

Evaluation of the effect of zinc oxide nanoparticles on disease management and physiological responses of cucumber (*Cucumis sativus* L. cv. Super Dominus) infected with watermelon mosaic virus

1. Fatemeh Soleimani¹^{*}: Postgraduated student of plant pathology, university of Jiroft
2. Asra Salari²^{**}: Assistant professor of Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Jiroft
3. Maryam Mazaheri-Tirani³: Associated professor of Department of Biology, Faculty of Science, University of Jiroft
4. Seyyedeh Atefeh Hosseini⁴: Associated professor of Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Birjand
5. Hamidreza Alizadeh⁵: Associated professor of Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Jiroft

**Corresponding Author's Email Address: asra.salari @ujiroft.ac.ir

Article Type:

Original Research

Received: 13 July 2025

Revised: date: 18 November 2025

Accepted: 20 November 2025

How to Cite: Soleimani, F., Salari, A., Mazaheri-Tirani, M., Hosseini, S. A., & Alizadeh, H. (2024). Evaluation of the effect of zinc oxide nanoparticles on disease management and physiological responses of cucumber (*Cucumis sativus* L. cv. Super Dominus) infected with watermelon mosaic virus. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 60(3), 244-266.

DOI: 10.22034/IJPP.2025.2021860.491



© 2024 the authors. Published by Maher Publishing Institute. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) License.

Abstract:

Watermelon mosaic virus (*Potyvirus citrulli*, WMV) is one of the most important viruses infecting cucurbits in the world. In this study, the effect of zinc oxide nanoparticles on the severity of disease symptoms, growth traits, plant pigments, and total sugar in cucumber plants of the Super Dominus cultivar infected with WMV was investigated. ZnO NPs were sprayed on two- to three-leaf seedlings at a concentration of 250 and 500 mg/L twice, 24 hours apart. After 24 hours from the second spray, WMV inoculum was mechanically inoculated into the designed treatment groups. The experiment was conducted as a two-factor factorial (nanoparticles and WMV) in a completely randomized design. One month after the treatments, morphological characteristics, biochemical parameters, and severity of disease symptoms were examined. Based on the results, the virus led to a decrease in growth traits, plant pigments, and total sugar compared to the control. A concentration of 250 mg/L of nanoparticles compared to 500 mg/L in the presence of the pathogen reduced the severity of disease symptoms and improved growth parameters, and plant pigments. Due to the reduction of disease damage and the absence of destructive environmental effects of this nanoparticle, it is a suitable option for the management of WMV. The use of a concentration of 250 mg/L of zinc oxide nanoparticles is recommended to improve the performance of this cucumber variety infected with WMV. This study is the first report of evaluating the effect of zinc oxide nanoparticles in the management of WMV in cucumber plants.

Keywords: Cucurbitaceae, Disease Management, Nanoparticles, Plant Pigments, *Potyvirus*.

Extended Abstract

Introduction

Cucumber (*Cucumis sativus* L.) is a globally important vegetable crop of the Cucurbitaceae family, native to Asia and widely grown in tropical and temperate regions (Garg et al., 2007; Paniagua-Zambrana et al., 2024). Cucumber is highly susceptible to a range of biotic stresses. viral infections are a critical factor limiting both the yield and quality of cucumber production. Among, watermelon mosaic virus (*Potyvirus citrulli*; WMV), a member of the Potyviridae family, is a widespread pathogen infecting cucurbits, causing severe stunting, leaf deformation, and reduced fruit quality (Dong & Guan, 2017; Walters et al., 2003; Zitter et al., 1996). Thus, the use of growth elicitors improves the performance of host plants against plant viruses can be effective.

Nanotechnology has recently emerged as a promising approach to mitigate plant viral stress (Cai et al., 2019). Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) have attracted attention for their potential to enhance plant defense mechanisms. ZnO NPs can stimulate enzymatic activity, antioxidant systems, and secondary metabolite production, thereby reducing viral impacts (Dimkpa et al., 2013; Sofy et al., 2021).

Materials and Methods

Sampling, isolation, and inoculum preparation of watermelon mosaic virus

In autumn 2023, samples of *Citrullus colocynthis* showing mosaic and yellowing symptoms were collected to detect WMV. Total RNA was extracted using a commercial plant RNA kit, followed by cDNA synthesis with WMV-specific primers. RT-PCR was performed using specific primers targeting the coat protein gene (Sharifi et al., 2008).

For purification of WMV isolate, inoculation was first carried out on *Chenopodium amaranticolor*, and the resulting chlorotic local lesions were isolated. The local lesions were inoculated onto *Cucurbita pepo* as a propagation host. This inoculum was used for subsequent treatments.

plant cultivation and treatments

seeds of cucumber (*Cucumis sativus* L.), cv. Super Dominus (Seminis, USA), were sown in sterilized soil and grown under greenhouse conditions (25 ± 2 °C day/ 18 ± 2 °C night, 60–70% relative humidity, 14 h photoperiod). Cucumber seedlings were divided into six treatment groups to investigate the effects of foliar-applied ZnO nanoparticles (0, 250, and 500 mg/L) in the presence or absence of virus infection. Treatments included two nanoparticle concentrations with or without virus inoculation, an untreated control, and an infected control.

Inoculation with WMV isolate

0.2 g of fresh young pumpkin leaf tissue was homogenized in 2 mL of 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7). The suspension was thoroughly ground in a sterile porcelain mortar on ice and the cucumber plants were mechanically inoculated. The plants were monitored until disease symptoms appeared. One month after the treatments, disease symptom severity was evaluated by comparing the symptoms appearing in the different treatment groups. Additionally, fresh weight of roots and shoots, seedling length, number of leaves and flowers, chlorophyll a, b and total chlorophyll, chlorophyll b/a ratio, carotenoids, anthocyanins, and total sugars were measured according to the previously described methods.

Statistical Analysis

This study was conducted as a two-factor factorial experiment in a completely randomized design. Four pots (replicates) were used for each treatment, with each replicate containing four plants. For statistical analysis and to assess correlations among the measured parameters, analysis of variance (ANOVA) was performed using SPSS software. Means were compared using Duncan's multiple range test at a significance level of $p \leq 0.05$.

Results

Sampling and Isolation of WMV Inoculum

The most prominent symptoms observed in the bitter cucumber plants included mild to severe leaf mosaic and chlorosis. Molecular detection of WMV in RT-PCR resulted

in the amplification of the coat protein gene at the expected size of 800 base pairs.

Assessment of WMV Symptom Severity in Plants

Ten days after the treatments, viral symptoms including local spots, chlorosis, and leaf mosaic appeared. Symptom severity was higher in the positive control cucumber plants and was accompanied by necrosis. In cucumber plants treated with zinc oxide nanoparticles (250 mg/L) and WMV, symptoms were moderate and appeared later than in the positive control, while at 500 mg/L and WMV, semi-severe mosaic symptoms were observed.

Measurement of growth parameter and flower number

The presence of the virus alone, virus combined with zinc oxide nanoparticles, and zinc oxide nanoparticles alone all led to a reduction in shoot and root fresh weight compared to the negative control. The lowest shoot and root fresh weight, with a 69, and 78% reduction reported at with the virus alone, respectively. Treatment with zinc oxide nanoparticles at 250 and 500 mg/L in the presence of the virus reduced these parameters by approximately 62-64% compared to the negative control.

Plant length respectively decreased in the presence of the virus alone, virus combined with zinc oxide nanoparticles, and zinc oxide nanoparticles alone compared to the negative control. The greatest reduction (43%) was observed in the 500 mg/L nanoparticle treatment combined with the virus, while 250 and 500 mg/L nanoparticles applied alone reduced plant height by approximately 11% and 30%, respectively.

Flower number decreased in the virus-only treatment, showing the highest reduction (48%) compared to negative control. The 500 mg/L nanoparticle treatment in the presence of the virus also reduced flower number, while other treatments showed no significant effect.

Photosynthetic Pigments

The interaction of zinc oxide nanoparticles and the virus significantly affected chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll, in cucumber plants. Chlorophyll a decreased in the presence of the virus alone and in combination with nanoparticles. The lowest chlorophyll a was observed in the Super Dominus cultivar under virus alone treatment,

showing a 64% reduction compared with the healthy control. Treatments with 250 mg/L nanoparticles also reduced chlorophyll a, while in the presence of the pathogen, 250 and 500 mg/L nanoparticle treatments decreased it by approximately 45% and 30%, respectively.

Chlorophyll b was also reduced by the pathogen alone, showing the lowest value in the pathogen-only treatment (67% reduction), whereas treatment with 250 mg/L nanoparticles increased chlorophyll b compared with the control. Chlorophyll b is considered an important indicator of plant resistance. The pattern of changes in total chlorophyll was generally similar to that of chlorophyll a.

Carotenoid content decreased in the presence of the pathogen alone and in combination with zinc oxide nanoparticles compared with the healthy control. The lowest carotenoid level in the Super Dominus cultivar was observed in the pathogen-only treatment, showing a 59% reduction relative to the control. Combined treatment with the pathogen and nanoparticles also reduced carotenoid content. In the presence of the pathogen, treatments with 250 and 500 mg/L nanoparticles decreased carotenoids by approximately 25% and 20%, respectively, compared with the control.

The interaction of different concentrations of zinc oxide nanoparticles and virus significantly affected anthocyanin content in cucumber plants. Anthocyanin levels decreased in the presence of the pathogen alone and in combination with nanoparticles compared with the control. The lowest anthocyanin content (77% reduction) was observed in plants treated with 500 mg L⁻¹ nanoparticles alone. In the presence of virus, 250 and 500 mg L⁻¹ nanoparticle treatments decreased anthocyanin content by approximately 58% and 48%, respectively, relative to the control.

Total sugar

The interaction of different concentrations of zinc oxide nanoparticles and the virus did not significantly affect total sugar content in cucumber plants. However, the virus alone had a significant effect on total sugar, reducing its content compared with the control. Treatment with 500 mg L⁻¹ nanoparticles in the presence of the virus decreased total

sugar by approximately 9% relative to the control, while other treatment levels had no significant effect.

Discussion

In general, biotic stresses are factors that affect plant growth and performance, and by inducing the production of reactive oxygen species, they reduce plant growth and development (Devlin & Withman, 2002). In the present study, the effects of zinc oxide nanoparticles on disease severity symptoms, as well as the growth and physiological changes of cucumber plants, were investigated. The results demonstrate the ameliorative effect of zinc oxide nanoparticles on WMV-induced damage in cucumber plants. The 250 mg/L concentration showed the greatest efficacy in reducing symptom severity, preserving chlorophyll content, and supporting growth parameters. Reduction in photosynthetic pigments under viral stress led to decreased photosynthesis and carbohydrate accumulation, impairing growth. By allocating resources to reproductive organs and accelerating the life cycle, plants partially compensated for viral damage (Tirani et al., 2019).

Considering the challenges in managing plant viruses and the observed benefits of ZnO nanoparticles, foliar application of ZnO represents a promising strategy to reduce WMV impact in cucumbers. Due to their low environmental risk and ability to enhance plant defense, ZnO NPs are a viable option for integrated disease management. Nevertheless, determining optimal concentrations requires further research.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest in conducting the present study.

Ethical Considerations

All ethical principles and standards were fully observed in the conduct of this research.

Acknowledgments

The authors would like to express their sincere gratitude to all those who contributed to the various stages of this study.

ارزیابی تاثیر نانوذرات اکسید روی بر مدیریت بیماری و پاسخ‌های فیزیولوژیکی خیار (رقم سوپر دومینوس) آلوده به ویروس موزائیک هندوانه

۱. فاطمه سلیمانی^{id}: دانش آموخته کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی دانشگاه جیرفت
۲. اسرا سالاری^{id}: استادیار گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه جیرفت
۳. مریم مظاهری-تیرانی^{id}: دانشیار گروه زیست شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه جیرفت
۴. سیده عاطفه حسینی^{id}: دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
۵. حمیدرضا علیزاده^{id}: دانشیار گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه جیرفت

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: asra.salari@ujiroft.ac.ir

نوع مقاله:

چکیده

پژوهشی اصیل

ویروس موزائیک هندوانه (*watermelon mosaic virus, Potyvirus citrulli, WMV*) از ویروس‌های مهم آلوده کننده کدوئیان در دنیا محسوب می‌شود. در این مطالعه تاثیر نانو ذرات اکسید روی بر شدت نشانه‌های بیماری، صفات رشدی، رنگدانه‌های گیاهی و قند کل در گیاه خیار رقم سوپر دومینوس آلوده به ویروس موزائیک هندوانه (WMV) بررسی گردید. نانوذرات اکسید روی بر روی گیاهچه‌های دو تا سه برگی با غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذرات دو مرتبه و به فاصله ۲۴ ساعت یکبار محلول‌پاشی شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت از محلول‌پاشی دوم، زادمایه ویروس موزائیک هندوانه به گروه‌های تیماری مورد نظر مایه‌زنی مکانیکی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل دو عاملی (نانوذره و WMV) در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. یک ماه پس از اعمال تیمارها ویژگی‌های ریخت شناسی، ویژگی‌های بیوشیمیایی و شدت علائم بیماری بررسی و اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج بدست آمده ویروس منجر به کاهش وزن تر اندام هوایی و ریشه، طول گیاه، تعداد برگ و گل، رنگدانه‌های گیاهی نسبت به شاهد شد. غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذره نسبت به ۵۰۰ میلی‌گرم/لیتر در حضور بیمارگر نشانه‌های بیماری را کاهش داد و شاخص‌های رشدی و رنگدانه‌های گیاه را نسبت به حضور بیمارگر به تنهایی بهبود بخشید. بدلیل کاهش خسارت بیماری و عدم اثرات مخرب زیست محیطی این نانوذره، گزینه مناسبی جهت مدیریت بیماری ویروس موزائیک هندوانه است. استفاده از غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذرات اکسید روی برای بهبود عملکرد این رقم خیار آلوده به WMV پیشنهاد می‌شود. این مطالعه نخستین گزارش از ارزیابی اثر نانوذرات اکسید روی در مدیریت ویروس موزائیک هندوانه (WMV) در گیاه خیار است.

کلیدواژه‌گان: پوتی ویروس، کدوئیان، رنگدانه گیاهی، مدیریت بیماری، نانوذره.

تاریخ دریافت: ۲۲ تیر ۱۴۰۴

تاریخ بازنگری: ۲۷ آبان ۱۴۰۴

تاریخ پذیرش: ۲۹ آبان ۱۴۰۴

نحوه استناددهی: سلیمانی، فاطمه، سالاری، اسرا، مظاهری-تیرانی، مریم، حسینی، سیده عاطفه، و علیزاده، حمیدرضا. (۱۴۰۳). ارزیابی تاثیر نانوذرات اکسید روی بر مدیریت بیماری و پاسخ‌های فیزیولوژیکی خیار (رقم سوپر دومینوس) آلوده به ویروس موزائیک هندوانه. *بیماری‌های گیاهی*، ۶۰(۳)، ۲۴۴-۲۶۶.

DOI: 10.22034/IJPP.2025.2021860.491



مجوز و حق نشر: © ۱۴۰۳ تمامی حقوق انتشار این مقاله متعلق به نویسنده است. انتشار این مقاله توسط انتشارات ماهر به صورت دسترسی آزاد مطابق با گواهی (CC BY 4.0) صورت گرفته است.

گیاه خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. متعلق به خانواده Cucurbitaceae. گیاهی بسیار مهم و میوه دهنده از گروه گیاهان جالبی است. خاستگاه این گیاه از آسیا بوده و تقریباً ۳۰ گونه خیار در آسیا و آفریقا ثبت شده است. در کشورهای گرمسیری و معتدل بهتر و بیشتر از کشورهای سردسیری محصول می دهند (Garg et al., 2007; Paniagua- Zambrana et al., 2024). در سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ سطح زیر کشت خیار در ایران ۱۷۸۰۲ هکتار و میزان تولید آن ۴۳۴۷۱۷ تن گزارش شده است. جنوب استان کرمان با سطح زیر کشت ۲۴۸۹ هکتار و میزان تولید ۷۶۷۸۴ تن رتبه نخست را در کشور به خود اختصاص داده است (آمارنامه کشاورزی، ۱۴۰۲-۱۴۰۱). گیاه خیار به تنش های زیستی و غیر زیستی حساس بوده که بطور قطعی باعث کاهش کمیت و کیفیت این محصول می گردد. ویروس ها یکی از مهم ترین تنش های زیستی در گیاهان می باشند. ویروس موزائیک هندوانه (*watermelon mosaic virus, Potyvirus citrulli, WMV*) متعلق به جنس *Potyvirus* از خانواده *Potyviridae* یکی از ویروس های شایع در خانواده کدوئیان می باشد (Walters et al., 2003). این بیمارگر سبب کاهش بازده محصول و کوتاه شدن فصل برداشت ارقام خیار می شود. نشانه ویروس شامل تغییر شکل و رنگ میوه و شاخ و برگ و همچنین کوتاه ماندن گیاه می باشد (Zitter et al., 1996). ویروس موزائیک هندوانه به روش مکانیکی و توسط ۳۸ گونه شته به روش ناپایا منتقل می شود و بیش از ۱۷۰ گونه گیاهی از ۲۷ خانواده را آلوده می کند و در مقایسه با سایر *Potyvirus* ها دامنه میزبانی وسیع تری دارد (Dong & Guan, 2017). تلاش های زیادی در جهت کاهش خسارت WMV شامل توسعه ارقام مقاوم و مدیریت حشرات ناقل انجام شده است. با این وجود، ارقام تجاری مورد قبولی که به یک ویروس خاص یا چندین ویروس مقاومت داشته باشند کم

یا ناموجود می باشد. بنابراین، راه حل مدیریت بیماری ویروس WMV مدیریت تلفیقی شامل روش های شیمیایی، زراعی، زیستی است. سموم شیمیایی که برای مبارزه با ناقل استفاده می شوند، سبب آلودگی محیطی، خطرات سلامت انسانی و سمیت می گردند (Singh et al., 2011). بنابراین استفاده از محرک های رشد برای بهبود عملکرد گیاهان میزبان در مقابله با ویروس های گیاهی می تواند موثر باشد.

نانوتکنولوژی به عنوان یک رویکرد مدیریتی، با کاربرد نانوذرات در کنترل بیماری های ویروسی به عنوان یک روش امن و محافظ سلامت گیاه گنجانده شده است (Cai et al., 2019). نانوذرات با عملکرد ضد ویروسی و ظرفیت فعال سازی مکانیزم دفاعی گیاه در بهبود فعالیت آنزیمی مشارکت می کند و به گیاه برای کاهش فعالیت ویروس کمک می کند (Sofy et al., 2020). محلول پاشی نانوذره نقره، بر روی برگ های باقلا شدت بیماری و غلظت ویروس ویروس موزائیک زردی لوبیا (*bean yellow mosaic virus, BYMV*) را در گیاهان تیمار شده کاهش داد (Elbeshehy et al., 2015). نانوذرات اکسیدروی در مقایسه با تعداد وسیعی از نانوذرات، به دلیل مزیت غیر سمی شان، سازگاری زیستی قوی با سلول های انسان، دسترسی آسان در صنایع بسیار زیادی کاربرد دارد (Hoseinzadeh et al., 2017; Sirelkhatim et al., 2015). نانوذرات اکسیدروی در گیاه از طریق برگ جذب و منتقل می شوند، همچنین قادرند خطرات بیمارگرها را نیز به حداقل برسانند (Dimkpa et al., 2013). محلول پاشی دو غلظت نانوذره اکسید روی (۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم/لیتر) باعث افزایش قطعی شاخص های رشدی، افزایش سطح فتوسنتز و افزایش فعالیت آنزیمی و آنتی اکسیدانی در گیاه گوجه فرنگی آلوده به توبامو ویروس موزائیک گوجه فرنگی شد (Sofy et al., 2021). نانوذرات اکسید روی (ZnO) به طور گسترده به دلیل اثراشان بر رشد گیاه و مقاومت در برابر عوامل بیماری زای میکروبی مورد مطالعه قرار گرفته اند. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثرات القایی محلول پاشی برگی

نانوذرات روی بر شدت نشانه‌های بیماری، برخی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه خیار رقم سوپر دومینوس آلوده به ویروس موزائیک هندوانه است.

۸ میکرولیتر آب (TGC AGT GTG-3') (Sharifi et al., 2008) (10 μ M) و دیونیزه استریل به لوله‌ها اضافه و پس از یک دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سلسیوس، بلافاصله بر روی یخ قرار داده شد. سپس مقدار چهار میکرولیتر بافر (RT (5X)، دو میکرولیتر مخلوط dNTP (10 μ M)، یک میکرولیتر آنزیم نسخه برداری معکوس M-MuLV (200U/ μ L) به لوله‌ها اضافه و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴۲ درجه‌ی سلسیوس قرار داده شدند. توقف واکنش با قرار دادن مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سلسیوس انجام گرفت. پس از تهیه‌ی cDNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز انجام شد. در این واکنش از آغازگرهای همسو WMV-F, 5'-GAA TCA GTG TCT CTG و WMV-R, 5'-ATT CAC GTC CCT TGC و پس سوی AGT GTG-3' مبتنی بر ترادف نوکلئوتیدی ژن پروتئین پوششی (Sharifi et al., 2008) استفاده گردید. آزمون PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتری حاوی ۲ میکرولیتر cDNA به غلظت ۲۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر، نیم میکرولیتر از هر یک از آغازگرها به غلظت ۱۰ پیکومول، ۱۲ میکرولیتر از Taq DNA polymerase Master Mix Red (Amplicon, Denmark) و ۱۰ میکرولیتر آب مقطر استریل انجام گرفت. در برنامه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ابتدا یک مرحله واسرشت سازی اولیه به مدت سه دقیقه در ۹۴ درجه سلسیوس، ۳۰ چرخه شامل مراحل واسرشت سازی، ۶۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، اتصال ۶۰ ثانیه در ۶۰ درجه سلسیوس، و گسترش ۶۰ ثانیه در ۷۲ درجه‌ی سلسیوس و در انتها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سلسیوس انجام گرفت. در نهایت محصولات واکنش PCR به دست آمده، در ژل آگاروز یک درصد الکتروفورز گردیدند.

برای خالص‌سازی جدایه ویروس موزائیک هندوانه، ابتدا مایه‌کوبی بر روی گیاه *Chenopodium amaranticolor* انجام شد و لکه‌های کلروتیکی حاصل جداسازی گردید. پس از تهیه عصاره از این لکه‌ها، جدایه به‌عنوان ویروس خالص در نظر گرفته شد و به گیاه کدو مسمایی

بذر گیاه خیار (*Cucumis sativus* L.) رقم سوپر دومینوس (Super Dominus) از فروشگاه معتبر نهاده‌های کشاورزی در شهرستان جیرفت، تهیه گردید. بنا بر اطلاعات درج‌شده بر روی بسته‌بندی، این رقم متعلق به شرکت سمینیس (Seminis، ایالات متحده آمریکا) می‌باشد. گلدان‌های دو لیتری با خاک سترون (شامل خاک باغچه، خاک‌برگ و ماسه با نسبت ۱:۱:۲) پر شد و بذرهای خیار در آن کشت و در شرایط گلخانه که دما در طول روز 25 ± 2 درجه سلسیوس و در شب 18 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی بین ۷۰-۶۰ درصد و طول روز ۱۴ ساعت روشنایی طبیعی/مصنوعی بوده است، نگهداری شدند.

مواد و روش‌ها

تهیه بذر و کاشت گیاهان

بذر گیاه خیار (*Cucumis sativus* L.) رقم سوپر دومینوس (Super Dominus) از فروشگاه معتبر نهاده‌های کشاورزی در شهرستان جیرفت، تهیه گردید. بنا بر اطلاعات درج‌شده بر روی بسته‌بندی، این رقم متعلق به شرکت سمینیس (Seminis، ایالات متحده آمریکا) می‌باشد. گلدان‌های دو لیتری با خاک سترون (شامل خاک باغچه، خاک‌برگ و ماسه با نسبت ۱:۱:۲) پر شد و بذرهای خیار در آن کشت و در شرایط گلخانه که دما در طول روز 25 ± 2 درجه سلسیوس و در شب 18 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی بین ۷۰-۶۰ درصد و طول روز ۱۴ ساعت روشنایی طبیعی/مصنوعی بوده است، نگهداری شدند.

نمونه‌برداری، جداسازی و آماده سازی زادمایه ویروس موزائیک هندوانه

به‌منظور ردیابی ویروس موزائیک هندوانه در پائیز ۱۴۰۲ از گیاه هندوانه ابوجهل که دارای نشانه موزائیک برگ‌ها و زردی بودند، نمونه‌برداری شد. بلافاصله پس از آن، نمونه‌های جمع‌آوری شده جهت استخراج RNA، به آزمایشگاه منتقل شدند. استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج RNA گیاهی شرکت دنایست آسیا (Plant RNA Extraction Kit (A101251, Denazist Asia, Mashhad, Iran) (LOT 752665) و طبق دستورالعمل مربوطه انجام شد (RNA استخراج و سپس سنتز cDNA (DNA مکمل) صورت گرفت. برای سنتز cDNA در آزمون RT-PCR، ابتدا ۳ میکرولیتر RNA، ۲ میکرولیتر آغازگر پس سوی (WMV-R, 5'-ATT CAC GTC CCT

روی غلظت ۵۰۰ میلی گرم/لیتر و سپس مایه زنی با آموده ویروس، گروه پنجم تیمار با آب دوبار تقطیر که به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد، گروه ششم گیاهان با آموده ویروس مایه زنی شدند ولی با نانوذره تیمار نشدند و به عنوان شاهد آلوده اطلاق می گردند. سطوح مختلف نانوذرات در مرحله کوتیلدونی بر روی برگها دو روز متوالی هر ۲۴ ساعت یکبار محلول پاشی شدند.

مایه زنی زادمایه ویروس موزائیک هندوانه

مایه زنی زادمایه ویروس موزائیک هندوانه در گروه های تیماری ذکر شده (دوم، چهارم و ششم) به صورت مکانیکی انجام شد. ۲۴ ساعت قبل از انجام مایه زنی و به منظور افزایش حساسیت گیاهان به اتاق تاریک منتقل شدند. صبح روز بعد و در ساعت خنک، گیاهان از اتاق تاریک خارج شدند. برگ های تازه و جوان گیاهان کدو مسمایی که حضور ویروس موزائیک هندوانه در آن ها تائید شده است، همراه با ۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار با $\text{pH}=7$ به نسبت ۱:۱۰ (وزن/حجم)؛ ۰/۲ گرم بافت تازه در ۲ میلی لیتر بافر همگن گردید. و به مقدار مورد نیاز پودر کاربراندوم برای ایجاد زخم و خراش روی سطح برگ، درون هاون چینی استریل که روی یخ قرار داده شده بود، به طور کامل مواد مخلوط و ساییده شدند و برگ گیاهان آلوده کامل نرم شد و گیاهان مایه زنی شده پس از ۱۰ دقیقه آب پاشی و آبیاری شدند. سپس مجدد به اتاق تاریک منتقل شدند. پس از ۲۴ ساعت گیاهان مایه زنی شده از اتاق تاریک خارج شدند و تا ظهور نشانه های بیماری مورد بررسی قرار گرفتند. یک ماه پس از اعمال تیمارها شدت نشانه های بیماری با مقایسه نشانه های ظاهر شده در گروه های مختلف تیماری، وزن تر ریشه و اندام هوایی، طول گیاهچه، تعداد برگ، تعداد گل، با شمارش، مقدار کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل، نسبت کلروفیل *b/a*، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین ها و فنل کل طبق روش های ارائه شده، اندازه گیری گردیدند.

(Cucurbita pepo) به عنوان گیاه تکثیر مایه زنی گردید. از این پس عصاره حاصل به عنوان آموده خالص ویروس برای اعمال تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. پس از تکثیر و تهیه زادمایه ویروس جهت اعمال تیمارهای مورد نظر، حضور ویروس در گیاه تکثیری با واکنش RT-PCR و توالی یابی محصول واکنش تایید نهایی شد.

آماده سازی نانوذرات

نانو اکسید روی (Nano ZnO) از کمپانی Nanotec. ایتالیا خریداری شدند. اندازه متوسط ذرات (Average particle size, APS): ۲۵ نانومتر، سطح ویژه (Specific surface area, SSA): ۴/۸-۶/۸ متر مربع بر گرم، چگالی: ۵/۶ گرم بر سانتی متر مکعب، چگالی حجمی: ۰/۳ گرم بر سانتی متر مکعب، خلوص: ۹۹/۹ درصد وزنی، مورفولوژی: کروی شکل، رنگ: سفید، بدون پوشش بود. برای تهیه غلظت های مورد نیاز نانوذرات اکسیدروی (۲۵۰ میلی گرم/لیتر و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر) بترتیب ۰/۰۵ و ۰/۱ گرم از نانوذره اکسیدروی بصورت جداگانه وزن شد. پس از آن درون بشر حاوی ۲۰۰ سی سی آب مقطر ریخته شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴۵ سلسیوس در دستگاه اولتراسونیک (Ultrasonic cleaner 2200 MH, Soltec, Italy) قرار داده شدند (Tirani et al., 2019).

گروه بندی گیاهان و اعمال تیمار نانوذرات به گیاهان خیار

تیمار نانوذرات اکسید روی در سه سطح (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر) بر روی گیاهان (در حضور/عدم حضور ویروس) اعمال گردید. گیاهان به شش گروه تیماری تقسیم بندی شدند. در هر گروه تیماری ۴ تکرار (گلدان) و در هر گلدان ۴ بوته خیار در نظر گرفته شد. گروه اول: محلول پاشی گیاهان با نانوذره اکسید روی غلظت ۲۵۰ میلی گرم/لیتر، گروه دوم: محلول پاشی گیاهان با نانوذره اکسید روی غلظت ۲۵۰ میلی گرم/لیتر و سپس مایه زنی با آموده ویروس، گروه سوم: محلول پاشی گیاهان با نانوذره اکسید روی غلظت ۵۰۰ میلی گرم/لیتر، گروه چهارم: محلول پاشی گیاهان با نانوذره اکسید

اندازه‌گیری مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی

به منظور اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی، ۰/۱ گرم برگ در ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شد، سپس مقدار جذب نوری عصاره متانول در طول طول موجهای، ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰، ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-1601 مدل Rayleigh ساخت کشور چین قرائت شد. از استون ۸۰ درصد به عنوان شاهد استفاده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگی‌های فتوسنتزی (مقدار کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید (Lichtenthaler & Buschmann, 2001).

اندازه‌گیری آنتوسیانین‌ها

برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های برگ، جذب عصاره‌های متانول اسیدی در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت شدند. شاهد متانول اسیدی بود و برای محاسبه غلظت آنتوسیانین‌ها، ضریب خاموشی (E) ۳۳۰۰۰ سانتیمتر بر مول است (Wagner, 1979). نتایج حاصل بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

$$A = \epsilon bc$$

که در این فرمول، A = جذب، b = عرض کوت و c = غلظت محلول مورد نظر می‌باشد.

اندازه‌گیری مقدار قند کل

برای اندازه‌گیری مقدار قند کل، ۰/۰۲ گرم نمونه بافت تر برگ وزن شد و هر نمونه جداگانه با ۲ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر در هاون چینی سائیده و به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از سرد شدن به مدت ۱۵ دقیقه با نیروی ۸۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند. سپس به ۵۰

میکرولیتر عصاره رویی، ۹۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک غلیظ (۹۵ درصد شرکت Merck آلمان) اضافه و پس از سرد شدن روی یخ، محلول‌ها همگن شدند. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۳۱۵ نانومتر قرائت شد. از گلوکز (۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر) برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد و برای کنترل واکنش ۵۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر با ۹۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک غلیظ (۹۵ درصد) مخلوط شد. مقدار قند کل در هر نمونه بر حسب گرم وزن تر محاسبه و گزارش گردید (Albalasmeh et al., 2013).

آنالیز آماری داده‌ها

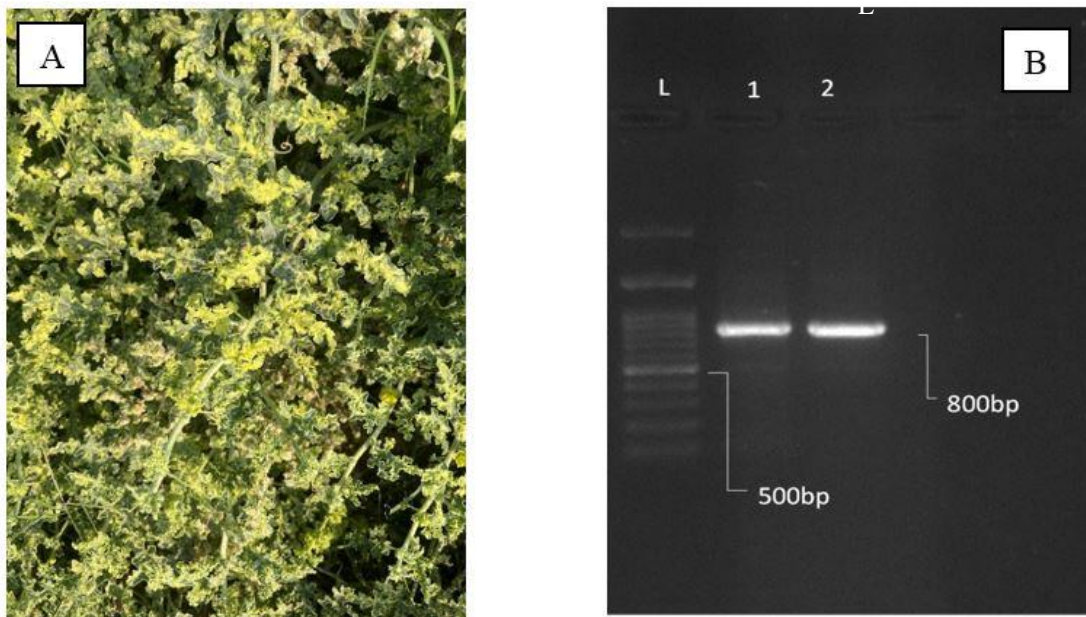
این تحقیق به صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد، برای هر تیمار چهار گلدان (تکرار) و هر تکرار شامل ۴ گیاه در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و همبستگی بین شاخص‌ها از آنالیز واریانس (ANOVA) و نرم‌افزار SPSS استفاده شد. میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال خطا $p \leq 0.05$ مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نمونه‌برداری، جداسازی و آماده سازی زادمایه ویروس موزائیک

هندوانه

عمده‌ترین نشانه مشاهده شده در گیاه هندوانه ابوجهل شامل موزائیک برگ به صورت خفیف و شدید و زردی بود (شکل A-۱). ردیابی مولکولی ویروس موزائیک هندوانه با استفاده از آغازگرهای اختصاصی WMV و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز-معکوس منجر به تکثیر ژنپروتئین پوششی در اندازه مورد انتظار ۸۰۰ جفت باز شد (شکل B-۱).

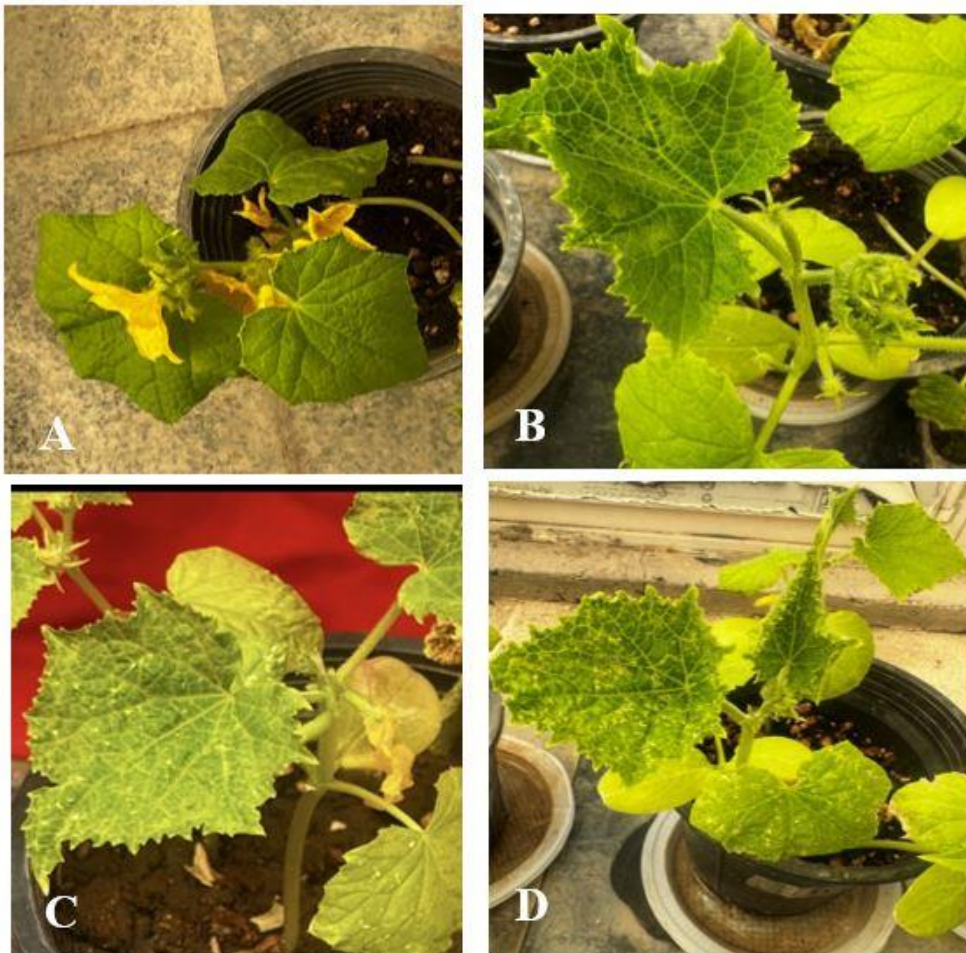


شکل ۱ - هندوانه ابوجهل با نشانه موزائیک و زردی برگ آلوده به ویروس موزائیک هندوانه (WMV) (A). نقوش الکتروفورزی محصولات واکنش RT-PCR نمونه‌های هندوانه ابوجهل (قطعه ۸۰۰ جفت بازی) با استفاده از آغازگر اختصاصی WMV (B) WMV، راهک L مربوط به DNA Ladder 100bp، راهک‌های ۱ و ۲ نمونه‌های هندوانه ابوجهل آلوده به ویروس موزائیک هندوانه

Fig 1.A Bitter apple with mosaic symptoms and yellowing leaves infected with watermelon mosaic virus.1.B-Electrophoretic patterns of RT-PCR reaction products of Bitter apple samples (800 bp fragment) using the specific WMV primer, well L corresponding to 100bp DNA Ladder, wells 1 and 2 of Bitter apple samples infected with watermelon mosaic virus

در گیاهان شاهد مثبت بیشتر و همراه با نکروز بود و گیاهان ده روز پس از مایه‌زنی نشانه‌ها را نشان دادند. در تیمار نانوذره اکسید روی با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم/لیتر + WMV نشانه‌های بیماری موزائیک متوسط و خفیف‌تر از شاهد مثبت بود و این نشانه‌های بیماری در این تیمارها با تأخیر و در مرحله ۷-۸ برگی شروع شد، در حالی که در گیاهان شاهد مثبت نشانه‌های آلودگی در مرحله ۳-۴ برگی ظاهر شد. در تیمار نانوذره اکسید روی با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم/لیتر + WMV، موزائیک نیمه شدید بود. در تمام تیمارهای مورد آزمایش پس از مایه‌زنی، قطعه ۸۰۰ جفت بازی در آزمون RT-PCR تکثیر شد.

ارزیابی شدت نشانه‌های ویروس موزائیک هندوانه در گیاهان ده روز پس از اعمال تیمارهای مورد نظر، نشانه‌های ویروسی آشکار شد. نشانه‌ها شامل ایجاد لکه‌های موضعی، زردی برگ‌ها، موزائیک سطح برگ و با گذشت زمان نشانه‌های ویروسی افزایش یافت. بروز نشانه‌های شاخص ویروس موزائیک هندوانه شامل موزائیک، بدشکلی برگ و زردی در گیاهان تیمار شده مشاهده گردید (شکل ۲). حضور ویروس علاوه بر بررسی‌های ظاهری، با استفاده از آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگر اختصاصی برای ژن پروتئین پوششی نیز تأیید شد. بر اساس نتایج بدست آمده در گیاهان خیار آلوده به WMV به شکل موزائیک با درجات متفاوت بود. شدت این نشانه‌ها



شکل ۲- شدت نشانه‌های ویروس موزائیک هندوانه (WMV) در گیاهان خیار ۳۰ روز پس از مایه‌زنی با زادمایه WMV، A: گیاه سالم، بدون تیمار با نانوذره اکسید روی و بدون مایه‌زنی با WMV بدون علائم بیماری، B: گیاه آلوده به WMV و تیمار شده با ۲۵۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذره اکسید روی، با علائم موزائیک متوسط C: گیاه آلوده به WMV و تیمار شده با ۵۰۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذره اکسید روی، با علائم موزائیک نیمه شدید، D: گیاه آلوده به WMV بدون تیمار با نانوذره اکسید روی، با علائم موزائیک شدید و نکروز.

Fig 2. Severity of watermelon mosaic virus (WMV) symptoms in cucumber plants 30 days after inoculation with WMV inoculum: A: Healthy plant, not treated with zinc oxide nanoparticles and not inoculated with WMV (no disease symptoms). B: Plant inoculated with WMV and treated with 250 mg/L zinc oxide nanoparticles, showing moderate mosaic symptoms. C: Plant inoculated with WMV and treated with 500 mg/L zinc oxide nanoparticles, showing semi-severe mosaic symptoms. D: Plant inoculated with WMV without zinc oxide nanoparticle treatment, showing severe mosaic symptoms and necrosis

اندام هوایی به ریشه (ratio FWS/FWR)، طول گیاهان (Length Shoot)،
 تعداد برگ (Numbers of Leaves) و تعداد گل (Numbers of Flowers) در گیاه خیار رقم سوپر دو مینوس تحت تیمارهای نانوذرات اکسید روی (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/لیتر) در شرایط حضور و عدم حضور ویروس موزائیک هندوانه در جدول ۱ آورده شده است. نتایج نشان داد اثر متقابل

ویژگی‌های ریخت شناسی
 محاسبه وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه، طول گیاه، تعداد برگ و
 تعداد گل
 نتایج تغییرات وزن تر اندام هوایی (Fresh Weight of Shoots، FWS)،
 وزن تر ریشه (Fresh Weight of Root، FWR)، نسبت وزن تر

سلیمانی و همکاران: ارزیابی تاثیر نانوذرات اکسید روی بر مدیریت بیماری و...

غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی و بیمارگر بر وزن تر اندام هوایی، هوایی گردید. کم‌ترین وزن تر اندام هوایی با ۶۹ درصد کاهش نسبت به شاهد وزن تر ریشه، طول گیاهان، تعداد برگ و تعداد گل در سطح ۱ درصد معنی دار متعلق به گروه تیماری بیمارگر به تنهایی بود. همچنین تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی بود (جدول ۱). حضور بیمارگر به تنهایی و توام با نانوذرات اکسید روی و نانوذرات اکسید روی به تنهایی نسبت به شاهد منجر به کاهش وزن تر اندام

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های اثرات سطوح مختلف نانوذرات‌های اکسید روی بر وزن تر اندام هوایی (FWS)، وزن تر ریشه (FWR)، نسبت وزن تر اندام هوایی به ریشه (ratio FWS/FWR)، طول گیاهان (LS)، تعداد برگ (NO. Leaves) و تعداد گل (NO. Flowers) رقم سوپر دومینوس خیار آلوده شده با ویروس موزائیک هندوانه.

Table 1-Mean comparison of the effects of different levels of zinc oxide nanoparticles on shoot fresh weight (FWS), root fresh weight (FWR), ratio of fresh weight shoot to root (FWS/FWR), length shoot (LS), number of leaves (NO. Leaves) and number of flowers (NO. Flowers) of cucumber cultivar Super Dominus infected with watermelon mosaic virus. Control- zero zinc oxide nanoparticles (spraying solution with distilled water)

ZnO NPs (ppm)	Disease status	FWS (g)	FWR (g)	ratio FWS/FWR	LS (cm)	NO. leaves	NO. flowers
0	Non-infected	16.7±1.8 ^a	8.1±0.4 ^a	2.07±0.32 ^{bc}	19.89±2.06 ^a	4.25±0.63 ^{ab}	5.56±1.18 ^a
	Infected	5.1±0.3 ^d	1.8±0.4 ^e	2.98±0.75 ^a	12.43±0.54 ^{cd}	3.42±0.50 ^c	2.92±0.42 ^b
250	Non-infected	9.4±0.9 ^b	7.0±0.2 ^b	1.33±0.11 ^d	17.62±1.09 ^b	4.22±0.28 ^{ab}	5.31±0.78 ^a
	Infected	7.8±0.6 ^{bc}	5.1±0.4 ^c	1.55±0.23 ^{cd}	13.95±1.87 ^c	4.42±0.74 ^a	4.44±0.52 ^a
500	Non-infected	6.3±0.4 ^{cd}	2.9±0.3 ^d	2.18±0.27 ^{bc}	14.00±1.72 ^c	3.42±0.32 ^c	5.42±0.96 ^a
	Infected	6.2±0.5 ^d	2.7±0.5 ^d	2.32±0.23 ^{ab}	11.35±0.53 ^d	3.52±0.22 ^{bc}	4.25±1.00 ^a

مقادیر ارائه شده میانگین سه آزمایش مستقل هستند و حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در هر شاخص، در $p < 0.05$ طبق آزمون دانکن است.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مقایسه میانگین‌های اثرات سطوح مختلف نانوذرات‌های اکسید روی بر وزن تر اندام هوایی (FWS)، وزن تر ریشه (FWR)، نسبت وزن تر اندام هوایی به ریشه (ratio FWS/FWR)، طول گیاهان (LS)، تعداد برگ (NO. Leaves) و تعداد گل (NO. Flowers) رقم سوپر دومینوس خیار آلوده شده با ویروس موزائیک هندوانه.

Table 2- Results of analysis of variance mean comparison of the effects of different levels of zinc oxide nanoparticles on shoot fresh weight (FWS), root fresh weight (FWR), shoot to root fresh weight ratio (FWS/FWR), plant length (LS), number of leaves (NO. leaves), and number of flowers (NO. flowers) of cucumber cultivar Super Dominus infected with watermelon mosaic virus.

Sources of variance	df	Mean Square (MS)					
		FWS (g)	FWR (g)	ratio FWS/FWR	LS	NO. leaves	NO. flowers
ZnO NPs	2	32.63**	16.43**	1.90**	18.01**	1.61**	0.70 ^{ns}
Virus	1	85.33**	35.45**	129.01**	0.81**	0.46 ^{ns}	13.93**
ZnO NPs×Virus	2	58.79*	14.99**	0.27 ^{ns}	7.37**	1.16**	3.18**
Error	18	0.80	0.15	0.14	1.65	0.19	0.45

**، * و ^{ns} معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و بدون معنی‌داری

بهبود نشانه بیماری شد. بر این اساس نسبت وزن تر اندام هوایی به ریشه در گروه تیماری بیمارگر به تنهایی ۴۴ درصد این نسبت را افزایش داد، درحالی‌که ۲۵۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات اکسید روی به تنهایی این نسبت را ۳۶ درصد کاهش داد. سایر سطوح تیماری اثر معناداری نشان نداد. همچنین نتایج نشان داد بین وزن تر اندام هوایی و ریشه در گیاهان تیمار شده $R^2 = 0.855$ همبستگی مثبت وجود دارد (جدول ۳).

وزن تر ریشه در حضور بیمارگر به تنهایی و توام با نانوذره اکسید روی نسبت به شاهد منفی کاهش یافت. کم‌ترین وزن تر ریشه با ۷۸ درصد کاهش نسبت به شاهد منفی متعلق به گروه تیماری ویروس به تنهایی بود. همچنین تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات اکسید روی به تنهایی به ترتیب این شاخص را حدود ۶۴ و ۶۶ درصد نسبت به شاهد منفی کاهش داد. تیمارهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر نانوذره اکسید روی به تنهایی وزن تر ریشه را با شدت کمتری به ترتیب ۱۳ و ۳۳ درصد نسبت شاهد منفی کاهش داد و سبب

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین شاخصهای اندازه گیری شده گیاه خیار رقم سوپر دومینوس در پاسخ به نانوذرات‌های اکسید روی و ویروس موزائیک هندوانه. وزن تر اندام هوایی (FWS)، وزن تر ریشه (FWR)، نسبت وزن تر اندام هوایی به ریشه (ratio FWS/FWR)، طول گیاهان (LS)، تعداد برگ (NO. Leaves)، تعداد گل (NO. Flowers)

(Flowers)، کلروفیل a (Chl. a)، کلروفیل b (Chl. b)، کلروفیل کل (Total Chl.)، کاروتنوئیدها (Car)، آنتوسیانین‌ها (Antho) و قند کل (Sugar)

Table 3- Correlation coefficients between measured parameters of cucumber plant cultivar Super Dominus in response to zinc oxide nanoparticles and watermelon mosaic virus. Shoot fresh weight (FWS), root fresh weight (FWR), shoot to root fresh weight ratio (FWS/FWR ratio), plant length (LS), number of leaves (NO. Leaves), number of flowers (NO. Flowers), chlorophyll a (Chl. a), chlorophyll b (Chl. b), total chlorophyll (Total Chl.), carotenoids (Car), anthocyanins (Antho) and total sugar (Sugar)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.Shoot FW	1									
2.Root FW	0.855**	1								
3. LS	0.846**	0.823**	1							
4.NO. leaves	0.620**	0.788**	0.399	1						
5.NO. flower	0.568*	0.578*	0.565**	0.397	1					
6. Chl a	0.632**	0.538*	0.601**	0.249	0.835**	1				
7. Chl b	0.235	0.279	0.288	0.164	0.766**	0.801**	1			
8.Total chl	0.521*	0.471*	0.518*	0.23	0.851**	0.977**	0.910**	1		
9. Car	0.438	0.269	0.328	0.236	0.826**	0.838**	0.833**	0.876**	1	
10. Antho	0.813**	0.570*	0.572*	0.356	0.169	0.257	-0.234	0.093	0.105	1
11.Ghand	0.589*	0.708**	0.715**	0.436	0.816**	0.690**	0.579*	0.683**	0.544*	0.205

** و * همبستگی در سطوح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ معنی دار است.

نقش عناصر کمیاب در تنظیم پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی به‌طور گسترده بررسی شده است. در مورد نقش نانوذرات بر رشد گیاهان نیز گزارشات ضد و نقیضی وجود دارد. به‌عنوان مثال، مشاهده شده که نانواکسید روی بر رشد ریشه گیاه برنج نیز بی‌تأثیر می‌باشد (Boonyanitipong et al., 2011). درحالی‌که برخی آزمایشات نشان داده است که نانوذره اکسید روی، رشد ساقه و ریشه گیاهچه‌های بادام زمینی را افزایش داده است (Prasad et al., 2012). برخی محققان نشان دادند که اضافه کردن غلظت کم نانوذره اکسید روی به محیط کشت، اثر مثبت بر رشد

بیماری ویروس موزائیک هندوانه (WMV) با نشانه‌هایی نظیر موزائیکی شدن برگ، بد شکلی برگ، تغییر رنگ میوه و لکه‌های بافت مرده (قهوه‌ای) بر روی برگ در گیاه میزبان قابل شناسایی است. آلودگی به WMV به دلیل آسیب ناشی از برگ و رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی منجر به کاهش سرعت رشد و عملکرد می‌گردد. شدت و نشانه بیماری بسته به عوامل محیطی، زمان و مقدار آلودگی و نوع محصول متفاوت است (Elbeshehy et al., 2015). بنابراین کاهش رشد مشاهده شده در حضور بیمارگر در این پژوهش ممکن است ناشی از تخریب رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی گیاهان است. در سال‌های اخیر، به

تعداد برگ در حضور بیمارگر به تنهایی منجر به کاهش ۲۰ درصدی نسبت به شاهد گردید. تعداد برگ در تیمار ۲۵۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات حضور/عدم حضور بیمارگر اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد نشان نداد. اما تیمار ۵۰۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات روی به تنهایی و در حضور بیمارگر نیز سبب کاهش تعداد برگ به ترتیب ۲۰ و ۱۷ درصد نسبت به شاهد گردید (جدول ۱). نتایج نشان داد بین تعداد برگ با وزن تر اندام هوایی و ریشه در گیاهان تیمار شده به ترتیب ۰/۶۲۰ و ۰/۷۸۸ (R^2) همبستگی مثبت وجود دارد (جدول ۳).

تعداد گل در حضور بیمارگر به تنهایی نسبت به شاهد کاهش یافت. کمترین تعداد گل با ۴۸ درصد کاهش نسبت به شاهد متعلق به گروه تیماری بیمارگر به تنهایی بود. همچنین تیمار ۵۰۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات اکسید روی در حضور بیمارگر نیز سبب کاهش تعداد گل نسبت به شاهد گردید. در حالیکه سایر تیمارها اختلاف معنی داری بر روی این شاخص در سطح ۵ درصد نشان ندادند (جدول ۱). بین تعداد گل با وزن تر اندام هوایی و ریشه و تعداد برگ در گیاهان تیمار شده به ترتیب ۰/۵۶۵، ۰/۵۷۸ و ۰/۵۶۸ (R^2) همبستگی مثبت وجود دارد (جدول ۳).

در مورد نقش ویروس WMV و نانوذرات اکسید روی بر روی تعداد برگ، شاخه، تعداد چتر و گل مطالعات اندکی وجود دارد. گزارش شد که محلول پاشی نانوذرات روی باعث افزایش تعداد گلها در گیاه *Eustoma grandiflorum* گردید (Seydmohammadi et al., 2020). همچنین گزارش شده است عنصر روی در تنباکو با به کارگیری $ERF5^1$ با افزایش سوخت و ساز اینوزیتول فسفات، تأثیر مثبتی بر مهار آلودگی ناشی از ویروس موزائیک تنباکو (TMV) دارد (Wang et al., 2022). تغییرات طول گیاه، تعداد برگ و تعداد گل تحت تیمارها مورد مطالعه کم است، با این حال کاهش

گیاهان داشته است. درحالی که کاربرد غلظت های بالای محلول آبی نانوذرات روی اثرات منفی را در گیاهان القاء می کند (Tirani et al., 2019). کاهش رشد مشاهده شده در تیمارهای نانوذره اکسید روی به تنهایی می تواند بیانگر این موضوع باشد که غلظت های مورد استفاده برای این رقم خیار مورد مطالعه در تحقیق حاضر اثر منفی داشته است. همچنین گزارش شده است ۲۵۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات اکسید روی تیمار شده در ریشه به دلیل عدم انتقال به سایر بخش های گیاه سبب آسیب های لکه ای در ریشه ها می شود (Lin & Xing, 2008). درحالی که کاربرد مقدار ۵۰ میلی گرم در لیتر نانو اکسید روی، زیست توده گیاهی را در *Triticum aestivum* بهبود بخشید و تیمار گیاهان با مقادیر ۲۰ و ۵۰ میلی گرم در لیتر به طور قابل توجهی رشد جانبی ریشه را به ترتیب به میزان ۱۹ و ۳۲ درصد افزایش داد (Awasthi et al., 2017). از سوی دیگر، گزارش شده است اسپری کردن دو غلظت نانوذره اکسید روی (۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم/لیتر) باعث افزایش شاخص های رشدی در گیاه گوجه فرنگی آلوده به توپامو ویروس موزائیک گوجه فرنگی شد (Sofy et al., 2021). نانوذرات اکسید روی بخصوص غلظت ۵۰۰ میلی گرم/لیتر تا حدودی اثرات کاهشی WMV بر رشد گیاه خیار را تا حدودی بهبود بخشیده است،

طول گیاهان در حضور بیمارگر به تنهایی و توام با نانو اکسید روی و نانو اکسید روی به تنهایی نسبت به شاهد کاهش یافت. کمترین طول گیاه با ۴۳ درصد کاهش نسبت به شاهد متعلق به تیمار ۵۰۰ میلی گرم/لیتر در حضور بیمارگر بود. تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات روی به تنهایی به ترتیب این شاخص را حدود ۱۱ و ۳۰ درصد نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۱). همچنین نتایج نشان داد بین طول گیاهان با وزن تر اندام هوایی و ریشه در گیاهان تیمار شده به ترتیب ۰/۸۴۳ و ۰/۸۲۳ (R^2) همبستگی مثبت وجود دارد (جدول ۳).

¹ Ethylene-responsive element-binding factor 5

در این شاخص‌ها ممکن است مربوط به اثرات تیمارها بر آنزیم‌ها و پیامبرهای ثانویه در سوخت و ساز گیاهان مربوط باشد.

شاخص‌های بیوشیمیایی

رنگدانه‌های فتوسنتزی

نتایج تغییرات مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، *b*، کل و نسبت کلروفیل *b* به *a*) در برگ‌های رقم سوپر دومینوس گیاه خیار تحت تیمارهای نانوذرات اکسید روی (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر) در شرایط حضور و عدم حضور ویروس موزائیک هندوانه در جدول (۴) آورده شده است. نتایج نشان داد اثر متقابل غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی و بیمارگر بر گیاه خیار سبز بر مقدار کلروفیل *a*، *b*، کل و نسبت کلروفیل *b* به *a* دارای اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد می‌باشد (جدول ۵). مقدار کلروفیل *a* در حضور بیمارگر به تنهایی و توأم با نانوذره اکسید روی نسبت به شاهد منفی منجر به کاهش کلروفیل *a* گردید. کم‌ترین مقدار کلروفیل *a* در رقم سوپر دومینوس با ۶۴ درصد کاهش نسبت به شاهد متعلق به گروه تیماری بیمارگر به تنهایی بود. همچنین تیمار ۲۵۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات اکسید روی نیز سبب کاهش مقدار کلروفیل *a* نسبت به شاهد گردید. تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات روی در حضور بیمارگر به ترتیب این شاخص را حدود ۴۵ و ۳۰

درصد نسبت به شاهد کاهش داد. بین مقدار کلروفیل *a* با وزن تر اندام هوایی و ریشه، طول گیاهان و تعداد گل در گیاهان تیمار شده به ترتیب ۰/۶۳۲، ۰/۵۳۸، ۰/۶۰۱ و ۰/۸۳۵ (R^2) همبستگی مثبت وجود دارد (جدول ۳). تحت تأثیر گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species, ROS) تولید شده طی تنش، کاهش کلروفیل اتفاق می‌افتد. کاهش کلروفیل *a* نسبت به کلروفیل *b* بیشتر است. بنابراین نسبت کلروفیل *a* به *b* به‌عنوان یکی از معیارهای پیشنهادی برای حفظ تمامیت غشاء سلولی و تنش اکسیداتیو حائز اهمیت است (Michael & Krishnaswamy, 2014). کاروتنوئیدها نیز از رنگدانه‌های کمکی دستگاه فتوسنتزی هستند. کاروتنوئیدها از طریق جذب رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده حین تنش و غیرفعال کردن این رادیکال‌ها موجب حفاظت از سلول‌ها می‌شوند (Devlin & Withman, 2002). همچنین از طریق چرخه گزانتوفیلی با واکنش‌های اپوکسیداسیون و داپوکسیداسیون موجب مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در برابر فتواکسیداسیون می‌شوند (Taiz et al., 2015). در محافظت کلروفیل از فتواکسیداسیون و جذب و انتقال انرژی نوری به کلروفیل *a* از نقش‌های مهم کاروتنوئیدها است (Devlin & Withman, 2002). بنابراین در گیاهان تحت تنش نسبت کلروفیل به کاروتنوئیدها تغییر می‌کند.

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های اثرات سطوح مختلف نانوذرات‌های اکسید روی بر کلروفیل *a* (Chl. a)، کلروفیل *b* (Chl. b)، کلروفیل کل (Total Chl.) و نسبت کلروفیل *b* به *a* (Ratio Chl. b/a) خیار رقم سوپر دومینوس آلوده شده با ویروس موزائیک هندوانه. Control - صفر نانوذرات اکسید روی (اسپری با آب مقطر).

Table 4- Mean Comparison of effects of different levels of zinc oxide nanoparticles on chlorophyll a (Chl. a), chlorophyll b (Chl. b), total chlorophyll (Total Chl.) and the ratio of chlorophyll b to a (Ratio Chl. b/a) of cucumber cultivar Super Dominus infected with watermelon mosaic virus. Control- zero zinc oxide nanoparticles (sprayed with distilled water).

ZnO NPs (ppm)	Disease status	Chl. a (mg g ⁻¹ FW)	Chl. b (mg g ⁻¹ FW)	Total Chl. (mg g ⁻¹ FW)	Ratio Chl. b/a
Control	Non-infected	1.10±0.08 ^a	0.42±0.02 ^b	1.52±0.09 ^a	0.38±0.024 ^c
	Infected	0.39±0.09 ^e	0.14±0.01 ^c	0.53±0.10 ^b	0.36±0.064 ^e
250	Non-infected	0.81±0.02 ^c	0.39±0.04 ^b	1.20±0.06 ^b	0.48±0.033 ^b
	Infected	0.61±0.02 ^d	0.39±0.02 ^b	1.00±0.02 ^c	0.65±0.050 ^a
500	Non-infected	1.00±0.02 ^b	0.55±0.03 ^a	1.55±0.01 ^a	0.55±0.048 ^b
	Infected	0.77±0.02 ^c	0.40±0.02 ^b	1.17±0.03 ^b	0.53±0.031 ^b

مقادیر ارائه شده میانگین سه آزمایش مستقل هستند و حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در هر شاخص، در $p < 0.05$ طبق آزمون دانکن است.

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس مقایسه میانگین‌های اثرات سطوح مختلف نانوذرات‌های اکسید روی بر کلروفیل *a* (Chl. a)، کلروفیل *b* (Chl. b)، کلروفیل کل (Total Chl.) و نسبت کلروفیل *b* به *a* (Ratio Chl. b/a)، کاروتنوئیدها (Car)، نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئیدها (T. Chl./Car)، آنتوسیانین‌ها (Antho) و قند کل (Sugar) رقم سوپردومینوس خیار آلوده شده با ویروس موزائیک هندوانه.

Table 5- Results of analysis of variance comparing the means of effects of different levels of zinc oxide nanoparticles on chlorophyll a (Chl. a), chlorophyll b (Chl. b), total chlorophyll (Total Chl.) and ratio of chlorophyll b to a (Ratio Chl. b/a), carotenoids (Car), ratio of total chlorophyll to carotenoids (T. Chl./Car), anthocyanins (Antho) and total sugar (Sugar) of cucumber cultivar Super Dominus infected with watermelon mosaic virus.

Sources of variance	df	Mean Square (MS)								
		Chl. a	Chl. b	Total Chl.	Ratio Chl. b/a	Car	Ratio T. Chl./Car	Antho	Sugar	
ZnO NPs	2	0.052**	0.060**	0.189**	0.066**	0.034**	0.385*	4542.4**	0.007 ^{ns}	
Virus	1	0.653**	0.091**	1.232**	0.007 ^{ns}	0.075**	1.261**	336.4*	0.189**	
ZnO NPs×Virus	2	0.122**	0.029**	0.257**	0.017**	0.07**	0.476*	3258.3**	0.025 ^{ns}	
Error	18	0.003	0.001	0.004	0.002	0.002	0.092	38.3	0.008	

***، ** و * معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و بدون معنی‌داری

در رقم سوپردومینوس حضور بیمارگر به تنهایی نسبت به شاهد منجر به کاهش کلروفیل *b* گردید. کم‌ترین مقدار کلروفیل *b* در رقم سوپردومینوس با ۶۷ درصد کاهش نسبت به شاهد متعلق به گروه تیماری بیمارگر به تنهایی بود. همچنین تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذرات روی نیز سبب افزایش مقدار کلروفیل *b* نسبت به شاهد گردید. درحالی‌که سایر تیمارها بر روی این شاخص اختلاف معنی‌داری نشان نداد. کلروفیل *b* یکی از شاخص‌های مقاومتی در گیاهان است.

سبب کاهش مقدار کلروفیل کل نسبت به شاهد گردید. تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذرات اکسید روی در حضور بیمارگر به ترتیب این شاخص را حدود ۳۴ و ۲۳ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. نتایج نشان داد بین مقدار کلروفیل کل با وزن تر اندام هوایی و ریشه، طول گیاهان، تعداد گل، کلروفیل *a* و کلروفیل *b* در گیاهان تیمار شده به ترتیب ۰/۵۲۱، ۰/۴۷۱، ۰/۵۱۸، ۰/۸۵۱، ۰/۹۷۷ و ۰/۹۱۰ (R^2) همبستگی مثبت وجود دارد (جدول ۳). یکی از شاخص‌های مقاومت افزایش نسبت کلروفیل *b* به *a* است. این شاخص در حضور ویروس موزائیک هندوانه و نانوذرات اکسید روی به تنهایی بر نسبت کلروفیل *b* به *a* اختلاف معنی‌داری نشان نداد. درحالی‌که تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذرات روی به تنهایی به ترتیب ۲۷ و ۴۵ درصد و تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذرات اکسید روی توأم با بیمارگر به ترتیب ۷۰ و ۳۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داد.

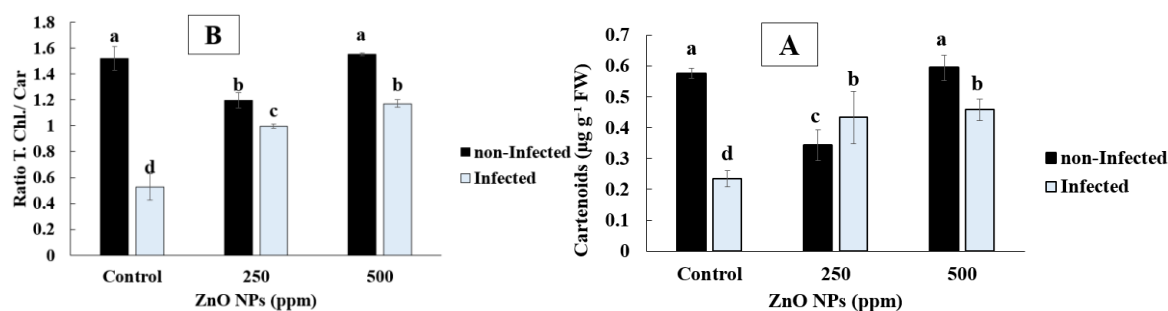
الگوی تغییرات مقدار کلروفیل کل تقریباً مشابه کلروفیل *a* است. در رقم سوپردومینوس حضور بیمارگر به تنهایی و توأم با نانوذرات اکسید روی نسبت به شاهد منجر به کاهش کلروفیل *a* گردید. کم‌ترین مقدار کلروفیل کل در رقم سوپردومینوس با ۶۵ درصد کاهش نسبت به شاهد متعلق به گروه تیماری بیمارگر به تنهایی بود. همچنین تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذرات روی نیز

یکی از مهم‌ترین نشانه‌های تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی است. کاهش این شاخص به نوع محصول، نوع تنش و ژنوتیپ گیاه بستگی دارد. در شرایط تنش مقدار اتیلن تولید شده در گیاهان به شدت افزایش می‌یابد. در ضمن اتیلن عامل کاهش کلروفیل در گیاهچه‌های خیار (Nilsson, 2005)، گل کلم (Gong & Mattheis, 2003) و کلزا (Tirani et al., 2013) می‌باشد. از سوی دیگر، پولاگورالا و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند کاربرد نانو یا میکروذرات اکسید روی خاک باعث بهبود محتوای کلروفیل در گشنیز (*Coriandrum sativum*) شده است (Pullagurala et al., 2018). با این حال، اشاره شده است که نانوذرات اکسید روی، کاهش محتوای کلروفیل در برخی از گیاهان را در پی داشته است (Priester et al., 2012). در تحقیقی آورده شده است غلظت ۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید روی سبب افزایش سطح فتوسنتز در گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به توباموویروس موزائیک گوجه‌فرنگی گردید (Sofy et al., 2021). رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی نقش مهمی در فتوسنتز به عنوان دریافت‌کننده انرژی یا محافظت از سیستم ایفا می‌کنند و به تنش‌های محیطی حساس هستند. کاربرد نانوذرات اکسید روی پس از ۱۵ روز، غلظت *Chl b* را در *Solanum lycopersicon* و *Phaseolus vulgaris* ۲۴ تا ۵۱ درصد افزایش داده است (García-Gómez et al., 2017). بنابراین تغییر در مقدار کلروفیل مشاهده شده در این تحقیق احتمالاً می‌تواند به دلیل تأثیر این بیمارگر و نانوذرات اکسید روی بر اتیلن و در نهایت پیش‌سازهای سنتز کلروفیل و یا تخریب کلروفیل‌های موجود می‌باشد. همچنین با توجه به

همبستگی مثبت بین کلروفیل و شاخص‌های رشدی، کاهش رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی گیاهان منجر به کاهش فتوسنتز و رشد گیاهان شده است.

کاروتنوئیدها

نتایج تغییرات مقدار کاروتنوئیدها و نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئیدها در برگ‌های رقم سوپر دو مینوس گیاه خیار تحت تیمارهای نانوذرات اکسید روی (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/لیتر) در شرایط حضور و عدم حضور ویروس موزائیک هندوانه در شکل‌های ۳-A و ۳-B آورده شده است. نتایج نشان داد اثر متقابل غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی و بیمارگر بر گیاه خیار بر مقدار کاروتنوئیدها دارای اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد و نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئیدها در سطح پنج درصد است (جدول ۵). مقدار کاروتنوئیدها در حضور بیمارگر به تنهایی و توأم با نانوذرات اکسید روی نسبت به شاهد منجر به کاهش مقدار کاروتنوئیدها گردید. کم‌ترین مقدار کاروتنوئیدها در رقم سوپر دو مینوس با ۵۹ درصد کاهش نسبت به شاهد متعلق به گروه تیماری بیمارگر به تنهایی بود. همچنین تیمار توأم نانوذرات روی و بیمارگر سبب کاهش مقدار کاروتنوئیدها نسبت به شاهد منفی گردید. تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/لیتر نانوذرات روی در حضور بیمارگر به ترتیب این شاخص را حدود ۲۵ و ۲۰ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. نتایج نشان داد بین مقدار کاروتنوئیدها با تعداد گل، کلروفیل *a* و کلروفیل *b* و مقدار کلروفیل کل در گیاهان تیمار شده به ترتیب ۰/۸۲۶، ۰/۸۳۸، ۰/۸۳۳، و ۰/۸۷۶ (R^2) همبستگی مثبت وجود دارد (جدول ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های اثرات سطوح مختلف نانوذرات‌های اکسید روی بر (A) مقدار کاروتنوئیدها و (B) نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئیدها رقم سوپر دومینوس خیار آلوده شده با ویروس موزائیک هندوانه. شاهد- صفر نانوذرات اکسید روی (اسپری با آب مقطر). مقادیر ارائه شده میانگین سه آزمایش مستقل هستند و حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در هر شاخص، در $p < 0.05$ طبق آزمون دانکن است.

Fig 3- Mean comparison of the effects of different levels of zinc oxide nanoparticles on (A) carotenoid content and (B) total chlorophyll to carotenoid ratio of green cucumber cultivar Super Dominus infected with watermelon mosaic virus. Control-zero zinc oxide nanoparticles (sprayed with distilled water). The values presented are the average of three independent experiments and different letters indicate significant differences between treatments in each parameter, at $p < 0.05$ according to Duncan's range test.

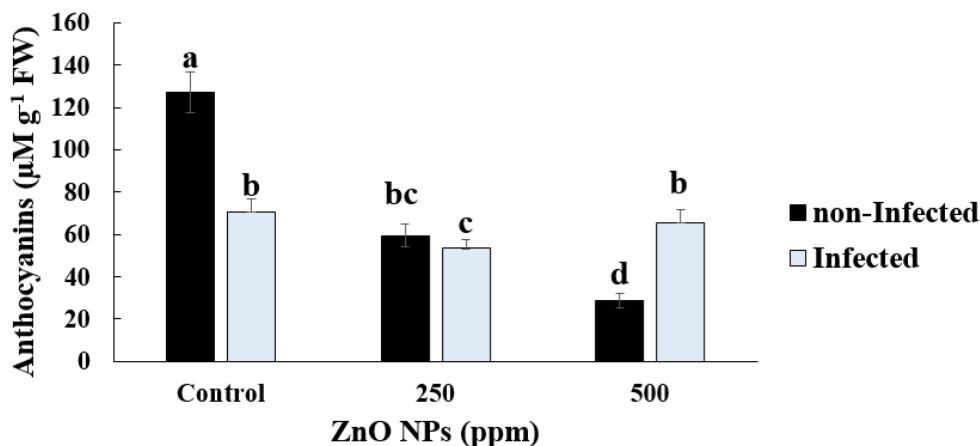
کاروتنوئیدها در رقم سوپر دومینوس به شدت کاهش یافت و با توجه به حساس بودن این رقم به نظر می‌رسد این یک مسیر بسیار مهم در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از بیمارگر است.

آنتوسیانین‌ها

نتایج تغییرات مقدار آنتوسیانین‌ها در برگ‌های رقم سوپر دومینوس گیاه خیار تحت تیمارهای نانوذرات اکسید روی (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر) و ویروس موزائیک هندوانه در شکل (۴) آورده شده است. نتایج نشان داد اثر متقابل غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی و بیمارگر بر گیاه خیار بر مقدار آنتوسیانین‌ها دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.01$) می‌باشد (جدول ۵). حضور بیمارگر به تنهایی و توأم با نانوذره اکسید روی نسبت به شاهد منجر به کاهش مقدار آنتوسیانین‌ها گردید. کم‌ترین مقدار آنتوسیانین‌ها با ۷۷ درصد کاهش نسبت به شاهد متعلق به ۵۰۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات اکسید روی به تنهایی بود. همچنین تیمار توأم نانوذرات روی و بیمارگر سبب کاهش مقدار آنتوسیانین‌ها نسبت به شاهد گردید. تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات روی در حضور بیمارگر به ترتیب این شاخص را حدود ۵۸ و ۴۸ درصد

نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئیدها در حضور بیمارگر به تنهایی و توأم با نانوذرات اکسید روی نسبت به شاهد کاهش یافت. کم‌ترین این نسبت با ۶۵ درصد کاهش نسبت به شاهد متعلق به گروه تیماری بیمارگر به تنهایی بود. همچنین تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات روی در حضور بیمارگر به ترتیب این شاخص را حدود ۳۴ و ۲۳ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. کاروتنوئیدها نقش اصلی را در دفاع گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کنند. کارایی کاروتنوئیدها در حمایت از فتوسنتزها و رنگیزه‌های فتوسنتزی مورد بررسی قرار گرفته است. کاروتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه‌تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را بروز دهند. گارسیا گومز و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که نانوذرات میکروذرات اکسید روی، غلظت کاروتنوئیدها را در گیاهان لوبیا و گوجه‌فرنگی افزایش دادند (García-Gómez et al., 2017)، این موضوع می‌تواند به دلیل غلظت‌های مختلف نانوذرات مورد بررسی، به جهت تغییر کاروتنوئیدها تحت شرایط در معرض قرار گرفتن با نانوذرات باشد.

نسبت به شاهد کاهش داد. نتایج نشان داد بین مقدار آنتوسیانین‌ها با وزن تر اندام هوایی و ریشه و در گیاهان تیمار شده به ترتیب ۰/۸۱۳، ۰/۵۷۰ و ۰/۵۷۲ (R^2) همبستگی مثبت وجود دارد (جدول ۳).



شکل ۴- مقایسه میانگین‌های اثرات سطوح مختلف نانوذرات اکسید روی بر مقدار آنتوسیانین‌ها رقم سوپر دومینوس خیار (آلوده شده با ویروس موزائیک هندوانه. شاهد- صفر نانوذرات اکسید روی (اسپری با آب مقطر). مقادیر ارائه شده میانگین سه آزمایش مستقل هستند و حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در هر شاخص، در $p < 0.05$ طبق آزمون دانکن است.

Fig. 4 Mean comparison of the average effects of different levels of zinc oxide nanoparticles on the amount of anthocyanins in cucumber cultivar Super Dominus (infected with watermelon mosaic virus. Control - zero zinc oxide nanoparticles (sprayed with distilled water). The values presented are the average of three independent experiments and different letters indicate significant differences between treatments in each parameter, at $p < 0.05$ according to Duncan's range test

اکسیداتیو ناشی از بیمارگر است. همچنین به نظر می‌رسد مسیر این بیوسنتزی تا حدودی بر حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن اثر داشته باشد.

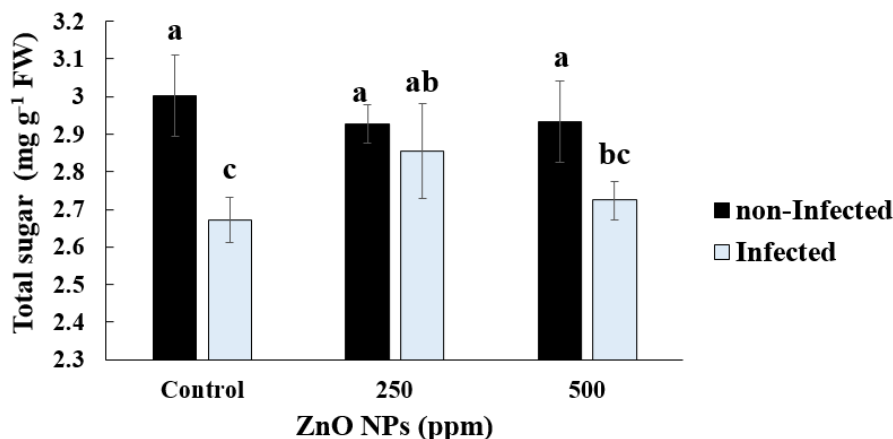
قند کل

نتایج تغییرات مقدار مقدار قند کل در برگ‌های رقم سوپر دومینوس گیاه خیار تحت تیمارهای نانوذرات اکسید روی (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/لیتر) در حضور ویروس موزائیک هندوانه در سطح پنج درصد در شکل (۵) آورده شده است. نتایج نشان داد اثر متقابل غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی و بیمارگر بر گیاه خیار بر مقدار قند کل تفاوت معناداری نشان نداد. اما اثر ویروس بر مقدار قند کل دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد (شکل ۵). در حضور بیمارگر به تنهایی نسبت به شاهد منجر به کاهش مقدار قند کل

تحقیقات نشان داده‌اند که تنش‌ها مقدار آنتوسیانین‌ها را افزایش می‌دهد آنتوسیانین‌های موجود در برگ به عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند. وجود این مواد در برگ مانع کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در تعدادی از گیاهان مثل جعفری و وارپته‌های سویا شده است. ولی این حالت در تمام گیاهان عمومیت ندارد (Kaur et al., 2023). اکسید روی می‌تواند بر مسیرهای بیوسنتز آنتوسیانین‌ها تأثیر بگذارد. بر اساس تحقیقات انجام شده، گزارش شده است که آنتوسیانین در گیاهان تیمار شده با روی القا شده است (Asad, 2015). آنتوسیانین‌ها در رقم سوپر دومینوس به شدت کاهش نشان داد و با توجه به حساس بودن این رقم به نظر می‌رسد این یک مسیر بسیار مهم در کاهش تنش

مقدار قند کل با وزن تر اندام هوایی و ریشه، کلروفیل *a* و کلروفیل *b*، کلروفیل کل در گیاهان تیمار شده به ترتیب ۰/۵۸۹، ۰/۷۰۸، ۰/۶۹۰، ۰/۵۷۹ و ۰/۶۸۳ (R^2) همبستگی مثبت وجود دارد (جدول ۳).

گردید. تیمار ۵۰۰ میلی گرم/لیتر نانوذرات روی در حضور بیمارگر این شاخص را حدود ۹ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. سایر سطوح تیماری اثر معناداری در سطح ۵ درصد بر مقدار قند کل نداشت. نتایج نشان داد بین



شکل ۵-مقایسه میانگین‌های اثرات سطوح مختلف نانوذرات‌های اکسید روی بر مقدار قند کل رقم سوپر دومینوس خیار آلوده شده با ویروس موزائیک هندوانه. شاهد- صفر نانوذرات اکسید روی (اسپری با آب مقطر). مقادیر ارائه شده میانگین سه آزمایش مستقل هستند و حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در هر شاخص، در $p < 0.05$ طبق آزمون دانکن است.

Fig 5- Mean comparison of the effects of different levels of zinc oxide nanoparticles on the total sugar content of cucumber cultivar Super Dominus infected with watermelon mosaic virus. Control - zero zinc oxide nanoparticles (sprayed with distilled water). The values presented are the average of three independent experiments and different letters indicate significant differences between treatments in each parameter, at $p < 0.05$ according to Duncan's range test

به WMV می‌شود. همچنین با توجه به همبستگی مثبت بین کلروفیل، شاخص‌های رشدی و قند کل، کاهش رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی گیاهان منجر به کاهش فتوسنتز، کاهش کربوهیدرات‌ها و رشد گیاهان شده است. به طور کلی، تنش‌های زیستی، از عواملی هستند که رشد و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و با تولید گونه‌های اکسیژن فعال موجب کاهش رشد و نمو گیاهان می‌شوند (Devlin & Withman, 2002). طی سال‌های اخیر بررسی اثرات نانوذرات فلزی بر بهبود مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی به دلیل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی منحصربه‌فرد این ترکیبات اهمیت یافته‌اند. در تحقیق حاضر، اثر نانوذرات اکسید روی بر شدت نشانه‌های بیماری، تغییرات رشدی و فیزیولوژیکی گیاه خیار مورد مطالعه قرار

عنصر روی نقش اساسی در بیوسنتز کربوهیدرات دارد و به‌عنوان یک عنصر ضروری برای فعالیت‌های آنزیمی سلولی محسوب می‌شود (Sanjay et al., 2015). علاوه بر این، روی یک عنصر ساختاری مهم در ریبوزوم‌ها بوده و برای یکپارچگی ساختاری آن‌ها ضروری می‌باشد. در غیاب روی، ریبوزوم‌های درون سلول‌ها تجزیه و سوخت و ساز کربوهیدرات را مختل می‌کنند (García-Gómez et al., 2017). بنابراین، سیستم آنتی‌اکسیدانی نظیر آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها و کلروفیل *b* گیاه خیار احتمالاً قادر به مقابله کامل با تنش اکسیداتیو ناشی از ویروس موزائیک هندوانه نبود. گیاهان در حضور نانوذرات اکسید روی با فعال نمودن آنزیم‌های لازم برای سنتز برخی از کربوهیدرات‌ها، القاء سیستم آنتی‌اکسیدان منجر به افزایش اندکی مقاومت

خسارت و عدم اثرات مخرب زیست محیطی این نانوذره گزینه مناسبی برای مقابله با ویروس‌های گیاهی است. البته لازم به ذکر است تعیین غلظت موثر این ترکیب نیازمند تحقیقات گسترده‌ای است.

تعارض منافع

نویسندگان تایید می‌کنند که این تحقیق در غیاب هر گونه روابط تجاری یا مالی می‌تواند به عنوان تضاد منافع بالقوه تعبیر شود، انجام شده است.

موازین اخلاقی

در انجام این پژوهش تمامی موازین و اصول اخلاقی رعایت گردیده است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه جیرفت انجام گردیده است که بدینوسیله از این دانشگاه تشکر و قدردانی میشود.

گرفت. نتایج به دست آمده نشان دهنده تاثیر مطلوب نانوذرات اکسید روی بر کاهش خسارت WMV در گیاه خیار می‌باشد. در گیاه خیار رقم سوپر دو مینوس غلظت ۲۵۰ میلی گرم/لیتر بیشترین اثر را بر کاهش شدت نشانه‌های بیماری نسبت به شاهد آلوده نشان داد. در تیمار شاهد آلوده و مقدار کلروفیل کاهش چشمگیری داشته است و بدنبال آن فتوستنز کاهش پیدا کرده است. با کاهش فتوستنز، متابولیت‌های اولیه مانند قندها که اساس تشکیل متابولیت‌های ثانویه می‌باشند کاهش پیدا کرده و گیاه نمی‌تواند بطور کامل با تنش ناشی از ویروس مقابله کند. اما با تخصیص منابع به بخش‌های دیگر مثل کوتاه کردن چرخه زندگی گیاه و تولید دانه با تنش مقابله می‌کند و تا حدودی اثرات تنش را بهبود می‌بخشد (Tirani et al., 2019). با توجه به اثرات بهبودی نانوذرات اکسید روی بر نشانه‌های ویروس WMV، مصرف این نانوذره برای ویروس موزائیک هندوانه روی گیاه خیار توصیه می‌شود. زیرا مقابله با ویروس‌های گیاهی بسیار مشکل بوده است، بنابراین به دلیل کاهش

References

- Albalasmeh, A. A., Berhe, A. A., & Ghezzehei, T. A. (2013). A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 253-261. [Link]
- Asad, T. (2015). Thinking about tradition, religion, and politics in Egypt today. *Critical Inquiry*, 42(1), 166-214. [Link]
- Awasthi, A., Bansal, S., Jangir, L. K., Awasthi, G., Awasthi, K. K., & Awasthi, K. (2017). Effect of ZnO nanoparticles on germination of *Triticum aestivum* seeds. *Macromolecular Symposia*, 376(1), 1700043. [Link]
- Boonyanitipong, P., Kositsup, B., Kumar, P., Baruah, S., & Dutta, J. (2011). Toxicity of ZnO and TiO₂ nanoparticles on germinating rice seed *Oryza sativa* L. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 1(4), 282. [Link]
- Cai, L., Liu, C., Fan, G., Liu, C., & Sun, X. (2019). Preventing viral disease by ZnONPs through directly deactivating TMV and activating plant immunity in *Nicotiana benthamiana*. *Environmental Science: Nano*, 6(12), 3653-3669. [Link]
- Devlin, M., & Withman, F. (2002). *Plant Physiology*. CBS Publishers and Distributors, New Delhi, India. [Link]
- Dimkpa, C. O., McLean, J. E., Britt, D. W., & Anderson, A. J. (2013). Antifungal activity of ZnO nanoparticles and their interactive effect with a biocontrol bacterium on growth antagonism of the plant pathogen *Fusarium graminearum*. *Biometals*, 26, 913-924. [Link]
- Dong, W. A. N. G., & Guan, L. I. (2017). Host Reaction of Watermelon mosaic virus Isolates Infecting Melon from Different Geographical Origins in Xinjiang of China. *Horticultural Plant Journal*, 3(1), 23-28. [Link]
- Elbeshehy, E. K., Youssef, S. A., & Elazzazy, A. M. (2015). Resistance induction in pumpkin *Cucurbita maxima* L. against Watermelon mosaic potyvirus by plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocontrol Science and Technology*, 25(5), 525-542. [Link]
- García-Gómez, C., Obrador, A., González, D., Babín, M., & Fernández, M. D. (2017). Comparative effect of ZnO NPs, ZnO bulk and ZnSO₄ in the antioxidant defences of two plant species growing in two agricultural soils under greenhouse conditions. *Science of The Total Environment*, 589, 11-24. [Link]

- Garg, N., Sidhu, A. S., & Cheema, D. S. (2007). Systematics of the genus Cucumis: A review of literature. *Haryana Journal of Horticultural Sciences*, 36(1&2), 192-197. [Link]
- Gong, Y., & Mattheis, J. P. (2003). Effect of ethylene and 1-methylcyclopropene on chlorophyll catabolism of broccoli florets. *Plant Growth Regulation*, 40, 33-38. [Link]
- Hoseinzadeh, E., Makhdoumi, P., Taha, P., Hossini, H., Stelling, J., Amjad Kamal, M., & Md. Ashraf, G. (2017). A review on nano-antimicrobials: metal nanoparticles, methods and mechanisms. *Current Drug Metabolism*, 18(2), 120-128. [Link]
- Kaur, S., Tiwari, V., Kumari, A., Chaudhary, E., Sharma, A., Ali, U., & Garg, M. (2023). Protective and defensive role of antihocyanins under plant abiotic and biotic stresses: An emerging application in sustainable agriculture. *Journal of Biotechnology*, 361, 12-29. [Link]
- Lichtenthaler, K. H., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1(1), F4-3. [Link]
- Lin, D., & Xing, B. (2008). Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environmental Science & Technology*, 42(15), 5580-5585. [Link]
- Michael, P. I., & Krishnaswamy, M. (2014). Membrane damage and activity of antioxidant enzymes in response to zinc and high irradiance stress in cowpea plant. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 2(10), 112-128.
- Nilsson, T. (2005). Effects of ethylene and 1-MCP on ripening and senescence of European seedless cucumbers. *Postharvest Biology and Technology*, 36(2), 113-125. [Link]
- Paniagua-Zambrana, N. Y., Bussmann, R. W., & Kikvidze, Z. (2024). *Cucumis melo L. Cucumis sativus L. Cucurbitaceae Ethnobotany of the Mountain Regions of Eastern Europe: Carpathians*. Cham: Springer International Publishing.
- Prasad, T. N., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R., Sreeprasad, T. S., Sajanlal, P. R., & Pradeep, T. (2012). Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*, 35(6), 905-927. [Link]
- Priester, J. H., Ge, Y., Mielke, R. E., Horst, A. M., Moritz, C., Espinosa, K., Gelb, J., Walker, S. L., Nisbet, R. M., An, Y. J., & Schimel, J. P. (2012). Soybean susceptibility to manufactured nanomaterials with evidence for food quality and soil fertility interruption. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(37), 2451-E2456. [Link]
- Pullagurala, V. L. R., Adisa, I. O., Rawat, S., Kalagara, S., Hernandez-Viezcas, J. A., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2018). ZnO nanoparticles increase photosynthetic pigments and decrease lipid peroxidation in soil grown cilantro (*Coriandrum sativum*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, 120-127. [Link]
- Sanjay, S. S., Pandey, A. C., Singh, M., & Prasad, M. S. (2015). Effects of functionalized ZnO nanoparticles on the phytohormones: growth and development of *Solanum melongena* L. (Brinjal) plant. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 5, 1990-2009. [Link]
- Seydmohammadi, Z., Roein, Z., & Rezvanipour, S. (2020). Accelerating the growth and flowering of *Eustoma grandiflorum* by foliar application of nano-ZnO and nano-CaCO₃. *Plant Physiology Reports*, 25, 140-148. [Link]
- Sharifi, M., Massumi, H., Heydarnejad, J., Hosseini Pour, A., Shaabani, M., & Rahimian, H. (2008). Analysis of the biological and molecular variability of Watermelon mosaic virus isolates from Iran. *Virus Genes*, 37, 304-313. [Link]
- Singh, S. K., Awasthi, L. P., Singh, S., & Sharma, N. K. (2011). Protection of mungbean and urdbean crops against vector borne mungbean yellow mosaic virus through botanicals. *Current Botany*, 2, 08-11. [Link]
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Hasanand, H., & Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7, 219-242. [Link]
- Sofy, A. R., Hmed, A. A., Alnaggar, A. E. A. M., Dawoud, R. A., Elshaarawy, R. F. M., & Sofy, M. R. (2020). Mitigating effects of Bean yellow mosaic virus infection in faba bean using new carboxymethyl chitosan-titania nanobiocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1261-1275. [Link]
- Sofy, A. R., Sofy, M. R., Hmed, A. A., Dawoud, R. A., Alnaggar, A. E. A. M., Soliman, A. M., & ElDoudoug, N. K. (2021). Ameliorating the adverse effects of tomato mosaic tobamovirus infecting tomato plants in Egypt by boosting immunity in tomato plants using zinc oxide nanoparticles. *Molecules*, 26(5), 1-18. [Link]
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2015). *Plant Physiology and Development*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA. [Link]

- Tirani, M. M., Haghjou, M. M., & Ismaili, A. (2019). Hydroponic grown tobacco plants respond to zinc oxide nanoparticles and bulk exposures by morphological, physiological and anatomical adjustments. *Functional Plant Biology*, 46(4), 360-375. [Link]
- Tirani, M. M., Nasibi, F., & Kalantari, K. M. (2013). Interaction of salicylic acid and ethylene and their effects on some physiological and biochemical parameters in canola plants (*Brassica napus* L.). *Photosynthetica*, 51, 411-418. [Link]
- Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, 64(1), 88-93. [Link]
- Walters, S. A., Kindhart, J. D., Hobbs, H. A., & Eastburn, D. M. (2003). Viruses associated with cucurbit production in southern Illinois. *HortScience*, 38, 65-66. [Link]
- Wang, J., Zou, A., Xiang, S., Liu, C., Peng, H., Wen, Y., Ma, X., Chen, H., Ran, M., & Sun, X. (2022). Transcriptome analysis reveals the mechanism of zinc ion-mediated plant resistance to TMV in *Nicotiana benthamiana*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 184, 105100. [Link]
- Zitter, T. A., Hopkins, D. L., & Thomas, C. E. (1996). *Descriptions of Plant Viruses*. APS Press. [Link]