

Investigating the effect of green copper nanoparticles on physiological and biochemical parameters of bean (*Phaseolus vulgaris*) plants under salinity stress

Fatemeh Naghavi¹, Seyed MohammadReza Khoshroo^{2*},
Maryam Kazemipour³, Mehrnaz Mahmoudi Zarandi⁴

¹Department of Biology, Ke.C., Islamic Azad University, Kerman, Iran, Email: f.naghavi9888@iau.ac.ir

²Department of Biology, Ke.C., Islamic Azad University, Kerman, Iran, Email: smr.khoshroo@iau.ac.ir

³Department of Chemistry, Ke.C., Islamic Azad University, Kerman, Iran, Email: M.kazmipour66@iau.ac.ir

⁴Department of Biology, Ke.C., Islamic Azad University, Kerman, Iran,
Email: mehnaz.mahmoudi@iau.ac.ir

Article type:	Abstract
---------------	----------

Research article

Article history

Received: 13.05.2025

Revised: 02.08.2025

Accepted: 14.08.2025

Published: 23.09.2025

Keywords

Antioxidant enzymes

Salinity stress

Photosynthetic

pigments

Pinto bean

Green copper

nanoparticles

Soil salinity is a major agricultural challenge that limits plant growth and productivity. This study evaluated the physiological and biochemical responses of pinto bean plants to the application of green-synthesized copper nanoparticles (with Aloe vera extract) under salinity stress conditions. The experiment was conducted as a factorial design based on a completely randomized design with four salinity levels (0, 40, 80, 120 mM sodium chloride) and four concentrations of copper nanoparticles (0, 20, 60, 150 mg/L) in three replicates. Results showed that salinity stress reduced chlorophyll a, b, total chlorophyll, and carotenoid contents significantly ($P < 0.05$). The activity of catalase and peroxidase antioxidant enzymes increased at low salinity but decreased at 120 mM. Applying copper nanoparticles (CuNP), particularly at 150 mg/L under 120 mM salinity, significantly enhanced chlorophyll a, carotenoids, and catalase activity, while reducing chlorophyll b and peroxidase activity. This interaction highlights the potential of green copper nanoparticles to mitigate the adverse effects of salinity. The CuNP size (30-35 nm) and uniform distribution were confirmed using scanning electron microscopy and DLS analysis. These findings suggest green copper nanoparticles as a novel approach to improve pinto bean tolerance to salinity. However, effects are concentration-dependent and require further field studies and environmental impact assessments.

Cite this article as: Naghavi, F., Khoshroo, S.M.R., Kazemipour, M., Mahmoudi Zarandi, M.. (2025). Investigating the effect of green copper nanoparticles on physiological and biochemical parameters of bean (*Phaseolus vulgaris*) plants under salinity stress. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 79: 110-120.



©The author(s)

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch



<https://doi.org/10.71890/IPER.2025.1206618>

بررسی اثر نانوذرات مس سبز بر پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) تحت تنش شوری

فاطمه نقوی^۱، سیدمحمد رضا خوشرو^{۲*}، مریم کاظمی پور^۳، مهرناز محمودی زرنندی^۴

^۱ گروه زیست شناسی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران، رایانامه: f.naghavi9888@iau.ac.ir

^۲ گروه زیست شناسی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران، رایانامه: smr.khoshroo@iau.ac.ir

^۳ گروه شیمی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران، رایانامه: M.kazmipour66@iau.ac.ir

^۴ گروه زیست شناسی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران، رایانامه: mehrnaz.mahmoudi@iau.ac.ir

چکیده

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

شوری خاک، چالشی کلیدی در کشاورزی، رشد و بهره‌وری گیاهان را محدود می‌کند. این پژوهش تأثیر نانوذرات مس (CuNPs) سنتز شده به روش سبز (با عصاره آلوه‌ورا) را بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris*) تحت تنش شوری بررسی کرد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح شوری (۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و چهار غلظت نانوذرات مس (۰، ۲۰، ۶۰، ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تنش شوری به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) محتوای کلروفیل a، b، کلروفیل کل، و کاروتنوئیدها را کاهش داد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در شوری پایین افزایش یافت، اما در ۱۲۰ میلی‌مولار روند نزولی را نشان داد. کاربرد نانوذرات مس، به‌ویژه در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تحت شوری ۱۲۰ میلی‌مولار، به‌طور معنی‌داری کلروفیل a، کاروتنوئیدها، و فعالیت کاتالاز را افزایش داد، اما از میزان کلروفیل b و فعالیت پراکسیداز کاست. این برهم‌کنش نشان‌دهنده پتانسیل نانوذرات مس سبز در تعدیل اثرات منفی شوری بود. همچنین اندازه نانوذرات (۳۰-۳۵ نانومتر) و توزیع یکنواخت آن‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی و تحلیل DLS تأیید شد. این یافته‌ها کاربرد نانوذرات مس سبز را به‌عنوان راهکاری نوین برای بهبود تحمل لوبیا چیتی به شوری پیشنهاد می‌کنند، اگرچه اثرات وابسته به غلظت بوده و نیاز به بررسی‌های بیشتر در شرایط مزرعه و ارزیابی اثرات زیست‌محیطی دارد.

واژه‌های کلیدی:

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی
تنش شوری
رنگیزه‌های فتوسنتزی
لوبیا چیتی
نانوذرات مس سبز

استناد: نقوی، فاطمه؛ خوشرو، سیدمحمد رضا؛ کاظمی پور، مریم؛ محمودی زرنندی، مهرناز. (۱۴۰۴). بررسی اثر نانوذرات مس سبز بر پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) تحت تنش شوری. *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۷۹: ۱۱۰-۱۲۰.



<https://doi.org/10.71890/IPER.2025.1206618>

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسندگان.



مقدمه

شوری خاک و آب، یکی از مهم‌ترین چالش‌های کشاورزی مدرن، به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک، به‌طور قابل‌توجهی رشد و بهره‌وری محصولات زراعی را محدود می‌کند. افزایش غلظت یون‌های سدیم (Na^+) و کلرید (Cl^-) در خاک باعث اختلال در تعادل اسمزی، کاهش جذب آب و مواد مغذی، و ایجاد استرس اکسیداتیو از طریق تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Rahneshan et al., 2018). این تنش‌ها فرآیندهای کلیدی فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، و متابولیسم آنتی‌اکسیدانی را مختل کرده و عملکرد گیاه را کاهش می‌دهند (Hnilickova et al., 2021). با توجه به رشد جمعیت جهانی و افزایش تقاضا برای امنیت غذایی، یافتن راهکارهای نوین برای بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Van Nguyen et al., 2022).

لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris*)، به‌عنوان دومین حبوبات مهم پس از سویا از نظر اقتصادی و غذایی، به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا، تنوع ژنتیکی، و کاربرد گسترده در رژیم‌های غذایی جهانی، نقش کلیدی در کشاورزی پایدار ایفا می‌کند (Islam et al., 2023). با این حال، این گیاه به شوری حساس است و تنش شوری می‌تواند با کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، اختلال در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، و کاهش بیوماس، عملکرد محصول را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد (Selim, 2022). این حساسیت، ضرورت توسعه فناوری‌های نوین برای بهبود مقاومت لوبیا چیتی به شوری را برجسته می‌کند. نانوتکنولوژی به‌عنوان یک رویکرد نوآورانه، پتانسیل بالایی در بهبود پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی نشان داده است. نانوذرات، به دلیل اندازه کوچک (۱-۱۰۰ نانومتر) و خواص فیزیکوشیمیایی

منحصربه‌فرد، می‌توانند با نفوذ به سلول‌های گیاهی، فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، متابولیسم آنتی‌اکسیدانی، و تنظیم ژن‌های مرتبط با استرس را تحت تأثیر قرار دهند (Bhandari et al., 2023). نانوذرات مس، به‌عنوان یک ریزمغذی ضروری، در تشکیل کلروفیل، تنفس، متابولیسم کربوهیدرات و پروتئین، و فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) نقش دارند (Nguyen et al., 2020). با این حال، نانوذرات مس سنتز شده به روش‌های شیمیایی ممکن است به دلیل سمیت و اثرات منفی زیست‌محیطی، محدودیت‌هایی در کاربرد کشاورزی داشته باشند (Sharma et al., 2012).

سنتز سبز نانوذرات، با استفاده از عصاره‌های گیاهی مانند آلوئه ورا، به دلیل سازگاری با محیط زیست، کاهش سمیت، و هزینه کم، جایگزینی پایدار برای روش‌های شیمیایی ارائه می‌دهد (Kumar et al., 2024). آلوئه ورا، حاوی ترکیبات زیست‌فعال مانند پلی‌ساکاریدها و فنول‌ها، به‌عنوان عامل کاهنده و تثبیت‌کننده در سنتز نانوذرات مس عمل می‌کند، که منجر به تولید نانوذرات با اندازه یکنواخت و پایداری بالا می‌شود (Nayak & Begur, 2023). این روش نه تنها اثرات زیست‌محیطی را کاهش می‌دهد، بلکه می‌تواند کارایی نانوذرات در بهبود پاسخ گیاهان به تنش‌ها را افزایش دهد.

با وجود مطالعات گسترده درباره تأثیر نانوذرات فلزی بر گیاهان تحت تنش شوری (Hnilickova et al., 2021; Mahawar et al., 2024)، اطلاعات محدودی درباره اثرات نانوذرات مس (CuNPs) سبز بر لوبیا چیتی، به‌ویژه در سطح پارامترهای فیزیولوژیکی (مانند رنگیزه‌های فتوسنتزی) و بیوشیمیایی (مانند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) وجود دارد. این شکاف تحقیقاتی، ضرورت بررسی

دقیق‌تر نقش نانوذرات مس سبز در تعدیل اثرات تنش شوری را برجسته می‌کند. انتظار می‌رود که نانوذرات مس سبز با تقویت مکانیسم‌های دفاعی گیاه، مانند افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و حفظ محتوای کلروفیل، بتوانند تحمل لوبیا چیتی به شوری را بهبود بخشند (Faraz et al., 2022). علاوه بر این، بررسی اثرات وابسته به غلظت نانوذرات و پیامدهای زیست‌محیطی آن‌ها برای کاربرد پایدار در کشاورزی ضروری است.

هدف این پژوهش، ارزیابی تأثیر نانوذرات مس سنتز شده با عصاره آلوه‌ورا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کلروفیل کل، و کاروتنوئیدها) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) در لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris*، رقم کوشا) تحت سطوح مختلف تنش شوری است. این مطالعه با تمرکز بر روش سنتز سبز و کاربرد آن در کشاورزی پایدار، به دنبال ارائه راهکاری نوین برای کاهش اثرات منفی شوری و تقویت امنیت غذایی از طریق بهبود عملکرد و مقاومت گیاهان در شرایط چالش‌برانگیز است. نتایج این پژوهش می‌تواند به درک بهتر مکانیسم‌های تعامل نانوذرات مس سبز با گیاهان و توسعه استراتژی پایدار کمک کند.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل شامل چهار سطح شوری (۰، ۴۰، ۸۰، و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و چهار سطح نانوذرات مس سبز (۰، ۲۰، ۶۰، و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) با سه تکرار انجام شد. آزمایش‌های اولیه جوانه‌زنی بر اساس استاندارد (ISTA) (Kolasinska et al., 2000) برای بهینه‌سازی تیمارها اجرا شدند.

تهیه نانوذرات مس سبز: نانوذرات مس با روش سنتز زیستی و استفاده از عصاره برگ آلوه‌ورا تهیه شدند. برای این منظور، ۲۵ گرم برگ تازه آلوه‌ورا شسته و خرد، سپس در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب یونیزه‌شده در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شد. محلول از طریق پارچه استریل و کاغذ صافی واتمن (اندازه منافذ ۰/۳ میکرومتر) فیلتر و عصاره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس، ۵ میلی‌لیتر عصاره آلوه‌ورا به ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۱۰ میلی‌مولار سولفات مس (CuSO_4) اضافه و مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۹۸-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد روی همزن مغناطیسی هم زده شد. تغییر رنگ محلول از آبی تیره به قرمز تیره نشان‌دهنده تشکیل نانوذرات مس بود. نانوذرات با سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی، با آب مقطر و اتانول ۷۰٪ شسته، و در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت خشک شدند (Kumar et al., 2015)).

مشخصات نانوذرات با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و تحلیل پراکندگی دینامیکی نور (DLS) بررسی شد.

آماده‌سازی و کشت گیاه: بذرهای لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris*، رقم کوشا) از شرکت نگین بذر پارس ایران تهیه شدند. سیصد بذر یکنواخت (از نظر شکل، اندازه، و وزن) با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ (۳ دقیقه) و اتانول ۷۰٪ (۲ دقیقه) ضدعفونی و با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بذرها به مدت ۳۰ دقیقه در آب مقطر خیسانده شده و در ظروف پتری حاوی کاغذ صافی استریل (۱۰ بذر در هر ظرف) با آب مقطر آبیاری شدند. ظروف با پارافیلیم مهر و موم شده و در انکوباتور فن‌دار در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ روز نگهداری شدند. ده نهال سالم و یکنواخت به گلدان‌های پلاستیکی سیاه حاوی خاک شنی رسی، منتقل شدند. خاک شنی رسی

با ترکیب بافتی ۵۵٪ ماسه، ۲۵٪ سیلت، و ۲۰٪ رس (تعیین شده با روش هیدرومتری) از مزرعه‌ای در منطقه کرمان جمع‌آوری شد. خاک با الک ۲ میلی‌متری غربال و با آب مقطر شستشو شد تا املاح اضافی حذف شوند. محتوای ماده آلی خاک ۱/۵٪، نیتروژن کل ۰/۱٪، فسفر قابل دسترس ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، و پتاسیم قابل تبادل ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (تحلیل شده با روش‌های استاندارد Walkley-Black و Olsen) (Meersmans et al., ۲۰۰۹). هدایت الکتریکی اولیه خاک ۰/۳ dS/m و ظرفیت نگهداری آب ۲۰٪ بود. pH خاک با افزودن محلول‌های ۰/۱ مولار HCl و NaOH به ۷ تنظیم شد. خاک در گلدان‌های پلاستیکی سیاه (حجم ۱ لیتر) با تراکم ظاهری ۱/۳ گرم بر سانتی‌متر مکعب قرار گرفت. گلدان‌ها در اتاق رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی (شدت نور ۴۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه)، ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد، و رطوبت نسبی ۶۰٪ قرار گرفتند. تعداد نهال‌ها در هر گلدان به ۵ نهال در مرحله سه‌برگی کاهش یافت.

تیمارها: محلول‌های کلرید سدیم با غلظت‌های ۰، ۴۰، ۸۰، و ۱۲۰ میلی‌مولار از محلول اولیه ۱۰۰۰ میلی‌مولار با روش رقت‌سازی سریال تهیه و pH آن‌ها با HCl و NaOH (۰/۱ مولار) روی ۷ تنظیم شد. محلول‌های نانوذرات مس سبز با غلظت‌های ۰، ۲۰، ۶۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر آماده شدند (Mekala and Rajan, 2016). نانوذرات مس به‌صورت آبیاری ریشه‌ای (۱۰۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان، سه بار در هفته) به مدت ۳ هفته اعمال شدند. از هفته دوم، تیمارهای شوری به‌صورت تدریجی اعمال شدند تا از شوک اسمزی جلوگیری شود. برگ‌های تازه ۷ هفته پس از کشت برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی جمع‌آوری شدند.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی: نمونه‌های برگ (۰/۵ گرم) از برگ‌های کاملاً باز شده با نیتروژن مایع پودر شده و در ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ همگن شدند. محلول با سانتریفیوژ (۵۰۰۰ دور، ۱۵ دقیقه) و فیلتراسیون (کاغذ واتمن شماره ۱) خالص‌سازی شد. جذب عصاره در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳، و ۴۷۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر UV-Vis (مدل DB-20) اندازه‌گیری شد. غلظت کلروفیل a، b، کلروفیل کل، و کاروتنوئیدها با فرمول‌های زیر محاسبه شد (Shahraki et al., 2024; Wellburn, 1994):

- $\text{Chl a} = ((13.95 \times A_{665}) - (6.88 \times A_{649})) \times (V/1000) \times W$
- $\text{Chl b} = ((24.96 \times A_{649}) - (7.32 \times A_{665})) \times (V/1000) \times W$
- $\text{Car} = [((A_{470} \times V \times DF \times 5.1) - (0.114 \times \text{Chl a}) - (1.03 \times \text{Chl b}))/245] \times (V/1000) \times W$

(وزن برگ W، ضریب رقت DF، حجم حلال V، جذب: A)

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

کاتالاز (CAT): فعالیت کاتالاز بر اساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در ۲۴۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (CARY Varian 500) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل بافر تریس ۵۰ میلی‌مولار (H_2O_2 ، pH=7.5، ۱۵ میلی‌مولار)، و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر بود. یک واحد آنزیمی به‌عنوان مقدار آنزیمی تعریف شد که ۱ میلی‌مول H_2O_2 را در ۱ دقیقه تجزیه کند (Marques et al., 2014).

پراکسیداز (POD): فعالیت پراکسیداز با روش Biles & Abeles (۱۹۷۵) سنجیده شد. نمونه‌های برگ (۰/۵ گرم) با ۳۰ میلی‌لیتر بافر تریس-گلیسین سرد ساییده و در ۱۲۰۰۰ دور (۴ درجه سانتی‌گراد، ۶ دقیقه) سانتریفیوژ شدند. مخلوط واکنش شامل ۴ میلی‌لیتر بافر استات سدیم (۰/۴ مولار، pH=5)، ۰/۴ میلی‌لیتر H_2O_2 (۳٪)، ۰/۲ میلی‌لیتر بنزیدین (۲٪ در متانول ۵۰٪)، و

۰/۲ میلی لیتر عصاره بود. تغییرات جذب در ۵۳۰ نانومتر ثبت شد (Abeles & Biles, 1991).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با نرم افزار SPSS v.26 تحلیل شدند. نرمال بودن داده‌ها با آزمون کلموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۵ ($P \leq 0.05$) انجام شد.

نتایج

مشخصات نانوذرات مس سبز: تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) گسیل میدانی از نانوذرات مس در بزرگنمایی ۷۵ هزار برابر و ولتاژ ۱۰ هزار ولت در (شکل ۱A) نشان داده شده است. میانگین اندازه ذرات مس حدود ۳۳-۳۵ نانومتر است و پراکندگی نسبتاً یکنواخت و همگن از نانوذرات در تصویر دیده می‌شود. تجزیه و تحلیل DLS توزیع اندازه ذرات در محلول ۰/۳۲۰ است که نشان دهنده ایجاد نانوذرات با توزیع یکنواخت و اندازه کوچک در محلول است. قطر هیدرودینامیکی نانوذرات اندازه‌گیری شده در این پژوهش برابر با ۳۰ نانومتر است.

اثر شوری و نانوذرات مس بر رنگیزه‌های فتوسنتزی تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) نشان داد که شوری، نانوذرات مس، و برهم‌کنش آن‌ها اثر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کلروفیل کل، و کاروتنوئیدها) داشتند (جدول ۱). افزایش شوری (۴۰ تا ۱۲۰ میلی مولار NaCl) محتوای کلروفیل a، b، و کلروفیل کل را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. بالاترین سطح شوری (۱۲۰ میلی مولار)، محتوای کلروفیل a، b، و کلروفیل کل به‌ترتیب ۳۲/۵٪، ۴۵٪/۲، و ۳۸/۷٪ نسبت به تیمار شاهد (۰ میلی مولار) کاهش یافت. با این حال، کاربرد نانوذرات مس سبز (۱۵۰ میلی گرم بر لیتر) در شوری ۱۲۰ میلی مولار، محتوای کلروفیل a را تا ۲۵/۳٪ و کاروتنوئیدها را تا ۱۸٪/۶ نسبت به تیمار بدون نانوذرات افزایش داد ($P < 0.05$). در مقابل، محتوای کلروفیل b در این شرایط ۱۲/۴٪ کاهش یافت. در شوری‌های پایین‌تر (۴۰ و ۸۰ میلی مولار)، نانوذرات مس (۶۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر) اثر مثبت کمتری داشتند، اما همچنان بهبود معنی‌داری در کلروفیل a و کاروتنوئیدها مشاهده شد (شکل ۱).

جدول ۱: تجزیه و تحلیل واریانس میانگین مربعات اثرات شوری، نانوذره مس بر پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه لوبیا چیتی

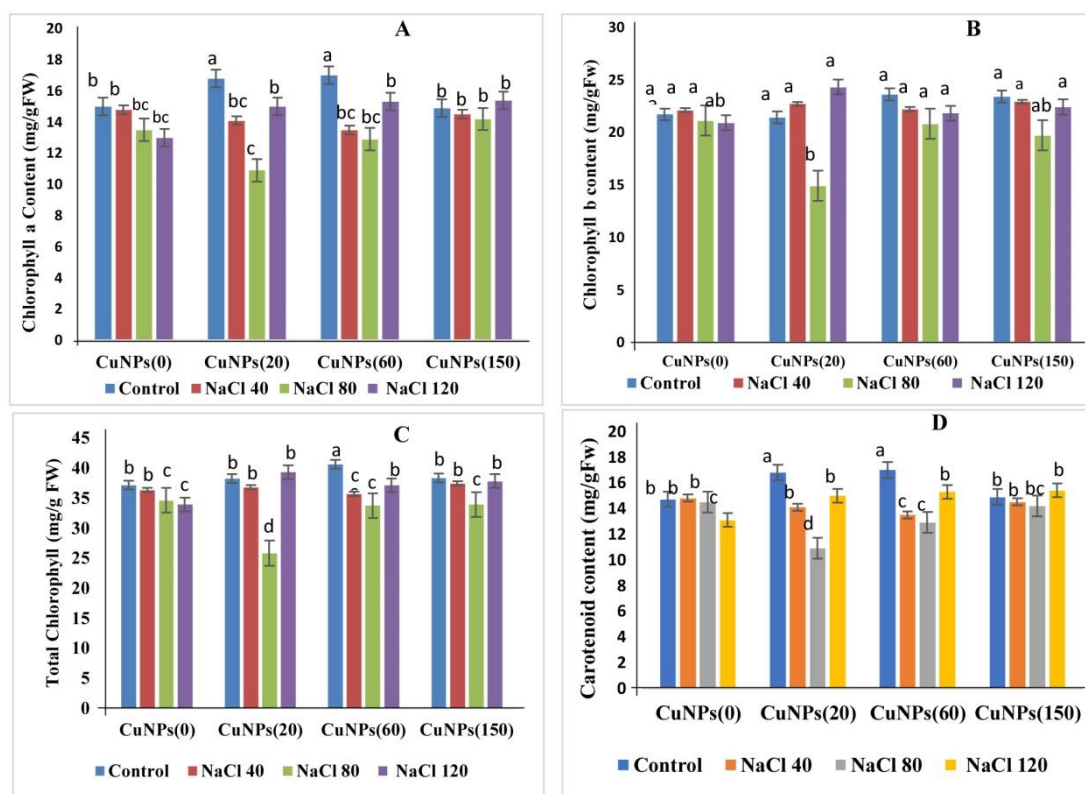
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	کاتالاز	پراکسیداز
شوری	۳	۴۲/۶۹*	۱۱۴/۳۵*	۲۸۶/۵۹*	۰/۸۷*	۰/۰۲*	۳۴/۴۸*
نانوذره مس	۳	۶۵/۹۷*	۵۶/۴۹*	۳۹/۵۳*	۰/۶۸*	۲۱/۹۴*	۰/۰۵*
شوری × نانوذره مس	۹	۶/۳۲*	۴۱/۶۷*	۴۹/۹۸*	۱/۳۶*	۷۱/۰۷*	۰/۰۲*
خطا	۱۱۰	۰/۱۱	۳/۱۸	۲/۴۶	۰/۲۳	۲۰/۹۲	۰/۲۹

*: معنی‌داری در سطح $P < 0.05$ ، رنگیزه‌ها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر و آنزیم‌ها بر حسب واحد بر گرم وزن تر اندازه‌گیری شدند.

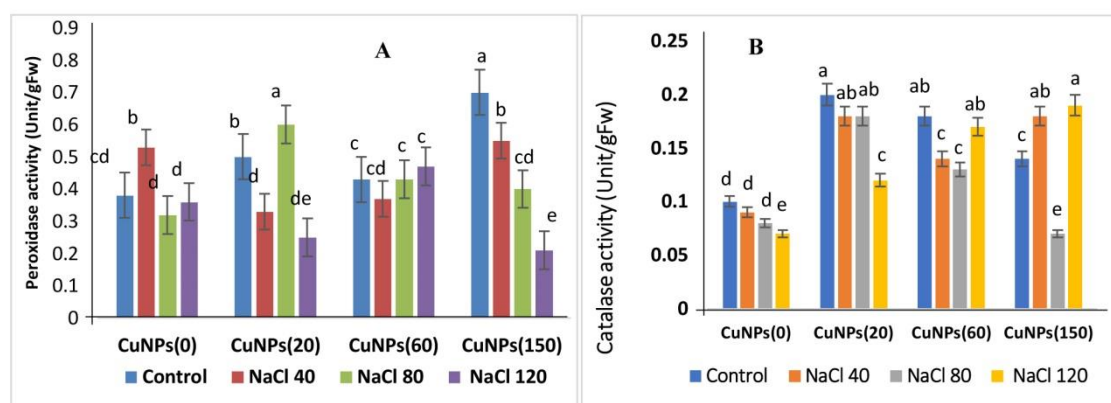
پراکسیداز در شوری ۱۲۰ میلی مولار و با نانوذرات ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۳/۲۰٪ کاهش یافت. در شوری های پایین تر، نانوذرات مس اثر متغیری بر فعالیت پراکسیداز داشتند (شکل ۲).

برهم کنش شوری و نانوذرات مس: برهم کنش شوری و نانوذرات مس بر کلروفیل a، کاروتنوئیدها، و کاتالاز معنی دار بود (جدول ۱). بالاترین اثر مثبت نانوذرات مس در غلظت ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر و شوری ۱۲۰ میلی مولار مشاهده شد، که نشان دهنده پتانسیل نانوذرات مس سبز در کاهش اثرات منفی شوری است.

اثر شوری و نانوذرات مس بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی: شوری و نانوذرات مس اثر معنی داری ($P < 0.05$) بر فعالیت آنزیم های کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) داشتند (شکل ۳). در شوری ۴۰ و ۸۰ میلی مولار، فعالیت کاتالاز به ترتیب ۴/۲۲٪ و ۸/۱۵٪ نسبت به شاهد افزایش یافت، اما در ۱۲۰ میلی مولار ۶/۲۸٪ کاهش یافت. کاربرد نانوذرات مس (۱۵۰ میلی گرم بر لیتر) در شوری ۱۲۰ میلی مولار، فعالیت کاتالاز را تا ۷/۳۵٪ نسبت به تیمار بدون نانوذرات افزایش داد ($P < 0.05$). در مقابل، فعالیت



شکل ۱: تاثیر تنش شوری در غلظت های ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار و نانوذره مس در غلظت های ۰، ۲۰، ۶۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر رنگیزه های فتوسنتزی گیاه لوبیا (Mean±SE)



شکل ۲: تاثیر تنش شوری در غلظت‌های ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار و نانوذره مس در غلظت‌های ۰، ۲۰، ۶۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر پارامترهای بیوشیمیایی گیاه لوبیا (Mean±SE)

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که تنش شوری به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کلروفیل کل، و کاروتنوئیدها) را در لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris*، رقم کوشا) کاهش داد، که با یافته‌های (Rahneshan et al., 2018) هم‌خوانی دارد. شوری با افزایش غلظت یون‌های سدیم و کلرید، تعادل اسمزی و هدایت روزنه‌ای را مختل می‌کند و با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، به ساختارهای کلروپلاستی و غشاهای سلولی آسیب می‌رساند (Hnilickova et al., 2021). کاهش محتوای کلروفیل b (۴۵/۲ درصد در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار) نسبت به کلروفیل a (۳۲/۵ درصد) شدیدتر بود، که احتمالاً به دلیل حساسیت بیشتر کلروفیل b به استرس اکسیداتیو است (Selim, 2022). این امر می‌تواند به کاهش نرخ فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد گیاه منجر شود.

کاربرد نانوذرات مس سبز، به‌ویژه در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تحت شوری ۱۲۰ میلی‌مولار، محتوای کلروفیل a و کاروتنوئیدها را به‌ترتیب ۲۵/۳٪ و ۱۸/۶٪ نسبت به تیمار بدون نانوذرات افزایش داد. این یافته با نتایج Van Nguyen et al. (۲۰۲۲) هم‌راستا

است، که نشان دادند نانوذرات مس می‌توانند با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با سنتز کلروفیل (مانند *ChlH*) و بهبود پایداری کلروپلاست، فتوسنتز را تقویت کنند. کاروتنوئیدها، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی، با خنثی‌سازی ROS از غشاهای کلروپلاستی محافظت می‌کنند (Bhandari et al., ۲۰۲۳). افزایش محتوای کاروتنوئیدها در حضور نانوذرات مس سبز ممکن است نتیجه نفوذ این نانوذرات به سلول‌های گیاهی و تحریک مسیرهای بیوسنتزی باشد (Faraz et al., 2022).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) تحت تأثیر شوری و نانوذرات مس قرار گرفت. در شوری‌های پایین (۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار)، فعالیت کاتالاز افزایش یافت (۲۲/۴٪ و ۱۵/۸٪)، که نشان‌دهنده فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی در برابر ROS است (Mahawar et al., 2024). با این حال، در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار، کاهش ۲۸/۶٪ در فعالیت کاتالاز مشاهده شد، که احتمالاً به دلیل آسیب به ساختارهای آنزیمی ناشی از استرس شدید است (Rahneshan et al., 2018). کاربرد نانوذرات مس سبز (۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) فعالیت کاتالاز را در شوری بالا تا ۳۵/۷٪ افزایش داد، که می‌تواند به دلیل

نقش مس به عنوان کوفاکتور در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یا تحریک بیان ژن‌های مرتبط مانند *CAT1* باشد (van Zelm et al., 2020). در مقابل، کاهش ۲۰/۳٪ در فعالیت پراکسیداز در حضور نانوذرات مس ممکن است به دلیل رقابت بین مسیرهای آنتی‌اکسیدانی یا مهار غیرمستقیم این آنزیم باشد (Faraz et al., 2022).

نتیجه‌گیری نهایی

نوآوری این مطالعه در استفاده از نانوذرات مس سبز سنتز شده با عصاره آلوئه‌ورا نهفته است. روش سنتز زیستی، با بهره‌گیری از ترکیبات زیست‌فعال آلوئه‌ورا (مانند پلی‌ساکاریدها و فنول‌ها)، نانوذرات پایدار و سازگار با محیط زیست تولید می‌کند (Kumar et al., 2015). این روش در مقایسه با سنتز شیمیایی، اثرات سمی کمتری داشته و برای کاربرد در کشاورزی پایدار مناسب‌تر است (Nayak and Begur, 2023). اندازه کوچک نانوذرات (۳۰-۳۵ نانومتر) و توزیع یکنواخت آن‌ها، نفوذ به سلول‌های گیاهی و تعامل با ساختارهای سلولی را تسهیل می‌کند، که می‌تواند توضیح‌دهنده اثرات مثبت مشاهده شده باشد. با وجود نتایج امیدوارکننده، این مطالعه محدودیت‌هایی دارد. اثرات نانوذرات مس سبز در

شرایط مزرعه‌ای بررسی نشده است، که برای کاربرد عملی ضروری است. همچنین، اثرات بلندمدت نانوذرات بر خاک و اکوسیستم، از جمله تجمع احتمالی مس، نیاز به ارزیابی دارد (Sharma, 2016). علاوه بر این، وابستگی اثرات به غلظت نانوذرات (مثلاً کاهش کلروفیل b در غلظت‌های بالا) نشان می‌دهد که دوزهای بهینه باید با دقت تعیین شوند. تحقیقات آینده می‌توانند بر مکانیسم‌های مولکولی (مانند تنظیم ژن‌های *ChlH*، *CAT1* یا *POD*) و ارزیابی سمیت نانوذرات در چرخه‌های کشت طولانی مدت تمرکز کنند.

این یافته‌ها پتانسیل نانوذرات مس سبز را به عنوان راهکاری نوین برای بهبود تحمل لوبیا چیتی به شوری و تقویت کشاورزی پایدار نشان می‌دهند. کاربرد این فناوری می‌تواند به افزایش عملکرد محصول در مناطق شور کمک کند، اما نیازمند مطالعات تکمیلی برای تأیید ایمنی و کارایی در مقیاس بزرگ است.

سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهید حاج قاسم سلیمانی (کرمان) بخاطر فراهم کردن شرایط آزمایشگاهی، دستگاهی و تجهیزات تشکر می‌شود.

References

- Abeles, F. B. and Biles, C. L. (1991). Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp. *Plant physiology*. 95(1): 269-273. <https://doi.org/10.1104/pp.95.1.269>
- Bhandari, G., Dhasmana, A., Chaudhary, P., Gupta, S., Gangola, S., Gupta, A., Rustagi, S., Shende, S. S., Rajput, V. D. and Minkina, T. (2023). A Perspective Review on Green Nanotechnology in Agro-Ecosystems: Opportunities for Sustainable Agricultural Practices & Environmental Remediation. *Agriculture*. 13(3): 668. <https://doi.org/10.3390/agriculture13030668>
- Faraz, A., Faizan, M., Hayat, S. and Alam, P. (2022). Foliar Application of Copper Oxide Nanoparticles Increases the Photosynthetic Efficiency and Antioxidant Activity in *Brassica juncea*. *Journal of Food Quality*. 2022(1): 5535100. <https://doi.org/10.1155/2022/5535100>
- Hnilickova, H., Kraus, K., Vachova, P., & Hnilicka, F. (2021). Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. *Plants*. 10(5): 845. <https://doi.org/10.3390/plants10050845>

- Islam, M. R., Sattar, D. E. S., Sattar, H., Perveen, S. and Akhlaq, L. (2023). The Effect of Different Concentration of Silver Nanoparticles on the Growth, Bioactive Compound, and Scanning Electron Microscopy of Germinated Kidney Beans (*Phaseolus vulgaris*). *BioNanoScience*. 13(3): 1064-1073. <https://doi.org/10.1007/s12668-023-01108-y>
- Kolasinska, K., Szyrmer, J. and Dul, S. (2000). Relationship between Laboratory Seed Quality Tests and Field Emergence of Common Bean Seed. *Crop Science*. 40: 470-475. <https://doi.org/https://doi.org/10.2135/cropsci2000.402470x>
- Kumar, D., Singh, R., Upadhyay, S. K., Verma, K. K., Tripathi, R. M., Liu, H., Dhankher, O. P., Tripathi, R. D., Sahi, S. V. and Seth, C. S. (2024). Review on interactions between nanomaterials and phytohormones: Novel perspectives and opportunities for mitigating environmental challenges. *Plant Science*. 340: 111964. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111964>
- Mahawar, L., Živčák, M., Barboricova, M., Kovár, M., Filaček, A., Ferencova, J., Vysoká, D. M. and Brestič, M. (2024). Effect of copper oxide and zinc oxide nanoparticles on photosynthesis and physiology of *Raphanus sativus* L. under salinity stress. *Plant Physiology Biochemistry*. 206: 108281. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.1>
- Marques, D. J., Broetto, F., Ferreira, M. M., Lobato, A. K. D. S., Ávila, F. W. D. and Pereira, F. J. (2014). Effect of potassium sources on the antioxidant activity of eggplant. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 38(6): 1836-1842. <https://doi.org/10.1590/s0100-66832014000600018>
- Meersmans, J., Van Wesemael, B. and Van Molle, M. (2009). Determining soil organic carbon for agricultural soils: a comparison between the Walkley & Black and the dry combustion methods (north Belgium). *Soil Use and Management*. 25(4): 346-353. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2009.00242.x>
- Mekala, J. and Rajan, M. R. (2016). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using aqueous wilayati thulsi (*Hyptis suaveolens*) extract-characterization and study of antibacterial effects. *International Journal of Current Research*. 8(10):39655-39661.
- Nayak, P. R. and Begur, D. N. (2023). Eco-friendly Biosynthesis of Silver Nanoparticles from *Aloe vera* Leaves Based on Various Parameters. *International Journal For Multidisciplinary Research*, 5(5): 1-8. <https://doi.org/10.36948/ijfmr.2023.v05i05.6181>
- Nguyen, L. T., Ho, W. F. and Yang, K. L. (2020). Copper-tripeptides (cuzymes) with peroxidase-mimetic activity. *Royal Society of Chemistry*, 10(30): 17408-17415. <https://doi.org/https://doi.org/10.1039/d0ra02472d>
- Rahnesan, Z., Nasibi, F. and Moghadam, A. A. (2018). Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Journal of Plant Interactions*, 13(1): 73-82. <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1424355>
- Selim, D. (2022). Physiological responses of *Phaseolus vulgaris* to some Nano bio-stimulants under salt stress conditions. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 60(3): 809-82. <https://doi.org/10.21608/assjm.2022.263823>
- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M., Saradhi, P. P., Khanna, P. K. and Arora, S. (2012). Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 167: 2225-2233. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9709-8>
- Van Nguyen, D., Nguyen, H. M., Le, N. T., Nguyen, K. H., Nguyen, H. T., Le, H. M., Nguyen, A. T., Dinh, N. T. T., Hoang, S. A. and Van Ha, C. (2022). Copper Nanoparticle Application Enhances Plant Growth and Grain Yield in Maize Under Drought Stress Conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41(1): 364-375. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10301-w>
- Wellburn, A. R. (1994) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144, 307–313.

- van Zelm, E., Zhang, Y. and Testerink, C. (2020). Salt Tolerance Mechanisms of Plants. Annual Review of Plant Biology. 71: 403-433. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005>
- Zia-ur-Rehman, M., Anayatullah, S., Irfan, E., Hussain, S. M., Rizwan, M., Sohail, M. I., Jafir, M., Ahmad, T., Usman, M. and Alharby, H .F. (2022). Nanoparticles assisted regulation of oxidative stress and antioxidant enzyme system in plants under salt stress: A review. Chemosphere. 137649. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137649>
- Zulfiqar, F. and Ashraf, M. (2021). Nanoparticles potentially mediate salt stress tolerance in plants. Plant Physiology and Biochemistry. 257-268. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.028>