

تنظیم سامانه‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی و هورمونی در دو رقم گل رز شاخه بریده

در پاسخ به سطوح مختلف نانوذرات روی و پیامدهای آن بر رشد و کیفیت گل

Regulation of Antioxidant Defense and Hormonal Systems in Two Cut-Flower Rose Cultivars in Response to Different Levels of Zinc Nanoparticles and Their Implications for Growth and Flower Quality

رضوان قاسمی چمطاقی^۱، محمدرضا صالحی سلمی^{۱*}، روح‌الله عبدلی نژاد^۲، سید حبیب‌الله نوربخش شورابی^۳

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۲. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۳. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران

*نویسنده مسئول، پست الکترونیک: mrsalehisalmi@gmail.com; salehi@asnruk.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۹/۲۹، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۲/۵

چکیده

نانوذرات روی به‌عنوان یک محرک رشد در گیاهان مطرح هستند، اما پاسخ گیاهان به آن وابسته به غلظت و ژنوتیپ است. این پژوهش با هدف ارزیابی واکنش‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی دو رقم تجاری گل رز شاخه بریده ('Jumilia' و 'Tanja') به غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی و تعیین غلظت بهینه انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور رقم (دو) و غلظت نانوذرات روی (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) در سه تکرار اجرا گردید. نتایج نشان داد برهمکنش رقم و غلظت بر اغلب صفات معنی‌دار بود. غلظت ۱۰۰ میکرومولار به‌عنوان سطح بهینه شناسایی شد، به‌طوری‌که در این تیمار بیشترین مقادیر قطر گل (۱۲/۷۷ سانتی‌متر در 'Jumilia')، تعداد گل، وزن تر و خشک، پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز، فنول کل، لیگنین، آنزیم فنیل‌آلانین آمونیوم‌لیاز و مواد جامد محلول و همچنین کمترین میزان آسیب اکسیداتیو (مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن) و فعالیت آنزیم ACC سنتتاز ثبت گردید. در این غلظت، فعالیت آنزیم‌های اصلی آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) کاهش یافت. در مقابل، غلظت ۲۰۰ میکرومولار سبب فعال‌سازی سیستم دفاعی (افزایش شدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و تجمع پرولین) و کاهش نسبی برخی شاخص‌های رشد و گل‌دهی شد. در تمامی صفات، رقم 'Jumilia' برتری معنی‌داری نسبت به 'Tanja' نشان داد. این برتری به‌ویژه در حفظ پایداری غشا، فعالیت کارآمدتر سیستم آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از پاسخ‌های شدید (مانند افزایش کنترل‌نشده فعالیت پلی‌فنل اکسیداز در 'Tanja') مشهود بود. به‌طور کلی، نتایج نشان داد که پاسخ هر دو رقم گل رز به غلظت‌های مختلف نانوذرات روی معنی‌دار بوده و غلظت ۱۰۰ میکرومولار به‌عنوان سطح بهینه برای بهبود رشد، کیفیت گل و شاخص‌های فیزیولوژیک در هر دو رقم قابل توصیه است. اگرچه تفاوت‌هایی در شدت پاسخ‌ها بین دو رقم مشاهده شد، اما هر دو رقم در غلظت مذکور بهترین عملکرد را نسبت به سایر سطوح تیمار نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: سمیت، سیگنال‌دهی، متابولیسم، محلول‌پاشی، نانوتکنولوژی، همئوستازی.

مقدمه

صنعت گل شاخه‌بریده، به عنوان یکی از بخش‌های پرسود کشاورزی، علاوه بر ارزش اقتصادی بالا، از نظر کیفیت ظاهری و فیزیولوژیک محصول نیز بسیار حائز اهمیت است؛ تولیدکنندگان گل رز^۱ به دنبال دستیابی هم‌زمان به شاخص‌هایی مانند اندازه

و رنگ گل، عطر، طول و استحکام ساقه و عمر گلجای بیشتر در بازارهای داخلی و صادراتی هستند. آمارها و پژوهش‌ها نشان می‌دهد که رز یکی از مهم‌ترین گونه‌های شاخه بریده در بازار جهانی است و حفظ کیفیت پس از برداشت، به‌علاوه افزایش کمی تولید آن، نیازمند مدیریت دقیق‌تر تغذیه و عوامل موثر بر ویژگی‌های فیزیولوژی است. این چالش، پژوهش‌های مربوط به راهکارهای نوین تغذیه و بهبود کیفیت در گل‌های زینتی را ضروری می‌سازد (Villagran *et al.*, 2024; Salehi Salmi *et al.*, 2018).

نقش عنصر روی در فیزیولوژی گیاهی بسیار گسترده و چندوجهی است؛ روی به‌عنوان هم‌فرساز^۱ تعداد زیادی از آنزیم‌ها و پروتئین‌ها در مسیرهای تولید پروتئین، تقسیم سلولی، بیوسنتز پیش‌سازهای هورمون‌ها (مثلاً تریپتوفان/این‌دول‌ها) و تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی (از جمله به‌طور غیرمستقیم در عملکرد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز) شناخته می‌شود. پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهد که کمبود یا عدم دسترسی به عنصر روی می‌تواند منجر به کاهش فتوسنتز، اختلال در ساختمان ریبوزومی و بروز علائمی مانند ریزبرگی و کلروز بین‌رگبرگی گردد؛ البته محدوده بهینه و مرز بین بهره‌وری و سمیت روی نیاز به بررسی دقیق دارد (Natasha *et al.*, 2022).

روش‌های مرسوم تأمین روی مانند افزودن سولفات روی به خاک، در بسیاری از شرایط خاکی دارای محدودیت‌هایی است. تثبیت سریع روی در خاک، برهم‌کنش‌های آنتاگونیستی با فسفر و سایر یون‌ها، شست‌وشوی یون و بازده پایین جذب باعث می‌شود کارایی تغذیه‌ی خاکی سنتی کاهش یابد و به‌دنبال آن هزینه‌ها و اثرات زیست‌محیطی افزایش یابد (Natasha *et al.*, 2023; Ghiyasi *et al.*, 2022). در مقابل، کاربرد برگی می‌تواند با دورزدن بخشی از موانع ریشه‌ای و عرضه مستقیم عنصر به بافت‌های سبز، کارایی جذب را ارتقا دهد؛ مطالعات مقایسه‌ای نشان داده‌اند که در برخی گونه‌ها و شرایط تنش آبی، محلول‌پاشی روی یا نانوذرات اکسید روی (ZnO-NPs) نقش معناداری در حفظ رنگ‌دانه‌ها، ظرفیت فتوسنتز و فعالیت آنزیم‌های دفاعی دارد (Ghiyasi *et al.*, 2023; Shirvani-Naghani *et al.*, 2024).

فناوری نانو، به‌ویژه نانوذرات اکسید روی، به‌دلیل داشتن ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاص مانند نسبت سطح به حجم بالا، تغییرپذیری حلالیت و سطحی، و قابلیت مهندسی پوشش/بار الکتریکی (راهکار تازه‌ای برای افزایش بازده تغذیه‌ای ارائه می‌دهد. این ذرات می‌توانند به‌عنوان حامل عناصر ریزمغذی عمل کرده و با فراهم کردن آزادی رهایش کنترل‌شده‌ی یون‌ها، ورود موضعی و فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی را تسهیل کنند (Wang *et al.*, 2023; Rasheed *et al.*, 2022). پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که ZnO-NPs می‌توانند محتوای کلروفیل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تحمل به تنش‌های محیطی را بهبود دهند، هرچند که اثرات، دامنه و غلظت مؤثر به گونه و شرایط محیطی وابسته است (Wang *et al.*, 2023; Rasheed *et al.*, 2022). مسیرهای ورود نانوذرات به برگ و انتقال درون گیاهی موضوعی است که تحقیقات گسترده‌ای را به خود اختصاص داده است: گزارش‌های پژوهشی بیان‌گر آن است که مسیرهای اصلی نفوذ نانوذرات به برگ‌ها، اعم از عبور از کوتیکول یا ورود از طریق روزنه‌ها، و همچنین الگوهای توزیع بعدی آن‌ها در بافت مزوفیل و انتقال از طریق مسیرهای آوندی، آپوپلاستی یا سیمپلاستی، به‌طور قابل‌توجهی توسط ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ذرات از جمله اندازه، پوشش سطحی و حلالیت تعیین می‌شود (Wang *et al.*, 2021; Avellan *et al.*, 2023). بدین معنا که بر اساس خواص فیزیکوشیمیایی ذره و ویژگی‌های برگ مانند ضخامت کوتیکول، تراکم روزنه، سطح مومی، اعمال برگی نانوذرات می‌تواند منجر به افزایش کارایی واقعی تغذیه یا بالعکس منجر به تجمع مضر و اثرات سمی گردد؛ بنابراین درک مشخصه‌های برهم‌کنش نانوذرات و برگ برای پیشنهاد تیمارهای بهینه ضروری است (Wang *et al.*, 2021; Avellan *et al.*, 2023). هم‌زمان، شواهدی از پتانسیل سمیت غلظت در رابطه با ZnO-NPs نیز گزارش شده است؛ در برخی گونه‌های مدل (مثلاً *Arabidopsis*) استفاده از غلظت‌های بالا باعث اختلال رشد ریشه، کاهش کلروفیل و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و MDA شده است که نشان‌دهنده‌ی لزوم تعیین غلظت بهینه است (Yang *et al.*, 2023)؛ لذا تعیین غلظت پایین اما مؤثر که بتواند اثرات تغذیه‌ای و تقویت دفاعی را فراهم کند بدون آنکه موجب استرس اکسیداتیو یا آسیب سازه‌ای شود، یکی از اهداف کلیدی پژوهش‌های کاربردی است (Yang *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2023). یک موضوع کمتر بررسی شده در پژوهش‌های اخیر، تنوع پاسخ‌های ژنوتیپی است؛ ساختار برگ (مثلاً ضخامت کوتیکول و تراکم روزنه)، ویژگی‌های ذاتی

متابولیک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند پاسخ هر رقم گل رز را به محلول‌پاشی ZnO-NPs به‌طور قابل‌توجهی تغییر دهد. مطالعات روی گیاهان زراعی نشان داده‌اند که ژنوتیپ‌ها در کارایی جذب و استفاده از عنصر روی و در تحمل به کمبود و یا بیشبود این عنصر تفاوت دارند (Natasha *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023)، ازاین‌رو فرضیه پژوهش این بود که الگوی پاسخ در دو ژنوتیپ متمایز گل رز به نام‌های 'Jumilia' و 'Tanja' نیز متفاوت می‌باشد.

باتوجه‌به مطالب فوق، پرسش محوری این پژوهش این است که آیا محلول‌پاشی برگ‌ی نانوذرات اکسید روی می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد عملی، شاخص‌های رشد، کیفیت گل و پارامترهای فیزیولوژیک-بیوشیمیایی دو ژنوتیپ گل رز را بهبود دهد؟ و چگونه این پاسخ به غلظت و ژنوتیپ بستگی دارد؟ برای پاسخ، این پژوهش اثر سطوح مختلف ZnO-NPs را (در مقایسه با شاهد منفی و شاهد مثبت سولفات روی) بر شاخص‌های مورفومتریک، رنگ‌دانه‌ها، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های پراکسیداسیون لیپید را بررسی می‌کند، هدفی که مستقیماً بر نیازهای کیفیتی صنعت گل تأثیرگذار است (Ghiyasi *et al.*, 2023; Nikzad *et al.*, 2025).

مواد و روش‌ها

مکان و زمان پژوهش

این پژوهش در سال ۱۴۰۳ در گلخانه‌های تجاری پرورش گل رز شاخه بریده (گلخانه‌های دکتر نوربخش) در شهرستان سامان در استان چهارمحال بختیاری انجام شد. این شهرستان در ۲۰ کیلومتری شمال غربی شهرکرد واقع است. گلخانه مورد استفاده دارای پوشش پلی اتیلنی با سیستم گرمایشی لوله‌کشی آب گرم، سیستم سرمایشی فن و پد بودند. محیط کشت شامل ۶۰ درصد کوکوپیت + ۴۰ درصد پرلیت بود. میانگین دمای روز و شب به ترتیب ۲۵-۳۰ و ۱۶-۱۹ درجه سلسیوس، طول روز ۱۶ ساعت، شدت نور حدود ۱۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه و رطوبت نسبی ۶۰ درصد بود.

ارقام مورد استفاده

در این پژوهش از دو رقم تجاری گل رز شاخه بریده به نام‌های 'Jumilia' و 'Tanja' استفاده شد. رقم 'Jumilia' دارای ساقه‌های بلند و قوی است که در انتها آن یک گل وجود دارد. این رقم مقاومت خوبی در برابر بیماری‌ها نشان می‌دهد و به‌عنوان یک رقم تجاری با عملکرد بالا در ایران پرورش می‌یابد. رقم 'Tanja' یک نوع رز خوشه‌ای است که دسته‌ای از گل‌های کوچک‌تر روی یک ساقه قرار دارد. رنگ آن سفید متمایل به کرم است. این رقم به‌عنوان رز خوشه‌ای با تنه محکم و تعداد اندکی خار معرفی شده است.



شکل ۱- ارقام مورد استفاده در این پژوهش: رقم 'Jumilia' در سمت راست و رقم 'Tanja' در سمت چپ.

Fig. 1. Rose cultivars used in this study: 'Jumilia' on the right and 'Tanja' on the left.

طرح آزمایشی و اعمال تیمارها

این پژوهش با هدف بررسی پاسخ دو رقم تجاری گل رز شاخه‌بریده ('Jumilia' و 'Tanja') به غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی انجام شد. با توجه به تفاوت‌های ساختاری و فیزیولوژیک بین این دو رقم، آن‌ها به‌عنوان دو جمعیت مستقل در نظر گرفته شدند و آزمایش برای هر رقم به‌صورت جداگانه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تیمار (غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار نانوذرات روی) و سه تکرار اجرا گردید. بوته‌هایی با سن حدود دو سال در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند. نانوذرات روی مورد استفاده از شرکت وارد کننده مواد شیمیایی فاین-نانو خریداری شد. نانوذرات روی به اندازه ۳۰-۱۰ نانومتر، چگالی ۵/۶۰۶ گرم بر سانتی‌متر مکعب، جرم مولی ۸۱/۳۸ گرم، به‌صورت پودر سفید رنگ و قابل حل در آب بود. پس از تهیه غلظت‌های مورد نظر محلول پاشی در دو نوبت صورت گرفت. اولین محلول پاشی هنگامی ظهور غنچه‌های گل (برای رقم 'Jumilia' ۱۵ آبان‌ماه و برای رقم 'Tanja' ۱۷ مهرماه) و دومین محلول پاشی در هنگام شروع رنگ‌اندازی غنچه‌ها (برای رقم 'Jumilia' چهارم آذرماه و برای رقم 'Tanja' ۱۵ آبان‌ماه) بود. محلول پاشی بوسیله سم‌پاش دستی و در عصر انجام شد. پس از رسیدن گل‌ها به مرحله برداشت، اندازه‌گیری ویژگی‌های مورفولوژی انجام و نمونه برگ‌ها برای اندازه‌گیری بیوشیمیایی برداشت و در نیتروژن مایع منجمد شد و سپس به آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انتقال یافت. روش اندازه‌گیری‌ها به شرح زیر بود.

محتوای نسبی آب

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب، نمونه‌های دیسک برگ به قطر تقریبی ۵/۰ سانتی‌متر تهیه و وزن آن‌ها در ابتدا تعیین شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور شدند تا وزن اشباع (تورژانس) تعیین گردد. وزن خشک برگ پس از خشک کردن در آون در دمای ۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. محتوای نسبی آب با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید:

$$RWC = \frac{(FW - DW)}{(TW - DW)} \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه RWC، FW، DW و TW به ترتیب بیانگر محتوای نسبی آب، وزن تر، وزن خشک و وزن اشباع هستند.

نشت یونی

برای برآورد نشت یونی برگ، نمونه‌های برگ به‌صورت جداگانه در ویال‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه (۲۲ درجه سلسیوس) بر روی شیکر چرخان (۱۰۰ دور در دقیقه) انکوبه شدند. هدایت الکتریکی اولیه (EC1) با استفاده از دستگاه EC متر ثبت گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس در اتوکلاو قرار گرفتند. پس از سرد کردن محلول‌ها، هدایت الکتریکی دوم (EC2) ثبت و نشت یونی با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد:

$$\text{نشت یونی} = \frac{(EC1)}{(EC2)} \times 100 \quad \text{رابطه (۲)}$$

محتوای پرولین

محتوای پرولین آزاد بر اساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. پودر منجمد برگ (۸۰- درجه سلسیوس) در اسید سولفوسالسیلیک سه درصد (وزن به حجم) هموژنیزه و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ (۷۰۰۰ دور در دقیقه) شد. سپس، دو میلی‌لیتر از محلول رویی با دو میلی‌لیتر ناین‌هیدرین اسیدی و دو میلی‌لیتر اسید استیک واکنش داده و به مدت ۶۰ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سلسیوس نگهداری شد، سپس بلافاصله روی یخ سرد گردید. چهار میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه و به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس شده و ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. دو فاز تشکیل شد و از محلول رویی برای تعیین محتوای پرولین آزاد استفاده شد. جذب نوری توسط اسپکتروفتومتر (LX240DS, LabDex, UK) در طول موج ۵۲۰ نانومتر ثبت و محتوای پرولین به‌صورت میکرومول پرولین بر گرم وزن تر برگ گزارش شد.

محتوای مالون‌دی‌آلدید

پراکسیداسیون لیپید با اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدید در بافت برگ بر اساس روش Hodges و همکاران (۱۹۹۹) تعیین گردید. به‌طور خلاصه، ۱۰۰ میلی‌گرم پودر نرم برگ در ۲ میلی‌لیتر اتانول-آب مقطر (۸۰ درصد حجمی) هموژنیزه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی با یک میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید

متشکل از ۲۰ درصد (وزنی/حجمی) محلول تیوباربیتوریک اسید و ۰/۰۱ درصد بوتیل‌هیدروکسی تولوئن مخلوط گردید. مخلوط سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس حرارت داده شده، بلافاصله روی یخ سرد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (۷۰۰۰ دور در دقیقه) شد. جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر (LX240DS, LabDex, UK) در طول موج‌های ۴۱۴، ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد. محتوای مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از رابطه (۳) محاسبه گردید:

$$MDA = 6.45(\text{abs } 532 - \text{abs } 600) - 0.56 \text{ abs } 414$$

رابطه (۳)

محتوای پراکسید هیدروژن

بر اساس روش Sarker و Oba (۲۰۱۸) انجام شد. ۲۰۰ میلی گرم پودر برگ با ۱ میلی لیتر اسید تری کلرواستیک (۰/۱ درصد) مخلوط و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ (۱۳۰۰۰ دور در دقیقه) شد. مخلوط واکنش شامل ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی، ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار و یک میلی لیتر پتاسیم یدید یک مولار به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر (LX240DS, LabDex, UK) در طول موج ۳۹۰ نانومتر ثبت و غلظت پراکسید هیدروژن به صورت میکرومول در گرم وزن تر گزارش شد.

استخراج آنزیم

دو گرم پودر منجمد (۸۰- درجه سلسیوس) برگ با سه میلی لیتر بافر استخراج متشکل از فسفات پتاسیم (۵۰ میلی مولار)، EDTA (۱۰۰ میلی مولار)، تریتون (۰/۲ درصد) و پلی وینیل پلی پیرولیدون (دو درصد) مخلوط شد. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (۱۳۰۰۰ دور در دقیقه) شد و محلول بالایی به لوله جدید منتقل و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها استفاده گردید (Pan *et al.*, 2006). تمامی عملیات مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در دمای سه درجه سلسیوس انجام شد.

اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بر پایه توانایی آن در مهار احیای فوتوشیمیایی نیتروبلو تترازولیوم تعیین گردید. مخلوط واکنش شامل ۳۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی مولار)، ۱۰ میکرولیتر EDTA (۱۰ میلی مولار)، ۵۰ میکرولیتر متیونین (۲۶۰ میلی مولار)، ۸۰ میکرولیتر نیتروبلو تترازولیوم (۴/۲ میلی مولار) و ۱۷۰ میکرولیتر ریبوفلاوین (۱۳۰ میلی مولار) بود. این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه تحت شدت نور ۶۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه که توسط لوله‌های فلورسنت نور سفید سرد تأمین می‌شد، روشنایی داده شد. جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر (LX240DS, LabDex, UK) در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به صورت واحد فعالیت در میلی گرم پروتئین در دقیقه گزارش شد (Manquían-Cerda *et al.*, 2016).

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز

برای ارزیابی فعالیت کاتالاز، ۱۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۲۸۸۵ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی مولار) و ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (۱۰ میلی مولار) اضافه شد تا حجم مخلوط واکنش به سه میلی لیتر برسد. جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر (LX240DS, LabDex, UK) در طول موج ۲۴۰ نانومتر ثبت و فعالیت کاتالاز با ثبت کاهش جذب نوری ناشی از نرخ تجزیه پراکسید هیدروژن به مدت یک دقیقه تعیین گردید. فعالیت کاتالاز به صورت واحد فعالیت در میلی گرم پروتئین در دقیقه گزارش شد (Chance & Meahly, 1955).

اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز

فعالیت پراکسیداز با اندازه‌گیری اکسیداسیون گایاکول در حضور پراکسید هیدروژن به مدت دو دقیقه در فواصل ۲۰ ثانیه‌ای ارزیابی شد. مخلوط واکنش حاوی ۵۰ میکرولیتر گایاکول (۲۰ میلی مولار)، ۲۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (۱۰ میلی مولار) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود و واکنش با افزودن ۲۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (۴۰ میلی مولار) آغاز شد. جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر (LX240DS, LabDex, UK) در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت و فعالیت پراکسیداز به صورت واحد فعالیت در میلی گرم پروتئین در دقیقه گزارش شد (Ozden *et al.*, 2009).

ظرفیت آنتی اکسیدانی

ظرفیت آنتی اکسیدانی برگ با استفاده از آزمون ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) تعیین گردید. عصاره‌های برگ (در محدوده غلظتی ۰/۰۱ تا ۱/۰ میلی گرم بر میلی لیتر) در متانول تهیه شد. سپس، ۰/۱ میلی لیتر از محلول DPPH با غلظت 4×10^{-3} مولار و ۲/۵ میلی لیتر از عصاره مخلوط و در تاریکی در دمای ۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد. همچنین، جذب نوری بلانک حاوی ۲/۵ میلی لیتر عصاره گیاهی و ۰/۱ میلی لیتر متانول نیز اندازه‌گیری گردید. در نهایت، فعالیت مهار رادیکالی هر نمونه بر اساس IC50 (غلظت مهارکنندگی نیمه بیشینه) بیان شد (Choi et al., 2002).

فعالیت پلی فنل اکسیداز

برای ارزیابی فعالیت پلی فنل اکسیداز از مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات سدیم (۲۰ میلی مولار)، ۴-متیل کاتکول (۲۰ میلی مولار) و عصاره آنزیمی با نسبت ۲:۱:۱ (حجمی) استفاده شد. جذب نوری نمونه به صورت اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۱۰ نانومتر ثبت گردید. فعالیت پلی فنل اکسیداز با افزایش جذب در مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد. فعالیت پلی فنل اکسیداز به صورت فعالیت واحد در میلی گرم پروتئین گزارش شد (Kahn, 1975).

قندهای محلول کل

برای برآورد قندهای محلول کل برگ، ۱۰۰ میلی گرم از بافت برگ ابتدا به پودر نرم تبدیل و در ۱۰ میلی لیتر محلول اتانول: آب مقطر (۸:۲ حجمی) استخراج و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) شد. سپس، یک میلی لیتر محلول رویی با سه میلی لیتر معرف آنترون (۱۵۰ میلی گرم آنترون در ۱۰۰ میلی لیتر اسیدسولفوریک ۷۲ درصد) مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری (۱۰۰ درجه سلسیوس) قرار داده شد، سپس بلافاصله روی یخ سرد گردید. در نهایت، جذب نوری توسط میکروپلیت اسپکتروفتومتر (LX240DS, LabDex, UK) در طول موج ۶۲۰ نانومتر ثبت شد. گلوکز به عنوان نمونه استاندارد استفاده شد و داده‌ها به صورت میلی گرم در گرم وزن خشک گزارش گردیدند (Patade et al., 2012).

محتوای لیگنین

محتوای لیگنین بر اساس روش هضم استیل برمایید تعیین گردید. ۱۰۰ میلی گرم پودر برگ ۲۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و در دمای ۶۵ درجه سلسیوس حرارت داده شدند. مخلوط‌ها از فیلتر ۴۵ میکرومتری عبور داده شدند و باقی مانده‌ها به طور کامل با اتانول، کلروفرم-متانول (۲:۱) و استون شستشو و سپس در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه خشک شدند. پس از آن، شش میلی گرم از نمونه‌های خشک شده با پنج میلی لیتر محلول ۲۵ درصد استیل برمایید در اسید استیک حاوی ۱۰۰ میلی لیتر اسید پرکلریک ۷۰ درصد مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سلسیوس حرارت داده شدند و سپس به سرعت روی یخ سرد شدند. نمونه‌ها با پنج میلی لیتر سدیم هیدروکسید (دو نرمال) و اسید استیک تیمار شدند. جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر (LX240DS, LabDex, UK) در طول موج ۲۸۰ نانومتر ثبت و محتوای لیگنین به صورت درصدی از دیواره سلولی گزارش شد (Iiyama & Wallis, 1990).

اندازه‌گیری محتوای فنل کل

برای تعیین محتوای فنل کل برگ، از روش فولین-سیوکالتنو با اندکی تغییرات استفاده شد. ۲۰۰ میلی گرم از پودر برگ با دو میلی لیتر از محلول استخراج متشکل از متانول/آب مقطر/اسیدکلریدریک (۸:۱/۱/۹:۸ حجمی) مخلوط و به مدت دو ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. مخلوط‌ها به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (۷۰۰۰ دور در دقیقه) شده و محلول بالایی به ویال‌های تازه منتقل گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها با ۷۵۰ میکرولیتر از معرف فولین-سیوکالتنو که پیش از این ۱۰ برابر رقیق شده بود، مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از آن، ۷۵۰ میکرولیتر از محلول سدیم بی کربنات (۰/۷ مولار) افزوده و به مدت ۹۰ دقیقه دیگر در دمای اتاق قرار داده شد. سپس، جذب نوری در طول موج ۷۲۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (Epoch, BioTek, USA) ثبت گردید. اسید گالیک به عنوان ترکیب استاندارد استفاده شد و نتایج محتوای فنل کل به صورت میلی گرم معادل اسید گالیک در گرم وزن خشک نشان داده شد (Harzallah et al., 2016).

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیوم‌لیاز

ابتدا محلول واکنش شامل ۵۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر بورات (۸۰ میلی‌مولار) و ۳۰ میلی‌مولار ال-فنیل آلانین تهیه و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس انکوبه شد. واکنش با افزودن ۱/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک (دو مولار) متوقف شده و مقدار اسید ترانس-سینامیک تولید شده در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر (LX240DS, LabDex, UK) تعیین گردید (Cahill & McComb, 1992).

فعالیت آنزیم ACC سنتاز

فعالیت آنزیم ACC سنتاز در گلیبرگ‌ها اندازه‌گیری شد. پس از تهیه نمونه‌ها، ACC به اتیلن تبدیل گردید. سپس اتیلن موجود در فضای بالای نمونه با استفاده از کروماتوگراف گازی Shimadzu GC-9A اندازه‌گیری شد. یک واحد از فعالیت ACC سنتاز به‌عنوان مقدار آنزیمی تعریف شد که تحت شرایط آزمون ذکر شده، تشکیل ۱ نانومول ACC را در ساعت کاتالیز می‌کند (Jiang *et al.*, 1994).

ویژگی‌های رویشی و زایشی

پس از رسیدن گل‌ها به مرحله تجاری برداشت، از هر تکرار بزرگ‌ترین ساقه گل‌دهنده انتخاب گردید. سپس طول ساقه گل‌دهنده از محل اتصال به شاخه اصلی تا نقطه اتصال به کاسه گل با خط‌کش استاندارد اندازه‌گیری و بر حسب سانتی‌متر یادداشت شد. قطر ساقه در نیمه طول آن و در محلی فاقد گره یا برآمدگی، با استفاده از کولیس دیجیتال با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر در دو جهت عمود بر هم سنجیده و میانگین آن محاسبه شد. قطر گل نیز در عریض‌ترین نقطه با کولیس بر حسب میلی‌متر تعیین گردید. بلافاصله ساقه مذکور بریده و جهت جلوگیری از کاهش رطوبت در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی شدند. ابتدا وزن تر هر نمونه (شامل ساقه و گل) با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم ثبت گردید. در نهایت، جهت تعیین وزن خشک، نمونه‌ها در پاکت‌های کاغذی قرار گرفته و به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ثابت ۷۰ درجه سلسیوس خشک شدند تا به وزن ثابت برسند. پس از خشک‌سازی، وزن خشک هر نمونه با ترازوی دیجیتال توزین و ثبت شد. کلیه اندازه‌گیری‌ها در ساعات اولیه روز انجام شد.

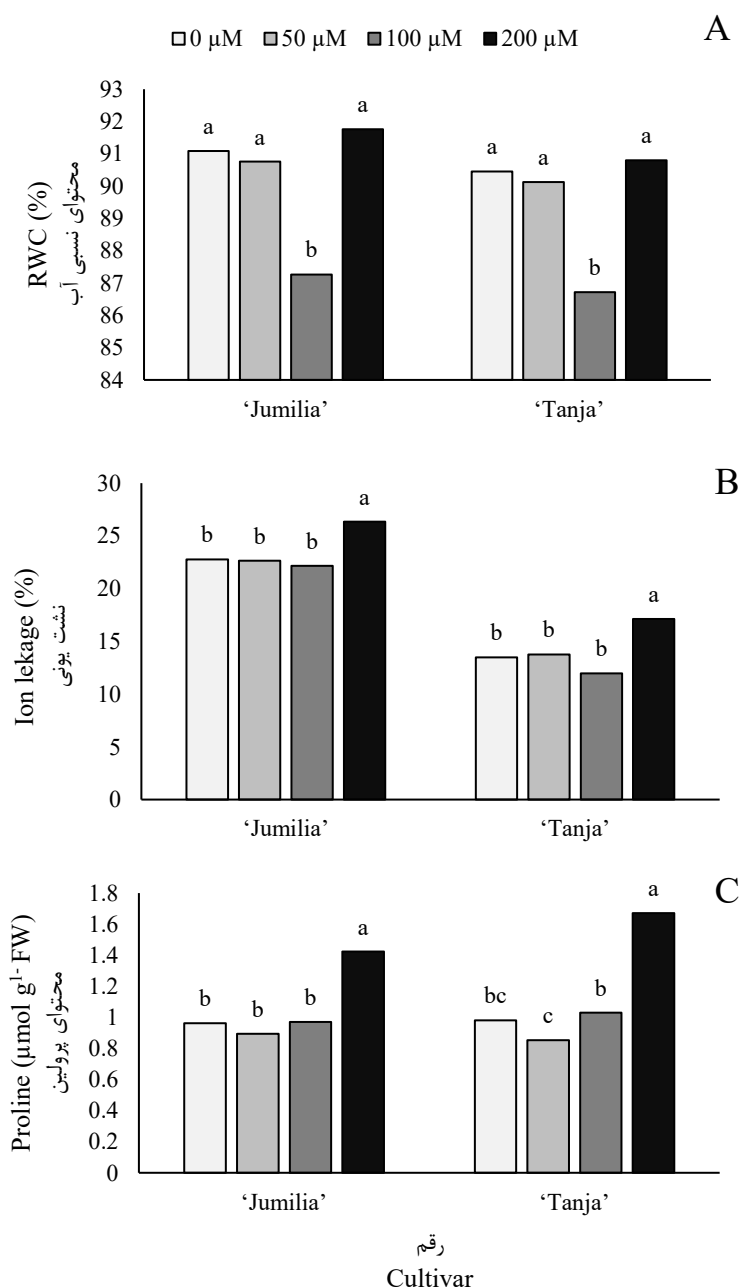
واکاوی آماری داده‌ها

داده‌های حاصل برای هر رقم به‌صورت جداگانه با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند. نتایج به‌صورت نمودار و با استفاده از نرم افزار اکسل رسم شدند.

نتایج

وضعیت آبی، پایداری غشاء و تنظیم اسمزی

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات روی تا ۱۰۰ میکرومولار، محتوای نسبی آب برگ در هر دو رقم روند کاهشی داشت و کمترین مقدار آن در رقم 'Jumilia' در غلظت ۱۰۰ میکرومولار (۸۷/۲۶ درصد) مشاهده شد. در مقابل، تیمار ۲۰۰ میکرومولار موجب افزایش جزئی وضعیت آبی برگ نسبت به شاهد گردید. به‌طور کلی، غلظت ۲۰۰ میکرومولار اگرچه مؤثرترین تیمار در حفظ وضعیت آب داخلی برگ به نظر می‌رسید، اما اختلاف آن با تیمارهای شاهد و ۵۰ میکرومولار از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۲-۱). کاربرد نانوذرات روی تا ۱۰۰ میکرومولار تغییر معنی‌داری در نشت یونی ایجاد نکرد، با این وجود در غلظت ۲۰۰ میکرومولار نشت یونی افزایش پیدا کرد. در این تیمار، نشت یونی رقم 'Jumilia' با (۲۶/۳۵ درصد) در مقایسه با رقم 'Tanja' (۱۷/۱۱ درصد) بیشتر بود. در همه تیمارها، رقم 'Jumilia' درصد نشت یونی بیشتری نسبت به 'Tanja' تولید کرد و این اختلاف در غلظت‌های بالاتر نانوذرات روی بارزتر بود (شکل ۲-۲). الگوی تغییرات محتوای پرولین برگ غیرخطی بود و بیشترین هم‌پوشانی را با تغییرات نشت یونی برگ نشان داد. با افزایش غلظت از صفر به ۱۰۰ میکرومولار، محتوای پرولین در هر دو رقم به‌طور معنی‌داری افزایش نیافت، اما با افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار، تجمع پرولین به حداکثر رسید و در ارقام 'Jumilia' و 'Tanja' به ترتیب ۱/۴۲ و ۱/۶۷ میکرومول بر گرم وزن تر افزایش یافت. در همه تیمارها، رقم 'Jumilia' محتوای پرولین کمتری نسبت به 'Tanja' داشت (شکل ۲-۳).



شکل ۲- اثر غلظت‌های نانوذرات روی، بر پاسخ محتوای آب نسبی (A)، نشت یونی (B) و پرولین (C) به غلظت‌های نانوذرات روی در بافت برگ دو رقم 'Jumilia' و 'Tanja'. در هر نمودار، برای هر رقم میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ندارند.

Fig. 2. Effect of zinc nanoparticle concentrations on the response of relative water content (A), ion leakage (B), and proline content (C) in the leaf tissue of two rose cultivars, 'Jumilia' and 'Tanja'. In each panel, means followed by the same letter do not differ significantly at the 5% level according to Tukey's test.

شاخص‌های تنش اکسیداتیو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی

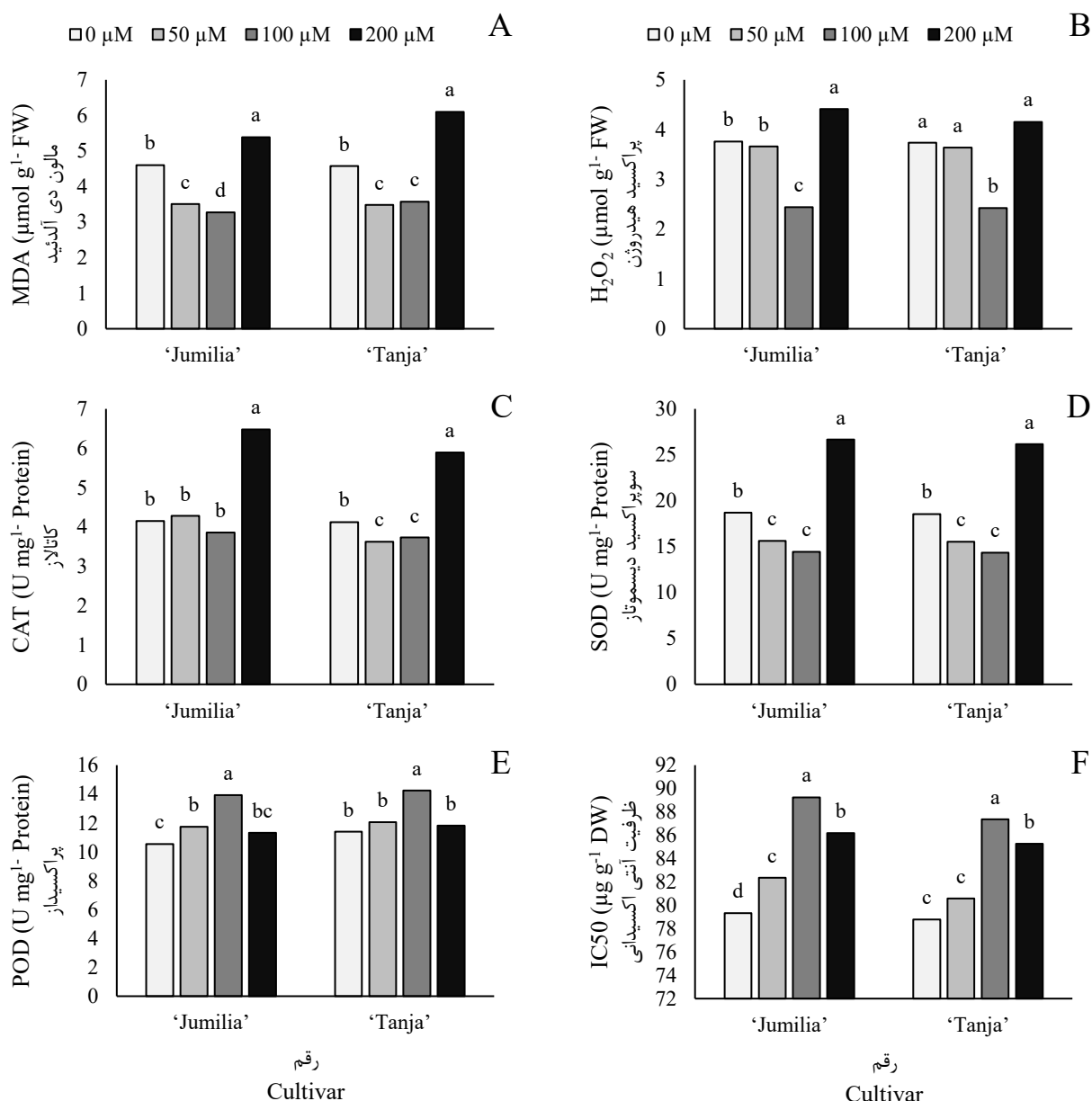
نتایج نشان داد که غلظت نانوذرات روی تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو و سیستم آنتی‌اکسیدانی برگ در هر دو رقم داشت. بررسی روند تغییرات این صفات، وجود یک الگوی پاسخ بهینه وابسته به غلظت را در هر دو رقم آشکار ساخت. مقدار مالون‌دی‌آلدهید، به‌عنوان شاخص آسیب غشایی، در هر دو رقم با افزایش غلظت نانوذرات روی از صفر به ۵۰ و

سپس ۱۰۰ میکرومولار به‌طور پیوسته و معنی‌داری کاهش یافت و کمترین مقدار آن در غلظت ۱۰۰ میکرومولار مشاهده شد. این کاهش بیانگر پایداری بیشتر غشاهای سلولی در این غلظت بود. با افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار، مقدار مالون‌دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که نشان‌دهنده تشدید آسیب‌های اکسیداتیو در این سطح است. در تمامی تیمارها، رقم 'Jumilia' مقادیر کمتری از مالون‌دی‌آلدئید را نسبت به 'Tanja' نشان داد و این اختلاف در غلظت ۲۰۰ میکرومولار بارزتر بود، به‌طوری‌که مقدار این شاخص در 'Tanja' حدود ۱۱/۳ درصد بیشتر از 'Jumilia' بود (شکل ۳-۳A).

الگوی تغییرات پراکسید هیدروژن نیز تا حد زیادی با روند مالون‌دی‌آلدئید همخوانی داشت. در هر دو رقم، غلظت تغییرات پراکسید هیدروژن با افزایش نانوذرات روی تا ۱۰۰ میکرومولار به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و به کمترین مقدار خود رسید (حدود ۲/۴۳ میکرومول بر گرم وزن تر برای هر دو رقم) که حدود ۵۴ درصد کمتر از تیمار شاهد بود. با افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار، سطح تغییرات پراکسید هیدروژن مجدداً افزایش یافت؛ به‌طوری‌که در رقم 'Jumilia' از سطح تیمار شاهد افزایش یافت، در حالی‌که در رقم 'Tanja' این افزایش محدودتر بود. در شرایط بهینه (۱۰۰ میکرومولار)، اختلاف ناچیزی بین دو رقم مشاهده شد، اما در غلظت ۲۰۰ میکرومولار، رقم 'Jumilia' مقدار پراکسید هیدروژن بالاتری نسبت به 'Tanja' نشان داد (شکل ۳-۳B).

بررسی همزمان شاخص‌های کلیدی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل فعالیت آنزیم‌ها و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی، الگوی پاسخ مشخصی را در دو رقم گل رز 'Jumilia' و 'Tanja' تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات روی آشکار می‌سازد. آنزیم کاتالاز در هر دو رقم روند مشابهی را دنبال نمود. با افزایش غلظت نانوذرات تا ۱۰۰ میکرومولار، فعالیت این آنزیم کاهش یافت و به حداقل مقدار خود رسید (۳/۸۶ واحد در 'Jumilia' و ۳/۷۳ واحد در 'Tanja') در مقابل، در غلظت ۲۰۰ میکرومولار، فعالیت کاتالاز به‌طور چشمگیری افزایش یافت و به اوج خود رسید (۶/۴۷ واحد در 'Jumilia' و ۵/۸۹ واحد در 'Tanja'). در تمامی سطوح تیماری، فعالیت کاتالاز در رقم 'Jumilia' به‌طور معنی‌داری بالاتر از رقم 'Tanja' بود و بیشترین اختلاف بین دو رقم (۰/۵۸ واحد) در بالاترین غلظت مشاهده شد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز الگوی وابسته به غلظتی مشابه کاتالاز نشان داد. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با افزایش غلظت تا ۱۰۰ میکرومولار کاهش یافت و حداقل آن در این غلظت ثبت گردید (۱۴/۴۴ واحد در 'Jumilia' و ۱۴/۳۴ واحد در 'Tanja'). سپس در غلظت ۲۰۰ میکرومولار، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز افزایش شدیدی یافت و به حداکثر مقدار خود در طیف آزمایشی رسید (۲۶/۶۶ واحد در 'Jumilia' و ۲۶/۱۶ واحد در 'Tanja'). مشابه کاتالاز، رقم 'Jumilia' در تمام تیمارها فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بالاتری را نسبت به 'Tanja' حفظ کرد و بیشترین تفاوت (۰/۵۱ واحد) در غلظت ۲۰۰ میکرومولار مشاهده گردید. آنزیم پراکسیداز روند متفاوتی را نسبت به دو آنزیم دیگر نشان داد. فعالیت پراکسیداز با افزایش غلظت نانوذرات تا ۱۰۰ میکرومولار افزایش یافت و در این غلظت به حداکثر خود رسید (۱۳/۹۲ واحد در 'Jumilia' و ۱۴/۲۵ واحد در 'Tanja'). با افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار، فعالیت این آنزیم کاهش یافت. کمترین فعالیت پراکسیداز در تیمار شاهد اندازه‌گیری شد. مقایسه بین ارقام نشان داد که در غلظت‌های پایین (۰ و ۵۰ میکرومولار)، فعالیت پراکسیداز در رقم 'Tanja' اندکی بالاتر بود، اما در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار، رقم 'Jumilia' فعالیت بیشتری نشان داد (شکل ۳-۳C، D و E).

ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی در هر دو رقم با افزایش غلظت تا ۱۰۰ میکرومولار افزایش یافت و در این غلظت به اوج خود رسید (۸۹/۲۴ میکروگرم بر گرم وزن خشک در 'Jumilia' و ۸۷/۳۶ میکروگرم بر گرم وزن خشک در 'Tanja'). با افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار، از میزان ظرفیت کل کاسته شد. کمترین ظرفیت در تیمار شاهد مشاهده گردید. در تمامی سطوح غلظتی، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی در رقم 'Jumilia' به‌طور معنی‌داری بالاتر از رقم 'Tanja' بود و بیشترین اختلاف (۱/۸۸ میکروگرم بر گرم وزن خشک) در غلظت ۱۰۰ میکرومولار ثبت شد (شکل ۳-۳F).

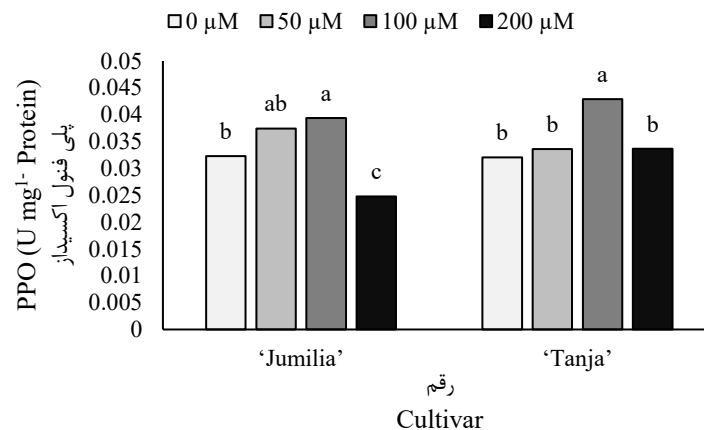


شکل ۳- اثر غلظت‌های نانوذرات روی، بر پاسخ محتوای مالون‌دی‌آلدهید (A)، پراکسید هیدروژن (B) و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز (C)، سوپراکسید دیسموتاز (D)، پراکسیداز (E) و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (F) در بافت برگ دو رقم رز 'Jumilia' و 'Tanja'. در هر نمودار، برای هر رقم میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ندارند.

Fig. 3. Effect of zinc nanoparticle concentrations on the response of malondialdehyde content (A), hydrogen peroxide (B), and the activity of the antioxidant enzymes catalase (C), superoxide dismutase (D), peroxidase (E), and total antioxidant capacity (F) in the leaf tissue of two rose cultivars, 'Jumilia' and 'Tanja'. In each panel, means followed by the same letter within each cultivar are not significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

نتایج نشان داد که غلظت نانوذرات روی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز داشتند. بررسی میانگین‌ها بیانگر آن بود که فعالیت پلی‌فنل اکسیداز در هر دو رقم با افزایش غلظت نانوذرات روی تا ۱۰۰ میکرومولار به‌طور پیوسته افزایش یافت و در این غلظت به بیشترین مقدار خود رسید. این الگو همسو با افزایش فعالیت ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی در همین غلظت بوده و بیانگر حداکثر شدن نیاز به فعال‌سازی سیستم دفاع آنزیمی در شرایط بهینه است. با این حال، افزایش غلظت نانوذرات روی به ۲۰۰ میکرومولار موجب بروز پاسخ‌های متفاوت و واگرا در دو رقم شد. در رقم 'Jumilia'، فعالیت پلی‌فنل اکسیداز کاهش شدید

را نشان داد (۰/۰۲۴۸ واحد میلی گرم پروتئین)، در حالی که در رقم 'Tanja' فعالیت این آنزیم به طور ملایم تر کاهش یافت (۰/۰۳۳۶ واحد میلی گرم بر پروتئین) و حتی از سطح مشاهده شده در تیمار شاهد بیشتر بود (شکل ۴).



شکل ۴- اثر غلظت‌های نانوذرات روی، بر پاسخ فعالیت پلی فنول اکسیداز در بافت برگ دو رقم رز 'Jumilia' و 'Tanja'. برای هر رقم میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد آزمون توکی اختلاف معنی داری ندارند.

Fig. 4. Effect of zinc nanoparticle concentrations on polyphenol oxidase activity response in the leaf tissue of two rose cultivars, 'Jumilia' and 'Tanja'. For each cultivar, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

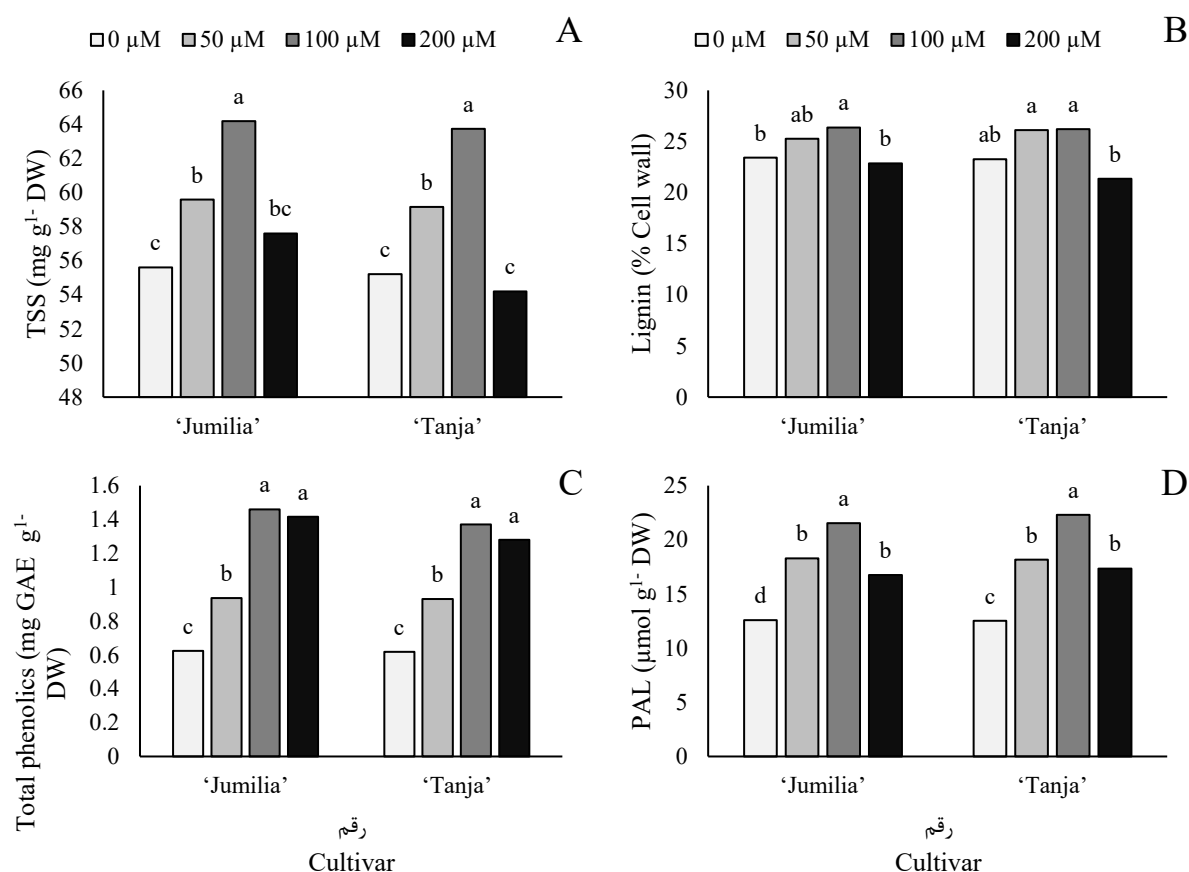
متابولیت‌های اولیه و ثانویه

نتایج نشان داد که غلظت نانوذرات روی تأثیر معنی داری بر مواد جامد محلول کل، درصد لیگنین دیواره سلولی، محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیوم لیاز داشتند.

میزان قندهای محلول کل برگ در هر دو رقم با افزایش غلظت نانوذرات روی از صفر تا ۱۰۰ میکرومولار به طور معنی داری افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در این غلظت ثبت شد. در تیمار ۱۰۰ میکرومولار، رقم 'Jumilia' با میانگین ۶۴/۱۹ و رقم 'Tanja' با ۶۳/۷۵ میلی گرم بر گرم وزن خشک به اوج این شاخص رسیدند. با افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار، مقدار مواد جامد محلول کل در هر دو رقم کاهش یافت، اگرچه همچنان بالاتر از تیمار شاهد بود. در تمامی سطوح تیماری، رقم 'Jumilia' مقادیر بیشتری از این شاخص را نسبت به 'Tanja' نشان داد و این برتری در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار بارزتر بود؛ به طوری که در غلظت ۲۰۰ میکرومولار، مقدار این شاخص در 'Jumilia' (۵۷/۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک) به طور محسوسی بیشتر از 'Tanja' (۵۴/۲ میلی گرم بر گرم وزن خشک) بود (شکل ۵-۵). در راستای این پاسخ اسمزی، درصد لیگنین دیواره سلولی نیز با افزایش غلظت نانوذرات روی تا سطح ۱۰۰ میکرومولار به طور پیوسته و معنی داری افزایش یافت و در این غلظت به بیشترین مقدار خود رسید. در این شرایط، رقم 'Jumilia' با ۲۶/۳۸ و رقم 'Tanja' با ۲۶/۱۹ درصد بیشترین تجمع لیگنین در دیواره سلولی را نشان دادند. افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار موجب کاهش درصد لیگنین در هر دو رقم شد و مقدار آن کمتر از تیمار شاهد ماند. در تمامی تیمارها، رقم 'Jumilia' درصد لیگنین همسانی نسبت به 'Tanja' داشت (شکل ۵-۵).

محتوای کل ترکیبات فنلی نیز الگوی مشابهی را نشان داد و به طور معنی داری تحت تأثیر غلظت نانوذرات روی و رقم قرار گرفت. با افزایش غلظت نانوذرات روی تا ۱۰۰ میکرومولار، محتوای فنلی در هر دو رقم به طور قابل توجهی افزایش یافت و به بیشترین مقدار خود رسید (برای رقم 'Jumilia' ۱/۴۶ و برای رقم 'Tanja' ۱/۳۷ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) که افزایشی حدود ۲۳۰ درصد نسبت به تیمار شاهد را نشان می‌دهد. با این حال، افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار سبب کاهش محتوای ترکیبات فنلی در هر دو رقم شد؛ این کاهش در رقم 'Tanja' شدیدتر (حدود ۷ درصد) و در رقم 'Jumilia' ملایم‌تر (حدود ۳ درصد) بود. در نتیجه، در غلظت بالای ۲۰۰ میکرومولار، رقم 'Jumilia' برتری آشکاری نسبت به رقم 'Tanja' نشان داد (۱/۴۱ در مقابل ۱/۲۷) که بیانگر توانایی بیشتر این رقم در حفظ ترکیبات دفاعی تحت شرایط بالقوه تنش‌زا است (شکل ۵-۵).

الگوی تغییرات فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیوم لیاز نشان داد که در هر دو رقم، فعالیت این آنزیم در پاسخ به غلظت ۱۰۰ میکرومولار به شدت افزایش یافت و نسبت به تیمار شاهد حدود ۴۵ درصد رشد نشان داد. با افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار، فعالیت آن کاهش نسبی یافت، اما همچنان بالاتر از سطح شاهد باقی ماند (برای رقم 'Jumilia' به ۱۶/۷۴ و برای رقم 'Tanja' به ۱۷/۳۵ میکرومول بر گرم وزن خشک). در تمامی تیمارها، رقم 'Jumilia' فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیوم لیاز مشابهی نسبت به 'Tanja' نشان داد (شکل ۵-D).



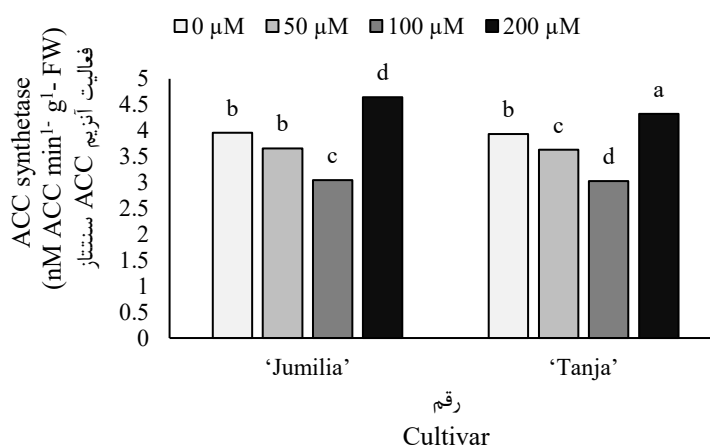
شکل ۵- اثر غلظت‌های نانوذرات روی، بر پاسخ قندهای محلول کل (A)، درصد لیگنین دیواره سلولی (B)، محتوای ترکیبات فنلی (C) و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیوم لیاز (D) در دو رقم رز 'Jumilia' و 'Tanja'. در هر نمودار، برای هر رقم میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ندارند.

Fig. 5. Effect of zinc nanoparticle concentrations on the response of total soluble sugars (A), cell wall lignin percentage (B), phenolic compound content (C), and phenylalanine ammonia-lyase enzyme activity (D) in two rose cultivars, 'Jumilia' and 'Tanja'. In each panel, means followed by the same letter within each cultivar are not significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

تنظیم هورمون اتیلن

نتایج نشان داد که غلظت نانوذرات روی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم ACC سنتتاز در گلبرگ هر دو رقم داشتند. در هر دو رقم، فعالیت این آنزیم با افزایش غلظت از صفر به ۱۰۰ میکرومولار به طور پیوسته و قابل توجهی کاهش یافت و به کمترین مقدار خود در کل طیف آزمایشی رسید (۳/۰۵ واحد در 'Jumilia' و ۳/۰۳ واحد در 'Tanja'). این کاهش حاکی از مهار سنتز اتیلن در گیاه تحت تیمار با غلظت‌های پایین و میانی نانوذرات است. با این حال، در غلظت ۲۰۰ میکرومولار، فعالیت آنزیم نه تنها بهبود نیافت، بلکه به طور ناگهانی و شدیدی افزایش یافت و به بیشترین مقدار خود رسید (۴/۶۴ واحد در 'Jumilia' و ۴/۳۲ واحد در 'Tanja'). در تمامی سطوح تیماری، رقم 'Jumilia' فعالیت آنزیم ACC سنتتاز بالاتری را نسبت به رقم 'Tanja' نشان

داد. این برتری در غلظت ۲۰۰ میکرومولار بسیار بارزتر بود، به طوری که فعالیت آنزیم در 'Jumilia' حدود ۷/۴ درصد بیشتر از 'Tanja' بود (شکل ۶).



شکل ۶- اثر غلظت‌های نانوذرات روی، بر پاسخ فعالیت آنزیم ACC سنتتاز در بافت گلبرگ دو رقم رز 'Jumilia' و 'Tanja'. برای هر رقم میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ندارند.

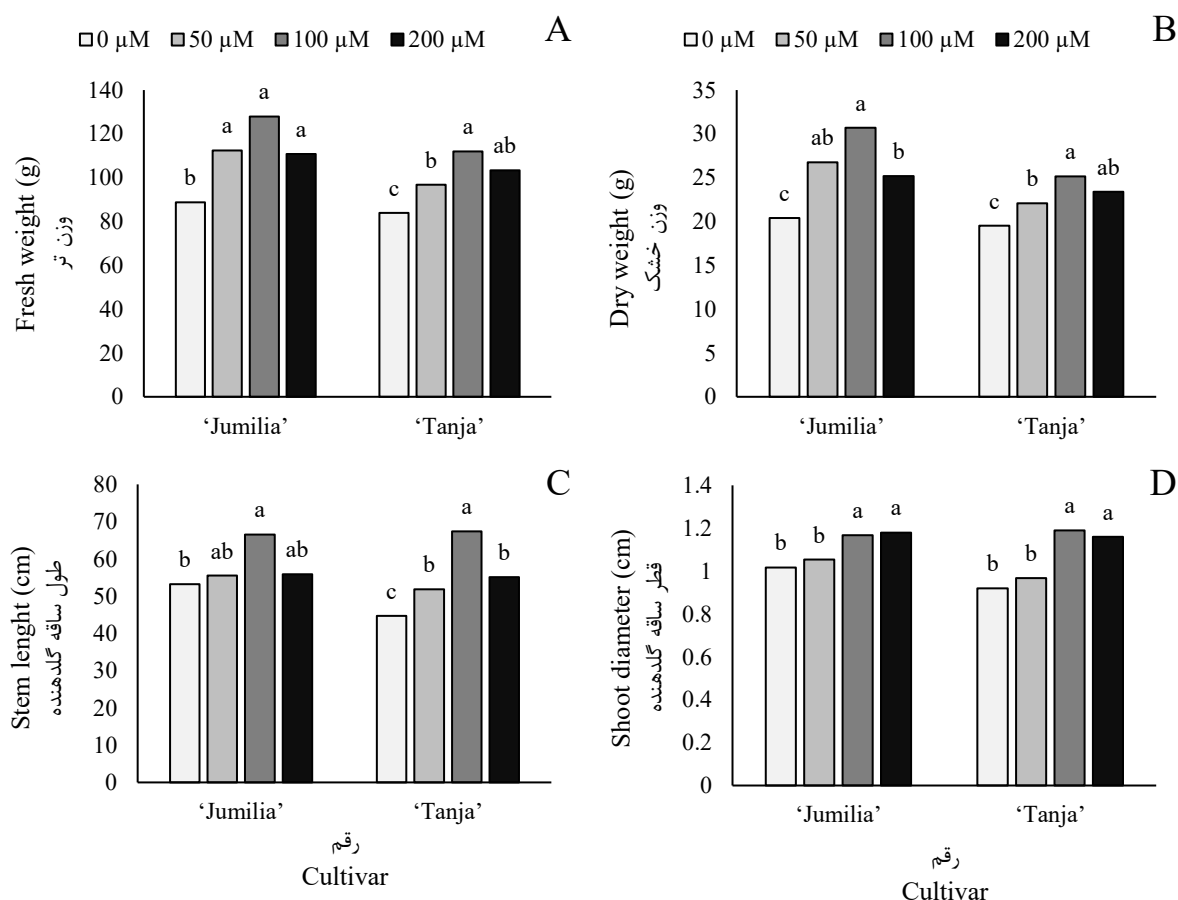
Fig. 6. Effect of zinc nanoparticle concentrations on ACC synthase enzyme activity response in the petal tissue of two rose cultivars, 'Jumilia' and 'Tanja'. For each cultivar, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

ویژگی‌های رویشی و زایشی

نتایج نشان داد که غلظت نانوذرات روی تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد رویشی، تولید بیوماس و صفات زینتی داشت. بررسی هم‌زمان وزن تر، وزن خشک، طول و قطر ساقه گل‌دهنده و قطر گل، وجود یک پاسخ وابسته به غلظت با نقطه بهینه مشخص را در هر دو رقم آشکار ساخت. وزن تر ساقه گل‌دهنده، در هر دو رقم با افزایش غلظت نانوذرات روی تا ۱۰۰ میکرومولار به‌طور پیوسته و معنی‌داری افزایش یافت و در این غلظت به بیشترین مقدار خود رسید. بیشترین وزن تر در رقم 'Jumilia' (۱۲۷/۹۳ گرم) و رقم 'Tanja' (۱۱۲/۰۴ گرم) ثبت شد. با افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار، وزن تر در هر دو رقم کاهش یافت، هرچند مقادیر آن همچنان بالاتر از تیمار شاهد باقی ماند. در تمامی تیمارها، رقم 'Jumilia' وزن تر بیشتری نسبت به 'Tanja' نشان داد و این برتری در غلظت ۱۰۰ میکرومولار بیشترین اختلاف حدود ۱۵/۹ گرم را داشت (شکل ۷-۱). وزن خشک، به‌عنوان نهایی‌ترین شاخص تجمع ماده خشک، الگویی کاملاً مشابه با وزن تر را دنبال کرد (شکل ۷-۲). در هر دو رقم، وزن خشک با افزایش غلظت نانوذرات روی تا ۱۰۰ میکرومولار به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و در این غلظت به اوج خود رسید (در رقم 'Jumilia' به ۳۰/۶۹ و در رقم 'Tanja' به ۲۵/۱۴ گرم). افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار موجب کاهش وزن خشک شد که این کاهش در رقم 'Jumilia' آشکارتر بود، اما حتی در این شرایط نیز این رقم وزن خشک بالاتری نسبت به 'Tanja' حفظ کرد. بیشترین اختلاف بین ارقام در غلظت ۱۰۰ میکرومولار مشاهده شد (حدود ۵/۵ گرم معادل ۲۲ درصد).

طول ساقه گل‌دهنده نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت نانوذرات روی قرار گرفت. در هر دو رقم، با افزایش غلظت تا ۱۰۰ میکرومولار، طول ساقه افزایش یافت و در این سطح به بیشترین مقدار رسید. در این غلظت بهینه، رقم 'Tanja' با میانگین ۶۷/۴ سانتی‌متر اندکی از 'Jumilia' (۶۶/۶ سانتی‌متر) پیشی گرفت. با این حال، در شرایط شاهد و غلظت ۵۰ میکرومولار، رقم 'Jumilia' ساقه‌های بلندتری داشت و در غلظت ۲۰۰ میکرومولار، طول ساقه در هر دو رقم کاهش یافته و به مقادیر تقریباً مشابه رسید. این الگو نشان می‌دهد که 'Tanja' در شرایط بهینه رشدی شدیدتری دارد، درحالی‌که 'Jumilia' از پایداری رشد بالاتری در دامنه وسیع‌تری از غلظت‌ها برخوردار است (شکل ۷-۳). برخلاف طول ساقه، قطر ساقه گل‌دهنده با افزایش غلظت نانوذرات روی به‌طور پیوسته افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار مشاهده شد. در این غلظت، رقم 'Jumilia' (۱/۱۸ سانتی‌متر) و رقم 'Tanja' (۱/۱۹ سانتی‌متر) به بیشترین قطر ساقه دست یافتند. در غلظت‌های پایین‌تر، رقم 'Jumilia' ساقه‌های قطورتری داشت، هرچند در غلظت ۱۰۰ میکرومولار رقم 'Tanja' اندکی پیشی گرفت. با این حال، در

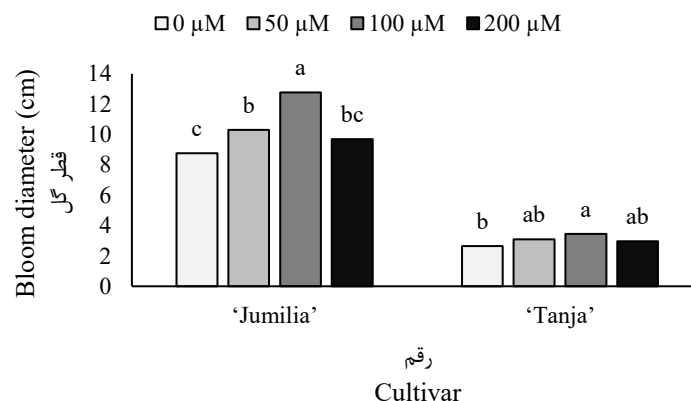
غلظت ۲۰۰ میکرومولار، 'Jumilia' مجدداً برتری ساختاری خود را بازیافت که بیانگر توانایی بالاتر این رقم در حفظ استحکام ساقه تحت شرایط بالقوه تنش‌زا است (شکل ۷-D).



شکل ۷- اثر غلظت‌های نانوذرات روی، بر پاسخ وزن تر (A)، وزن خشک (B)، طول (C) و قطر (D) ساقه گل‌دهنده در دو رقم رز 'Jumilia' و 'Tanja'. در هر نمودار، برای هر رقم میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ندارند.

Fig. 7. Effect of zinc nanoparticle concentrations on the response of fresh weight (A), dry weight (B), length (C), and diameter (D) of the flowering stem in two rose cultivars, 'Jumilia' and 'Tanja'. In each panel, means followed by the same letter within each cultivar are not significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

قطر گل، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های کیفی و زینتی، تفاوت ذاتی چشمگیری بین دو رقم نشان داد. رقم 'Jumilia' در تمامی تیمارها دارای گل‌هایی با قطر به‌مراتب بزرگ‌تر از رقم 'Tanja' بود. در این رقم، قطر گل با افزایش غلظت نانوذرات روی تا ۱۰۰ میکرومولار به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و به حداکثر ۱۲/۷۷ سانتی‌متر رسید که حدود ۴۶ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود. در غلظت ۲۰۰ میکرومولار، قطر گل کاهش یافت (۹/۷ سانتی‌متر)، اما همچنان از شاهد بزرگ‌تر باقی ماند. رقم 'Tanja' نیز اگرچه گل‌های کوچک‌تری داشت، اما الگوی پاسخ مشابهی را نشان داد و بیشترین قطر گل آن (۳/۴۵ سانتی‌متر) در غلظت ۱۰۰ میکرومولار ثبت شد و در غلظت بالاتر کاهش یافت (شکل ۸).



شکل ۸- اثر غلظت‌های نانوذرات روی، بر پاسخ قطر گل در دو رقم رز 'Jumilia' و 'Tanja'. برای هر رقم میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ندارند.

Fig. 8. Effect of zinc nanoparticle concentrations on flower diameter response in two rose cultivars, 'Jumilia' and 'Tanja'. For each cultivar, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

بحث

یافته‌های این پژوهش، پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متمایز دو رقم گل رز شاخه بریده را در برابر گستره‌ای از غلظت‌های نانوذره روی آشکار ساخت. داده‌ها به‌طور کلی از الگوی پاسخ وابسته به غلظت پیروی کردند که در آن یک محدوده بهینه یعنی غلظت ۱۰۰ میکرومولار در این پژوهش، اثرات مطلوب را القا کرده، درحالی‌که انحراف از این محدوده به سمت غلظت‌های بالاتر می‌تواند موجب فعال‌سازی مسیرهای دفاعی یا القای تنش شود (Fahad Almulhim *et al.*, 2025; Ghiyasi *et al.*, 2023; El-Zohri *et al.*, 2021). افزون بر این، تعامل معنادار بین فاکتورهای ژنوتیپ و غلظت، بر وجود تفاوت‌های ذاتی مهم در استراتژی‌های پاسخ و ظرفیت تحمل ارقام تأکید دارد (Zhao *et al.*, 2025).

در زمینه وضعیت آبی و پاسخ‌های اسمزی، روند مشاهده‌شده حاکی از پویایی احتمالی در تعادل آب گیاه است. کاهش وضعیت نسبی رطوبت برگ تا غلظت ۱۰۰ میکرومولار می‌تواند متأثر از مکانیسم‌های غیرمستقیمی مانند بهبود کارایی فتوسنتز، تنظیم فعالیت روزنه‌ها یا حفظ بهتر یکپارچگی غشا باشد که در نهایت به حفظ آب درون بافتی منجر می‌شود (Ghaffari Yaichi *et al.*, 2025). در مقابل، افزایش مشاهده‌شده در غلظت ۲۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد، ممکن است نشان‌دهنده یک پاسخ اولیه و گذرا باشد که در آن گیاه منابع را به سمت فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ دفاعی هدایت می‌کند. این تفسیر با معنادار بودن پاسخ شاخص‌هایی مانند پرولین و لیگنین هم‌سو بود و این فرضیه را تقویت می‌کند که پاسخ اولیه ژنوتیپ‌ها به نانوذرات روی ممکن است عمده‌تاً از طریق مسیرهای بیوشیمیایی مرتبط با تقویت ساختار سلولی و تنظیم اسمزی صورت گیرد.

ارزیابی پایداری غشای سلولی از طریق شاخص نشت یونی، درک مهمی از تفاوت‌های ذاتی بین ارقام ارائه داد. ثبات نسبی این شاخص در محدوده غلظت‌های پایین و میانی، حاکی از آن است که نانوذرات روی در این دامنه، تنش جدی به یکپارچگی غشاها وارد نکرده‌اند (Ghaffari Yaichi *et al.*, 2025). این مشاهده با نتایج سایر شاخص‌های تنش اکسیداتیو که در غلظت بهینه به حداقل رسیدند، هم‌خوانی دارد و می‌تواند مؤید ایجاد یک حالت فیزیولوژیک پایدار با حداقل تنش باشد. با این حال، افزایش معنی‌دار نشت یونی در غلظت ۲۰۰ میکرومولار، به‌طور قوی نشان‌دهنده عبور از آستانه تحمل سلولی و بروز آسیب به ساختار غشاها است که احتمالاً با تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن و تشدید پراکسیداسیون لیپیدها مرتبط است (El-Zohri *et al.*, 2021; Adrees *et al.*, 2021). پاسخ متفاوت ارقام در این شرایط حائز اهمیت بود. رقم 'Jumilia' علیرغم دارا بودن نشت یونی پایه بالاتر، در مواجهه با تنش شدید افزایش کم‌تری را در این شاخص تجربه کرد. این واگرایی می‌تواند حاکی از استراتژی‌های متفاوت تحمل به تنش باشد، مشابه آنچه در مطالعات دیگر روی ارقام مختلف گزارش شده است (Zhao *et al.*, 2025).

الگوی تغییرات پرولین نیز پاسخ‌های تطبیقی عمیق و غیرخطی گیاه را نشان می‌دهد. کاهش اولیه پرولین در غلظت ۵۰ میکرومولار را می‌توان به‌عنوان یک واکنش سریع به محرک نانوذره تفسیر کرد. با این حال، افزایش چشمگیر پرولین در غلظت

۲۰۰ میکرومولار، هم‌زمان با اوج تجمع لیگنین، سناریویی جالب را مطرح می‌کند که ممکن است نشان‌دهنده تغییر استراتژی از دفاع مبتنی بر تنظیم اسمزی به سمت دفاع مبتنی بر تقویت ساختاری دیواره سلولی باشد. افزایش مجدد و شدید پرولین در غلظت سمی، آشکارا نشان‌دهنده بروز تنش شدید اسمزی یا اکسیداتیو است (Ghaffari Yaichi *et al.*, 2025; El-Zohri *et al.*, 2021). برتری مستمر رقم 'Jumilia' در تجمع پرولین، به‌ویژه تحت تنش شدید، ظرفیت تحمل بالاتر این رقم را تقویت می‌کند. یافته‌های مرتبط با وضعیت اکسیداتیو، الگوی دوگانه و غلظت مشروط نانوذرات روی را به‌وضوح تأیید می‌کنند. کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن با افزایش غلظت نانوذرات تا ۱۰۰ میکرومولار، نقش مثبت و احتمالی این نانوذرات را در کاهش تنش اکسیداتیو و حفظ یکپارچگی غشاهای سلولی نشان می‌دهد (Adnan *et al.*, 2025; El-Zohri *et al.*, 2021). این مشاهده با گزارش‌های پیشین مبنی بر توانایی نانوذرات روی در تقویت ساختار غشا، ایفای نقش هم‌فرسازی در آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و غیرفعال کردن مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن هم‌سوست. کاهش هماهنگ فعالیت آنزیم‌های کلیدی آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) در این غلظت، می‌تواند تأییدکننده این فرضیه باشد که تولید گونه‌های فعال اکسیژن به سطح پایه و کنترل‌شده‌ای رسیده و در نتیجه نیاز به فعالیت بالای سیستم آنزیمی کاسته شده است (El-Zohri *et al.*, 2021). در نقطه مقابل، افزایش ناگهانی شاخص‌های استرس اکسیداتیو همراه با جهش شدید در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بالاترین غلظت، به‌وضوح القای تنش اکسیداتیو و فعال‌سازی کامل سیستم دفاعی را نشان می‌دهد که منطبق بر الگوی محرک‌زایی در غلظت پایین^۱ گزارش شده در مطالعات نانو-اکو توکسیکولوژی است (Ghiyasi *et al.*, 2023; El-Zohri *et al.*, 2021). برتری فیزیولوژیکی رقم 'Jumilia' با مقادیر پایین‌تر مالون‌دی‌آلدهید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر آن تحت تنش، مجدداً آشکار شد. تفاوت چشمگیر در پاسخ آنزیم پلی‌فنل اکسیداز دو رقم در غلظت سمی نیز نکته‌ای کلیدی است و پلی‌فنل اکسیداز را به‌عنوان یک نشانگر حساس برای غربالگری ارقام از نظر تحمل به تنش مطرح می‌سازد.

تأثیر نانوذرات روی بر متابولیت‌های اولیه و ثانویه نیز معنادار بود. افزایش مواد جامد محلول کل در برگ تا غلظت بهینه، احتمالاً بازتابی از بهبود کارایی فتوسنتزی و متابولیسم کربوهیدرات‌ها تحت تأثیر نقش هم‌فرسازی روی است (Fahad Almulhim *et al.*, 2025; Ghaffari Yaichi *et al.*, 2025). کاهش نسبی این شاخص در غلظت بسیار بالا ممکن است ناشی از اختلال در فرآیندهای متابولیک مذکور باشد. هم‌سو با این موضوع، تجمع پیش‌رونده لیگنین در دیواره سلولی تا غلظت بهینه، نشان‌دهنده فعال‌سازی مسیرهای بیوسنتزی مرتبط با تقویت ساختمان دیواره است (Fahad Almulhim *et al.*, 2025). روند تغییرات ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیوم‌لیاز، ارتباط تنگاتنگ تحریک مسیر فنیل‌پروپانویید توسط نانوذرات روی را آشکار می‌سازد که با یافته‌های سایر پژوهش‌ها مطابقت دارد (Singh *et al.*, 2025; Fahad Almulhim *et al.*, 2025; El-Zohri *et al.*, 2021). واکنش متفاوت دو رقم در غلظت ۲۰۰ میکرومولار، بار دیگر بر ظرفیت بیوشیمیایی بالاتر رقم 'Jumilia' تحت تنش دلالت دارد.

یکی از یافته‌های بارز این پژوهش، اثر تنظیمی کاهنده و وابسته به غلظت نانوذرات روی بر فعالیت آنزیم ACC سنتتاز، آنزیم کلیدی در بیوسنتز اتیلن، بود. روند کاهشی خطی فعالیت این آنزیم با افزایش غلظت نانوذرات، قویاً نشان می‌دهد که نانوذرات روی می‌توانند به‌عنوان یک عامل مهارکننده در مسیر بیوسنتز اتیلن عمل کنند. مکانیسم احتمالی این اثر می‌تواند پیچیده و شامل تداخل نانوذرات با ساختار یا عملکرد پروتئین آنزیم، اختلال در انتقال سیگنال‌های القاکننده سنتز اتیلن، یا القای مسیرهای آنتی‌اکسیدانی باشد. برهمکنش معنادار بین رقم و غلظت در این بخش نیز حساسیت ژنتیکی متفاوت را برجسته کرد (Khan *et al.*, 2024).

در نهایت، پاسخ‌های رشدی-مورفولوژیک نیز وجود یک غلظت بهینه و تفاوت‌های ژنوتیپی را تأیید کردند؛ به‌طوری که افزایش بیوماس تا غلظت ۱۰۰ میکرومولار و کاهش آن در غلظت‌های بالاتر، الگوی هورمیسس را به نمایش گذاشت (Fahad Almulhim *et al.*, 2025; Ahmed *et al.*, 2023; Ghiyasi *et al.*, 2023). پاسخ متمایز صفات طول و قطر ساقه قابل‌تأمل است و احتمالاً از درگیر بودن مسیرهای هورمونی و متابولیک متفاوت حکایت دارد. برتری پایدار رقم 'Jumilia' در بسیاری از این

صفات رشدی، پتانسیل ذاتی بالاتر این رقم را برای بهره‌وری از کاربرد نانوذرات روی نشان می‌دهد (Zhao et al., 2025; Ahmed et al., 2023).

نتیجه‌گیری

این پژوهش با هدف بررسی پاسخ دو رقم تجاری گل رز شاخه‌بریده با ماهیت رشدی متفاوت به غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی انجام شد. نتایج نشان داد که واکنش هر دو رقم به نانوذرات روی، پدیده‌ای کاملاً وابسته به غلظت است و الگوی پاسخ مشابهی را در برابر سطوح مختلف تیمار نشان دادند. در هر دو رقم، غلظت ۱۰۰ میکرومولار نانوذرات اکسید روی به‌عنوان سطح بهینه شناسایی شد. کاربرد این غلظت با ایجاد تعادل فیزیولوژیک-بیوشیمیایی مطلوب، ضمن فعال‌سازی کنترل‌شده سیستم‌های دفاعی (افزایش فعالیت پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل)، منجر به کاهش معنی‌دار شاخص‌های تنش اکسیداتیو (مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن) گردید. این وضعیت با کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز همراه بود که نشان‌دهنده کاهش نیاز به سیستم دفاعی در نتیجه رسیدن به شرایط همئوستازی است. به‌موازات بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک، غلظت بهینه نانوذرات روی باعث افزایش معنی‌دار قطر گل، وزن تر و خشک، طول و قطر ساقه گل‌دهنده، مواد جامد محلول، فنل کل، لیگنین و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانیل آمونیوم‌لیاز در هر دو رقم گردید. همچنین کاهش قابل‌توجه فعالیت آنزیم ACC سنتتاز در گلبرگ‌ها در این غلظت، نشان‌دهنده اثر بازدارنده نانوذرات روی بر مسیر بیوسنتز اتیلن و پتانسیل آن برای افزایش عمر گلجایی است. در مقابل، افزایش غلظت به ۲۰۰ میکرومولار با القای تنش اکسیداتیو (افزایش مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن)، فعال‌سازی شدید سیستم آنتی‌اکسیدانی (افزایش چشمگیر کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز)، تجمع پرولین و افزایش نشت یونی همراه بود که منجر به کاهش نسبی برخی شاخص‌های رشد و کیفیت گل گردید. اگرچه بررسی توصیفی داده‌ها تفاوت‌هایی را در مقادیر عددی برخی صفات بین دو رقم نشان می‌دهد، اما با توجه به تفاوت این دو رقم از نظر ساختار گل و آنالیز جداگانه داده‌ها برای هر رقم، هرگونه قضاوت در مورد برتری یکی از ارقام بر دیگری مستلزم طراحی آزمایشی با هدف مقایسه مستقیم ژنوتیپ‌ها می‌باشد. با این وجود، الگوی پاسخ هر دو رقم به غلظت‌های مختلف نانوذرات روی مشابه بوده و غلظت ۱۰۰ میکرومولار به‌عنوان سطح بهینه برای بهبود صفات کمی و کیفی در هر دو رقم قابل توصیه است. بر اساس یافته‌های این پژوهش، کاربرد محلول‌پاشی برگی نانوذرات اکسید روی با غلظت ۱۰۰ میکرومولار (در دو نوبت هم‌زمان با ظهور غنچه و شروع رنگ‌پذیری) برای بهبود رشد رویشی، افزایش کیفیت گل و کاهش تنش اکسیداتیو در ارقام گل رز 'Jumilia' و 'Tanja' قابل توصیه بوده و اثر بازدارنده این غلظت بر فعالیت آنزیم ACC سنتتاز، آن را به‌عنوان راهکاری بالقوه برای افزایش عمر پس از برداشت گل‌های شاخه‌بریده رز مطرح می‌سازد. برای پژوهش‌های آتی، طراحی مطالعات مقایسه‌ای با هدف بررسی دقیق تفاوت‌های ژنوتیپی و امکان معرفی رقم برتر از نظر پاسخ به نانوذرات روی، بررسی مکانیسم‌های مولکولی دخیل در پاسخ بهینه از جمله مطالعه بیان ژن‌های مرتبط با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مسیر فنیل‌پروپانویید و بیوسنتز اتیلن، مطالعه اثر هم‌افزایی کاربرد نانوذرات روی با سایر عناصر ریزمغذی یا محرک‌های رشد، بررسی تأثیر غلظت بهینه نانوذرات روی بر شاخص‌های پس از برداشت و انجام پژوهش‌های مشابه در سایر ارقام تجاری گل رز و تحت شرایط محیطی متفاوت توصیه می‌گردد.

References

- Adnan, M., Mahmood, F., Zhao, Z., Khaliq, H., Usman, M., Muhammad, T., & Ashraf, G. A. (2025). Effect of the foliar application of biogenic-ZnO nanoparticles on physio-chemical analysis of chilli (*Capsicum annuum* L.) in a salt stress environment. *Environmental Science Advances*, 4, 306. <https://doi.org/10.1039/D4VA00167B>
- Adrees, M., Khan, Z. S., Ali, S., Hafeez, M., Khalid, S., Rehman, M. Z. U., & Hussain, A. (2021). Foliar exposure of zinc oxide nanoparticles improved growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) and decreased cadmium concentration in grains. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 207, 111627. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111627>

منابع

- Ahmed, R., Uddin, M. K., Quddus, M. A., Samad, M. Y. A., Hossain, M. A. M., & Haque, A. N. A. (2023). Impact of foliar application of zinc and zinc oxide nanoparticles on growth, yield, nutrient uptake and quality of tomato. *Horticulturae*, 9, 162. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020162>
- Almulhim, F. B., Sherif, F. E., Younis, N. S., Safwat, Y., & Khattab, S. (2025). Foliar spraying with zinc oxide nanoparticles enhances the anti-osteoporotic efficacy of the fruit extracts of *Silybum marianum* L. by stimulating silybin production. *Frontiers in Plant Science*, 15, Article 1421485. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1421485>
- Avellan, A., Yun, J., Morais, B. P., & Lowry, G. V. (2021). Foliar uptake and distribution of metallic oxide nanoparticles. *Environmental Science & Technology*. <https://doi.org/10.1021/acs.est.4c00991>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205–207. <https://doi.org/10.1007/bf00018060>
- Cahill, D. M., & McComb, J. A. (1992). A comparison of changes in phenylalanine ammonia-lyase activity, lignin and phenolic synthesis in the roots of *Eucalyptus calophylla* (field resistant) and *E. marginata* (susceptible) when infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 40, 315–332.
- Chance, B., & Machly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. In H. S. Mason (Ed.), *Methods in Enzymology* (Vol. 2, pp. 764–775). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
- Choi, C. W., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., & Kim, S. K. (2002). Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Science*, 163(6), 1161–1168. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(02\)00332-1](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(02)00332-1)
- El-Zohri, M., Al-Wadaani, N. A., & Bafeel, S. O. (2021). Foliar sprayed green zinc oxide nanoparticles mitigate drought-induced oxidative stress in tomato. *Plants*, 10, Article 2400. <https://doi.org/10.3390/plants10112400>
- Ghaffari Yaichi, Z., Hassanpouraghdam, M. B., & Rasouli, F. (2025). Zinc oxide nanoparticles foliar use and arbuscular mycorrhiza inoculation retrieved salinity tolerance in *Dracocephalum moldavica* L. by modulating growth responses and essential oil constituents. *Scientific Reports*, 15, Article 492. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-84198-2>
- Ghiyasi, M., Rezaee Danesh, Y., Amirnia, R., Najafi, S., Mulet, J. M., & Porcel, R. (2023). Foliar applications of ZnO and its nanoparticles increase safflower (*Carthamus tinctorius* L.) growth and yield under water stress. *Agronomy*, 13(1), 192. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010192>
- Harzallah, A., Bhouri, A. M., Amri, Z., Soltana, H., & Hammami, M. (2016). Phytochemical content and antioxidant activity of different fruit parts juices of three figs (*Ficus carica* L.) varieties grown in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 83, 255–267. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.043>
- Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F., & Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604–611. <https://doi.org/10.1007/s004250050524>
- Iiyama, K., & Wallis, A. F. A. (1990). Determination of lignin in herbaceous plants by an improved acetyl bromide procedure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51, 145–161. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740510202>
- Jiang, W. B., Mayak, S., & Halevy, A. H. (1994). The mechanism involved in ethylene-enhanced ethylene synthesis in carnations. *Plant Growth Regulation*, 14, 133–138.
- Kahn, V. (1975). Polyphenol oxidase activity and browning of three avocado varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26(9), 1319–1324.

- Khan, S., Alvi, A. F., Saify, S., Iqbal, N., & Khan, N. A. (2024). The ethylene biosynthetic enzymes, 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate (ACC) Synthase (ACS) and ACC Oxidase (ACO): The less explored players in abiotic stress tolerance. *Biomolecules*, 14(1), 90. <https://doi.org/10.3390/biom14010090>
- Manquían-Cerda, K., Escudey, M., Zúñiga, G., Arancibia-Miranda, N., Molina, M., & Cruces, E. (2016). Effect of cadmium on phenolic compounds, antioxidant enzyme activity and oxidative stress in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) plantlets grown in vitro. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133, 316-326. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.07.029>
- Natasha, N., Shahid, M., Bibi, I., Iqbal, J., Khalid, S., Murtaza, B., & Niazi, N. K. (2022). Zinc in soil-plant-human system: A data-analysis review. *Science of the Total Environment*, 808, 152024. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152024>
- Nikzad, S., Sharafi, S., Hamze, H., Mir Mahmoodi, T., Yazdan Seta, S. (2025). Investigating the effect of foliar spraying of zinc nanoparticles and biostimulants on modulating the effect of water deficit stress in sugar beet by using Integrated Biomarker Response Version 2. *Scientific Reports*, 15, 37780. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-19912-9>
- Ozden, M., Demirel, U., & Kahraman, A. (2009). Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) exposed to oxidative stress by H₂O₂. *Scientia Horticulturae*, 119, 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.07.031>
- Pan, Y., Wu, L. J., & Yu, Z. L. (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzyme activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulation*, 49, 157–165. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9101-y>
- Patade, V. Y., Bhargava, S., & Suprasanna, P. (2012). Effects of NaCl and iso-osmotic PEG stress on growth, osmolytes accumulation and antioxidant defense in cultured sugarcane cells. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 108, 279–286. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-0041-5>
- Rasheed, A., Li, H., Tahir, M. M., Mahmood, A., Nawaz, M., Shah, A. N., & Wu, Z. (2022). The role of nanoparticles in plant biochemical, physiological, and molecular responses under drought stress: A review. *Frontiers in Plant Science*, 13, 976179. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.976179>
- Salehi Salmi, M., Falehi Hoseini, M., Heidari, M., & Daneshvar, M. (2018). Extending vase life of cut rose (*Rosa hybrida* L.) cv. Bacara by essential oils. *Advances in Horticultural Science*, 32(1), 61–69. <https://doi.org/10.13128/ahs-21860>
- Sarker, U., & Oba, S. (2018). Catalase, superoxide dismutase and ascorbate–glutathione cycle enzymes confer drought tolerance of Amaranthus tricolor. *Scientific Reports*, 8, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34944-0>
- Shirvani-Naghani, S., Fallah, S., & Pokhrel, L. R. (2024). Drought stress mitigation and improved yield in *Glycine max* through foliar application of zinc oxide nanoparticles. *Scientific Reports*, 14, 27898. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-78504-1>
- Singh, A., Singh, N. B., Afzal, S., Singh, T., & Hussain, I. (2025). Effect of foliar application of biogenic ZnO nanoparticles on physio-chemical traits of chilli under salt stress. *Environmental Science: Advances*, 4, 167–178. <https://doi.org/10.1039/D4VA00167B>
- Villagran, E., Ortiz Rocha, G. A., Mojica, L., Florez-Velazquez, J., Aguilar, C. E., Gomez, L., Gomez, D., Antolinez, E., & Numa, S. (2024). Scientific analysis of cut flowers: A review of the main technical issues developed. *Ornamental Horticulture*, 30, Article e242699. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v30.e242699>
- Wang, X., Xie, H., Wang, P., & Yin, H. (2023). Nanoparticles in plants: Uptake, transport and physiological activity in leaf and root. *Materials*, 16(8), 3097. <https://doi.org/10.3390/ma16083097>

Yang, S., Yin, R., Wang, C., Yang, Y., & Wang, J. (2023). Phytotoxicity of zinc oxide nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes, alone or in combination, on *Arabidopsis thaliana* and their mutual effects on oxidative homeostasis. *PLoS ONE*, 18(2), e0281756. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281756>

Regulation of Antioxidant Defense and Hormonal Systems in Two Cut-Flower Rose Cultivars in Response to Different Levels of Zinc Nanoparticles and Their Implications for Growth and Flower Quality

Rezvan Ghasemi Chomagti¹, Mohamadreza Salehi Salmi^{*1}, Rohollah Abdoli Nejad²,
Seid Habibollah Nour-Bakhsh Shorabi³

1. Department of Horticultural Sciences Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources
University of Khuzestan

2. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

3. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran

*Corresponding Author, Email: (salehi@asnrkh.ac.ir; mrsalehisalmi@gmail.com)

Zinc nanoparticles (Zn NPs) are recognized as plant growth stimulators, but plant responses are highly dependent on both concentration and genotype. This study aimed to evaluate the morphophysiological and biochemical responses of two commercial cut rose cultivars ('Jumilia' and 'Tanja') to different concentrations of zinc oxide nanoparticles and to determine the optimal concentration. The experiment was conducted as a factorial arrangement within a randomized complete block design with two factors: cultivar (2) and Zn NP concentration (0, 50, 100, and 200 μ M), with three replications. Results revealed significant interaction effects of cultivar and concentration on most traits. The 100 μ M concentration was identified as optimal, producing the highest flower diameter (12.77 cm in 'Jumilia'), flower number, fresh and dry weight, relative leaf water content, and total soluble solids, along with the lowest oxidative damage (malondialdehyde and hydrogen peroxide) and ACC synthase activity. At this concentration, the activities of major antioxidant enzymes were reduced. In contrast, 200 μ M Zn NPs triggered defensive responses, including markedly increased antioxidant enzyme activities and proline accumulation, accompanied by a relative decrease in growth and flowering traits. Across all measured traits, 'Jumilia' significantly outperformed 'Tanja', particularly in membrane stability, efficient antioxidant defense, and the avoidance of excessive responses such as uncontrolled polyphenol oxidase activity observed in 'Tanja'. In general, the results showed that the response of both rose cultivars to different concentrations of Zn NPs was significant, and the concentration of 100 μ M can be recommended as the optimal level for improving growth, flower quality, and physiological indices in both cultivars. Although differences in the magnitude of responses were observed between the two cultivars, both exhibited the best performance at the mentioned concentration compared to other treatment levels.

Keywords: Foliar application, Homeostasis, Metabolism, Nanotechnology, Signaling, Toxicity.