مقاله پژوهشی

# تأثیر نانوذره اکسید روی بر محتوای سولفورافان، خصوصیات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی گیاهچه‌های ازمک (*Lepidium draba*)

**مهشید قاضی‌زاده احسایی[۱]، علی ریاحی مدوار [۲،۳*]، الهام رضوان‌نژاد[۳] و فرشته جدید بنیاد[۱]**

[۱] گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، [۲] گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کوثر بجنورد، بجنورد، [۳] گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۲/۰۲)

**چکیده**

ازمک گیاهی دولپه از خانواده براسیکاسه و حاوی مقدار قابل‌توجهی گلوکوزینولات گلوکورافانین است که پس از هیدرولیز آنزیمی، سولفورافان تولید می‌کند. در این پژوهش، محتوای سولفورافان، خصوصیات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی گیاهچه‌های ازمک که به‌مدت هفت روز در حضور غلظت‌های مختلف (صفر (به‌عنوان شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) نانوذره اکسید روی رشد کرده بودند، مورد آنالیز قرار گرفتند. براساس نتایج، میزان جوانه‌زنی بذرها در حضور غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نسبت به نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود، به‌طوری‌که در حضور بالاترین غلظت نانوذره، میزان جوانه‌زنی حدود ۳۰ درصد کاهش نشان داد. طول ساقه و ریشه هماهنگ با افزایش غلظت نانوذره در محیط به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد کاهش نشان داد. به‌طوری‌که در بالاترین غلظت این ذره، طول ساقه و ریشه به‌ترتیب حدود ٦٠ و ٧٠ درصد کاهش نشان دادند. علاوه بر این، محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و فلاونوئید گیاهچه‌های تیمارشده با تمام غلظت‌های نانوذره به‌صورت معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد کاهش یافتند. در مقابل، نتایج نشان‌دهنده افزایش محتوای سولفورافان در گیاهچه‌های تیمارشده در حضور غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در مقایسه با نمونه شاهد است. فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش نشان داد، به‌طوری‌که در بالاترین غلظت، فعالیت آن بیش از سه برابر نمونه شاهد افزایش یافته بود. تأثیر مثبت این ذره همچنین بر میزان پروتئین‌های محلول (در تمامی غلظت‌ها) و محتوای آنتوسیانین (تا غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) نسبت به نمونه شاهد مشاهده گردید. علاوه بر این، میزان جذب یون روی در ریشه و ساقه گیاهچه‌های تیمارشده، هماهنگ با افزایش غلظت این ذره در محیط افزایش نشان داد. به‌طور کلی، با توجه به افزایش محتوای سولفورافان، آنتوسیانین و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز چنین به‌نظر می‌رسد که جذب این ذرات به سطح و یا تجمع آنها در گیاهچه‌ها منجر به تنش اکسیداتیو و درنتیجه کاهش رشد گیاه شده است. لذا پیشنهاد می‌شود، جهت بررسی مکانیسم دقیق تأثیر نانوذره اکسید روی بر این گیاه، سایر پارامترهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و ژنتیکی نیز باید مورد آنالیز قرار گیرند.

کلمات کلیدی: ازمک، نانوذره اکسید روی، سولفورافان، آنتوسیانین، کاتالاز

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Riahi.ali@gmail.com

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ] [ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

**مقدمه**

ازمک (*Lepidium draba* L.) گیاهی دولپه‌ای، با سیستم ریشه عمیق و متعلق به خانواده براسیکاسه است که توسط بذر و قطعات ریشه تکثیر می‌شود. این گیاه ویژه مناطق گرم و نواحی آفتاب‌گیر است و خاک‌هایی با بافت سنگین و حاصلخیز را ترجیح می‌دهد و می‌توان آن را به مقدار قابل‌توجهی در حاشیه زمین‌های بایر و جاده‌ها مشاهده کرد (King and Hill, 1966; Scurfield, 1962). این گیاه بومی جنوب غرب آسیا از جمله ایران و همچنین جنوب شرق اروپا است که به سایر نقاط جهان نیز گسترش پیدا کرده است (Jacobs, 2007).

اعضا این خانواده منابع استثنایی و غنی از متابولیت‌های ثانویه بنام گلوکوزینولات هستند که ساختار آنها از گلوکز و یک اسید آمینه مشتق می‌شود (Mithen, 2001). حضور این متابولیت‌ها در گیاهان سبب مقاومت آنها در برابر تنش‌های مختلف می‌شود (Hopkins *et al.*, 2009; Hirayama and Shinozaki, 2010). گلوکوزینولات‌ها در واکوئل ذخیره می‌شوند و آسیب سلول باعث می‌شود تا این متابولیت‌ها در معرض آنزیم میروزیناز (EC 3.2.3.1) قرار بگیرند. این آنزیم پیوند β-تیوگلوکوزیدی مولکول‌های گلوکوزینولات را شکسته و گلوکز و یک ترکیب حدواسط ناپایدار به نام آگلیکون تولید می‌کند. آگلیکون برحسب شرایط محیط و به صورت خودبخودی به ترکیبات مختلفی از قبیل تیوسیانات، نیتریل و ایزوتیوسیانات تبدیل می‌شود (Rask *et al.*, 2000).

ازمک به‌دلیل حضور دو گلوکوزینولات به‌طور عمده (گلوکورافانین و گلوکوسینالبین) به‌عنوان یک گیاه مطلوب برای استخراج گلوکورافانین که یک گلوکوزینولات آلیفاتیک و پیش‌ساز سولفورافان (۱ – ایزوتیوسیانات – ٤ – متیل سولفینیل بوتانت) است، مورد توجه قرار گرفته است (Fahey *et al.*, 2001). سولفورافان ویژگی‌های درمانی مختلفی از قبیل؛ آنتی‌اکسیدانی (Gao *et al.*, 2001; Yeh and Yen, 2009)، خواص پیشگیری و درمانی بر روی سرطان‌ها (Radonic *et al.*, 2011; Liang and Yuan, 2012) و خواص ضدباکتری (Fahey *et al.*, 2002) از خود نشان می‌دهد. مطالعات اخیر نشان داد است که بیشترین محتوای سولفورافان در گیاهچه‌های سه تا هفت روزه ازمک یافت می‌شود (Mohammadi *et al.*, 2014) و محتوای سولفورافان این گیاه تحت تیمار با یون روی (Mohammadi *et al.*, 2014)، یون آهن و مس (Aminizadeh *et al.*, 2014) نانو اکسید آهن ($Fe_3O_4$) و نانو اکسید مس (CuO) (Aminizadeh *et al.*, 2016)، گلوکز (Rezaee *et al.*, 2018) و همچنین تنش شوری (Jamshidi Goharrizi *et al.*, 2019) افزایش یافته است.

نانوذرات حاصل تجمع اتم‌ها یا مولکول‌هایی با ابعاد عملکردی کمتر از ۱۰۰ نانومتر هستند (Ball, 2002). از مهم‌ترین ویژگی‌های شناخته‌شده نانوذرات می‌توان به قابلیت تحرک توسط آب، جذب توسط گیاهان و انباشتگی در بافت‌های گیاهی و خاک (Corredor *et al.*, 2009; Ferry *et al.*, 2009) اشاره کرد. اغلب مطالعات کنونی بیانگر افزایش اثر سمیت نانو ذرات همزمان با کاهش اندازه و افزایش غلظت آنها است (Yang and Watts, 2005; Lee *et al.*, 2008). با بررسی درصد جوانه‌زنی و مهار رشد ریشه در گیاهان متعدد در حضور نانوذرات مختلف از قبیل روی (Zn)، اکسید روی (ZnO)، مس (Cu) و اکسید آلومینیوم ($Al_2O_3$) اثرات منفی این ذرات به اثبات رسیده است (Yang and Watts, 2005; Lee *et al.*, 2008; Lin and Xing, 2007). به‌عنوان مثال تیمار گیاه *Lolium perenne* با نانوذرات اکسید روی باعث کاهش قابل‌توجه بیومس و رشد ریشه گردید (Lin and Xing, 2008). در مطالعه دیگری، اثرات منفی نانوذرات پالادیوم (Pd) بر گیاه *Hordeum vulgare* اثبات شد (Battke *et al.*, 2008). همچنین بررسی اثر نانوذرات مس بر گیاهچه‌های *Phaseolus radiatus* و *Triticum aestivum* بیانگر اثر مهاری این ذرات بر رشد آنها بود (Lee *et al.*, 2008).

مکانیسم اصلی عملکرد نانوذرات هنوز شناخته نشده است، اما مطالعات مختلف در شرایط درون و خارج از شیشه نشان داده که آنها گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید می‌کنند که بر کلسیم درون سلولی، فعال‌نمودن فاکتورهای رونویسی و ایجاد تغییر در سیتوکینین‌ها نقش دارند. ROSها با آسیب

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

رساندن به DNA، تداخل با مسیر سیگنالینگ سلولی، تغییرات در روند رونویسی ژن‌ها می‌توانند به سلول‌ها آسیب وارد کنند (Buzea *et al.*, 2007; Nel *et al.*, 2006).

گیاهان در مقابله با ROSها، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با سازوکارهای آنزیمی و غیرآنزیمی را فعال می‌کنند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد اکسیژن را از بین ببرند (Inze and Montagu, 1995). در سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی، فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون S ترانسفراز و غیره موجب خنثی‌سازی رادیکال‌های اکسیژن در سلول‌ها می‌گردد (Choi *et al.*, 2004). سیستم دفاعی غیرآنزیمی در گیاهان شامل توکروفرول‌ها، آسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنلی از قبیل آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها است (Foyer and Noctor, 2011).

در حالت طبیعی بین مقدار تولید رادیکال‌های آزاد و میزان جاروب‌کردن آنها از سطح سلولی تعادلی وجود دارد که گیاه را در حالت نسبتاً پایدار نگه می‌دارد. اما تنش اکسیداتیو زمانی بروز می‌کند که میزان رادیکال‌ها در سلول از مقدار ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان تجاوز کند (Pandey *et al.*, 2002).

روی، یک عنصر کم‌مصرف ضروری برای رشد و نمو گیاهان است و در فعالیت برخی آنزیم‌ها، بیوسنتز کلروفیل و متابولیسم اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها و همچنین استحکام غشا نقش دارد (Madhava and Srestry, 2000). مقادیر خیلی کم یا زیاد این عنصر، باعث اختلال در فرآیندهای متابولیسمی و درنتیجه کاهش یا توقف رشد گیاهان می‌شود (Broadle *et al.*, 2007). مطالعات گذشته نشان می‌دهد که مقدار زیادی روی با افزایش تولید ROSها باعث استرس اکسیداتیو می‌شود (Marschner, 1995).

ZnO بعد از سیلیکا ($SiO_2$) و تیتانیا ($TiO_2$) یکی از پراستفاده‌ترین نانوذرات است (Lin and Xing, 2007) و در صنایع مختلف می‌تواند جانشین ماکرومولکول ZnO شود که به‌طور گسترده در صنایع لاستیک‌سازی، سلول‌های خورشیدی و محصولات آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ji and Ye, 2008).

در این تحقیق، اثر غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی بر محتوای سولفورافان، فلاونوئید، آنتوسیانین و رنگیزه‌های گیاهی (کلروفیل، کاروتنوئید) و همچنین فعالیت آنزیم کاتالاز، میزان پروتئین‌های محلول و خصوصیات مورفولوژیک گیاهچه‌های ازمک که به‌مدت هفت روز در معرض این ذره رشد کرد بودند مورد آنالیز قرار گرفتند.

## مواد و روش‌ها

**کشت بذرها و تیمار آنها**: بذرهای مورداستفاده در این تحقیق از گیاهان رشدیافته در اطراف شهر کرمان (۳۰ کیلومتری شرق کرمان، با آب و هوای گرم و خشک) در اواخر بهار و اوایل تابستان ۱۳۹۲جمع‌آوری گردیدند. بذرها پس از ضدعفونی شدند (۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد، سه مرتبه شستشو با آب‌مقطر استریل، یک دقیقه غوطه‌وری در الکل ۷۰ درصد و پنج مرتبه شستشو با آب‌مقطر استریل) در محیط‌کشت MS (Murashige and Skook, 1962) حاوی آگار ۰/۸ درصد (pH=۷) و غلظت‌های صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره اکسید روی در پتری‌دیش (قطر ۹ سانتی‌متر) کشت شدند. لازم به ذکر است که محیط‌کشت طبق پروتکل طراحی‌شده توسط Lee و همکاران (Lee *et al.*, 2008) تهیه شد تا نانوذرات پراکنش یکسانی را در محیط‌کشت داشته باشند. به این منظور سوسپانسیون‌هایی از غلظت‌های مختلف نانوذرات در آب‌مقطر استریل (pH۷±۰/۲) تهیه شد و به محیط‌کشت اضافه شد. نانوذرات با درصد خلوص ۹۹/۹٪ و میانگین قطر ٦۱ نانومتر، از شرکت MP هلند تهیه شد. سپس پتری‌دیش‌ها در انکوباتور با دمای ۲±۲۸ درجه سانتی‌گراد در تاریکی مطلق و با رطوبت نسبی ۵±۵۵ درصد قرار داده شدند. پس از گذشت دو روز، پتری‌دیش‌ها به ژرمیناتور با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و با رطوبت نسبی ٦۵-٦۰ درصد با دوره نوری ۱٦ ساعت روشنایی (۱۰۰۰۰ Lux) و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. پس از گذشت پنج روز، گیاهچه جمع‌آوری شده و بعد از شستشو با آب‌مقطر استریل و آبگیری، در داخل ازت مایع سریعاً منجمد شدند و به فریزر

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده منتقل شدند.

**اندازه‌گیری محتوای سولفورافان:** جهت اندازه‌گیری میزان تولید سولفورافان از روش Liang و همکاران (۲۰۰۶) استفاده شد. به‌منظور تهیه عصاره، ۰/۳ گرم از بافت تازه گیاهچه درون هاون سائیده شد و ۱ میلی‌لیتر آب اسیدی (pH=۵) به آن اضافه گردید. این محلول به درون فالکون ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و به‌مدت دو ساعت در حمام آب‌گرم با دمای ۲±۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از این مدت، ۵ میلی‌لیتر استونیتریل به آن اضافه و توسط دستگاه سونیکاتور (با استفاده از امواج فراصوت) به‌مدت ۳ دقیقه سونیکیت گردید تا بافت به اندازه کافی متلاشی و عصاره آن خارج شود. عصاره به‌دست آمده به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۰۰۰۰ در دمای اتاق سانتریفیوژ گردید. محلول رویی پس از عبور از فیلتر سر سرنگی ۰/۲ میکرومتر به فالکون دیگری منتقل گردید. سنجش محتوای سولفورافان با استفاده از دستگاه HPLC (1100 Series شرکت Agilent) در دمای اتاق انجام شد. در ابتدا محلول استاندارد سولفورافان به ستون C18 (۰/٤٦ × ۲۵ سانتی‌متر) دستگاه HPLC تزریق شد تا پیک استاندارد و زمان نگهداری نمونه در ستون مشخص گردد. به این منظور از یک حلال دو فازی شامل استونیتریل و آب به‌ترتیب به نسبت ۰/٤ و ۰/٦ استفاده شد. پیک حاصله به‌عنوان مرجع برای مقایسه با پیک‌های به‌دست آمده مورداستفاده قرار گرفت. برای شناسایی این ترکیب از طول‌موج ۲٥٤ نانومتر استفاده شد (Liang *et al.*, 2006).

**اندازه‌گیری خصوصیات مورفولوژیک، درصد جوانه‌زنی بذور:** به‌منظور بررسی اثر نانوذره اکسید روی بر درصد جوانه‌زنی بذرها، از روز دوم به بعد تعداد بذرهای جوانه‌زده شمارش شد. میزان جوانه‌زنی بر حسب درصد جوانه‌زنی در روز چهارم نسبت به نمونه شاهد محاسبه گردید. سپس درصد جوانه‌زنی از رابطه زیر محاسبه گردید (ریاحی مدوار و همکاران، ۱۳۹۳).

/ تعداد بذرهای جوانه‌زده) = درصد جوانه‌زنی در هر پتری ۱۰۰ × (تعداد بذر کل

**اندازه‌گیری طول ساقه و ریشه:** از گیاهچه‌های هفت روزه رشدکرده در حضور غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی برای اندازه‌گیری طول ساقه و ریشه استفاده شد. از هر تکرار تعداد هفت گیاهچه از محیط‌کشت جمع‌آوری شدند و بعد از شستشو با آب‌مقطر استریل، طول ریشه از یقه تا انتهای ریشه اصلی و طول ساقه از یقه تا جوانه انتهایی، با خط‌کش اندازه‌گیری و برحسب سانتی‌متر گزارش گردید (ریاحی مدوار و همکاران، ۱۳۹۳).

**سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید:** برای سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. بدین منظور، ۰/۱ گرم بافت تازه در ۵ میلی‌لیتر استن ۸۵٪ سائیده و پس از سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، جذب محلول رویی در طول‌موج‌های ٦٤٦/۸، ٦٦۳/۲ و ٤۷۰ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Carry-50 اندازه‌گیری شد و درنهایت غلظت رنگیزه‌ها از رابطه‌های زیر محاسبه گردید (Lichtenthaler,1987).

$$\text{Chlorophyll a} = (12/25 \times OD_{663.2nm} - 2/79 \times OD_{646.8nm})$$
$$\text{Chlorophyll b} = (21/21 \times OD_{646.8nm} - 5/1\ OD_{663.2nm})$$
$$\text{Total Chlorophyll} = \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b}$$
$$\text{Carotenoids} = ((1000 \times OD_{470nm} - 1/8 \times \text{Chlorophyll a} - 85/02 \times \text{Chlorophyll b})/198)$$

**سنجش محتوای فلاونوئید:** اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید براساس روش Krizek و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد. به‌طور خلاصه، ۰/۲ گرم بافت تازه در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اسیدی که شامل اتیل الکل: اسید کلریدریک با نسبت ۹۹: ۱به‌طور کامل سائیده شد و پس از سانتریفیوژ با دور rpm ۸۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه، محلول رویی به‌آرامی در حمام آب‌گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شد. میزان جذب محلول به‌دست آمده با دستگاه اسپکتروفتومتر در سه طول‌موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. از ضریب خاموشی $M^{-1}cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ برای محاسبه محتوای فلاونوئید استفاده شد و محتوای فلاونوئید نمونه‌ها برحسب $mg\ g^{-1}$ به‌صورت تجمعی گزارش گردید (Krizek *et al.*, 1998).

**سنجش محتوای آنتوسیانین:** جهت اندازه‌گیری محتوای

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

آنتوسیانین گیاهچه‌ها، از روش Krizek و همکاران (۱۹۹۳) استفاده شد. مقدار ۰/۱ گرم بافت گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی که شامل متانول: اسید کلریدریک با نسبت ۱:۹۹ به‌طور کامل ساییده شد. عصاره حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ٤۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و محلول رویی به‌عنوان منبع رنگدانه به‌مدت یک شب در تاریکی قرار گرفت. سپس توسط دستگاه اسپکتوفتومتر جذب آن در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. جهت محاسبه محتوای آنتوسیانین از ضریب خاموشی $M^{-1}\ cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ استفاده شد و محتوای آنتوسانین نمونه‌ها برحسب $mg\ g^{-1}$ گزارش گردید (Krizek *et al.*, 1993).

**عصاره‌گیری آنزیمی و سنجش مقدار پروتئین:** جهت عصاره‌گیری پروتئین‌های محلول، مقدار ۰/۵ گرم ساقه گیاه در بافر پتاسیم فسفات (۵۰ میلی‌مولار) با pH برابر ۵/۷ حاوی یک میلی‌مولار PMSF، حاوی یک میلی‌مولار EDTA و ۱٪ پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP) ساییده شد. مخلوط به‌دست آمده با دور rpm ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. از محلول رویی جهت اندازه‌گیری محتوای پروتئین محلول کل و بررسی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) مورد استفاده قرار گرفت (Nasiri-Bezenjani *et al.*, 2014). برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین‌های محلول در گیاه از روش برادفورد استفاده شد (Bradford, 1967).

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز:** سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT, EC 1.11.1.6) با استفاده از محاسبه کاهش جذب $H_2O_2$ در طول‌موج ۲٤۰ نانومتر و با روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۸۷ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH برابر ۷ و ۳۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار بود و با اضافه‌نمودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی واکنش شروع شد. محلول شاهد برای صفرکردن دستگاه اسپکتروفتومتر شامل مخلوط واکنش فاقد عصاره آنزیمی بود. میزان $H_2O_2$ موجود در مخلوط واکنش پس از یک دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی $M^{-1}\ cm^{-1}$ ٤۳/٦ و فرمول $A=\varepsilon bc$ محاسبه شد. فعالیت آنزیم به‌صورت واحد آنزیمی برحسب مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره در یک دقیقه محاسبه گردید. یک واحد آنزیمی کاتالاز، مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مول آب اکسیژنه را در یک دقیقه تجزیه می‌کند (Dhindsa *et al.*, 1981).

**تعیین میزان جذب روی:** به‌منظور اندازه‌گیری غلظت یون روی در ریشه و ساقه گیاهچه‌ها، مقدار ۰/۵ گرم بافت گیاهی خشک (به‌منظور خشک‌کردن نمونه‌ها، پس از جمع‌آوری گیاه و شستشو با آب‌مقطر استریل، نمونه‌ها به‌مدت ٤۸ ساعت در آون با دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند) را در ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به‌مدت ۲٤ ساعت قرار داده تا نمونه گیاهی به‌خوبی در اسید حل شود. در ادامه محلول به‌دست آمده را حرارت داده تا بخارات اسیدی آن خارج شوند. جهت اندازه‌گیری میزان روی جذب‌شده توسط گیاه، با دستگاه جذب اتمی (inductivity coupled plasma ICP mass spectrometry (SpectrAA 220 Varian) مورد استفاده قرار گرفت. جهت تعیین غلظت عنصر روی، ابتدا غلظت‌های محلول استاندارد را به دستگاه تزریق نموده و نمودار استاندارد مربوطه رسم شد (McGrath and Cunliffe, 1985).

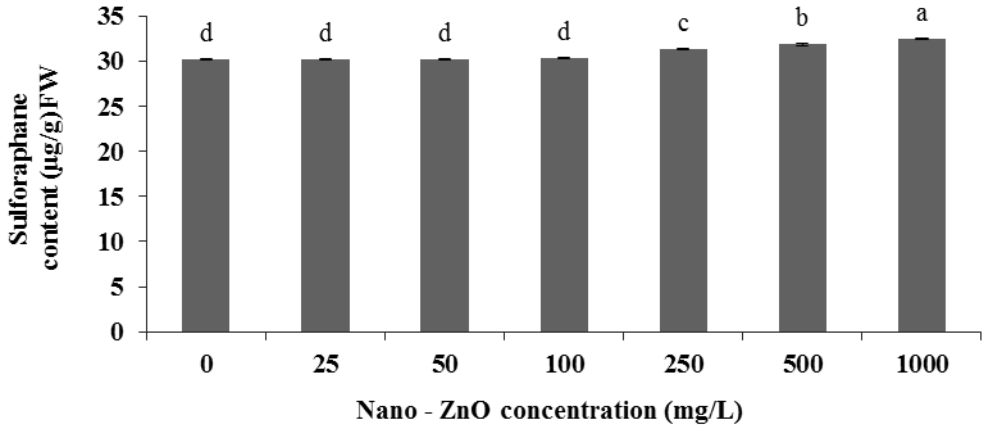
این پژوهش با سه تکرار مستقل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. میانگین داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.2 با استفاده از آنالیز واریانس و آزمون چند دامنه‌ای دانکن با درنظرگرفتن سطح اطمینان ۵٪ مورد تجزیه قرار گرفتند. برای رسم نمودارها، مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار Excel 2010 استفاده گردید.

## نتایج

**محتوای سولفورافان:** از استاندارد سولفورافان جهت تعیین زمان نگه‌داری نمونه در ستون و غلظت سولفورافان در گیاهچه‌های تیمارشده استفاده شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که محتوای سولفورافان گیاهچه‌های تیمارشده با نانوذره اکسید روی در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به نمونه شاهد به‌صورت معنی‌داری (در سطح پنج درصد) افزایش یافته است (شکل ۱).

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]




**شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی بر محتوای سولفورافان گیاهچه‌های هفت روزه ازمک. حرف‌های متفاوت در نمودارها، نشانه معنی‌داری در سطح پنج درصد با آزمون دانکن است.**

**جدول ۱- خصوصیات مورفولوژیکی گیاهچه‌های هفت روزه ازمک رشدکرده در حضور غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی**

| غلظت نانوذره اکسید روی (mg/L) | طول ساقه (cm) | طول ریشه (cm) | جوانه‌زنی بذرها (٪) |
|---|---|---|---|
| ۰ | ۰/٦٦ ± ۰/۰۲$^{a}$ | ۱/۵۱ ± ۰/۰۲$^{a}$ | ۷۸/۳۳ ± ٤/۵$^{a}$ |
| ۲۵ | ۰/٤۹ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۰/۹۹ ± ۰/۰۱$^{b}$ | ۷۱/۱٦ ± ۰/٤۸$^{ab}$ |
| ۵۰ | ۰/٤۲ ± ۰/۰۱$^{bc}$ | ۰/۹۳ ± ۰/۰۰۹$^{b}$ | ٦۹/۱٦ ± ۰/٤۸$^{a}$ |
| ۱۰۰ | ۰/۳۹ ± ۰/۰۱$^{cd}$ | ۰/۹۱ ± ۰/۰۰۷$^{b}$ | ٦۸/۳۳ ± ۱/۲۷$^{ab}$ |
| ۲۵۰ | ۰/۳۲ ± ۰/۰۱$^{de}$ | ۰/۷٦ ± ۰/۰۱$^{c}$ | ۵۹/۱٦ ± ۳/٤٦$^{b}$ |
| ۵۰۰ | ۰/۳ ± ۰/۰۰۸$^{e}$ | ۰/۵ ± ۰/۰۲$^{d}$ | ۵۵ ± ۰/٦۳$^{b}$ |
| ۱۰۰۰ | ۰/۲۷ ± ۰/۰۰۷$^{e}$ | ۰/٤۵ ± ۰/۰۲$^{d}$ | ۵۵ ± ۱/٦٦$^{b}$ |

**در هر ستون، حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح پنج درصد با آزمون دانکن است.**

**خصوصیات مورفولوژیکی:** همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، کاهش میزان جوانه‌زنی بذرها در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و بالاتر از آن نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار است. همچنین طول ریشه و ساقه گیاهچه‌های تیمارشده با نانوذره اکسید روی به‌صورت گرادیان با افزایش غلظت این ذره در محیط نسبت به نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است.

**محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی:** همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، محتوای کلروفیل‌های a، b، کل و کاروتنوئید در گیاهچه‌های هفت روزه *L. draba* با افزایش غلظت نانوذره اکسید روی در محیط کاهش معنی‌داری یافته است.

**محتوای فلاونوئید:** همان‌طور که در شکل ۲ قابل مشاهده است، در گیاهچه‌های تیمارشده با تمام غلظت‌های نانوذره اکسید روی، محتوای فلاونوئید در مقایسه با نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است.

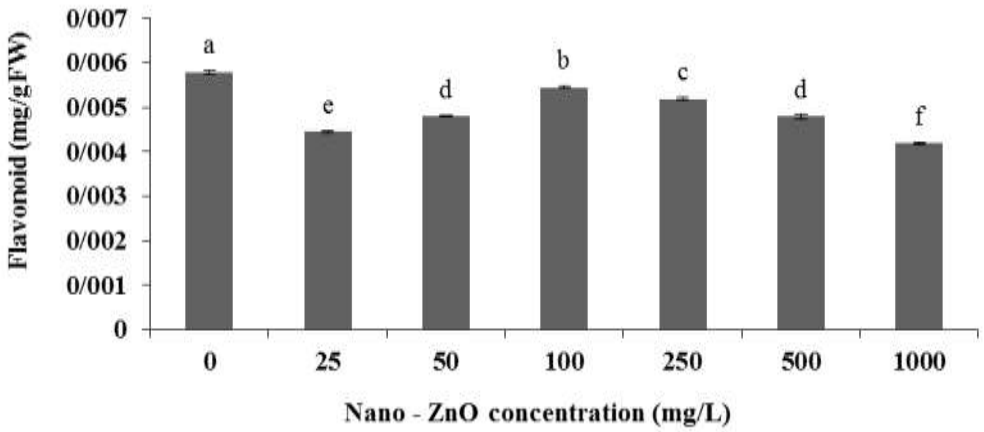
**محتوای آنتوسیانین:** محتوای آنتوسیانین گیاهچه‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی تا غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در مقایسه با نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است، این در حالی است که محتوای این متابولیت در حضور غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

**جدول ۲- محتوای کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در گیاهچه‌های ازمک تیمارشده با غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی**

| غلظت نانوذره اکسید روی (mg/L) | کاروتنوئید | کلروفیل کل | کلروفیل b | کلروفیل a |
|---|---|---|---|---|
| | ($mgg^{-1}_{FW}$) | | | |
| ۰ | ۰/۳۳ ± ۰/۰۰۱$^{a}$ | ۲/۳۷ ± ۰/۰۰۵$^{a}$ | ۰/۸۵ ± ۰/۰۰۲$^{a}$ | ۱/۵۲ ± ۰/۰۰۲$^{a}$ |
| ۲۵ | ۰/۲۹ ± ۰/۰۰۱$^{b}$ | ۱/۸٦ ± ۰/۰۰۱$^{b}$ | ۰/٦۹ ± ۰/۰۰۲$^{b}$ | ۱/۱۷ ± ۰/۰۰۲$^{b}$ |
| ۵۰ | ۰/۲۷ ± ۰/۰۰۱$^{c}$ | ۱/۷۱ ± ۰/۰۰٤$^{c}$ | ۰/٦۹ ± ۰/۰۰۵$^{b}$ | ۱/۰۱ ± ۰/۰۰۱$^{c}$ |
| ۱۰۰ | ۰/۲۳ ± ۰/۰۰۰۸$^{d}$ | ۱/۳٦ ± ۰/۰۰۱$^{d}$ | ۰/٤۸ ± ۰/۰۰۱$^{c}$ | ۰/۸۸ ± ۰/۰۰۱$^{d}$ |
| ۲۵۰ | ۰/۲۰ ± ۰/۰۰۰۹$^{e}$ | ۱/۳۲ ± ۰/۰۰۱$^{e}$ | ۰/٤۸ ± ۰/۰۰۱$^{c}$ | ۰/۸۷ ± ۰/۰۰۰۹$^{e}$ |
| ۵۰۰ | ۰/۲۰ ± ۰/۰۰۰۸$^{e}$ | ۱/۲۲ ± ۰/۰۰۲$^{f}$ | ۰/٤۵ ± ۰/۰۰۲$^{d}$ | ۰/۷٦ ± ۰/۰۰۱$^{f}$ |
| ۱۰۰۰ | ۰/۱۵ ± ۰/۰۰۰۲$^{f}$ | ۱/۱۱ ± ۰/۰۰۲$^{g}$ | ۰/۳۹ ± ۰/۰۰۱$^{e}$ | ۰/۷۱ ± ۰/۰۰۱$^{g}$ |

**در هر ستون حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح پنج درصد با آزمون دانکن است.**




**شکل ۲- محتوای فلاونوئید گیاهچه‌های ازمک تیمارشده با غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی. حرف‌های متفاوت در نمودارها، معنی‌داری در سطح پنج درصد با آزمون دانکن را نشان می‌دهند.**

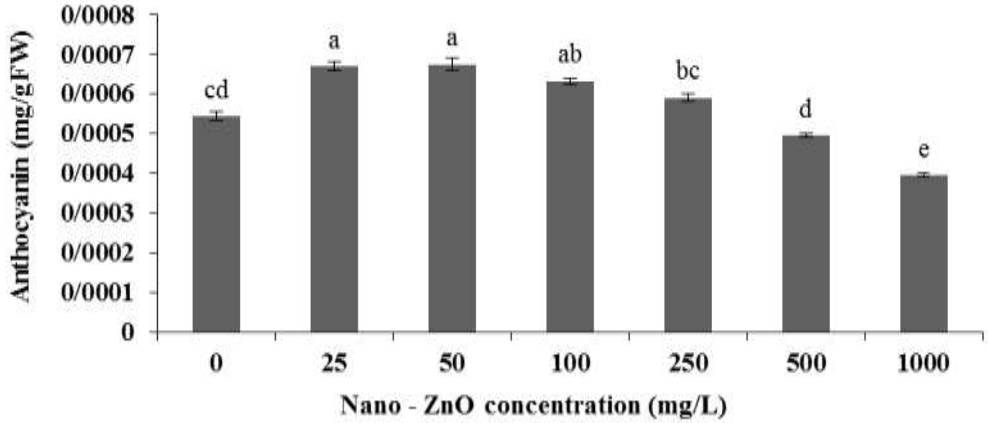
لیتر تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد با نمونه شاهد ندارد. در عین حال، در بالاترین غلظت نانوذره کاهش معنی‌داری محتوای آنتوسیانین مشاهده گردید (شکل ۳).

**فعالیت آنزیم کاتالاز:** فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های تیمارشده با نانوذره اکسید روی تا غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشابه نمونه شاهد و در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و بالاتر از آن در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. بیشترین فعالیت آنزیم مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است (شکل ٤).

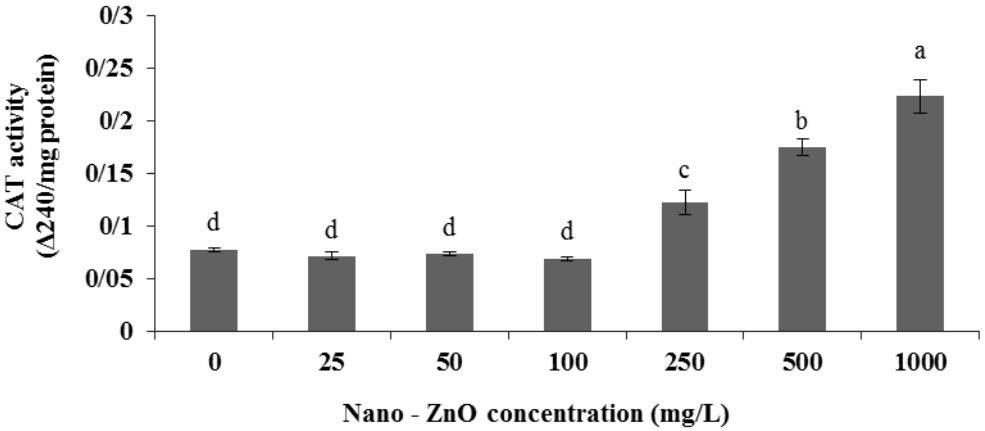
**محتوای پروتئین‌های محلول:** همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، غلظت پروتئین‌های محلول در گیاهچه‌های *L. draba* تیمارشده با غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است. افزایش محتوای پروتئین تا غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌طور گرادیان است و بیشترین محتوای پروتئین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده گردید. در عین حال، با افزایش بیشتر غلظت نانوذره در محیط، محتوای پروتئین محلول کاهش یافت.

**جذب یون روی در ریشه و ساقه گیاه:** همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت نانوذره اکسید روی

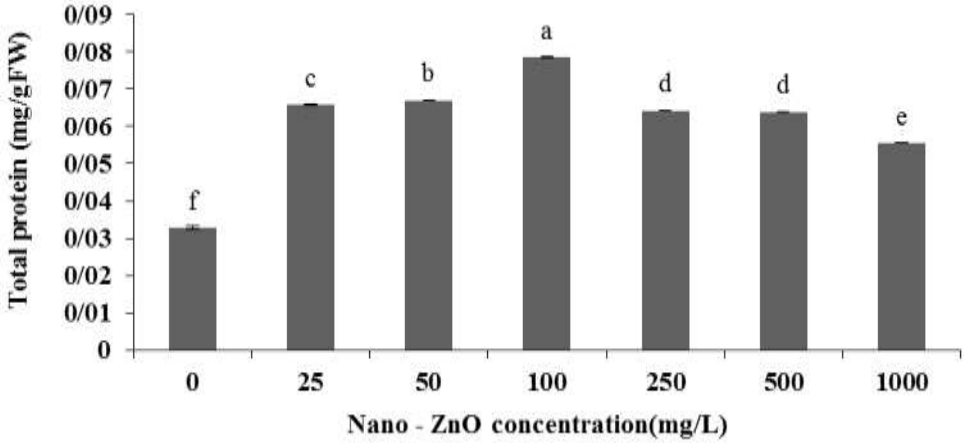
[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]




**شکل ۳- محتوای آنتوسیانین گیاهچه‌های ازمک تیمارشده با غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی. حرف‌های متفاوت در نمودارها، معنی‌داری در سطح پنج درصد با آزمون دانکن را نشان می‌دهند.**




**شکل ٤- فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های ازمک تیمارشده با غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی. حرف‌های متفاوت در نمودارها، معنی‌داری در سطح پنج درصد با آزمون دانکن را نشان می‌دهند.**




**شکل ۵- مقایسه غلظت پروتئین‌های محلول در گیاهچه‌های ازمک تیمارشده با غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی. حرف‌های متفاوت در نمودار، معنی‌داری را در سطح پنج درصد با آزمون دانکن نشان می‌دهند.**

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

**جدول ۳- میزان جذب روی توسط ساقه و ریشه در گیاهچه‌های ازمک تیمارشده با نانوذره اکسید روی**

| غلظت نانوذره اکسید روی (mg/L) | میزان جذب توسط ساقه (mg/g) | میزان جذب توسط ریشه (mg/g) |
|---|---|---|
| ۰ | ۰/۰۵ ± ۰/۰۰۰٦$^{e}$ | ۰/۰۳ ± ۰/۰۰۲$^{d}$ |
| ۲۵ | ۰/۲۸ ± ۰/۰۰۰۱$^{d}$ | ۱/۱٦ ± ۰/۰۲$^{c}$ |
| ۵۰ | ۰/۳٤ ± ۰/۰۰۰٦$^{c}$ | ۱/۱۷ ± ۰/۰۹$^{c}$ |
| ۱۰۰ | ۰/٤۵ ± ۰/۰۰۱$^{b}$ | ۱/۲٤ ± ۰/۰۰۲$^{c}$ |
| ۲۵۰ | ۰/۹۲ ± ۰/۰۰۲$^{a}$ | ۲/۱۲ ± ۰/۰۰۸$^{b}$ |
| ۵۰۰ | ۰/۹۱ ± ۰/۰۰۱$^{a}$ | ۲/۸۲ ± ۰/۰۲$^{a}$ |
| ۱۰۰۰ | ۰/۹۱ ± ۰/۰۰۵$^{a}$ | ۲/۷۲ ± ۰/۰۱$^{a}$ |

**در هر ستون حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح پنج درصد با آزمون دانکن است.**

در محیط، میزان جذب روی در ریشه و ساقه نسبت به نمونه شاهد بور معنی‌داری افزایش یافته است.

**بحث**

در این تحقیق، به‌منظور بررسی تأثیر نانوذره اکسید روی بر خصوصیات مورفولوژیکی گیاه ازمک، میزان جوانه‌زنی بذر و طول ریشه و ساقه این گیاه در گیاهچه‌هایی که به‌مدت هفت روز در حضور غلظت‌های مختلف این ذره رشد کرده بودند اندازه‌گیری شد. دو صفت میزان جوانه‌زنی و رشد ریشه به‌دلیل سادگی اندازه‌گیری و حساسیت بالا از مهم‌ترین صفاتی هستند که در بررسی تأثیر آلودگی‌ها بر روی گیاهان اندازه‌گیری می‌شوند (Munzuroglu and Geckil, 2002). همان‌طور که در جدول ۱ قابل مشاهده است رشد ریشه و همچنین ساقه هماهنگ با افزایش غلظت این ذره در محیط، به‌صورت معنی‌داری در مقایسه با نمونه شاهد کاهش می‌یابد. به‌طوری‌که در حضور بالاترین غلظت نانوذره، میزان کاهش رشد ریشه و ساقه نسبت به نمونه شاهد به‌ترتیب حدود ۷۰ و ٦۰ درصد محاسبه گردید. براساس نتایج گزارش‌شده در جدول ۱، کاهش معنی‌دار میزان جوانه‌زنی بذر این گیاه در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده می‌شود، به‌طوری‌که در حضور بالاترین غلظت این ذره میزان کاهش جوانه‌زنی بذر نسبت به نمونه شاهد حدود ۳۰ درصد است. مطالعات گذشته نیز نشان داده است که میزان جوانه‌زنی و طول ریشه در گیاه تربچه و چچم که با نانوذرات روی و اکسید روی تیمار شده بودند به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد کاهش می‌یابد که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی دارد (Lin and Xing, 2007). تأثیر منفی نانوذرات مختلف از قبیل CuO و $Fe_3O_4$ بر میزان جوانه‌زنی، رشد ریشه و همچنین رشد ساقه در گیاهچه‌های ازمک که به‌مدت هفت روز در حضور غلظت‌های مختلف این ذرات رشد کرده بودند گزارش شده است (Aminizadeh *et al.*, 2016). نکته جالب توجه اینکه، میزان جوانه‌زنی بذر این گیاه در حضور غلظت‌های مختلف یون روی ($ZnSO_4$) (۲۵–۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) مشابه نمونه شاهد بود (ریاحی مدوار و همکاران، ۱۳۹۳) که با نتایج حاصل از این تحقیق مغایرت دارد. علاوه بر این، در تیمار گیاهچه‌های ازمک با این یون، طول ریشه در حضور تمامی غلظت‌های مورد استفاده و طول ساقه در تیمار با غلظت‌های بیشتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به نمونه شاهد کاهش معنی‌دار نشان دادند (ریاحی مدوار و همکاران، ۱۳۹۳) که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی دارد.

از طرف دیگر، محتوای رنگیزهای فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید نیز مشابه خصوصیات مورفولوژیکی در گیاهچه‌های تیمارشده با نانوذره در مقایسه با نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند (جدول ۲). نتایج

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

مشابهی در بررسی تأثیر نانوذرات اکسید روی بر محتوای کلروفیل a، b و همچنین کاروتنوئید در گیاهان گندم و گوجه‌فرنگی گزارش شده است (Amooaghaie *et al.*, 2017). کاهش محتوای کلروفیل به‌عنوان یک اثر عمومی سمیت فلزات سنگین در گیاهان شناخته شده است (Rout and Das, 2003). این امر به‌دلیل اثر مستقیم این فلزات بر فرآیند بیوسنتز کلروفیل، القای تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو و درنتیجه تخریب ساختمان‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل صورت می‌گیرد (Rout and Das, 2003). کاهش محتوای کلروفیل کل در گیاه *Phaseolus vulgaris* پس از در معرض قرارگرفتن با فلزات سنگین سرب، مس، کادمیوم و جیوه گزارش شده است (Zengin and Munzuroglu, 2005). Rao و Shekhawat گزارش کردند که محتوای کلروفیل کل در گیاهچه‌های تیمارشده *Brassica juncea* با نانوذره اکسید روی کاهش می‌یابد، آنها این کاهش را به‌دلیل اختلال در غشا کلروپلاست توسط روی مربوط دانستند (Rao and Shekhawat, 2014).

در هر صورت، مکانیسم اصلی تأثیر منفی نانوذرات اکسید روی بر رشد گیاهان هنوز به‌طور دقیق مشخص نشده است. Lin و Xing (۲۰۰۷) تأثیر منفی این ذرات و نانوذرات روی بر طول ریشه در گیاه تربچه و چچم را به‌دلیل انحلال روی و اثر وابسته به یون‌های روی نسبت دادند (Lin and Xing, 2007). در مطالعه Rao و Shekhawat (۲۰۱٤) نیز مشاهده گردید که در گیاهچه‌های *Brassica juncea* تیمارشده با اکسید روی، یون روی در ریشه و هم در ساقه هماهنگ با افزایش غلظت این ذره در محیط تجمع یافته است. آنها دلیل سمیت نانوذره اکسید روی در گیاهچه‌های *Brassica juncea* را تولید ROS و تنش اکسیداتیو گزارش کردند (Roa and Shekhawat, 2014). همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، در این مطالعه نیز هماهنگ با افزایش غلظت نانوذره اکسید روی در محیط، محتوای یون روی در ریشه و ساقه گیاهچه‌های ازمک افزایش یافته است. مطالعات گذشته ثابت است که گیاه ازمک یک گیاه تجمع‌کننده فلزات سنگین از قبیل سرب، آهن، منگنز و مس است (Chehregani and Malayeri, 2007). علاوه بر این، مطالعات اخیر بر روی این گیاه نشان داد است که این گیاه قابلیت جذب یون روی و نقره را از طریق ریشه و انتقال آن به ساقه را دارد (ریاحی مدوار و همکاران، ۱۳۹۳). آنها، دلیل کاهش رشد ریشه و ساقه گیاهچه‌های ازمک رشدیافته در حضور یون روی را به‌دلیل تنش اکسیداتیو ناشی از تولید ROSها نسبت دادند (ریاحی مدوار و همکاران، ۱۳۹۳).

ثابت شده است که غلظت بالای روی در گیاه باعث بروز تنش اکسیداتیو به‌وسیله تولید ROSها و عدم‌رشد طبیعی گیاهان می‌شود (Weckx and Clijsters, 1997; Rout and Das, 2003). بنابراین چنین به‌نظر می‌رسد که کاهش رشد ریشه و ساقه در حضور نانوذره اکسید روی به‌دلیل تنش اکسیداتیو بعد از جذب این یون باشد. گزارش شده است که مهار رشد گیاهان در حضور غلظت‌های بالای روی، ممکن است به‌دلیل رقابت این فلز با فسفر در گیاه باشد (Rout and Das, 2003). برخی از محققین معتقدند، که تجمع روی در سیتوزول سلول‌های گیاهی از طریق مهار فرآیند تنفس، اختلال در عملکرد طبیعی سلول‌ها و واکنش‌های انرژی خواه مرتبط با رشد سلول، سبب کاهش رشد و نمو طبیعی گیاهان شود (Candan and Tarhan, 2003).

به‌منظور بررسی اثر این ذره بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه ازمک، از سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی، محتوای سولفورافان (مشتق‌شده از گلوکورافانین) و ترکیبات فنلی شامل فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و از سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی، فعالیت آنزیم کاتالاز مورد ارزیابی قرار گرفتند. همان‌طورکه در شکل ۱ مشاهده می‌شود، در غلظت‌های بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره اکسید روی، محتوای سولفورافان به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است. افزایش محتوای سولفورافان، در این گیاه در حضور غلظت‌های مختلف یون Zn ($ZnSO_4$) توسط Mohammadi و همکاران (۲۰۱٤) گزارش شده است (Mohammadi *et al.*, 2014). آنها تأثیر مثبت یون روی بر محتوای سولفورافان را به تولید ROSها و فعال‌شدن مسیر سیگنالینگ بعد از جذب روی توسط

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

گیاهچه‌ها، نسبت دادند.

همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، محتوای فلاونوئیدی گیاهچه‌های تحت تیمار با تمام غلظت‌های نانو اکسید روی نسبت به نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. این مشاهدات با نتایج حاصل از تیمار گیاهچه‌های ازمک با غلظت‌های مختلف یون روی که نشان داد، محتوای فلاونوئیدی گیاهچه‌ها، هماهنگ با افزایش غلظت یون روی در محیط افزایش یافته است، مغایرت دارد (ریاحی مدوار و همکاران، ۱۳۹۳). در مقابل با کاهش محتوای فلاونوئیدی، محتوای آنتوسیانین گیاهچه‌های تیمارشده تا غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره اکسید روی نسبت به نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش و در تیمار با بالاترین غلظت (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است (شکل ۳). این مشاهدات (تغییر در محتوای فلاونوئیدی و آنتوسیانین) با نتایج گزارش‌شده توسط Mousavi Kouhi و همکاران (۲۰۱۵) مغایرت دارد. آنها نشان دادند که محتوای ترکیبات فنلی در گیاهچه‌های *Brassica napus* تیمارشده با نانوذره اکسید روی در مقایسه با نمونه شاهد تغییر نمی‌کند (Mousavi Kouhi *et al.*, 2015). همان‌طور که در نتایج نشان داده شده است، محتوای سولفورافان (شکل ۱) و محتوای فلاونوئید (شکل ۲) تقریباً روند معکوسی را در گیاهچه‌های تحت تیمار با این نانوذره نشان می‌دهند. هماهنگ با این مشاهدات، رضایی و همکاران (۱۳۹۷) نیز افزایش محتوای سولفورافان و کاهش محتوای فلاونوئید در تیمار گیاه ازمک با جاسمونات را گزارش کردند (رضایی و همکاران، ۱۳۹۷).

کاتالاز با تجزیه $H_2O_2$ به آب و اکسیژن در کاهش هیدروژن پراکسید نقش ایفا می‌کند (Scandalios *et al.*, 1997). براساس نتایج (شکل ٤)، فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های تیمارشده با این نانوذره افزایش یافت. این مشاهده، با نتایج حاصل از تأثیر نانوذرات اکسید آهن و اکسید مس بر گیاهچه‌های ازمک که نشان‌دهنده افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های تحت تیمار است مطابقت دارد (Aminizadeh *et al.*, 2016). مطالعات گذشته نیز نشان داده است که فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های ازمک تیمارشده با یون روی هماهنگ با غلظت این یون در محیط افزایش می‌یابد (ریاحی مدوار و همکاران، ۱۳۹۳). از طرف دیگر، نتایج تحقیق Rao و Shekhawat (۲۰۱٤) نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار گیاهچه‌های *Brassica juncea* با نانوذره اکسید روی کاهش یافت (Rao and Skekhawat, 2014).

از طرف دیگر، محتوای پروتئین‌های محلول در گیاهچه‌های تیمارشده با نانوذره اکسید روی در مقایسه با نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (شکل ۵). این نتایج با نتایج گزارش‌شده توسط ریاحی و همکاران (۱۳۹۳) مغایرت دارد. آنها گزارش کردند که محتوای پروتئین محلول گیاهچه‌های ازمک تحت تیمار با یون روی کاهش می‌یابد (ریاحی مدوار و همکاران، ۱۳۹۳). Stresty و Madhava Rao (۱۹۹۹) دریافتند که تولید برخی پروتئین‌ها مثل پروتئین‌های مقاوم به حرارت در سلول‌های ریشه Pigeonpea تیمارشده با روی افزایش می‌یابد (Sresty and Madhava Rao, 1999). همچنین، مطالعات نشان داده است که در تیمار گیاه *Phytolacca Americana* با کادمیوم، سنتز پروتئین‌های وابسته به استرس مانند پروتئین‌های شوک حرارتی القا می‌شوند تا نقش محافظت از پروتئین‌ها را به عهده داشته باشند و به‌عنوان چاپرون عمل نموده تا تاخوردگی صحیح پروتئین‌ها را تضمین نمایند (Zhao *et al.*, 2011).

## نتیجه‌گیری

از مجموع نتایج چنین بر می‌آید که در شرایط انجام آزمایش، نانوذره اکسید روی اثرات منفی مختلفی بر جوانه‌زنی، رشد گیاه و رنگیزه‌های فتوسنتزی در اثری وابسته به غلظت بر روی این گیاه دارد. گیاه ازمک در غلظت‌های پایین این ذره (تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) با القای ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی مانند سولفورافان، آنتوسیانین و در غلظت‌های بالاتر از آن با فعال‌نمودن سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی مثل کاتالاز تلاش می‌کند تا بر تنش اکسیداتیو القاشده در تیمار با این ذره غلبه کند. بنابراین کاهش رشد گیاه در معرض این ذره را می‌توان به

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

افزایش تنش اکسیداتیو در این شرایط نسبت داد. در هر صورت، مطالعات بیشتری لازم است تا مکانیسم دقیق اثر نانوذرات به‌ویژه نانوذره اکسید روی بر رشد و سایر پارامترهای فیزیکوشیمیایی گیاهان را توضیح دهد.

**تشکر و قدردانی**

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان و در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد انجام شده است. نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از آن دانشگاه محترم اعلام می‌دارند.

**منابع**

ریاحی مدوار، ع.، نصیری بزنجانی، م. ا.، یوسفی، ک. و محمدی، م. (۱۳۹۳) بررسی قابلیت جذب یون‌های روی و نقره توسط گیاهچه‌های ازمک (*Lepidium draba* L.) و تأثیر این یون‌ها بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه‌ها. مجله سلول و بافت ۶: ۵۹-۷۰.

رضایی، ف.، لاهوتی، م.، ملکی م. و گنجعلی، ع. (۱۳۹۷) تغییرات محتوای سولفورافان و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهچه‌های ازمک (*Lepidium draba* L.) در پاسخ به جاسمونات. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۷: ۴۵-۵۶.

Aminizadeh, M., Riahi-Madvar, A. and Mohammadi, M. (2014) Effects of iron and cupper ions on sulforaphane content and peroxidase activity in *Lepidium draba* seedlings. Ethno Pharmaceutical Products 1: 8-14.

Aminizadeh, M., Riahi-Madvar, A. and Mohammadi, M. (2016) Nano-metal oxides induced sulforaphane production and peroxidase activity in seedlings of *Lepidium draba* (Brassicaceae). Progress in Biological Sciences 6: 75-83.

Amooaghaie, R., Norouzi, M. and Saeri, M. (2017) Impact of zinc and zinc oxide nanoparticles on the physiological and biochemical processes in tomato and wheat. Botany 95: 441-455.

Ball, P. (2002) Natural strategies for the molecular engineer. Nanotechnology 13: 15-28.

Battke, F., Leopold K., Maier, M., Schidhalter, U. and Schuster, M. (2008) Palladium exposure of barley uptake and effects. Plant Biology 10: 272-276.

Bradford, M. M. (1967) Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Broadle, M. R., White, P. J., Hammond, J. P. and Zlko, I. V. (2007) Zinc in plants. New Phytologist 173: 677-702.

Buzea, C., Pacheco, I. I. and Robble, K. (2007) Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. Biointerphases 2: 17.

Candan, N. and Tarhan, L. (2003) Change inchlorophyll–carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn–stressed *Mentha pulegium*. Turk Journal Chemistry 27: 21-30.

Chehregani, A. and Malayeri, B. E. (2007) Removal of heavy metals by native accumulator plants. International Journal of Agriculture and Biology 9: 462-465.

Choi, D. G., Yoo, N. H. and De-los-reyes, B. (2004) The activities of antioxidant enzymes in response to oxidative stresses and hormones in paraquat-tolerant *Rehmannia glutinosa* plants. Journal of Biochemistry and Molecular Biology 37: 618-624.

Corredor, E., Testillano, P. S., Coronado, M. J., Gonzalez-Melendi, P., Fernandez-Pacheco, R., Marquina, C., Ibarra, M. R., Fuente, J. M., Rubiales, D., Perez-de-Luque, A. and Risueno, M. C. (2009) Nanoparticle penetration and transport in living pumpkin plants: In situsubcellular identification. BMC Plant Biology 9: 1-11.

Dhindsa, R. S., Plumb-dhindsa, P. and Thorpe, T. A. (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.

Fahey, J. W., Haristoy, X., Dolan, P. M., Kensler, T. W., Scholtus, I., Stephenson, K. K., Talalay, P. and Lozniewski, A. (2002) Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo [a] pyrene-induced stomach tumors. Proceedings of the National Academy of Sciences 99: 7610-7615.

Fahey, J. W., Zalcmann, A. T. and Talalay, P. (2001) The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. Phytochemistry 56: 5-51.

Ferry, J. L., Craig, P., Hexel, C., Sisco, P., Frey, R., Pennington, P. L., Fulton, M. H., Scott, I. G., Decho, A. W., Kashiwada, S., Murphy, C. and Shaw, T. J. (2009) Transfer of gold nanoparticles from the water column to the estuarine food web. Nature Nanotechnology 4: 441-444.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

Foyer, C. H. and Noctor, G. (2011) Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub. Plant Physiology 155: 2-18.
Gao, X., Dinkova-Kostova, A. T. and Talalay, P. (2001) Powerful and prolonged protection of human retinal pigment epithelial cells, keratinocytes, and mouse leukemia cells against oxidative damage: the indirect antioxidant effects of sulforaphane. Proceedings of the National Academy of Sciences 98: 15221-15226.
Hirayama, T. and Shinozaki, K. (2010) Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: Past, present and future. The Plant Journal 61: 1041-1052.
Hopkins, R. J., van Dam, N. M. and Van Loon, J. J. (2009) Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. Annual Review of Entomology 54: 57-83.
Inze, D. and Montagu, M. V. (1995) Oxidative stress in plants. Current Opinion in Biotechnology 6: 153-156.
Jacobs, J. (2007) Ecology and Management of Whitetop (*Cardaria Draba* (L.) Desv.). US Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service.
Jamshidi Goharrizi, K., Riahi-Madvar, A., Rezaee, F., Pakzad, R., Jadid Bonyad, F. and Ghazizadeh Ahsaei, M. (2019) Effect of salinity stress on enzymes' activity, ions concentration, oxidative stress parameters, biochemical traits, content of sulforaphane, and CYP79 F1 gene expression level in *Lepidium draba* plant. Journal of Plant Growth Regulation 39: 1075-1094.
Ji, S. and Ye, C. (2008) Synthesis, growth mechanism, and applications of zinc oxide nanomaterials. Journal of Materials Science and Technology 24: 457.
King, L. J. and Hill, L. (1966) Weeds of the World. Biology and Control. Wiley, New York.
Krizek, D. T., Britz, S. J. and Mirecki, R. M. (1998) Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. Physiologia Plantarum 103: 1-7.
Krizek, D. T., Kramer, G. F., Upadyaya, A. and Mirecki, R. M. (1993) UV-B response of cucumber seedling grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. Physiologia Plantarum 88: 350-358.
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 27: 1915-1921.
Liang, H. and Yuan, Q. (2012) Natural sulforaphane as a functional chemopreventive agent: Including a review of isolation, purification and analysis methods. Critical Reviews in Biotechnology 32: 218-34.
Liang, H., Yuan, Q., Dong, H. and Liu, Y. (2006) Determination of sulforaphane in broccoli and cabbage by high-performance liquid chromatography. Journal of Food Composition and Analysis 19: 473-476.
Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol 148: 350-382.
Lin, D. and Xing, B. (2007) Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution 150: 243-250.
Lin, D. and Xing, B. (2008) Root uptake and phytox-oxicity of ZnO nanoparticles. Environmental Science and Technology 42: 5580-5585.
MadhavaRa, K. V. and Srestry, T. V. S. (2000) Antioxidative parameters in the seedlings of pigeon pea (*Cacanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. Plant Science 157: 113-128.
Marschner, H. (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Ed. Academic Press, London.
Mithen, R. (2001) Glucosinolates–biochemistry, genetics and biological activity. Plant Growth Regulation 34: 91-103.
McGrath, S. P. and Cunliffe, C. H. (1985) A simplified method for the extraction of the metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sewage sludges. Journal of the Science of Food and Agriculture 36: 794-798.
Mohammadi, M., Riahi-Madvar, A. and Pourseyedi, S. (2014) Elicitors induced sulforaphane production in *Lepidium draba*. Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences 4: 64-70.
Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.
Munzuroglu, O. and Geckil, H. (2002) Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 43: 203-213.
Nasiri-Bezenjani, M., Riahi-Madvar, A., Baghizadeh, A. and Ahmadi, A. (2014) Rosmarinic acid production and expression of tyrosine aminotransferase gene in *Melissa officinalis* seedlings in response to yeast extract. Journal of Agricultural Science and Technology 16: 921-930.
Nel, A., Xia, T., Madler, L. and Li, N. (2006) Toxic potential of materials at the nanolevel. Science 311: 622-627.
Pandey, N., Singh, A. K., Pathak, G. C. and Sharma, C. P. (2002) Effect of zinc on antioxidant response in maize (*Zea mays* L.) leaves. Indian Journal of Experimental Biology 40: 954-956.
Radonic, A., Blazevic, I., Mastelic, J., Zekic, M., Skocibusic, M. and Maravic, A. (2011) Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Cardaria draba* (L.) Desv. volatiles. Chemistry and Biodiversity 8: 1170-1181.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

Rao, S. and Shekhawat, G. S. (2014) Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*. Journal of Environmental Chemical Engineering 2: 105-114.

Rask, L., Andreasson, E., Ekbom, B., Eriksson, S., Pontoppidan, B. and Meijer, J. (2000) Myrosinase: Gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. Plant Molecular Evolution 42: 93-113.

Rezaee, F., Lahouti, M., Maleki, M. and Ganjeali, A. (2018) Comparative proteomics analysis of whitetop (*Lepidium draba* L.) seedlings in response to exogenous glucose. International Journal of Biological Macromolecules 120: 2458-2465.

Rout, G. R. and Das, P. (2003) Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism; Zinc. Agronomy and Soil Science 23: 3-11.

Scandalios, J. G., Guan, L. and Polidoros, A. N. (1997) Catalases inplants: Gene structure, properties, regulation, and expression. In: Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses. (ed. Scandalios, J. G.) Pp. 343-406. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, NY, USA.

Scurfield, G. (1962) *Cardaria Draba* (L.) Desv. The Journal of Ecology 50: 489-499.

Mousavi Kouhi, S. M., Lahouti, M., Ganjeali, A. and Entezari, M. H. (2015) Comparative effects of ZnO nanoparticles, ZnO bulk particles, and $Zn^{2+}$ on *Brassica napus* after long-term exposure: Changes in growth, biochemical compounds, antioxidant enzyme activities, and Zn bioaccumulation. Water Air Soil Pollut 226: 364.

Sresty, T. V. S. and Madhava Rao, K. V. (1999) Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cells of pigeonpea. Environmental and Experimental Botany 41: 3-13.

Weckx, J. E. J. and Clijsters, H. (1997) Zn phytotoxicity induces oxidative stress in primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. Plant Physiology and Biochemistry 35: 405-410.

Yang, L. and Watts, D. J. (2005) Particles surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. Toxicology Letters 158: 122-132.

Yeh, C. T. and Yen, G. C. (2009) Chemopreventive functions of sulforaphane: A potent inducer of antioxidant enzymes and apoptosis. Journal of Functional Foods 1: 23-32.

Zengin, F. K. and Munzuroglu, O. (2005) Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 47: 157-164.

Zhao, L. 1., Sun, Y. L., Cui, S. X., Chen, M., Yang, H. M., Liu, H. M., Chai, T. Y. and Huang, F. (2011) Cd-induced changes in leaf proteome of the hyperaccumulator plant *Phytolacca americana*. Chemosphere 85: 56-66.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]

# Effects of ZnO nanoparticles on sulforaphane content, biochemical and morphological properties of *Lepidium draba* seedlings

**Mahshid Ghazizadeh Ahsaei[1], Ali Riahi-Madvar [2,3*], Elham Rezvannejad [3], Fereshteh Jadid Bonyad[1]**

**[1] Department of Biotechnology, Faculty of Science and Modern Technology, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran**
**[2] Department of Molecular and Cell Biology, Faculty of Basic Sciences, Kosar University of Bojnord, Bojnord, Iran**
**[3] Department of Biotechnology, Institute of Science and High technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran**
**(Received: 20/10/2019, Accepted: 21/04/2020)**

## Abstract

*Lepidium draba*, a perennial plant belonging to the Brassicaceae family, contains high level of the glucosinolate glucoraphanin that after enzymatic hydrolysis produces sulforaphane. In this study, sulforaphane content, morphological and biochemical properties were analyzed of the treated *L. draba* seedlings which were grown for 7 days in the presence of different concentrations (0 (as control), 25, 50, 100, 250, 500 and 1000 mg/L) of nano zinc oxide (nZnO). Based on the results, seed germination rate was significantly reduced in the presence of concentrations more than 100 mg/L nanoparticle, so that it reduced about 30% in the presence of the highst doses of nZnO. Root and shoot lengths of the treated seedlings were also significantly decreased in compared to the control with the increase nanoparticles concentration in the medium, So that in the presence of the hightst concentration, length of the root and shoot was to reduced about 70 and 60 % respectively. Moreover, it was also shown that chlorophyll, carotenoid and flavonoid contents were significantly decreased in treatment with all nanoparticle concentrations compared to the control. In contrast, the results shown that an increase in sulforaphane content in treated seedlings with the concentrations more than 100 mg/L nanoparticle compared to the control. Catalase activity was significantly increased in treated seedlings more than 100 mg/L nZnO concentration compared to the control, so that in the presence of the highst concentration, its activity increased more than 3 times. The positive effects of this particle were also seen on soluble protein concentration (in the presence of all nZnO concentrations) and anthocyanin content (up to 100 mg/L nZnO concentrations) in compared to the control sample. Furthermore, the amount of the abzorbed Zn ion in the roots and shoots of the treated seedlings increased with the increase nanoparticle concentration in the medium. Overall, based on the increase sulforaphane and anthocyanin contents and activity of catalase, it seemed that surface adsorption or accumulation of these particles, induced oxidative stress which resulted in decreasing of seedling growth. So, it can be suggested that for determining the exact mechanism effects of nZnO on this plant, others physiological, biochemical and genetics parameters must be analysed.

**Keywords:** *Lepidum draba*, Zinc oxide nanoParticle, Sulforaphane

Corresponding author, Email: riahi.ali@gmail.com

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.20.7 ]