

## ارزیابی اثر نانوذره دی اکسید سیلیسیوم (SiO<sub>2</sub>-NP) بر الگوی بیانی ژن‌های دساجوراز اسیدهای چرب و برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*)

Evaluation of the effect of silicon dioxide nanoparticle (SiO<sub>2</sub>-NP) on the expression pattern of fatty acid desaturase genes and some morphophysiological characteristics in purslane plant (*Portulaca oleracea*)

انیس دارم<sup>۱</sup>، هنگامه طاهری<sup>۲\*</sup>، محمد گلباشی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی،

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۲- به‌ترتیب دانشیار، استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی

و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

Darem A<sup>1</sup>, Taheri H<sup>\*2</sup>, Golbashy M<sup>2</sup>

1- MSc Student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

2- Associate Professor, Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

\*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: taheri@asnrukh.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۱

### چکیده

سیلیسیوم (Si) به‌عنوان یک عنصر شبه ضروری، نقش مهمی در تقویت رشد و نمو گیاه دارد. به‌کارگیری ابزارهای نوآورانه جهت تولید انواع نانوکودها، یکی از راهکارهای مؤثر جهت افزایش تولیدات کشاورزی برای تأمین نیازهای آینده جمعیت رو به رشد می‌باشد. با این حال اطلاعات کمی در خصوص اثرات نانوذره Si در تنظیم متابولیسم و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی در دسترس است. از آن‌جا که دساجورازهای اسیدچرب (FAD) نقش کلیدی در بیوسنتز اسیدهای چرب غیراشباع و تقویت ارزش تغذیه‌ای گیاهان دارند، در این مطالعه اثرات کاربرد غلظت‌های مختلف (۱۰ تا ۴۰ پی‌پی‌ام) نانوذره دی اکسید سیلیسیوم (SiO<sub>2</sub>-NP) بر تغییرات الگوی بیانی دساجوراز امگا ۶ (*FAD2*) و دساجوراز امگا ۳ (*FAD8*) در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*) به‌عنوان منبع غنی اسیدهای چرب اشباع نشده چندگانه (PUFA) مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین اثر غلظت‌های مختلف نانوذره SiO<sub>2</sub> بر پارامترهای رشدی، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آنزیمی نظیر کاتالاز و پراکسیداز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد میزان رونویسی ژن‌های دساجوراز تحت تیمار غلظت‌های مختلف این نانوذره تغییر یافت. به‌خصوص میزان بیان ژن *FAD2* که در تمامی غلظت‌های اعمال شده نانوذره، افزایش معنی‌داری را نسبت به گیاهان شاهد نشان داد و در غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام SiO<sub>2</sub> به بیشینه مقدار خود رسید. تغییرات میزان پارامترهای رشدی و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز در پاسخ به غلظت‌های متفاوت نانوذره SiO<sub>2</sub> نسبت به گیاهان شاهد مثبت گزارش شد. میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نیز با افزایش غلظت نانوذره افزایش یافت و در غلظت ۴۰ پی‌پی‌ام SiO<sub>2</sub> به بیشینه مقدار خود رسید. این یافته‌ها نشان می‌دهد که نانوذره SiO<sub>2</sub> با تقویت بیان ژن‌های دساجوراز اسیدهای چرب می‌تواند بر متابولیسم لیپیدها تأثیر بگذارد و در نتیجه سبب افزایش میزان اسیدهای چرب اشباع نشده چندگانه و بهبود ارزش تغذیه‌ای و آنتی‌اکسیدانی گیاه خرفه شود. همچنین نانوذره SiO<sub>2</sub> با تأثیر بر فرآیندهای متابولیسمی گیاه، باعث تقویت شاخص‌های رشدی و افزایش توان ظرفیت فتوسنتزی گیاه می‌شود و می‌تواند نقش کلیدی در افزایش تاب آوری گیاه نسبت به تنش‌های محیطی گیاه داشته باشد.

### واژه‌های کلیدی

اسیدهای چرب غیراشباع

بیان ژن

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

نانوتکنولوژی

qRT-PCR

در سال‌های اخیر اهمیت گیاهان در طب سنتی رو به افزایش است و افراد بیشتری در زندگی روزمره خود از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند. خرفه (*Portulaca oleracea*) گیاهی دارویی با پراکندگی جهانی است (Zhou et al. 2015) و دارای سابقه طولانی استفاده برای غذای انسان، خوراک دام و اهداف دارویی بوده است. این گیاه که ابتدا از هند و ایران منشاء گرفته و سپس در سراسر جهان پراکنده شده است، گیاهی است یک ساله از خانواده Portulacaceae (Simopoulos et al. 1995; Ezekwe et al. 2014; Uddin et al. 1999) که علی‌رغم تنوع ژنتیکی، یکی از فراوان‌ترین منابع گیاهی اسیدهای چرب غیر اشباع چندگانه<sup>۱</sup> (PUFA) نظیر امگا ۶ (لینولئیک اسید، ۱۸:۲<sup>۸۹،۱۲</sup>) و امگا ۳ (آلفا لینولئیک اسید، ۱۸:۳<sup>۸۹،۱۲،۱۵</sup>) می‌باشد (Okafor et al. 2014). اسید لینولئیک و آلفالینولئیک اسید به‌عنوان ترکیبات دارویی و غذایی ضروری در بافت‌های گیاهی می‌باشند که با اضافه شدن پیوندهای غیراشباع توسط آنزیم‌های غیراشباع‌کننده (دساجورازها) از اسید اولئیک منشاء می‌گیرند (Shanklin and Cahoon 1998; Napier et al. 1999). این اسیدهای چرب نمی‌توانند توسط بدن سنتز شوند و باید از طریق رژیم غذایی تأمین شوند، از این رو علاوه بر نقش مهم فیزیولوژیکی خود، برای سلامت و تغذیه انسان نیز ضروری می‌باشند. از آن‌جا که سطح غیراشباع‌سازی اسیدهای چرب، ارزش اقتصادی روغن را تعیین می‌کند، لذا اشباع زدایی از اسیدهای چرب به‌عنوان یک جنبه مهم در بیوشیمی روغن‌ها مطرح است (Knutzon et al. 1992; Mikkilineni and Rocheford 2003). در طی بیوسنتز لیپید، تشکیل اولین پیوند دوگانه در اسید استئاریک (۱۸:۰) برای تولید اسید اولئیک تک غیراشباع (۱۸:۱<sup>۸۹</sup>) توسط دساجوراز Δ<sup>۹</sup> استئاروئیل ACP پلاستییدی<sup>۲</sup> کاتالیز می‌شود. متعاقباً، اسید اولئیک توسط دساجورازهای امگا ۶ (Δ<sup>۱۲</sup>)، غیراشباع شده و تبدیل به اسید لینولئیک می‌شود. در آرابیدوپسیس دو ژن *FAD2* و *FAD6* به ترتیب دساجورازهای امگا ۶ (Δ<sup>۱۲</sup>) میکروزومی (شبکه اندوپلاسمی) و پلاستییدی را کدگذاری می‌کنند (Falcone et al. 2003).

اسیدهای چرب غیراشباع از اجزای ضروری مورد نیاز برای عملکرد طبیعی سلولی هستند و علاوه بر تأثیر بر سیالیت غشاء، می‌توانند عملکردهای متعددی را در گیاه به‌عنوان مولکول‌های پیام‌رسان داشته باشند (Los and Murata 1998; Mikami and Zheng et al. 2003; Murata 2003). اسیدهای ترینوئیک<sup>۳</sup> همچنین به‌عنوان پیش‌ساز برای سنتز چندین ملکول پیام‌رسان مشتق از اسید چرب نظیر اسید تروماتیک<sup>۴</sup> و اسید جاسمونیک عمل می‌کنند (Farmer 1994; Leon et al. 2001). افزایش اطلاعات در خصوص فرآیندهای غیراشباع‌سازی اسیدهای چرب و تنظیم آن‌ها نقش مهمی در توسعه سازوکارهای مؤثر جهت مدیریت تنش‌های زنده و غیرزنده دارد (Upchurch 2008). دساجورازهای اسیدهای چربی<sup>۵</sup> (FAD) نظیر دساجورازهای اولئیک و لینولئیک، عملکردهای متعددی در گیاهان دارند. FADها با اثرگذاری بر درجه غیراشباع لیپیدهای غشاء می‌توانند سیالیت غشاء را برای پاسخ به تغییرات دما تنظیم کنند؛ به‌گونه‌ای که میزان آلفالینولئیک اسید و لینولئیک اسید در بافت دانه و برگ سویا و گندم به موازات کاهش دما بتدریج افزایش یافت (Heppard et al. 1996; Horiguchi et al. 2000).

امروزه استفاده از نانوذرات به‌عنوان یک راه‌حل جایگزین می‌تواند نقش عمده‌ای در کاهش استفاده از کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها داشته باشد. از آن‌جا که نانوذرات، کشش سطحی بالایی دارند، پوشش‌دهی کودها و آفت‌کش‌ها با این ترکیبات،

در سال‌های اخیر اهمیت گیاهان در طب سنتی رو به افزایش است و افراد بیشتری در زندگی روزمره خود از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند. خرفه (*Portulaca oleracea*) گیاهی دارویی با پراکندگی جهانی است (Zhou et al. 2015) و دارای سابقه طولانی استفاده برای غذای انسان، خوراک دام و اهداف دارویی بوده است. این گیاه که ابتدا از هند و ایران منشاء گرفته و سپس در سراسر جهان پراکنده شده است، گیاهی است یک ساله از خانواده Portulacaceae (Simopoulos et al. 1995; Ezekwe et al. 2014; Uddin et al. 1999) که علی‌رغم تنوع ژنتیکی، یکی از فراوان‌ترین منابع گیاهی اسیدهای چرب غیر اشباع چندگانه<sup>۱</sup> (PUFA) نظیر امگا ۶ (لینولئیک اسید، ۱۸:۲<sup>۸۹،۱۲</sup>) و امگا ۳ (آلفا لینولئیک اسید، ۱۸:۳<sup>۸۹،۱۲،۱۵</sup>) می‌باشد (Okafor et al. 2014). اسید لینولئیک و آلفالینولئیک اسید به‌عنوان ترکیبات دارویی و غذایی ضروری در بافت‌های گیاهی می‌باشند که با اضافه شدن پیوندهای غیراشباع توسط آنزیم‌های غیراشباع‌کننده (دساجورازها) از اسید اولئیک منشاء می‌گیرند (Shanklin and Cahoon 1998; Napier et al. 1999). این اسیدهای چرب نمی‌توانند توسط بدن سنتز شوند و باید از طریق رژیم غذایی تأمین شوند، از این رو علاوه بر نقش مهم فیزیولوژیکی خود، برای سلامت و تغذیه انسان نیز ضروری می‌باشند. از آن‌جا که سطح غیراشباع‌سازی اسیدهای چرب، ارزش اقتصادی روغن را تعیین می‌کند، لذا اشباع زدایی از اسیدهای چرب به‌عنوان یک جنبه مهم در بیوشیمی روغن‌ها مطرح است (Knutzon et al. 1992; Mikkilineni and Rocheford 2003). در طی بیوسنتز لیپید، تشکیل اولین پیوند دوگانه در اسید استئاریک (۱۸:۰) برای تولید اسید اولئیک تک غیراشباع (۱۸:۱<sup>۸۹</sup>) توسط دساجوراز Δ<sup>۹</sup> استئاروئیل ACP پلاستییدی<sup>۲</sup> کاتالیز می‌شود. متعاقباً، اسید اولئیک توسط دساجورازهای امگا ۶ (Δ<sup>۱۲</sup>)، غیراشباع شده و تبدیل به اسید لینولئیک می‌شود. در آرابیدوپسیس دو ژن *FAD2* و *FAD6* به ترتیب دساجورازهای امگا ۶ (Δ<sup>۱۲</sup>) میکروزومی (شبکه اندوپلاسمی) و پلاستییدی را کدگذاری می‌کنند (Falcone et al. 2003).

<sup>3</sup> Trienoic acids

<sup>4</sup> Traumatic acid

<sup>5</sup> Fatty acid desaturases

<sup>1</sup> Polyunsaturated fatty acids (PUFA)

<sup>2</sup> Plastidial stearoyl-ACP Δ<sup>9</sup> desaturase

ژن‌های غیراشباع کننده و ارتقای کیفی اسیدهای چرب خرفه به‌عنوان منبع غنی از اسیدهای چرب غیراشباع در دست است. از این رو در مطالعه اخیر، تغییرات بیانی ژن‌های غیراشباع کننده اسید چرب دساجورزا امگا ۶ در مسیر بیوستز اسید لینولئیک (*FAD2*) و دساجورزا امگا ۳ در مسیر بیونستزی اسید لینولئیک (*FAD8*) در پاسخ به کاربرد غلظت‌های متفاوت نانوذره دی اکسید سیلیسیوم با استفاده از تکنیک qRT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. همچنین در این راستا اثر غلظت‌های مختلف این نانوذره بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه خرفه مورد بررسی قرار گرفت تا بتوان نقش این ترکیبات در بهبود خواص کیفی و عملکرد گیاه را مورد ارزیابی قرار داد.

### مواد و روش‌ها

#### کشت بذور و اعمال تیمار

بذور خرفه قبل از کشت با اتانول ۷۰٪ به مدت ۳-۲ دقیقه استریل و سپس با آب مقطر شستشو داده شد و جهت کشت به‌صورت به صورت نشاء در سینی کشت قرار داده شدند. سپس گیاهچه‌ها در مرحله چهاربرگی به گلدان انتقال داده شدند. هر گلدان به‌عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و با خاک استریل پر شد. ۱۰ نشاء سالم در هر گلدان پلاستیکی با قطر دهانه ۱۰ سانتی‌متر در ۳ تکرار بیولوژیکی کشت شدند. سپس گلدان‌ها در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و در شب در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. جهت اعمال تیمار از نانوذره SiO<sub>2</sub> که از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان (ایران) خریداری شده بود، در اندازه ۱۱-۱۳ نانومتر استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. یک هفته پس از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان، گیاهچه‌ها با محلول آب مقطر حاوی نانوذره SiO<sub>2</sub> در غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام به مدت ۴ هفته، آبیاری شدند. در زمان اعمال تیمار حدود ۵۰ میلی‌لیتر از محلول حاوی نانوذره به هر گلدان اضافه شد و گلدان‌های شاهد به همان میزان، آب دریافت کردند. پس از پایان دوره آبیاری، نمونه‌برداری از بافت برگ انجام شد. نمونه‌ها پس از پیچیده شدن در فویل آلومینیومی، بلافاصله

منجر به انتشار آهسته و کنترل شده چنین مواد شیمیایی می‌شوند و فراهمی زیستی یا مدت زمان مؤثر فعالیت مواد شیمیایی را طولانی‌تر می‌کنند (Liu and Lal 2015). همچنین نانوذرات به‌دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد نظیر جذب سریع و همچنین اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌توانند به‌عنوان محرک‌های زیستی، نقش مهمی در بهبود کیفیت محصول، تقویت جوانه‌زنی بذر، افزایش رشد گیاه و بهبود خواص فیزیوشیمیایی خاک داشته باشند (Juárez-Maldonado et al. 2019; Romanovski et al. 2023). در میان نانوذرات مختلف، نانوذرات سیلیسیوم (Si-NP) به‌دلیل خواص شیمیایی و فیزیکی منحصر به‌فردشان از سایر نانوذرات متمایز هستند و به‌واسطه اهمیتی که در کاهش تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارند، دارای پتانسیل گسترده‌ای در بخش کشاورزی هستند (Weisany et al. 2024). سیلیکون در ابتدا به‌عنوان یک عنصر غیرضروری برای رشد گیاه در نظر گرفته شده بود (Arnon and Stout 1939)، با این حال در سال‌های اخیر مطالعات متعدد، اثرات مفید آن بر محصولات مختلف را تأیید کرد و با توجه به عملکرد آن در تقویت رشد گیاه، به‌ویژه در شرایط تنش، امروزه به‌عنوان یک عنصر شبه ضروری معرفی شده است (Liang et al. 2015). یافته‌های اخیر نشان می‌دهد نانوذره دی اکسید سیلیسیوم (SiO<sub>2</sub>) می‌تواند با سرعت بیشتری وارد بافت‌های گیاهی شوند و با پیوند محکمی که با غشاهای بیولوژیکی برقرار می‌کنند، یک لایه محافظ پایدارتر تشکیل دهند که به افزایش بیشتر تحمل گیاه در برابر تنش کمک می‌کنند و با تنظیم تعادل هورمونی، افزایش جذب و امکان استفاده از مواد مغذی، تاب‌آوری گیاه را نسبت به تنش افزایش می‌دهند (Alharbi et al. 2022; Larkunthod et al. 2022). همچنین اثربخشی این ترکیبات به‌دلیل بهبود فتوسنتز، انباشت ترکیبات محافظ اسمزی، تقویت دیواره سلولی گیاه و جلوگیری از نفوذ هیف‌های قارچ، کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و در عین حال افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، راه را برای افزایش عملکرد محصولات از طریق کاربرد SiNP هموار کرده است (Weisany et al. 2024). با این حال اطلاعات اندکی از نقش این ترکیبات در تغییر متابولیسم گیاه خرفه و اهمیت آن در تغییر الگوی بیانی

۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه، اتصال (مطابق با دمای اتصال هر آغازگر) به مدت ۱۵ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه انجام شد. برای هر ژن دو تکرار بیولوژیکی (از دو گلدان متفاوت) و دو تکرار تکنیکی (دو تکرار برای هر cDNA) در نظر گرفته شد. مقایسه نسبی میزان بیان ژن‌های هدف با استفاده از روش اختلاف در تغییرات چرخه آستانه  $\Delta\Delta C_T$  در نرم‌افزار REST<sup>®</sup> (Pfaffl et al., 2002). همی داده‌ها با ژن گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز به‌عنوان کنترل داخلی، نرمال شده و سپس میزان تغییرات سطح رونوشت‌ها در پاسخ به غلظت‌های متفاوت نانوذره مورد استفاده نسبت به شرایط کنترل سنجیده شد.

#### اندازه‌گیری صفات مورفوفیزیولوژیک

به‌منظور اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه، نمونه‌های تحت تیمار و شاهد به‌طور جداگانه در پاکت‌های کاغذی قرار داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند و سپس توزین صورت گرفت. طول گیاهچه‌ها با استفاده از خطکش اندازه‌گیری و مقادیر بر اساس سانتی‌متر گزارش شدند. در خصوص تعداد برگ هر گیاهچه نیز تعداد برگ‌های هر گیاهچه شمارش شدند.

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارنوئیدها در نمونه‌های برگ، از استون ۸۰ درصد به‌عنوان حلال برای استخراج عصاره سلولی استفاده شد. بدین ترتیب که پس از اضافه کردن استون به نمونه‌های پودر شده، سانتریفیوژ نمونه‌ها با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد و عصاره فوقانی جهت اندازه‌گیری میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل spekol 2000، شرکت analytikjema، کشور آلمان) جداسازی شد. سپس محتوای رنگیزه‌ها مطابق با روش Arnon (۱۹۶۷) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر اندازه‌گیری شدند.

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، ابتدا عصاره آنزیمی با استفاده از بافر استخراج فسفات پتاسیم (۷ = pH) آماده شد. بدین ترتیب که برای به‌دست آوردن یک نمونه همگن و یکنواخت، نمونه برگ پودر شده با بافر استخراج به‌خوبی مخلوط و ساییده شد. سپس نمونه‌ها در ۱۵۰۰۰ دور در

در ازت مایع قرار گرفتند و برای انجام مطالعات ملکولی به فریزر ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شدند.

#### بررسی الگوی بیانی ژن‌های غیراشباع‌کننده دساجوراز امگا ۶ (FAD2) و امگا ۳ (FAD8)

استخراج RNA کل از نمونه‌های برگ به‌وسیله کیت استخراج RNA گیاهی (سیناکلون، ایران) و طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. جهت بررسی کمیت و خلوص RNA استخراج شده و تعیین غلظت آن، از دستگاه نانودراپ THERMO SCIENTIFIC, NANODROP, 2000C (آمریکا) استفاده شد. نسبت جذب در ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر، ۲۶۰ به ۲۳۰ نانومتر و غلظت RNA هر نمونه محاسبه شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت First Strand cDNA Synthesis (سیناکلون، ایران) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. طراحی آغازگر مناسب بر اساس توالی‌های ثبت شده در پایگاه اینترنتی NCBI با استفاده از برنامه PRIMER 3 PLUS انجام شد (جدول ۱). ژن گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز (*GAPDH*) به‌عنوان ژن مرجع در سنجش بیان ژن، مورد استفاده قرار گرفت. آغازگرهای طراحی شده از نظر احتمال تشکیل دایمر، هتروداایمر و تشکیل ساختارهای ساقه-حلقه توسط پایگاه‌های Primer Biosoft و IDT بررسی شدند. از سوی دیگر راندمان تکثیر و احتمال تشکیل ساختارهای ثانویه در ناحیه تکثیری با استفاده از سایت <https://eu.idtdna.com/UNAFold> بررسی شد. همچنین در بخش primer blast پایگاه اینترنتی NCBI، اختصاصیت آغازگرها برای گیاه خرفه بررسی و تأیید شد.

واکنش qRT-PCR بر روی دستگاه StepOnePlus Real-Time PCR System (ABI، آمریکا) و با استفاده از مسترمیکس Real-time PCR Master Mix (SYBR Green) (سیناکلون، ایران) انجام شد. بدین ترتیب که ۵ میکرولیتر از مسترمیکس با نیم میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای رو به جلو و برگشتی (۱۰ pmol/μl) و ۲ میکرو لیتر از cDNA (۳۰ نانوگرم) سنتز شده مخلوط شد و حجم آن با استفاده از آب دیونیزه به ۱۰ میکرولیتر رسید. در نمونه‌های کنترل آب جایگزین cDNA شد. دستورالعمل دمایی با واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. سپس ۴۰ چرخه دمایی شامل واسرشت سازی

محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار و گوئیکول ۱۰ میلی‌مولار در آب دو بار تقطیر بود. افزایش جذب ناشی از اکسیداسیون گوئیکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر (ضریب خاموشی  $E = 26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) ثبت شد (Chance and Maehly 1955).

### تجزیه و تحلیل داده‌های آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد و جهت مقایسه‌ی میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد استفاده شد.

دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفوژ شدند و فاز شفاف بالایی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی جدا و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد. مخلوط واکنش برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز مطابق با روش ارائه شده توسط Cakmak and Horst (1991) آماده شد. واکنش با افزودن عصاره آنزیمی آغاز شد و فعالیت آنزیمی با ارزیابی سرعت اولیه کاتالیز H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در طول موج ۲۴۰ نانومتر (ضریب خاموشی  $E = 39.4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) به صورت ۱ واحد آنزیم در هر میلی‌لیتر عصاره آنزیمی تعیین شد. محیط واکنش برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز حاوی شامل عصاره آنزیمی، بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=۷، آب مقطر دو بار تقطیر، پراکسید هیدروژن ۷۰ میلی‌مولار

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش

نام ژن	شماره دسترسی	توالی آغازگرها (۵'-۳')	دمای ذوب (°C)	طول قطعه تکثیری (bp)
GAPDH	MF281051.1	F: ATCCCTAGCAGCACTGGAGC R: ACAACCCTCTTATCAGCAAGCCT	53.5	159
گیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز				
FAD2	EU872254.1	F: AACCCACCTTCACACTTAGC R: CCTTGGATGTAGCCGTAGAT	56	199
دساجوراز امگا ۶				
FAD8	EU872255.1	F: TCCACCACGACATCGGAACT R: AAGACACACTGCGGGAAAGC	58.6	97
دساجوراز امگا ۳				

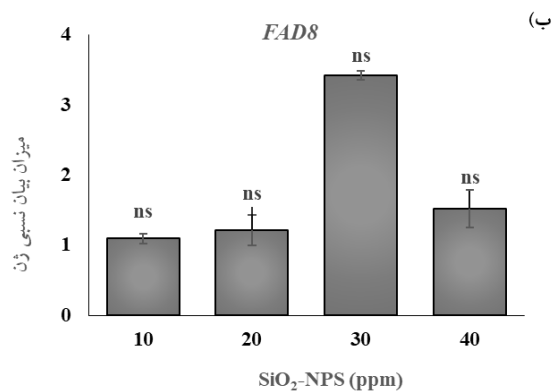
### نتایج و بحث

#### بررسی بیان ژن‌های دساجوراز اسید چرب امگا ۶ و امگا ۳ تحت غلظت‌های متفاوت SiO<sub>2</sub> در خرفه

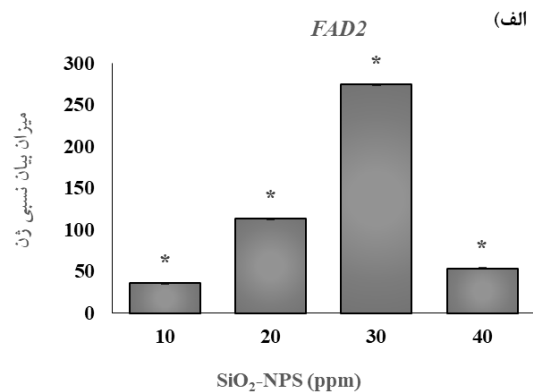
در خصوص تیمارهای اعمال شده مربوط به غلظت‌های ۱۰ تا ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره SiO<sub>2</sub>، سطح رونوشت ژن دساجوراز امگا ۶ (FAD2) در تمامی غلظت‌های اعمال شده، افزایش بیان معنی‌داری در سطح ۵ درصد را نشان داد. با این حال بیشترین میزان بیان FAD2 در غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام این نانوذره حاصل شد و کمترین میزان بیان نسبت به گیاهان شاهد در غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام مشاهده شد (شکل ۱ الف). در رابطه با بیان نسبی ژن دساجوراز امگا ۳ (FAD8)، هر چند که میزان بیان مشاهده شده در غلظت‌های ۱۰-۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره، نسبت به شاهد مثبت مشاهده شد، اما این تغییرات بیانی معنی‌دار نبود. با این حال بیشترین سطح تجمع mRNA در غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام نانوذره SiO<sub>2</sub> مشاهده شد (۳/۴)

برابر افزایش بیان نسبت به گیاهان شاهد) (شکل ۱ ب). مطالعات نشان داده است نانوذره SiO<sub>2</sub> با افزایش رسوب اجزای دیواره سلولی مانند لیگنین و سلولز به تقویت و تثبیت غشای سلولی کمک می‌کنند. با بهبود وضعیت یکپارچگی غشاء، SiO<sub>2</sub> به جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش تشکیل مالون دی‌آلدئید (MDA) و کاهش تخریب UFAها کمک می‌کند (AI- Mokadem et al. 2023). از سوی دیگر مشخص شده است که محلول‌پاشی SiO<sub>2</sub> می‌تواند مسیرهای پیام‌رسان خاص، نظیر مسیرهای سنتز اسید جاسمونیک (JA) یا اسید آبسزیک (ABA) را فعال کند که به نوبه خود می‌تواند بر متابولیسم لیپید و سنتز اسیدهای چرب اثر بگذارد. این مسیرهای پیام‌رسان می‌توانند بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های دخیل در اشباع‌زدایی اسیدهای چرب، ازدیاد طول و بازسازی لیپید را تنظیم کنند و در نهایت بر سطح اسیدهای چرب گیاهان به‌خصوص در شرایط تنش اثر بگذارند

شرایط تنش علی‌رغم افزایش اسیدهای چرب MUFA، میزان اسیدهای چرب غیر اشباع PUFA در گیاه زیره سیاه و چشم بلبلی کاهش یافت (Zadegan et al. 2023; Chen and Kattab 2024). هر چند که اهمیت نانوذره Si در بهبود کمی و کیفی اسیدهای چرب در گیاهان مختلف مورد بررسی قرار گرفته است اما تا قبل از آزمایش ما، مطالعه‌ای در خصوص الگوهای بیانی ژن‌های مؤثر در متابولیسم لیپیدها به‌خصوص دساجورازهای امگا ۶ و امگا ۳ انجام نشده بود.



(Chen and Kattab 2024). در توت‌فرنگی، کاربرد Si، نسبت اسیدهای چرب ۱۸:۲ و ۱۸:۳ به ۱۸:۱ را در فسفولیپیدها و گلیکولیپیدها افزایش داد که منجر به افزایش لیپیدهای غشاء شد (Wang and Galletta 1998). در گندم نیز کاربرد Si، میزان اسید چرب ۱۸:۳ را تحت تنش خشکی افزایش داد (Gong et al. 2005). در مطالعه‌ای که اخیراً نیز در گیاه زیره سیاه انجام شد، تیمار نانوذره SiO<sub>2</sub>، میزان اسیدهای چرب غیراشباع MUFA را در این گیاه افزایش داد (Chen and Kattab 2024). با این حال در



شکل ۱- تغییرات بیان ژن‌های غیراشباع کننده (دساجوراز) اسیدهای چرب الف (امگا ۶ (FAD2) و ب) امگا ۳ (FAD8) در غلظت‌های متفاوت نانوذره SiO<sub>2</sub> نسبت به گیاهان شاهد (بدون کاربرد نانوذره SiO<sub>2</sub>) در گیاه خرفه

لینولئیک در بادام‌زمینی تأیید شد (Rui et al. 2018). همچنین مشخص شد که بیان ژن‌های مؤثر در بیوسنتز استیل کوآنزیم A سینتاز تحت تیمار نانوذرات Se افزایش یافت (Cheng et al. 2022). استیل کوآنزیم A یک ترکیب بسیار مهم در متابولیسم اسیدهای چرب می‌باشد (Hyeon et al. 2020). از سوی دیگر تقویت بیان ژن‌های مؤثر در چرخه TCA مرتبط با سنتز اسیدهای چرب در گیاهانی که تحت تیمار نانوذره Se قرار گرفته بودند، افزایش یافت که به تقویت سنتز اسیدهای چرب منجر شد (Cheng et al. 2022). در مطالعه‌ی Li et al. (2020)، نیز در گیاه کرفس اسپری نانوذره Se سبب افزایش محتوای آلفالینولئیک اسید شد.

#### بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانوذره SiO<sub>2</sub> بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک در خرفه

با وجود اینکه پیشرفت‌های جالب توجه‌ای در خصوص شناخت کاربرد Si و نانو ساختارهای آن در کشاورزی صورت گرفته است

با این حال نقش سایر نانوذرات خصوصاً سلنیوم (Se) در بیان ژن‌های غیر اشباع کننده اسیدهای چرب به طور گسترده‌تر مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال در سویا بیان ژن‌های مؤثر در فرایند غیراشباع‌سازی اسیدهای چرب نظیر *FAD2-1A*، *FAD2-1B* و *FAD3B* با اسپری پاشی نانو ذره Se (۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت و محتوای اسید لینولئیک و اسید لینولئیک نیز افزایش یافت. همچنین در این مطالعه بیان ژن و فعالیت آنزیم استیل CoA کربوکسیلاز<sup>۱</sup> (ACC) در گیاهان تحت تیمار نانوذره Se افزایش یافت (Zhang et al. 2024). ACC یک آنزیم محوری در کربوکسیلاسیون استیل کوآنزیم A و تبدیل آن به مالونیل کوآنزیم است، واکنشی که به‌عنوان یک مرحله کنترل کننده سرعت در مسیر بیوسنتزی اسیدهای چرب عمل می‌کند (Sasaki and Nagano 2004). در همین راستا، نقش نانوذرات در تغییر محتوای نسبی اسیدهای چرب پالمیتیک، استئاریک، اولئیک و

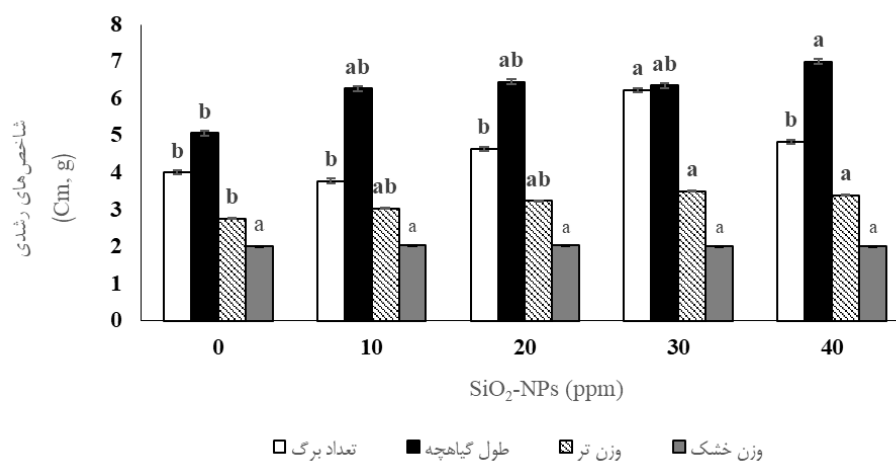
<sup>1</sup> Acetyl CoA carboxylase

رشدی گیاه خرفه تحت تیمار غلظت‌های مختلف نانوذره SiO<sub>2</sub> (شکل ۳)، مشخص شد که صفت تعداد برگ در غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام نانوذره به بیشینه مقدار خود رسید. طول گیاهچه در غلظت ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره نسبت به گیاهان شاهد (بدون اعمال تیمار SiO<sub>2</sub>) افزایش معنی‌داری را نشان داد. وزن تر نیز در غلظت‌های ۳۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد.

(Pavlovic et al. 2021)، اما استفاده‌ی عملی از این ترکیبات در سیستم‌های کشاورزی در جهت افزایش عملکرد محصولات، هنوز در مراحل ابتدایی خود است. با این حال تأثیر مثبت سیلیکون بر رشد و عملکرد محصولات کشاورزی، به‌ویژه در مواجهه با تنش‌های زنده و غیرزنده به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است (Weisany et al. 2024). شکل ۲ به‌ترتیب وضعیت رشدی در گیاهان شاهد و گیاهان تحت تیمار نانوذره SiO<sub>2</sub> را در گیاه خرفه نشان می‌دهد. بر اساس آزمایش انجام شده بر خصوصیات



شکل ۲- مقایسه پارامترهای رشدی نظیر طول گیاهچه و تعداد برگ در الف) گیاهان شاهد (بدون کاربرد نانوذره SiO<sub>2</sub>) و ب) گیاهان تحت تیمار نانوذره SiO<sub>2</sub>.



شکل ۳- نمودار تغییرات پارامترهای رشدی تحت غلظت‌های متفاوت نانوذره SiO<sub>2</sub> در گیاه خرفه

می‌کند و بدین ترتیب باعث افزایش کارایی فتوسنتز می‌شود (Verma et al. 2020). همچنین این عنصر با حفظ یکپارچگی رنگدانه‌های فتوسنتزی و جلوگیری از تجزیه آن‌ها، فعالیت فتوسنتزی پایدار را حتی در شرایط تنش فراهم می‌آورد. این

مطالعات قبلی نشان داده است که Si با تشکیل لایه‌های کوتیکولی دوگانه منجر به افزایش سرعت فتوسنتز و کاهش تبخیر و تعرق و در نهایت تقویت عملکرد گیاه می‌شود و با حفظ ایستایی و بهبود ساختار بهینه برگ، امکان جذب و استفاده مؤثر از نور را فراهم

نانوذره SiO<sub>2</sub> بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به موازات افزایش غلظت نانوذره، افزایش یافت. به گونه‌ای که کمترین میزان فعالیت آنزیمی در نمونه‌های شاهد و بیشترین میزان فعالیت در غلظت ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره مشاهده شد (شکل ۵). مطابق با یافته‌های ما، نقش نانوذرات Si در تقویت بیان و فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه نخودفرنگی نیز تأیید شد (Tripathi et al. 2015). همچنین در گیاه *Cucurbita pepo* مشخص شد که نانوذرات SiO<sub>2</sub> به موازات افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهند (Siddiqui et al. 2014). همچنین کاربرد این نانوذره در گیاه *Rosa damascena*، ضمن کاهش میزان H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و MDA، باعث تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز شد (Hajizadeh et al. 2022). از سوی دیگر در زیره سیاه (*Nigella sativa* L.) نیز نانوذره SiO<sub>2</sub>، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد (Chen and Kattab 2024). مطالعات پیشین نشان می‌دهد که نانوذره SiO<sub>2</sub> می‌تواند ژن‌های دخیل در سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید را تحریک کند. این افزایش بیان ژن منجر به تقویت فعالیت آنزیم‌ها و بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Mukarram et al. 2022). از سوی دیگر مشخص شده است که PUFAها از طریق تأثیری که بر سمیت‌زدایی ترکیبات ROS در طول شرایط تنش دارند، می‌توانند سبب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شوند (Sánchez-Martín et al. 2018).

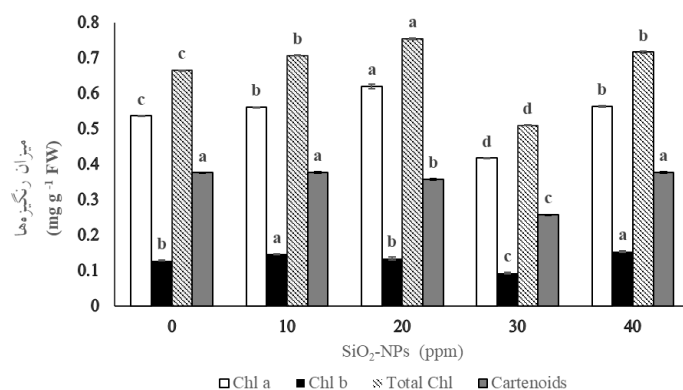
همچنین گزارش شده است که برخی نانوذرات نظیر Se از طریق تأثیری که بر میزان آلفالینولنیک و افزایش محتوای جاسمونات دارند، محتوای فلاونوئیدها و بالتبع آن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهند (Li et al. 2020). در مطالعات پیشین نیز نقش جاسمونات در تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه از طریق تأثیر آن بر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه نظیر فلاونوئیدها و ترپن‌ها تأیید شده بود (Qiu et al. 2014; Bali et al. 2019; Pan et al. 2020). همچنین کاربرد مستقیم نانوذرات SiO<sub>2</sub> به ریشه گیاهان *Hyoscyamus reticulatus* و *H. pusillus*، محتویات فنل و ترکیبات فلاونوئیدی را افزایش داد (Hedayati et al. 2020).

عنصر با اثرات تنظیمی که بر پروتئین‌های مختلف مرتبط با فتوسنتز، از جمله فتوسیستم I، II، RubisCO و سایر پروتئین‌های مرتبط با کلروپلاست وارد می‌کند، به حفظ عملکرد دستگاه فتوسنتزی به‌ویژه در رویارویی با شرایط تنش کمک می‌کند (Muneer et al. 2014). در مطالعه ما بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانوذره SiO<sub>2</sub> بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد که میزان کلروفیل a در غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام نانوذره نسبت به گیاهان شاهد و سایر غلظت‌ها افزایش چشمگیری نشان داد. میزان کلروفیل b در غلظت‌های ۱۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام نانوذره نسبت به شاهد مثبت و معنی‌دار گزارش شد. محتوای کلروفیل کل در غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ نانوذره نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۴). بر اساس گزارشات به‌دست آمده نیز مشخص شد که کاربرد غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره SiO<sub>2</sub> در شرایط آزمایشگاهی در دو ژنوتیپ *Rosa damascena* اثر مثبتی بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، میزان کلروفیل کل و کارتنوئیدها داشته است (Hajizadeh et al. 2022). مشخص شده است که SiO<sub>2</sub> با افزایش فعالیت آنزیمی مؤثر در بیوسنتز کلروفیل، محتوای کلروفیل گیاه را افزایش می‌دهد. این نانوذره همچنین می‌تواند با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات ROS را کاهش دهد و از کلروفیل در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت کند. همچنین وجود SiO<sub>2</sub> جذب مواد مغذی را تسهیل می‌کند و مواد مغذی ضروری برای سنتز کلروفیل فراهم می‌کند (Kiany et al. 2022; Weisany and Khosropour 2023).

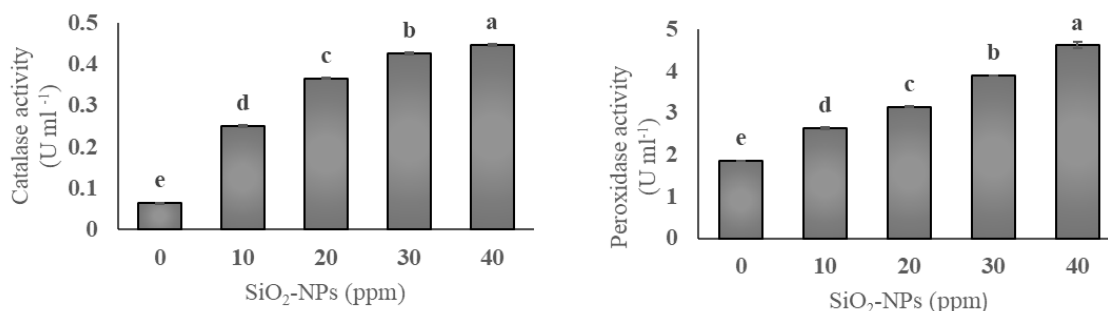
مشخص شده است که Si با تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ضروری مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، به بازیابی تعادل اکسیداسیون/احیاء سلولی کمک کرده و سلول‌های گیاهی را از آسیب اکسیداتیو ناشی از عوامل تنش محافظت می‌کند (Soundararajan et al. 2015; Manivannan et al. 2015). سازوکار Si در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به عملکرد این عنصر در حفاظت از غشاهای سلولی از طریق جلوگیری از دسترسی پروتئین‌ها به پروتئین‌های داخلی غشاء و جلوگیری از تجزیه غشاء و از بین رفتن یکپارچگی آن مربوط باشد (Gong et al. 2005). در مطالعه ما، اثر غلظت‌های متفاوت

دو مسیر بیوستنز فنیل پروپان و مسیرهای اسید چرب منشعب به دست آمد (Jia et al. 2024).

مطالعه دیگری استفاده از ۱۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره Se منجر به افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه، هورمون‌های گیاهی و آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان خیار شد. این اثرات با فعال کردن هر



شکل ۴- تغییرات میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان کارتنوئید تحت غلظت‌های متفاوت نانوذره SiO<sub>2</sub> در گیاه خرفه



شکل ۵- تغییرات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیدازو تحت غلظت‌های متفاوت نانوذره SiO<sub>2</sub> در گیاه خرفه

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به موازات افزایش غلظت نانوذره SiO<sub>2</sub>، اهمیت کاربرد این نانوذره در تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را تأیید کرد که به نوبه خود حفاظت از کلروفیل در برابر تنش اکسیداتیو و افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی را به همراه داشت. این آزمایش اولین مطالعه‌ای است که به اثرات مثبت نانوذره SiO<sub>2</sub> بر تقویت شاخص‌های رشدی، توان آنتی‌اکسیدانی و تقویت بیان ژن‌های دساجوراز اسیدهای چرب گیاه خرفه پرداخته است. از این رو می‌توان استفاده از این نانوذرات را به عنوان یک رویکرد اکولوژیکی همگام با کشاورزی پایدار جهت افزایش کیفیت محصول، تقویت تاب‌آوری گیاه در شرایط محیطی تنش‌زا و ارتقاء امنیت غذایی توصیه کرد.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که میزان رونویسی ژن‌های اسیدهای چرب دساجوراز خصوصاً ژن *FAD2* در تمام غلظت‌های اعمال شده نانوذره به‌طور چشمگیری نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت و به بیشترین میزان خود در غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام نانوذره رسید. به نظر می‌رسد این نانوذره به‌عنوان یک الیسیتور غیرزیستی می‌تواند نقش مهمی در فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسان مؤثر بر بیوستنز لیپید داشته باشد و با ممانعت از تخریب و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا سبب حفظ یکپارچگی غشاء سلولی شود. از سوی دیگر به نظر می‌رسد افزایش بیان ژن‌های دساجوراز اسیدهای چرب سبب فعال شدن مسیر متابولیکی پائین دست آن یعنی جاسمونات شده که آن نیز به نوبه خود سبب تقویت سنتز اسیدهای چرب و افزایش توان آنتی‌اکسیدانی گیاه شده است. افزایش فعالیت

## منابع

- Alharbi K, Osman HS, Rashwan E, Hafez EM, Omara AE (2022) Stimulating the growth, anabolism, antioxidants, and yield of rice plants grown under salt stress by combined application of bacterial inoculants and nano-silicon. *Plants* 11:3431.
- Al-Mokadem AZ, Sheta MH, Mancy AG, Hussein HA, Kenawy SK, Sofy AR, Abu-Shahba MS, Mahdy HM, Sofy MR, Al Bakry AF, Agha MS (2023) Synergistic effects of kaolin and silicon nanoparticles for ameliorating deficit irrigation stress in maize plants by upregulating antioxidant defense systems. *Plants* 12(11):2221.
- Arnon A. N (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23:112-121.
- Arnon DI, Stout PR (1939) The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology* 14:371-375
- Bali S, Jamwal VL, Kohli SK, Kaur P, Tejpal R, Bhalla V, Ohri P, Gandhi SG, Bhardwaj R, Al-Huqail AA, Siddiqui MH (2019) Jasmonic acid application triggers detoxification of lead (Pb) toxicity in tomato through the modifications of secondary metabolites and gene expression. *Chemosphere* 235:734-748.
- Cakmak I. and Horst W J (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum* 83:463-468.
- Chance B and Maehly AC (1955) Assay of catalases and prooxidase. *Methods in Enzymology* 2: 764-775.
- Chen Z, Kattab NO (2024) Silicon and titanium nanoparticles modulated drought and chromium toxicity by adjusting physio-biochemical attributes and fatty acid profiles of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Environmental Science and Pollution Research* 31:13563-13574.
- Cheng B, Wang C, Chen F, Yue L, Cao X, Liu X, Yao Y, Wang Z, Xing B (2022) Multiomics understanding of improved quality in cherry radish (*Raphanus sativus* L. var. radculus pers) after foliar application of selenium nanomaterials. *Science of The Total Environment* 824:153712.
- Ezekwe MO, Omara-Alwala TR, Membrahtu T (1999) Nutritive characterization of purslane accessions as influenced by planting date. *Plant Foods for Human Nutrition* 54:183-91.
- Falcone DL, Gibson S, Lemieux B, Somerville C (1994) Identification of a gene that complements an *Arabidopsis* mutant deficient in chloroplast [omega] 6 desaturase activity. *Plant Physiology* 106:1453-1459.
- Farmer EE (1994) Fatty acid signalling in plants and their associated microorganisms. *Plant Molecular Biology* 26:1423-1437.
- Gong H, Zhu X, Chen K, Wang S, Zhang C (2005) Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science* 169:313-321.
- Hajizadeh HS, Azizi S, Rasouli F, Okatan V (2022) Modulation of physiological and biochemical traits of two genotypes of *Rosa damascena* Mill. by SiO<sub>2</sub>-NPs under In vitro drought stress. *BMC Plant Biology* 22:538.
- Hedayati A, Hosseini B, Palazon J, Maleki R (2020) Improved tropane alkaloid production and changes in gene expression in hairy root cultures of two *Hyoscyamus* species elicited by silicon dioxide nanoparticles. *Plant Physiology and Biochemistry* 155:416-428.
- Heppard EP, Kinney AJ, Stecca KL, Miao GH (1996) Developmental and growth temperature regulation of two different microsomal [omega]-6 desaturase genes in soybeans. *Plant Physiology* 110:311-319.
- Horiguchi G, Fuse T, Kawakami N, Kodama H, Iba K (2000) Temperature-dependent translational regulation of the ER  $\omega$ -3 fatty acid desaturase gene in wheat root tips. *The Plant Journal* 24:805-813.
- Hyeon H, Xu JL, Kim JK, Choi Y (2020) Comparative metabolic profiling of cultivated and wild black soybeans reveals distinct metabolic alterations associated with their domestication. *Food Research International* 134:109290.
- Jia Y, Kang L, Wu Y, Zhou C, Cai R, Zhang H, Li J, Chen Z, Kang D, Zhang L, Pan C (2024) Nano-selenium foliar intervention-induced resistance of cucumber to *Botrytis cinerea* by activating jasmonic acid biosynthesis and regulating phenolic acid and cucurbitacin. *Pest Management Science* 80:554-68.
- Juárez-Maldonado A, Ortega-Ortíz H, Morales-Díaz AB, González-Morales S, Morelos-Moreno Á, Cabrera-De la Fuente M, Sandoval-Rangel A, Cadenas-Pliego G, Benavides-Mendoza A (2019) Nanoparticles and nanomaterials as plant biostimulants. *International Journal of Molecular Sciences* 20:162.
- Kiany T, Pishkar L, Sartipnia N, Iranbakhsh A, Barzin G (2022) Effects of silicon and titanium dioxide nanoparticles on arsenic accumulation, phytochelatin metabolism, and antioxidant system by rice under arsenic toxicity. *Environmental Science and Pollution Research* 29:34725-34737.
- Knutzon DS, Thompson GA, Radke SE, Johnson WB, Knauf VC, Kridl JC (1992) Modification of Brassica seed oil by antisense expression of a stearyl-acyl carrier protein desaturase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89:2624-2628.
- Larkunthod P, Boonlakhorn J, Pansarakham P, Pongdontri P, Thongbai P, Theerakulpisut P (2022) Synthesis and characterization of silica nanoparticles from rice husk and their effects on physiology of rice under salt stress. *Chilean Journal of Agricultural Research* 82:412-425
- Leon J, Rojo E, Sanchez-Serrano JJ (2001) Wound signalling in plants. *Journal of Experimental Botany* 52:1-9.
- Li D, An Q, Wu Y, Li JQ, Pan C (2020) Foliar application of selenium nanoparticles on celery stimulates several nutrient component levels by regulating the  $\alpha$ -linolenic acid pathway. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 8:10502-10510.
- Liang Y, Nikolic M, Bélanger R, Gong H, Song A (2015) Silicon in agriculture. Springer, Dordrecht 978-994.
- Liu R, Lal R (2015) Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the Total Environment* 514:131-139.

- Los DA, Murata N (1998) Structure and expression of fatty acid desaturases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism* 1394:3-15.
- Manivannan A, Soundararajan P, Arum LS, Ko CH, Muneer S, Jeong BR (2015) Silicon-mediated enhancement of physiological and biochemical characteristics of *Zinnia elegans* 'Dreamland Yellow' grown under salinity stress. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* 56:721-731.
- Mikami K, Murata N (2003) Membrane fluidity and the perception of environmental signals in cyanobacteria and plants. *Progress in Lipid Research* 42:527-543.
- Mikkilineni V, Rocheford T (2003) Sequence variation and genomic organization of fatty acid desaturase-2 (*fad2*) and fatty acid desaturase-6 (*fad6*) cDNAs in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 106:1326-1332.
- Mukarram M, Petrik P, Mushtaq Z, Khan MM, Gulfishan M, Lux A (2022) Silicon nanoparticles in higher plants: Uptake, action, stress tolerance, and crosstalk with phytohormones, antioxidants, and other signalling molecules. *Environmental Pollution* 310:119855.
- Muneer S, Park YG, Manivannan A, Soundararajan P, Jeong BR (2014) Physiological and proteomic analysis in chloroplasts of *Solanum lycopersicum* L. under silicon efficiency and salinity stress. *International Journal of Molecular Sciences* 15:21803-21824.
- Napier JA, Sayanova O, Sperling P, Heinz E (1999) A growing family of cytochrome b5-domain fusion proteins. *Trends in Plant Science* 4:2-4.
- Ohlrogge J, Browse J (1995) Lipid biosynthesis. *The plant Cell* 7:957-970
- Okafor IA, Ayalokunrin MB, Orachu LA (2014) A review on *Portulaca oleracea* (purslane) plant-its nature and biomedical benefits. *International Journal of Biomedical Research* 5:75-80
- Okuley J, Lightner J, Feldmann K, Yadav N, Lark E, Browse J (1994) *Arabidopsis FAD2* gene encodes the enzyme that is essential for polyunsaturated lipid synthesis. *The Plant Cell* 6:147-158.
- Pan L, Zhao X, Chen M, Fu Y, Xiang M, Chen J (2020) Effect of exogenous methyl jasmonate treatment on disease resistance of postharvest kiwifruit. *Food Chemistry* 305:125483.
- Pavlovic J, Kostic L, Bosnic P, Kirkby EA, Nikolic M (2021) Interactions of silicon with essential and beneficial elements in plants. *Frontiers in Plant Science* 12:697592.
- Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L (2002) Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Research* 30:e36-e36
- Qiu Z, Guo J, Zhu A, Zhang L, Zhang M (2014) Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 104:202-208.
- Romanovski V, Roslyakov S, Trusov G, Periakaruppan R, Romanovskaia E, Chan HL, Moskovskikh D (2023) Synthesis and effect of CoCuFeNi high entropy alloy nanoparticles on seed germination, plant growth, and microorganisms inactivation activity. *Environmental Science and Pollution Research* 30:23363-23371.
- Rui M, Ma C, White JC, Hao Y, Wang Y, Tang X, Yang J, Jiang F, Ali A, Rui Y, Cao W (2018) Metal oxide nanoparticles alter peanut (*Arachis hypogaea* L.) physiological response and reduce nutritional quality: a life cycle study. *Environmental Science: Nano*. 2018 5:2088-20102.
- Sánchez-Martín J, Canales FJ, Tweed JK, Lee MR, Rubiales D, Gómez-Cadenas A, Arbona V, Mur LA, Prats E (2018) Fatty acid profile changes during gradual soil water depletion in oats suggests a role for jasmonates in coping with drought. *Frontiers in Plant Science* 9:1077.
- Sasaki Y, Nagano Y (2004) Plant acetyl-CoA carboxylase: structure, biosynthesis, regulation, and gene manipulation for plant breeding. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 68:1175-1184.
- Shanklin J, Cahoon EB (1998) Desaturation and related modifications of fatty acids. *Annual Review of Plant Biology* 49:611-41.
- Siddiqui MH, Al-Wahaibi MH, Faisal M, Al Sahli AA (2014) Nano-silicon dioxide mitigates the adverse effects of salt stress on *Cucurbita pepo* L. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33:2429-2437.
- Simopoulos AP, Norman HA, Gillaspie JE (1995) Purslane in human nutrition and its potential for world agriculture. *World Review of Nutrition and Dietetics* 77:47-74.
- Soundararajan P, Manivannan A, Park YG, Muneer S, Jeong BR (2015) Silicon alleviates salt stress by modulating antioxidant enzyme activities in *Dianthus caryophyllus* 'Tula'. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* 56:233-239.
- Tripathi DK, Singh VP, Prasad SM, Chauhan DK, Dubey NK (2015) Silicon nanoparticles (SiNp) alleviate chromium (VI) phytotoxicity in *Pisum sativum* (L.) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 96:189-98.
- Uddin MK, Juraimi AS, Hossain MS, Nahar MA, Ali ME, Rahman MM (2014) Purslane weed (*Portulaca oleracea*): A prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes. *The Scientific World Journal* 2014:951019.
- Upchurch RG (2008) Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress. *Biotechnology Letters* 30:967-977.
- Verma KK, Liu XH, Wu KC, Singh RK, Song QQ, Malviya MK, Song XP, Singh P, Verma CL, Li YR (2020) The impact of silicon on photosynthetic and biochemical responses of sugarcane under different soil moisture levels. *Silicon* 12:1355-1367.
- Wang SY, Galletta GJ (1998) Foliar application of potassium silicate induces metabolic changes in strawberry plants. *Journal of Plant Nutrition* 21:157-167.
- Weisany W, Khosropour E (2023) Engineered nanomaterials in crop plants drought stress management. In: *Engineered nanomaterials for sustainable agricultural production, soil improvement and stress management*, Academic Press 183-204.
- Weisany W, Razmi J, Eshaghabadi AH, Pashang D (2024) Silicon nanoparticles (SiNP): A novel and sustainable

strategy for mitigating environmental stresses in plants. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 24:2167-2191.

Zadegan K, Monem R, Pazoki A (2023) Silicon dioxide nanoparticles improved yield, biochemical attributes, and fatty acid profile of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp) under different irrigation regimes. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 23:3197-3208.

Zhang L, Li X, Yue L, Cao X, Cheng B, Wang C, Wang Z (2024) Selenium nanomaterials promoted ferredoxin and iron-sulfur protein synthesis and acetyl CoA carboxylase activity to improve the photosynthesis and fatty-acid synthesis in soybean. *Environmental Science: Nano* 11:2073-2082.

Zheng H, Rowland O, Kunst L (2005) Disruptions of the *Arabidopsis* enoyl-CoA reductase gene reveal an essential role for very-long-chain fatty acid synthesis in cell expansion during plant morphogenesis. *The Plant Cell* 17:1467-1481.

Zhou YX, Xin HL, Rahman K, Wang SJ, Peng C, Zhang H (2015) *Portulaca oleracea* L.: a review of phytochemistry and pharmacological effects. *BioMed Research International* 2015:925631.