

بهینه‌سازی عملکرد و صفات دفاعی نعنای گریپ‌فروتی (*Mentha suaveolens* × *piperita*) تحت شرایط تنش خشکی با کاربرد قارچ میکوریزا و نانوذرات کربن کوانتوم دات

محمد حقانی نیا^۱، عبدالله جوانمرد^{۲*}، فرزاد رسولی^۳، فاطمه حضرتی حاصلقویی افشار^۴

۱. دانش آموخته دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۲. استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۳. دانشیار، گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۴. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۰۱

چکیده

پژوهشی با هدف بررسی اثر نانوذرات کربن کوانتوم دات و قارچ میکوریزا آربوسکولار بر رشد و پاسخ‌های بیوشیمیایی نعنای گریپ‌فروتی تحت تنش خشکی اجرا شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح تنش خشکی (۹۰، ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و شش تیمار کودی شامل بدون کود (شاهد)، قارچ میکوریزا آربوسکولار (AMF)، کربن کوانتوم دات ۵ پی‌پی‌ام (CQD5)، کربن کوانتوم دات ۱۰ پی‌پی‌ام (CQD10)، AMF+CQD5 و AMF+CQD10 در ۴ تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که ترکیب AMF+CQD10 در شرایط آبیاری نرمال، به‌طور قابل توجهی به بهبود رشد و افزایش ماده خشک نعنای گریپ‌فروتی منجر گردید. با این حال، در شرایط تنش شدید خشکی، گیاهان شاهد با بالاترین سطح آسیب اکسیداتیو (محتوای بالای مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن) مواجه بودند، در حالی که تیمارهای حاوی AMF + CQD باعث کاهش این نشانگرهای استرس شدند. علاوه بر این، در شرایط خشکی، کاربرد AMF+CQD10 موجب افزایش غلظت فنل، فلاونوئید، پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، آنتوسیانین و اسید اسکوربیک گردید که نشان‌دهنده افزایش سازگاری به خشکی در نعنای گریپ‌فروت بود. همچنین، در شرایط خشکی با کاربرد AMF+CQD10، افزایش محتوای فنل، فلاونوئید، پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، آنتوسیانین و اسید اسکوربیک نشانگر بهبود مقاومت گیاه در برابر خشکی است. به‌طور کلی، ترکیب قارچ میکوریزا آربوسکولار و غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام نانوذرات کربن کوانتوم دات می‌تواند به‌طور موثری صفات دفاعی و بیوشیمیایی نعنای گریپ‌فروتی را در مواجه با تنش خشکی بهبود بخشد.

کلید واژگان: تنش‌های غیرزیستی، عملکرد، کشاورزی پایدار، متابولیت‌های ثانویه، نانوذرات، نعنای گریپ‌فروتی

مقدمه

در دهه‌های اخیر، با رشد تقاضا برای محصولات طبیعی و گیاهی، اهمیت کشت و تولید گیاهان دارویی افزایش یافته است. این موضوع نه تنها به دلیل کاربردهای گسترده این گیاهان، بلکه به دلیل عدم وجود عوارض جانبی شدید ناشی از مصرف محصولات شیمیایی است (Haghaninia et al., 2024). نعنای گریپ‌فروتی (*Mentha suaveolens* × piperita) یکی از گیاهان دارویی مهم از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است که به دلیل داشتن ترکیبات معطر و دارویی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. اسانس نعنای گریپ‌فروتی دارای مقادیر بالایی از ترکیبات موثره همچون، لینالول، لینالول‌استات، آلفا ترپینئول و ژرانیل‌استات است که این ترکیب‌ها دارای بوی خاصی بوده و می‌توان از آن‌ها در صنایع عطرسازی استفاده کرد (Jahanafrooz et al., 2024). در خانواده‌ی نعنائیان فقط نعنای گریپ‌فروتی هست که در آن لینالول به‌عنوان ترکیب غالب اسانس شناخته می‌شود و برگ‌های نعنای گریپ‌فروتی منبع بالقوه‌ای برای استخراج این ماده است (Napoli et al., 2023). همچنین، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که ترکیبات موجود در نعنای گریپ‌فروتی دارای خواص ضد باکتری، ضد قارچ، ضد التهاب و آنتی‌اکسیدانی هستند که این گیاه را به یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی در جهان تبدیل کرده است. با این حال، نعنای گریپ‌فروتی مانند بسیاری از گیاهان دارویی دیگر، به شرایط محیطی حساس بوده و فاکتورهای مختلف از جمله دما، رطوبت خاک، شدت نور و دسترسی به مواد غذایی می‌توانند بر رشد و تولید ترکیبات فعال زیستی آن تأثیرگذار باشند (Akbarzadeh et al., 2023). تنش‌های محیطی همچون خشکی، شوری و دماهای بالا اثرات منفی بر رشد گیاهان دارویی و محتوای متابولیت‌های ثانویه دارند (Arpanahi et al., 2020). خشکی باعث تغییر در ترکیب و غلظت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی می‌شود. این تغییرات معمولاً به‌صورت کاهش در تولید فلاونوئیدها، تانن‌ها و دیگر ترکیبات فنولیک مهم دارویی ظاهر می‌شود (Khodadadi et al., 2020). علاوه بر تأثیرات فیزیولوژیک، تنش خشکی باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌های گیاهی شده که منجر به اکسیداسیون پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Ghani et al., 2022).

برای مقابله با این اثرات مخرب، گیاهان سازوکارهایی از جمله افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌ها (مانند آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز) را فعال می‌کنند تا از آسیب‌های ناشی از تنش جلوگیری کنند. با این حال، در شرایط تنش شدید، این سازوکارها ممکن است کافی نباشند و آسیب‌های بیشتری به گیاه وارد شود (Haghaninia et al., 2023). تحقیقات پیشین نشان داده که ترکیبات فعال زیستی گیاهان دارویی که عمدتاً متابولیت‌های ثانویه مانند فنول‌ها، فلاونوئیدها و اسانس‌ها هستند، تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند (Kausar et al., 2023)، که در نهایت نه تنها بر عملکرد کمی، بلکه بر کیفیت محصول نیز تأثیر می‌گذارد (Razavizadeh et al., 2023). از این رو، بهبود تحمل گیاهان دارویی به تنش‌های محیطی، به‌ویژه تنش خشکی، با استفاده از روش‌های مدیریتی مختلف از جمله استفاده از فناوری نانو و همزیستی با قارچ‌های مایکوریزا، به‌عنوان یکی از راهکارهای نوین مورد توجه محققان قرار گرفته است (Zahedi et al., 2023; Rasouli et al., 2023). فناوری نانو در دهه‌های اخیر به عنوان یک ابزار نوین و مؤثر در حوزه‌های مختلف از جمله کشاورزی و علوم زیستی معرفی شده است. این فناوری امکان طراحی و استفاده از مواد در ابعاد نانومتری را فراهم می‌کند که به دلیل خواص منحصر به فرد، تفاوت‌های زیادی با مواد در مقیاس ماکرو دارند (Mohammadi et al., 2023). نانوکربن کوانتوم دات (Carbon Quantum Dots) نانوذراتی با ساختار کربنی و ابعاد بسیار کوچک (کمتر از ۱۰ نانومتر) هستند که دارای خواص اپتیکی و الکتریکی منحصر به فردی می‌باشند (Kakaei et al., 2016). این نانوذرات به دلیل ویژگی‌های خاص خود مانند خاصیت فلورسانس، هدایت الکتریکی، سطح واکنش‌پذیری بالا و قابلیت تنظیم سطح انرژی، کاربردهای گسترده‌ای در حوزه‌های مختلف از جمله پزشکی، محیط زیست و کشاورزی دارند (Ahmed et al., 2022). این نانوذرات به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، واکنش‌پذیری زیاد و توانایی نفوذ در بافت‌های گیاهی، می‌توانند به‌عنوان عوامل مؤثر در بهبود رشد و مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله خشکی استفاده شوند (Gong et al., 2021).

دفاع گیاه در برابر تنش‌های محیطی نقش دارند (Haghaninia *et al.*, 2024). با توجه به اهمیت گیاه نعنای گریپ فروتی در صنایع مختلف و چالش‌های ناشی از تنش خشکی، یافتن روش‌های مدیریتی کارآمد به منظور افزایش تحمل گیاهان به تنش خشکی ضروری به نظر می‌رسد. در این میان، استفاده از نانوکربن کوانتوم دات و قارچ‌های میکوریزا اربوسکولار می‌تواند به توسعه روش‌های نوین مدیریت کشاورزی و بهبود بهره‌وری گیاهان دارویی در شرایط نامطلوب محیطی کمک کنند. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی اثر نانوکربن کوانتوم دات بر پاسخ‌های بیوشیمیایی و بیوماس گیاه دارویی نعنای گریپ فروتی تلقیح شده با قارچ میکوریزا اربوسکولار در شرایط خشکی انجام شد. فرض بر این است که استفاده از نانوکربن کوانتوم دات و همزیستی با قارچ میکوریزا به‌طور سینرژیک، باعث بهبود عملکرد و پاسخ‌های بیوشیمیایی نعنای گریپ‌فروتی در شرایط خشکی خواهد شد.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش

این پژوهش به صورت گلدانی در بهار و تابستان ۱۴۰۲ در گلخانه گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه با طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۱۶ دقیقه شرقی و عرض ۳۷ درجه و ۲۳ دقیقه شمالی با ارتفاع ۱۴۸۵ متر از سطح دریا، با شرایط رشدی بهینه (دمای ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰ تا ۷۰ درصد) اجرا شد.

آماده‌سازی بستر کاشت

در این پژوهش گیاهان در گلدان‌های پنج لیتری پلاستیکی کشت شدند. بستر کشت شامل مخلوطی از خاک، کوکوپیت و پرلیت به نسبت دو به یک بود تا ترکیبی مناسب برای تهویه، نگهداری رطوبت و رشد مناسب گیاه فراهم گردد. به‌منظور یکسان بودن شرایط اولیه گیاه، در اوایل اردیبهشت ماه، در هر گلدان چهار عدد ریزوم با طول پنج سانتی‌متر قرار داده شد. علاوه بر این، محلول غذایی مورد استفاده، محلول هوگلند بود که به‌صورت دستی به بستر کشت افزوده شد. محلول دهی بر اساس اندازه گیاه و شرایط محیطی (دما و رطوبت) انجام گرفت که در مراحل اولیه رشد ۱/۴ و در اواسط رشد ۱/۲ و در نهایت تمام هوگلند برای گیاهان اعمال گردید. همچنین، pH محلول غذایی نیز در محدوده ۶/۵ تنظیم گردید.

یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌هایی که نانوکربن کوانتوم دات‌ها در گیاهان فعال می‌کنند، افزایش کارایی فتوسنتزی است (Farhangi-Abriz *et al.*, 2024). پژوهش‌ها نشان داده‌اند نانوکربن کوانتوم دات‌ها می‌توانند به‌عنوان حامل‌های نوری عمل کرده و جذب نور توسط کلروفیل را افزایش دهند، که این امر منجر به افزایش کارایی تبدیل انرژی نوری به انرژی شیمیایی در گیاه می‌شود (Gohari *et al.*, 2021). در پژوهشی گزارش شد که نانوکربن کوانتوم دات‌ها می‌توانند با کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان، اثرات مخرب تنش خشکی را کاهش دهند (Panahirad *et al.*, 2023; Yin *et al.*, 2024). یکی دیگر از شیوه‌های شایسته در دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار، بکارگیری میکروارگانیسم‌ها است. قارچ‌های اربوسکولار میکوریزا (Arbuscular mycorrhizal fungi) یکی از اجزای کلیدی میکروبی خاک و از مهم‌ترین عوامل همزیست اجباری ریشه گیاهان به شمار می‌آیند (Aalipour *et al.*, 2020)، که از طریق ایجاد رابطه همزیستی با ریشه‌های گیاهان، بهبود جذب مواد معدنی و آب را تسهیل می‌کنند (Azizi *et al.*, 2021). این قارچ‌ها با کلونیزه کردن ریشه‌ها، شبکه‌ای از هیف‌های (رشته‌های قارچی) میکروسکوپی تشکیل می‌دهند که باعث افزایش سطح جذب ریشه‌ها و بهبود کارایی استفاده از منابع محدود خاک می‌شود (Jabborova *et al.*, 2021). علاوه بر این، هیف‌های این قارچ‌ها می‌توانند تا چندین برابر فراتر از ناحیه ریشه گیاهان نفوذ کنند و مواد معدنی مانند فسفر، نیتروژن و عناصر ریزمغذی را از نواحی دورتر از دسترس ریشه‌های گیاه استخراج کنند (Azizi *et al.*, 2021). در این فرایند، قارچ‌ها اربوسکول‌ها (ساختارهای ویژه درون سلولی) را در سلول‌های ریشه گیاهان ایجاد می‌کنند که نقش مهمی در تبادل مواد غذایی بین گیاه و قارچ ایفا می‌کنند (Hamedani *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2019). محققان گزارش کردند در شرایط تنش خشکی که گیاهان معمولاً با کاهش میزان فتوسنتز ناشی از بسته شدن روزنه‌ها و کاهش جذب CO₂ مواجه می‌شوند، کاربرد قارچ‌های میکوریزا اربوسکولار می‌تواند از طریق بهبود جذب عناصر غذایی مانند فسفر، کارایی فتوسنتز را در گیاهان افزایش دهند (Begum *et al.*, 2021). در پژوهشی مشاهده شد که قارچ‌های میکوریزا اربوسکولار می‌توانند تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها و فنول‌ها را افزایش دهند که در

طراحی آزمایش و تیمارها

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح خشکی (۹۰ درصد ظرفیت زراعی، ۷۰ درصد ظرفیت زراعی و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و شش منبع کودی شامل بدون کود (کنترل)، قارچ میکوریزا آربوسکولار (AMF) (Arbuscular Mycorrhiza Fungi)، کربن کوانتوم دات ۵ پی پی ام (CQD₅)، کربن کوانتوم دات ۱۰ پی پی ام (CQD₁₀)، CQD₅+AMF و CQD₁₀+AMF در ۴ تکرار اجرا شد.

رژیم‌های آبیاری

برای به دست آوردن ظرفیت زراعی، یکی از گلدان‌ها را تا حد اشباع آبیاری کرده و روی گلدان به مدت ۲۴ ساعت توسط پلاستیک پوشانده شد تا رطوبت بستر کشت (آب اضافی) از سوراخ‌های انتهایی گلدان خارج شود، سپس خاک گلدان توزین شد و بعد در دستگاه آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. بدین ترتیب ظرفیت زراعی خاک گلدان‌ها مشخص گردید. در نهایت، جهت محاسبه میزان آب لازم برای رسیدن به ظرفیت زراعی از رابطه‌ی زیر استفاده شد (Haghaninia et al., 2024):

$$FC\% = \left(\frac{\text{وزن خاک خشک شده در آون} - \text{وزن خاک در ظرفیت مزرعه}}{\text{وزن خاک خشک شده در آون}} \right) \times 100$$

خاک

خاک مورد استفاده در این تحقیق از لایه فوقانی خاک (۰-۲۰ سانتی‌متر) مزرعه تحقیقاتی کشاورزی دانشگاه مراغه تهیه شد. براساس نتایج تجزیه خاک، بافت خاک به صورت لوم‌رسی‌شنی با رسانایی الکتریکی ۱/۲۳ دسی‌زیمنس بر متر، pH ۸/۳، مواد آلی ۱/۰۳ درصد، غلظت کل نیتروژن ۰/۶۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، فسفر قابل دسترس ۸/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم و پتاسیم ۴۴۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. قبل از کاشت گیاهان، خاک جمع‌آوری شده به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر استریل شد. لازم به ذکر است، در این پژوهش از هیچگونه کود شیمیایی و آفت‌کش استفاده نشد.

قارچ میکوریزا آربوسکولار (AMF)

کود زیستی مایکوروت که ترکیبی از سه گونه *Rhizophagus intraradices*، *Funneliformis mosseae* و *Claroideoglomus etunicatum* بود از شرکت زیست‌فناور سبز ایران خریداری شد. در مجموع ۲۰ گرم AMF (۱۰۰۰ اسپور در هر ۱۰ گرم خاک) در هر گلدان

در زمان کاشت به گلدان‌ها اضافه شد. لازم به ذکر است میزان AMF مصرفی در این پژوهش براساس مطالعات قبلی تعیین شد (Haghaninia et al., 2024).

کربن کوانتوم دات

کربن کوانتوم دات به روش الکتروشیمیایی سنتز شد. بدین منظور یک منبع تغذیه DC با مدل ADAK با سیستم دو الکترودی برای سنتز CQDs استفاده شد (Xu et al., 2004). دو میله گرافیتی با ضخامت ۶/۵mm در آب فوق خالص تحت ولتاژ ۳۰-۴۰ ولت قرار گرفت. سیستم بر روی همزن برای چند روز همزده شد تا اینکه یک مخلوط قهوه‌ای تیره حاصل شد. سپس مخلوط حاصل فیلتر و تحت سانتریفیوژ (۱۲۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه) قرار گرفت و بدین ترتیب محلولی از نانوذرات نقاط کوانتومی کربن بدست آمد (Kakaei et al., 2016). در نهایت، به منظور اعمال تیمارهای کربن کوانتوم دات، سه روز قبل از شروع تنش جهت فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی یک مرحله محلول‌پاشی کربن کوانتوم دات انجام شد و پس از استقرار کامل گیاه، تنش خشکی اعمال شد و ۳ مرحله محلول‌پاشی به فواصل ۱۰ روز صورت پذیرفت.

صفات و روش‌های اندازه‌گیری

نمونه برداری و برداشت

به منظور اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نمونه‌برداری از گیاهان در مرحله گلدهی کامل انجام شد. نمونه‌های برداشت شده به مدت دو دقیقه در داخل تانک ازت قرار داده شدند. سپس نمونه‌های فریز شده تا زمان اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی در فریزر نگهداری شدند.

اندازه‌گیری ارتفاع، وزن تر و خشک گیاه

در مرحله گلدهی، ارتفاع بوته در تمامی تیمارها بر حسب سانتی‌متر با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و ثبت شد. همچنین برداشت نهایی در پایان دوره رشد ۱۲ هفته‌ای صورت پذیرفت. بدین منظور، گیاهان هر گلدان از فاصله‌ی ۵ سانتی‌متری سطح خاک برداشت و وزن تر آن‌ها با استفاده از ترازوی حساس (با دقت ۰/۰۱) اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، به منظور اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها را در محیطی با شرایط سایه و تهویه مناسب قرار داده شدند. به منظور خشک کردن کامل و یکنواخت گیاهان، محیطی انتخاب شد که نمونه‌ها در معرض نور مستقیم خورشید و

اندازه‌گیری آنتوسیانین و آسکوربیک اسید

برای اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل، ۰/۵ گرم از برگ‌های تازه در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول حاوی ۱ درصد اسید کلریدریک) استخراج و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. برای تعیین محتوای آنتوسیانین، عصاره به دو بافر با $\text{pH}=1$ (محلول کلرید پتاسیم ۰/۰۲۵ مولار) و $\text{pH}=4/5$ (محلول استات سدیم ۰/۴ مولار) رقیق گردید. جذب نوری نمونه‌ها در دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Giusti & Wrolstad, 2001). غلظت آنتوسیانین کل براساس ضریب جذب آنتوسیانین محاسبه گردید. همچنین، برای تعیین محتوای اسید اسکوربیک، از روش رنگ‌سنجی ۲/۶-دی کلروفل ایندوفنل استفاده شد (Omaye et al., 1979). بدین منظور ۰/۵ گرم از برگ‌های تازه در ۱۰ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۳ درصد استخراج شد. پس از سانتریفیوژ، ۱ میلی‌لیتر از عصاره با ۹ میلی‌لیتر معرف ۲/۶-دی کلروفل ایندوفنل مخلوط شد و کاهش رنگ محلول (تغییر از آبی به بی‌رنگ) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای اسید اسکوربیک با استفاده از منحنی استاندارد اسید اسکوربیک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۵ گرم از برگ‌های تازه در ۱۰ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات همگن و پس از سانتریفیوژ، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به ترکیب شامل H_2O_2 و آسکوربات اضافه شد. کاهش جذب نوری در ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری و فعالیت APX بر حسب میکرومول آسکوربات در دقیقه محاسبه گردید. همچنین، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) اندازه‌گیری شد. ۰/۵ گرم از برگ‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات همگن شد. سپس، عصاره آنزیمی به ترکیب حاوی NBT و ریبوفلاوین اضافه گردید و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه تحت نور قرار گرفتند. جذب نوری در ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری و فعالیت SOD به‌عنوان واحد کاهش جذب نوری گزارش شد. علاوه بر این، فعالیت کاتالاز (CAT) به روش Aebi (۱۹۸۴) صورت پذیرفت. ۰/۵ گرم از برگ‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات همگن شد.

دماهای بالا قرار نداشتند. سپس وزن نمونه‌ها به‌طور منظم بررسی شدند. در هر نوبت، وزن گیاهان با استفاده از ترازوی حساس قرائت گردید. فرآیند توزین تا زمانی ادامه یافت که وزن نمونه‌ها ثابت شد که نشان‌دهنده‌ی اتمام فرآیند خشک شدن بود. این روش به حفظ کیفیت ترکیبات بیوشیمیایی و جلوگیری از اکسیداسیون و تخریب آن‌ها کمک کرد و دقت اندازه‌گیری وزن خشک را افزایش داد.

اندازه‌گیری پرولین و کربوهیدرات‌های محلول

محتوای پرولین برگ‌ها به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. ۰/۵ گرم برگ تازه در محلول سولفوسالسیلیک اسید سه درصد همگن و پس از سانتریفیوژ، عصاره با اسید استیک گلاسیال و نین‌هیدرین مخلوط و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه حرارت داده شد. سپس پرولین با تولوئن استخراج و جذب نوری آن در ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تعیین کربوهیدرات‌های محلول کل از روش فنل-سولفوریک اسید استفاده شد (Dubois et al., 1956). ۰/۵ گرم برگ در آب مقطر گرم استخراج و پس از سانتریفیوژ، جذب نوری مخلوط عصاره در ۴۸۵ نانومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری فنل کل و فلاونوئید کل

محتوای فنل کل به روش Folin-Ciocalteu اندازه‌گیری شد (Singleton & Rossi, 1965). بدین منظور، ۰/۵ گرم از برگ‌های تازه با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد استخراج و پس از سانتریفیوژ، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف Folin-Ciocalteu و ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند و جذب نوری در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، محتوای فنل کل با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد. محتوای فلاونوئید کل به روش آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد (Chang et al., 2002). در ابتدا، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره متانولی با ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱۵ میلی‌لیتر محلول آلومینیوم کلرید ۵ درصد مخلوط گردید. پس از ۵ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید ۱ مولار اضافه و حجم نهایی به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب نوری در ۴۱۵ نانومتر خوانده و محتوای فلاونوئید کل با منحنی استاندارد کوئرستین تعیین شد.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد ارتفاع بوته نعناع گریپفروتی تحت اثرات اصلی سطوح مختلف تنش و تیمارهای کودی واقع شد (جدول ۱). براساس نتایج حاصل، بالاترین ارتفاع بوته با کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار به دست آمد، درحالی که کمترین ارتفاع بوته در تیمار شاهد ثبت شد (شکل ۱). نتایج نشان داد قارچ میکوریزا، ارتفاع بوته را در مقایسه با شاهد ۵۷/۱ درصد افزایش داد. علاوه بر این، ارتفاع بوته در شرایط بدون تنش در مقایسه با تنش خشکی خفیف و تنش خشکی شدید به ترتیب ۱۸/۸ و ۵۵/۲ درصد افزایش پیدا کرد (شکل ۱). در طی تنش خشکی نه تنها جریان آب در اطراف سلول‌ها متوقف می‌گردد، بلکه ترشح هورمون سیتوکینین از ریشه‌ها نیز کاهش می‌یابد؛ در نتیجه با کاهش تقسیم سلول‌ها از افزایش ارتفاع بوته‌ها ممانعت به عمل خواهد آمد (Alam et al., 2023). در تایید یافته‌های این پژوهش، محققان گزارش کردند در شرایط کمبود رطوبت، تورژسانس سلولی کاهش یافته و در نتیجه سبب کاهش رشد و نمو، تقسیم و طولی شدن سلول‌های به ویژه در قسمت‌های هوایی گیاه می‌شود (Haghaninia et al., 2024). با این حال، استفاده از قارچ‌های میکوریزا منجر به افزایش ارتفاع بوته نعناع گریپفروتی گردید. استفاده از قارچ‌های میکوریزا از طریق همزیستی با ریشه‌های گیاه، شبکه هیفی گسترده‌ای در خاک ایجاد می‌کنند که باعث افزایش سطح تماس ریشه با خاک و بهبود جذب آب و مواد مغذی (مانند فسفر و نیتروژن) می‌شود (Jabborova et al., 2021; Zhang et al., 2019).

۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به H_2O_2 اضافه گردید و کاهش جذب نوری در ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری و فعالیت CAT بر حسب میکرومول H_2O_2 در دقیقه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن

میزان مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید با استفاده از واکنش تیوباربیتوریک اسید (TBA) تعیین شد. ابتدا ۰/۵ گرم از بافت گیاهی تازه هموژنیزه شده در ۵ میلی‌لیتر محلول اسید تری کلرو استیک (TCA) ۰/۱ درصد سانتیفریوژ شد (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه). سپس به ۱ میلی‌لیتر از فاز بالایی، ۲ میلی‌لیتر محلول TBA ۰/۵ در TCA ۲۰ درصد اضافه و مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد گرم شد. پس از سرد شدن سریع نمونه‌ها در یخ، مجدداً سانتیفریوژ شدند و جذب محلول در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. مقدار مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از ضریب خاموشی (۱۵۵ میلی‌مول در سانتی‌متر) محاسبه شد (Heath & Packer, 1968). همچنین، مقدار H_2O_2 با استفاده از روش پتاسیم یدید (KI) سنجیده شد. ۰/۵ گرم از بافت گیاهی در ۵ میلی‌لیتر TCA ۰/۱ درصد هموژنیزه و سپس سانتیفریوژ شد (۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه). به ۰/۵ میلی‌لیتر از فاز بالایی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار pH=۷) و ۱ میلی‌لیتر KI یک مولار اضافه شد. جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد و غلظت H_2O_2 بر اساس منحنی استاندارد تعیین شد (Alexieva et al., 2001).

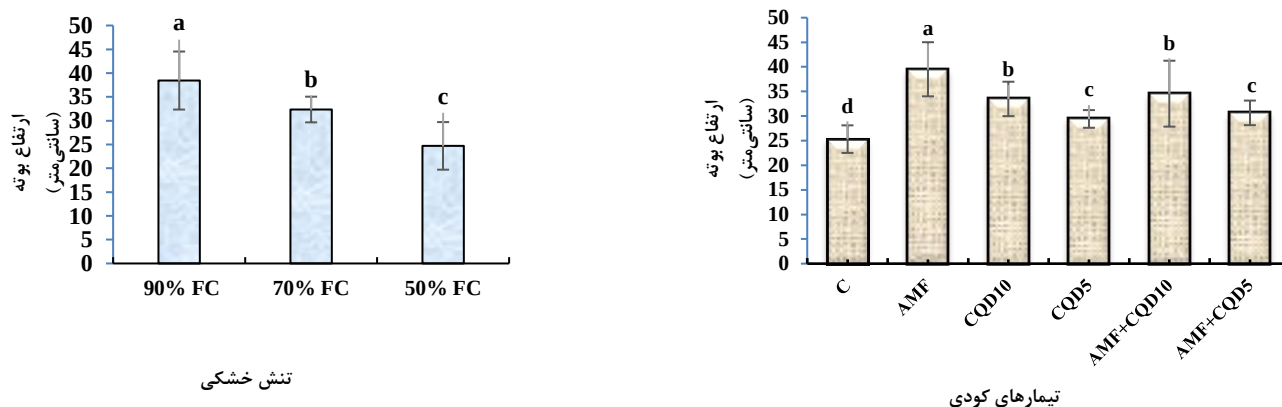
تجزیه آماری

بعد از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، با نرم‌افزارهای SAS و آزمون LSD تجزیه و تحلیل آماری انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ضریب اطمینان ۹۵ درصد صورت گرفت و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 رسم شدند.

جدول ۱- تجزیه واریانس ارتفاع، وزن تر و خشک نعناع گریپفروتی تحت سطوح تنش خشکی با کاربرد تیمارهای کودی

میانگین مربعات				
منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع	وزن تر	وزن خشک
سطوح تنش خشکی	۲	۹۲۴/۴۷**	۴۷۲۰/۵۲**	۹۳۲/۴۵**
تیمارهای کودی	۵	۲۸۶/۶۱**	۳۹۰/۹۵**	۵۹۶/۵۳**
تنش خشکی × تیمارهای کودی	۱۰	۳۳/۷۴ ^{NS}	۳۶/۲۳**	۱۶/۹۰**
خطا	۵۴	۳/۷۶	۱۲/۸۵	۳/۸۶
ضریب تغییرات %		۶/۰۲	۳/۵۸	۲/۵۴

^{NS} عدم اختلاف معنی‌دار، ** بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، * بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیماری‌های کودی و سطوح مختلف تنش خشکی بر ارتفاع بوته نعنای گریپ فروتی

C: شاهد (عدم مصرف کود)، AMF: قارچ میکوریزا آربوسکولار، CQD10: کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام، CQD5: کربن کوانتوم دات با غلظت ۵ پی‌پی‌ام، AMF+CQD10: قارچ میکوریزا آربوسکولار + کربن کوانتوم دات با غلظت ۵ پی‌پی‌ام، AMF+CQD5: قارچ میکوریزا آربوسکولار + کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام، ۹۰٪FC: ۷۰٪FC: ۵۰٪FC: درصد ظرفیت زراعی (آبیاری نرمال)، ۷۰٪FC: درصد ظرفیت زراعی (تنش خشکی خفیف)، ۵۰٪FC: درصد ظرفیت زراعی (تنش خشکی شدید). حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

مقایسه با عدم مصرف منجر به افزایش ۷۴/۱۸ درصدی وزن خشک شد (شکل ۲). گیاهان تحت تنش خشکی به شدت ترکیبات حفاظتی را افزایش می‌دهند تا بتوانند با آسیب‌های اکسیداتیو و استرس ناشی از خشکی مقابله کنند. این بازتخصیص منابع به سمت حفظ بقا به جای رشد، باعث کاهش تولید مواد آلی و در نتیجه کاهش وزن گیاه می‌شود (Arpanahi *et al.*, 2021). محققان گزارش کردند تنش خشکی باعث افت فشار تورژسانس سلولی (فشار داخلی سلول) می‌شود که برای حفظ حجم سلولی و ساختار گیاه ضروری است. این وضعیت نه تنها باعث کاهش وزن تر و خشک بوته می‌شود بلکه با کاهش فعالیت متابولیکی گیاه نیز بر عملکرد تأثیر می‌گذارد (Igiehon & Babalola, 2021). در مقابل، ترکیب قارچ‌های میکوریزا و نانوذرات کربن کوانتوم دات توانستند به‌طور هم‌افزایی به افزایش وزن تر و خشک نعنای گریپ‌فروتی منجر شوند. قارچ‌های میکوریزا با افزایش جذب مواد مغذی مانند فسفر و پتاسیم به بهبود فعالیت فتوسنتزی گیاه کمک می‌کنند (Hamedani *et al.*, 2022; Igiehon & Babalola, 2021). نانوذرات کربن کوانتوم دات نیز با افزایش کارایی جذب نور و محافظت از کلروپلاست‌ها در برابر تنش‌های اکسیداتیو، موجب بهبود فرآیند فتوسنتزی می‌شود که مستقیماً به افزایش وزن تر و خشک منجر می‌شود (Su *et al.*, 2018). همسو با این نتایج، پژوهشگران نشان دادند در شرایط تنش،

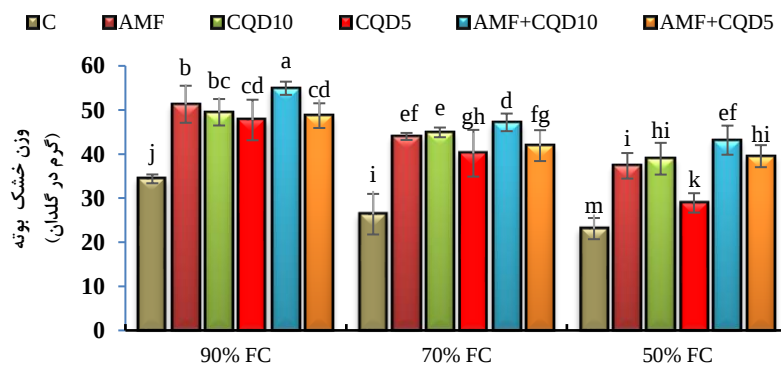
این افزایش جذب آب در شرایط خشکی به گیاه کمک می‌کند تا تعادل آبی خود را بهتر حفظ کند و از افت فشار تورژسانس سلولی که مانع طولی شدن سلول‌ها می‌شود، جلوگیری نماید (Begum *et al.*, 2021). به‌طور مشابه، محققان گزارش کردند کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار با افزایش تخصیص انرژی به فرآیندهای رشد و طولی شدن ساقه‌ها به بهبود رشد و افزایش ارتفاع اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) تحت تنش خشکی کمک کرد (Haghaninia *et al.*, 2024).

ماده خشک

تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد وزن ماده خشک نعنای گریپ‌فروتی تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی، تیمارهای کودی و اثر متقابل سطوح مختلف تنش و تیمارهای کودی واقع شد. بالاترین وزن ماده خشک در شرایط بدون تنش و با کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار + کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام مشاهده شد. کمترین وزن ماده خشک نیز به تیمار تنش شدید خشکی بدون کاربرد کود تعلق داشت (شکل ۲). علاوه بر این، در شرایط تنش خفیف و شدید خشکی، وزن ماده خشک به ترتیب ۱۵/۵ و ۲۶/۳ درصد در مقایسه با آبیاری نرمال کاهش یافت (شکل ۲). به‌طور میانگین، قارچ میکوریزا آربوسکولار + کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام در

و ظرفیت دفاعی آنتی اکسیدانی CQD نسبت دادند (Li et al., 2018).

کاربرد کربن کوانتوم دات موجب افزایش عملکرد گیاه برنج (*Oryza sativa*) شد و این امر را به بهبود جذب مواد مغذی



شکل ۲- اثر متقابل تیمارهای کودی و سطوح مختلف تنش خشکی بر عملکرد ماده خشک نعنای گریپ فروتی

C: شاهد (عدم مصرف کود)، AMF: قارچ میکوریزا آربوسکولار، CQD₁₀: کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی پی ام، CQD₅: کربن کوانتوم دات با غلظت ۵ پی پی ام، AMF+CQD₁₀: قارچ میکوریزا آربوسکولار+کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی پی ام، AMF+CQD₅: قارچ میکوریزا آربوسکولار+کربن کوانتوم دات با غلظت ۵ پی پی ام. ۹۰٪FC: ۹۰ درصد ظرفیت زراعی (آبیاری نرمال)، ۷۰٪FC: ۷۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش خشکی خفیف)، ۵۰٪FC: ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش خشکی شدید). حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

محتوای پرولین و کربوهیدرات‌های محلول

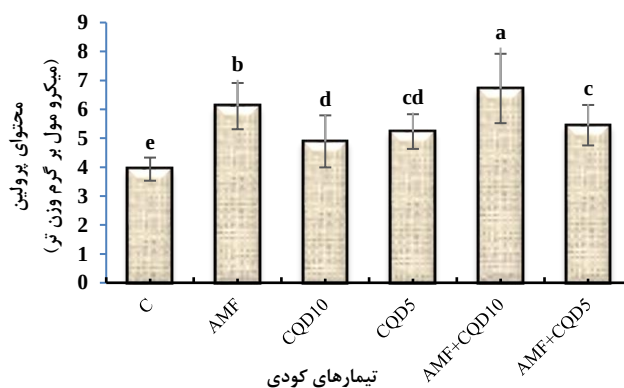
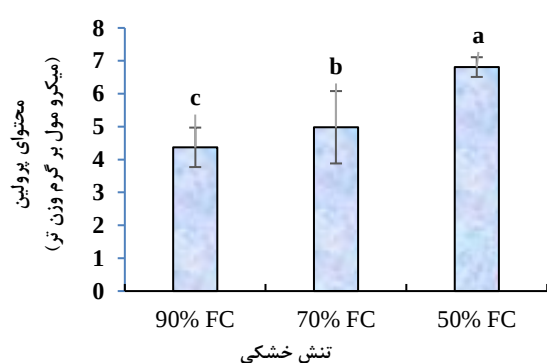
نتایج تجزیه واریانس نشان داد سطوح مختلف آبیاری و تیمارهای کودی بر محتوای پرولین و کربوهیدرات‌های محلول نعنای گریپ فروتی معنی دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان پرولین (شکل ۳) و کربوهیدرات‌های محلول (شکل ۴) در تیمار قارچ میکوریزا آربوسکولار+کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی پی ام مشاهده شد. علاوه بر این، در شرایط تنش خشکی صفات مذکور افزایش پیدا کردند؛ به طوری که در شرایط خشکی شدید، محتوای پرولین در مقایسه با آبیاری نرمال و تنش خفیف به ترتیب ۵۵/۱ و ۳۶/۹ درصد و محتوای کربوهیدرات‌های محلول نیز به میزان ۷۸/۲ درصد نسبت به آبیاری نرمال و ۳۸/۳ درصد در مقایسه با تنش خفیف افزایش یافت (شکل ۳ و ۴). پرولین با عمل به عنوان یک اسمولیت، به کاهش فشار اسمزی کمک می کند. در نتیجه، گیاهان تحت تنش خشکی با افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی در مسیر بیوسنتز پرولین، از جمله آنزیم‌های کیناز پرولین و سنتز پرولین، میزان پرولین درون سلولی را افزایش می دهند (Khodadadi et al., 2022). به موازات افزایش پرولین، کربوهیدرات‌های محلول نیز تحت تنش خشکی به میزان قابل توجهی افزایش می یابند. کربوهیدرات‌های محلول شامل مولکول‌هایی نظیر گلوکز، فروکتوز و ساکارز هستند که به عنوان اسمولیت‌ها در گیاهان عمل کرده تا از آسیب‌های ناشی

از کمبود آب جلوگیری کنند (Haghaninia et al., 2023). در تایید نتایج ما، محققان گزارش کردند افزایش تولید پرولین و کربوهیدرات‌های محلول به عنوان پاسخ‌های سازگاری به شرایط کمبود آب، گیاه را از آسیب‌های ناشی از استرس خشکی محافظت می کنند (Sarshad et al., 2021). با این حال، استفاده از تیمار تلفیقی قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار+نانوذرات کربن کوانتوم دات، محتوای پرولین و کربوهیدرات‌های محلول را در نعنای گریپ فروتی بهبود بخشید. به نظر می رسد کاربرد این تیمار بهبود جذب آب و مواد مغذی را در گیاهان تسهیل می کند و در نتیجه به تولید و تجمع بیشتر پرولین و کربوهیدرات‌های محلول کمک می کنند (Rasouli et al., 2023). همچنین، افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی در مسیر بیوسنتز پرولین، که به دلیل بهبود جذب مواد مغذی صورت می گیرد، منجر به افزایش تجمع پرولین در سلول‌ها می شود. این فرآیند همچنین با کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده به حفظ سطح بالای کربوهیدرات‌های محلول کمک می کند (Aalipour et al., 2020; Kausar et al., 2023). محققان اظهار داشتند کاربرد نانوذرات موجب افزایش محتوای پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در گیاه مریم گلی (*Salvia abrotanoides*) شد و از این طریق استرس اکسیداتیو را کاهش داد (Attaran et al., 2022).

جدول ۲- تجزیه واریانس پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، فنل، فلائونید، آنتوسیانین و آسکوربیک اسید تحت تیمارهای آزمایش

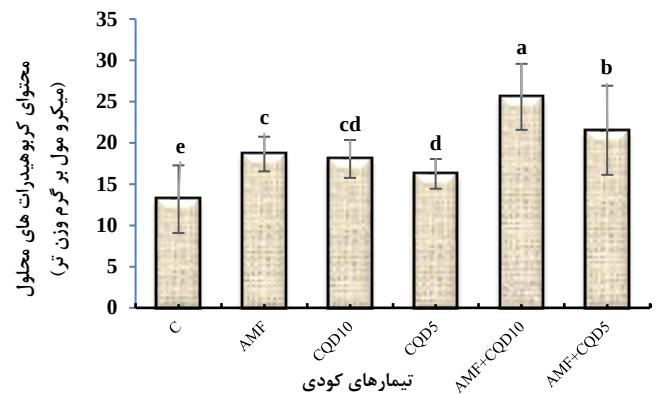
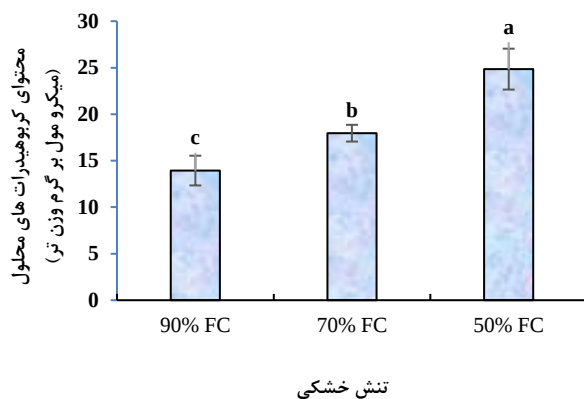
منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	کربوهیدرات‌های محلول	فنل	فلائونید	آنتوسیانین	آسکوربیک اسید
سطوح تنش خشکی	۲	۳۸/۷۱**	۷۰۴/۴۹*	۱۷۳۲۴/۸۸**	۶۱۹۹۴/۳۸**	۱/۲۵**	۸۰۹۲۰/۴۸**
تیمارهای کودی	۵	۱۰/۵۶*	۲۲۱/۱۲**	۴۳۹۲/۷۳**	۲۴۳۵/۳۷**	۰/۰۵**	۲۴۹۲/۵۸**
تنش خشکی × تیمارهای کودی	۱۰	۰/۸۹ ^{ns}	۲۴/۸۴ ^{ns}	۲۲۳/۳۱**	۱۰۱/۸۶**	۰/۰۰۳**	۱۷/۶۷**
اشتباه آزمایشی	۵۴	۰/۳۱	۳/۲۳	۱۰۰/۲۸	۸۴/۲۵	۰/۰۰۳۵	۶۲/۶۸
ضریب تغییرات %		۱۰/۳۹	۹/۶۷	۵/۰۳	۲/۵۳	۹/۱۹	۲/۱۸

^{ns} عدم اختلاف معنی‌دار، ** بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، * بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای کودی و سطوح مختلف تنش خشکی بر محتوای پرولین نعنای گریپ‌فروتی

C: شاهد (عدم مصرف کود)، AMF: قارچ میکوریزا آربوسکولار، CQD₁₀: کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام، CQD₅: کربن کوانتوم دات با غلظت ۵ پی‌پی‌ام، AMF+CQD₁₀: قارچ میکوریزا آربوسکولار + کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام، AMF+CQD₅: قارچ میکوریزا آربوسکولار + کربن کوانتوم دات با غلظت ۵ پی‌پی‌ام. ۹۰%FC: درصد ظرفیت زراعی (آبیاری نرمال)، ۷۰%FC: درصد ظرفیت زراعی (تنش خشکی خفیف)، ۵۰%FC: درصد ظرفیت زراعی (تنش خشکی شدید). حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر تیماری های کودی و سطوح مختلف تنش خشکی بر محتوای کربوهیدرات های محلول

C: شاهد (عدم مصرف کود)، AMF: قارچ میکوریزا آربوسکولار، CQD₁₀: کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی پی ام، CQD₅: کربن کوانتوم دات با غلظت ۵ پی پی ام، AMF+CQD₁₀: قارچ میکوریزا آربوسکولار + کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی پی ام، AMF+CQD₅: قارچ میکوریزا آربوسکولار + کربن کوانتوم دات با غلظت ۵ پی پی ام، 90%FC: ۹۰ درصد ظرفیت زراعی (آبیاری نرمال)، 70%FC: ۷۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش خشکی خفیف)، 50%FC: ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش خشکی شدید). حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

محتوای فنل کل و فلاونوئید کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محتوای فنل کل و فلاونوئید به طور قابل توجهی تحت تأثیر منابع کودی، تنش خشکی و اثر متقابل هر دو عامل قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین و کمترین فنل و فلاونوئیدها به ترتیب در شرایط تنش خشکی متوسط تیمار شده با قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۱۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات و در شرایط آبیاری معمولی بدون مصرف محرک های رشد مشاهده شد (جدول ۳). در مقایسه با آبیاری نرمال، محتوای فنل و فلاونوئید به ترتیب ۳۹/۵ و ۳۲/۳ درصد در شرایط تنش ملایم افزایش یافتند. علاوه بر این، استفاده از قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۱۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات باعث بهبود محتوای فنلی تا ۷۳/۲ درصد و محتوای فلاونوئیدی تا ۵۴/۸ درصد در مقایسه با شاهد شد (جدول ۳). فنل ها به عنوان مولکول های دفاعی موجب کاهش تولید گونه های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) ROS شده و در نهایت محافظت از ساختارهای سلولی در برابر تنش ها را به همراه دارند. فلاونوئیدها نیز به عنوان ترکیبات آنتی اکسیدانی، تحت شرایط نامساعد ممکن است به طور قابل توجهی افزایش یابند. بنابراین، افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی

در گیاهان تحت تنش یکی از پاسخ های دفاع آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی می باشد (Haghaninia et al., 2024). علاوه بر این، کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۵ پی پی ام کربن کوانتوم دات با بهبود دسترسی گیاه به مواد مغذی و افزایش فعالیت آنزیمی مؤثر در بیوسنتز ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی به افزایش این ترکیبات کمک می کند (Azizi et al., 2021). به طور مشابه، نتایج بیگم و همکاران (Begum et al., 2021) نشان داد که تلقیح با AMF منجر به بهبود محتوای فنل و فلاونوئید می شود. همچنین، نانوذرات کربن کوانتوم دات می توانند به عنوان یک تکنولوژی مؤثر در بهبود محتوای فنل و فلاونوئیدها تحت شرایط تنش عمل کند. این نانوذرات به عنوان یک مکانیزم دفاعی در نظر گرفته شده و به محافظت از گیاه در برابر آسیب های ناشی از استرس نقش آفرینی می کنند (Farhangi-Abriz et al., 2024). همسو با یافته های این پژوهش، پژوهشگران اظهار داشتند نانوذرات با بهبود محتوای فنل و فلاونوئید، جذب مواد مغذی، افزایش فعالیت های آنتی اکسیدانی و کاهش آسیب های اکسیداتیو، مقاومت گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.) در برابر تنش را افزایش داد (Mohammadi et al., 2023).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تیماری کودی و سطوح آبیاری بر محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و آسکوربیک اسید

تیمارها	فنل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر)	آنتوسیانین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	آسکوربیک اسید (میلی گرم بر گرم وزن تر)
شاهد (عدم مصرف کود)	۱۴۸/۹۹j	۲۷۸/۷۸ l	۰/۳۳۴l	۳۲۸/۱۵i
قارچ میکوریزا آربوسکولار	۱۸۰/۵۱gh	۳۳۲/۱۸i	۰/۴۹۳hij	۳۱۷/۵۹ij
۱۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۱۶۱/۶۸ij	۳۱۱/۵۴jk	۰/۳۷۷kl	۳۰۸/۳۷jk
۵ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۱۶۳/۸۷hi	۳۰۲/۵۳k	۰/۴۲۰jk	۲۹۰/۹۹ l
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۱۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۱۷۹/۱۲gh	۳۲۰/۷۴ij	۰/۴۴۶ijk	۲۹۹/۰۱lk
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۵ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۱۷۱/۷۷hi	۳۱۶/۲۶j	۰/۵۱۲ghi	۲۸۸/۲۵ l
شاهد (عدم مصرف کود)	۲۱۸/۲۱bcd	۴۰۲/۵۴cd	۰/۵۳۲gh	۳۴۱/۷۷h
قارچ میکوریزا آربوسکولار	۲۲۶/۷۵bc	۴۲۴/۰۸ab	۰/۷۰۸de	۳۷۱/۰۹fg
۱۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۲۳۰/۹۸b	۴۰۷/۱۶c	۰/۵۳۷gh	۳۵۰/۰۶h
۵ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۲۱۴/۸۱cd	۳۹۱/۱۴de	۰/۵۸۷fg	۳۶۱/۳۲g
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۱۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۲۵۸/۰۳a	۴۳۱/۶۲a	۰/۶۴۰ef	۳۸۰/۵۹f
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۵ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۲۴۵/۴۶a	۴۲۴/۳۳bc	۰/۶۵۵ef	۳۶۴/۶۸g
شاهد (عدم مصرف کود)	۱۸۷/۱۵fg	۳۵۱/۵۴h	۰/۷۸۳cd	۴۰۳/۳۲e
قارچ میکوریزا آربوسکولار	۲۰۰/۲۲ef	۳۵۹/۵۱gh	۰/۸۴۶bc	۴۳۱/۷۶ab
۱۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۱۹۵/۱۴ef	۳۶۶/۴۷g	۰/۹۰۴ab	۴۱۷/۹۵cd
۵ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۱۹۱/۰۷fg	۳۶۳/۸۲fg	۰/۸۶۱bc	۴۲۳/۲۲bc
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۱۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۲۰۷/۸۱de	۳۸۱/۶۶ef	۰/۹۲۷ab	۴۱۱/۳۱de
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۵ پی پی ام کربن کوانتوم دات	۱۹۶/۶۵ef	۳۶۸/۹۱fg	۰/۹۸۸a	۴۴۱/۴۹a
LSD	۱۴/۱۹	۱۳/۰۱	۰/۰۸	۱۱/۲۴

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی داری بین داده ها در آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشد.

آنتوسیانین و آسکوربیک اسید

محتوای آنتوسیانین و آسکوربیک اسید به طور معنی داری تحت تأثیر منابع کودی، تنش خشکی و اثر متقابل هر دو عامل قرار گرفتند (جدول ۲). بیشترین محتوای آنتوسیانین و آسکوربیک اسید در شرایط تنش خشکی شدید تیمار شده با قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۵ پی پی ام کربن کوانتوم دات بدست آمد. همچنین، کمترین آسکوربیک اسید در شرایط آبیاری نرمال با کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۵ پی پی ام کربن کوانتوم دات ثبت شد، در حالی که کمترین مقدار آنتوسیانین به شرایط آبیاری نرمال بدون کاربرد کود تعلق داشت (جدول ۳). در شرایط تنش شدید، محتوای آنتوسیانین و آسکوربیک به ترتیب ۱۰۵/۷ و ۳۸/۱ درصد در مقایسه با آبیاری نرمال افزایش یافتند. علاوه بر این، استفاده از قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۵ پی پی ام کربن کوانتوم دات در شرایط تنش خشکی شدید محتوای آنتوسیانین را ۱۸۰/۹ درصد و محتوای آسکوربیک را ۳۳/۵ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد (جدول ۳). از آنجا که اسید آسکوربیک به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدانسی در

همه گیاهان وجود دارد، به نظر می رسد در شرایط تنش به دلیل نقش حیاتی آن در حفظ فعالیت آنتی اکسیدان های آنزیمی، محتوای آن برای مقابله با خشکی افزایش یافته است. همچنین، با توجه به نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به وسیله حذف مستقیم گونه های اکسیژن فعال در طول تنش اکسیداتیو، شرایط تنش منجر به القای تجمع آنتوسیانین ها شده که می تواند به عنوان آنتی اکسیدان، خاموش کننده و یا جاروب کننده گونه های فعال اکسیژن در گیاهان نقش به سزایی داشته باشد (Haghaninia et al., 2023). علاوه بر این، بهبود محتوای اسید آسکوربیک و آنتوسیانین با کاربرد قارچ های میکوریزا به جذب و دسترسی بیشتر به عناصر غذایی نسبت داده می شود (Rasouli et al., 2023). در این رابطه، محققان اظهار داشتند بهبود عناصر غذایی با افزایش سنتز هیدرات های کربن باعث توسعه رنگدانه های یاخته ای و ساخت آنتوسیانین در گیاه زنیان (*Carum copticum* L.) شد (Chavoushi et al., 2020). از طرف دیگر، استفاده از نانوذرات باعث کاهش اثرات زیان بار تنش خشکی بر سیستم فتوسنتزی شده و

آنتی اکسیدانی را افزایش می دهند. این افزایش فعالیت به دلیل نیاز به مقابله با مقادیر کم رادیکال های آزاد و حفظ تعادل در سیستم های اکسیداتیو و آنتی اکسیدانی گیاه است (Ghani *et al.*, 2021). آنزیم هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در این شرایط به طور خاص فعال تر می شوند. این آنزیم ها نه تنها به طور مؤثر رادیکال های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می کند، بلکه به تجزیه پراکسید هیدروژن نیز کمک می کنند و از تولید رادیکال های آزاد بیشتر جلوگیری می کنند (Alam *et al.*, 2023). با این حال، در شرایط تنش خشکی شدید، وضعیت به طور قابل توجهی تغییر می کند. کاهش فعالیت آنزیم ها تحت تنش های شدید می تواند ناشی از اختلالات در سنتز یا فعالیت آنزیم ها، تخریب آنزیم ها به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو یا اختلالات در مسیرهای تنظیمی مرتبط با فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی باشد (Haghaninia *et al.*, 2024). با این حال، نتایج نشان داد کاربرد تلفیقی قارچ میکوریزا آربوسکولار+نانوذرات کربن کوانتوم دات به بهبود فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی تحت شرایط تنش خشکی کمک کردند. قارچ های میکوریزا به بهبود جذب مواد مغذی و تقویت عملکرد ریشه ها کمک می کنند. این بهبود وضعیت تغذیه ای می تواند به بهبود فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش استرس خشکی کمک کند (Zayova *et al.*, 2017). همچنین، این قارچ ها می توانند تولید ترکیبات متابولیک ثانویه مانند فلاونوئیدها و فنولیک ها را افزایش دهند که می توانند فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را تقویت و به طور غیرمستقیم به افزایش مقاومت گیاه به خشکی کمک نمایند (Haghaninia *et al.*, 2024). علاوه بر این، نانوذرات با رادیکال های آزاد واکنش داده و به خنثی سازی آنها کمک می کنند که به نوبه خود فشار بر سیستم های آنتی اکسیدانی را کاهش می دهد و به افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی منجر می شود (Yin *et al.*, 2024). همسو با یافته های ما، پژوهشگران نتیجه گرفتند نانوذرات کربن کوانتوم دات با خاصیت جاذب رادیکال های آزاد و بهبود فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی موجب کاهش سطح استرس اکسیداتیو در گندم (*Triticum aestivum* L.) شد (Gong *et al.*, 2020).

قادر به افزایش مقاومت گیاه در شرایط خشکی است. در این راستا، پژوهشگران دریافته اند کاربرد نانوذرات می تواند با تقویت سازوکارهای مقاومتی از جمله ترشح اسیدهای آلی و همچنین با تأثیر بر فعالیت آنزیم ها سبب افزایش محتوای اسید آسکوربیک و آنتوسیانین گردد (Razavizadeh *et al.*, 2022). از سوی دیگر، افزایش محتوای آنتوسیانین و آسکوربیک با کاربرد نانوذرات را می توان با افزایش محتوای اسمولیت های سازگار مانند پرولین و قندهای محلول و همچنین حفظ تعادل آبی سلول به منظور افزایش مقدار آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی در شرایط تنش توضیح داد (Zahedi *et al.*, 2023; Zhong *et al.*, 2024).

فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی

نتایج نشان داد اثر سطوح مختلف تنش خشکی، تیمارهای کودی و اثرات متقابل سطوح مختلف تنش $\times$ تیمارهای کودی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز معنی دار بود (جدول ۴). حداکثر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در تنش خفیف و با کاربرد تلفیقی قارچ میکوریزا آربوسکولار+ کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی پی ام بدست آمد در حالی که بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش خفیف و با کاربرد قارچ میکوریزا آربوسکولار حاصل شد که تفاوت معنی داری با تیمار تلفیقی قارچ میکوریزا آربوسکولار+ ۱۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات در شرایط تنش خفیف نداشت (جدول ۵). همچنین، فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در تنش خفیف در مقایسه با آبیاری نرمال به ترتیب ۷۸/۷، ۷۷/۵ و ۱۲۴/۸ درصد افزایش یافتند (جدول ۵). از سوی دیگر، نتایج نشان داد کاربرد تلفیقی قارچ میکوریزا آربوسکولار+ کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی پی ام در شرایط تنش خفیف، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در مقایسه با شاهد ۲۱۹/۳ درصد و فعالیت آنزیم کاتالاز را ۸۳/۷ درصد افزایش داد، در حالی که استفاده از قارچ میکوریزا آربوسکولار موجب افزایش ۱۵۶/۳ درصدی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با شاهد گردید (جدول ۵). در شرایط خشکی، گیاهان برای مقابله با افزایش تولید رادیکال های آزاد و جلوگیری از آسیب اکسیداتیو، فعالیت آنزیم های

جدول ۴- تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی، مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن تحت سطوح تنش خشکی و تیمارهای کودی

میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجه آزادی	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	مالون‌دی‌آلدهید
سطوح تنش خشکی	۲	۳۴/۲۸**	۰/۱۵۹**	۵/۵۵**	۳۳/۶۸**
تیمارهای کودی	۵	۳/۹۰**	۰/۰۰۸**	۳/۳۷**	۰/۹۴۱**
تنش خشکی × تیمار کودی	۱۰	۱/۱۹**	۰/۰۰۳**	۰/۲۷۷**	۰/۴۲۹**
خطا	۵۴	۰/۰۵	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۹	۰/۰۵۵
ضریب تغییرات (%)		۴/۸۱	۷/۹۵	۵/۳۲	۷/۵۹
۱۲/۱۶					

^{ns} عدم اختلاف معنی‌دار، ^{**} بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ^{*} بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۵- میانگین اثر تیماری‌های کودی و سطوح آبیاری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی، مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن

تیمارها	آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی در میلی گرم پروتئین)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی در میلی گرم پروتئین)	کاتالاز (واحد آنزیمی در میلی گرم پروتئین)	مالون‌دی‌آلدهید (میکرومول بر گرم وزن تر)	پراکسید هیدروژن (میکرومول بر گرم وزن تر)
شاهد (عدم مصرف کود)	۲/۰۷۱	۰/۱۵۳۱	۰/۷۱۰۱	۱/۶۲k	۰/۵۶۱
قارچ میکوریزا آربوسکولار	۳/۸۲i	۰/۲۰۳ijk	۱/۰۴k	۱/۸۷jk	۰/۹۶jk
۱۰ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۳/۴۹j	۰/۱۹۵jk	۱/۲۶j	۲/۱۰۱ij	۰/۸۷k
۵ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۳/۲۵j	۰/۲۲۶ghi	۱/۵۰i	۲/۲۹hi	۰/۹۲jk
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۱۰ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۲/۸۵k	۰/۱۷۵kl	۰/۸۳۸۱	۲/۲۱hi	۰/۸۲k
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۵ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۴/۰۵i	۰/۲۱۱hij	۱/۳۱j	۲/۰۱ij	۱/۲۳hi
شاهد (عدم مصرف کود)	۴/۷۷g	۰/۳۳۸bcd	۱/۹۵fg	۴/۲۶c	۱/۷۸de
قارچ میکوریزا آربوسکولار	۶/۲۸b	۰/۳۹۲a	۲/۰۳ef	۲/۴۴gh	۱/۳۴fgh
۱۰ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۵/۹۳c	۰/۳۲۶cde	۲/۷۳b	۲/۹۸ef	۱/۵۳fg
۵ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۵/۶۷cd	۰/۲۹۹e	۲/۴۲c	۲/۷۲fg	۱/۴۳fgh
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۱۰ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۶/۶۱a	۰/۳۶۳ab	۲/۹۶a	۲/۵۴gh	۱/۱۴ij
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۵ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۵/۴۲de	۰/۳۴۹bc	۲/۸۶ab	۳/۳۰de	۱/۲۳hi
شاهد (عدم مصرف کود)	۴/۴۱h	۰/۱۸۳jkl	۱/۶۱hi	۵/۰۵a	۲/۸۰a
قارچ میکوریزا آربوسکولار	۵/۱۱ef	۰/۳۱۱cd	۲/۳۶cd	۴/۷۱b	۲/۳۲b
۱۰ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۴/۹۳fg	۰/۲۳۷gh	۱/۸۶g	۳/۶۲d	۲/۱۶bc
۵ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۴/۶۲gh	۰/۲۴۹fg	۱/۷۲h	۴/۳۹bc	۱/۹۶cd
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۱۰ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۵/۲۷e	۰/۳۱۶de	۲/۲۷d	۳/۳۸d	۱/۵۹efg
قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۵ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات	۵/۳۳e	۰/۲۷۰f	۲/۱۱e	۴/۱۴c	۱/۶۵ef
LSD	۰/۳۱۸	۰/۰۳۲	۰/۱۴۱	۰/۳۳۳	۰/۲۵

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری بین داده‌ها در آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

محتوای مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۴) حاکی از آن بود که محتوای مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن تحت تأثیر معنی‌دار تنش خشکی، تیمارهای کودی و ترکیب تیماری تنش خشکی و تیمارهای کودی قرار گرفت. حداکثر محتوای مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن در تیمار عدم مصرف کود در تنش خشکی شدید ثبت شد و کمترین آن نیز به تیمار شاهد تعلق داشت (جدول ۵). علاوه بر این، محتوای مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن در شرایط تنش خشکی شدید در مقایسه با عدم تنش ۱۰۹/۹ و ۱۳۱/۵ درصد افزایش یافتند. در مقابل، استفاده از تیمار قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۱۰ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات محتوای مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن را در مقایسه

با عدم مصرف کود به ترتیب ۲۴/۶۱ و ۳۵/۲۴ درصد کاهش داد (جدول ۵). محتوای مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن شاخصی از میزان خسارت تنش اکسیداتیو بوده و افزایش آن‌ها در شرایط تنش به افزایش رادیکال‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدی غشاها نسبت داده می‌شود (Ghani et al., 2021). در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، محققان گزارش کردند محتوای مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن در گیاه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* L.) تحت شرایط تنش خشکی افزایش یافت (Haghaninia et al., 2024). با این حال، نتایج بدست آمده نشان داد استفاده از قارچ میکوریزا آربوسکولار + ۱۰ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات موجب کاهش مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن تحت شرایط تنش شد.

کاهش سطح پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید با کاربرد تیمار تلفیقی قارچ میکوریزا آربوسکولار + کربن کوانتوم دات را می توان به بهبود دسترسی به آب، تنظیم اسمزی و افزایش سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی توضیح داد (Gohari et al., 2021; Jabborova et al., 2021). در تایید یافته های این پژوهش، محققان گزارش کردند کاربرد نانو ذرات در شرایط تنش با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مثل کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کرده و موجب کاهش مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن در انگور (*Vitis vinifera* cv. *Sultana*) گردید (Panahirad et al., 2023).

نتیجه گیری کلی

پژوهش حاضر به بررسی اثرات هم زمان نانو ذرات کربن کوانتوم دات و قارچ میکوریزا آربوسکولار بر بهره وری و رشد و همچنین پاسخ های بیوشیمیایی گیاه نعنای گریپ فروتی تحت شرایط تنش خشکی پرداخت. نتایج نشان داد که تنش خشکی به طور معنی داری منجر به کاهش پارامترهای رشدی از جمله ارتفاع، وزن تر و خشک گیاه شد. با این وجود، استفاده از تیمار تلفیقی قارچ میکوریزا آربوسکولار + نانو ذرات کربن کوانتوم دات با غلظت ۱۰ پی پی ام به طور معناداری شرایط گیاه را در هر دو شرایط نرمال و تنش خشکی افزایش داد. این افزایش نه تنها نسبت به تیمار شاهد بلکه در مقایسه با کاربرد جداگانه هر یک از این عوامل نیز معنی دار بود. گیاهانی که تحت این تیمار تلفیقی قرار گرفتند، افزایش معنی داری در متابولیت های ثانویه مانند اسید آسکوربیک، آنتوسیانین، پرولین، کربوهیدرات های

محلول، فنل و فلاونوئید نشان دادند. علاوه بر این، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی (مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز) در این گیاه افزایش یافت، که به طور مستقیم با کاهش سطح مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن، دو شاخص مهم تنش اکسیداتیو، مرتبط بود. این نتایج نشان داد که ترکیب قارچ میکوریزا آربوسکولار و نانو ذرات کربن کوانتوم دات می تواند با تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی گیاه و بهبود متابولیت های ثانویه، اثرات منفی تنش خشکی را تعدیل و به عنوان یک رویکرد پایدار و دوستدار محیط زیست برای کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی و بهبود عملکرد گیاهان دارویی تحت شرایط نامساعد مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین، این رویکرد پایدار می تواند در مناطقی که با کمبود آب مواجه هستند، ارزشمند باشد. با این حال، به منظور استفاده عملی از این نتایج، پیشنهاد می شود که پژوهش های بیشتری در شرایط مزرعه ای با هدف بررسی عملکرد بلندمدت این تیمارها و درک مکانیسم های مولکولی دقیق تر انجام شود تا از قابلیت های این روش ها در کشاورزی تجاری استفاده گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مدیریت پژوهش و فناوری و مدیر آزمایشگاه مرکزی دانشگاه مراغه بابت انجام آزمایش ها تشکر و قدردانی می شود.

منابع

- Aalipour, H., Nikbakht, A., Etemadi, N., Rejali, F., & Soleimani, M. (2020). Biochemical response and interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria during establishment and stimulating growth of Arizona cypress (*Cupressus arizonica* G.) under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 261, 108923. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108923>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. In P. D. Boyer (Ed.), *Methods in Enzymology*, 105, pp. 121-126. Academic Press.
- Akbarzadeh, S., Morshedloo, M. R., Behtash, F., Mumivand, H., & Maggi, F. (2023). Exogenous β -aminobutyric acid (BABA) improves the growth, essential oil content, and composition of grapefruit mint (*Mentha suaveolens* $\times$ *piperita*) under water deficit stress conditions. *Horticulturae*, 9(3), 1-14. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030354>
- Alam, M. Z., Choudhury, T. R., & Mridha, M. A. U. (2023). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance biomass growth, mineral content, and antioxidant activity in tomato plants under drought stress. *Journal of Food Quality*, (1), 1-14. <https://doi.org/10.1155/2023/2581608>
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant. Cell & Environment*, 24(12), 1337-1344. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- Arpanahi, A. A., Feizian, M., Mehdipourian, G., & Khojasteh, D. N. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation improves essential oil and physiological parameters and nutritional values of *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. under normal and drought stress conditions. *European Journal of Soil Biology*, 100, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2020.103217>
- Attaran Dowom, S., Karimian, Z., Mostafaei Dehnavi, M., & Samiei, L. (2022). Chitosan nanoparticles improve physiological and biochemical responses of *Salvia abrotanoides* (Kar.) under drought stress. *BMC Plant Biology*, 22(364), 1-17. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03689-4>
- Azizi, S., Kouchaksaraei, M. T., Hadian, J., Abad, A. R. F. N., Sanavi, S. A. M. M., Ammer, C., & Bader, M. K. F. (2021). Dual inoculations of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria boost drought resistance and essential oil yield of common myrtle. *Forest Ecology and Management*, 497, 123-138. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119478>
- Bates, L. S., Waldren, R. P. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276-287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Begum, N., Akhtar, K., Ahanger, M. A., Iqbal, M., Wang, P., Mustafa, N. S., & Zhang, L. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi improve growth, essential oil, secondary metabolism, and yield of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) under drought stress conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(33), 45276-45295. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13755-3>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chavoushi, M., Najafi, F., Salimi, A., & Angaji, S. A. (2020). Effect of salicylic acid and sodium nitroprusside on growth parameters, photosynthetic pigments and secondary metabolites of safflower under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 259, 108823. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108823>
- Farhangi-Abriz, S., Ghassemi-Golezani, K., Torabian, S., Rahimzadeh, S., Osati, F., & Safarpour, H. (2024). Response of soybean plants to the foliar application of carbon quantum dots under drought stress: a field study. *Journal of Plant Growth Regulation*, 44(2), 621-631. <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11464-y>
- Ghani, M. I., Saleem, S., Rather, S. A., Rehmani, M. S., Alamri, S., Rajput, V. D., Kalaji, H. M., Saleem, N., Sial, T. A., & Caparrós Liu, M. (2022). Foliar application of zinc oxide nanoparticles: An effective strategy to mitigate drought stress in cucumber seedling by modulating antioxidant defense system and osmolytes accumulation. *Chemosphere*, 289, 133202. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133202>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, 1, 1-12. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Gong, Y., Gong Dong, Z. (2021). Transfer, transportation, and accumulation of cerium-doped carbon quantum dots: Promoting growth and development in wheat. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 226, 112852. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112852>
- Haghaninia, M., Javanmard, A., Mahdavinia, G. R., Shah, A. A., & Farooq, M. (2023). Co-application of biofertilizer and stress-modulating nanoparticles modulates the physiological, biochemical, and yield

- responses of camelina (*Camelina sativa* L.) under limited water supply. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23(4), 6681-6695. <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01521-y>
- Haghaninia, M., Javanmard, A., Radicetti, E., Rasouli, F., Ruiz-Lozano, J. M., & Sabbatini, P. (2024). Adoption of arbuscular mycorrhizal fungi and biochar for alleviating the agro-physiological response of lavender (*Lavandula angustifolia* L.) subjected to drought stress. *Plant Stress*, 12, 100461. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100461>
- Hamedani, N. G., Gholamhoseini, M., Bazrafshan, F., Habibzadeh, F., & Amiri, B. (2022). Yield, irrigation water productivity and nutrient uptake of arbuscular mycorrhiza inoculated sesame under drought stress conditions. *Agricultural Water Management*, 266, 107569. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2022.107569>
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Igiehon, O. N., & Babalola, O. O. (2021). Rhizobium and mycorrhizal fungal species improved soybean yield under drought stress conditions. *Current Microbiology*, 78(4), 1615-1627. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02432-w>
- Jabborova, D., Annapurna, K., Al-Sadi, A. M., Alharbi, S. A., Datta, R., & Zuan, A. T. K. (2021). Biochar and arbuscular mycorrhizal fungi mediated enhanced drought tolerance in okra (*Abelmoschus esculentus*) plant growth, root morphological traits and physiological properties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(10), 5490-5499. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.016>
- Jahanafrooz, Z., Mousavi, M. M. H., Akbarzadeh, S., Hemmatzadeh, M., Maggi, F., & Morshedloo, M. R. (2024). Anti-breast cancer activity of the essential oil from grapefruit mint (*Mentha suaveolens* × *piperita*). *Fitoterapia*, 174, 105875. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.105875>
- Kakaei, K., Javan, H., Khamforoush, M., & Zarei, S. A. (2016). Fabrication of new gas diffusion electrode based on carbon quantum dot and its application for oxygen reduction reaction. *International journal of hydrogen energy*, 41(33), 14684-14691. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.06.093>
- Kausar, A., Hussain, S., Javed, T., Zafar, S., Anwar, S., Hussain, S., Zahra, N., & Saqib, M. (2023). Zinc oxide nanoparticles as potential hallmarks for enhancing drought stress tolerance in wheat seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 195, 341-350. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.01.014>
- Khodadadi, F., Ahmadi, F. S., Talebi, M., Moshtaghi, N., Matkowski, A., Szumny, A., & Rahimmalek, M. (2022). Essential oil composition, physiological and morphological variation in *Salvia abrotanoides* and *S. yangii* under drought stress and chitosan treatments. *Industrial Crops and Products*, 187, 115429. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115429>
- Li, H., Huang, J., Lu, F., Liu, Y., Song, Y., Sun, Y., & Lifshitz, Y. (2018). Impacts of carbon dots on rice plants: boosting the growth and improving the disease resistance. *ACS Applied Bio Materials*, (3), 663-672. <https://doi.org/10.1021/acsabm.8b00345>
- Mohammadi, H., Kazemi, Z., Aghaee, A., Hazrati, S., Golzari Dehno, R., & Ghorbanpour, M. (2023). Unraveling the influence of TiO2 nanoparticles on growth, physiological and phytochemical characteristics of *Mentha piperita* L. in cadmium-contaminated soil. *Scientific Reports*, 13(1), 22280. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49666-1>
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
- Napoli, E., Kim, M., Sowndhararajan, K., Ruberto, G., & Kim, S. (2023). The effect of exposure to *Mentha suaveolens* Ehrh. Essential oil on the electroencephalographic activity according to gender difference. *Journal of Essential Oil Research*, 35(5), 486-499. <https://doi.org/10.1080/10412905.2023.2240798>
- Omaye, S. T., Turnbull, J. D., & Sauberlich, H. E. (1979). Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues, and fluids. *Methods in Enzymology*, 62, 3-11. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(79\)62181-x](https://doi.org/10.1016/0076-6879(79)62181-x)
- Panahirad, S., Dadpour, M., Gohari, G., Akbari, A., Mahdavinia, G., Jafari, H., Kulak, M., Alcázar, R., & Fotopoulos, V. (2023). Putrescine-functionalized carbon quantum dot (put-CQD) nanoparticle: a promising stress-protecting agent against cadmium stress in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Sultana). *Plant Physiology and Biochemistry*, 197, 107653. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107653>
- Rasouli, F., Amini, T., Skrovankova, S., Asadi, M., Hassanpouraghdam, M. B., Ercisli, S., Buckova, M., Mrzaková, M., & Mlcek, J. (2023). Influence of drought stress and mycorrhizal (*Funneliformis mosseae*) symbiosis on growth parameters, chlorophyll fluorescence, antioxidant activity, and essential oil composition of summer savory (*Satureja hortensis* L.) plants. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1151467. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1151467>
- Razavizadeh, R., Mosayebi, Z., & Forghani, A. H. (2022). The Role of chitosan in improvisation the drought stress in *Carum copticum* through biochemical and essential oil components. *Russian Journal of Plant Physiology*, 69(7), 156. <https://doi.org/10.1134/s1021443722100223>

- Sarshad, A., Talei, D., Torabi, M., Rafiei, F., & Nejatkhah, P. (2021). Morphological and biochemical responses of *Sorghum bicolor* (L.) Moench under drought stress. *SN Applied Sciences*, 3(1), 81. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03977-4>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Xu, X., Ray, R., Gu, Y., Ploehn, H. J., Gearheart, L., Raker, K., & Scrivens, W. A. (2004). Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *Journal of the American Chemical Society*, 126(40), 12736-12737. <https://doi.org/10.1021/ja040082h>
- Yin, K., Bao, Q., Li, J., Wang, M., Wang, F., Sun, B., & Lian, F. (2024). Molecular mechanisms of growth promotion and selenium enrichment in tomato plants by novel selenium-doped carbon quantum dots. *Chemosphere*, 364, 143175. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143175>
- Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Karimi, M., Gholami, R., Amini, M., Abdelrahman, M., & Tran, L. S. P. (2023). Chitosan-based schiff base-metal (Fe, Cu, and Zn) complexes mitigate the negative consequences of drought stress on pomegranate fruits. *Plant Physiology and Biochemistry*, 196, 952-964. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.02.021>
- Zayova, E., Stancheva, I., Geneva, M., Hristozkova, M., Dimitrova, L., Petrova, M., & Mudroncekova, S. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance antioxidant capacity of in vitro propagated garden thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Symbiosis*, 74, 177-187. <https://doi.org/10.1007/S13199-017-0502-7>
- Zhang, Z., Zhang, J., Xu, G., Zhou, L., & Li, Y. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth and drought tolerance of *Zenia insignis* seedlings under drought stress. *New Forests*, 50(4), 593-604. <https://doi.org/10.1007/s11056-018-9681-1>
- Zhong, M., Yu, H., Jiang, Y., Liao, J., Li, G., Chai, S., Yang, R., Jiang, H., Wang, L., Deng, X., & Zhang, L. (2024). Physiological and molecular mechanisms of carbon quantum dots alleviating Cu²⁺ toxicity in *Salvia miltiorrhiza* bunge. *Environmental Pollution*, 358, 124521. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124521>

Optimizing the performance and defensive traits of grapefruit mint (*Mentha suaveolens* × *piperita*) under drought stress conditions using arbuscular mycorrhizal fungi and carbon quantum dots

Mohammad haghaninia¹, Abdollah Javanmard^{*2}, Farzad Rasouli³, Fatemeh Hazrati-Haselghobiafshar⁴

1. Ph.D. graduate, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

2. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

3. Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

4. MSc. student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

Received: 15-10-2024

Accepted: 21-11-2024

Abstract

With the growing challenges caused by environmental stresses such as drought, improving strategies to mitigate these stresses has become increasingly critical. This study aimed to evaluate the effects of carbon quantum dots (CQDs) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the growth and biochemical responses of grapefruit mint under drought stress. A factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three levels of drought stress (90%, 70%, and 50% of field capacity) and six fertilizer treatments, including no fertilizer (control), AMF, CQD at 5 ppm (CQD5), CQD at 10 ppm (CQD10), AMF + CQD5, and AMF + CQD10, in four replications. Results showed that the combined application of AMF + CQD10 significantly improved plant growth and increased the dry matter yield of grapefruit mint under optimal irrigation conditions. Under severe drought stress, control plants exhibited the highest levels of oxidative damage, as indicated by elevated malondialdehyde and hydrogen peroxide content. However, AMF + CQD treatments effectively reduced these stress markers. Additionally, under drought stress conditions, the application of AMF + CQD10 led to significant increases in phenol, flavonoid, proline, soluble carbohydrates, anthocyanin, and ascorbic acid contents, suggesting enhanced drought tolerance in grapefruit mint. Also, the activity of antioxidant enzymes such as ascorbate peroxidase, superoxide dismutase and catalase were also strengthened in this treatment. In conclusion, the combined application of AMF and CQD10 can effectively improve defense and biochemical characteristics of grapefruit mint under drought stress.

Keywords: Abiotic stress, Dry matter yield, Sustainable agriculture, Secondary metabolites, Nanoparticles

Citation: haghaninia, M., Javanmard, A., Rasouli., & Hazrati-Haselghoeiafshar, F. (2025). Optimizing the performance and defensive traits of grapefruit mint (*Mentha suaveolens* × *piperita*) under drought stress conditions using arbuscular mycorrhizal fungi and carbon quantum dots *Plant Production and Genetics*, 6(1), 1-18. <https://doi.org/10.22034/plant.2024.142333.1130>

Copyrights:

Copyrights rights for this article is retained by the author (s), with publication rights granted to Plant Production and Genetics. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



*Corresponding Author Email: a.javanmard@maragheh.ac.ir