

اثر کاربرد برگی اکسید روی و نانوذره روی بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.)

صالح شهابی‌وند^{۱*}، احمد آقایی^{۲*}، معصومه اطهاری^۱ و یوسف نصیری^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، ^۲ گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه (تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۶/۱۴)

چکیده

محلول‌پاشی عناصر کم‌مصرف از جمله روی، یک روش سریع و ساده برای رفع یا کاهش کمبود این عناصر در گیاه است. به منظور ارزیابی اثر محلول‌پاشی عنصر روی به دو صورت معمول و نانوذره بر پاسخ‌های رشدی و آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.)، این تحقیق به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. تیمارها شامل چهار سطح اکسید روی (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و چهار سطح نانوذره اکسید روی (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بودند. نتایج تجزیه واریانس مشخص کرد که اثر تیمارها بر صفات رشدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که تحت تیمار اکسید روی معمولی در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم، طول اندام هوایی و ریشه و وزن خشک اندام هوایی و ریشه افزایش معنی‌دار در مقایسه با شاهد یافتند. تیمار نانوذره روی در همه سطوح به خصوص در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم اثر مثبت معنی‌دار بر همه شاخص‌های رشدی شامل طول اندام هوایی و ریشه، طول و تعداد گل‌آذین و وزن خشک اندام هوایی و ریشه نسبت به شاهد داشت. با افزایش غلظت هر دو تیمار روی معمولی و نانوذره روی، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در ریشه و اندام هوایی افزایش یافت. کمترین و بیشترین مقدار شاخص‌های رشدی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به ترتیب در گیاهان شاهد و تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده تأثیر مثبت و بارز فرم نانوذره اکسید روی نسبت به فرم معمولی اکسید روی، بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه دارویی ریحان است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدان، ریحان، کود روی، نانوذره

مقدمه

می‌شود. گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گیاهی علفی، یک‌ساله و معطر بوده و متعلق به تیره نعناع یا Lamiaceae است که حدود ۱۵۰ گونه بوته‌ای و علفی برای این جنس معرفی شده است. ریحان همانند سایر گیاهان خانواده نعناع منبع ترکیبات مختلف از قبیل اسانس است که دافع حشرات بوده و عملکرد ضدانگلی، ضدباکتریایی،

با توجه به نیاز بالای کشور به واردات مواد اولیه دارویی و خروج مقادیر زیادی ارز به این منظور و نیز به دلیل سابقه دیرینه ایران در طب سنتی و گیاه‌درمانی، لزوم توجه جدی به استعدادها و توانمندی‌های موجود در زمینه تولید، بهره‌برداری و فرآوری محصولات دارویی گیاهی، بیش از پیش احساس

فعالیت‌های کاتالیزوری آن‌ها را تغییر می‌دهد. با استفاده از نانوذرات می‌توان کودهایی با رهایش کنترل‌شده تولید نمود. جذب کودهایی با این ابعاد راحت‌تر شده و نسبت به کودهای رایج تأثیر بیشتری دارند و از آلودگی محیط زیست و شوری بیش از حد خاک جلوگیری می‌کنند (Ranjbar and Shams, 2009). با این حال، انتظار می‌رود که واکنش گیاهان مختلف به تغذیه کودهای نانو متفاوت باشد.

کاربرد برگی روی به سه صورت سولفات روی، کلات روی و نانو کلات روی باعث افزایش معنی‌دار در وزن تر و خشک پیکر رویشی و نیز درصد و عملکرد اسانس گیاه ریحان داشت و از این نظر کاربرد برگی نانو کلات روی مؤثرتر از دو کود دیگر روی بود (فلاحی و همکاران، ۱۳۹۵). در تحقیقی دیگر، محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی باعث افزایش در ارتفاع بوته، وزن تر، تعداد برگ، تعداد شاخه‌های جانبی، کلروفیل کل و میزان اسانس در ریحان شد (El-Kerety *et al.*, 2013).

هدف از این پژوهش، ارزیابی و مقایسه اثر غلظت‌های مختلف اکسید روی و نانوذرات اکسید روی بر خصوصیات رشدی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه دارویی ریحان در شرایط گلدانی و در گلخانه است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه مراغه و در فصل بهار و تابستان سال ۱۳۹۷ اجرا گردید. تیمارها شامل تیمار اکسید روی معمولی در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و تیمار نانوذره اکسید روی در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بودند. در ضمن شاهد همان سطح صفر تیمارها که بدون تیمار اکسید روی یا نانوذره روی بود، انتخاب شد. بذور ریحان از نمونه بذره‌های ریحان سبز موجود در آزمایشگاه باغبانی دانشگاه مراغه که در سال ۱۳۹۷ تهیه شده بود، فراهم گردید. بذور به مدت ۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۵٪ درصد به همراه چند قطره توتین ۲۰ ضدعفونی شد و سپس

ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی دارد و در صنایع آرایشی و بهداشتی نیز استفاده می‌شود (Omidbaigi, 2008). همچنین برگ این گیاه برای تقویت حافظه و اعصاب استفاده می‌شود (Kumar *et al.*, 2012). گیاه ریحان از دیرباز به طور سنتی به عنوان یک گیاه زینتی و دارویی در درمان بیماری‌هایی چون سردرد، سرفه، اسهال، ناراحتی‌های کلیوی و همچنین برای مداوای بزرگ‌شدن طحال مورد استفاده قرار می‌گیرد (Georgiadou *et al.*, 2018).

عناصر ریزمغذی، عناصر لازم برای رشدونمو گیاه هستند که بیشتر نقش تنظیم‌کنندگی و کاتالیزوری دارند. عنصرهای ریزمغذی به‌ویژه روی و آهن به‌طور گسترده‌ای در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک به دلیل تثبیت آن‌ها توسط خاک، بالا بودن pH و درصد بالای کربنات کلسیم این خاک‌ها، به سرعت به شکل غیرقابل جذب برای گیاه تبدیل می‌شوند و عوارض کمبود آن‌ها در گیاهان ظاهر می‌شود (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷). بنابراین برای برطرف کردن نیاز گیاه به عناصر غذایی و افزایش عملکرد و کیفیت محصول در این مناطق، به دلیل کارایی پایین مصرف خاکی، تغذیه برگی سودمند و مؤثر است (Marschner, 1995). تغذیه برگی، روشی برای کاهش تثبیت کودهای شیمیایی در خاک و در نتیجه کاهش خطرات زیست محیطی از جمله کاهش آلودگی خاک و آب است (Kannan, 2010). عنصر روی به عنوان یک ریزمغذی ضروری برای رشد و نمو، در بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاه نقش دارد. این فلز از عناصری محسوب می‌شود که به عنوان کوفاکتور و فعال‌کننده در گروه‌های مختلف آنزیمی شامل اکسیدوردوکتاز، ترانسفراز، هیدرولاز، لیاز، ایزومراز و لیگاز نقش دارد (Lacerda *et al.*, 2018). روی، عنصری ضروری جهت تولید کلروفیل، فتوستتوز، انجام عمل گرده‌افشانی، لقاح و جوانه‌زنی است و در بیوستتوز اکسین به عنوان یک هورمون محرک رشد نیز ایفای نقش می‌کند (Kaya and Higgs, 2002).

امروزه، تولید کودها و سموم در ابعاد نانو به دلیل کمک به افزایش عملکرد محصولات مورد توجه قرار گرفته است. تبدیل مواد به مقیاس نانو، ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، زیستی و

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در گلدان‌ها

هدایت الکتریکی	pH	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	آهن قابل جذب	روی قابل جذب	مس قابل جذب	منیزیوم قابل جذب	نیترژن کل	رس	سیلت	ماسه
(dS/m)		(mg/kg)						(/)			
۰/۷	۷/۵۶	۳۱/۸	۲۵۸	۳/۵۱	۱/۹۸	۰/۴۹	۳/۲۰	۰/۱۳۴	۷	۲۵	۶۸

برای محلول‌پاشی از روش مقیمی‌پور و همکاران (Moghimipour et al., 2017) با اندکی تغییر استفاده شد به طوری که بعد از مرحله ۱۲ برگی اولین مرحله محلول‌پاشی انجام گرفت سپس هر ۱۵ روز یک‌بار محلول‌پاشی و در کل سه مرتبه انجام گرفت و ۱۵ روز بعد از مرحله آخر محلول‌پاشی برداشت گیاه انجام گرفت.

به‌طور تصادفی از هر واحد آزمایشی سه گیاه برداشت گردید. پس از جدانمودن قسمت هوایی گیاه از ریشه، طول ریشه و اندام هوایی و تعداد گل‌آذین در هر بوته شمارش شدند و وزن تر ریشه و اندام هوایی برای کلیه تیمارها با استفاده از ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری گردید. نمونه‌های ریشه و قسمت هوایی به‌مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد در سایه خشک گردید، سپس اجزای گیاهی به درون پاکت‌های کاغذی که قبلاً وزن شده بود منتقل گردید تا وزن خشک نمونه‌ها تعیین شود.

جهت اندازه‌گیری پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (عصاره آنزیمی)، براساس روش Ghanati و همکاران (۲۰۰۲)، ابتدا حدود ۰/۵ گرم از هر نمونه گیاهی در هاون و به کمک نیترژن مایع به‌خوبی پودر گردید. پودر حاصله به تیوب‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل و به آن ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم اضافه گردید. در ادامه نمونه‌ها به‌مدت ۳۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ نمودن نمونه‌ها، مایع رویی آن‌ها به تیوب‌های جدید منتقل و بلافاصله به یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شده و از آن برای اندازه‌گیری میزان پروتئین کل و میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گاپاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز استفاده گردید. برای تعیین غلظت پروتئین محلول کل، ۲۰ میکرولیتر از

بذور سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. به‌منظور جوانه‌زنی، کاغذ صافی را درون پتری‌دیش‌های ۸ سانتی‌متری قرار داده و ۳۰ عدد بذر درون هر پتری‌دیش قرار گرفت و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به هر پتری اضافه شد و در دما و نور معمولی آزمایشگاه به‌مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت تا دانه‌های جوانه‌زده، آماده انتقال به خاک گلدان شوند. نمونه‌های خاک از محوطه دانشگاه مراغه تهیه گردید ولی به‌علت اینکه رشد گیاه ریحان (معمولاً اکثر سبزی‌ها) در خاک‌های سبک (ماسه‌ای) بهتر است (Omidbaigi, 2008)، لذا به خاک تهیه‌شده ۱ به ۳ ماسه اضافه شد تا کاملاً خاکی سبک حاصل شود. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک در جدول ۱ مشخص شده است.

در این آزمایش گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۵ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر را با ۷ کیلوگرم خاک پر کرده و برای هر تیمار شش گلدان در نظر گرفته شد. سپس در هر گلدان هشت عدد بذر ریحان در دمای روزانه و شبانه گلخانه به ترتیب 2 ± 28 و 2 ± 18 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰ الی ۷۰ درصد کشت شدند. پس از کاشت بذرها ابتدا هر گلدان به میزان ۴۰۰ سی‌سی (حدود ظرفیت مزرعه‌ای گلدان‌ها) آبیاری شد. پس از این مرحله هر دو روز یک‌بار به میزان ۴۰۰ سی‌سی آبیاری گردید. وجین علف‌های هرز پس از کاشت تا قبل از برداشت به‌صورت مستمر در تمامی مراحل رشد به‌صورت دستی انجام شد.

محلول‌های اکسید روی (تهیه‌شده از شرکت مرک آلمان) و نانوذره اکسید روی (تهیه‌شده از آزمایشگاه شیمی دانشگاه مراغه با اندازه حدود ۴۰ نانومتر، خلوص بالای ۹۹ درصد و چگالی ۵/۶ گرم بر سانتی‌متر مکعب) در غلظت‌های صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شدند. برای افزایش حلالیت اکسیدهای فلزی در آب، سوسپانسیون‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه التراسونیک و دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

و Maehly (۱۹۵۵) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر H_2O_2 (۷۰ میلی‌مولار)، ۷۵۰ میکرولیتر گایاکول (۱۰ میلی‌مولار) و عصاره پروتئینی خام بود. فعالیت GPX در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی معادل $26/6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ در محاسبه فعالیت آنزیم در نظر گرفته شد. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برحسب تعداد واحدهای آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه گزارش گردید (U/mg prot. min).

تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS Version 19 انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد مشخص شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2016 رسم شدند.

نتایج و بحث

داده‌های جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر تیمار اکسید روی و نانوذره روی بر طول اندام هوایی و ریشه، تعداد گل‌آذین و وزن خشک اندام هوایی در سطح ۵ درصد و بر طول گل‌آذین و وزن خشک ریشه در سطح ۱ درصد، معنی‌دار بود.

نتایج جدول ۳ نشان داد که تیمار برگ‌گی اکسید روی در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم و تیمار نانوذره اکسید روی در سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار در طول (ارتفاع) اندام هوایی ریحان نسبت به گیاهان شاهد شد و بقیه تیمارها اثر معنی‌دار بر طول اندام هوایی نداشتند. در حالیکه طول ریشه در همه تیمارهای اعمال‌شده (غیر از سطح ۲۵ میلی‌گرم اکسید روی) نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (جدول ۳).

طول گل‌آذین در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم اکسید روی و همه سطوح نانوذره، دارای افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد بود (جدول ۳)، اما تعداد گل‌آذین در بوته تنها در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم نانوذره افزایش معنی‌دار در مقایسه با گونه‌های شاهد داشت. در مورد وزن خشک اندام هوایی، تیمار اکسید روی در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم و تیمار نانوذره در همه سطوح، باعث

نمونه‌های عصاره آنزیمی با یک میلی‌لیتر معرف بردفورد ۲۰٪ (V/V) مخلوط شد و بعد از پنج دقیقه میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده گردید. غلظت پروتئین محلول نمونه‌ها با رسم منحنی استاندارد (با استفاده از غلظت‌های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی) محاسبه شد (Bradford, 1976).

فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Aebi (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد. به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز، ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی را به مخلوط واکنشی شامل ۲۵۰ میکرولیتر از فسفات پتاسیم به‌همراه ۲۵۰ میکرولیتر H_2O_2 (۷۰ میلی‌مولار) و آب مقطر افزوده و منحنی فعالیت آنزیم در مدت ۱۸۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر خوانده شد (ضریب خاموشی معادل $39/4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). واحد آنزیمی از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$\text{enzyme activity (U)} = \frac{\Delta A \times l \times v_t \times d_f}{\epsilon \times l \times v_t \times v_s}$$

که در رابطه بالا، U واحد آنزیمی، ΔA تفاوت میزان جذب مخلوط واکنش در زمان شروع و پایان واکنش، V_t حجم مخلوط واکنش (در این آزمایش برابر ۳ میلی‌لیتر بود)، d_f فاکتور رقیق‌کننده (۵۰)، t مدت زمان واکنش (۱۸۰ ثانیه)، V_s حجم نمونه (در این آزمایش برابر ۲۰ میکرولیتر بود)، ϵ ضریب خاموشی، l طول مسیر عبور نور از مخلوط واکنش (برابر یک) است. فعالیت آنزیم کاتالاز برحسب تعداد واحدهای آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه گزارش گردید (U/mg prot. min).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Nakano و Asada (۱۹۸۷) اندازه‌گیری گردید. ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به ۸۵۰ میکرولیتر آسکوربات (۰/۵ میلی‌مولار) به‌همراه ۱۵۰ میکرولیتر H_2O_2 (۲ میلی‌مولار) افزوده شده و فعالیت آنزیم در مدت ۱۸۰ ثانیه در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. واحد آنزیمی براساس میزان تجزیه‌شدن H_2O_2 و از طریق رابطه ذکرشده در بالا (رابطه ۱) تعیین گردید (ضریب خاموشی معادل $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر حسب تعداد واحدهای آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه گزارش گردید (U/mg prot. Min).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) به روش Chance

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات طول اندام هوایی و ریشه، طول و تعداد گل آذین و وزن خشک اندام هوایی و ریشه ریحان

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول اندام هوایی	طول ریشه	طول گل آذین	تعداد گل آذین	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه
تیمار	۶	۱۴/۱*	۲۲/۶*	۳/۷**	۰/۰۳۶*	۵/۳*	۰/۰۴۱**
خطا	۱۴	۱/۷۵	۲۴/۷۵	۳/۶۳	۰/۰۱۲	۰/۶۹	۰/۰۶۶
ضریب تغییرات (%)		۳/۱۵	۹/۲۰	۷/۷۰	۱۰/۹۰	۱۶/۴۵	۱۶/۲۲

* : معنی دار در سطح ۵ درصد؛ ** : معنی دار در سطح ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات رشدی ریحان تحت تیمار سطوح مختلف اکسید روی و نانوذره اکسید روی

تیمار	ارتفاع اندام هوایی (سانتی متر)	طول ریشه (سانتی متر)	طول گل آذین (سانتی متر)	تعداد گل آذین	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
شاهد	۳۹/۶ ± ۱/۸ ^d	۲۰/۱ ± ۰/۶ ^d	۱/۶ ± ۰/۲ ^d	۰/۹ ± ۰/۰۶ ^b	۳/۱ ± ۰/۲ ^d	۱/۳ ± ۰/۸ ^c
اکسید روی ۲۵	۴۰/۲ ± ۳/۵ ^{cd}	۲۲/۹ ± ۲/۴ ^{cd}	۱/۷ ± ۰/۲ ^d	۰/۹ ± ۰/۰۵ ^b	۳/۹ ± ۰/۳ ^{cd}	۱/۶ ± ۱/۶ ^c
اکسید روی ۵۰	۴۰/۴ ± ۴/۰ ^{cd}	۲۴/۰ ± ۲/۵ ^{bc}	۲/۴ ± ۰/۵ ^{cd}	۰/۹ ± ۰/۰۵ ^b	۴/۳ ± ۰/۵ ^{cd}	۱/۸ ± ۰/۴ ^c
اکسید روی ۱۰۰	۴۲/۵ ± ۲/۴ ^{bc}	۲۶/۲ ± ۱/۵ ^{abc}	۳/۱ ± ۰/۷ ^{bc}	۱/۰ ± ۰/۱۴ ^{ab}	۵/۸ ± ۰/۱ ^{ab}	۲/۴ ± ۰/۸ ^{ab}
نانوذره روی ۲۵	۴۱/۵ ± ۳/۵ ^{bcd}	۲۴/۵ ± ۱/۳ ^{bc}	۲/۸ ± ۰/۱ ^{bc}	۰/۹ ± ۰/۰۶ ^b	۵/۰ ± ۰/۶ ^{bc}	۱/۹ ± ۰/۴ ^b
نانوذره روی ۵۰	۴۳/۰ ± ۱/۵ ^b	۲۷/۴ ± ۱/۱ ^{ab}	۳/۵ ± ۰/۷ ^b	۱/۰ ± ۰/۱۷ ^{ab}	۶/۲ ± ۰/۲ ^{ab}	۲/۵ ± ۰/۳ ^a
نانوذره روی ۱۰۰	۴۵/۹ ± ۲/۷ ^a	۲۸/۱ ± ۲/۷ ^a	۴/۸ ± ۰/۵ ^a	۱/۲ ± ۰/۱۵ ^a	۶/۸ ± ۰/۲ ^a	۲/۷ ± ۰/۵ ^a

ارقام، میانگین سه تکرار ± SE هستند. حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) می باشد.

غلطت اکسید روی و نانوذره روی، تقریباً مقدار همه شاخص‌های رشدی افزایش یافتند، هر چند که این افزایش مقدار شاخص از یک سطح تیمار به سطح بعدی در مورد برخی شاخص‌ها معنی دار و در مورد برخی شاخص‌ها غیر معنی دار بود (جدول ۳).

طبق مطالعه Elhidi و همکاران (۲۰۱۶) کاربرد برگی روی در ریحان شیرین باعث افزایش معنی دار در ارتفاع گیاه، وزن خشک بوته، تعداد برگ، سطح برگ و طول گل آذین نسبت به شاهد شد. در تحقیقی دیگر، Nasiri و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که کاربرد روی موجب افزایش ۴۶ درصد عملکرد گل بابونه آلمانی می شود و دلیل آن افزایش تعداد و اندازه گل است. آنها بیان کردند که روی در ساختار آنزیم‌هایی که ساخت تریپتوفان را بر عهده دارند، دخیل است و این ماده

افزایش معنی دار شاخص رشدی مورد نظر نسبت به شاهد شدند، ولی سایر تیمارها تأثیر معنی دار بر وزن خشک اندام هوایی نداشتند (جدول ۳). تیمار اکسید روی در سطح ۱۰۰ میلی گرم و تیمار نانوذره روی در همه سطوح، وزن خشک ریشه را نسبت به گیاهان شاهد افزایش دادند (جدول ۳).

در مورد همه شاخص‌های رشدی مطالعه شده، بیشترین مقدار شاخص مورد نظر در سطح ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره روی و کمترین مقدار شاخص رشدی در گیاهان شاهد مشاهده شد (جدول ۳)، بطوریکه ارتفاع اندام هوایی ۱۶ درصد، طول ریشه ۲۸ درصد، طول گل آذین ۱۹۰ درصد، تعداد گل آذین ۳۳ درصد، وزن خشک اندام هوایی ۱۰۷ درصد و وزن خشک ریشه ۱۱۹ درصد تحت تیمار نانوذره در سطح ۱۰۰ میلی گرم، نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان دادند. همچنین با افزایش

مواد لیپوفیل قابلیت انتشار بیشتری دارد، قادر می‌سازد تا از سطح برگ عبور کرده و یون‌های روی را از طریق کوتیکول (دارای اسید چرب) آزاد کند (Singh et al., 2018).

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد که اثر تیمار روی بر پروتئین اندام هوایی و ریشه و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز اندام هوایی و ریشه در گیاه ریحان در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود.

داده‌های جدول ۵ نشان داد که میزان پروتئین محلول اندام هوایی و ریشه در همه سطوح اکسید روی و نانوذره اکسید روی نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار یافتند. بیشترین مقدار پروتئین محلول اندام هوایی با ۹۶ درصد افزایش و پروتئین محلول ریشه با ۱۷۰ درصد افزایش نسبت به شاهد، در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم نانوذره اندازه‌گیری شدند. این داده‌ها مشابه نتایجی است که توسط El-kerety و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه ریحان شیرین با افزایش غلظت نانوذره روی مشاهده شد و علت این امر را نقش عنصر روی در ساختار آنزیم‌های دخیل در بیوستز برخی اسید آمینه‌های موجود در ساختمان پروتئین‌ها مانند تریپتوفان و آسپارژین بیان کردند.

داده‌های مربوط به میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در جدول ۵ مشخص شده‌اند. اطلاعات مربوط به این جدول نشان داد که هر سه آنزیم آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) و در هر دو بخش گیاه یعنی اندام هوایی و ریشه، تحت تأثیر تیمارهای اعمال‌شده در همه سطوح، قرار گرفتند و کاربرد غلظت‌های مختلف اکسید روی و نانوذره روی در هر سطح تیمار، باعث افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم‌های مذکور نسبت به سطح قبلی شد (جدول ۵). بالاترین مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره روی دیده شد به‌طوری‌که تحت تیمار مذکور میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز اندام هوایی ۶۷ درصد، کاتالاز ریشه ۸۶ درصد، آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی ۸۳ درصد، آسکوربات پراکسیداز ریشه ۷۲ درصد، گایاکول پراکسیداز اندام هوایی ۷۷ درصد و گایاکول پراکسیداز ریشه ۷۸ درصد افزایش فعالیت در مقایسه با گیاهان شاهد

پیش‌نیاز تولید اکسین است که سبب تولید دانه کرده می‌شود. روی همچنین سبب افزایش تولید اتیلن می‌شود که این هورمون نیز سبب گلدهی می‌شود. کاربرد برگی روی سبب افزایش وزن تر برگ، ارتفاع اندام هوایی و میزان کلروفیل در دو رقم انگور در شرایط تنش آبی و نیز شرایط بدون تنش شد (Sabir and Sari, 2019). با توجه به نتایج مطالعات قبلی، افزایش رشد و زیست‌توده گیاه با مصرف ریزمغذی روی را به دلایل مختلفی از جمله افزایش بیوستز اکسین در حضور عنصر روی، افزایش آنزیم کربونیک انهدراز که در همه بافت‌های فتوستیزی حضور دارد و برای بیوستز کلروفیل مورد نیاز است، بهبود عملکرد فتوسیستم‌های نوری، افزایش فعالیت فسفوانول پیرووات کربوکسیلاز و ریبولوز فسفات کربوکسیلاز، کاهش میزان سدیم در بافت‌های گیاهی و افزایش جذب نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن و مس در حضور عنصر روی، می‌توان ربط داد (محمودسلطانی و همکاران، ۱۳۹۹؛ El-Kerety et al., 2013).

همچنین در تحقیق حاضر، اثر تیمار نانوذره در افزایش پارامترهای رشدی بیشتر از تیمار اکسید روی در اکثر سطوح بود. در گیاه بابونه گاوی با افزایش غلظت نانوذره اکسید روی افزایش معنی‌دار در وزن تر و خشک کل گیاه و نیز تعداد شاخه‌های جانبی مشاهده شد (Shahhoseini et al., 2020). بر طبق مشاهدات Hassanpouraghdam و همکاران (۲۰۱۹)، محلول‌پاشی برگی نانوذره روی اثر مثبت افزایشی بر زیست‌توده و کلروفیل کل گیاه رزماری در شرایط بدون تنش و نیز تنش شوری داشت. در طی تحقیقی مشابه تأثیر نانوذره اکسید روی بر ارتفاع بوته، طول ریشه، سطح ریشه و گره‌های ریشه گیاه ماش بارزتر از اثر اکسید روی معمولی بود (Raliya et al., 2016). در آزمایش مشابه دیگر، کاربرد برگی نانوذره روی باعث افزایش معنی‌دار در میزان وزن تر و خشک ساقه، برگ و ریشه در گیاه قهوه نسبت به کاربرد برگی سولفات روی و گیاهان شاهد شد (Rossi et al., 2019). اندازه کوچک، قابلیت حل‌شدن آسان، بالابودن سطح تماس و ماهیت قابل توزیع نانوذرات، نه تنها انتقال آن‌ها را از طریق مسیرهای اپوپلاستی و سمپلاستی تسهیل می‌کند، بلکه نانوذره را که در

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس پروتئین اندام هوایی و ریشه و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندام هوایی و ریشه ریحان

منابع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین اندام هوایی	پروتئین ریشه	کاتالاز اندام هوایی	کاتالاز ریشه	آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی	آسکوربات پراکسیداز ریشه	گایاکول پراکسیداز اندام هوایی	گایاکول پراکسیداز ریشه
تیمار	۶	۳۲/۷۰**	۴۶/۲۰**	۴۹/۳۱**	۶۲/۹**	۷/۷۲**	۶/۲۵**	۵۶/۵۰**	۵۱/۷۱**
خطا	۱۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۸	۰/۰۲۱	۰/۰۰۹	۰/۰۱۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۶
ضریب تغییرات (%)		۰/۴	۰/۷۰	۰/۶۰	۰/۴۴	۶/۹۷	۲/۰۷	۰/۲۳	۰/۳۷

* : معنی‌دار در سطح ۵ درصد؛ ** : معنی‌دار در سطح ۱ درصد

جدول ۵- مقایسه میانگین پروتئین اندام هوایی و ریشه و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندام هوایی و ریشه ریحان تحت تیمار اکسید روی و نانوذره اکسید روی

تیمار	پروتئین اندام هوایی (mg/g FW)	پروتئین ریشه (mg/g FW)	کاتالاز اندام هوایی (U/mg prot. min)	کاتالاز ریشه (U/mg prot. min)
شاهد	۹/۷۶ ± ۰/۰۷ ^g	۶/۵۷ ± ۰/۱۳ ^g	۱۷/۳۴ ± ۰/۲۷ ^g	۱۴/۰۵ ± ۰/۰۵ ^g
اکسید روی ۲۵	۱۲/۲۳ ± ۰/۱۲ ^f	۹/۲۹ ± ۰/۱۷ ^f	۲۱/۷۶ ± ۰/۱۳ ^f	۱۶/۷۰ ± ۰/۲۰ ^f
اکسید روی ۵۰	۱۳/۱۹ ± ۰/۰۳ ^e	۱۰/۴۲ ± ۰/۰۶ ^e	۲۲/۷۳ ± ۰/۰۶ ^e	۱۸/۴۶ ± ۰/۰۸ ^e
اکسید روی ۱۰۰	۱۶/۲۳ ± ۰/۰۲ ^c	۱۴/۵۲ ± ۰/۰۴ ^c	۲۶/۳۹ ± ۰/۰۶ ^c	۲۳/۵۷ ± ۰/۰۷ ^c
نانوذره روی ۲۵	۱۵/۱۱ ± ۰/۰۱ ^d	۱۳/۲۳ ± ۰/۰۳ ^d	۲۵/۶۹ ± ۰/۲۰ ^d	۲۲/۱۸ ± ۰/۰۳ ^d
نانوذره روی ۵۰	۱۷/۹۴ ± ۰/۰۳ ^b	۱۵/۷۰ ± ۰/۰۱ ^b	۲۷/۸۱ ± ۰/۰۹ ^b	۲۵/۱۸ ± ۰/۰۶ ^b
نانوذره روی ۱۰۰	۱۹/۱۳ ± ۰/۰۴ ^a	۱۷/۷۷ ± ۰/۰۶ ^a	۲۹/۰۷ ± ۰/۰۶ ^a	۲۶/۲۱ ± ۰/۰۲ ^a

ارقام، میانگین سه تکرار \pm SE هستند. حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) می‌باشد.

ادامه جدول ۵-

تیمار	آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی (U/mg prot. min)	آسکوربات پراکسیداز ریشه (U/mg prot. min)	گایاکول پراکسیداز اندام هوایی (U/mg prot. min)	گایاکول پراکسیداز ریشه (U/mg prot. min)
شاهد	۰/۳۶ ± ۰/۰۵ ^f	۰/۳۱ ± ۰/۰۱ ^g	۱۵/۹۶ ± ۰/۰۷ ^g	۱۴/۴۲ ± ۰/۰۶ ^g
اکسید روی ۲۵	۰/۶۱ ± ۰/۰۱ ^e	۰/۶۲ ± ۰/۰۲ ^f	۱۹/۳۹ ± ۰/۰۷ ^f	۱۶/۱۵ ± ۰/۱۴ ^f
اکسید روی ۵۰	۰/۸۴ ± ۰/۰۲ ^e	۰/۷۳ ± ۰/۰۱ ^e	۲۱/۲۱ ± ۰/۰۶ ^e	۱۸/۸۴ ± ۰/۰۵ ^e
اکسید روی ۱۰۰	۲/۱۰ ± ۰/۰۱ ^c	۱/۹۹ ± ۰/۰۱ ^c	۲۵/۲۹ ± ۰/۰۱ ^c	۲۲/۶۷ ± ۰/۰۶ ^c
نانوذره روی ۲۵	۱/۶۳ ± ۰/۰۳ ^d	۱/۱۷ ± ۰/۰۵ ^d	۲۴/۸۶ ± ۰/۰۶ ^d	۲۱/۳۸ ± ۰/۰۳ ^d
نانوذره روی ۵۰	۳/۵۴ ± ۰/۰۵ ^b	۳/۲۶ ± ۰/۰۴ ^b	۲۶/۱۸ ± ۰/۰۵ ^b	۲۴/۰۹ ± ۰/۰۸ ^b
نانوذره روی ۱۰۰	۴/۶۴ ± ۰/۰۱ ^a	۴/۰۸ ± ۰/۰۷ ^a	۲۸/۳۲ ± ۰/۰۴ ^a	۲۵/۶۵ ± ۰/۰۶ ^a

ارقام، میانگین سه تکرار \pm SE هستند. حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) می‌باشد.

پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در اندامک‌های همه سلول‌های گیاهی وجود دارند، بطوریکه فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند در اثر تولید رادیکال‌های آزاد، افزایش و از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد، کاهش یابد. اگرچه عنصر روی برای بسیاری از فرآیندهای متابولیکی سلول عنصر مهمی است اما غلظت زیاد آن فتوسنتز را مختل کرده و تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند بطوریکه افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در اثر تیمار نانوذره روی در گیاه پیاز مشخص شده است (Kumari et al., 2009). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که غلظت نانوذرات و نوع گونه گیاهی نقش مهمی در تعیین سمیت دارند چنانکه ذرات نانو باعث سیگنالینگ کلسیم و گونه‌های فعال اکسیژن در سطح سلول همراه با تغییرات فیزیولوژیکی پیچیده در سطح ارگانسیم می‌شوند (Sosan et al., 2016). نتایج آزمایش ما به همراه نتایج آزمایشات قبلی مؤید این نکته است که افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند پاسخ دفاعی گیاه برای افزایش رادیکال‌های آزاد ناشی از افزایش غلظت روی در گیاه باشد، هرچند که گیاه توانسته این اثر منفی را با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جبران کرده و رشد و زیست‌توده خود را بهبود ببخشد.

در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد برگی اکسید روی معمولی و نانوذره اکسید روی باعث افزایش برخی صفات رشدی و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه ریحان شد و اثر نانوذره اکسید روی در بهبود رشد و بالا بردن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بیشتر از فرم معمولی اکسید روی بود. این اثر می‌تواند ناشی از نسبت سطح به حجم بیشتر و نیز قابلیت جذب و انتقال بیشتر نانوذره در مقایسه با فرم غیرنانو باشد. مطالعات بیشتر برای درک دقیق سازوکار تأثیر کودهای نانو و روش مناسب همراه با کارایی بالا برای کاربرد آنها در اهداف کشاورزی پایدار، مورد نیاز است.

داشتند (جدول ۵). با توجه به پژوهش Hanif و همکاران (۲۰۱۷)، کاربرد خاکی کود روی باعث افزایش در محتوای آنتی‌اکسیدانی کل ریحان شد. در تحقیقی دیگر در دو رقم ذرت فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اثر تیمار اکسید روی و نانوذره روی نسبت به شاهد افزایش یافت و این افزایش فعالیت آنزیم در گیاهان تحت تیمار نانوذره بیشتر از گیاهان تحت تیمار اکسید روی بود (فتحی و همکاران، ۱۳۹۴). در آزمایش مشابه، کاربرد برگی نانوذره اکسید روی، باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاه ذرت شد (Rizwan et al., 2019). مشاهدات نوجوان و همکاران (۱۳۹۴) مشخص کرد که محلول‌پاشی روی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز ساقه گیاه انگور داشت و بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تیمار ۱ گرم بر لیتر سولفات روی وجود داشت. دلیل این امر را با نقش عنصر روی در ساختمان برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و جذب بیشتر فرم نانوذره و در نتیجه افزایش فعالیت این آنزیم می‌توان بیان کرد. قرارگرفتن سلول‌ها در برابر گونه‌های اکسیژن فعال یا رادیکال‌های آزاد (که عمدتاً در اثر مواجهه با تنش‌های مختلف محیطی است و بخشی هم ناشی از متابولیسم طبیعی سلول است) منجر به پراکسیداسیون لیپید، تغییر ساختار غشای سلول‌ها، بازدارندگی رشد گیاه، نابودی ماکرومولکول‌های زیستی، نشت یون و درهم گسیختن رشته DNA می‌شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به همراه آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی در جمع‌آوری گونه‌های فعال اکسیژن نقش مهمی را ایفا می‌کنند. یک مولکول از کاتالاز قادر است در یک ثانیه یک میلیون مولکول H_2O_2 را به آب و اکسیژن تبدیل کند و وجود این آنزیم برای حذف H_2O_2 که در نتیجه تنفس نوری به وجود می‌آید، لازم و ضروری است (Liang et al., 2005). از طرف دیگر پراکسیدازهایی مانند آسکوربات

منابع

فتحی، ع.، زاهدی، م. و ترابیان، ش. (۱۳۹۴) ارزیابی اثر محلول‌پاشی اکسید روی به فرم معمول و نانوذرات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای پرولین در دو رقم *Zea mays L.* تحت تنش شوری. علوم گیاهان زراعی ایران ۴۶: ۲۶۶-۲۵۷.

- فلاحی، ع.، حسنی، ع. و سفیدکن، ف. (۱۳۹۵) اثر محلول‌پاشی منابع مختلف روی بر عملکرد و ویژگی‌های فیتوشیمیایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۲: ۷۵۷-۷۴۳.
- محمودسلطانی، ش.، اله‌قلی‌پور، م.، شکوری کتیگری، م.، پیکان، م.، شعبانزاده، ح.، عطار، ا.، طبالوندی ع. و کشتکار، ف. (۱۳۹۹) بررسی تأثیر کاربرد همزمان مصرف خاکی و محلول‌پاشی کود سولفات روی بر عملکرد، مقدار پروتئین دانه و محتوای روی در اندام‌های گیاه برنج در مراحل مختلف رشد. نشریه پژوهش‌های خاک ۳۴: ۳۲۸-۳۰۹.
- ملکوتی م. ج.، کشاورز پ. و کریمیان ن. (۱۳۸۷) روش جامع تشخیص و توصیه بهینه کود برای کشاورزی پایدار. مرکز نشر آثار علمی دانشگاه تربیت مدرس.
- نوجوان، س.، ناصری، ل. و حسن‌پور، ح. (۱۳۹۴) تأثیر محلول‌پاشی برگی سولفات پتاسیم و سولفات روی بر برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی انگور رقم بیدانه قرمز. فن‌آوری تولیدات گیاهی ۱۶: ۲۱۳-۱۹۵.
- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalase and peroxidase. In: *Methods in Enzymology* (eds. Colowick, S. P. and Kaplan, N. O.) Pp. 764-775. Academic Press, New York.
- Elhindi, K., Al-Suhaibani, N. A., El-Din, A. F. S., Yakout, S. M. and Al-Amri, S. M. (2016) Effect of foliar-applied iron and zinc on growth rate and essential oil in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under saline conditions. *Progress in Nutrition* 18: 288-298.
- El-Kerety, M. A., El-feky, S. A., Khater, M. S., Osman, Y. A. and El-sherbini, E. A. (2013) ZnO nanofertilizer and He Ne laser irradiation for promoting growth and yield of Sweet Basil plant. *Recent Patents on Food, Nutrition and Agriculture* 5: 169-181.
- Georgiadou, E. C., Kowalska, E., Patla, K., Kulbat, K., Smolińska, B., Leszczynska, J. and Fotopoulos, V. (2018) Influence of heavy metals (Ni, Cu, and Zn) on nitro-oxidative stress responses, proteome regulation and allergen production in Basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. *Frontiers in Plant Science* 9: 862.
- Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. (2002) Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tobacco cell. *Soil Science and Plant Nutrition* 48: 357-364.
- Hanif, M. A., Nawaz, H., Ayub, M. A., Tabassum, N., Kanwal, N., Rashid, N., Saleem, M. and Ahmad, M. (2017) Evaluation of the effects of Zinc on the chemical composition and biological activity of basil essential oil by using Raman spectroscopy. *Industrial Crops and Products* 96: 91-101.
- Hassanpourghdam, M. B., Mehrabani, L. V. and Tzortzakis, N. (2019) Foliar application of nano-zinc and iron affects physiological attributes of *rosmarinus officinalis* and *quietens nacl* salinity depression. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 20: 335-345.
- Jifon, J. L. (2018) Importance of zinc for arabica coffee and its effects on the chemical composition of raw grain and beverage quality. *Crop Sciences* 58: 1360-1370.
- Kannan, S. (2010) Foliar fertilization for sustainable crop production. In: *Genetic Engineering, Biofertilisation, Soil Quality and Organic Farming*. Springer 371-402.
- Kaya, C. and Higgs, D. (2002) Response of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) culture at low zinc. *Scientia Horticulture* 93: 53-64.
- Kumar, P., Rupesh Kumar, M., Kavitha, K., Jagadeesh, S. and Rawoof, K. H. (2012) Pharmacological actions of *Ocimum sanctum*. *Indian Perfumer* 1: 404-416.
- Kumari, M., Mukherjee, A. and Chandrasekaran, N. (2009) Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Science of Total Environment* 407: 5243-5246.
- Lacerda, J. S., Martinez, H. E., Pedrosa, A. W., Clemente, J. M., Santos, R. H., Oliveira, G. L. and Jifon, J. L. (2018) Importance of zinc for arabica coffee and its effects on the chemical composition of raw grain and beverage quality. *Crop Sciences* 58: 1360-1370.
- Liang, Y. C., Wong, J. W. C. and Long, W. (2005) Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. *Chemosphere* 58: 475-483.
- Marschner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plants. 2nd Ed. Academic Press Limited. Harcourt Brace and Company, Publishers, London.
- Moghimpour, Z., Sourestani, M. M., Ansari, N. A. and Ramezani, Z. (2017) The effect of foliar application of zinc on essential oil content and composition of holy Basil [*Ocimum sanctum*] at first and second harvests. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 20: 449-458.

- Nakano, Y. and Asada, K. (1987) Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology* 28: 131-140.
- Nasiri, Y., Zehtab-Salmasi, S., Nasrullahzadeh, S., Najafi, N. and Ghassemi- Golezani, K. (2010) Effects of foliar application of micronutrients (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of Chamomile (*Matricaria chamomilla*). *Journal Medicinal Plants Research* 4: 1733-1737.
- Omidbaigi, R. (2008) Production and processing of medicinal plants. *Astan'e Qods'e Razavi Publication* 3: 397.
- Raliya, R., Tarafdar, J. C. and Biswas, P. (2016) Enhancing the mobilization of native phosphorus in the mung bean rhizosphere using ZnO nanoparticles synthesized by soil fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64: 3111-3118.
- Ranjbar, M. and Shams, G. A. (2009) Using of nano technology. *Journal of Environment Green* 3: 29-34.
- Rizwan, M., Ali, S., ur Rehman, M. Z., Adrees, M., Arshad, M., Qayyum, M. F., Ali, L., Hussain, A., Chatha, S. A. S. and Imran, M. (2019) Alleviation of cadmium accumulation in maize (*Zea mays* L.) by foliar spray of zinc oxide nanoparticles and biochar to contaminated soil. *Environmental Pollution* 248: 358-367.
- Rossi, L., Fedenia, L. N., Sharifan, H., Ma, X. and Lombardini, L. (2019) Effects of foliar application of zinc sulfate and zinc nanoparticles in coffee (*Coffea arabica* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 135: 160-166.
- Sabir, A. and Sari, G. (2019) Zinc pulverization alleviates the adverse effect of water deficit on plant growth, yield and nutrient acquisition in grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae* 240: 61-67.
- Shahhoseini, R., Azizi, M., Asili, J., Moshtaghi, N. and Samiei, L. (2020) Effects of zinc oxide nanoelicitors on yield, secondary metabolites, zinc and iron absorption of Feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.). *Acta Physiologiae Plantarum* 42: 1-18.
- Singh, A., Singh, N. B., Afzal, S., Singh, T. and Hussain, I. (2018) Zinc oxide nanoparticles: A review of their biological synthesis antimicrobial activity uptake translocation and biotransformation in plants. *Journal of Materials Science* 53: 185-201.
- Sosan, A., Dimitri, S., Darya, S., Katsiaryna, T., Igor, S., Tracy, L., et al. (2016) Engineered silver nano particles are sensed at the plasma membrane and dramatically modify the physiology of *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant Journal* 85: 245-257.

Effect of leaf application of zinc oxide and zinc nanoparticle on growth and antioxidant enzyme activities in pharmaceutical plant basil (*Ocimum basilicum* L.)

Saleh Shahabivand ^{1,*}, Ahmad Aghaei ¹, Masoumeh Athari ¹, Yousef Nasiri ²

¹ Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Maragheh, Maragheh

² Department of Plant production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh

(Received: 25/07/2021, Accepted: 05/09/2021)

Abstract

Foliar application of micronutrient such as zinc is a quick and easy way to eliminate or reduce the deficiency of these nutrients in plants. In order to evaluate the effects of foliar application of ordinary and nanoparticles of zinc on the growth and antioxidant responses in medicinal plant basil (*Ocimum basilicum* L.), this research was conducted by complete randomized design with three replicates under greenhouse conditions. The treatments included four levels of zinc oxide (0, 25, 50, 100 mg.L⁻¹) and four levels of zinc oxide nanoparticles (0, 25, 50, 100 mg.L⁻¹). Results showed that under zinc oxide treatment at 100 mg/L, the shoot and root length, and the shoot and root dry weights were significantly increased, as compared with the control. The zinc nanoparticle treatment under different levels, especially at 100 mg.L⁻¹ had a significant increase on all growth parameters including shoot and root length, inflorescence number and length, and shoot and root dry weights in comparison to the control plants. By increasing concentration of both treatments (ordinary zinc and nano-zinc), the activities of antioxidant enzyme catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase were elevated. Minimum and maximum amounts of growth traits and antioxidant enzymes activities were observed in control and 100 mg.L⁻¹ zinc nanoparticle, respectively. The results from this study indicated positive and obvious effect of zinc oxide nanoparticle, compared to ordinary zinc oxide, on the growth and antioxidant enzyme activity in pharmaceutical plant basil.

Keywords: Antioxidant enzyme, Basil, Nanoparticle, Zinc fertilizer

Corresponding author, Email: shahabi@maragheh.ac.ir; aghaei2001@yahoo.com