

بررسی اثرات نانوذره اکسیدمس بر روی پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی گیاهچه‌های کتان

لیلا نوجوان^۱ و فاطمه رحمانی^{۲*}

۱ و ۲) گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه، ایران.

نویسنده مسئول: f.rahmani@urmia.ac.ir

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۱۸

چکیده

با توجه به اهمیت و کاربرد روز افزون نانوذرات و مشاهده اثرات سمی آن‌ها، بررسی اثرات این مواد بر صفات فیزیولوژیک گیاهان ضروری می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس (۰، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) بر روی پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی گیاهچه‌های کتان (*Linum usitatissimum* L.) است. این مطالعه در اتاق کشت گروه زیست شناسی دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۷ در قالب طرح تصافی با سه تکرار در بطری‌های شیشه‌ای انجام گرفت. در هر بطری ۲۰ عدد بذر قرار داده شد. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، تنش نانوذره‌ی اکسید مس منجر به کاهش معنی دار طول ریشه چه در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر شد در حالی که اندازه گیری طول ساقچه نمایانگر تاثیر مثبت افزایش نانوذرات اکسید مس بر این پارامتر نسبت به کنترل بود. نتایج مقایسه‌ی میانگین داده‌ها نشان دادند که با افزایش غلظت نانو اکسید مس میزان فنل کل، قند محلول و میزان پر اکسیداسیون چربی‌ها نسبت به کنترل روند افزایشی داشتند. فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش و آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز ($P < 0.05$) کاهش نشان دادند. میزان پروتئین محلول و فلاونوئید هم با افزایش غلظت در ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. شواهد حاصل از آزمایشات بیوشیمیایی بیانگر استراتژی گیاهچه‌های کتان در استفاده از مسیرهای منتهی به افزایش این فاکتورها به منظور ممانعت از خسارت اکسیداتیو به سلول‌های گیاهی است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، فلاونوئید کل، پر اکسیداسیون چربی‌ها، فنل کل و قند محلول.

مقدمه

نانوذرات با اندازه بین ۱۰۰-۱ نانومتر و ابعادی در میلیارادیوم مترمربع کاربردهای متعددی در کشاورزی، پزشکی، الکترونیک، مواد شیمیایی و داروسازی دارند (دیرکوندی و همکاران ۱۴۰۱؛ نیک اندیش و همکاران ۱۴۰۳، Thakur *et al.*, 2019; Turan *et al.*, 2022). این ذرات پارامترهای ساختاری و متابولیکی را بهبود بخشیده و با ایجاد مقاومت سیستمیک، عملکرد را تا حدود زیادی افزایش داده و توانسته‌اند به طور موثر به عنوان آغازگر بذر برای بهبود رشد و عملکرد گیاه استفاده شوند (Ramkumar *et al.*, 2022). با این حال استفاده گسترده از نانو ذرات در زمینه‌های مختلف این نگرانی را ایجاد می‌کند که آن‌ها در محیط رها شده و از طریق قسمت‌ساقه یا ریشه به طور مثبت یا منفی با گیاهان تعامل داشته باشند (Arya *et al.*, 2022). از بین نانوذرات فلزی ساده، نانومواد مس به دلیل سمی نبودن، در دسترس و مقرون به صرفه بودن، کاربردهای فراوانی یافته‌اند (Jankhunthod *et al.*, 2023).

در گیاهان نانوذرات اکسیدمس بسته به مقدار، ساختار، غلظت و همچنین گونه گیاهی، بر چرخه زندگی گیاه به صورت مثبت یا منفی تأثیر گذار بوده‌اند (Salam *et al.*, 2022). این نانو ذرات در غلظت‌های پایین تر می‌توانند فعالیت آنزیم-هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز را افزایش دهند و به گیاهان دانه روغنی کمک کنند تا با استرس اکسیداتیو ناشی از عوامل غیر زنده مبارزه نمایند. با این حال، در غلظت‌های بالاتر، به دلیل تجمع بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن منجر به مهار آنزیم می‌شوند. آن‌ها همچنین می‌توانند بر رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل و کاروتنوئیدها که برای تولید انرژی و تحمل استرس در گیاهان دانه روغنی حیاتی هستند، تأثیر بگذارند. در حالی که دوزهای پایین این نانو ذرات ممکن است باعث بهبودی رشد و عملکرد دانه در محصولات دانه روغنی شود، قرارگرفتن در معرض بیش از حد می‌تواند منجر به اثرات سمی گیاهی مانند کاهش نرخ جوانه زنی و توقف رشد گردد. نانو ذرات اکسید مس، با اختلال در جذب مواد مغذی نیز منجر به عدم تعادل عناصر ضروری مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم شده و می‌توانند هورمونهای گیاهی نظیر اکسین و جیبرلین را مختل نموده و بر رشد و نمو تأثیر بگذارند (Rajput *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2024). کتان با نام علمی *Linum usitatissimum* از خانواده Linaceae می‌باشد که در سرتاسر جهان در آب و هوای مختلف رشد می‌کند. این گونه بومی مناطق شرق مدیترانه، آسیای غربی و آسیای میانه به هند بوده و بیشترین مناطق کشت آن در آمریکای شمالی، روسیه، اروپای شمالی، قزاقستان و چین در آسیا است (Saleem *et al.*, 2020; Bernacchia *et al.*, 2014). دانه کتان سرشار از مواد مغذی متعدد از جمله اسیدهای چرب 3-ω، ویتامین E، فیبرهای غذایی و لیگنان‌ها است (Shekhara *et al.*, 2020; Sirotkin, 2023). از روغن کتان در صنعت پوشش و ازیالیف آن به عنوان جزئی از مواد کامپوزیت استفاده می‌شود (More, 2022; Dmitriev *et al.*, 2021). زیست توده کتان به عنوان

منبع انرژی زیستی و توالی ژنومی آن منبع اطلاعاتی مفیدی برای مطالعات پایه و کاربردی است (Zhao *et al.*, 2023). هدف از این تحقیق بررسی اثرات غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس (1000 و 100 ، 1000) میلی گرم بر لیتر) بر روی پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی گیاهچه‌های کتان است.

مواد و روش‌ها

بذر کتان کولتیوار TN-97-55، از شرکت پاکان بذر اصفهان و نانوذرات اکسید مس از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان مشهد خریداری شدند. درجه خلوص نانوذرات 99% و میانگین اندازه نانوذرات $20-10$ نانومتر بود.

تهیه تیمارهای نانوذره اکسید مس و نحوه تیماردهی دانه‌ها

دانه‌ها به مدت ۲ دقیقه با اتانول 70% و سپس به مدت چهار دقیقه با محلول 50% دیپوکلیت سدیم استریل شده و سپس به طور کامل چهار بار با آب مقطر شسته شدند. محلول نانوذره اکسید مس جهت تیمار دانه‌ها در غلظت‌های صفر یا شاهد (فقط آب مقطر خالص)، 100 ، 1000 و 10000 میلی گرم بر لیتر تهیه شد. دانه‌ها در بطری‌های شیشه‌ای تحت شرایط نوری $1350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ، رطوبت $60-70\%$ و دمای 27 ± 2 درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته رشد داده شدند. آزمایش در قالب طرح تصادفی با سه تکرار انجام شد.

اندازه‌گیری طول ساقچه و ریشه چه

از گیاهچه‌های هفت روزه دو نمونه از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و با آب شست و شو داده شد و پس از رطوبت گیری سطحی طول ساقچه و ریشه چه آنها با خط کش اندازه گیری گردید.

اندازه‌گیری رنگی‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری میزان رنگی‌ها از روش (Lichtenthaler and Wellburn 1983) استفاده شد. نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر (UV-Vis Spectrophotometer model UV1902 - SP017 China) در طول موج های 645 و 662 نانومتر برای کلروفیل a و b اندازه‌گیری شدند. برای تعیین کارتنوئید کل جذب در طول موج 470 نانومتر اندازه‌گیری گردید. برای محاسبه کلروفیل a و کلروفیل b و همچنین کارتنوئید از رابطه‌های ۱، ۲ و ۳ بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر استفاده شد (A) میزان جذب خوانده شده در هر طول موج توسط اسپکتروفتومتر می باشد. (Lichtenthaler and Wellburn 1983).

رابطه ۱: $\text{Chla} = 11.75 (\text{A}662) - 2.350 (\text{A}645)$

رابطه ۲: $\text{Chlb} = 18.61 (\text{A}645) - 3.960 (\text{A}662)$

رابطه ۳: $\text{CX} + \text{c} = 1000 (\text{A}470) - 2.270 \text{ chla} - 81.4 \text{ chlb} / 227$

اندازه گیری قندهای محلول

میزان قندهای محلول بر اساس هیدرولیز اسیدی قندهای محلول و ایجاد ترکیب فورفورال اندازه گیری شد (Dubois *et al.*, 1956). میزان جذب در ۴۸۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی استاندارد میزان قند تعیین و در نهایت بر حسب (میلی گرم بر گرم وزن تر) محاسبه گردید.

استخراج و اندازه گیری پروتئین محلول

برای تعیین پروتئین محلول از روش برادفورد استفاده شد (Bradford, 1976). جذب نوری هریک از نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد مقدار پروتئین کل محلول در هر نمونه بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر بافت محاسبه گردید.

اندازه گیری میزان کاتالاز

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز براساس توضیح داده شده صورت گرفت (Abdoli Nejad and Shekafandeh, 2014). تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت دو دقیقه بررسی گردید. محتوای فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید.

اندازه گیری میزان گلوکاتایون پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس روش Behnamnia و همکاران (۲۰۰۹) صورت گرفت. مقدار تغییرات در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ثانیه (یک دقیقه) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد که همراه با افزایش جذب بود.

اندازه گیری میزان آسکوربات پراکسیداز

پس از آماده سازی عصاره‌های پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد (Behnamnia *et al.*, 2009).

اندازه گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز

به منظور سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز جذب محلول در ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت این آنزیم بر اساس واحد بر میلی گرم پروتئین می باشد. واحد عبارت است از مقدار آنزیمی که احیای نوری NBT را به مقدار ۵۰ درصد کاهش دهد (Abdoli Nejad and Shekafandeh, 2014).

اندازه گیری میزان پراکسیداسیون چربی ها

بررسی میزان پراکسیداسیون لیپید بر اساس سنجش محتوای مالون دی الدئید با استفاده از تیوباربیتوریک اسید

(TBA) با کمی تغییرات انجام شد (Heath and packer, 1968). میزان جذب مخلوط به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-VIS در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ اندازه گیری شد.

اندازه گیری فنل کل و منحنی استاندارد آن

به منظور سنجش محتوای فنل کل از روش استفاده گردید و جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ nm خوانده شد. سنجش همه نمونه‌ها با سه تکرار مستقل انجام و مقدار فنل کل در هر نمونه با کمک معادله حاصل از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه گردید (Farag *et al.*, 2015).

سنجش فلاونوئید و رسم منحنی استاندارد آن

مقدار فلاونوئید کل در هر نمونه با کمک معادله حاصل از منحنی استاندارد کوئرستین محاسبه گردید. جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۴ نانومتر براساس منحنی استاندارد اندازه گیری شد (Quettier *et al.*, 2000).

آنالیز آماری

برای کاهش خطا، مقادیر میانگین (نمونه برداری آزمایش‌ها) در سه تکرار به دست آمد و انحراف معیار میانگین‌ها محاسبه گردید. اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ONE WAY ANOVA) محاسبه شد. گروه بندی تیمارها در سطح احتمال پنج درصد ($p < 0.05$) با آزمون چند دامنه ای دانکن (Duncan) انجام شد (جدول‌های ۱ و ۲). آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۳ انجام و نمودارها توسط برنامه Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

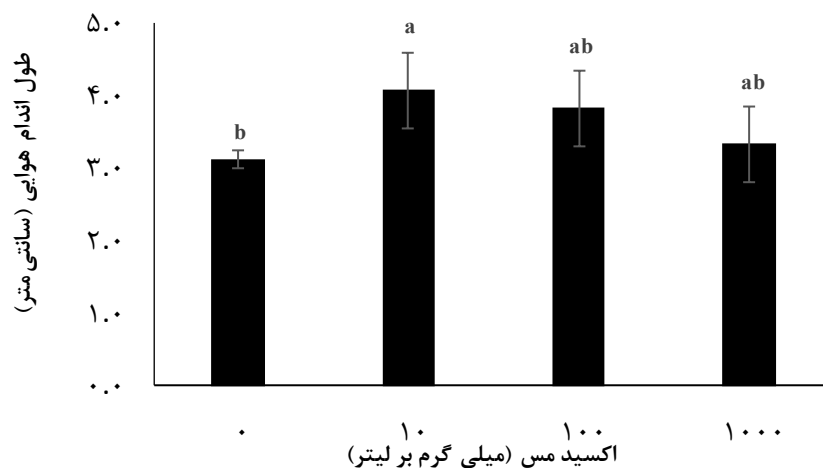
طول ساقچه

آنالیز داده‌های حاصل از آزمایشات نشان داد که در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر بیشترین افزایش طول ساقچه (۴/۰۸ سانتی متر) و در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر کمترین افزایش (۳/۳۳ سانتی متر) نسبت به گروه شاهد (۳/۱۱ سانتی متر) مشاهده شد (شکل ۱). یافته‌های این تحقیق با گزارش مبنی بر کاهش طول ساقه توسط نانو ذرات مس در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر در گیاه برنج (*Oryza sativa*) مغایرت داشت (Costa and Sharma, 2016). نتایج این مطالعه حاکی از مکانیسم محرومیت برای مقاومت در برابر سمیت است، چنین گیاهانی فلزات را در ریشه‌ها جمع می‌کنند تا از انتقال آنها به شاخه‌ها جلوگیری کنند (Costa and Sharma 2016).

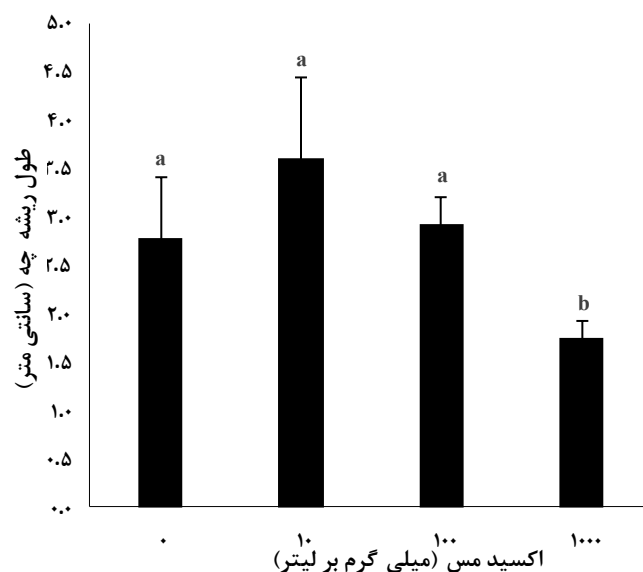
طول ریشه چه

بیشترین و کمترین طول ریشه‌چه به ترتیب در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر (۳/۶ سانتی متر) و غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم

بر لیتر (۱/۷۵ سانتی متر) نسبت به شاهد (۲/۷۸ سانتی متر) اندازه‌گیری شد (شکل ۲). کاهش طول ریشه چه در مقایسه با ساقچه را می‌توان به سمیت ناشی از تجمع مس در بافت ریشه‌چه، تاثیرترشح موسیلاژ توسط سلول‌های نوک ریشه باعث جذب بیشتر نانو ذرات و انتقال ناچیز اکسیدمس از ریشه چه به ساقچه مرتبط دانست (Costa and Sharma, 2016). افزایش و سپس کاهش در طول ریشه گیاه لوبیا و گندم نیز در اثر تیمار نانوذرات اکسیدمس نتایج همسویی را با مطالعه حاضر نشان می‌دهد (Lee et al., 2008). در تحقیق دیگری نانو ذرات مس در غلظت‌های بالاتر از ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، سبب مهار جوانه‌زنی بذر و رشد ریشه‌چه در گیاه *Lactuca sativa* شدند. این محققان گزارش کردند که با افزایش غلظت نانوذرات اکسیدمس، سطح نیتريت و S-نیتروسوتیول‌ها در ریشه‌چه‌ها افزایش می‌یابد (Pelegrino et al., 2020).



شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید مس بر طول ساقچه در در گیاهچه‌های هفت روزه کتان



شکل ۲: اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس بر طول ریشه چه در گیاهچه‌های هفت روزه کتان

میزان کلروفیل و کارتنوئیدها

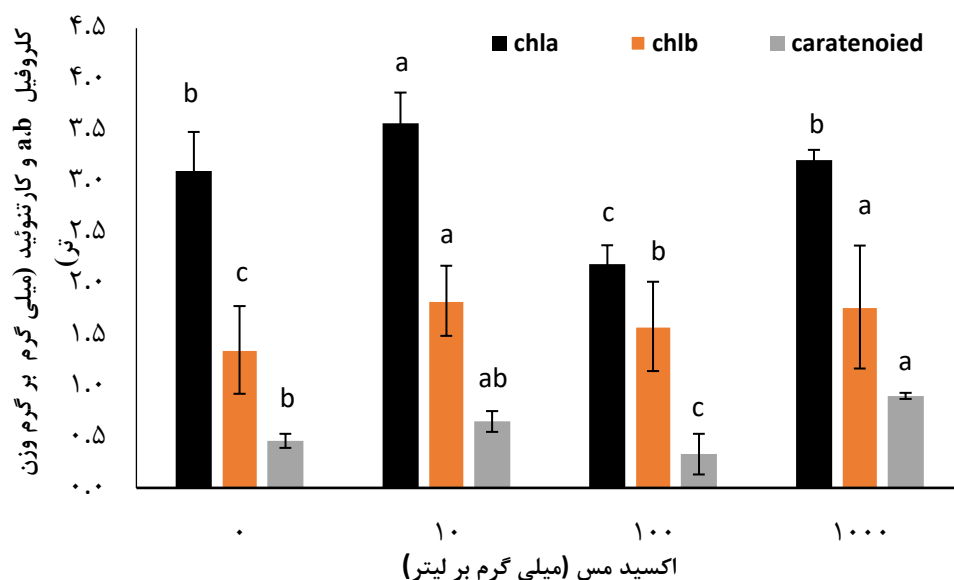
نتایج آنالیز داده‌ها افزایش (۳/۵۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کاهش (۲/۱۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) معنی‌داری را در محتوای کلروفیل *a* در تیمارهای ۱۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو اکسید مس نسبت به گروه شاهد (۳/۱۰ میلی گرم بر گرم وزن تر) نشان داد (شکل ۲). بیشترین و کمترین افزایش کلروفیل *b* به ترتیب در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر (۱/۸۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) و غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (۱/۵۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) نسبت به گروه شاهد (۱/۳۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. آنالیز حاصل از آزمایش حاکی است که محتوای کارتنوئید در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذرات اکسید مس با ۰/۹ میلی گرم بر گرم وزن تربیشترین افزایش و غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کاهش معنی داری (۰/۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) را نشان داد. علت افزایش رنگی‌های فتوسنتزی ممکن است به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول بیوسنتز کلروفیل مانند پروتوکلروفیلید ردوکتاز، عدم تخریب تیلاکوئیدها و ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی باشد (Peng *et al.*, 2016). همچنین کارتنوئیدها به عنوان آنتی اکسیدانت عمل کرده و از گیاه در برابر گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از استرس اکسیدمس محافظت می نمایند. تغییر در سطح کارتنوئید قسمتی از مکانیسم دفاعی گیاهان به شمار می‌رود (Zhang *et al.*, 2024). اثر نانو ذرات اکسیدمس بر افزایش کلروفیل در گیاه رازیانه مرتبط با رهایی یون مس از نانو ذرات در گیاه و نقش این عنصر در تشکیل کلروفیل، فتوسنتز، متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نیتروژن گزارش شده است (آمنه نادری و همکارانش ۱۴۰۱). با این حال قرار گرفتن سویا در معرض ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات اکسیدمس به طور قابل توجهی باعث کاهش مقدار کلروفیل کل گردیده است (Gautam *et al.*, 2016).

میزان قندهای محلول

میزان قندهای محلول در همه گروه‌های تیماری نسبت به گروه شاهد (۰ میلی گرم بر لیتر) افزایش معنی داری داشته است. کمترین افزایش قند محلول نسبت به گروه شاهد (۰/۱۵۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر (۰/۳۰۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) و بیشترین میزان قند محلول در نمونه تیمار شده با غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر (۰/۳۸۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۳). قندهای محلول به عنوان محافظ اسمزی عمل کرده، ساختارهای سلولی را تثبیت و تعادل آب را در شرایط تنش حفظ می‌کنند. همچنین به عنوان مولکول‌های سیگنال برای سازگاری با شرایط نامطلوب عمل کرده و بیان ژن‌های پاسخگو به استرس را افزایش می دهند (Varshney *et al.*, 2023). نتایج کاملاً متضادی از تحقیق بر روی گیاه ماش سبز بدست آمده که حاکی از کاهش میزان قندهای محلول در دامنه تیماری ۱۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذرات مس بوده و به استراتژی این گیاه در حفظ انرژی جهت پاسخ دفاعی در

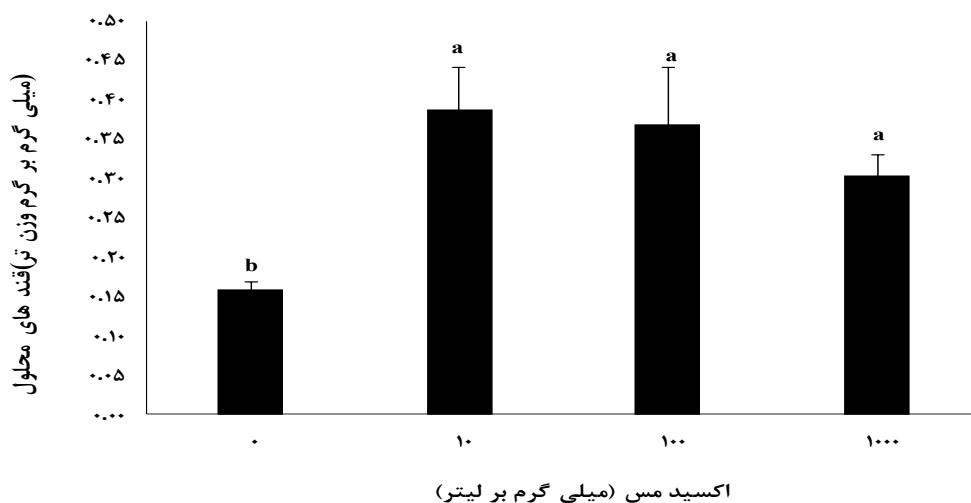
برابر استرس نسبت داده شده است (Singh *et al.*, 2017). این تضاد بیانگر استخدام سیستم‌های دفاعی متنوع توسط-

گیاهان در مواجهه با غلظت مشابه نانو اکسیدمس اعمال شده دارد.



شکل ۳: اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس بر محتوای کلروفیل a و کلروفیل b و کار تنوئید در گیاهچه‌های

هفت روزه کتان

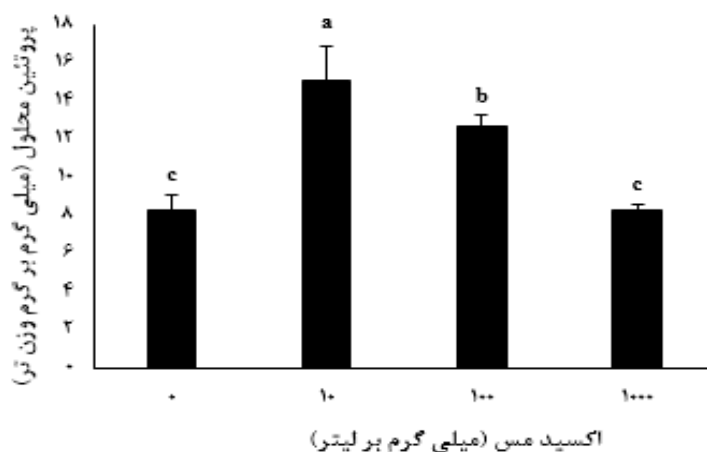


شکل ۴: اثر غلظت‌های مختلف نانوذره اکسیدمس بر میزان قند محلول در گیاهچه‌های هفت روزه کتان

میزان پروتئین محلول

طبق نتایج به دست آمده بیشترین افزایش میزان پروتئین محلول در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر (۱۵/۰۴ میلی گرم

بر گرم وزن تر) و کمترین افزایش در غلظت 1000 میلی گرم بر لیتر ($8/31$ میلی گرم بر گرم وزن تر) نسبت به گروه شاهد ($8/27$ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۵). پروتئین‌ها محصولات نهایی مسیرهای اطلاعاتی سلول هستند که در پاسخ به نیازهای گیاه در شرایط مختلف ساخته شده و در صورت نیاز تخریب می گردند و یا میزان بیان آنها تغییر می یابد. فلزات سنگین می توانند به صورت نانو منجر به القا تغییراتی در پروتئین کل در گیاه شوند (Ehsanipour and Nejati, 2014). یون‌های مس می توانند به گروه‌های تیول پروتئین متصل و منجر به تغییرات ساختاری در پروتئین‌ها شوند. همچنین سمیت از طریق واکنش فنتون، جایی که یون‌های مس پراکسید هیدروژن را به رادیکال‌های هیدروکسیل تبدیل می کنند نیز باعث آسیب به ماکرومولکول‌های مجاور می شود (Feigl, 2023). در مطالعه ای با افزایش نانوذرات اکسیدمس مقدار پروتئین دردانه لوبیا چیتی در ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت که با نتایج ما همخوانی نشان داد (Behboudi et al., 2013).

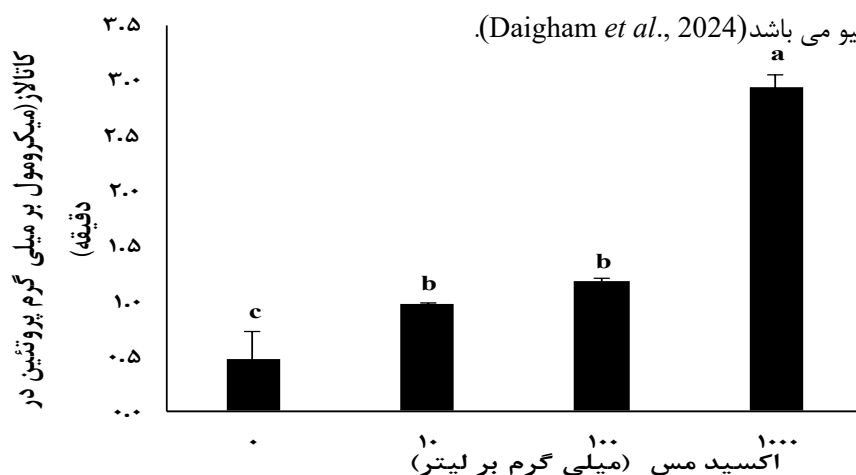


شکل ۵: اثر غلظت های مختلف نانوذره اکسیدمس بر میزان پروتئین محلول در گیاهچه های هفت روزه کتان

فعالیت آنزیم کاتالاز

طبق نتایج بدست آمده فعالیت آنزیم کاتالاز در همه گروه‌های تیماری در مقایسه با شاهد افزایش چشم گیر و معنی داری داشته است. کمترین افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به گروه شاهد ($0/47$ میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) مربوط به غلظت 10 میلی گرم بر لیتر ($0/97$ میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) و بیشترین افزایش مربوط به غلظت 1000 میلی گرم بر لیتر ($2/93$ میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) می باشد (شکل ۶). آنزیم کاتالاز پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل کرده و از انباشت آن جلوگیری می نماید. زیرا انباشت این ترکیب می تواند به اجزای سلولی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA آسیب برساند. این آنزیم به عنوان قسمتی از سامانه آنتی اکسیدانسی گیاه را در مقابل گونه-

های فعال اکسیژن محافظت می‌کند (Leung, 2018). در این مطالعه، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نشان می‌دهد که تنش ناشی از نانوذره اکسیدمس باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده است. همچنین کاربرد نانوذرات اکسیدمس با افزایش فعالیت کاتالاز، تحمل به خشکی را در پرنیرک تقویت نموده است (نصیری و همکاران، ۱۴۰۱). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یک عامل مهم در تقویت ایمنی فیزیولوژیکی گیاه و محافظت از یکپارچگی سلولی در برابر آسیب اکسیداتیو می‌باشد (Daigham et al., 2024).

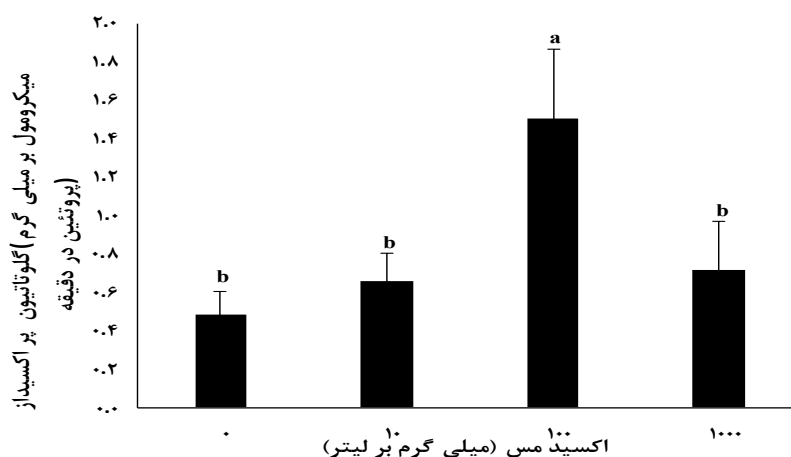


شکل ۶: اثر غلظت‌های مختلف نانوذره اکسیدمس بر فعالیت کاتالاز آنزیم در گیاهچه‌های هفت روزه کتان

فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز

نتایج نشان می‌دهد کمترین میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز مربوط به گروه شاهد (۰/۴۸ میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) و بیشترین آن مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۱/۵ میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) می‌باشد (شکل ۷). گلوکاتایون پراکسیداز آنزیم دیگری در سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه است که به عنوان خط دفاعی ثانویه عمل می‌کند و در رتبه بندی پس از آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز قرار دارد. این آنزیم پراکسید هیدروژن تولید شده توسط این آنزیم‌ها را به آب و اکسیژن تبدیل می‌نماید (Sharma et al., 2023). در این مطالعه، افزایش فعالیت آنزیم تا غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو مواد اکسیدمس با کاهش معنی‌داری در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر همراهی شد که دلیل آن را می‌توان در تحریک مکانیسم دفاعی گیاهچه‌های کتان در سطح پایین استرس جستجو کرد. این تحریک در سطح بالای استرس ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر به دلیل آسیب اکسیداتیو ممانعت شد (Kovacs et al., 2025). نتایج حاصل از آنالیز میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که فعالیت این آنزیم تحت همه غلظت‌های نانو اکسیدمس اعمال شده نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. بیشترین کاهش فعالیت این آنزیم نسبت به گروه شاهد (۲/۶۶ میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر (۱/۸۴ میکرومول بر میلی گرم پروتئین در

دقیقه) و کمترین کاهش مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (۲/۱۸ میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) اندازه گیری شده است (شکل ۸). آنزیم آسکوربات پراکسیداز یک آنزیم حاوی هم است که نقش مهمی در اکسیداسیون دامنه وسیعی از ترکیبات آلی ایفا می کند (Mishra *et al.*, 2023).



شکل ۷: اثر غلظت های مختلف نانوذره اکسید مس بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در گیاهچه های هفت روزه کتان

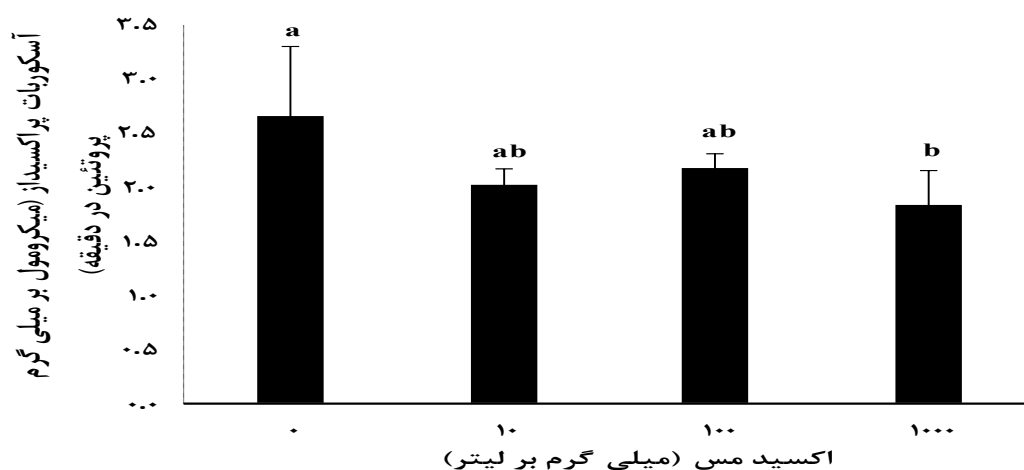
فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

این آنزیم که در سیتوزول و کلروپلاست ها وجود دارد، برای حفظ سطح پایدار پراکسید هیدروژن در سلول های گیاهی ضروری است و به عنوان یک تنظیم کننده کلیدی در این فرایند شناخته می شود (Nawaz *et al.*, 2021). این آنزیم اکسیداسیون پراکسید هیدروژن به آب را با استفاده از آسکوربات به عنوان اهدا کننده الکترون در بخش های مختلف زیرسلولی کاتالیز می کند (Li and Ahmad, 2023). علاوه بر این، آنزیم به طور قابل توجهی در تنظیم نهایی سیگنالینگ و انتقال پیام های سلولی در زمان استرس دخالت دارد (Zaid *et al.*, 2020). کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه کتان را می توان اینگونه توجیه کرد که این آنزیم سهم مهمی در مکانیسم های دفاعی مقابله با تنش نانو اکسید مس نداشته و آنزیم ها و عوامل آنتی اکسیدانی دیگری در این شرایط نقش ایفا می کنند. طبق تحقیق بعمل آمده، نانوذرات اکسید مس در گوجه فرنگی در بعضی غلظت ها باعث کاهش و در بعضی باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شده است (López-Vargas *et al.*, 2018).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

طبق نتایج به دست آمده بیشترین کاهش آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به گروه شاهد (۰/۰۷ میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (۰/۰۲ میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) و

کمترین کاهش مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (۰/۰۴ میکرومول برمیلی گرم پروتئین در دقیقه) می‌باشد (شکل ۹). گزارشاتی مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم SOD با افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌های محیطی ثبت شده است که با نتایج بدست آمده از این تحقیق مغایرت دارد (Zhang *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2016). آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز یک متالوآنزیم است که به عنوان خط اول دفاع در برابر گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان شناخته می‌شود. در شرایط استرس غیرزیستی به دلیل دسموتاسیون اکسیژن که توسط آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز کاتالیز می‌گردد، سنتز پراکسید هیدروژن افزایش می‌یابد که نهایتاً منجر به تولید ROS می‌شود. با این حال، واکنش گیاهان نسبت به فعالیت کلی آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز متفاوت گزارش شده، به طوری که برخی از گونه‌ها افزایش فعالیت را نشان می‌دهند در حالی که دیگران کاهش یا عدم تغییر فعالیت را تجربه می‌کنند. این تنوع نشان‌دهنده عملکرد بین گونه‌ای یا درون گونه‌ای آنزیم است (Mishra *et al.*, 2023).

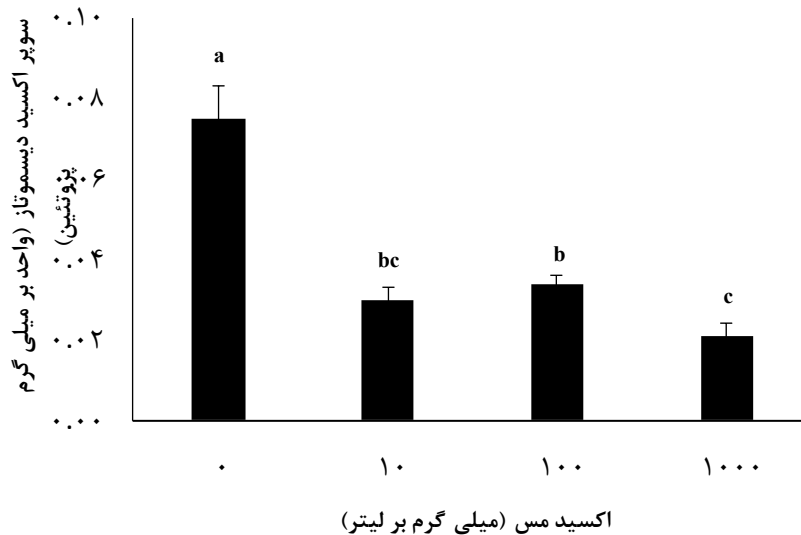


شکل ۸: اثر غلظت های مختلف نانوذره اکسیدمس بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهچه های هفت روزه کتان در این تحقیق، کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز را می توان به عدم مشارکت این آنزیم در رویارویی با اثرات سمیت نانو اکسیدمس به عنوان مکانیسم دفاعی در گیاه کتان ارتباط داد. ظاهراً این گیاه از افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و مسیره های آنتی اکسیدانسی دیگری نظیر افزایش در محتوای قند محلول برای سم زدایی گونه های فعال اکسیژن در این شرایط استفاده می کند.

میزان پراکسیداسیون چربی ها (MDA)

نتایج حاصل از آنالیز داده ها نشان می دهد میزان پراکسیداسیون چربی ها با افزایش غلظت نانو اکسید مس اعمال شده نسبت به گروه شاهد روند افزایشی داشته است. کمترین و بیشترین میزان پراکسیداسیون چربی ها نسبت به گروه شاهد (۹/۸۹ میکرو مول بر گرم وزن تر) به ترتیب مربوط به غلظت های ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر (۱۷/۶۹ و ۲۶/۱۵ میکرو

مول بر گرم وزن تر) می باشد (شکل ۱۰). افزایش غلظت مالون دی آلدئید نشانگر پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی بوده که به عنوان شاخصی برای میزان خسارت‌های ناشی از تنش های اکسیداتیو به کار می‌رود (Hnilickova *et al.*, 2021).



شکل ۹: اثر غلظت های مختلف نانوذره اکسید مس بر فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز در گیاهچه های هفت روزه

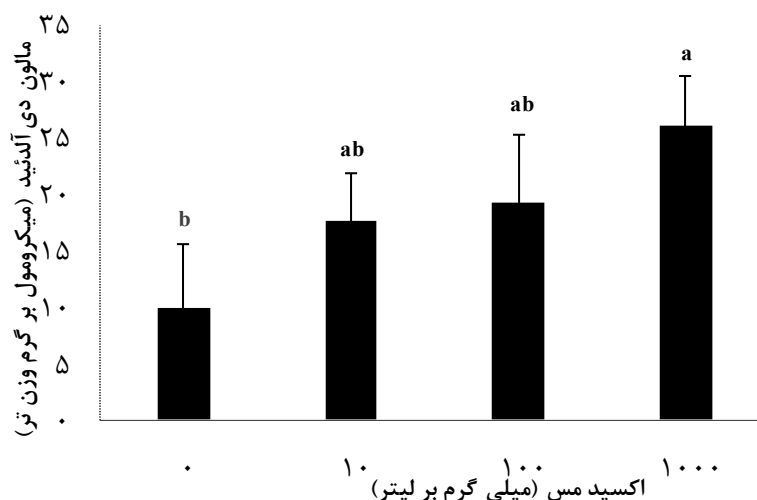
کتان

مالون دی آلدئید در نتیجه ی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در فسفولیپیدها به ویژه لینولئیک اسید تولید می شود که باعث آسیب غشای سلولی توسط رادیکال های آزاد می گردد (Halliwell and Gutteridge, 2015). غلظت های بالای نانوذرات اکسید مس همچنین باعث افزایش تجمع مالون دی آلدئید در گیاهان خیار و رازیانه شده که بیانگر القای تنش اکسیداتیو توسط این نانو ذرات می باشد (Mosa *et al.*, 2018 ; آمنه نادری و همکاران، ۱۴۰۱). بر خلاف نتایج حاصله از این تحقیق، کاربرد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در گیاه کتان محتوای پر اکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید را کاهش داده است (Baiazidi, 2016).

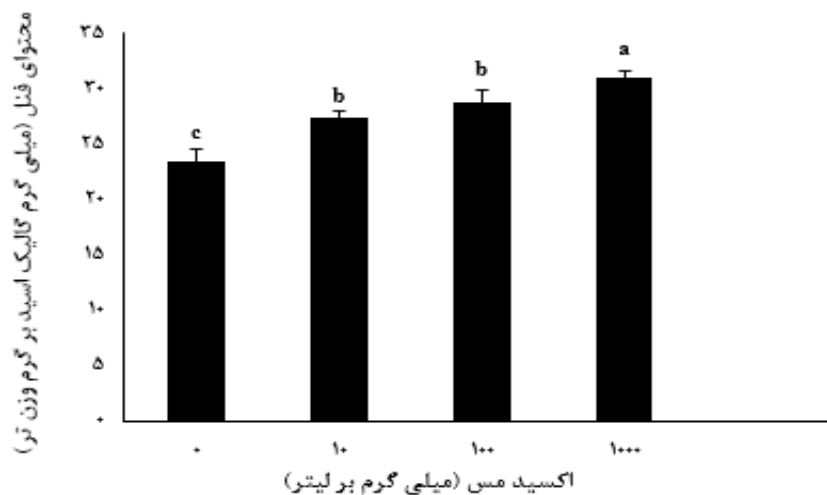
محتوای فنل کل

نتایج حاصل از آنالیز داده ها حاکی از روند افزایشی میزان ترکیبات فنلی در همراهی با افزایش غلظت نانو اکسید مس نسبت به گروه شاهد داشته است. بیشترین میزان فنل در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر (۳۱/۰۶ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر) نسبت به گروه شاهد (۲۳/۳۹ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر) و کمترین آن در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر (۲۷/۴ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۱۱). پلی فنول ها متابولیت های ثانویه ای هستند که از مسیرهایی مانند شیکیمات/ فنیل پروپانویید مشتق می شوند. افزایش این ترکیبات را درواکنش به تنش نانو ذرات

اکسیدمس می‌توان به قابلیت آنتی اکسیدانی و سمیت زدایی رادیکال‌های اکسیژن آن‌ها مرتبط دانست که باعث محافظت غشاهای سلولی از پراکسیداسیون می‌شود (Sheteiwy *et al.*, 2016; Magray *et al.*, 2023).



شکل ۱۰: اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس بر میزان مالون دی‌الدهید در گیاهچه‌های هفت روزه کتان

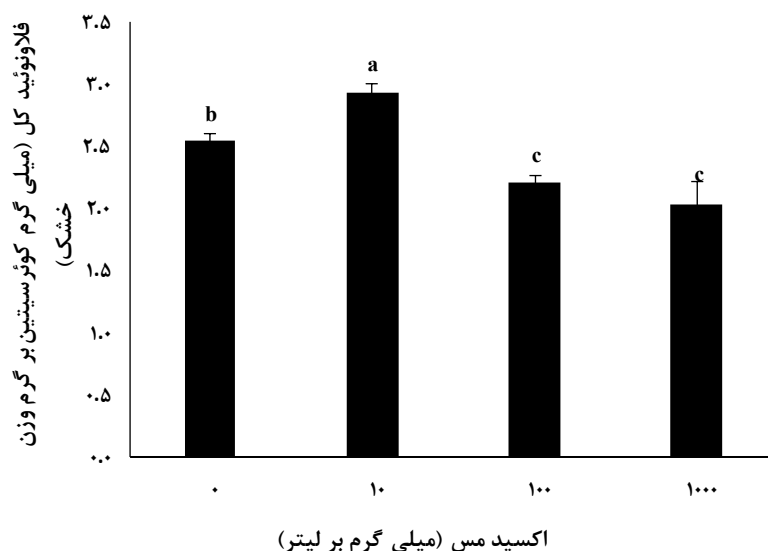


شکل ۱۱: اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدمس بر محتوای فنل کل در گیاهچه‌های هفت روزه کتان

محتوای فلاونوئید کل

نتایج نشان می‌دهد که نانو ذرات مس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش معنی‌دار (۲/۹۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) محتوای فلاونوئیدی کل در گیاه کتان نسبت به گروه شاهد (۲/۵۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) شده که با کاهش در غلظت‌های ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۲/۲۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک)

و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر (۲/۰۳ میلی گرم کوئرتستین بر گرم وزن خشک) همراهی شده است (شکل ۱۲). فلاونوئیدها در ساختار شیمیایی خود دارای گروه‌های هیدروکسیل می‌باشند که از این رو دهنده‌ی قوی هیدروژن محسوب و به عنوان عوامل آنتی اکسیدانسی شناخته می‌شوند. این ترکیبات با توانایی احیا کنندگی بالا می‌توانند با گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن واکنش دهند و از خسارت استرس اکسیداتیو جلوگیری کنند (Karamian *et al.*, 2016). در این مطالعه، دلیل افزایش میزان فلاونوئیدها در غلظت پایین اعمال تنش نانو ذرات مس را می‌توان به القای مسیر فنیل پروپانویید ارتباط داد که مسئول سنتز ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها و تانن‌ها از طریق فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیازی باشد (Yamini *et al.*, 2023). همچنین عدم ارتباط مستقیم بین سنتز ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نشان‌دهنده‌ی نقش متفاوت مسیر فنیل پروپانویید در سنتز متابولیت‌های ثانویه مختلف است (Ja'nczak-Pienia'zek *et al.*, 2023).



شکل ۱۲: اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس بر محتوای فلاونوئید کل در گیاهچه‌های هفت روزه کتان

جدول ۱: تجزیه واریانس تاثیرات نانوذرات اکسید مس بر روی پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی اندازه گیری شده در گیاهچه‌های هفت روزه کتان

میانگین مربعات							
کاتالاز	پروتئین محلول	قندهای محلول	کارتنویید	کلروفیل	طول ریشه	طول اندام هوایی	درجه آزادی
منبع تغییرات							
۷۶۸**	۲۶.۳۷۳**	۱۲.۱۱*	۱۳۳.۵۴**	۳۲.۴۸*	۱۶.۱۷**	۳۶.۴۲*	۳
۰.۲۰	۳.۷۶۰	۰.۴	۰.۰۱	۰.۵۴	۰.۱۳	۰.۴۵	۱۴
۹.۱۵	۱.۵۳	۷.۲۳	۱۳.۴۸	۶.۵۱	۸.۲۱	۳.۵۸	-
تغییرات							

جدول ۲: تجزیه واریانس تاثیرات نانوذرات اکسید مس بر روی پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی اندازه گیری شده در گیاهچه های هفت روزه کتان

منبع تغییرات	میانگین مربعات					
	درجه آزادی	گلوتاتینون پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	مالون دی آلدید	فنل کل
نانوذرات مس	۳	۰.۰۱*	۵۰.۸۶*	۰.۴۲**	۰.۲۷*	۴۸۵۸.۵۶*
اشتباه آزمایشی	۱۴	۰.۰۰۰۴	۱.۲۶	۰.۰۹	۰.۰۰۵	۱۲۸۵.۶۰
ضرب تغییرات		۱.۱۷	۲.۳۴	۲۲.۵۹	۰.۳۶	۱۰.۹

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که تحت تاثیر نانوذرات اکسیدمس تغییرات قابل ملاحظه ای را در پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی گیاه کتان القا کرده که می توان به کاهش در طول ریشه، کاهش در فعالیت آنزیمهای گلوتاتینون پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز اشاره کرد. کاهش فعالیت این آنزیمهای آنتی اکسیدانسی سبب افزایش پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و در نتیجه خسارت اکسیداتیو به گیاه گردیده است. در واقع کاهش رشد ریشه چه ها ناشی از اثرات مخرب نانوذرات اکسیدمس در گیاه کتان می باشد. نتایج مقایسه ی میانگین داده ها نیز نشان دادند با افزایش میزان مصرف نانو اکسید مس میزان قند محلول، مقدار پروتئین کل، محتوای فنل کل و فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد روند افزایشی داشته که نشانگر استراتژی گیاه کتان در استفاده از مسیرهای منتهی به افزایش این فاکتورها به منظور پاکسازی گونه های فعال اکسیژن و ممانعت از خسارت اکسیداتیو به سلول های گیاهی است.

سپاسگزاری

نگارنده از دانشگاه ارومیه در حمایت از این طرح تحقیقاتی داخلی تشکر و قدردانی می نماید.

منابع

- دیرکوندی، س.، عیسوند، ح.، عزیزی، خ.، و اکبرپور، ا. ۱۴۰۱. بررسی اثرات کاربرد نانو ذرات سلیسیوم و مایکروریزا بر عملکرد کمی و کیفی گندم تحت تنش خشکی انتهای فصل رشد. نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، جلد ۱۴، شماره ۵۴، ص ۸۳-۱۰۳.
- نادری، آ. و عموآقایی، ر. ۱۴۰۱. اثر نانوذرات اکسید مس و فواصل آبیاری بر پاسخ های آنتی اکسیدانی، اجزای عملکرد دانه و محتوای اسانس گیاه رازیانه. فیزیولوژی گیاهی گروه زیست شناسی دانشگاه شهرکرد. مقاله پژوهشی فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۲، شماره ۵۶.

- نصیری، م. صفری، ه. و پورهادیان، ح. ۱۴۰۱. بررسی اثر نانوذره مس بر خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و عملکرد گیاه دارویی پنیرک تحت شرایط تنش خشکی. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، (۸۴) ۱۱، ص ۳۵-۴۷.
- نیک اندیش، و.، قربانی، ح.، مجیدیان، پ. و گرامی، م. ۱۴۰۳. نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، جلد ۱۶، شماره ۶۱، ص ۸۵-۱۰۱.
- یوسف زایی، ف.، پوراکبر، ل.، فرهادی، خ. و مولایی، ر. ۱۳۹۴. تاثیر نانوذرات نقره بر برخی شاخصهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان (*Ocimum bacilicum* L). مجله فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهی ایران. جلد ۱ شماره ۲. ص ۶۳-۷۳.

Abdoli Nejad, R. and Shekafandeh, A. 2014. Salt stress-induced changes in leaf antioxidant activity, proline and protein content in 'Shah Anjir' and 'Anjir Sabz' fig seedlings. *Journal of Horticultural Science and Technology*, 1: 121-129.

Arya, S., Rookes, J.E., Cahill, D.M. and Lenka, S.K. 2022. Reduced genotoxicity of gold nanoparticles with protein Corona in *Allium Cepa*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 849464.

Baiazidi Aghdam, M. T. 2016. The effect of titanium dioxide nanoparticles under conditions of drought stress on morphological and physiological characteristics of *Linum usitatissimum* L. *University of Shahid Madani, Azarbaijan, Iran*. 3: 104-117.

Batog, J., Wawro, A., Gieparda, W., Bujnowicz, K., Foksowicz-Flaczyk, J., Rojewski, S. and et al. 2023. Effective use of flax biomass in biorefining processes. *Applied Sciences*, 13 (13), 7359.

Behboudi, F., Allahdadi, E. and Mohamadi Goltape, E. 2013. The effect of vermicompost containing copper oxide (CuO) and Zinc oxide (ZnO) nano-particles on some characteristics of the wax bean. *Crop Production*, 6 (3): 33-49.

Behnamnia, M., Kalantari, K.M. and Rezanejad, F. 2009. Exogenous application of brassinosteroid alleviates drought-induced oxidative stress in (*Lycopersicon esculentum* L). *Bulgarian Academy of Sciences*, 35: 22-34.

Bernacchia, R., Preti, R. and Vinci, G. 2014. Chemical composition and health benefits of flaxseed. *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2 (8): 22-26.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72 (1-2): 248-254.

Costa, M.V.J. D.A. and Sharma P.K. 2016. Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*. *Photosynthetica*, 54 (1): 110-119.

- Daigham, G.E., Mahfouz, A.Y., Abdelaziz, A.M., Nofel,

- M.M. and Attia, M.S. 2024.** Protective role of plant growth-promoting fungi *Aspergillus chevalieri* OP593083 and *Aspergillus egyptiacus* OP593080 as biocontrol approach against *Alternaria* leaf spot disease of *Vicia faba* plant. Biomass Conversion and Biorefinery, 14:23073-23089.
- Dmitriev, A. A., Pushkova, E. N., Novakovskiy, R. O., Beniaminov, A. D., Rozhmina, T. A., Zhuchenko, A. A. and et al. 2021.** Genome sequencing of fiber flax cultivar Atlant using Oxford Nanopore and Illumina platforms. Frontiers in Genetics, 11, 590282.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Roberts, P.A. and Smit, F. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Journal of Analytical Chemistry, 28: 350-356.
- Ehsanipour, A.A. and Nejati, Z. 2014.** The effects of silver nano particle on chlorophyll, gibberellic acid and electrophoresis pattern of proteins of potato (*Solanum tubersum* L.) under in vitro culture. Applied Biology, 25(2):13-26.
- Farag, M.A., Porzel, A. and Wessjohann, L.A. 2015.** Unequivocal glycyrrhizin isomer determination and comparative in vitro bioactivities of root extracts in four Glycyrrhiza species. Journal of Advance Research, 6 (1): 99-104.
- Feigl, G. (2023).** The impact of copper oxide nanoparticles on plant growth: a comprehensive review. Journal of Plant Interactions, 18(1), 2243098.
- Gautam, S., Misra, P., Shukla, P. K. and Ramteke, P. W. (2016).** Effect of copper oxide nanoparticle on the germination, growth and chlorophyll in soybean (*Glycine max* L.). Vegetos, 29(Special), 157–160.
- Halliwel, B. and Gutteridge, J.M. 2015.** Free radicals in biology and medicine. USA: Oxford University Press.
- Hnilickova, H., Kraus, K., Vachova, P. and Hnilicka, F. 2021.** Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. Plants, 10(5), 845.
- Jankhunthod, S., Kaewket, K., Termsombut, P., Khamdang, C. and Ngamchuea, K. 2023.** Electrodeposited copper nanoparticles for creatinine detection via the in-situ formation of copper-creatinine complexes. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 415 (16), 3231–3242.
- Karamian, R. and Asadbegy, M. 2016.** Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of three Onobrychis species from Iran. Pharmaceutical Sciences, 22 (2): 112-119.
- Kovács, K., Szierer, Á., Mészáros, E. et al. 2025.** Species-specific modulation of nitro-oxidative stress and root growth in monocots by silica nanoparticle pretreatment under copper oxide nanoparticle stress. BMC Plant Biology, 25, 188.
- Lee, W.M., An, Y. J., Yoon, H. and Kweon, H.S. 2008.** Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. Environmental Toxicology and Chemistry, 27(9):1915-21.

Leung, D.W.M. (2018). Studies of Catalase in Plants Under Abiotic Stress. In: Gupta, D., Palma, J., Corpas, F. (eds) Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants. Springer, Cham.

Li, Z. and Ahammed, G.J. 2023. Plant stress response and adaptation via anthocyanins: A review. Plant Stress, 10, 100230.

Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11: 591-592.

López-Vargas, E.R., Ortega-Ortíz, H., Cadenas-Pliego, G., De Alba Romenus, K., Cabrera de la Fuente, M., Benavides-Mendoza, A. and Juárez-Maldonado, A. 2018. Foliar application of copper nanoparticles increases the fruit quality and the content of bioactive compounds in tomatoes. Applied Sciences, 8:1020.

Ma, C., Liu, H., Guo, H., Musante, C., Coskun, S.H., Nelson, B.C., White, J.C., Xing, B. and Dhankher, O.P. 2016. Defense mechanisms and nutrient displacement in Arabidopsis thaliana upon exposure to CeO₂ and In₂O₃ nanoparticles. Environmental Science: Nano, 3 (6):1369–1379.

Magray, J.A., Sharma, D.P., Deva, M.A. and Thoker, S.A. 2023. Phenolics: Accumulation and role in plants grown under heavy metal stress. In: Lone, R., Khan, S., Mohammed Al-Sadi, A. (eds) Plant Phenolic in Abiotic Stress Management. Springer, Singapore.

Marta Jańczak-Pieni ązek, Jan Cicho ński, Patrycja Michalik and Grzegorz Chrzanowski. 2023. Effect of heavy metal stress on phenolic compounds accumulation in winter wheat plants. Molecules, 28, 241.

Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A. and Shen, G. 2023. Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. Frontiers in Plant Science. 14, 2023.

More, A. P. 2022. Flax fiber-based polymer composites: a review. Advanced Composites and Hybrid Materials, 5 (3), 1–20.

Mosa, K. A., El-Naggar, M., Ramamoorthy, K., Alawadhi, H., Elnaggar, A., Wartanian, S., Ibrahim, E. and Hani, H. (2018). Copper nanoparticles induced genotoxicity, oxidative dismutase (SOD) gene expression in cucumber (*Cucumis sativus*) Plants. Frontiers in Plants Science, 9, 827.

Nawaz, M., Anjum, S.A., Ashraf, U., Azeem, F., Wang, Z. 2021. Antioxidant defense system and reactive oxygen species (ROS) interplay in plants under drought condition in Handbook of climate change management (eds. Luetz, J.M., Ayal, D) 93-117 (Springer Nature, 2021).

Pelegrino, M.T., Kohatsu, M.Y., Seabra, A.B., Monteiro, L.R., Gomes, D.G., Oliveira, H.C., Rolim, W.R., de Jesus, T.A., Batista, B.L. and Lange, C.N. 2020. Effects of copper oxide nanoparticles on growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings and possible implications of nitric oxide in their antioxidative defense. Environmental Monitoring and Assessment, 192(4):232.

Peng, G., Ellis, J E., Xu, G., Xu, X. and Star, A. 2016. In situ grown TiO₂ nanospindles facilitate the formation of holey reduced graphene oxide by photodegradation. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(11):7403-7410.

Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.C., Bailleul, F. and Trotin, F. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72 (1–2): 35-42.

Rajput, V. D., Minkina, T., Suskova, S., Mandzhieva, S., Tsitsuashvili, V., Chapligin, V. and Fedorenko, A. 2018. Effects of copper nanoparticles (CuO NPs) on crop plants: A Mini Review. *BioNanoScience*, 8, 36–42.

Ramkumar, T.R., Arya, S., Kumari, D.D. and Lenka, S.K. 2022. *Brassica Juncea* Genome Sequencing: Structural and Functional Insights. In *The Brassica Juncea Genome*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany; pp. 221–240.

Salam, A., Khan, A.R., Liu, L., Yang, S., Azhar, W., Ulhassan, Z., Zeeshan, M., Wu, J., Fan, X. and Gan, Y. 2022. Seed Priming with Zinc Oxide nanoparticles downplayed ultrastructural damage and improved photosynthetic apparatus in maize under cobalt stress. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 127021.

Saleem, M.H., Ali, S., Hussain, S., Kamran, M., Chattha, M.S., Ahmad, S., Aqeel, M., Rizwan, M., Aljarba, N.H., Alkahtani, S. et al. 2020. Flax (*Linum usitatissimum* L.): A potential candidate for phytoremediation? Biological and economical points of view. *Plants*, 9, 496.

Sharma, M. et al. ۲۰۲۳. Paclobutrazol improves the chlorophyll content and antioxidant activities of red rice in response to alkaline stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 23(4), 6429-6444.

- Shekhara, N.R., Anurag, A.P., Prakruthi, M. and Mahesh, M.S. 2020. Flax Seeds (*Linum usitatissimum*): Nutritional composition and health benefits. *IP Journal of Nutrition, Metabolism and Health Science*, 3(2), 35–40.

Sheteiwy, M., Fu, Y., Hu, Q., Nawaz, A., Guan, Y., Li, Z., Huang, Y. and Hu, J. 2016. Seed priming with polyethylene glycol induces antioxidative defense and metabolic regulation of rice under nano-ZnO stress. *Environmental Science and Pollution Research International*, 19: 19989–20002.

Singh, A., Hussain, I., Singh, H. and Yadav, V. 2017. Synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles and its impact on germination of *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek. *Tropical Plant Research*. 4(2): 246–253.

Sirotkin AV. Influence of Flaxseed (*Linum usitatissimum*) on Female Reproduction. *Planta Med.* 2023 May;89(6):608-615.

Thakur P, Thakur A. 2022. Synthesis and Applications of Nanoparticles; 459: 1-17. Springer.

Turan, N.B., Erkan, H.S., Engin, G.O. and Bilgili, M.S. 2019. Nanoparticles in the aquatic environment: Usage, properties, transformation, and toxicity- A Review. *Process Safety and Environmental Protection*, 130: 238-249.

Varshney, V., Singh, J. and Salvi, P. 2023. Sugar signaling and their interplay in mitigating abiotic stresses in plant: A molecular perspective. In *Smart Plant Breeding for Field Crops in Post-Genomics Era*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, pp. 369–393.

Wang, N., Tian, X., Song, P., Guo, W., Zhang, K., Li, J. and Ma, Z. 2024, The influence of cuprous oxide nanoparticles on photosynthetic efficiency, antioxidant responses and grain quality throughout the soybean life cycle. *Agronomy*, 14, 1821.

Yamini, T., Gautam, C., Kumar, R. and Kaur, M. 2023. Phenolic biosynthesis and metabolic pathways to alleviate stresses in plants *in* Plant phenolics in abiotic stress management 63-87 (Springer Nature, 2023).

Zaid, A., Mohammad, F. and Fariduddin, Q. 2020. Plant growth regulators improve growth, photosynthesis, mineral nutrient and antioxidant system under cadmium stress in menthol mint (*Mentha arvensis* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 26(1), 25–39.

Zhang, P., Ma, Y., Liu, S., Wang, G., Zhang, J., He, X., Zhang, J., Rui, Y. and Zhang, Z. 2017. Phytotoxicity, uptake and transformation of nano-CeO₂ in sand cultured romaine lettuce. *Environmental Pollution*, 220 (PtB):1400–1408.

Zhang, Y., Li, H., Qiu, Y. and Liu, Y. 2024. Bioavailability and toxicity of nano copper oxide to pakchoi (*Brassica Campestris* L.) as compared with bulk copper oxide and ionic copper. *Bulletin of Environmental and Contamination Toxicology*. 112(4):52.

Zhao, X., Yi, L., Zuo, Y., Gao, F., Cheng, Y., Zhang, H., Zhou, Y., Jia, X., Su, S., Zhang, D., Zhang, X., Ren, Y., Mu, Y., Jin, X., Li, Q., Bateer, S. and Lu, Z. 2023. High-Quality Genome Assembly and Genome-Wide Association Study of Male Sterility Provide Resources for Flax Improvement. *Plants (Basel)*. 12(15):2773.

Effects of CuO nanoparticles on growth and biochemical parameters of flaxseed(*Linum Usitatissimum* L.)

L. Nojavan¹ and F. Rahmani^{2*}

1 & 2) Biology Department, Urmia University, Urmia Iran.

* Corresponding author: f.rahmani@urmia.ac.ir

This article is an excerpt from a master's thesis.

Received date: 2024.09.08

Accepted date: 2024.12.10

Abstract

Based on the increasing importance and application of nanoparticles and observing their toxic effects, it is essential to investigate the effects of these substances on physiological traits. This study aimed to examine the effects of different concentrations of CuO nanoparticles (0, 10, 100, and 1000 mgL⁻¹) on the growth and biochemical parameters of flaxseed seedlings (*Linum usitatissimum* L.). This study was carried out in the Biology Department of Urmia University based on randomized design with three replications in the glass bottles. Exposure of flaxseed seedlings to CuO nanoparticles resulted in a significant decrease in rootlets at 1000 mgL⁻¹ concentration, while hypocotyl measurement indicated the positive effect of increased concentrations of CuO nanoparticles on this parameter. Comparison of the mean data showed increment trend in the amounts of phenol, soluble sugar and lipid peroxidation with rising concentration of CuO, compared to control state. Exposure to CuO nanoparticles enhanced the activity of catalase enzyme, whereas superoxide dismutase and ascorbate peroxidase enzymes exhibited downregulation. The soluble protein and total flavonoid contents displayed significant decrements at 1000 mgL⁻¹ of CuO nanoparticles. Evidence from biochemical experiments indicates a strategy of flaxseed seedlings using pathways leading to the increase of these factors in order to prevent plant cells from oxidative stress.

Key words: Antioxidant enzymes, Flavonoid content, Lipid peroxidation and Phenolic content, Soluble sugar