

## ارزیابی فعالیت ضدقارچی فرم‌های نانو و توده‌ای مس‌اکسید در رقم روشن گندم

وجیهه گنجعلی<sup>۱</sup>، منیره چنیانی<sup>۱</sup>، پریسا طاهری<sup>۲</sup> و مریم مظاهری تیرانی<sup>۳</sup><sup>۱</sup>گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۲</sup>گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۳</sup>گروه

زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

مستول مکاتبات: منیره چنیانی، cheniany@um.ac.ir

چکیده. گندم (*Triticum aestivum* L.) یکی از مهم‌ترین غلات زیرکشت در جهان و ایران، هر ساله توسط بیماری‌های زیادی از جمله بیماری‌های قارچی فوزاریوم تهدید می‌شود. با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد نانوذرات، نانوذره مس‌اکسید پتانسیل بالایی در خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی از خود نشان می‌دهد. هدف از تحقیق حاضر بررسی مقایسه‌ای اثر ضدقارچی نانوذره مس‌اکسید و فرم توده آن بر سرکوب قارچ *Fusarium calmorum* گندم است. به این منظور آزمایش‌های گلخانه‌ای با تیمارهای ۴ سطح (۱۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نانوذره و فرم توده مس‌اکسید بر گندم رقم روشن آلوده به قارچ فوزاریوم صورت گرفت. نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که بهترین مهار بیماری‌زایی ریشه در غلظت بالای نانوذرات نسبت به فرم توده آن صورت گرفت. غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات مس‌اکسید به ترتیب، باعث بیشترین طول ساقه و ریشه و بیشترین وزن خشک بخش هوایی و ریشه شدند. تیمار با غلظت‌های میانه نانوذرات (۱۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر)، محتوای کلروفیل *a*، کلروفیل کل، کاروتنوئید، ضریب پایداری کلروفیل، ضریب پایداری غشاء و محتوای نسبی آب برگ را افزایش داد. در حالی که با افزایش غلظت هردو فرم نانوذره و فرم توده، محتوای کلروفیل *b*، مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن و پرولین نمونه‌ها افزایش یافت. نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت‌های کم و میانه فرم نانو اکسید مس بر مهار قارچ مذکور در گندم نسبت به فرم توده‌ای آن موفق‌تر بوده است.

واژه‌های کلیدی. گندم نان، سرکوب بیماری، مکانیسم دفاعی، نانوتکنولوژی، *Fusarium calmorum*

## Evaluation of antifungal activity of nano and bulk forms of copper oxide in wheat (Roshan cultivar)

Vajihah Ganjeali<sup>1</sup>, Monireh Cheniany<sup>1</sup>, Parisa Taheri<sup>2</sup> & Maryam Mazaheri-Tirani<sup>3</sup><sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran; <sup>2</sup>Department of Plant protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran; <sup>3</sup>Department of Biology, Faculty of Science, University of Jiroft, Jiroft, Iran

Correspondent author: Monireh Cheniany, cheniany@um.ac.ir

**Abstract.** Wheat (*Triticum aestivum* L.), as one of the most important cultivated crops in the world and Iran, is constantly threatened by many diseases, including *Fusarium* contamination. Due to the unique characteristics of nanoparticles, copper oxide nanoparticles show high antibacterial and antifungal properties. The purpose of this research was to comparatively investigate the antifungal effects of copper oxide nanoparticles and its bulk form on the suppression of *Fusarium calmorum* in wheat. For this purpose, a pot experiment was done with four levels (10, 250, 500, and 1000 mg L<sup>-1</sup>) of nanoparticles and bulk form of copper oxide treatments in wheat (Roshan cultivar). The results showed that the maximum inhibition of root pathogenicity was observed in a high concentration of nanoparticles as compared to bulk form. The 250 and 500 mg L<sup>-1</sup> concentrations of copper oxide nanoparticles caused the highest stem and root length and the highest dry weight of the aerial part and root, respectively. Treatment with 10 and 250 mg L<sup>-1</sup> nanoparticles also increased the content of chlorophyll *a*, total chlorophyll, carotenoid, chlorophyll stability index, membrane stability coefficient, and relative leaf water content. While the content of chlorophyll *b*, malondialdehyde, hydrogen peroxide, and proline increased with the increasing concentration of both nanoparticle and bulk forms. The results of this research showed that the low and medium concentrations of nanoparticles were more successful in inhibiting the aforementioned fungus than the bulk form.

**Key words.** Defense mechanism, Disease suppression, *Fusarium calmorum*, Nanotechnology, Wheat

## مقدمه

امروزه رشد جمعیت جهان، خشک‌سالی، کمبود آب، محدودیت زمین‌های کشاورزی، تغییر اقلیم، بیماری‌ها و آفات تهدیدهای اصلی امنیت غذایی پایدار هستند. از این بین سهم بیماری‌ها و آفات، در کاهش عملکرد محصولات زراعی بین ۲۰ تا ۴۰ درصد گزارش شده است (Borgatta et al., 2018). گندم (*Triticum aestivum* L.) یکی از گسترده‌ترین و مهم‌ترین غله کشت شده و ماده غذایی اصلی برای مصرف انسان در سراسر جهان است که به‌عنوان منبع اصلی کربوهیدرات‌ها و منبع قابل‌توجهی از پروتئین‌ها، یون‌ها و ویتامین‌ها در نظر گرفته می‌شود (Kumar et al., 2011). همچنین گندم (*T. aestivum*) به عنوان یکی از محصولات کلیدی، نقش مهمی در زنجیره غذایی ساکنان مناطق شهری و روستایی ایران دارد (Ghahremaninejad et al., 2021). علی‌رغم افزایش عمده عملکرد این محصول در سال‌های اخیر برخی از مشکلات از جمله تنش‌های زیستی و در این میان بیماری‌ها و عوامل درگیرکننده ریشه‌ی گندم پتانسیل عملکرد این محصول را کاهش داده است (Parry et al., 1995).

فوزاریوم (*Fusarium* spp.) یکی از مهم‌ترین قارچ‌های بیماری‌زا است که موجب پوسیدگی طوقه و ریشه گندم می‌شود. با توجه به تغییرات آب‌وهوایی ناشی از گرم شدن کره زمین و رطوبت بالا، شرایط مطلوب برای گسترش این بیماری در سراسر جهان فراهم شده است (Desai et al., 2020). شروع عفونت گونه‌های فوزاریوم در گندم با کلونیزه کردن میانگه‌های پایینی و ایجاد نکروز در قسمت ریشه و در نهایت پوسیدگی طوقه هستند (Winter et al., 2019). اثر منفی گونه‌های بیماری‌زای *Fusarium* spp. در کشاورزی به دلیل متابولیت‌های ثانوی (مایکوتوکسین‌ها) از جمله دنوکسی نیوالنول (DON)، نیوالنول (NIV)، سم (T-2) و زئارالنون (ZEN) است (Ksieniewicz- Woźniak et al., 2021). از اثرات مایکوتوکسین‌ها بر سلول‌های یوکاریوتی می‌توان به مهار سنتز پروتئین، RNA و DNA، مهار عملکرد میتوکندری، تاثیر بر تقسیم سلولی و عمل غشاء و همچنین القای آپوپتوز اشاره داشت. بسیاری از مایکوتوکسین‌ها از جمله فومونیزین‌ها و تریکوتسن‌ها در برابر حرارت مقاومت دارند از این رو تنها راه جلوگیری از تاثیر آن‌ها، جلوگیری یا کاهش تولید و گسترش آن‌ها در مزارع کشاورزی است (Pellan et al., 2020). *F. calmoru* یکی از ۲۰ گونه‌ی مهم فوزاریوم است که باعث پوسیدگی طوقه و ریشه و در نهایت مرگ گیاهچه می‌شود. این گونه یک قارچ همی‌بیوتروف است که به گیاهان گندم (*T. aestivum*)، جو (*Hordeum sativum* L.) و ذرت (*Zea mays* L.) حمله می‌کند. ماکروکنیدی کوتاه با

دیواره ضخیم ایجاد می‌کند که دارای سطح شکمی و پستی خمیده است (Wagacha et al., 2007). این قارچ می‌تواند به صورت کلامیدوسپور، کنیدیوم و میسیلیوم در خاک، همچنین در باقی‌مانده‌های گیاه میزبان و در بذر گندم (*T. aestivum*) و جو (*H. sativum*) وجود داشته باشد. آلودگی‌های طوقه و ریشه گندم می‌تواند در اوایل مرحله گیاهچه‌ای اتفاق بیافتد و در ادامه باعث مرگ گیاهچه شود (Scherm et al., 2013). چندین راه‌کار برای مدیریت بیماری فوزاریوم و مایکوتوکسین تولید شده، از جمله تناوب زراعی، مقاومت ژنتیکی، استفاده از عصاره‌های گیاهی و اسانس‌ها، کنترل شیمیایی و بیولوژیکی استفاده می‌گردد. اخیراً مطالعات مختلفی از فناوری نانو در کنترل بیماری‌های گیاهی استفاده شده است. استفاده هوشمندانه از موادشیمیایی در مقیاس نانو می‌تواند راه‌حل مناسبی برای غلبه بر این مشکل باشد (Tiwari et al., 2020).

نانوتکنولوژی ابزاری خارق‌العاده است که با تغییر در خواص مواد (مقیاس، توزیع و شکل ذرات)، امکانات فوق‌العاده‌ای را برای استفاده آن در زمینه‌های مختلف فراهم می‌کند (Ibrahim et al., 2022). نانوذرات اکسیدفلزی به دلیل کاربرد قابل توجه آن‌ها در زمینه‌های مختلف از جمله علوم زیستی، پزشکی، فناوری مواد غذایی، الکترونیک، علوم انرژی، صنایع شیمیایی، انتقال دارو و حسگرهای زیستی از محبوبیت گسترده‌ای برخوردار هستند (El Shafey et al., 2020). همچنین مطالعات پایه‌ای نشان داده است که استفاده از ذرات نانو فلزی می‌تواند در افزایش تولید بذر، رشد و حمایت گیاه، افزایش مقاومت در برابر بیماری و آفات و تشخیص باقی‌مانده علف‌کش‌ها در زمینه زیست‌شناسی گیاهی و کشاورزی کاربرد داشته باشد (Ashkanvand et al., 2019). از این بین اثرات ضد میکروبی ذرات نانوفلزی بر روی قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفته است (Kazemian et al., 2019).

عنصر مس به دلیل چند عملکرد بودن آن یک ریزمغذی کلیدی و ضروری برای گیاهان است که در فرآیندهای فیزیولوژیکی متعدد مانند فتوسنتز، تنفس، متابولیسم کربن و نیتروژن، ساخت پروتئین‌ها، لیپید و هورمون‌ها، بیان ژن، استحکام ساختاری و عملکردی غشاهای زیستی، محافظت در برابر تنش اکسیداتیو و مسیرهای مهم دفاعی (فعال‌سازی آنزیم‌ها شروع خط دفاعی)، و سوخت و ساز آکسین نقش دارد (Asadi et al., 2013). نانوذرات اکسیدمس (CuO NPs) خواص فیزیکی و شیمیایی جذابی از جمله سطح بزرگ، پتانسیل ردوکس مناسب، فعالیت الکتروشیمیایی عالی، رسانایی فوق‌گرمایی و پایداری خوب از خود نشان می‌دهند. که در

پیشرفت و گسترش علم نانوتکنولوژی و اثرات گسترده آن فرصت‌هایی را برای کشف اثرات ضدقارچی نانوذرات فلزی ایجاد کرده است. هدف از انجام این پژوهش توانایی CuO NPs در مقایسه با فرم توده‌ای آن، در مهار و کنترل قارچ *F. culmorum* در گندم (*T. aestivum*) به عنوان مهم‌ترین غله زیرکشت است تا شاید بتوان تا حد بسیار زیادی از این ویژگی در جهت کنترل خسارت‌های قارچی بر غلات و به ویژه گندم بهره برد.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به منظور بررسی تاثیر پیش‌تیمار بذری CuO NPs و فرم توده‌ای آن (CuO bulk) بر مهار قارچ *F. culmorum* گندم، در قالب طرح کاملا تصادفی به اجراء در آمد. نانوذرات CuO NPs و فرم توده از شرکت 'نانوتک ایتالیا' خریداری شدند. بذرگندم رقم 'روشن' از سایت بوجاری اتحادیه تعاونی واقع در شهرستان خاتم یزد و جدایه قارچ *F. culmorum* از کلکسیون بخش بیماری‌های گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد.

#### پیش‌تیمار بذری با فرم‌های مختلف مس‌اکسید

در ابتدا بذرهای گندم در اتانول ۷۰ درصد (v/v) (۱۰ دقیقه) و هیپوکلریت سدیم ۰/۱۲۵ درصد (w/v) (۱۰ دقیقه) ضدعفونی و سپس با آب مقطر استریل، شست و شو داده شدند (Soltani et al., 2016). جهت تهیه غلظت‌های ۱۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، مقدار مشخص فرم‌های نانومس‌اکسید و توده آن در آب دیونیزه حل و به مدت ۴۰ دقیقه و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، در حمام التراسونیک قرار داده شد. پس از آن بذور جهت پیش‌تیمار بذری، به مدت ۱ ساعت در محلول‌های مذکور قرار گرفتند و پس از پایان این زمان آماده کشت شدند.

#### تهیه مایه قارچ

منظور تکثیر، جدایه قارچ *F. culmorum* در محیط PDA، دیسک‌های ۷ میلی‌متری از قارچ خالص‌سازی شده، برداشته و در شرایط استریل در محیط کشت PDA کشت شدند و در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز قرار داده شدند. به منظور تهیه مایه قارچ از روش آلوده کردن بذور گندم به قارچ استفاده گردید. بر طبق این روش، ابتدا بذرهای گندم به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیسانده شد. سپس دو روز متوالی در اتوکلاو (دما ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر) سترون شدند. پس از آن دیسک‌های میسلیومی به قطر ۴ میلی‌متر از کشت‌های ۷ روزه جدایه‌ها از روی محیط کشت PDA برداشته و به هر پتری‌دیش حاوی ۱ گرم گندم‌های سترون اضافه گردید. پتری‌دیش‌ها به مدت ۲ هفته در فضای انکوباتور با دمای ۲۸

زمینه‌هایی از جمله کاتالیز، فعالیت‌های ضدقارچی و ضدباکتریایی و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی موفق بوده است (Badawy et al., 2021). گزارش شده است پتانسیل ضدقارچی CuO NPs در مقابل انواع وسیعی از قارچ‌ها به دلیل نسبت بسیار بالا سطح به حجم است به گونه‌ای که سلول قارچی را با تخریب غشاء سلولی، تشکیل کمپلکس با پروتئین و تخریب ماده ژنتیکی از بین می‌برد و به عنوان یک عامل ضد میکروبی مستقیم به شمار می‌رود (Bondarenko et al., 2012). همچنین اثرات ضدقارچی CuO NPs بیشتر از سایر نانوذرات مانند آلومینیوم، آهن، روی، نیکل، منگنز گزارش شده است (Viet et al., 2016). نکته حائز اهمیت آن است که CuO NPs در غلظت‌های بهینه برای پستانداران بی‌خطر است و تنها فعالیت ضدقارچی آن بر انواع قارچ‌ها قابل تأمل است (Hsiao et al., 2006). بر پایه نتایج یک مطالعه گلخانه‌ای مشخص شد که استفاده از CuO NPs به صورت محلول‌پاشی، منجر به کاهش بیماری (۷۰ درصد) ناشی از قارچ *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici* و *Alternaria solani* و افزایش رشد در گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) می‌شود (Saharan et al., 2015). نتایج حاصل از بررسی اثر ضدقارچی CuO NPs بر هندوانه (*Citrullus lanatus*) آلوده به *F. oxysporum* f. sp. *niveum* نشان داد که استفاده از این نانوذرات در غلظت‌های کم (۱۰ میلی‌گرم در لیتر)، منجر به کاهش بیماری می‌شود (Borgatta et al., 2018). تایید شده است بیان وابسته به زمان سه ژن دفاعی گیاه گوجه‌فرنگی [فعال‌کننده رونویسی ژن‌های مرتبط با پاتوژن (PTI5)، پلی‌فنل-اکسیداز (PPO) و پروتئین مقاومت گیاهی A1 (PRP1A1)] به طور منحصر به فردی توسط CuO NPs تعدیل شده است (Ma et al., 2019). در پژوهشی اثر فعالیت ضدقارچی CuO NPs بر سرکوب قارچ *Alternaria solani* در شرایط آزمایشگاهی (رشد میسلیوم قارچ و جوانه‌زنی اسپور) و اثرات فیزیولوژیکی این ذرات نانو بر بذر گندم (*T. aestivum*) مورد بررسی قرار گرفت و معلوم گردید که مهار جوانه‌زنی اسپور قارچ به میزان ۳۴ الی ۵۰ درصد، بهبود جوانه‌زنی بذر، افزایش طول ریشه و ساقه و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پیامدهای استفاده از این نانوذرات بود (Zakharova et al., 2019). اثر ضدقارچی CuO NPs در شرایط آزمایشگاهی بر روی قارچ‌های *Penicillium F. Neofusicoccum Penicillium digitatum* و *italicum* *F. solani oxysporum* با کاهش رشد قارچ، تغییرات مورفولوژیکی میسلیوم‌ها همراه بود (Chalandar et al., 2017; Pariona et al., 2019). در نهایت باید اذعان داشت که سرعت

در ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس از محلول روشن‌آور جهت تعیین محتوای کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر استفاده شد. محتوای کلروفیل‌های *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استفاده از معادله‌های زیر محاسبه گردید و مقادیر آن‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه بیان شد (Arnon, 1967). ضریب پایداری کلروفیل نیز از نسبت میزان کلروفیل کل در شرایط تنش به میزان کلروفیل کل در شرایط بدون تنش محاسبه گردید (Terzi and Kadioglu, 2006).

$$\text{Chlorophyll } a = (12.7 \times A_{663} - 2.59 \times A_{645}) V/W \times 1000$$

$$\text{Chlorophyll } b = (22.9 \times A_{645} - 2.68 \times A_{663}) V/W \times 1000$$

$$\text{Carotenoids} = [1000 (A_{470}) - 1.82 (\text{mg chl. } a) - 85.02 (\text{mg chl. } b)] / 198$$

$$\text{Chlorophyll } T = [20.2 (A_{645}) + 8.02 (A_{663}) V/W] \times 1000$$

در این معادله؛  $V =$  حجم نهایی عصاره استونی؛  $A =$  جذب نور در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر؛  $W =$  وزن تر نمونه بر حسب گرم است.

#### محتوای نسبی آب برگ

به منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب، برگ راسی در پتری‌های پر شده با آب مقطر غوطه‌ور شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، برگ‌ها از آب خارج و وزن آن‌ها در حالت اشباع اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دما ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری و محتوای نسبی آب برگ‌ها (درصد) بر اساس معادله زیر محاسبه شد:

$$\% \text{ RWC} = [(F.W. - D.W.) / (T.W. - D.W.)] \times 100$$

در این معادله؛ RWC محتوای نسبی آب، F.W. وزن تر برگ، D.W. وزن خشک برگ و T.W. وزن برگ در حالت تورژسانس کامل است (Smart and Bingham., 1974).

#### شاخص پایداری غشاء

جهت تعیین شاخص پایداری غشاء سلولی، ۰/۱ بافت تر برگ به دو گروه لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه انتقال داده شد. گروه اول لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه درین‌ماری با دما ۴۰ درجه سانتی‌گراد و لوله‌های گروه دوم به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری با دما ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از تعدیل دما، هدایت الکتریکی آن‌ها با دستگاه EC متر (مدل Jenway) اندازه‌گیری و طبق معادله‌ی زیر میزان شاخص پایداری غشاء (Azizpour et al., 2010) ارزیابی شد.

$$\text{شاخص پایداری غشاء} = 1 - (EC_1 / EC_2) \times 100$$

درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Dehghanpour-farashah et al., 2019).

#### مایه‌زنی گیاهان

به منظور آماده‌سازی بستر کشت، مخلوط خاک شن-رس با نسبت حجمی مساوی (۱:۱) تهیه و تحت دما ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر استریل شد. میزان مس قابل جذب در خاک مورد استفاده، ۱/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم است. گلدان‌های ضد عفونی‌شده با اتانول ۳۰ درصد (v/v) به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. جهت مایه‌زنی گیاهان با قارچ *F. culmorum*، میزان ۳ گرم بذر گندم کلونیزه‌شده به ازای هر بذر کشت داده‌شده، در عمق ۳ سانتی‌متری از خاک سترون هر گلدان قرار گرفت. سپس تعداد ۱۰ عدد بذر پیش تیمار یافته با نانوذرات در گلدان‌های مایه‌زنی‌شده با قارچ کشت شد. گلدان بدون هرگونه تیمار قارچی و پیش تیمار نانوذرات به عنوان کنترل مثبت و گلدان‌هایی که فقط دارای تیمار با قارچ بودند، به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. گلدان‌ها در فضای گلخانه تحقیقاتی با دما ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و پس از گذشت ۳۰ روز جهت بررسی عوامل رشد و فیزیولوژیکی برداشت و وزن تر و خشک با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارتفاع بخش‌های هوایی و ریشه با خط‌کش میلی‌متری بررسی شد. شدت بیماری‌زایی ریشه بر اساس تغییر رنگ ریشه و طوقه و بر مبنای مقیاس ۵ درجه‌ای مورد بررسی قرار گرفت (Boukaya et al., 2018). به این ترتیب که برای هر یک از واحدهای آزمایشی و بر مبنای تغییر رنگ ریشه و طوقه درجه‌ای از ۰ تا ۵ داده شد. درجه ۰ این مقیاس = مربوط به ریشه‌های سالم فاقد هرگونه علامت قابل مشاهده بود و درجه ۱ = ۱ تا ۲ درصد، درجه ۲ = ۲ تا ۵ درصد، درجه ۳ = ۳ تا ۷۵ درصد و درجه ۴ = بیشتر از ۷۶ درصد تغییر رنگ طوقه و ریشه را نشان دادند و در نهایت درجه ۵ این مقیاس به گیاهان مرده اختصاص یافت. شدت بیماری‌زایی توسط معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{شدت بیماری‌زایی (درصد)} = \sum (R \times N) \times 100 / (H \times T)$$

در این معادله، R: درجه اختصاص یافته به تکرار این مطالعه، N: تعداد تکرارهای یک تیمار که درجه موردنظر را دارد، H: بالاترین درجه در نظر گرفته‌شده در این مطالعه (درجه ۵) و T: تعداد کل تکرارهای مطالعه شده برای یک تیمار است.

#### سنجش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

##### محتوا رنگیزه‌های فتوسنتزی

جهت سنجش محتوای کلروفیل‌ها، برگ‌ها پس از توزین، به همراه استون ۸۰ درصد (v/v) سائیده شد. محلول هموزن حاصل

دست آمده با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک خالص به مدت یک ساعت در بن‌ماری با دما ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها بلافاصله به ظرف حاوی یخ منتقل شد تا واکنش خاتمه یابد. سپس به هر نمونه، ۴ میلی‌لیتر تولون افزوده و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد. پس از مدت ۲۰ دقیقه، جذب نوری محلول فوقانی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین براساس میکرومول در گرم وزن تر نمونه گیاهی، مطابق معادله زیر محاسبه شد (Bates et al., 1973).

میکرومول پرولین در گرم وزن تر نمونه  

$$= \frac{[\text{Prolin } (\mu\text{g})/\text{ml} \times \text{Toloen}(\text{ml})/115/5(\mu\text{g}/\mu\text{mol})]/\text{sample}(\text{g})/5}$$

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آنالیز واریانس (ANOVA) و نرم‌افزار SPSS استفاده شد. میانگین داده‌ها توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطا  $P \leq 0.05$  مقایسه شدند.

### نتایج

در بررسی نتایج حاصل از آنالیز واریانس، تمامی غلظت‌های نانوذرات مس اکسید و فرم توده‌ای آن اثر معنی‌داری بر پارامترهای شاخص رشد (طول، وزن تر، وزن خشک بخش‌های و ریشه) و همچنین درصد بیماری‌زایی ریشه نمونه‌ها نسبت به شاهد در سطح احتمال خطا  $P \leq 0.05$  داشتند (جدول ۱). در تیمار نانوذرات مس-اکسید در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر، بیش‌ترین طول ساقه مشاهده شد. در حالی که غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات باعث بیش‌ترین افزایش طول ریشه شد. همچنین بیش‌ترین وزن خشک بخش‌های و ریشه به ترتیب در تیمارهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات به ثبت رسید و بیش‌ترین وزن تر آن‌ها نیز در غلظت-های ۱۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر CuO NPs مشاهده شد. این در حالی است که کمترین مقدار همه شاخص‌های رشد در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر فرم توده ذرات اکسید مس مشاهده شد. بر طبق بررسی نتایج، کاهش موفقیت‌آمیز در مهار بیماری‌زایی ریشه در غلظت‌های بالا فرم CuO NPs (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نسبت به فرم توده، از دیگر نتایج قابل توجه پژوهش حاضر بود به-طوری که با افزایش غلظت نانوذرات، درصد بیماری‌زایی ریشه به طور قابل توجهی کاهش یافت (جدول ۱). این نتایج در چکیده ارائه شده توسط نویسندگان (Ganjeali et al., 2022) ارائه شده است. نمای از گندم طبیعی، گیاه آلوده به قارچ و گیاهان تیمار شده در شکل ۱ ارائه شده است.

در این معادله؛  $EC_1$  هدایت الکتریکی اولیه و  $EC_2$  هدایت الکتریکی ثانوی است.

### محتوای پراکسید هیدروژن

محتوای پراکسید هیدروژن براساس واکنش پراکسید هیدروژن با یدید پتاسیم (KI) تعیین شد. در این روش ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد (w/v) سرد سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی، ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH = ۷) و ۱ میلی‌لیتر یدورپتاسیم (KI) ۱ مولار اضافه گردید. جذب هر نمونه در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد و طبق معادله زیر و با استفاده از ضریب خاموشی ( $mM \text{ cm}^{-1}$ ) (۰/۲۸۸) مقدار پراکسید هیدروژن بر اساس میکرومول در گرم وزن تر محاسبه شد (Velikova et al., 2000).

$$A = \epsilon bc$$

در این معادله؛ A: جذب نمونه مورد نظر؛  $\epsilon$ : ضریب خاموشی؛ b: عرض کووت ۱ سانتی‌متر؛ c: غلظت بر حسب میکرومول در گرم وزن تر است.

### محتوای مالون‌دی‌آلدئید

سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء براساس تشکیل کمپلکس مالون‌دی‌آلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء با اسیدتیوباربیتریک انجام شد. به این منظور بافت تر برگ با اسیدتری کلرواستیک ۰/۱ درصد (w/v) همگن شد. هموزن حاصل به مدت ۵ دقیقه و در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس محلول شناور با محلول اسیدتری کلرواستیک ۲۰ درصد (w/v) که حاوی اسیدتیوباربیتریک ۰/۵ درصد (w/v) بود، مخلوط شد. محلول حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد از این مرحله تا رسیدن به دما محیط به حمام یخ منتقل شد. در مرحله بعد مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. جذب نوری هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد. جذب سایر ترکیبات غیراختصاصی، در ۶۰۰ نانومتر از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر شد. در نهایت برای محاسبه غلظت مالون‌دی‌آلدئید، از ضریب خاموشی ( $\mu\text{M}$ ) (۰/۱۵۵  $\text{cm}^{-1}$ ) استفاده و براساس واحد میکرومول در گرم وزن تر محاسبه شد (Health and Packer, 1968).

### غلظت پرولین

برای استخراج پرولین ابتدا ۰/۲ گرم از بافت تر برگ در ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳ درصد (w/v) سائیده شد تا همگنای یکنواختی به دست آمد. سپس هموزن حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از محلول شناور به



شکل ۱- نمایی از گندم (رقم روشن) طبیعی (کنترل مثبت)، گیاه آلوده به قارچ (کنترل منفی)، گیاهان تیمارشده با نانوذرات مس اکسید (nCuO) و گیاهان تیمارشده با فرم توده ذرات مس اکسید (bCuO).

**Figure 1.** View of natural wheat (Roshan cultivar) (Positive Control), fungal-infected plant (Negative Control), plants treated with copper oxide nanoparticles (nCuO), and plants treated with bulk form of copper oxide particles (bCuO).

#### رنگیزه‌های فتوسنتزی

میلی گرم برگرم وزن (تر) و کنترل مثبت  $0.99 \pm 9.46$  میلی گرم برگرم وزن (تر) ثبت شدند. بیشترین و کمترین محتوای کلروفیل کل نیز به ترتیب در تیمار غلظت  $250$  میلی گرم درلیتر CuO NPs و نمونه شاهد منفی مشخص شد (شکل ۲C). با افزایش غلظت هر دو فرم CuO NPs و CuO bulk، ضریب پایداری کلروفیل نسبت به نمونه‌های شاهد کاهش یافت به طوری که بیشترین ضریب پایداری کلروفیل در غلظت  $10$  میلی گرم درلیتر فرم نانو ذرات  $1.14 \pm 38.65$  میلی گرم برگرم وزن (تر) مشخص گردید. تیمارهای نانو ذرات و فرم توده، محتوای کارتنوئید نمونه های تیمارشده را در مقایسه با نمونه های شاهد افزایش دادند ولیکن سطح این تغییرات در تیمار با نانوذرات بیشتر از فرم توده آن بود (شکل ۲E).

بررسی‌های پژوهش حاضر نشان داد که محتوای کلروفیل *a* در تمامی غلظت‌های مس اکسید (فرم نانو و توده) نسبت به شاهد افزایشی است. به طوری که بیشترین غلظت کلروفیل *a* مربوط به غلظت  $250$  میلی گرم درلیتر CuO NPs  $0.38 \pm 25.16$  میلی گرم برگرم وزن (تر) و کمترین مقدار متعلق به کنترل منفی (گیاه شاهد دارای تیمار قارچ)  $0.78 \pm 6.92$  میلی گرم برگرم وزن (تر) و به دنبال آن، تیمار  $1000$  میلی گرم درلیتر فرم توده ذرات  $0.44 \pm 9.14$  میلی گرم برگرم وزن (تر) بود (شکل ۲A). بیشترین محتوای کلروفیل *b* در غلظت  $1000$  میلی گرم درلیتر فرم CuO bulk  $0.90 \pm 17.69$  میلی گرم برگرم وزن (تر) و کمترین مقدار آن در غلظت  $10$  میلی گرم درلیتر CuO NPs  $0.70 \pm 11.73$

**جدول ۱-** تأثیر تیمار با نانوذرات مس اکسید (nCuO) و فرم توده‌ای آن (bCuO) بر برخی صفات رشد و درصد بیماری‌زایی در گندم رقم روشن. مقادیر میانگین سه تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر مبنای آزمون دانکن در سطح  $P \leq 0.05$  است. nCuO فرم نانو ذرات و bCuO فرم توده‌ای ذرات است.

**Table 1.** Effect of copper oxide nanoparticles and copper oxide bulk on the growth and disease severity indices in wheat (Roshan cultivar). Each data is the mean of 3 independent replicates; values with the same letter did not significantly differ at  $P \leq 0.05$  levels based on the Duncan test. nCuO is the nanoparticle form and bCuO is the bulk form of the particle.

Treatment (mg L <sup>-1</sup> )	Stem Length (Cm)	Root Length (Cm)	Shoot Dry Weight (g)	Root Dry Weight (g)	Shoot Fresh Weight (g)	Root Fresh Weight (g)	Disease Severity Index (%)
Positive Control	28.8333 <sup>f</sup>	18.31 <sup>g</sup>	0.2107 <sup>f</sup>	0.0467 <sup>e</sup>	3.1667 <sup>f</sup>	1.95 <sup>g</sup>	0
Negative Control	25.4333 <sup>g</sup>	12.16667 <sup>h</sup>	0.1377 <sup>g</sup>	0.0267 <sup>f</sup>	1.8033 <sup>g</sup>	0.76 <sup>h</sup>	99.8767 <sup>a</sup>
nCuO 10	36.4333 <sup>b</sup>	24 <sup>d</sup>	0.407 <sup>b</sup>	0.10 <sup>c</sup>	6.2333 <sup>a</sup>	4.5533 <sup>b</sup>	84.4533 <sup>b</sup>
nCuO 250	37.8333 <sup>a</sup>	26.16667 <sup>b</sup>	0.5057 <sup>a</sup>	0.11 <sup>b</sup>	5.3067 <sup>b</sup>	5.7267 <sup>a</sup>	65 <sup>d</sup>
nCuO 500	35.1333 <sup>bc</sup>	28.03833 <sup>a</sup>	0.2837 <sup>d</sup>	0.12 <sup>a</sup>	4.39 <sup>d</sup>	3.2777 <sup>d</sup>	39.1867 <sup>e</sup>
nCuO 1000	30.5 <sup>e</sup>	22 <sup>e</sup>	0.2173 <sup>f</sup>	0.0677 <sup>d</sup>	3.25 <sup>e</sup>	2.3967 <sup>fg</sup>	26.6667 <sup>f</sup>
bCuO 10	34.5 <sup>cd</sup>	25.08333 <sup>c</sup>	0.4213 <sup>b</sup>	0.1 <sup>b</sup>	4.97 <sup>bcd</sup>	3.97 <sup>c</sup>	87.59 <sup>b</sup>
bCuO 250	33.175 <sup>d</sup>	24.25 <sup>cd</sup>	0.3207 <sup>c</sup>	0.0767 <sup>cd</sup>	4.4577 <sup>cd</sup>	3.0257 <sup>de</sup>	76.35 <sup>c</sup>
bCuO 500	31.5167 <sup>e</sup>	21.83333 <sup>e</sup>	0.275 <sup>d</sup>	0.0673 <sup>d</sup>	5.217 <sup>bc</sup>	2.57 <sup>ef</sup>	61.9567 <sup>cd</sup>
bCuO 1000	30.1667 <sup>e</sup>	20.33333 <sup>f</sup>	0.25 <sup>e</sup>	0.0433 <sup>e</sup>	3.3543 <sup>e</sup>	2.3 <sup>fg</sup>	56.4767 <sup>d</sup>

### مجموعه شاخص‌های بیوشیمیایی

محتوای نسبی آب برگ: بررسی محتوای نسبی آب نشان داد که آلودگی با قارچ (کنترل منفی) موجب کاهش این صفت (نسبت به کنترل مثبت) می‌گردد. همچنین تیمار با هر دو فرم CuO NPs و CuO bulk بر گیاهان آلوده شده با قارچ، موجب افزایش محتوای نسبی آب شد. به طوری که بیشترین مقدار به ثبت رسیده در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر فرم نانوذرات و ۳/۷۱ برابر نمونه شاهد منفی بود. این در حالی است که در بیشینه اثر فرم توده ای ذرات (غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بر محتوای نسبی آب، افزایش ۳/۳۷ برابری نسبت به کنترل منفی مشاهده شد (شکل ۳A).

محتوای مالون‌دی‌آلدئید: روند تغییرات محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان آلوده، کاملاً مشابه با روند تغییرات محتوای پراکسید هیدروژن بود و بر این اساس، با افزایش غلظت تیمارهای نانوذرات و فرم توده، روند افزایشی در این صفت دیده شد. درصد افزایش محتوای در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر CuO bulk به ترتیب ۲۱۷/۷۹ و ۱۵۴/۰۶ و در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر CuO NPs به ترتیب ۱۶۴/۳۰ و ۱۱۱/۲۹ در مقایسه با کنترل مثبت و کنترل منفی بودند (شکل ۳D).

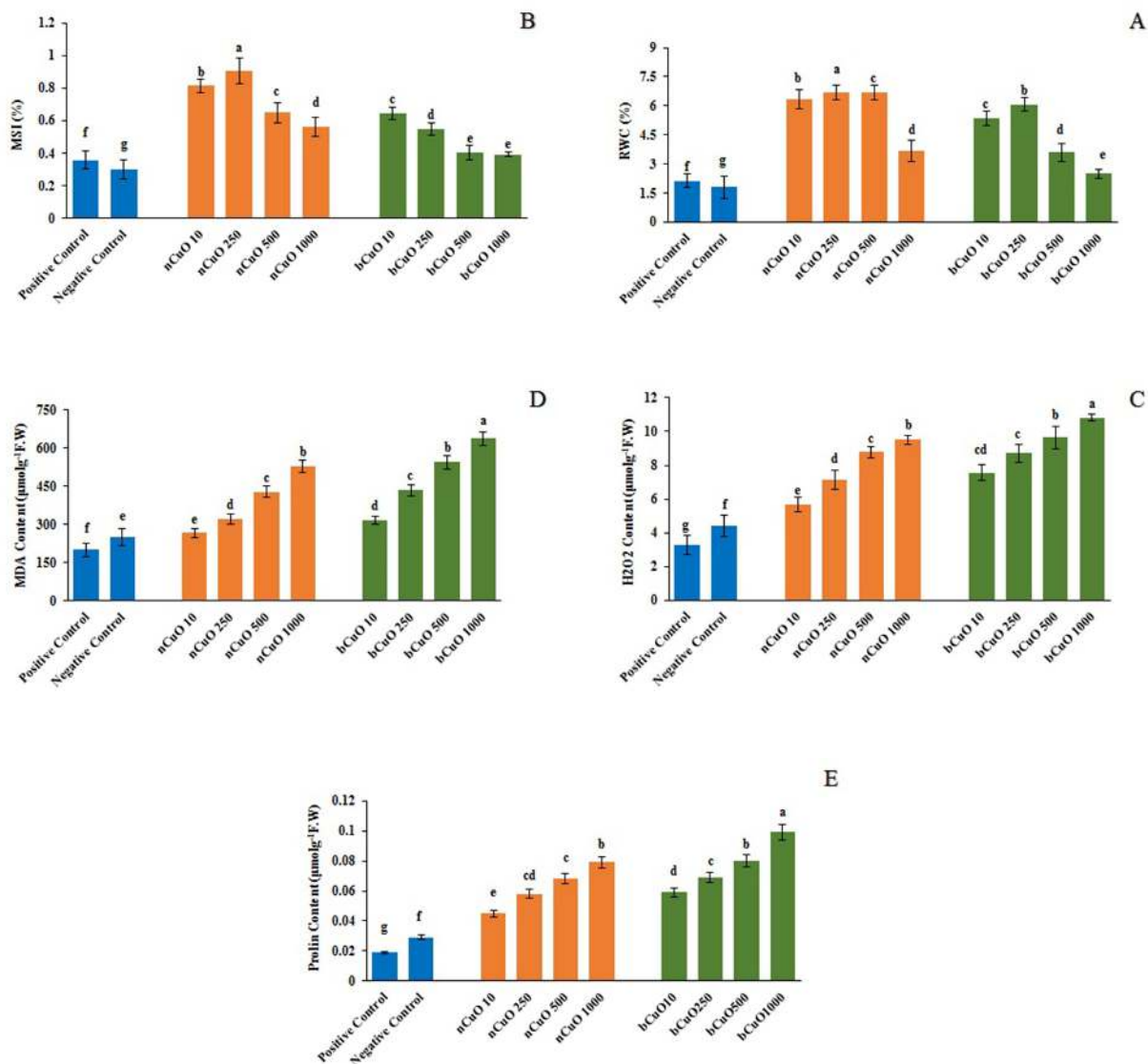
غلظت پرولین: همانطور که در شکل ۳E مشخص است غلظت پرولین گیاهان تیمار یافته با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ذرات نانو و فرم توده، به ترتیب با مقدار  $0.099 \pm 0.0015$  و  $0.079 \pm 0.0021$  میکرومول بر گرم وزن تر، در بیشینه محتوا قرار گرفتند و بقیه تیمارها، موجب سطح کمتری از محتوای پرولین شدند. همچنین سطح پرولین نمونه کنترل منفی بیشتر از نمونه کنترل مثبت به ثبت رسید.

ضریب پایداری غشاء: با افزایش غلظت تیمارهای CuO NPs و فرم CuO bulk بر گیاهان آلوده به قارچ، روند کاهش در ضریب پایداری غشاء مشاهده شد به طوری که بیشینه شاخص پایداری غشاء در حضور غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر فرم نانو و نیز در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر فرم توده به ثبت رسید که به ترتیب ۲/۷۱ و ۳ برابر نمونه شاهد منفی بودند (شکل ۳B).

محتوای پراکسید هیدروژن: در بررسی نتایج حاصل از تیمار نانوذرات مس اکسید مشخص گردید که با افزایش غلظت CuO NPs و CuO bulk، افزایش معناداری در محتوای پراکسید هیدروژن حاصل می‌گردد. بیشترین غلظت تیماری از هر دو فرم ذرات مس اکسید (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) موجب بیشینه انباشتگی پراکسید هیدروژن در برگ های گندم آلوده به قارچ شدند. نکته قابل توجه آن که، سطح پراکسید هیدروژن اندازه‌گیری شده در نمونه شاهد منفی (آلوده به قارچ) بیشتر از نمونه شاهد مثبت (گیاه طبیعی) بود (شکل ۳C).

### بحث

در علوم گیاهی، نانوذرات فلزی به دلیل خواص فیزیکیوشیمیایی منحصر به فرد خود از جمله نسبت سطح به حجم زیاد، پایداری ساختاری و میل ترکیبی قوی به هدف، نقش مهمی در حفاظت از محصولات زراعی ایفا می‌کنند (Wu et al., 2021). در میان نانوذرات فلزی پیشرو، مس محبوب‌ترین و به‌عنوان ماده ضد میکروبی جامد ثبت شده است. به این ترتیب، این فلز پتانسیل زیادی برای استفاده به تنهایی، یا برای ادغام با قارچ‌کش‌های موجود و اقدامات کنترلی، برای بهبود عملکرد قارچ‌کش دارد (Oussou-Azo et al., 2020).



شکل ۳- مقایسه تأثیر تیمار با غلظت‌های مختلف نانوذرات مس اکسید (nCuO) و فرم توده‌ای آن (bCuO) بر محتوای نسبی آب برگ (A)، ضریب پایداری غشاء (B)، محتوای پراکسید هیدروژن (C)، محتوای مالون‌دی‌آلدئید (D) و محتوای پرولین (E) در مقایسه با نمونه‌های شاهد، در گندم رقم روشن. مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر مبنای آزمون دانکن در سطح  $P \leq 0.05$  است. nCuO فرم نانوذرات و bCuO فرم توده‌ای ذرات است.

**Figure 3.** Comparison of the effect of different concentrations of copper oxide nanoparticles (nCuO) and the bulk form (bCuO) on the relative water content (A), membrane stability index (B), hydrogen peroxide content (C), malondialdehyde content (D) and proline content (E) compared to the controls in wheat (Roshan cultivar). Each data is the mean of 3 independent replicates  $\pm$  SE; values with the same letter did not significantly differ at  $P \leq 0.05$  levels based on the Duncan test. nCuO is the nanoparticle form and bCuO is the bulk form of the particle.

در *(Podospaera pannosa)* و ویروس *(benthamiana)* گل‌رز (*Rosa rugosa Thunb.*) جلوگیری کنند (Hao et al., 2018 and 2019). همچنین سرکوب موفقیت‌آمیز بیماری پژمردگی فوزاریوم ناشی از قارچ *F. oxysporum* توسط نانوذرات مس اکسید در هندوانه (*Citrullus lanatus*) تایید شد (Borgatta et al., 2018). در تحقیق Kazemian و همکاران (2019)، کاربرد نانوذرات مس اکسید سنتز شده موجب مهار قارچ

نتایج مطالعات حاضر نشان می‌دهد که تمام اشکال مس اکسید (فرم نانو و توده) به صورت وابسته به غلظت موجب مهار رشد هیف قارچ فوزاریوم می‌شوند ولیکن تأثیر فرم نانو، به طور معنی‌داری بیشتر از تأثیر فرم توده است. در مطالعات پیشین مشخص شده است که نانوذرات فلزی و اکسید فلزی این توانایی را دارند تا از عفونت پاتوژن‌های ویروسی، از جمله ویروس شلغم موزائیک (*Turnip Mosaic Virus*) در تنباکو (*Nicotiana*)

(Zuverza-Mena et al., 2015). همچنین مشاهده شده که خاک‌های اصلاح شده با CuO NPs (در غلظت‌های ۱۰ تا ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) طور قابل توجهی رشد گندم را افزایش داد (Hafeez, 2015). به طور کلی و بر مبنای نتایج گزارشات، افزایش غلظت CuO NPs موجب کاهش رشد گیاه می‌شود که علت آن را به افزایش تولید اتیلن و کاهش فعالیت و تولید سیتوکینین، پلی‌آمین‌ها و بازدارندگی گسترش رشد سلول ناشی از اثرات مستقیم و یا غیر مستقیم مس بر متابولیسم یا ساختمان اکسین نسبت می‌دهند (Coombes et al., 1976).

از مهم‌ترین عوامل مؤثر در ظرفیت فتوسنتزی هر گیاهی، محتوای کلروفیل‌ها و سایر رنگیزه‌های فتوسنتزی است که در تحقیق پیش رو، کاهش کلروفیل *a*، کلروفیل کل، ضریب پایداری کلروفیل و کارتنوئیدها (به غیر از کلروفیل *b*) در حضور آلودگی قارچی به ثبت رسید. همچنین غلظت‌های کم و میانه تیمار با دو فرم CuO NPs و CuO bulk موجب بهبود صفات مذکور در گندم بیمار شده شد؛ هرچند که میزان تاثیرات مثبت ناشی از فرم نانو ذرات بهتر از فرم توده ای آن بود. مشابه با نتایج حاضر، غلظت‌های کمتر CuO NPs، رنگیزه‌های برگ (کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها) گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) آلوده به قارچ *F. oxysporum* را افزایش داد. علاوه بر این، غلظت‌های پایین‌تر CuO NPs توانست میزان فتوسنتز گوجه‌فرنگی را تا ۱۴ درصد (در مقایسه با سطح شاهد) تحریک کند (Saharan et al., 2015). در پژوهشی نیز اسپری‌پاشی ذرات نانومس اکسید در غلظت کم (۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر)، سبب افزایش محتوای کروفیل و کارتنوئید جلبک *Scenedesmus dimorphus* شد درحالی‌که نتیجه با غلظت‌های بالاتر نانوذرات مذکور (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) برعکس بود (Kazemi et al., 2019). ثابت شده است که نانوذرات فلزی در غلظت‌های پایین می‌توانند ساختار کلروفیل را تقویت کرده و تشکیل رنگیزه‌ها و به دنبال آن، فعالیت‌های متابولیکی را تسهیل کنند. اما در نتیجه تنش حاصل از غلظت بالای نانوذرات فلزی (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر پژوهش حاضر)، با توجه به افزایش تشکیل گونه‌های کنشگر اکسیژن (ROS) در کلروپلاست، میزان تخریب غشاهای کلروپلاستی نیز افزایش می‌یابد. کلروفیل *b* حساسیت بیشتری در برابر ROSها نشان می‌دهد و به دنبال تخریب غشاهای کلروپلاستی و تخریب کمپلکس پروتئینی *Chl a/b* محتوای کلروفیل *b* آزاد در غلظت‌های بالای فرم نانوذره و توده ای افزایش پیدا می‌کند. همچنین فتوسیستم II به جهت دارا بودن تعداد کلروفیل *b* بیشتر، از حساسیت بیشتر به انواع تنش‌ها از جمله تنش اکسیداتیو برخوردار است. دلیل دیگر کاهش رنگیزه

(*Botrytis cinerea*) در گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) شد. مشخص شده است که عنصر مس در مسیرهای دفاعی گیاه، به‌ویژه برای عملکرد ریشه‌ها در برابر پاتوژن‌های موجود در خاک، حیاتی هستند. طی مطالعات قبل، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نحوه‌ی برهم‌کنش نانوذرات با میکروارگانیسم‌ها را بررسی شده و بیان داشتند که با اتصال نانوذرات، تغییرات ساختمانی و آسیب جدی به سلول پاتوژن وارد می‌شود و به‌طور خاص، اعمال حیاتی سلول از جمله نفوذپذیری، فعالیت‌های متابولیکی نظیر آنزیم‌های چرخه تنفسی مختل می‌گردد و در نهایت مرگ سلول را به دنبال خواهد داشت (Chwalibog et al., 2010). یون مس جداشده از ساختار نانوذرات منجر به آسیب جدی به ماده وراثتی DNA می‌شود. نتایج بدست آمده از تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات مس اکسید نشان داد که غلظت‌های بیشتر این نانوذرات خاصیت قارچ‌کشی بیشتری در مقایسه با فرم توده‌ای آن دارد (Bondarenko et al., 2012).

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، آلوده شدن گندم به قارچ فوزاریوم موجب کم شدن صفات رشد و پژمرده شدن گیاه شد که می‌تواند پیامد انسداد آوندهای چوبی توسط این قارچ باشد (Viet et al., 2016). درحالی‌که تیمار با غلظت‌های بهینه و میانه ذرات مس اکسید، به ویژه فرم نانو آن، موجبات افزایش پارامترهای رشد گیاه را فراهم نمود. در مطالعه ای، طول ریشه و ساقه نهال بادمجان (*Solanum melongena* L.) در نتیجه تیمار با غلظت کمتر CuO NPs (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت که می‌تواند مهر تاییدی بر محرک رشد بودن CuO NPs در غلظت‌های بهینه باشد (Baskar et al., 2018). افزایش معیارهای رشد گیاه ماش (*Vigna radiata* L.) در پاسخ به غلظت کم CuO NPs نیز گزارش شده است (Spanos et al., 2021). افزایش غلظت CuO NPs و CuO bulk نیز زمینه را برای کاهش طول ساقه و ریشه جو (*H. sativum*) فراهم نمود که علت به اثرات مخرب غلظت‌های بالای فرم CuO NPs و CuO bulk بر ساختار سلولی نسبت داده شد. در این پژوهش هم نیز همانند تحقیق پیش رو، تیمار با CuO NPs بهتر از تیمار با فرم CuO bulk و غلظت کم نسبت به غلظت بالا ترجیح داده شد (Rajput et al., 2020). علاوه بر این، گزارش که رشد گیاهان گندم اسپری پاشی شده با CuO NPs افزایش یافته است (Hossain et al., 2020). در مطالعه‌ای دریافتند که وزن‌تر و خشک گیاهان گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) هنگامی که در خاک اصلاح شده با ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم CuO NPs رشد کردند، افزایش یافت

موجب افزایش بار منفی داخل سلول می‌گردد (Liang et al., 2009).

یکی از اولین واکنش‌های هر گیاه به عفونت پاتوژن، تولید انواع ROS در فرآیند انفجار اکسیداتیو است. طبق نتایج، با افزایش غلظت هر دو فرم نانوذرات و فرم توده CuO، افزایش محتوای پراکسید هیدروژن در برگ گندم به ثبت رسید. به نظر می‌رسد در بین انواع مولکول‌های فعال اکسیژن تولید شده، اندازه‌گیری غلظت  $H_2O_2$  نشانگر خوبی برای توانایی واکنش گیاه در برابر تنش و شدت آن باشد (Asaeda et al., 2022). در مطالعه‌ای بر روی کتان (*Linum usitatissimum* L.)، سویا (*Glycine max* L.)، ذرت (*Z. mays*)، جو (*H. sativum*)، سطوح پراکسید هیدروژن پس از تلقیح با قارچ‌های *F. culmorum* و *F. oxysporum* افزایش یافت (Galindo-González et al., 2016). به علاوه قرار گرفتن در معرض غلظت‌های بالا CuO NPs منجر به افزایش قابل توجهی در تشکیل پراکسید هیدروژن سویا (*G. max*) و خردل (*Brassica juncea* L.) گردید (Faraz et al., 2018). در غلظت‌های بالای نانوذرات مس-اکسید، مس اضافی منپراکسید هیدروژن از طریق واکنش‌های هابر-وایس یا از طریق انتقال الکترون فتوسنتزی می‌شود. همچنین گزارش شده است که آسیب اکسیداتیو یکی از دلایل اصلی سمیت نانوذرات است (Husen et al., 2014). شواهد مطالعه حاضر نشان داد با روند افزایشی غلظت هر دو فرم CuO NPs و CuO bulk، محتوای مالون‌دی‌آلدئید گندم آلوده به قارچ افزایش یافت. قطعاً این مساله با افزایش تولید پراکسید هیدروژن و سایر انواع ROSها مرتبط است که پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و آسیب به آن را در پی خواهد داشت. در مطالعه‌ای مشخص شد که در غلظت‌های بالا نانوذرات CuO، محتوای مالون‌دی‌آلدئید ریشه پیاز (*Allium cepa* L.) نیز به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. همبستگی مثبت بین محتوای مالون‌دی‌آلدئید با غلظت CuO NPs تیمار شده در مطرح شد که نشان دهنده دست دادن بیشتر یکپارچگی غشاء سلول ناشی از قرار گرفتن در معرض  $Cu^{2+}$  در مقایسه با CuO NPs بود (Dai et al., 2018).

در بسیاری از گیاهان، پرولین آزاد در پاسخ به تحمل طیف-وسیع از تنش‌های زیستی و غیرزیستی تجمع یافته و یا به گیاه برای دفاع در برابر پاتوژن کمک می‌کند (Yaish, 2015). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که گیاهان در حضور قارچ و بدنبال آن، تیمار با هر دو فرم CuO NPs و CuO bulk تجمع زیاد پرولین را بروز می‌دهند. براساس نتایج پیشین تولید پرولین در گیاهان تیمار یافته با هرکدام از فرم نانو و توده، به صورت گرادیان

های فتوسنتزی می‌تواند به دلیل بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل و رنگیزه‌های دیگر باشد. به نظر می‌رسد که غلظت-های بالای نانوذرات فلزی (از جمله CuO NPs) با بازدارندگی در سطح رونویسی LHClI روند تشکیل این کمپلکس را مختل می‌سازند (Tzvetkova et al., 1996). در مورد کاروتنوئیدها و عملکرد آن‌ها، باید بیان داشت که تغییرات آن‌ها در حین انواع تنش می‌تواند راهی موثر در جهت حذف ROSها باشد (Swapnil et al., 2021). از این رو تغییرات افزایشی آن‌ها در زمان غلظت‌های میانه نانوذرات، امری طبیعی در جهت بالابردن سیستم دفاعی محسوب می‌گردد.

محتوای نسبی آب گندم‌های تیمار شده در مقایسه با نمونه‌های کنترل افزایش یافت ولیکن تیمار غلظت‌های بالا هر دو فرم CuO bulk و CuO NPs موجب کاهش آن شد. مشابه با این نتایج، مشخص شد که تیمار با غلظت ۲۵ میلی‌گرم درلیتر نانوذرات  $Fe_3O_4$  NPs موجب افزایش محتوای نسبی آب گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) گردید درحالی‌که کمترین محتوای نسبی آب در گیاهان تیمار شده با ۱۰۰ میلی-گرم درلیتر نانوذرات به دست آمد (Rastegaran et al., 2022). پیشنهاد می‌گردد که در غلظت بالا CuO NPs و CuO bulk، یون مس آزاد شده از ساختار هردو نوع ذرات در فضای سیتوپلاسم تجمع می‌یابد که ماحصل آن، ایجاد تنش فلزات برای گیاه است. در چنین حالتی گیاه برای سازگاری با شرایط تنش و حفظ بقا، با بستن روزنه‌های خود مانع خروج آب برگ و در نهایت کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌شود (Pourakbar et al., 2014).

هرچند تیمار با هردو فرم ذرات CuO NPs و CuO bulk موجب افزایش ضریب‌پایداری غشاء نسبت به نمونه‌های کنترل گندم رقم روشن گردید ولی در غلظت‌های بالا (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم درلیتر)، کاهش ضریب‌پایداری غشاء نسبت به غلظت-های کمتر تیمارها قابل توجه بود. مشابه با تحقیق حاضر، در غلظت‌های بالای نانوذرات CuO، ضریب‌پایداری غشاء گندم (Etesami et al., 2021)، پنبه (*Gossypium hirsutum*) و آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) به شدت کاهش یافت (Nair et al., 2014). در توجیه این مساله بیان شده است که افزایش غلظت یون مس آزاد شده از ساختار ذرات آزادکننده مس، باعث تولید برخی ترکیبات کنشگر اکسیژن از جمله رادیکال-های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود و در نهایت تمامیت غشای سلولی را تخریب می‌کند و به طبع آن الکترولیت‌ها به بیرون از سلول تراوش کرده و این امر

## REFERENES

- Arnon, D.I., Tsujimoto, H.Y. & McSwain, B.D. 1967. Ferredoxin and photosynthetic phosphorylation. *Nature*, 214: 562-566.
- Asadi, M., Zahedi, M., Ehtemam, M. & Khoshgoftarmanesh, A. 2013. The effect of zinc oxide application as nanoparticles on growth and content of four wheat cultivars under saline stress. *Journal Cultural Science and Technology* 25: 25-35.
- Asaeda, T., Rahman, M. & Abeynayaka, H.D.L. 2022. Hydrogen peroxide can be a plausible biomarker in cyanobacterial bloom treatment. *Scientific Reports* 12: 1-11.
- Ashkavand, P., Tabari Koocksra, M. & Zarafshar, M. 2015. Some applications of nanoparticles in plant science. *Journal of Food Science and Agriculture* 125: 65-73.
- Azizpour, K., Shakiba, M.R., Khosh Kholgh Sima, N., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E. & Pessarakli, M. 2010. Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *Journal of Plant Nutrition* 33: 859-873. (In Persian).
- Badawy, A.A., Abdelfattah, N.A., Salem, S.S., Awad, M.F. & Fouda, A. 2021. Efficacy assessment of biosynthesized copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) on stored grain insects and their impacts on morphological and physiological traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) plant. *Biology* 10: 233. DOI: 10.3390/biology10030233.
- Baskar, V., Nayeem, S., Kuppuraj, S.P., Muthu, T. & Ramalingam, S. 2018. Assessment of the effects of metal oxide nanoparticles on the growth, physiology and metabolic responses in in vitro grown eggplant (*Solanum melongena*). *Biotech* 8: 1-12.
- 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.
- Bondarenko, O., Ivask, A., Käkinen, A. & Kahru, A. 2012. Sub-toxic effects of CuO nanoparticles on bacteria: kinetics, role of Cu ions and possible mechanisms of action. *Environmental Pollution* 169: 81-89.
- Borgatta, J., Ma, C., Hudson-Smith, N., Elmer, W., Plaza Perez, C.D., De La Torre-Roche, R., Zuverza-Mena, N., Haynes, C., White, J. & Hamers, R.J. 2018. Copper based nanomaterials suppress root fungal disease in watermelon (*Citrullus lanatus*): role of particle morphology, composition and dissolution behavior. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 6: 14847-14856.
- Boukaya, N., Goudjal, Y., Zamoum, M., Chaabane Chaouch, F., Sabaou, N., Mathieu, F. & Zitouni, A. 2018. Biocontrol and plant-growth-promoting capacities of actinobacterial strains from the Algerian Sahara and characterization of *Streptosporangium becharense* SGI as a promising biocontrol agent. *Biocontrol Science and Technology* 28: 858-873.
- Chalandar, H.E., Ghorbani, H.R., Attar, H. & Alavi, S.A. 2017. Antifungal effect of copper and copper oxide nanoparticles against *Penicillium* on orange fruit. *Biosciences Biotechnology Research Asia* 14: 279-284.
- وابسته به غلظت افزایش می یابد. این افزایش غلظت پرولین تحت تنش غلظت‌های بالای نانوذرات فلزی یکی از سازوکارهای حفظ پتانسیل اسمزی گیاه است که می تواند در گونه‌های مختلف گیاهان متفاوت باشد (Kumari et al., 2022). افزایش تجمع پرولین در ریشه گیاهان در معرض قارچ و ذرات مس اکسید ممکن است مکانیسم دفاعی گیاهان برای محافظت از ساختارهای سلولی در برابر آسیب ناشی از تولید بیش از حد ROS ناشی از غلظت‌های بالای ذرات CuO NPs و CuO bulk باشد که به‌طبیع آن با پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی مرتبط است (Yu et al., 2020).

## نتیجه‌گیری

به طور کلی استفاده از نانوذرات CuO (در غلظت‌های بهینه و کم) در مقایسه با فرم توده‌ای آن سبب مهار بیشتر بیماری قارچ *F. calmorum* و افزایش شاخص رشد و صفات بیوشیمیایی در گندم رقم روشن شد. بنابراین، با توجه به افزایش سرعت علم نانوتکنولوژی و اثرات گسترده آن در زمینه‌های مختلف از جمله توانایی مهار و کنترل قارچ و بیماری‌های قارچی احتمالی می‌توان تا حد بسیار زیادی از این ویژگی در جهت کنترل خسارت‌های قارچ بر غلات و به‌ویژه گندم بهره برد.

## سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد بابت تأمین هزینه‌های پژوهش حاضر از محل اعتبارات متمرکز این معاونت (با کد طرح به شماره ۳/۵۳۰۰۶) قدردانی می نمایند.

- Chwalibog, A., Sawosz, E., Hotowy, A., Szeliga, J., Mitura, S., Mitura, K., Grodzik, M., Orlowski, P. & Sokolowska, A.** 2010. Visualization of interaction between inorganic nanoparticles and bacteria or fungi. *International Journal of Nanomedicine* 5: 1085. DOI: 10.2147/IJN.S13532.
- Coombes, A.J., Lep, N.W. & Phipps, D.A.** 1976. Effect of copper on IAA oxidase activity in root tissue of barley (*Hordeum vulgare*. c. v. zephyr). *Plant Physiology* 55: 236-242.
- Dai, Y., Wang, Z., Zhao, J., Xu, L., Xu, L., Yu, X., Wei, Y. & Xing, B.** 2018. Interaction of CuO nanoparticles with plant cells: internalization, oxidative stress, electron transport chain disruption, and toxicogenomic responses. *Environmental Science: Nano* 5: 2269-2281.
- Dehghanpour-Farashah, S., Taheri, P. & Falahati-Rastegar, M.** 2019. Effect of polyamines and nitric oxide in *Piriformospora indica*-induced resistance and basal immunity of wheat against *Fusarium pseudograminearum*. *Biological Control* 136: 104006. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2019.104006.
- Desai, S., Dubey, S.C. & Prasad, R.D.** 2020. Impacts of climate change on *Fusarium* species vis-à-vis adaptation strategies. *Indian Phytopathology* 73: 593-603.
- Dignam, B.E., Marshall, S.D., Wall, A.J., Mtandavari, Y.F., Gerard, E.M., Hicks, E., Cameron, C., Aalders, L.T., Shi, S. & Bell, N.L.** 2022. Impacts of soil-borne disease on plant yield and farm profit in dairying soils. *Journal of Sustainable Agriculture and Environment* 1: 16-29.
- El Shafey, A.M.** 2020. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles from plant leaf extracts and their applications: A review. *Green Processing and Synthesis* 9: 304-339.
- Etesami, H., Fatemi, H. & Rizwan, M.** 2021. Interactions of nanoparticles and salinity stress at physiological, biochemical and molecular levels in plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 225: 112769. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112769.
- Faraz, A., Faizan, M., Hayat, S. & Alam, P.** 2022. Foliar Application of Copper Oxide Nanoparticles Increases the Photosynthetic Efficiency and Antioxidant Activity in *Brassica juncea*. *Journal of Food Quality* 2022. DOI: 10.1155/2022/5535100.
- Galindo-González, L. & Deyholos, M.K.** 2016. RNA-seq Transcriptome Response of Flax (*Linum usitatissimum* L.) to the Pathogenic Fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. lini. *Frontiers in Plant Science* 7: 1766. DOI: 10.3389/fpls.2016.01766.
- Ganjeali, V., Cheniany, M., Taheri, P. & Mazaheri-Tirani, M.** 2022. Evaluation of treatment of copper oxide nanoparticles on inhibition of *Fusarium culmorum* in wheat. 22<sup>nd</sup> national and 10<sup>th</sup> international congress on Biology. Shahrekord, Iran.
- Ghahremannejad, F., Hoseini, E. & Jalali, S.** 2021. The cultivation and domestication of wheat and barley in Iran, brief review of a long history. *The Botanical Review* 87: 1-22.
- Hafeez, A., Razaq, A., Mahmood, T. & Jhanzab, H.M.** 2015. Potential of copper nanoparticles to increase growth and yield of wheat. *Polymers for Advanced Technologies* 1: 6-11.
- Hao, Y., Fang, P., Ma, C., White, J.C., Xiang, Z., Wang, H., Zhang, Zh., Rui, Y. & Xing, B.** 2019. Engineered nanomaterials inhibit *Podospaera pannosa* infection on rose leaves by regulating phytohormones. *Environmental Research* 170: 1-6.
- Hao, Y., Yuan, W., Ma, C., White, J. C., Zhang, Z., Adeel, M., Zhou, T., Rui, Y. & Xing, B.** 2018. Engineered nanomaterials suppress Turnip mosaic virus infection in tobacco (*Nicotiana benthamiana*). *Environmental Science: Nano* 5: 1685-1693.
- Health, R.L. & Packer, L.** 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hossain, Z., Yasmeen, F. & Komatsu, S.** 2020. Nanoparticles: synthesis, morphophysiological effects, and proteomic responses of crop plants. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 3056. DOI: 10.3390/ijms21093056.
- Hsiao, M.T., Chen, S.F., Shieh, D.B. & Yeh, C.S.** 2006. One-pot synthesis of hollow Au<sub>3</sub>Cu<sub>1</sub> spherical-like and biomineral botallackite Cu<sub>2</sub>(OH)<sub>3</sub>Cl flowerlike architectures exhibiting antimicrobial activity. *The Journal of Physical Chemistry B* 110: 205-210.
- Husen, A. & Siddiqi, K. S.** 2014. Photosynthesis of nanoparticles: concept, controversy and application. *Nanoscale Research Letters* 9: 1-24.
- Ibrahim, A.S., Ali, G.A., Hassanein, A., Attia, A.M. & Marzouk, E.R.** 2022. Toxicity and uptake of CuO nanoparticles: Evaluation of an emerging nanofertilizer on wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Sustainability* 14: 4914. DOI: 10.3390/su14094914.
- Kazemi, M. & Shariati, F.** 2019. The effect of Copper Oxide nanoparticle on pigments systems of algae *Scenedesmus dimorphus*. *Biological Journal of Microorganism* 8: 13-25.
- Kazemian, S., Zarrinnia, V., Khosroshahli, M. & Hasanazadeh, N.** 2019. Investigation on the control effects of green copper oxide (CuO) nanoparticles on the tomato gray mold disease caused by *Botrytis cinerea*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 35: 54-67. (In Persian)
- Ksieniewicz-Woźniak, E., Bryła, M., Michałowska, D., Waśkiewicz, A. & Yoshinari, T.** 2021. Transformation of Selected *Fusarium* Toxins and Their Masked Forms during Malting of Various Cultivars of Wheat. *Toxins* 13: 866. DOI: 10.3390/toxins13120866.
- Kumar, P., Yadava, R.K., Gollen, B., Kumar, S., Verma, R.K. & Yadav, S.** 2011. Nutritional contents and medicinal properties of wheat: a review. *Life Sciences and Medicine Research* 22: 1-10.
- Kumari, K., Warepam, M., Bansal, A.K., Dar, T. A., Uversky, V.N. & Singh, L.R.** 2022. The gut metabolite, trimethylamine N-oxide inhibits protein folding by affecting cis-trans isomerization and induces cell cycle arrest. *Cellular and Molecular Life Sciences* 79: 1-16.
- Liang, G., Pu, Y., Yin, L., Liu, R., Ye, B., Su, Y. & Li, Y.** 2009. Influence of different sizes of titanium

- dioxide nanoparticles on hepatic and renal functions in rats with correlation to oxidative stress. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 72: 740-745.
- Ma, C., Borgatta, J., De La Torre-Roche, R., Zuverza-Mena, N., White, J.C., Hamers, R.J. & Elmer, W.H.** 2019. Time-dependent transcriptional response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to Cu nanoparticle exposure upon infection with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 7: 10064-10074.
- Nair, P.M.G. & Chung, I.M.** 2014. Assessment of silver nanoparticle-induced physiological and molecular changes in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental Science and Pollution Research* 21: 8858-8869.
- Oussou-Azo, A.F., Nakama, T., Nakamura, M., Futagami, T. & Vestergaard, M.D.C.M.** 2020. Antifungal potential of nanostructured crystalline copper and its oxide forms. *Nanomaterials* 10: 1003. DOI: 10.3390/nano10051003.
- Pariona, N., Paraguay-Delgado, F., Basurto-Cereceda, S., Morales-Mendoza, J. E., Hermida-Montero, L. A. & Mtz-Enriquez, A.I.** 2020. Shape-dependent antifungal activity of ZnO particles against phytopathogenic fungi. *Applied Nanoscience* 10: 435-443.
- Parry, D.W., Jenkinson, P. & McLeod, L.** 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grains—a review. *Plant Pathology* 44: 207-238.
- Pellan, L., Durand, N., Martinez, V., Fontana, A., Schorr-Galindo, S. & Strub, C.** 2020. Commercial biocontrol agents reveal contrasting compartments against two mycotoxigenic fungi in cereals: *Fusarium graminearum* and *Fusarium verticillioides*. *Toxins* 12: 152. DOI: 10.3390/toxins12030152.
- Pourakbar, L. & Ebrahimzade, N.** 2014. Growth and physiological responses of *Zea mays* L. to Cu and Ni stress. *Applied Field Crops Research* 27: 147-159.
- Rajput, V., Minkina, T., Sushkova, S., Behal, A., Maksimov, A., Blicharska, E., Ghazaryan, K., Movsesyan, H. & Barsova, N.** 2020. ZnO and CuO nanoparticles: a threat to soil organisms, plants, and human health. *Environmental Geochemistry and Health* 42: 147-158.
- Rastegaran, M. M., Hassanpour, H. & Ziyadi, H.** 2022. Synthesized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles induced antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content in *Matricaria chamomilla* seedlings. *Iranian Journal of Plant Physiology* 12: 4003-4011.
- Saharan, V., Sharma, G., Yadav, M., Choudhary, M.K., Sharma, S.S., Pal, A., Raliya, R., Biswas, P. & Biswas, P.** 2015. Synthesis and in vitro antifungal efficacy of Cu–chitosan nanoparticles against pathogenic fungi of tomato. *International Journal of Biological Macromolecules* 75: 346-353.
- Scherm, B., Balmas, V., Spanu, F., Pani, G., Delogu, G., Pasquali, M. & Migheli, Q.** 2013. *Fusarium culmorum*: causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Molecular Plant Pathology* 14: 323-341.
- Smart, R.E. & Bingham, G.E.** 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology* 53: 258-260.
- Soltani, E., Rajabian, T., Abrishamchi, P. & Tali, D.** 2016. Physiological and biochemical responses of (*Melissa officinalis*) to nickel stress and the protective role of salicylic acid. *Archives of Agronomy and Soil Science* 63: 330-343.
- Spanos, A., Athanasiou, K., Ioannou, A., Fotopoulos, V. & Krasia-Christoforou, T.** 2021. Functionalized magnetic nanomaterials in agricultural applications. *Nanomaterials*. 11: 3106. DOI: 10.3390/nano11113106.
- Swapnil, P., Meena, M., Singh, S.K., Dhuldhaj, U. P. & Marwal, A.** 2021. Vital roles of carotenoids in plants and humans to deteriorate stress with its structure, biosynthesis, metabolic engineering and functional aspects. *Current Plant Biology* 26: 100203. DOI: 10.1016/j.cpb.2021.100203.
- Terzi, R. & Kadioglu, A.** 2006. Drought stress tolerance and the antioxidant enzyme system. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 48: 89-96.
- Tiwari, S.K., Sahoo, S., Wang, N. & Huczko, A.** 2020. Graphene research and their outputs: Status and prospect. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices* 5: 10-29.
- Tzvetkova, N. & Kolarov, D.** 1996. Effect of air pollution on carbohydrate and nutrients concentrations in some deciduous tree species, Bulg. *Journal of Plant Physiology* 22: 53-63.
- Velikova, V., Yordanov, I. & Edreva, A.** 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid Rain-treated bean plants: Protective role of exogenous poly-amines. *Plant Science* 151: 59-66.
- Viet, P.V., Nguyen, H.T., Cao, T.M. & Hieu, L.V.** 2016. *Fusarium* antifungal activities of copper nanoparticles synthesized by a chemical reduction method. *Journal of Nanomaterials* 2016. DOI: 10.1155/2016/1957612.
- Wagacha, J.M. & Muthomi, J.W.** 2007. *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection* 26: 877-885.
- Winter, R.S., Yan, J., Busche, C., Mathieson, J.S., Prescimone, A., Brechin, E. K., Long, D.L. & Cronin, L.** 2013. Nanoscale control of polyoxometalate assembly: a {Mn<sub>8</sub>W<sub>4</sub>} cluster within a {W<sub>36</sub>Si<sub>4</sub>Mn<sub>10</sub>} cluster showing a new type of isomerism. *Chemistry—A European Journal* 19: 2976-2981.
- Wu, Z.P., Caracciolo, D.T., Maswadeh, Y., Wen, J., Kong, Z., Shan, S., Hopkins, E., Park, K., Sharma, A., Ren, Y., Petkov, V., Wang, L. & Zhong, C.J.** 2021. Alloying–realloying enabled high durability for Pt–Pd-3d-transition metal nanoparticle fuel cell catalysts. *Nature Communications* 12: 1-14.
- Yu, Z., Li, Q., Wang, J., Yu, Y., Wang, Y., Zhou, Q. & Li, P.** 2020. Reactive oxygen species-related nanoparticle toxicity in the biomedical field. *Nanoscale Research Letters* 15: 1-14.
- Zakharova, O., Kolesnikov, E., Shatrova, N. & Gusev, A.** 2019. The effects of CuO nanoparticles on wheat seeds and seedlings and *Alternaria solani* fungi: in vitro study. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 226: 012036.

Zuverza-Mena, N., Medina-Velo, I.A., Barrios, A.C.,  
Tan, W., Peralta-Videa, J.R. & Gardea-Torresdey,  
J.L. 2015. Copper nanoparticles/compounds impact

agronomic and physiological parameters in cilantro  
(*Coriandrum sativum*). Environmental Science:  
Processes & Impacts 17: 1783-1793.

\*\*\*\*\*

**How to cite this article:**

**Ganjeali, V., Cheniany, M., Taheri, P., Mazaheri-Tirani, M.** 2022. Evaluation of antifungal activity of nano and bulk forms of copper oxide in wheat (Roshan cultivar). *Nova Biologica Reperta* 10: 33-46. (In Persian).

گنجعلی، و.، چنیانی، م.، طاهری، پ.، مظاهری تیرانی، م. ۱۴۰۲. ارزیابی فعالیت ضدقارچی فرم‌های نانو و توده‌ای مس اکسید در رقم روشن گندم. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۰: ۳۳-۴۶.