

پتانسیل نانوذرات نقره سبز سنتز و شیمیایی در القای تنش اکسیداتیو در پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.)

زهرا اکبرنژاد سامانی^۱، منصوره شمیلی^{۱*} و فائزه ثمری^۲

^۱ گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، ^۳ گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه هرمزگان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۷/۰۷)

چکیده

با توجه به نرخ رو به رشد تولید و رهاسازی نانوذرات در طبیعت، نگرانی‌ها در خصوص احتمال سمیت و بروز آسیب اکسیداتیو بر زیست‌بوم گیاهی، قابل تأمل است. لذا پژوهش حاضر با هدف مقایسه شاخص‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی پیاز خوراکی تیمارشده با غلظت‌های مختلف دو نوع نانوذره نقره (سبز سنتز و شیمی سنتز) و بررسی امکان القای تنش اکسیداتیو توسط آنها صورت گرفت. در این پژوهش تغییر رنگ عصاره برگ از زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تیره، به دلیل رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات نقره، نشان‌دهنده سنتز موفقیت‌آمیز نانوذرات نقره بود. همچنین طیف جذبی نانوذرات نقره سنتز شده سبز، دارای پیکی با طول‌موج ماکزیمم ۴۱۰ نانومتر بود. تصاویر TEM نشان داد ذرات سنتز شده توسط عصاره برگ سپستان دارای اندازه یکنواخت، تقریباً کروی شکل و دارای اندازه‌های ۱۰-۳ نانومتر با اندازه متوسط ۵/۸ نانومتر هستند. الگوی پراش XRD تشکیل ساختار کریستالی نانوذرات نقره سنتز شده را تأیید کرد. بنا به نتایج، هر دو آنزیم آنتی‌اکسیدان روند افزایشی خطی در مواجهه با نانوذره شیمیایی داشتند. هر دو نانوذره افزایش در میزان مالون دآلدئید را باعث شدند، اما نانوذره سبز سنتز اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت. بیشترین محتوای فنل کل به نانوذره شیمیایی (۱۵/۱۶ mg galic g⁻¹ FW در غلظت ۰/۰۵ گرم بر لیتر) و کمترین میزان به تیمار شاهد (۴/۱ mg galic g⁻¹ FW) اختصاص داشت. نانوذره شیمیایی تقریباً ۸ برابر نانوذره سبز فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشت. بنا به نتایج پژوهش حاضر نانوذره سبز سنتز نه تنها تأثیر اکسیداتیو بر پیاز نداشت، بلکه در بعضی تأثیری محرک در برخی ویژگی‌ها مشاهده گردید. نانوذره شیمیایی اما، با ایجاد تنش اکسیداتیو، واکنش‌های دفاعی گیاه را برانگیخت، به علاوه این اثر بازدارنده وابسته به دوز بود.

واژه‌های کلیدی: تنش اکسیداتیو، توان آنتی‌اکسیدانی، سنتز سبز، فنل، نانوذرات نقره

مقدمه

سلول‌های گیاهی و سطح برگ در محدوده ۵ تا ۲۰ نانومتر و قطر منافذ موجود در ریشه فقط چند ده نانومتر است. به علاوه پلاسمودسماتها، از منافذ درون سلولی نانومقیاس (به‌طور متوسط به قطر ۵۰ تا ۶۰ نانومتر)، موجود در دیواره سلول‌های گیاهان هستند که موجب تسهیل نقل و انتقالات بین سلولی می‌شوند (Zambryski, 2004).

تولید، دستکاری و استفاده از نانوذرات، به دلیل قابلیت‌های ویژه و منحصر به فرد، به یکی از به روزترین بخش‌های پژوهشی در حوزه‌های مختلف علم تبدیل شده است. ساختارهایی در اندازه نانومتر، در بسیاری از جنبه‌های زیست گیاهی و فرآیندهای انتقال یونی و مولکولی دخیل هستند. قطر منافذ دیواره

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: shamili@ut.ac.ir

متابولیت‌های مؤثر فعال محلول در آب می‌توانند برای احیا یون‌های فلزی به نانوذرات و در نهایت به‌عنوان عوامل پوشش‌دهنده و پایدارکننده نانوذرات مورد استفاده قرار گیرند (Dubey *et al.*, 2010).

با وجود این اطلاعاتی اندک و گاهی متفاوت در رابطه با اثرات مثبت و منفی نانوذرات بر گیاهان موجود است. نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم افزایش وزن تر و خشک اسفناج را از طریق افزایش جذب نور، افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو (Lin and Xing, 2007) و در نهایت افزایش متابولیسم نیتروژن باعث گردیده است (Yang *et al.*, 2007). نانوذرات روی و مس در غلظت‌های مختلف، تفاوت‌های زیادی در رشد و همچنین بروز علائم سمیت در گیاهان تحت تیمار داشته‌اند (Prasad *et al.*, 2012; Monica and Cremonini, 2009; Lee *et al.*, 2008; Musante and White, 2012) که این آثار سمیت به شکل حضور پوشش و وضعیت تجمع نانوذرات بستگی داشته است (Barrena *et al.*, 2009).

وجود نگرانی از اثرات زیست محیطی نانوذرات، ضرورت پژوهش در خصوص احتمال سمیت، سیتوتوکسیسیته (Cytotoxicity) و ژینوتوکسیسیته (Genotoxicity) این ذرات را فراهم می‌سازد. از مهم‌ترین آزمایش‌های سنجش زیستی که به‌طور گسترده و معمول، بدین منظور مورداستفاده قرار می‌گیرند می‌توان به تست آلیوم (*Allium cepa*)، سنجش‌های بیوشیمیایی مرتبط با پراکسیداسیون غشا سلول، پروتئین، لیپیدها و البته ارزیابی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی اشاره کرد (Fatima and Ahmad, 2006; shams *et al.*, 2011). که خود مسیر برخی پژوهش‌ها را به این سو متوجه ساخته است. به‌عنوان مثال مطالعه سمیت و تنش اکسیداتیو احتمالی ناشی از نانوذرات نقره و یون نقره بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی مرتبط با اکسیداسیون پروتئین‌ها در سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای حاکی از آسیب اکسیداتیو بالا در جدا کشت‌های تحت تیمار با نانونقره بود (باقرزاده همایی و احسان‌پور، ۱۳۹۵). همچنین مطالعه تأثیر نانوذرات نقره بر شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک ریحان (*Ocimum basilicum* L.) نیز نشان‌دهنده نوعی ارتباط خطی معکوس بین

تولید نانوذرات از طریق واکنش‌های شیمیایی، فتوشیمیایی و فیزیکی شامل تجزیه حرارتی ترکیبات با کمک‌گرفتن از پرتوها، روش‌های الکتروشیمیایی، سونوشیمیایی و پردازش با امواج میکرو صورت می‌گیرد. اگر چه روش‌های شیمیایی و فیزیکی ممکن است نانوذرات خالص با ویژگی‌های تعریف‌شده تولید کنند اما از معایب عمده این روش‌ها میزان تولید پایین و استفاده از فشار، دما و انرژی‌های بالا در طی فرآیند واکنش بوده یا نیازمند دستگاه‌های پیچیده هستند. علاوه بر این، از معایب روش‌های شیمیایی، استفاده از مواد شیمیایی است که نقش عوامل احیایی و تثبیت‌کننده را ایفا می‌کنند و در طبیعت به‌صورت تجزیه نشده باقی مانده که در نهایت موجب آلودگی شیمیایی محیط زیست می‌شوند (Senapati *et al.*, 2012). به منظور تلاش برای دستیابی به روشی کم‌هزینه و سازگار با محیط زیست از پتانسیل مواد بیولوژیکی برای سنتز نانوذرات فلزی استفاده شده است (Dwivedi and Gopal, 2010). سنتز زیستی (سنتز سبز) شامل کاهش یون‌های فلزی با استفاده از عصاره یا توده بیولوژیکی به‌عنوان منبع کاهنده به صورت برون سلولی یا درون سلولی است (Veerasamy *et al.*, 2011).

در سنتز سبز نانوذرات از موجوداتی نظیر قارچ، باکتری (Kowshik *et al.*, 2005)، مخمر و اکتینومیسیت (Prasad *et al.*, 2012; Dubey *et al.*, 2010)، گیاهان و جلبک‌ها (Niemeyer and Mirkin, 2004). از بین مواد بیولوژیکی، استفاده از عصاره یا توده گیاه، به‌علت دسترسی آسان، سازگاری بیشتر با محیط زیست، تنوع و فراوانی بالا، عدم‌نیاز به شرایط پیچیده پرورش در تولید زیست توده، عدم‌نیاز به محیط‌های غذایی ویژه (برخلاف ریزجاندانان)، مقرون به صرفه‌بودن، غنی‌بودن از متابولیت‌های گوناگون مؤثر در فرایند کاهش، فرایند سنتز ساده تک مرحله‌ای و مناسب برای سنتز نانوذرات در مقیاس بزرگ، یکی از گزینه‌های پرمخاطب در سنتز زیستی نانوذرات به شمار می‌رود (Song and Kim, 2009). مواد و ترکیبات فعال زیستی در عصاره‌های گیاهان ازجمله فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها و

جهت خشک شدن به مدت یک هفته در دمای آزمایشگاه ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) و در شرایط سایه قرار داده شد. سپس بخش‌های خشک شده توسط آسیاب برقی (GRINDER:FM-808) پودر گردید. به منظور عصاره‌گیری، ۱۰ گرم از برگ پودر شده با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه (از دستگاه Pure Aqua, Inc, Pure 200RD)، همراه با همزن مغناطیسی، بر روی هات پلیت در حمام روغن (پارافین) به مدت ۳۰ دقیقه، تحت دمای ثابت ۸۰ درجه سانتی‌گراد رفلکس شد. عصاره حاصل پس از خنک شدن (۱۵ دقیقه)، ابتدا از کاغذ صافی معمولی و سپس از کاغذ صافی واتمن شماره یک (با قطر منافذ ۲۵ میکرون) گذرانیده شد. این عصاره تا زمان استفاده، در ظرف شیشه‌ای دردار و در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) به مدت یک هفته نگهداری شد.

سنتز سبز نانوذرات نقره (AgNPs) و جداسازی ذرات:

به منظور سنتز سبز نانوذرات نقره، ۲ میلی‌لیتر عصاره برگ سپستان با ۲۵ میلی‌لیتر محلول نیترات نقره ۷ میلی‌مولار (نمک نقره، نیترات مرک AgNO_3 با خلوص ۹۹٫۹۹٪ در آب دیونیزه) مخلوط شد. سپس با توجه به افزایش توان کاهندگی ملکول‌های گیاهی در pHهای بالاتر از ۷ (Samarı et al., 2018)، pH مخلوط حاصل با استفاده از سود ۰/۱ مولار به ۱۱ (که در تحقیق Samarı et al., 2018 به عنوان pH بهینه ذکر شده بود) رسانده و تحت همزدن مغناطیسی به مدت سه ساعت در دمای آزمایشگاه ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) قرار داده شد. با گذشت زمان، تغییر رنگ محلول از زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تیره حاکی از سنتز نانوذرات بود. به منظور جداسازی نانوذرات سنتز شده از محلول سنتزی و حذف بقایای عصاره گیاه واکنش نداده از سطح ذرات، محلول سنتز شده به مدت ۳۰ دقیقه در سرعت ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه (rpm)، سانتریفیوژ (مدل: 30k - 3، ساخت: آلمان) گردید. رسوب حاصل را دوباره در آب دیونیزه پراکنده و پروسه سانتریفیوژ تکرار شد تا ترکیبات و مولکول‌های آزاد را از نانوذرات فلزی کاملاً جدا کند. رسوب حاصل در دمای آزمایشگاه، به مدت یک هفته خشک و جهت ارزیابی‌های فیزیولوژیک مورد استفاده قرار گرفت.

رشد گیاه و غلظت نانوذره بود (یوسف‌زایی و همکاران، ۱۳۹۴). به علاوه، نانو دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های پایین (۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، باعث افزایش درصد جوانه‌زنی، وزن تر و خشک گیاهچه پیاز شد؛ اما غلظت‌های بالاتر (۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیشتر)، تأثیر معکوس داشت (Raskar and Laware, 2013). البته این نانوذره بر طول و تعداد ریشه در سوخ پیاز تأثیری نداشت (Klancnik et al., 2011).

با توجه به نرخ رو به رشد تولید و رها سازی نانوذرات در طبیعت (به شکل نانو کودها، نانو سموم و نانو حامل‌ها)، نگرانی‌ها در خصوص احتمال سمیت و بروز آسیب اکسیداتیو توسط نانوذرات (خواه شیمیایی، خواه سبز سنتز) بر زیست بوم گیاهی قابل تأمل است. از این رو مطالعه آثار سمیت این ذرات بر گیاهان مدل نظیر پیاز می‌تواند احتمال بروز خسارت به گیاه را در سطوح مورفولوژی، فیزیولوژی، بیوشیمیایی و یا ملکولی آشکار سازد. پژوهش حاضر با هدف مقایسه شاخص‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی پیاز خوراکی تیمار شده با غلظت‌های مختلف دو نوع نانوذره نقره (سبز سنتز و شیمی سنتز) و بررسی امکان القای تنش اکسیداتیو توسط آنها صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

مشخصات جغرافیایی محل انجام آزمایش: پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۶-۱۳۹۷ در آزمایشگاه‌های باغبانی دانشکده کشاورزی، آزمایشگاه شیمی دانشکده علوم پایه و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه هرمزگان و همچنین مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان صورت گرفت.

عصاره‌گیری از برگ گیاه سپستان:

برگ گیاه سپستان (*Cordia myxa* L.) از تیره Boraginaceae در پاییز ۱۳۹۶ از شهرستان رویدر واقع در استان هرمزگان (طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۶ دقیقه و عرض جغرافیایی ۶۰ درجه و ۳ دقیقه، ارتفاع ۵۰ متر از سطح دریا) جمع‌آوری شد. برگ‌های تازه پس از انتقال به آزمایشگاه، جهت ضد عفونی سطحی ابتدا با آب شهری و سپس دو مرتبه با آب مقطر شستشو داده و پس از آن

تأیید سنتز نانوذرات: نانوذرات نقره شیمیایی از نظر مورفولوژی و اندازه توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی TE-SCAN MIRA3 SEM ساخت کشور چک با انرژی الکترون‌های اولیه ۱۵ کیلوولت بررسی شد. همچنین جهت تأیید شکل، سایز و دامنه اندازه ذرات سنتز شده سبز از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل Zeiss-EM10C با ولتاژ شتاب‌دهنده ۸۰ کیلوولت ساخت کشور آلمان استفاده شد. تمام طیف‌های جذبی UV-Vis با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل ۴۸۰۲ شرکت UNICO، ساخت کشور چین مجهز به سل کوارتز ۱۰ میلی‌متر انجام شد. اندازه‌گیری پراش اشعه ایکس (XRD) توسط پراش پودر پیشرفته (BRUKER D8 XRD) ساخت کشور آلمان با تابش $\text{Cu-K}\alpha$ ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) انجام شد.

تهیه محلول‌های نانوذرات نقره (سبز و شیمیایی): نانوذره شیمیایی از شرکت نانو زیست فناوری ایرانیان تهیه شد. نانوذرات شیمیایی و سبز به‌طور جداگانه در آب مقطر ریخته و جهت همگن‌سازی به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک (SONICA® Ultrasonic Cleaners) قرار داده شدند. سپس محلول‌هایی با غلظت‌های (۰/۰۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۱۲، ۰/۰۰۶، ۰/۰۰۳ و صفر گرم در لیتر) از هر یک از نانوذرات تهیه و جهت تیمار جوانه‌زنی مورد استفاده قرار گرفت.

بدین منظور بذرهای پیاز (*Allium Red onion: Shirhesar* cepa L. پس از ضدعفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۰۴٪ (۳ دقیقه) و شستشو با آب مقطر (سه بار، هر بار به مدت ۱ دقیقه)، در ظرف حاوی محلول مورد نظر قرار گرفت و پس از ۳۰ دقیقه سه بار آبشویی با آب مقطر انجام شد. بذرهای سپس در پتری‌دیش‌های شیشه‌ای استریل (به قطر دهانه ۸ سانتی‌متر که با کاغذ صافی پوشانده شده بود) کشت شد، به‌طوری‌که هر پتری شامل ۱۰۰ بذر بود.

سنجش‌های بیوشیمیایی: جوانه‌زنی بذرهای در شرایط آزمایشگاه انجام شد. ۲۵ روز بعد از کاشت بذر زمانی که فرآیند جوانه‌زنی تثبیت شد سنجش‌های بیوشیمیایی به صورت زیر انجام گرفت.

تهیه عصاره آنزیمی، سنجش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز: پس از توزین ۰/۵ گرم ریشه با ترازوی حساس (مدل Sartorius) و هموژن‌کردن با ازت مایع، به آن مقدار یک میلی‌لیتر بافر استخراج (حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 7$ ، ۰/۰۳۷۲ گرم EDTA و یک گرم PVP) افزوده و سانتریفیوژ (۱۵ دقیقه ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد) شد. در نهایت از روشناور جهت تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز استفاده شد (Dhindsa et al., 1981). به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز، پس از افزودن ۳۳ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به یک میلی‌لیتر از محلول واکنش پراکسیداز (حاوی ۱۳ میلی‌مول گوایکول و ۵ میلی‌مول هیدروژن پراکسید و ۵۰ میلی‌مول بافر پتاسیم فسفات با pH برابر ۷)، جذب نوری عصاره‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر (با دستگاه اسپکتروفتومتر Cecil CE2501) خوانده شد (Chance and Maehly, 1995). جهت سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی با یک میلی‌لیتر بافر واکنش کاتالاز (حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH برابر ۷ و هیدروژن پراکسید ۱۵ میلی‌مولار) مخلوط شد. جذب نوری عصاره‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر خوانده شد (Dhindsa et al., 1981).

محتوای مالون دآلدئید (MDA)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) و فنل کل: به‌منظور سنجش میزان مالون دآلدئید، ۰/۱ گرم ریشه با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) ۱٪ در هاون چینی هموژن شد. سپس عصاره سانتریفیوژ (۱۰ هزار دور در دقیقه، ۵ دقیقه) شده و روشناور (۲۵۰ میکرولیتر) پس از افزودن ۱ ml MDA، (حاوی تری‌کلرو استیک اسید ۲۰٪ و تیوباربتوریک اسید ۵٪) به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نمونه سپس در یخ سرد قرار داده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. در نهایت جذب نوری عصاره‌ها در طول‌موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد (Alexieva et al., 2010). همچنین برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، ۰/۱ گرم ریشه با ۱۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ در هاون چینی ساییده و به مدت ۲۴ ساعت در

سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ گیاه سپستان: در این پژوهش تغییر رنگ عصاره برگ سپستان از زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تیره (تا سیاه)، به دلیل رزونانس پلاسمون سطحی به SPR (Surface plasmon resonance) نانوذرات نقره، نشان‌دهنده سنتز موفقیت‌آمیز نانوذرات نقره بوده که ناشی از برهمکنش عصاره گیاه و نمک نقره، احیای یون‌های نمک به نانوذرات نقره بوده و با نتایج پژوهشی دیگر همسو است (Roopan et al., 2013). اکسایش گروه‌های عاملی مانند هیدروکسیل، کربونیل، آلدئید اساس احیا یون‌های نقره و تولید نانوذرات نقره است (Kasthuri et al., 2009). در این پژوهش این فرایند در طول ۳ ساعت و در دمای اتاق صورت گرفت. به سرعت بالای این نوع از سنتز و عدم نیاز به دماهای بالا قبلاً نیز اشاره شده بود (Sivaraman et al., 2009).

اسپکتروسکوپی UV-Vis، یکی از گسترده‌ترین تکنیک‌ها برای توصیف ساختاری نانوذرات نقره است. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است طیف جذبی نانوذرات نقره سنتز شده، تولید پیکی با طول‌موج ماکزیمم ۴۱۰ نانومتر کرده که از مشخصات نانوذرات نقره است. مورفولوژی و اندازه نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از تصویر TEM تعیین و در شکل ۲ نشان داده شده است. تصاویر TEM نشان می‌دهد ذرات سنتز شده دارای اندازه یکنواخت، تقریباً کروی شکل و دارای اندازه‌های ۳-۱۰ نانومتر با اندازه متوسط ۵/۸ نانومتر هستند. برای تعیین و تأیید ساختار کریستالی نانوذرات، آنالیز XRD در مقادیر ۲θ در محدوده ۲۰-۸۰ درجه مورد استفاده قرار گرفت. الگوی XRD نانوذرات نقره سنتز شده سبز در شکل ۳ نشان داده شده است. آنالیز XRD الگوهای بازتاب برجسته‌ای را در مقادیر ۲θ برابر با ۳۸/۱۰، ۴۴/۲۵، ۶۴/۵۵ و ۷۷/۲۰ نشان می‌دهد، که نشان‌دهنده صفحات (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) مکعبی وجوه مرکز پر Face-centered cubic (FCC) نانوذرات نقره است (Samari et al., 2018). همچنین تصویر میکروسکوپ الکترونی تأییدی بر ابعاد نانو در ذره شیمیایی بود (شکل ۴).

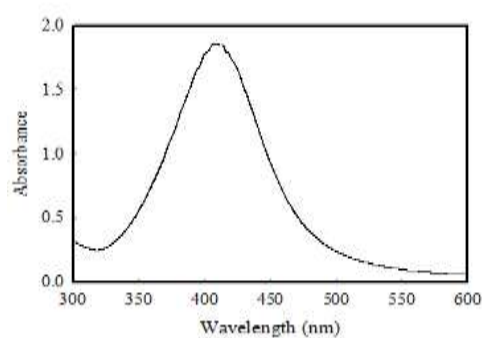
ارزیابی بیوشیمیایی، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و

تاریکی و دمای آزمایشگاه ($1 \pm 24^{\circ}\text{C}$) انکوبه شد. سپس عصاره‌ها سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه، ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) شد. بعد از افزودن ۴۰ میکرولیتر متانول، ۳۵۰ میکرولیتر DPPH (α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl) و ۱۵۵۰ میکرولیتر متانول ۸۰٪ به ۶۰۰ میکرولیتر از روشناور، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و شرایط تاریک نگه‌داری شد. در نهایت جذب نوری عصاره‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد (Brand et al., 1995). جهت سنجش محتوای فنل کل نیز حدود ۰/۱ گرم ریشه با ۱۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ در هاون چینی هموژن شد. عصاره حاصل سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه، ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) شد. به ۱۰ میکرولیتر از روشناور، ۴۹۰ میکرولیتر آب مقطر و ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین افزوده، سپس به مدت ۳ دقیقه در شرایط تاریکی قرار داده شد. پس از آن ۵۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات ۱٪ (یک گرم سدیم کربنات ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به هر نمونه افزوده و مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار داده شد. بعد از کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتر با محلول بلانک (متانول ۸۰٪)، جذب نوری عصاره‌ها در طول‌موج نانومتر ۷۶۵ خوانده شد (Spanos and Wrolstad, 1990).

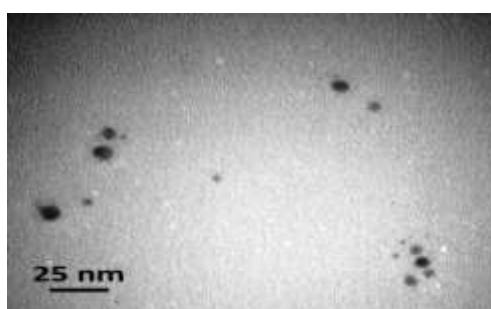
طراحی آزمایش و آنالیز داده‌ها: این آزمایش به صورت

فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. فاکتورها شامل نوع نانوذره (سبز سنتز و شیمیایی سنتز) و غلظت نانوذره (شش غلظت) و شش تکرار بود. بعد از تأیید نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگراف-اسمیرنوف، آنالیز واریانس چند متغیره با در نظر گرفتن نوع نانوذره (سبز سنتز و شیمیایی سنتز) و غلظت نانوذره (صفر، ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲، ۰/۲۵، ۰/۵ گرم در لیتر) به عنوان متغیرهای مستقل انجام شد. تست پیلائی (Pillai's trace test) هموزنی واریانس را تأیید کرد. آزمون توکی (Tukey) برای مقایسه میانگین انجام شد. آنالیزهای آماری با برنامه SAS (9.1.3) انجام شد. همچنین ترسیم تصاویر با کمک برنامه EXCEL 2013 انجام شد.

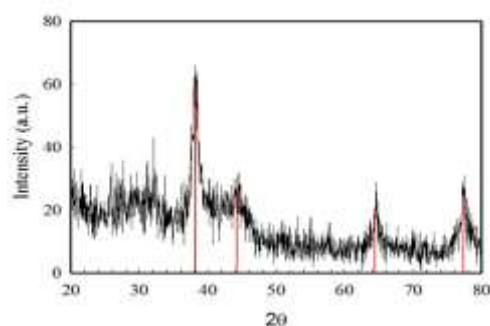
نتایج



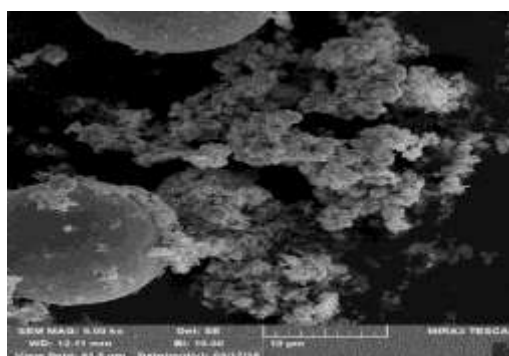
شکل ۱- طیف SPR نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره برگ سپستان



شکل ۲- تصویر TEM نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره برگ سپستان



شکل ۳- الگوی XRD نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره برگ سپستان



شکل ۴- تصویر نانوذره شیمیایی سنتز با میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی

جدول ۱- برهمکنش نوع و غلظت نانوذره نقره بر صفات فیزیولوژیک پیاز خوراکی

منابع تغییر	میانگین مربعات			
	کاتالاز	پراکسیداز	ظرفیت آنتی اکسیدانی	مالون دآلدئید
نوع نانوذره	۳۶۰۰/۶۵**	۵۴۰۸۵۳/۳۵**	۰/۰۱**	۰/۱۱*
غلظت نانوذره	۱۳۴۷۶/۸۰*	۴۰۹۶۵/۲۵*	۰/۰۰۲	۰/۰۳**
نوع نانوذره × غلظت نانوذره	۷۵۶۶/۱۰**	۳۸۷۱۹/۷۷*	۰/۰۱**	۰/۰۲۸**
خطا	۶۸۶/۰۳۳	۵۸۵۲/۷۱۸	۰/۰۰۳	۰/۰۲۳

* و ** معنی دار در سطح ۱ و ۵ درصد

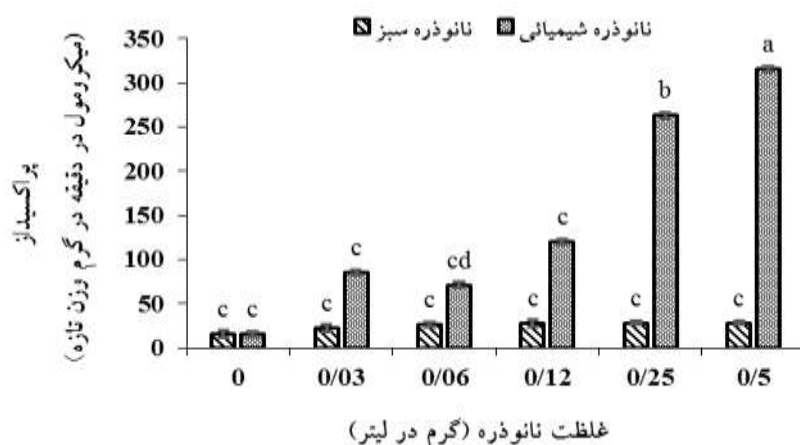
کاتالاز: بنا به نتایج، فعالیت هر دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز تحت تأثیر نوع و غلظت نانوذره قرار گرفت (جدول ۱). میزان هر دو آنزیم روند افزایشی خطی در مواجهه با نانوذره شیمیایی نشان داد. در مورد نانوذره سبز سنتز تفاوت معنی داری با شاهد مشاهده نشد. بیشترین فعالیت پراکسیداز و کاتالاز متعلق به تیمار ۰/۰۵ گرم در لیتر از نانوذره شیمیایی بود (به ترتیب ۳۱۵/۶۲ و ۵۱/۴۵ $\mu\text{mol min}^{-1}\text{g}^{-1}\text{FW}$) (شکل های ۵ و ۶).

تولید تنظیم شده رادیکال های آزاد در ارگانسیم ها حفظ چرخه هوموستازی اکسیداسیون و احیا را به همراه دارد؛ وجود بیش از حد ذرات فلزی (به فرم نانو یا بالک) نیز رادیکال های آزاد و سوپراکسید تولید می کند. استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و واکنش های متابولیسمی منجر به آسیب به لیپیدها، پروتئین ها و نوکلئیک اسیدها می گردد. سلول نیز در مقابل جهت جلوگیری از آسیب وارده، فعال سازی مجموعه ای از آنزیم های آنتی اکسیدانی را در اولویت سازوکار فیزیولوژیک خود قرار می دهد؛ همچنین مولکول های آنتی اکسیدانی، اقدام به جاروب کردن رادیکال های آزاد می کنند (Shams et al., 2011). افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز و پراکسیداز در مواجهه گیاهان با نانوذرات فلزی شیمیایی (Singh et al., 2013; Krishnaraj et al., 2012). همسو با نتایج تیمار نانوذره شیمیایی در پژوهش حاضر است.

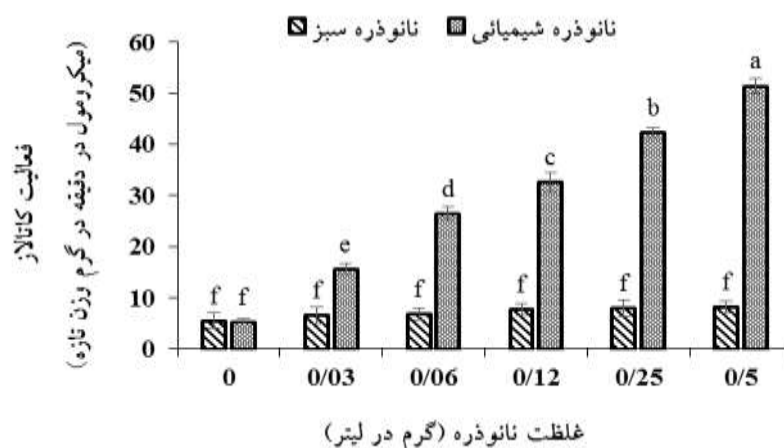
مالون دآلدئید، ظرفیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنل کل: صفت مالون دآلدئید تحت تأثیر نوع و غلظت نانوذره قرار گرفت (جدول ۱). کمترین محتوای مالون دآلدئید در تیمار

شاهد ($0.03 \text{ mg g}^{-1} \text{FW}$) مشاهده شد. هر دو نوع نانوذره افزایش در میزان مالون دآلدئید را باعث شدند، اما این افزایش در نانوذره سبز سنتز معنی دار نبود و اختلاف چندانی با شاهد نداشت. محتوای مالون دآلدئید با غلظت نانوذره شیمیایی رابطه ای خطی داشت و از $0.03 \text{ mg g}^{-1} \text{FW}$ در شاهد به $0.25 \text{ mg g}^{-1} \text{FW}$ در بالاترین سطح این تیمار رسید (شکل ۷). محتوای فنل کل نیز از نوع و غلظت نانوذره تأثیر پذیرفت. بیشترین محتوای فنل کل به نانوذره شیمیایی ($15.16 \text{ mg galic g}^{-1} \text{FW}$ در غلظت ۰/۰۵ گرم بر لیتر) و کمترین میزان به تیمار شاهد ($4.1 \text{ mg galic g}^{-1} \text{FW}$) اختصاص داشت (شکل ۸). میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیز تحت تأثیر نوع و غلظت نانوذره قرار گرفت (جدول ۱) این صفت بر اساس میزان سمیت ۵۰٪ نمونه ها (IC_{50}) و بر حسب میلی گرم در گرم وزن تر محاسبه شد. مقادیر این صفت از $10.67 \text{ (mg g}^{-1} \text{FW)}$ در شاهد روندی نزولی را در هر دو نوع نانوذره داشت. اما شیب کاهش یکسان نبود به طوریکه در نانوذره سبز در نهایت به $8.97 \text{ (mg g}^{-1} \text{FW)}$ رسید در حالیکه در نانوذره شیمیایی مقدار نهایی $1.01 \text{ mg g}^{-1} \text{FW}$ بود (شکل ۹). مقادیر بالاتر در صفت فعالیت آنتی اکسیدانی حاکی از سمیت کمتر در حالیکه مقادیر کمتر بیانگر شدت سمیت است. نانوذره شیمیایی در بالاترین سطح خود تقریباً ۸ برابر میزان مشابه از نانوذره سبز فعالیت آنتی اکسیدانی داشت. به عبارتی کاربرد این ذره هشت برابر ذره سبز احتمال بروز سمیت را القا خواهد کرد.

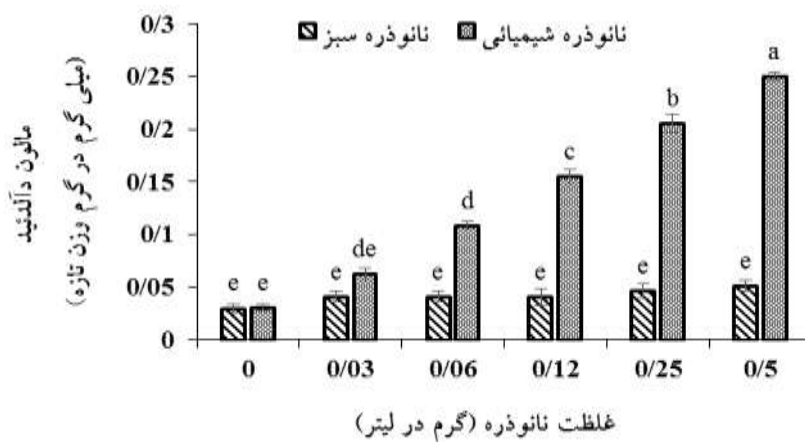
مطالعات نشان داده که نانوذرات نقره از طریق آزادسازی



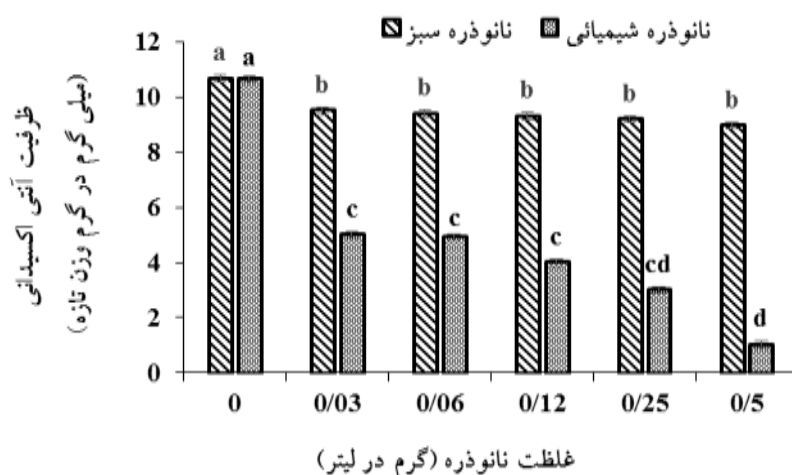
شکل ۵- اثر متقابل نوع و غلظت نانوذره بر فعالیت پراکسیداز در پیاز. مقادیر، میانگین شش تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با آزمون توکی در سطح پنج درصد است.



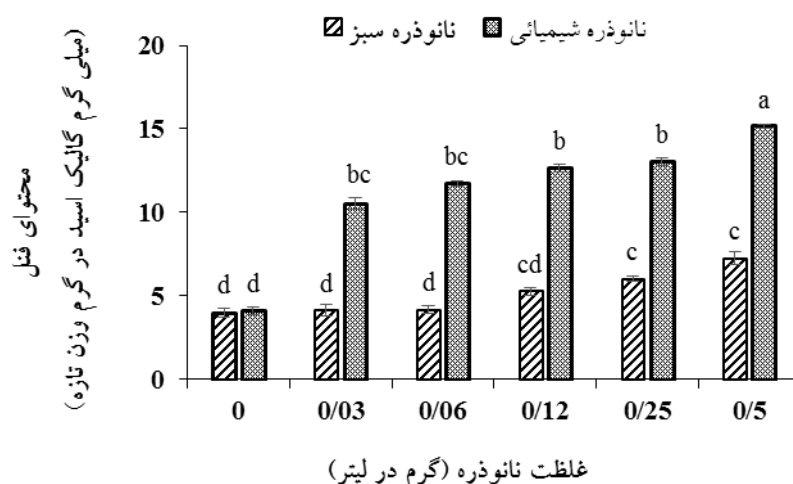
شکل ۶- اثر متقابل نوع و غلظت نانوذره بر فعالیت کاتالاز در پیاز. مقادیر، میانگین شش تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با آزمون توکی در سطح یک درصد است.



شکل ۷- اثر متقابل نوع و غلظت نانوذره بر مالون دآلدئید در پیاز. مقادیر، میانگین شش تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با آزمون توکی در سطح یک درصد است.



شکل ۸- اثر متقابل نوع و غلظت نانوذره بر ظرفیت آنتی اکسیدانی در پیاز. مقادیر، میانگین شش تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با آزمون توکی در سطح یک درصد است.



شکل ۹- اثر متقابل نوع و غلظت نانوذره بر محتوای فنل در پیاز. مقادیر، میانگین شش تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با آزمون توکی در سطح پنج درصد است.

تقویت یا از کاراندازی سیستم آنتی اکسیدانی از اثرات مخرب تنش اکسیداتیو کاسته یا مرگ برنامه ریزی شده سلول (Programed cell death) را باعث می شوند (Lei et al., 2008). به گزارش (Burman et al., 2013) نانوذرات ZnO باعث افزایش میزان گونه های فعال اکسیژن و محتوای مالون دالدئید به صورت خطی گردیده است. همچنین روند افزایشی در میزان فنل کل در گیاهان تیمار شده با نانوذرات فلزی قبلاً گزارش شده است (Singh et al., 2013). بنا به گزارشی توان آنتی اکسیدانی کل در جداگشت های سیب زمینی تحت تیمار

مطالعات نشان داده که نانوذرات نقره از طریق آزادسازی رادیکال های آزاد اکسیژن، باعث ایجاد مرگ برنامه ریزی شده (آپوپتوز) می شوند و اگر چه دیواره سلول گیاهی به مثابه یک سد از ورود عوامل خارجی جلوگیری می کند، نانوذرات به دلیل قطر کم شان می توانند به راحتی از منافذ دیواره عبور کرده و وارد فضای داخلی سلول و غشای پلاسمایی شوند (Moore, 2006). نانوذرات با اتصال به مولکول های فعال بیولوژیکی شامل پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک، از غشا سلول عبور می کنند. سپس نانوذرات (بسته به ماهیت ذره و غلظت آن)، با

نانوذرات نقره تفاوت معنی‌داری با تیمار کنترل نشان داد (باقرزاده همایی و احسان‌پور، ۱۳۹۵).

نتیجه‌گیری

در کشاورزی پایدار، کاربرد نانوکودها و محلول‌پاشی با نانوذرات یکی از گزینه‌های نویدبخش در راستای افزایش غذا برای جمعیت به سرعت در حال رشد جهان محسوب می‌گردد. مروری بر پژوهش‌ها دهه اخیر حاکی از آن است که سنتز سبز نانوذرات به‌عنوان فن سازگار با محیط زیست، با به حداقل رساندن و کاهش تولید مواد زائد خطرناک ناشی از سنتز شیمیایی و امکان بهره‌مندی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان، به‌تدریج جای خود را در تولید تجاری نانوذرات باز کرده و گزارش‌های متعددی در خصوص سنتز موفق نانوذرات از گیاهان موجود است. در پژوهش حاضر سنتز نانوذرات نقره با روش زیستی صورت گرفت و از گیاه سپستان نانو ذرات نقره با کمیت و پایداری مطلوب تولید شد.

تعداد زیادی از آزمایش‌های زیستی برای ارزیابی سمیت نسبی مواد شیمیایی موجود است که در طیف گسترده‌ای از موجودات و سلول‌ها، نحوه تغییرات را ارزیابی می‌کنند. با این حال، آزمایش واحدی وجود ندارد که بتواند آسیب‌های وارده از کلیه کلاس‌های ترکیبات شیمیایی پیچیده را شناسایی کند. آزمون جوانه‌زنی در گیاهانی نظیر پیاز، ابزاری حساس است که

منابع

باقرزاده همایی، م. و احسان‌پور، ع. (۱۳۹۵) القای اکسیداسیون پروتئین، فعالیت پروتئاز، تغییرات گروه‌های تیولی و آنتی‌اکسیدانتی کل در گیاه سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) توسط نانونقره و نیترات نقره در شرایط کشت در شیشه. مجله سلول و بافت ۲۴۱-۲۳۱:۷.

یوسف‌زایی، ف.، پوراکبر، ل. و فرهادی، خ. (۱۳۹۴) تأثیر نانو ذرات نقره بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.). مجله فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهی ایران ۲: ۶۳-۷۳.

- Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M. I., Kumar, R. and Sastry, M. (2005) Extra-intracellular, biosynthesis of gold nanoparticles by an alkalotolerant fungus, *Trichothecium*. *Journal of Biomedical Nanotechnology* 1: 47-53.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment* 24: 1337-1344.
- Barrena, R., Casals, E., Colon, J., Font, X., Sanchez, A. and Puentes, V. (2009) Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles. *Chemosphere* 75: 850-7.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995) Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 28: 25-30.

در مطالعات فیزیولوژی و سیتوژنتیک مورد استفاده قرار می‌گیرد. انجام این تست مقرون به‌صرفه و آسان بوده، ضمن اینکه حتی به غلظت‌های پایین سموم و ترکیبات شیمیایی حساس است. بنا به نتایج پژوهش حاضر نانوذره سبز سنتز نه تنها تأثیر اکسیداتیو بر پیاز نداشت بلکه در بعضی تأثیری محرک در برخی ویژگی‌ها مشاهده گردید و یا با تیمار شاهد اختلاف چندانی نداشت. نانوذره شیمیایی اما، با ایجاد تنش اکسیداتیو، واکنش‌های دفاعی گیاه را برانگیخت. به علاوه این اثر بازدارنده وابسته به دوز بود. لذا به‌عنوان نتیجه نهایی می‌توان اشاره کرد که سنتز ارزان و آسان نانوذرات از منابع گیاهی، در کنار مطالعه احتمال سیتوتوکسیسیتی و ژنوتوکسیسیتی ذرات سنتز شده، می‌تواند جایگزینی مناسب برای نانوذرات فلزی سنتز شده از مسیر شیمیایی باشد که قطعاً آثار زیانبار آنها بر ارگانسیم‌های زنده در آینده‌ای نه چندان دور گریبان‌گیر طبیعت و ساکنان آن خواهد شد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه هرمزگان به‌دلیل تأمین هزینه‌های پژوهش و آقای دکتر ابراهیم افتخار، رئیس مرکز تحقیقات پزشکی ملکولی خلیج فارس (دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان) و کارکنان این مرکز به‌دلیل تأمین برخی از تجهیزات مورد نیاز جهت اجرای پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

- Burman, U., Saini, M. and Kumar, P. (2013) Effect of zinc oxide nanoparticles on growth and antioxidant system of chickpea seedlings. *Toxicological and Environmental Chemistry* 95: 605-616.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1995) Assay of proxidases. *Methods Enzymol* 11: 755-764.
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T. (1981) Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 32: 93-101.
- Dubey, S., Lahtinen, M. and Sillanpaa, M. (2010) Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of *Rosa rugosa*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 364: 34-41.
- Fatima, R. A. and Ahmad, M. (2006) Genotoxicity of industrial wastewaters obtained from two different pollution sources in northern India: a comparison of three bioassays. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 609: 81-91.
- Kasthuri, J., Kathiravan, K. and Rajendiran, N. (2009) Phyllanthin-assisted synthesis of silver and gold nanoparticles: a novel biological approach. *Journal of Nanoparticle Research* 11: 1075-85-20.
- Klancnik, K., Drobne, D., Valant, J. and Dolenc, K. J. (2011) Use of a modified allium test with nanoTiO₂. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74: 85-92.
- Kowshik, M., Ashtaputre, S., Kharrazi, S., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S. K. and Paknikar, K. M. (2003) Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver- tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology* 14: 95-100.
- Krishnaraj, C., Jagan, E., Ramachandran, R., Abirami, S., Mohan, N. and Kalaichelvan, P. (2012) Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism. *Process Biochemistry* 47: 651-658.
- Lee, W. M., An, Y. J., Yoon, H. and Kweon, H. S. (2008) Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 27: 1915-1921.
- Lei, Z., Su, M. Y., Wu, X. C., Qu, C. X., Chen, L., Huang, H., Liu, X. Q. and Hong, F. S. (2008) Antioxidant stress is promoted by Nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-Beta radiation. *Biological Trace Element Research* 121: 69-79.
- Lin, D. and Xing, B. (2007) Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution* 150: 243-250.
- Monica, R. C. and Cremonini, R. (2009) Nanoparticles and higher plants. *Caryologia* 62: 161-165.
- Moore, M. N. (2006) Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environmental International Corporation* 32: 967-976.
- Musante, C. and White, J. C. (2012) Toxicity of silver and copper to *Cucurbita pepo*: differential effects of nano and bulk-size particles. *Environmental Toxicology* 27: 510-517.
- Niemeyer, C. M. (2004) *Nanobiotechnology: Concepts, Applications and Perspectives*. 1st Ed. John Wiley and Sons.
- Prasad, T. N. V. K. V., Kambala, V. S. R. and Naidu, R. (2012) Phyconanotechnology: synthesis of silver nanoparticles using brown marine algae *Cystophora moniliformis* and their characterization. *Journal of Applied Phycology* 25: 177-182.
- Raskar, S. V. and Laware, S. L. (2013) Effect of titanium dioxide nano particles on seed germination and germination indicws in onion. *Plant Sciences Feed* 3: 103-107.
- Roopan, S. M., Madhumitha, G., Rahuman, A., Kamaraj, C., Bharathi, A. and Surendra, T. V. (2013) Low-cost and eco-friendly phyto-synthesis of silver nanoparticles using *Cocos nucifera* coir extract and its larvicidal activity. *Industrial Crops and Products* 43: 631-635.
- Samari, F., Salehipoor, Hossein., Eftekhari, E. and Yousefinejad, S. (2018) Low-temperature biosynthesis of silver nanoparticles using mango leaf extract: catalytic effect, antioxidant properties, anticancer activity and application for colorimetric sensing. *New Journal of Chemistry* 42: 15905-15916.
- Senapati, S., Syde, A., Moez, S., Kumar, A. and Ahmah, A. (2012) Intracellular synthesis of gold nanoparticles using alga *Tetraselmis kochinensis*. *Materials Letters* 79: 116-118.
- Shams, T., Shazi, S., Maryam, U., Ghazi, A. D., Adel, M. A. and Masood, A. (2011) Genotoxicity testing and biomarker studies on surface waters: An overview of the techniques and their efficacies. *Journal of Environmental Science and Health* 29: 250-275.
- Singh, N. B., Amist, N. Y., Adav, K., Singh, D., Pandey, J. K. and Singh, S. C. (2013) Zinc oxide nanoparticles as fertilizer for the germination, growth and metabolism of vegetable crops. *Journal of Nanoengineering and Nanomanufacturing* 3: 353-364.
- Sivaraman, S. K., Elango, S. K. and Santhanam, V. (2009) A green protocol for room temperature synthesis of silver nanoparticles in seconds. *Current Science* 97: 1055-1059.
- Spanos, G. A. and Wrolstad, R. E. (1990) The Influence of processing and storage on the phenolic composition of thompson seedless grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38: 1565-1571.

- Veerasamy, R., Xin, T. Z., Gunasagaran, S., Xiang, T. F. W., Yang, E. F. C. and Jeyakumar, N. (2011) Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Journal of Saudi Chemical Society* 15: 113-120.
- Yang, F., Liu, C., Gao, F., Su, M., Wu, X., Zheng, L. and Yang, P. (2007) The improvement of spinach growth by nano-anatase TiO₂ treatment is related to nitrogen photoreduction. *Biological Trace Element Research* 119: 77-88.
- Zambryski, P. (2004) Cell-to-cell transport of proteins and fluorescent tracers via plasmodesmata during plant development. *Journal of Cell Biology* 162: 165-168.

The potential of green and chemical synthesized nano particles to induce oxidative stress in *Allium cepa* L.

Zahra akbarnejad-Samani¹, Mansoore Shamili^{1*} and Fayeze Samari²

¹ Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

² Department of Chemistry, Faculty of Scienc, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

(Received: 25/05/2019, Accepted: 20/08/2019)

Abstract

With respect to the rise rate of the production and release of nanoparticles in nature, it is important to note the possibility of toxicity and oxidative damage to the plant ecosystem. Hence, this research was aimed to compare the biochemical and anti-oxidative indices of Onion treated with different concentrations of two types of silver nanoparticles (green synthesis and chemical synthesis) and investigating the probability of oxidative stress induction. In this study, the color of the leaf extract turning from pale yellow to dark brown, due to surface plasmon resonance of silver nanoparticles, indicated the successful synthesis of silver nanoparticles. The absorption spectrum of the synthesized silver nanoparticles showed a peak with $\lambda_{\max}$ of 410 nm. TEM images revealed a uniform size of the synthesized particles, with almost spherical shape and the size range between 3 to 10 nm, with an average of 5.8 nm. XRD analysis revealed that the green synthesized silver nanoparticles were crystalline in nature. According to the results, both antioxidant enzymes represented linear increases in exposure to the chemical nanoparticles. Both nanoparticles caused increasing in lipid peroxidation, but the green synthesized nanoparticles had no significant difference compared with the control. The most phenol content belonged to chemical nano-silver (15.16 mg Gallic g⁻¹ FW at the concentration of 0.05 gr l⁻¹) and the least value to the control (4.1 mg Gallic g⁻¹ FW). The antioxidant activity of chemical nanoparticles was 8 times more than the green nanoparticles. According to the results of this research, green nanoparticles didn't have an oxidative effect on onion. However, some stimulus effects were revealed. It is worth noting that, the chemical nanoparticles, provoked plant defense reactions, by inducing oxidative stress, besides the inhibitory effect was dose-dependent.

Key words: Antioxidant capacity, Green synthesis, Oxidative stress, Phenol, Silver nanoparticles

Corresponding author, Email: shamili@ut.ac.ir