (A_{600}) از جذب در ۵۳۲ نانومتر (A_{532}) کسر گردید و غلظت مالون دی‌آلدهید با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$MDA (\mu mol/gFW^{-1}) = [(A_{532} - A_{600}) / 155.5] \times 1000$$

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Chance and Maehly (1955) و بر اساس سنجش کاهش جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر ناشی از تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۳ گرم از نمونه برگ منجمد در هاون چینی روی یخ با نیتروژن مایع به‌طور کامل پودر گردید. سپس ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم حاوی EDTA و PVP به آن اضافه و سوسپانسیون حاصل به میکروتیوب‌های ۲

ریشه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا به وزن ثابت برسند و سپس توزین شدند.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه واریانس (ANOVA) شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

تأثیر پرتو فرابنفش بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به شدت تحت تأثیر پرتوهای فرابنفش قرار می‌گیرد. پرتو فرابنفش سبب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده که باعث ایجاد تنش اکسیداتیو می‌گردند (Rao et al., 1996).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر پرتو فرابنفش بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه پیچ تلگرافی در سطح یک درصد معنی‌دار شد، اما فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارها نشان نداد (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۴۴ واحد) در تیمار فرابنفش A منقطع مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (۰/۰۵ واحد) داشت (شکل ۱). همچنین، بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۰/۵۵ واحد) به تیمار فرابنفش AB منقطع اختصاص یافت که نسبت به سایر تیمارها و شاهد (۰/۴ واحد) افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۲).

شده در دقیقه بر اساس رابطه زیر محاسبه و به صورت واحد بر گرم وزن تر برگ بیان شد.

$$\text{میزان فعالیت} = E \times VS / [VT \times (A100 - A40)]$$

اختلاف میزان جذب در ثانیه ۱۰۰ و ۴۰ در طول A100-A40

ضریب E: حجم کل نمونه داخل کووت Vt: موج ۴۷۵ نانومتر

حجم روشن‌آور Vs: خاموشی

محتوای فنل کل: محتوای فنل کل به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu) مطابق با پروتکل McDonald et al. (2001) اندازه‌گیری شد. به این منظور، یک گرم از نمونه برگ خشک شده وزن و به فالكون‌های ۱۵ میلی‌لیتری منتقل گردید و ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شد. پس از ۴۸ ساعت عصاره‌گیری در تاریکی و دمای اتاق، محلول از کاغذ صافی عبور داده شد. برای واکنش، ۰.۵ میلی‌لیتر از معرف فولین-سیوکالتیو با ۴ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم (Na_2CO_3) یک مولار مخلوط و سپس ۰.۵ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی به آن افزوده شد. مخلوط واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و سپس جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. غلظت فنل کل با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک (در محدوده ۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) محاسبه و نتایج به صورت میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم وزن خشک (mg GAE/g DW) گزارش گردید.

وزن تر و خشک ریشه: در پایان دوره آزمایش و پس از نمونه‌برداری از بخش هوایی، ریشه‌ها به دقت از گلدان‌ها خارج و با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از خشک کردن کامل سطح ریشه‌ها با دستمال کاغذی، وزن تر آن‌ها بلافاصله با ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری گردید. برای تعیین وزن خشک،

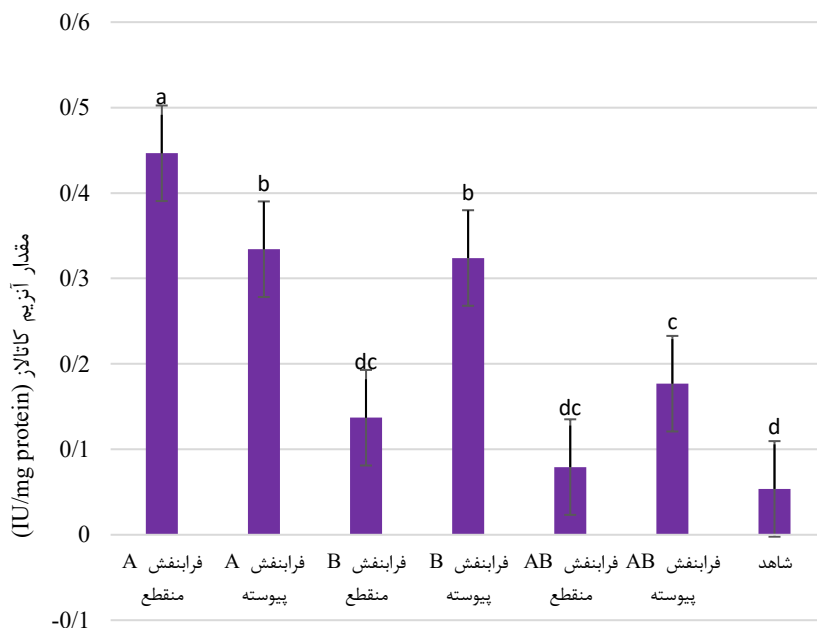
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر پرتو فرابنفش بر آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پروکسیداز، گایاکول پروکسیداز در گیاه پیچ تلگرافی

Table 1- Results of variance analysis of the effect of ultraviolet radiation on catalase, ascorbate peroxidase, and guaiacol peroxidase enzymes in *V. minor* L.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات mean squares		
		گایاکول پروکسیداز Guaiacol peroxidase	آسکوربات پروکسیداز Ascorbate peroxidase	کاتالاز Catalase
تیمار Treatment	6	0.001 ^{ns}	0.058 ^{**}	0.065 ^{**}
خطا Error	12	0.002	0.002	0.003
ضریب تغییرات CV (%)	-	31.16	15.52	27.12

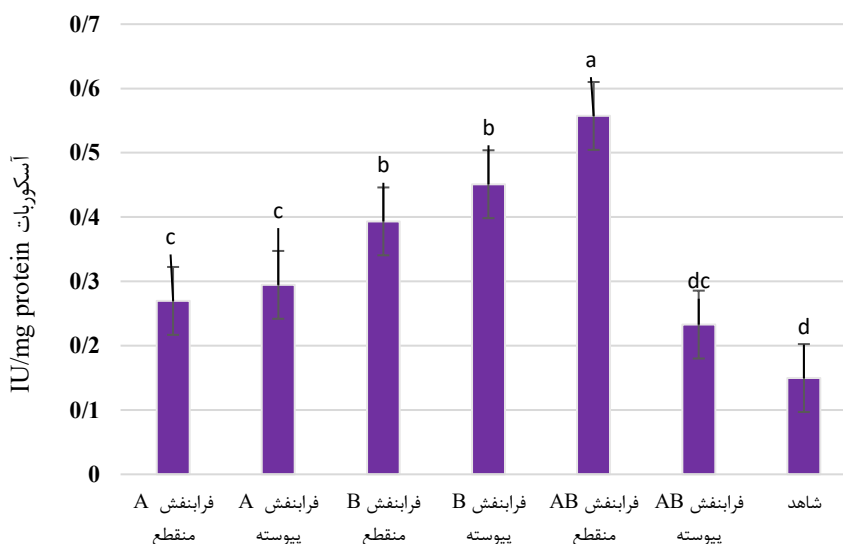
ns و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

ns, **: non-significant, significant at $p \leq 0.01$, respectively



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر پرتو فرابنفش بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه پیچ تلگرافی

Figure 1- Comparison of the average effect of ultraviolet radiation on catalase enzyme activity in *V. minor* L.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر پرتو فرابنفش بر فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز در گیاه پیچ تلگرافی

Figure 2- Comparison of the average effect of ultraviolet radiation on the activity of ascorbate peroxidase enzyme in *V. minor* L.

و کاتالاز و پراکسیدازها، پراکسید هیدروژن را به آب تجزیه می‌نمایند (Scandalios, 1993). در حقیقت، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یک مکانیسم دفاعی کلیدی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در برابر پرتو فرابنفش است و باعث حفظ و پایداری تمامیت غشای سلولی و دیگر ساختارهای زیر سلولی می‌شود (Ghasemi *et al.*, 2023).

در پژوهش حاضر، افزایش معنی‌دار فعالیت کاتالاز تحت تیمار فرابنفش A منقطع و افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز تحت تیمار فرابنفش AB منقطع، نشان‌دهنده القای مؤثر سیستم دفاع

سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو مجهز به سیستم جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد هستند. این سیستم‌ها شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و سیستم‌های غیر آنزیمی شامل آسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها است (Booij-James *et al.*, 2000). این آنزیم‌ها گیاهان را در برابر تنش اکسایشی با تبدیل رادیکال‌های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و تجزیه H_2O_2 به آب و اکسیژن محافظت می‌کنند؛ به‌طوری‌که سوپراکسید دیسموتاز (SOD) رادیکال‌های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل کرده

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالاز و پراکسیداز در شنبلیله شد (Hajipour *et al.*, 2022). Rastegar *et al.* (2021) نیز گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در گل گندم با تیمار فرابنفش B افزایش یافت. Pourakbar and Abedzadeh (2014) نیز در تحقیق خود روی بادرنجبویه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز را تحت تیمارهای UV-B و UV-C گزارش کردند. همچنین، Sarghein *et al.* (2011) در مطالعه خود بر روی فلفل قلمی مشاهده کردند که اشعه فرابنفش باعث تشکیل کریستال‌هایی در پراکسی‌زوم سلول‌های مزوفیل شد که این کریستال‌ها به علت افزایش فعالیت کاتالاز تشکیل می‌شوند. این مشاهدات با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی داشته و تأیید می‌کند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، یک پاسخ حفاظتی عمومی در گیاهان در برابر تنش پرتو فرابنفش است. با این حال، عدم معنی‌داری فعالیت گایاکول پراکسیداز در مطالعه حاضر ممکن است به دلیل کوتاه بودن دوره تیمار (۹ روز) یا شدت متوسط تابش به کار رفته باشد که برای تحریک این آنزیم کافی نبوده است.

تأثیر پرتو فرابنفش بر رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که پرتو فرابنفش بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

آنزیمی در پیچ تلگرافی برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از پرتو فرابنفش است. همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، پرتو فرابنفش B به‌عنوان یک تنش اکسیداتیو عمل می‌کند و فرآیندهای فتوشیمیایی مختلف می‌توانند انواع گونه‌های فعال اکسیژن را تولید کنند (Johnny *et al.*, 2010). بنابراین، گیاه با افزایش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تلاش می‌کند تا تعادل اکسایش-کاهش سلولی را حفظ نماید. نکته جالب توجه، پاسخ متفاوت آنزیم‌ها به نوع تیمار فرابنفش است؛ به‌طوری‌که کاتالاز بیش‌ترین واکنش را به فرابنفش A منقطع و آسکوربات پراکسیداز بیش‌ترین واکنش را به ترکیب فرابنفش AB منقطع نشان داد. این امر می‌تواند بیانگر آن باشد که مسیرهای سیگنال‌دهی و پاسخ این دو آنزیم به طیف‌های مختلف پرتو فرابنفش متفاوت است و ترکیب UV-A و UV-B به‌صورت هم‌افزا، سیستم آسکوربات-گلوتاتیون را که آسکوربات پراکسیداز جزئی از آن است، بیش‌تر تحریک می‌کند. همچنین، جالب توجه است که در این مطالعه، الگوی منقطع تابش نسبت به پیوسته در القای فعالیت آنزیمی مؤثرتر بوده است که می‌تواند به دلیل فرصت ترمیم و پاسخ تطبیقی گیاه در فواصل بین دوره‌های تابش باشد.

در تطابق با نتایج مطالعه حاضر، در سه گونه آویشن دناپی، قره‌باغی و باغی نیز مقدار مالون‌دی‌آلدهید، نشت الکترولیتی و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و آسکوربات پراکسیداز تحت تیمار فرابنفش B افزایش نشان داد (شایگان فر و همکاران، ۱۳۹۶). پرتو فرابنفش همچنین باعث افزایش

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر پرتو فرابنفش بر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در گیاه پیچ تلگرافی

Table 2- Results of analysis of variance of the effect of ultraviolet radiation on chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids in *V. minor* L.

منابع تغییرات S.O. V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares			
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid
تیمار Treatment	6	0.069**	0.027**	0.1**	0.032**
خطا Error	12	0.007	0.001	0.001	0.006
ضریب تغییرات CV (%)	-	14.35	18.35	15.35	10.23

ns و ** به ترتیب عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد.

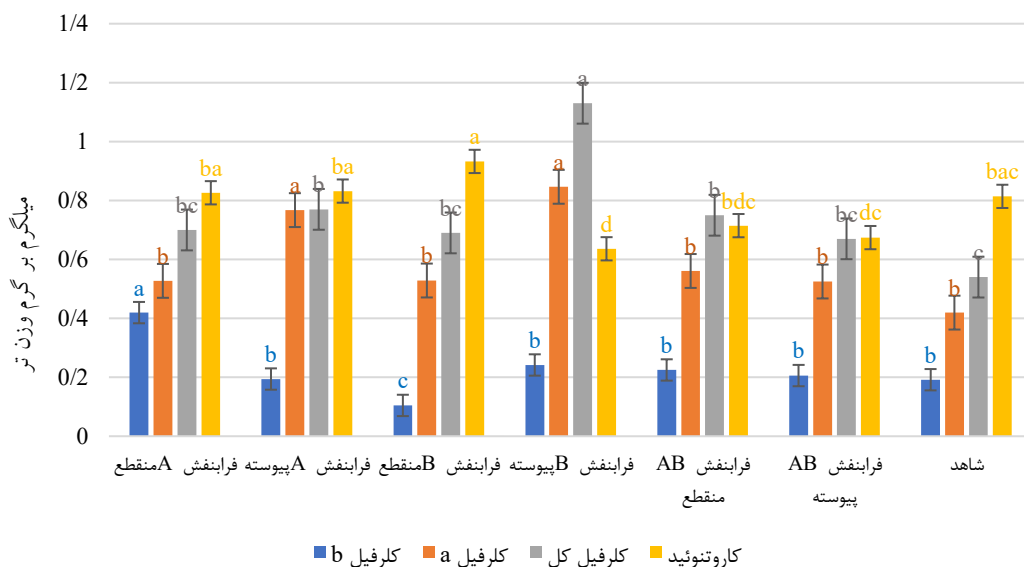
ns, **: non-significant, significant at $p \leq 0.01$, respectively

بیشترین و کمترین محتوای کلروفیل b به ترتیب به تیمارهای فرابنفش A منقطع (۰/۴۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) و فرابنفش B منقطع (۰/۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) اختصاص داشت که هر دو با شاهد (۰/۱۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌دار نشان دادند. همچنین، بیشترین محتوای کاروتنوئید در تیمار فرابنفش B منقطع

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین محتوای کلروفیل a در تیمار فرابنفش B پیوسته (۰/۸۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین آن در شاهد (۰/۴۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. تیمار فرابنفش B پیوسته با فرابنفش A پیوسته اختلاف معنی‌دار داشت، اما با سایر تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

داشت، اما فرابنفش B پیوسته با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان نداد (شکل ۳).

(۰/۹۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین آن در فرابنفش B پیوسته (۰/۶۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمد. تیمار فرابنفش B منقطع با شاهد (۰/۸۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌دار



شکل ۳- تاثیر تابش های مختلف پرتو فرابنفش بر محتوای کلروفیل a, b, کل و کاروتنوئید در گیاه پیچ تلگرافی

Figure 3- The effect of different ultraviolet radiations on the content of chlorophyll a, b, total and carotenoids in *V. minor* L.

کاهش آن)، نشان می‌دهد که این رژیم تابشی احتمالاً فراتر از آستانه تحمل گیاه بوده و نه تنها نتوانسته سیستم دفاعی را فعال کند، بلکه ممکن است به مسیرهای بیوسنتزی یا خود مولکول‌های کاروتنوئید آسیب زده باشد. این تفسیر با کاهش شدید کلروفیل b در تیمار B منقطع نیز هم‌خوانی دارد. کلروفیل b عمدتاً در کمپلکس‌های جمع‌آوری نور (LHCII) که به فتوسیستم II متصل هستند، قرار دارد. کاهش معنی‌دار این رنگیزه می‌تواند یک استراتژی گیاه برای کاهش سطح جذب نور و به تبع آن، کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش ناشی از UV-B باشد. در مقابل، افزایش معنی‌دار کلروفیل b در تیمار فرابنفش A منقطع نشان می‌دهد که UV-A احتمالاً تأثیر تنظیمی متفاوتی بر ساختار کمپلکس‌های برداشت نور داشته است. این مشاهده که هیچ‌یک از تیمارها منجر به کاهش معنی‌دار کلروفیل a نشدند و حتی B پیوسته تمایل به افزایش آن را نیز نشان داده، شاید دلالت دارد که مراکز واکنش فتوسیستم‌ها احتمالاً از طریق همین مکانیسم‌های حفاظتی و تنظیمی، تا حدی از تخریب کامل مصون مانده‌اند.

در تطابق با نتایج مطالعه حاضر، Kumari et al. (2009) در گیاه سوسن صغیر گزارش کردند که پرتو فرابنفش B منجر به افزایش معنی‌دار کاروتنوئیدها گردید. همچنین، در مطالعه‌ای روی گیاه پنیرباد، کاروتنوئیدها تحت پرتو فرابنفش B افزایش یافتند و به نظر

پرتو فرابنفش می‌تواند به‌طور مستقیم با آسیب به پروتئین D1 در مرکز واکنش فتوسیستم II و همچنین کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو، آهنگ فتوسنتز را مختل کند (Ghasemi et al., 2023). کاهش روبیسکو یک پدیده عمومی در تخریب پروتئین‌ها تحت پرتو فرابنفش است، زیرا این آنزیم دارای اسید آمینه تریپتوفان بوده و جذب پرتو فرابنفش توسط این اسید آمینه منجر به اکسیداسیون و تخریب آن می‌گردد (Greenberg et al., 1996). با این حال، گیاهان سازوکارهای حفاظتی متنوعی را در برابر این تنش به کار می‌گیرند. یکی از مهم‌ترین این سازوکارها، افزایش بیوسنتز کاروتنوئیدهاست که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی، دستگاه فتوسنتزی را از طریق سرکوب کلروفیل سه‌تایی، اکسیژن منفرد و سایر رادیکال‌های آزاد مضر محافظت می‌کنند (Cockell and Horneck, 2001).

در پژوهش حاضر، دو یافته کلیدی و متضاد، پیچیدگی پاسخ رنگیزه‌های فتوسنتزی پیچ تلگرافی به پرتو فرابنفش را آشکار می‌سازد. نخست، افزایش چشمگیر و معنی‌دار کاروتنوئیدها در تیمار فرابنفش B منقطع (نسبت به شاهد)، یک پاسخ دفاعی کلاسیک و قدرتمند را نشان می‌دهد. این امر حاکی از آن است که گیاه با موفقیت، مسیر بیوسنتز این محافظ‌های نوری را در پاسخ به تنش القاشده توسط UV-B منقطع فعال کرده است. در نقطه مقابل، عدم افزایش معنی‌دار کاروتنوئیدها در تیمار فرابنفش B پیوسته (و حتی

می‌تواند نقش تنظیم‌کنندگی یا تخریبی داشته باشد (Zhang and Björn, 2009). نتایج تحقیق حاضر به‌طور مشخص نشان می‌دهد که در گیاه پیچ تلگرافی، نه‌تنها نوع طیف پرتو فرابنفش (UV-A) در مقابل (UV-B)، بلکه الگوی تابش (منقطع در مقابل پیوسته) نیز عامل تعیین‌کننده‌ای در جهت و شدت پاسخ‌های دفاعی و تنظیمی رنگیزه‌های فتوسنتزی است.

تأثیر پرتو فرابنفش بر وزن تر، خشک و قند در گیاه پیچ تلگرافی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پرتو فرابنفش بر میزان قند در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما بر وزن تر و خشک ریشه تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

می‌رسد این ترکیبات گیاه را از آسیب پرتو فرابنفش B مزاد حفاظت می‌کنند (Takshak and Agrawal, 2014). در گیاه علف لیمو (*Cymbopogon citrates*) نیز Kumari and Agrawal (2010) افزایش اولیه کاروتنوئیدها تحت پرتو فرابنفش B را گزارش کردند. در تطابق با نتایج مطالعه حاضر، Maffei *et al.* (1999) گزارش کردند که تابش پرتو فرابنفش A باعث افزایش کلروفیل b در سویا (*Glycine max* L.) شد. با این وجود، نتایج مطالعه Enteshari *et al.* (2005) نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان کلروفیل a و b بین گیاهان سویای تیمار شده با پرتو فرابنفش A و گیاهان شاهد وجود نداشت. این تناقض‌ها در نتایج پژوهش‌های مختلف، با این دیدگاه هم‌خوانی دارد که اثر پرتو فرابنفش B صرفاً یک اثر مخرب مطلق نیست، بلکه بسته به میزان شار، طول مدت تابش و گونه گیاهی،

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر پرتو فرابنفش بر وزن تر، وزن خشک و قند در گیاه پیچ تلگرافی

Table 3- Results of analysis of variance of the effect of ultraviolet radiation on fresh weight, dry weight and sugar in *V. minor* L.

منابع تغییرات S.O. V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares		
		وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	قند Sugar
تیمار Treatment	6	0.08 ns	0.002 ns	40.75 **
خطا Error	12	0.12	0.002	6.71
ضریب تغییرات CV (%)	-	27.71	37.6	8.66

ns و ** به ترتیب عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد.
ns, **: non-significant, significant at $p \leq 0.01$, respectively

کاهش اتلاف آب است، می‌تواند جذب CO_2 و در نتیجه فتوسنتز را محدود کرده و محتوای قند را تحت تأثیر قرار دهد.

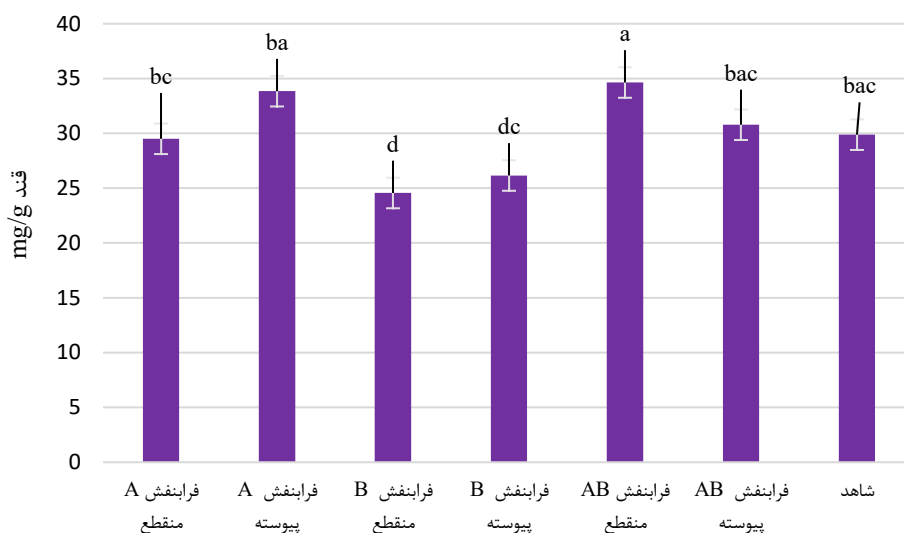
در پژوهش حاضر، افزایش معنی‌دار قند در تیمار فرابنفش AB پیوسته نسبت به شاهد، یک یافته قابل تأمل است. این نتیجه می‌تواند ناشی از چندین سازوکار باشد. نخست، ممکن است ترکیب هم‌زمان UV-A و UV-B به‌صورت پیوسته، با تحریک سنتز ترکیبات محافظتی (نظیر فلاونوئیدها که پیش‌تر به افزایش آن‌ها اشاره شد)، از دستگاه فتوسنتزی در برابر تخریب گسترده محافظت کرده و حتی با ایجاد یک تنش ملایم، کارایی فتوسنتز را افزایش داده باشد. دوم، این احتمال وجود دارد که افزایش قند، ناشی از هیدرولیز نشاسته و سایر پلی‌ساکاریدهای ذخیره‌ای برای تأمین اسکلت‌های کربنی مورد نیاز جهت بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه دفاعی باشد. در واقع، گیاه تحت تنش، ذخایر خود را بسیج کرده و آن‌ها را به قندهای ساده‌تر قابل استفاده تبدیل می‌کند. نکته جالب توجه آن است که تیمار B منقطع با وجود القای قوی‌ترین پاسخ‌های دفاعی در بخش‌های قبلی (مانند افزایش فعالیت کاتالاز و کاروتنوئیدها)، کمترین میزان قند را

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان قند در تیمار فرابنفش AB منقطع ($34/63$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین آن در تیمار فرابنفش B منقطع ($24/56$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. تیمار AB پیوسته با شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت، اما تیمار B منقطع با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد (شکل ۴).

پرتو فرابنفش می‌تواند با تأثیر بر فتوسنتز و تنفس، تعادل کربن گیاه را دستخوش تغییر کند. همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، آسیب به پروتئین D1 در فتوسیستم II و کاهش فعالیت روبیسکو از پیامدهای شناخته‌شده تابش پرتو فرابنفش B است (قاسمی، ۱۳۸۲). این اختلالات فتوسنتزی می‌توانند به کاهش تولید قندهای احیاکننده منجر شوند. از سوی دیگر، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان یک فرآیند سازش‌پذیری کلیدی در پاسخ به پرتو فرابنفش، می‌تواند باعث تغییر در تسهیم کربن از ذخیره رشد گیاه به سمت مسیر تولید این متابولیت‌ها شود (Kataria and Guruprasad, 2014). این امر به نوبه خود می‌تواند بر ذخایر قندی گیاه تأثیر بگذارد. همچنین، بسته شدن روزنه‌ها در پاسخ به پرتو فرابنفش که یک مکانیسم دفاعی برای

ثانویه فرآیندهایی انرژی بر هستند که به سرعت ذخایر قندی گیاه را مصرف می‌کنند.

نشان داد. این امر می‌تواند بیانگر مصرف سریع قندها برای سوخت‌رسانی به همان مسیرهای دفاعی فعال باشد؛ به عبارت دیگر، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بیوسنتز متابولیت‌های



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر پرتو فرابنفش بر محتوای قند گیاهان پیچ تلگرافی تحت تیمار

Figure 4- Comparison of the average effect of ultraviolet radiation on the sugar content of treated *V. minor* L.

به شاهد داشتند. در همان مطالعه، کاهش میزان قندهای احیاکننده به‌خصوص در ساقه تحت تیمار UV مشاهده شد که بیانگر کاهش میزان فتوسنتز است؛ اما در ریشه کاهش معنی‌داری در میزان قندهای احیاکننده دیده نشد. این تفاوت در نتایج، بر پیچیدگی پاسخ گیاهان مختلف به پرتو فرابنفش تأکید دارد و نشان می‌دهد که گونه گیاهی، اندام مورد مطالعه، نوع طیف پرتو و الگوی تابش، همگی در تعیین نتیجه نهایی دخیل هستند. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که در گیاه پیچ تلگرافی، ترکیب UV-A و UV-B به‌صورت پیوسته می‌تواند به‌عنوان یک محرک ملایم، تجمع قندها را افزایش دهد، در حالی که UV-B منقطع با وجود القای قوی‌ترین پاسخ‌های دفاعی، ذخایر قندی گیاه را به مصرف می‌رساند.

تأثیر پرتو فرابنفش بر مالون‌دی‌آلدهید، فنل کل و پرولین: مالون‌دی‌آلدهید (MDA) حاصل تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع بوده و به‌عنوان شاخص زیستی پراکسیداسیون لیپیدها در مواجهه با گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شناخته می‌شود. پرتوهای فرابنفش با افزایش تولید ROS، موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشای پلاسمایی و غشاهای درونی اندام‌هایی نظیر کلروپلاست و میتوکندری می‌شوند که محصول نهایی آن ترکیباتی مانند MDA است. وقوع پراکسیداسیون در لیپیدهای غشا، ساختار غشا را منفذدار کرده و کاهش شاخص پایداری غشای سلولی و نشت مواد را به همراه دارد (Eraslan et al., 2008). در مقابل، گیاهان برای مقابله با آسیب

عدم معنی‌داری وزن تر و خشک ریشه در پژوهش حاضر با برخی مطالعات پیشین هم‌خوانی دارد. این نتیجه نشان می‌دهد که دوره ۹ روزه تیمار پرتو فرابنفش، اگرچه برای القای پاسخ‌های بیوشیمیایی کافی بوده، اما برای ایجاد تغییرات معنی‌دار در زیست‌توده ریشه کوتاه بوده است. از سوی دیگر، از آنجا که پیچ تلگرافی گیاهی چندساله و دارای ریشه‌های نابجای گسترده است، ممکن است منابع ذخیره‌ای موجود در ریشه، آن را در برابر نوسانات کوتاه‌مدت محیطی مقاوم ساخته باشد. همچنین، با توجه به اینکه در آزمایش حاضر از محلول هوگلند برای کشت استفاده شده و عناصر غذایی به‌راحتی در دسترس ریشه بودند، گیاه نیازی به توسعه بیشتر سیستم ریشه‌ای احساس نکرده است. این یافته با دیدگاهی هم‌خوانی دارد که پرتو فرابنفش B را بیش‌تر به‌عنوان یک تعدیل‌کننده متابولیسم ثانویه مطرح می‌کند تا یک عامل بازدارنده رشد، مشروط بر اینکه شدت و مدت تابش از آستانه تحمل گیاه فراتر نرود (Zhang and Björn, 2009).

در تحقیقات متعدد بیان شده است که اشعه فرابنفش A قسمت کم‌خطر پرتو فرابنفش است و می‌تواند سبب انواع واکنش‌های رشدی شود (Tezuka et al., 1993; Chen et al., 2019; Zhang et al., 2020). با این حال، Rashidi Ravari et al. (2003) در پژوهشی بر روی کلزا نشان دادند که طول اندام هوایی، طول ریشه، وزن خشک ریشه و ساقه تحت تیمار UV-B و UV-C کاهش چشمگیری نسبت

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که پرتو فرابنفش بر محتوای مالون دی آلدئید، فنل کل و پرولین در سطح یک درصد معنی دار شد (جدول ۴).

نوری، مقادیر بالایی فیلترهای نوری شامل فنل ها و فلاونوئیدها را در اپیدرم برگ های خود تولید می کنند. این ترکیبات جزو آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی محسوب شده و در شرایط تنش های غیرزیستی، نقش فعالی در جاروب کردن رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن ایفا می کنند.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس اثر پرتو فرابنفش بر فنل کل، پرولین و مالون دی آلدئید در گیاه پیچ تلگرافی

Table 4- Results of variance analysis of the effect of ultraviolet radiation on total phenol, proline and MDA in *V. minor* L.

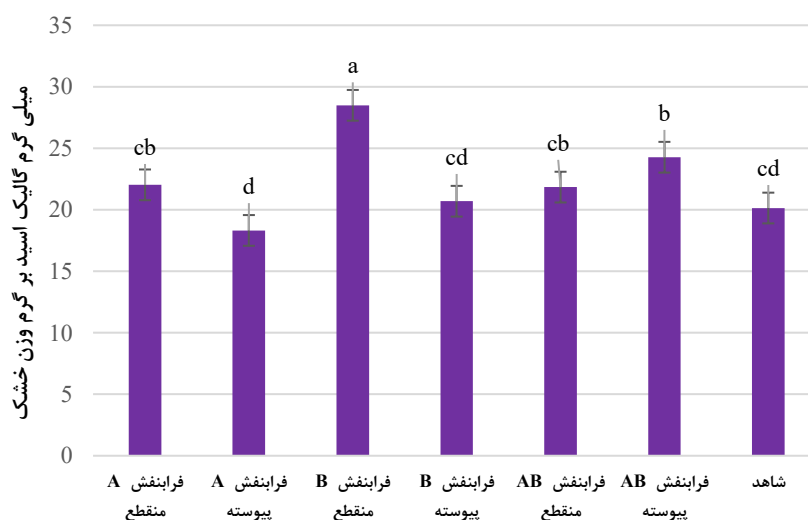
منابع تغییرات S.O. V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares		
		فنل کل Total phenol	پرولین Proline	مالون دی آلدئید MDA
تیمار Treatment	6	32.25 **	0.07**	11674.62 **
خطا error	12	3.18	0.008	1288.93
ضریب تغییرات CV (%)	-	8.01	6.77	11.89

** : معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد.

***: significant at $p \leq 0.01$.

نتایج مقایسه میانگین ها برای فنل کل نشان داد که بیشترین مقدار آن در تیمار فرابنفش B منقطع (۲۸/۴۹ میلی گرم معادل اسید گالیک در گرم وزن خشک) مشاهده شد که اختلاف معنی داری با

شاهد داشت. کمترین مقدار فنل کل نیز به تیمار فرابنفش A پیوسته (۱۸/۳۲ میلی گرم معادل اسید گالیک در گرم وزن خشک) اختصاص یافت که آن با شاهد اختلاف معنی دار نشان نداد (شکل ۵).



شکل ۵- نمودار مقایسه میانگین اثر پرتو فرابنفش بر فنل در گیاه پیچ تلگرافی

Figure 5- Chart comparing the average effect of ultraviolet radiation on phenol in *V. minor* L

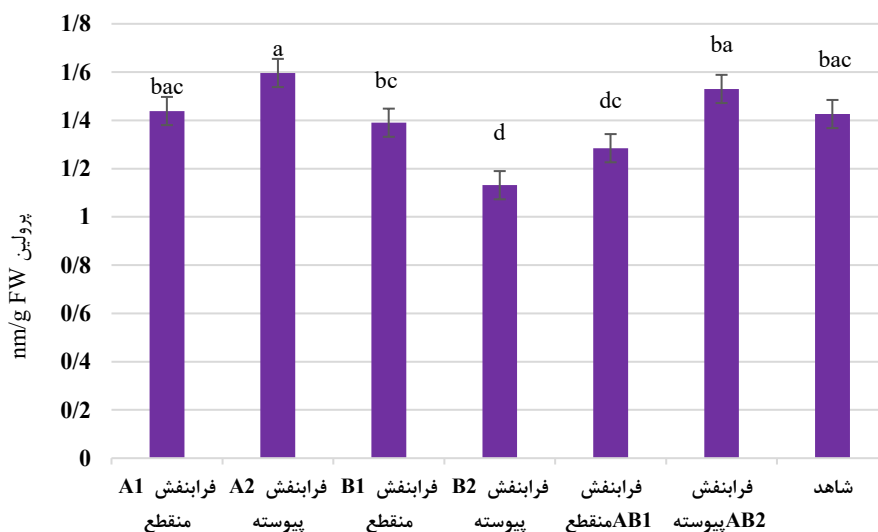
نتایج مقایسه میانگین پرولین نشان داد که تیمار فرابنفش A پیوسته (۱/۶۰ میلی گرم بر گرم وزن تر) بیشترین مقدار پرولین را داشت که با شاهد (۱/۴۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی دار نشان نداد. در مقابل، تیمار فرابنفش B پیوسته (۱/۱۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) کمترین مقدار پرولین را به خود اختصاص داد و با شاهد اختلاف معنی دار داشت (شکل ۶).

نتایج مقایسه میانگین مالون دی آلدئید نشان داد که بیشترین مقدار MDA به طور غیرمنتظره ای در تیمار شاهد (۵/۴۲ نانومول بر گرم

یکی از مسیرهای متابولیکی گیاهان که به شدت تحت تأثیر پرتو فرابنفش قرار می گیرد، مسیر بیوسنتز ترکیبات فنولی است. در این مسیر، علاوه بر فلاونوئیدها، فنول های ساده، تانن ها و لیگنین ها نیز سنتز می شوند. ترکیبات فنلی از طریق یک تبدیل یک طرفه به رادیکال های فنوکسی (توسط آنزیم یا به طور غیرمستقیم)، خاصیت پاداکسایشی خود را اعمال می کنند. این رادیکال ها می توانند به وسیله ترکیبات دیگری مانند آسکوربیک اسید احیا شوند (Eraslan et al., 2008).

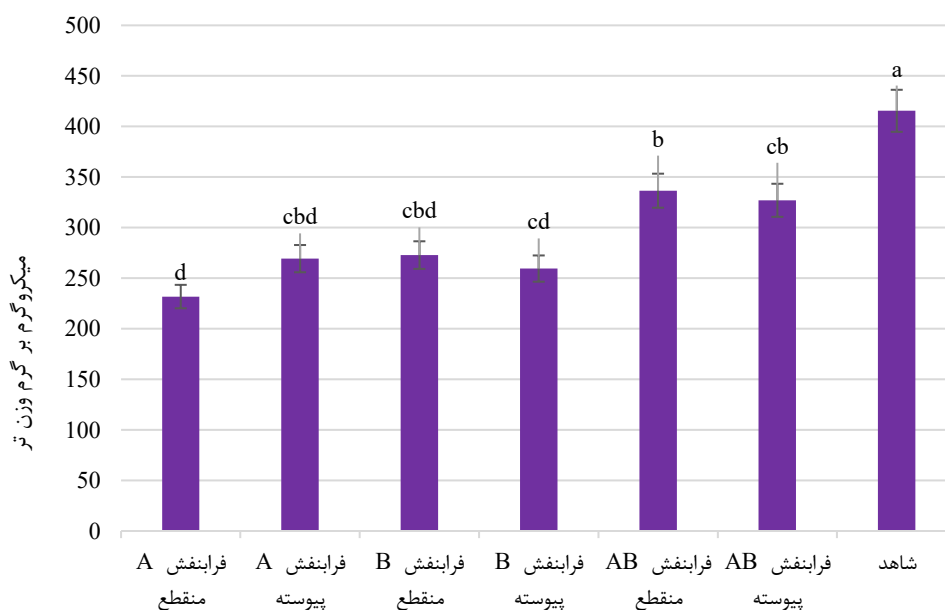
شاهد) با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند، اما همگی با شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۷).

وزن تر) و کمترین آن در تیمار فرابنفش A منقطع (۸/۲۳) نانومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. کلیه تیمارهای پرتو فرابنفش (به استثنای



شکل ۶- نمودار مقایسه میانگین اثر پرتو فرابنفش بر پرولین در گیاه پیچ تلگرافی

Figure 6- Comparison chart of the average effect of ultraviolet radiation on proline in *V. minore* L.



شکل ۷- نمودار مقایسه میانگین اثر پرتو فرابنفش بر مالون دی آلدئید در گیاه پیچ تلگرافی

Figure 7- Comparison chart of the average effect of ultraviolet radiation on MDA in *V. minore* L.

تیمار A منقطع و آسکوربات پراکسیداز در تیمار AB منقطع، نشان‌دهنده یک بسیج دفاعی هماهنگ و تمام‌عیار در پاسخ به پرتو فرابنفش است که در آن UV-B منقطع نقشی محوری در القای شاخه غیرآنزیمی این دفاع ایفا می‌کند.

نکته بسیار جالب و تأییدکننده اثربخشی این پاسخ‌های دفاعی، کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در تمامی تیمارهای پرتو فرابنفش نسبت به شاهد است. کاهش MDA در تیمارهایی که اتفاقاً بالاترین سطح دفاع آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهند، گواه آن است

نتایج این بخش، همراه با یافته‌های قبلی، تصویر بسیار منسجمی از یک استراتژی دفاعی موفق و چندلایه در گیاه پیچ تلگرافی ترسیم می‌کند. محور مرکزی این داستان دفاعی، تیمار فرابنفش B منقطع است. این تیمار به‌عنوان تنها تیماری که توانسته محتوای فنل کل را به‌طور معنی‌دار نسبت به شاهد افزایش دهد، جایگاه ویژه‌ای در القای سپر دفاعی غیرآنزیمی گیاه دارد. این افزایش قدرتمند فنل، در کنار رکورد بیشینه کاروتنوئیدها (دفاع آنتی‌اکسیدانی در کلروپلاست) و در هماهنگی کامل با اوج فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز در

توانسته است چرخه مخرب اکسیداتیو را در همان مراحل اولیه مهار کند. این مشاهده با این دیدگاه همخوانی دارد که آسیب پرتو فرابنفش محیطی یک قاعده نیست و نتیجه نهایی به برهم کنش پیچیده بین میزان شار، طول مدت تابش و ظرفیت ذاتی سیستم دفاعی گونه گیاهی بستگی دارد (Zhang and Björn, 2009). نتایج این تحقیق به روشنی نشان می‌دهد که پیچ تلگرافی، با به کارگیری یک استراتژی دفاعی پیش‌گیرانه و چندلایه، به‌ویژه در پاسخ به تابش منقطع UV-B، نه تنها در برابر تنش اکسیداتیو مقاومت می‌کند، بلکه به سطحی از آمادگی دفاعی دست می‌یابد که فراتر از شرایط عادی است.

نتیجه‌گیری کلی

پژوهش حاضر به روشنی نشان داد که پاسخ فیزیولوژیک گیاه دارویی پیچ تلگرافی (*V. minor* L.) به پرتو فرابنفش، نه تنها به نوع طیف (UV-A یا UV-B)، بلکه به الگوی تابش (منقطع یا پیوسته) نیز به‌طور معنی‌داری وابسته است. در میان تیمارهای اعمال‌شده، تابش فرابنفش B منقطع به‌عنوان مؤثرترین و کارآمدترین محرک در القای هماهنگ سیستم دفاعی گیاه ظاهر شد. شواهد این برتری عبارت بودند از: (۱) افزایش معنی‌دار فنل کل به‌عنوان تنها تیمار موفق در تقویت سپر دفاعی غیرآنزیمی و فیلترهای نوری اپیدرم، (۲) دستیابی به بیشینه محتوای کاروتنوئیدها برای حفاظت از دستگاه فتوسنتزی، و (۳) حفظ کمترین سطح پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) در کنار سایر تیمارها. جالب آنکه این بسیج دفاعی قدرتمند، با وجود مصرف بخشی از ذخایر قندی گیاه، نه تنها به دستگاه فتوسنتزی آسیب نزد، بلکه با حفظ محتوای کلروفیل a، پایداری نسبی آن را تضمین نمود. در مقابل، تابش پیوسته UV-B با کاهش معنی‌دار پرولین و ناتوانی در افزایش معنی‌دار کاروتنوئیدها و فنل کل، احتمالاً از آستانه تحمل فیزیولوژیک گیاه فراتر رفته و به‌جای القای یک پاسخ سازگارانه، موجب نوعی فرسودگی دفاعی شد. از منظر کاربردی، این نتایج سرخ‌های ارزشمندی برای بهره‌برداری زیست‌فناورانه از پرتو فرابنفش ارائه می‌دهد بطوریکه استفاده از تابش منقطع UV-B با شدت و مدت بهینه می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد کارآمد و غیرشیمیایی برای افزایش محتوای متابولیت‌های ثانویه ارزشمند (به‌ویژه ترکیبات فنلی و کاروتنوئیدی) در کشت گلخانه‌ای پیچ تلگرافی و احتمالاً سایر گیاهان دارویی هم‌خانواده به کار گرفته شود. از منظر نظری نیز، این پژوهش با معرفی مفهوم الگوی تابش به‌عنوان یک متغیر مستقل و تأثیرگذار، بر ضرورت بازنگری در طراحی آزمایش‌های تنش نوری

که این سپر دفاعی چندلایه (متشکل از فیلترهای نوری فنلی، خاموش‌کننده‌های کاروتنوئیدی و آنزیم‌های جاروب‌کننده ROS) به‌قدری کارآمد عمل کرده که نه تنها از پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تنش جلوگیری کرده، بلکه سطح آسیب اکسیداتیو را حتی به زیر سطح پایه سلول‌های شاهد نیز تقلیل داده است. این پدیده، یک مثال عالی از مفهوم پیش‌آمادگی دفاعی^۴ است که در آن، مواجهه با یک محرک تنش‌زا، گیاه را برای مقابله مؤثرتر با چالش‌های اکسیداتیو آتی آماده می‌سازد.

در مقابل، تیمار فرابنفش A پیوسته با کمترین میزان فنل کل، ظاهراً نتوانسته است این سپر دفاعی را به‌طور مؤثر فعال کند. این تفاوت فاحش در پاسخ به UV-A و UV-B، نشان‌دهنده مسیرهای سیگنال‌دهی متمایز برای این دو طیف در گیاه پیچ تلگرافی است. عدم معنی‌داری پرولین نیز نشان می‌دهد که این اسمولیت، برخلاف تنش‌های اسمزی، نقش محوری در پاسخ فوری پیچ تلگرافی به تنش پرتو فرابنفش ایفا نمی‌کند و گیاه عمدتاً به سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و ترکیبات فنلی متکی است.

در تطابق با نتایج مطالعه حاضر، et al Erkan (2008) افزایش میزان فنل کل را در میوه توت‌فرنگی تحت تأثیر پرتو فرابنفش گزارش کردند. مطالعات روی بامیه (Kargar Khorrami et al., 2013)، ریحان (Mohammady et al., 2020)، آفتابگردان (Costa et al., 2002)، سه رقم سویا (Nouri et al., 2012) و فلفل (Mahdavian et al., 2006) نیز نشان داده است که میزان فنل کل تحت تأثیر پرتو فرابنفش افزایش می‌یابد. et al Luis (2007) نیز افزایش محتوای فنل کل و فلاونوئید را در گیاه رزماری تحت تابش UV-B گزارش کردند. نتایج et al Shayganfar (2019) در گونه آویشن دنیایی و et al Rastegar (2021) روی سه گونه گل‌گندم نیز نشان داد که میزان فنل کل و سایر ترکیبات محافظتی در نتیجه تابش پرتو فرابنفش B افزایش یافت. در خصوص پرولین، et al Rezayi Far (2018) افزایش آن را در گندم و Vaziri (2020) در آلوئه‌ورا تحت تنش فرابنفش گزارش کرده‌اند که با عدم معنی‌داری پرولین در مطالعه حاضر متفاوت است و احتمالاً به تفاوت‌های گونه‌ای و شدت تنش مربوط می‌شود.

در مقابل، نتایج MDA در مطالعه حاضر با برخی پژوهش‌های پیشین که افزایش آن را تحت UV-B گزارش کرده‌اند مانند (Hajipour et al., 2022؛ Rastegar et al., 2021؛ Shayganfar et al., 2019) تفاوت دارد. این تفاوت را نه به‌عنوان یک تناقض، بلکه به‌عنوان نشانه‌ای از قدرت استثنایی سیستم دفاعی پیچ تلگرافی می‌توان تفسیر کرد. این گیاه دارویی که به‌طور طبیعی غنی از متابولیت‌های ثانویه است، با فعال‌سازی هماهنگ و قدرتمند دفاع آنزیمی و غیرآنزیمی خود،

⁴- Defense priming

تأکید دارد و چهارچوبی برای تفکیک پاسخ‌های سازگاری از پاسخ‌های آسیب‌شناسی در مطالعات فیزیولوژی تنش فراهم می‌آورد.

منابع

- Barbato, R., Frizzo, A., Friso, G., Rigoni, F. & Giacometti, G. M. (1995). Degradation of the D1 protein of photosystem-II reaction centre by ultraviolet-B radiation requires the presence of functional manganese on the donor side. *European Journal of Biochemistry*, 227(3), 723-729.
- Booij-James, I. S., Dube, S. K., Jansen, M. A., Edelman, M. & Mattoo, A. K. (2000). Ultraviolet-B radiation impacts light-mediated turnover of the photosystem II reaction center heterodimer in Arabidopsis mutants altered in phenolic metabolism. *Plant Physiology*, 124(3), 1275-1284.
- Buege, J. A. & Aust, S. D. (1978). [30] Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in Enzymology* (Vol. 52, pp. 302-310). Academic Press.
- Chance, B. & Maehly, A. C. (1955). [136] Assay of catalases and peroxidases. In *Methods in Enzymology* (Vol. 2, pp. 764-775). Academic Press.
- Chen, Y., Li, T., Yang, Q., Zhang, Y., Zou, J., Bian, Z. & Wen, X. (2019). UVA radiation is beneficial for yield and quality of indoor cultivated lettuce. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1563.
- Chen, Q., Lu, X., Guo, X., Guo, Q. and Li, D. (2017). Metabolomics characterization of two Apocynaceae plants, *Catharanthus roseus* and *Vinca minor*, using GC-MS and LC-MS methods in combination. *Molecules*, 22(6), 997.
- Cockell, C. S. & Horneck, G. (2001). The history of the UV radiation climate of the earth—Theoretical and space-based observations. *Photochemistry and Photobiology*, 73(4), 447-451.
- Costa, H., Gallego, S. M. & Tomaro, M. L. (2002). Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science*, 162(6), 939-945.
- Enteshari, Sh., Torkzadeh, M., Manouchehr Kalantari, Kh. & Ghorbani, M. L. (2005). The effect of different bands of ultraviolet radiation on pigments content in *Glycine max* L. Iranian Journal of Biology, 18(1), 77-84. (In Persian)
- Eraslan, F., Inal, A., Pilbeam, D. J. & Gunes, A. (2008). Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Matador) grown under boron toxicity and salinity. *Plant Growth Regulation*, 55, 207-219.
- Erkan, M., Wang, S. Y. & Wang, C. Y. (2008). Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 48(2), 163-171.
- Ghasemi, R., Talebloo, N., Parsa, P., Saffarian, P., Baradaran, S., Zarei, M. & Fatemi, F. (2023). Effects of UV stress on *Shewanella azerbaijanica* bioremediation response. *Radiochimica Acta*, 111(4), 301-315.
- Greenberg, B. M., Wilson, M. I., Huang, X. D., Duxbury, C. L., Gerhardt, K. E. & Gensemer, R. W. (1996). The effects of ultraviolet-B radiation on higher plants. In *Plants for Environmental Studies* (pp. 1-35). CRC Press.
- Hajipour, Z., Mumivand, H., Shayganfar, A. & Ebrahimi, A. (2022). Effect of ultraviolet irradiation and foliar application of some plant growth regulators on biomass and morphological characteristics of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Journal of Plant Process and Function*, 29(1), 133-154.
- Kargar Khorrami, S., Jamei, R. & Hosseini Sarghein, S. (2013). Changes in physiological and anatomical indices of okra (*Hibiscus esculentus* L.) under different bands of ultraviolet radiation. *Plant Biological Sciences*, 5(1), 13-26. (In Persian)
- Kataria, S. & Guruprasad, K. N. (2014). Exclusion of solar UV components improves growth and performance of *Amaranthus tricolor* varieties. *Scientia Horticulturae*, 174, 36-45.
- Kumari, R. & Agrawal, S. B. (2010). Supplemental UV-B induced changes in leaf morphology, physiology and secondary metabolites of an Indian aromatic plant *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf under natural field conditions. *International Journal of Environmental Studies*, 67(5), 655-675.
- Kumari, R., Singh, S. & Agrawal, S. B. (2009). Effects of supplemental ultraviolet-B radiation on growth and physiology of *Acorus calamus* L. (sweet flag). *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 51(2), 19-27.
- Leelaprakash, G., Mohan Dass, S. & Sivajothi, V. (2011). Antioxidant and hepatoprotective activities of *Vernonia cinerea* extract against CCl₄ induced hepatotoxicity in albino rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 10(2), 30-34.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in Enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press.
- Luis, J. C., Pérez, R. M. & Valdés, F. G. (2007). UV-B radiation effects on foliar concentrations of rosmarinic and carnolic acids in rosemary plants. *Food Chemistry*, 101(3), 1211-1215.
- MacAdam, J. W., Nelson, C. J. & Sharp, R. E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3), 872-878.
- Maffei, M., Canova, D., Berteà, C. M. & Scannerini, S. (1999). UV-A effects on photomorphogenesis and essential-oil composition in *Mentha piperita*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 52(1-3), 105-110.
- Mahdavian, K., Ghorbanli, M., Manouchehr Kalantari, Kh. & Mohammadi, Gh. (2006). The effect of different bands of ultraviolet radiation on physiological and morphological factors of pepper (*Capsicum annuum* L.). Iranian Journal of Biology, 19(1), 43-0. (In Persian)

- McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M. & Robards, K. (2001).** Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73(1), 73-84.
- Mohammady, W. A., Zarei, H. & Mousavizadeh, S. J. (2020).** Morphological and biochemical responses of basil plant under ultraviolet radiation-B and deficit irrigation under greenhouse conditions. *Journal of Soil and Plant Interactions*, 11(1), 85-101.
- Nouri, M., Pouraimani, R. & Khodaei, M. (2012).** Study the effect of UV-C radiation on chlorophyll and flavonoids of *Coronilla varia* L. (Fabaceae). *Cell and Tissue*, 3(1), 43-51. (In Persian)
- Paul, N. D. & Gwynn-Jones, D. (2003).** Ecological roles of solar UV radiation: towards an integrated approach. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(1), 48-55.
- Pourakbar, L. & Abedzadeh, M. (2014).** Effect of UV-B and UV-C radiation on antioxidant enzymes activity in lemon balm (*Melissa officinalis* L.) and the role of salicylic acid in alleviating UV-induced stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 6(20), 23-34. (In Persian)
- Rady, M. R., Gierczik, K., Ibrahem, M. M., Matter, M. A. & Galiba, G. (2021).** Anticancer compounds production in *Catharanthus roseus* by methyl jasmonate and UV-B elicitation. *South African Journal of Botany*, 142, 34-41.
- Rao, M. V., Paliyath, G. & Ormrod, D. P. (1996).** Ultraviolet-B-and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 110(1), 125-136.
- Rashidi Ravari, M., Nasibi, F. & Manouchehr Kalantari, Kh. (2003).** Investigation of physiological and morphological changes in some growth parameters of rapeseed seedlings under UV-A, UV-B and UV-C radiation bands. *Pajouhesh & Sazandegi*, 16(3), 97-103. (In Persian)
- Rastegar, M., Mumivand, H., Shayganfar, A. & Rezaeinejad, A. (2021).** The effect of ultraviolet radiation on growth, morphology and phenology of three cultivars of *Centaurea cyanus*. (In Persian)
- Rezaei, A., Eisa Beiglou, E. & Pashazadeh, M. (2015).** Investigating the sedative and pre-anesthetic effects of polar, semi-polar and non-polar fractions of periwinkle (*Vinca minor*) extract compared to midazolam in rats. *Comparative Pathobiology*, 11(4), 1447-1452. (In Persian)
- Rezayi Far, Z., Fallahi, S. & Gholinezhad, E. (2018).** The effect of drought stress and ultraviolet (UV-C) on enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense system in three varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Process and Function*, 7(24), 155-170. (In Persian)
- Sarghein, S. H., Carapetian, J. & Khara, J. (2011).** The effects of UV radiation on some structural and ultrastructural parameters in pepper (*Capsicum longum* A. DC.). *Turkish Journal of Biology*, 35(1), 69-77.
- Scandalios, J. G. (1993).** Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology*, 101(1), 7-12.
- Searles, P. S., Flint, S. D. & Caldwell, M. M. (2001).** A meta-analysis of plant field studies simulating stratospheric ozone depletion. *Oecologia*, 127, 1-10.
- Shayganfar, A., Azizi Arani, M. & Rasouli, M. (2019).** Investigating the effect of different levels of ultraviolet radiation along with the application of antioxidant compounds on the physiological characteristics of *Thymus daenensis*. In *Proceedings of the 11th Iranian Horticultural Science Congress*, Urmia, Iran. (In Persian)
- Takshak, S. & Agrawal, S. B. (2014).** Secondary metabolites and phenylpropanoid pathway enzymes as influenced under supplemental ultraviolet-B radiation in *Withania somnifera* Dunal, an indigenous medicinal plant. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 140, 332-343.
- Tezuka, T., Hotta, T. & Watanabe, I. (1993).** Growth promotion of tomato and radish plants by solar UV radiation reaching the Earth's surface. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 19(1), 61-66.
- Vas, A. & Gulyas, B. (2005).** Eburnamine derivatives and the brain. *Medicinal Research Reviews*, 25(6), 737-757.
- Vaziri, A. (2020).** Applications of UV-B lighting to increase phenolic accumulation of *Aloe vera* L. plants. *Journal of Plant Process and Function*, 9(1), 411-421. (In Persian)
- Zhang, W. J. & Björn, L. O. (2009).** The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia*, 80(4), 207-218.
- Zhang, Y., Kaiser, E., Zhang, Y., Zou, J., Bian, Z., Yang, Q. & Li, T. (2020).** UVA radiation promotes tomato growth through morphological adaptation leading to increased light interception. *Environmental and Experimental Botany*, 176, 104073.