بررسی سمیت نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط عصاره زیتون بر رشد و رنگیزه‌ها در گاوزبان

شهلا هاشمی[۱،۲]، نازی نادرنژاد[۱*]، شهرام پورسیدی[۳] و زهرا اسرار[۱]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران، [۲]باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد واحد شهرکرد، ایران، [۳] گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان،ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۰/۱۶)

چکیده

سنتز نانوذرات، توجه دانشمندان را در زمینه‌های فیزیکی، شیمیایی، علوم بیولوژیکی و پزشکی به خود جلب کرده است. سنتز نانوذرات توسط عصاره گیاهان بر سایر فرآیندهای بیولوژیکی، بدلیل حذف فرآیند کشت سلول‌ها مزیت دارد و همچنین سنتز می‌تواند در مقیاس بزرگ انجام شود. در این تحقیق، سنتز نانوذرات اکسید روی از روش سنتز سبز با استفاده از عصاره زیتون انجام گردید. با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری و جذب اسپکتروسکوپی UV–Visibe ویژگی‌های نانوذرات تعیین گردید. همچنین تأثیر نانوذرات اکسید روی سنتز شده (صفر ، ۲۰۰ و ٤۰۰ پی پی ام) بر رشد، پرولین و MDA، فنل کل، فلاونوئید، پراکسیدهیدروژن، کلروفیل، آنتوسیانین و فعالیت آنزیم‌های گاوزبان در دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۱۳۹٤ انجام شد. سنتز نانوذرات اکسید روی توسط ماکزیمم جذب در طول موج ۳۷۰ نانومتر تأیید گردید. تصویر نانوذرات اکسید روی توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان داد که نانوذرات کروی و با اندازه میانگین ٤۱ نانومتر هستند. نتایج اثر نانوذرات بر گیاه گاوزبان نشان داد که طول ریشه و ساقه در گیاهانی که با نانوذرات اکسید روی تیمار شدند، افزایش یافت، اما محتوای قندمحلول، آنتوسیانین و فعالیت کاتالاز تغییر معنی‌داری نشان نداد. علاوه بر این، تیمار نانوذرات اکسید روی در غلظت ٤۰۰ پی‌پی‌ام، مقدار فنل کل، پراکسیدهیدروژن، پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز، گایاکل‌پراکسیداز و فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز را افزایش داد. از سوی دیگر تیمار نانوذرات اکسید روی، محتوای پرولین و کلروفیل را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. نانوذرات اکسید روی منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش محتوای پرولین و کلروفیل در گاوزبان شد.

کلمات کلیدی: اکسید روی، سمیت، رنگیزه، زیتون، گاوزبان، نانوذرات

مقدمه

نانوذرات، موادی با حداقل یک بعد در مقیاس ۱ الی ۱۰۰ نانومتر می‌باشند (Ostiguy *et al.*, 2010). اندازه ذرات در حد نانومتر سبب تغییراتی در خواص فیزیکی و شیمیایی می‌شوند که مهمترین آن‌ها، افزایش نسبت سطح به حجم می‌باشد. نانوذرات توسط روش‌های مختلف شیمیایی، فیزیکی و زیستی و... سنتز می‌گردد. در روش سنتز زیستی نانوذرات، از گیاه زنده یا عصاره اندام‌های گیاه استفاده می‌گردد. در میان روش‌های سنتز زیستی نانوذرات، سنتز توسط عصاره گیاه بدلیل کنترل آسانتر رشد نانوذرات و همچنین عدم نیاز به خارج کردن باقیمانده موجودات از مواد سنتز شده مقبولیت بیشتری نسبت به بقیه روش‌های سنتز زیستی، دارد. سنتز زیستی نانوذرات اکسید

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: nnnadernejad@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

روی توسط عصاره گیاه صبرزرد به‌عنوان یک عامل کاهنده و پایدار کننده انجام گردید (Sangeetha *et al.*, 2011). نانوذرات در زمینه‌های مختلفی مانند صنعت، کشاورزی، پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نانوذرات اکسید روی در محصولات حفاظت از پوست (Nohynek *et al.*, 2007)، رنگ و غیره کاربرد دارد. به‌دلیل کاربرد این نانوذرات در صنعت و دیگر زمینه‌ها، این مواد به محیط آزاد می‌شوند. نگرانی در مورد اثرات خطرناک نانوذرات موجب افزایش میزان تحقیق در مورد سمیت نانوذرات شده است. تعدادی از پژوهش‌های انجام شده در مورد اثر نانوذرات بر رشد گیاهان بوده است. در مورد اثر تیمار نانوذرات بر رشد گیاهان نتایج ضد و نقیضی وجود دارد .برخی محققان گزارش کرده‌اند که رشد تحت تیمار نانوذرات اکسید روی افزایش می‌یابد. به‌طور مثال در تحقیقاتی که Vinash و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام دادند، مشخص شد که نانوذرات اکسید روی، منجر به افزایش رشد و جوانه‌زنی در گیاه نخود شده است (Vinash *et al.*, 2010). در حالیکه Lin و Xing در سال ۲۰۰۷ سمیت نانوذرات مختلف نانولوله‌های کربنی چندجداره، آلومینیوم، آلومینا، روی و اکسید روی را بر جوانه‌زنی بذر و رشد ریشه گیاهان تربچه، چاودار ،کاهو، ذرت و خیار مورد بررسی قراردادند و گزارش کردند که تنها ذرات روی و اکسید روی باعث مهار قابل توجهی از جوانه‌زنی و رشد ریشه شد (Lin and Xing, 2007). همچنین Lee و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثر چهار نانوذرات اکسید فلز، اکسید آلومینیوم، دی‌اکسید سیلیکون، مگنتیت و اکسید روی را بر گیاه آرابیدوپسیس گزارش کردند. محققان دریافتند که نانوذرات اکسید روی در میان نانوذرات دیگر، بیشترین سمیت را نشان داد. برخی گزارشات دیگر نیز حاکی از بی‌تأثیری نانوذرات روی بر رشد گیاه داشت. برای مثال در تحقیقاتی که Yuhui و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام دادند، مشخص شد که نانوذرات اکسید روی، تأثیری بر رشد و جوانه‌زنی در گیاه گندم و گوجه نداشته است. از سوی دیگر، گیاه گاوزبان به‌عنوان گیاه دارویی به‌دلیل خواص تسکین‌دهندگی، مدر بودن، نرم‌کننده بافتهای مخاطی، خلط‌آور بودن ، کاهش‌دهنده تپش قلب از دیرباز مورداستفاده قرار می‌گیرد (Shafaghi *et al.*, 2002). بنابراین با توجه به اهمیت دارویی گاوزبان و استفاده فراوان نانوذرات روی بدلیل کاربردهای مختلفی که در صنعت، پزشکی، داروسازی و غیره دارد، اثر نانوذرات روی بر گیاه گاوزبان بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نانوذرات اکسید روی: ۱۰ گرم از برگ‌های زیتون را بعد از شسته شدن با آب مقطر در ارلن ۲۵۰ میلی لیتر قرار داده و به ارلن ۲۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه اضافه شد و ارلن بر روی دستگاه هیتر استیرر با دمای ۸۰ درجه به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. بعد از ۳۰ دقیقه، محتوایات ارلن سرد شده و سپس از کاغذ صافی عبور داده شدند. عصاره بدست آمده داخل شیشه‌های تیره داخل یخچال برای ادامه آزمایش قرار گرفتند. مقادیر ۸۰ میلی‌لیتر از عصاره در داخل بشر روی هیتر در دمای ٦۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس ۵ گرم نمک نیترات روی به عصاره‌ها اضافه شد و روی هیتر که قبلاً دمای هیتر استیرر در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد (سرعت ٤۰۰ rpm استیرر) به‌مدت نیم ساعت تنظیم گردیده بود، قرار داده شدند. بعد از این مدت زمان، مخلوط واکنش حالت خمیری پیدا کرده، خمیر بدست آمده در داخل آون در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. پودر بدست آمده بوسیله هاون چینی پودر شد و پودر حاصل برای خالص سازی ۳ بار سانتریفوژ (۲۰۰۰ دور به‌مدت ۵ دقیقه) گردید و بعد از خالص سازی برای تعیین مشخصات برای آنالیز UV-visible و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) آماده گردید.

آماده سازی نمونه برای آنالیز بوسیله UV-visible: برای آنالیز ۰/۱ گرم پودر نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط گیاه زیتون را به طور جداگانه با ۳ میلی لیتر آب دیونیزه مخلوط کرده و با توجه به اینکه نانوذرات اکسید روی دارای پیک حداکثر در محدوده ۳۰۰-۵۵۰ نانومتر می‌باشد، جذب آن در طول موج‌های ۳۰۰-۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

بررسی تصویر نانوذرات توسط میکروسکوپ الکترونی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

عبوری (TEM): نمونه‌ها بر روی گرید میکروسکوپ قرار گرفته و تصاویر با بزرگ‌نمایی‌های در مقیاس متفاوت گرفته شد. میکروسکوپ‌های استفاده شده در این پژوهش Philips، Carl zeiss و مدل LE0912-AB ساخت شرکت آلمان بود.

تیمار نانوذرات اکسید روی بر گیاه گاوزبان: به‌منظور ارزیابی اثر نانوذرات اکسید روی بر گیاه گاوزبان آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۱۳۹٤ انجام شد. برای شروع پژوهش ، بذرهای گاوزبان با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد برای ٦ دقیقه ضدعفونی شده و سپس بخوبی با آب مقطر دو بار شسته شد. دانه‌ها به مدت ۷٤ ساعت در محیط کشت آگار حاوی محلول غذایی هوگلند، حاوی غلظت‌های صفر، ۲۰۰ و ٤۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات اکسید روی کشت داده شد. قابل ذکر است که نانوذرات استفاده شده در محلول غذایی هوگلند قبلاً التراسونیک (Ultrasonic) شده بودند. بعد از ۵ روز گیاهچه‌های حاصل از دانه ها به گلدان‌های حاوی پرلیت در گلخانه انتقال داده شدند. بعد از ۲ هفته آبیاری با محلول غذایی هوگلند، گیاهان برای سنجش پارامترهای رشد، محتوای کلروفیل، آنتوسیانین و فنل کل برداشت شدند.

اندازه گیری طول اندام هوایی و ریشه: طول ساقه و ریشه با استفاده از خط کش اندازه گیری شد. طول ساقه از یقه تا قسمت انتهای ساقه و طول ریشه از یقه تا انتهای ریشه در نظر گرفته شد. برای هر گروه تیماری ۳ تکرار و مقادیر بر اساس سانتیمتر گزارش شد.

اندازه‌گیری مقدار پراکسیدهیدروژن: مقدار پراکسید هیدروژن براساس واکنش H_2O_2 با پتاسیم‌یدید (KI) و با روش Alexieva در سال ۲۰۰۱ انجام شد. در این روش ۰/۵ گرم از بافت تازه گیاه درتری کلرواستیک‌اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در g × ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. برای محاسبه غلظت پراکسیدهیدروژن از منحنی استاندارد استفاده گردید (Alexieva *et al.*, 2001).

اندازه‌گیری مقدار فلاونوییدها: اندازه‌گیری فلاوونوییدها به روش اسپکتروفتومتری با استفاده‌از روشKrizek و همکاران در سال ۱۹۹۸ انجام گرفت. ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاه در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (الکل اتیلیک و اسید استیک گلاسیال به نسبت حجمی۱:۹۹) ساییده شده و پس از سانتریفوژ عصاره به‌مدت ده دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. شدت جذب در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد. نتایج بر حسب درصد جذب گزارش گردید.

سنجش محتوای آنتوسیانین، فنل‌کل و قندهای محلول با استفاده از معرف آنترون: برای سنجش محتوای آنتوسیانین از روشWagner در سال ۱۳۷۹ استفاده شد. برای سنجش محتوای آنتوسیانین، ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاه با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملاً ساییده و به مدت ۲٤ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۱۰ دقیقه در g٤۰۰۰ سانتریفوژ و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از ضریب خاموشی $۳۳۰۰۰M^{-1}cm^{-1}$ غلظت آنتوسیانین محاسبه و نتایج برحسب میکروگرم بر گرم وزن تر ارائه گردید. محتوای فنل‌کل با استفاده از روش Guo و همکاران در سال ۲۰۰٤ و محتوای قندهای محلول نمونه‌ها با استفاده از معرف آنترون و براساس روش Roe در سال ۱۹۵۵ تعیین گردید.

اندازه گیری مقدار کلروفیل و کاروتنوئید: ۰/۲ گرم از برگ‌های فریز شده گیاه با ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شده و پس از صاف کردن جذب آنها با اسپکتروفتومتردر طول موج‌های ٦٤٦/۸، ٦٦۳/۲۰ و ٤۷۰ نانومتر خوانده شد. غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میکروگرم بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1987).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): سنجش فعالیت کاتالاز بر اساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲٤۰ نانومتر انجام شد. مخلوط واکنش (۳میلی لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار، آب‌اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با افزودن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

۳۰ ثانیه درطول موج ۲٤۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد (Dhindsa *et al*., 1981).

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX): در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات بر اساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب، در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه اندازه گیری شد (Nakano and Asada, 1981).

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و گایاکول پراکسیداز (GPX): برای اندازه گیری فعالیت آنزیم PAL، ۱ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار، ۰/۵ میلی لیتر فنیل آلانین ۱۰ میلی‌مولار، ۰/٤ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط شدند و به‌مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ٦ مولار متوقف شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۲٦۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Dcunha *et al*., 1996). سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش Zhang و همکاران (۲۰۰۵) اندازه‌گیری شد.

تعیین میزان یون روی در برگ به روش جذب اتمی: به منظور اندازه‌گیری یون روی از روش جذب اتمی (Lozak *et al*., 2002) استفاده شد. اندازه‌گیری یون روی در بافت برگ انجام شد. برای این منظور ۰/۵ گرم از بافت گیاهی خشک را در ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به‌مدت ۲٤ ساعت قرار داده تا نمونه گیاهی به‌خوبی در اسید هضم شود. بعد از این مدت محلول حاصل را گرم کرده تا بخارات اسیدی از محلول خارج شوند. سپس حجم محلول را با آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شد. از محلول بدست آمده برای اندازه‌گیری عنصر موردنظر استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با تعداد ۳ تیمار و هر تیمار ۳ تکرار انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون ANOVA صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

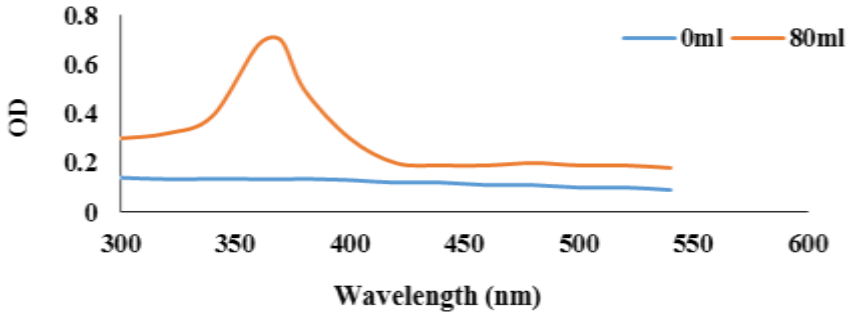
نتایج آنالیز جذب اسپکتروفتومتری UV-visible و میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط گیاه زیتون: نتایج آنالیز نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط گیاه زیتون با دستگاه اسپکتروفتومتری UV-visible در غلظت ۸۰ میلی لیتر عصاره، در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به طیف مشاهده می‌شود که ماکزیمم جذب‌ها در غلظت ۸۰ میلی لیتر عصاره زیتون در طول موج ۳۷۰ نانومتر می‌باشد. به‌منظور بررسی شکل، اندازه دقیقتر نانوذرات از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. میانگین اندازه نانوذرات زیتون ٤۱ نانومتر بدست آمد. همچنین توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری شکل نانوذرات، کروی تشخیص داده شد.

اثر نانوذرات اکسید روی بر طول ریشه و ساقه: مطابق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) طول ریشه و ساقه تحت اثر تیمار نانوذرات در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است. با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، طول ریشه و ساقه نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان داد. تیمار ٤۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نسبت به تیمار ۲۰۰ پی‌پی‌ام منجر به افزایش معنی‌دار طول ساقه شده است (جدول ۲).

اثر نانوذرات اکسید روی بر محتوای کلروفیل و کاروتنوئید: همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل کاهش می‌یابد و محتوای کلروفیل‌ها در غلظت ٤۰۰ پی‌پی‌ام نسبت به ۲۰۰ پی‌پی‌ام تغییر معنی داری نداشته است. در جدول ۲، نتایج اثر نانوذرات اکسید روی بر محتوای کاروتنوئید نشان داده شده است. با توجه به مقایسه میانگین‌ها، تیمار نانوذرات اکسید روی ۲۰۰ و ٤۰۰ پی‌پی ام به‌ترتیب منجر به افزایش ٪۷۰ و ٪۷۱ محتوای کاروتنوئید نسبت به شاهد شده است اما تیمارهای نانوذرات ۲۰۰ و ٤۰۰ پی‌پی ام

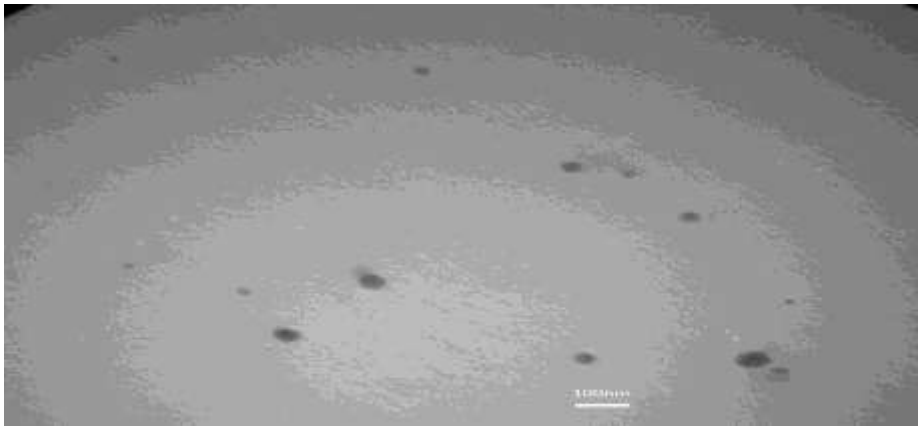
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]



شکل ۱- طیف جذبی UV-visible نانوذرات اکسید روی سنتز شده در عصاره زیتون.

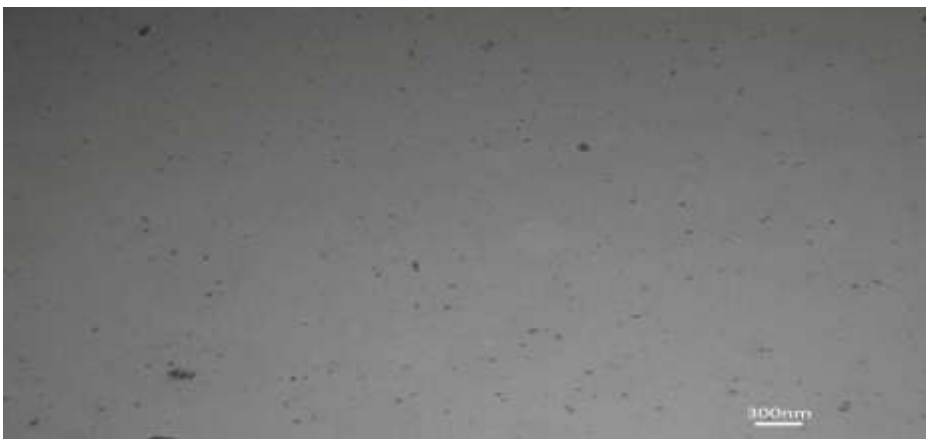
a)



b)



c)



شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط عصاره زیتون.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

جدول ۱- تجزیه واریانس (مقادیر میانگین مربعات) اثرات نانوذرات اکسید روی بر رنگیزه‌ها در گاوزبان

منابع تغییر	درجه آزادی	طول ریشه	طول ساقه	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل کل	محتوای کاروتنوئید	محتوای آنتوسیانین	محتوای فنل کل
		(cm)		(µg/gFW)				(µg/gFW)	
نانوذرات	۲	۱۹/۳۷۳**	۱۲**	۰/۰۳۹^{ns}	۱/٦٥٤**	۲/۱۹٦**	٦/۲۰۷**	۰/۰۱٤^{ns}	۰/۰٤۲*
خطا	٦	۱/۱۷٦	۱	۰/۰۰۹	۱/۳۹	۰/۱۵۷	۰/۱۱۳	۰/۰۲۷	۰/۰۰۷

*،**: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و ^{ns}: عدم اختلاف معنی‌دار

ادامه جدول۱

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای پراکسیدهیدروژن	محتوای MDA	محتوای پرولین	محتوای قند محلول	فلاونوئید ۳۳۰	فلاونوئید ۳۰۰	فلاونوئید ۲۷۰
		(µM/gFW)			(mg/gFW)	(%)		
نانوذرات	۲	۷۲۸/۷۷۸**	۰/۰۳۱**	۳۸/۹۲۳**	۰/۰۵۲^{ns}	۱۲۰٤/۸۷۷**	۱٤۵۳/٤٤٤**	۱۲/۵۳۸^{ns}
خطا	٦	۱۷/٤٤٤	۰/۰۰۱	۱/۲۱۱	۵/٤۲۱	۲۰/۷۷۸	۲٦/٤٤٤	۸/۸۰٤

*،**: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و ^{ns}: عدم اختلاف معنی‌دار

ادامه جدول۱

منابع تغییر	درجه آزادی	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم گایاکل پراکسیداز	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز	فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز	غلظت روی در برگ
		(U/mg protein)				(µg/mg DW)
نانوذرات	۲	٦/۷۷۸^{ns}	٤٤/۳۳۳**	۷۳۰/۳۳۳**	۱۳٤/۳۳۳**	۳۲۷٦**
خطا	٦	٦/۵۵٦	۱/۸۸۹	۷/۲۲۲	۱/۵۵٦	٤۹/۳۳۳

*،**: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و ^{ns}: عدم اختلاف معنی‌دار

نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند.

اثر نانوذرات اکسید روی بر محتوای فنل کل، آنتوسیانین و فلاونوئید: با توجه به جدول ۲، محتوای فنل کل در غلظت٤۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات اکسید روی، نسبت به شاهد افزایش یافت اما محتوا در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره نسبت به شاهد تغییر معنی‌داری نداشت. محتوای آنتوسیانین، با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، اختلاف معنی‌داری نشان نداد. با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، محتوای فلاونوئید ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نسبت به شاهد افزایش یافت. محتوای فلاونوئید ۲۷۰ در غلظت ٤۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره نسبت به ۲۰۰ پی‌پی‌ام تغییر معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

اثر نانوذرات اکسید روی بر محتوای پرولین: نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای پرولین تحت تیمار نانوذرات در سطح ۱ درصد معنی دار می‌باشد (جدول۱). همانطور که در جدول ۳ مشاهده می شود، با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، محتوای پرولین کاهش یافت. محتوای پرولین در غلظت ٤۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره نسبت به ۲۰۰ پی‌پی‌ام تغییر معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

اثر نانوذرات اکسید روی بر محتوای مالون‌دآلدئید و پراکسید هیدروژن: با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثرات نانوذرات اکسید روی بر رنگیزه‌ها در گاوزبان

تیمار	طول ریش	طول ساقه	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل کل	محتوای کاروتنوئید	محتوای آنتوسیانین	محتوای فنل کل
	(cm)		(µg/gFW)				(µM/gFW)	(µg/gFW)
شاهد	۳/۱۶±۰/۴۹^{b}	۵/۵±۰/۵۷^{c}	۰/۹۲±۰/۰۶۲^{a}	۲/۵۵±۰/۲۹^{a}	۳/۴۸±۰/۳۵^{a}	۱/۰۲۶±۰/۱۵^{b}	۰/۶۶±۰/۰۷^{a}	۰/۷۱±۰/۰۵۸^{b}
#۲۰۰	۷/۵±۰/۷۶ ^{a}	۷/۵±۰/۲۸^{b}	۰/۷۴±۰/۰۳۸^{a}	۱/۳±۰/۱۷^{b}	۲/۰۴±۰/۱۳^{b}	۳/۴۴±۰/۲۴ ^{a}	۰/۸±۰/۱^{a}	۰/۸۷±۰/۰۴۳^{ab}
&۴۰۰	۷/۶۶±۰/۵۹^{a}	۹/۵±۰/۷۶^{a}	۰/۷۱±۰/۰۵۷^{a}	۱/۲۴±۰/۱۴^{b}	۱/۹۵±۰/۱۱^{b}	۳/۵۸±۰/۱۷ ^{a}	۰/۷۳±۰/۱^{a}	۰/۹۵±۰/۰۴۱^{a}

حروف مشترک در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار تیمارها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد. داده‌ها، میانگین ۳ تکرار ± SE است. # ۲۰۰ پی‌پی ام نانوذرات اکسید روی، &۴۰۰ پی‌پی ام نانوذرات اکسید روی

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثرات نانوذرات اکسید روی بر رنگیزه‌ها در گاوزبان

تیمار	محتوای پراکسیدهیدروژن	محتوای MDA	محتوای پرولین	محتوای قند محلول	فلاونوئید ۳۳۰	فلاونوئید ۳۰۰	فلاونوئید ۲۷۰	فعالیت آنزیم کاتالاز
	(µM/gFW)			(mg/gFW)	(%)			(U/mg protein)
شاهد	۲۳±۱/۱۵^{c}	۰/۰۳±۰/۰۰۶^{c}	۱۰/۵±۰/۷۶^{a}	۱۰/۱۳±۰/۴۶^{a}	۱۷±۱/۵ ^{c}	۴۷±۱/۵^{c}	۱۱±۰/۵۷^{b}	۱۷/۳۳±۱/۴۵^{a}
۲۰۰	۳۵/۶±۳/۸^{b}	۰/۱۱±۰/۰۱^{b}	۵/۶±۰/۳۷^{b}	۱۰/۱۴±۱/۴^{a}	۳۰±۲/۵ ^{b}	۶۴±۳/۲۱^{b}	۸±۲/۰۳ ^{a}	۱۹±۱^{a}
۴۰۰	۵۴±۱/۱^{a}	۰/۲۳±۰/۰۳^{a}	۳/۴۷±۰/۶۹^{b}	۱۰/۳۶±۱/۷۶^{a}	۵۶±۳/۴۸^{a}	۹۰±۶/۵ ^{a}	۱۲±۲/۰۸^{a}	۲۰/۳۳±۱/۸۵^{a}

حروف مشترک در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار تیمارها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد. داده‌ها، میانگین ۳ تکرار ± SE است. # ۲۰۰ پی‌پی ام نانوذرات اکسید روی، &۴۰۰ پی‌پی ام نانوذرات اکسید روی

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های اثرات نانوذرات اکسید روی بر رنگیزه‌ها در گاوزبان

تیمار	فعالیت آنزیم گایاکل پراکسیداز	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز	فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز	غلظت روی در برگ (µg/mg DW)
	(U/mg protein)			
شاهد	۳/۶۶±۱/۲^{b}	۲۷/۶۶±۱/۴۵^{c}	۱۰±۰/۵۷^{c}	۸۹/۳۳±۳/۴۸^{c}
۲۰۰ پی‌پی ام نانوذرات اکسید روی	۹/۳۳±۰/۳۳ ^{a}	۴۸±۲/۰۸ ^{b}	۱۵/۶۶±۰/۶۶^{b}	۱۲۵/۳۳±۲/۹۰۵^{b}
۴۰۰ پی‌پی ام نانوذرات اکسید روی	۱۱±۰/۵۷ ^{a}	۵۸/۳۳±۰/۸۸ ^{a}	۲۳/۳۳±۰/۸۸^{a}	۱۵۵/۳۳±۵/۳۶۴^{a}

حروف مشترک در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار تیمارها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد. داده‌ها، میانگین ۳ تکرار ± SE است.

محتوای مالون‌دآلدئید افزایش می‌یابد. افزایش محتوا در غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره نسبت به شاهد ۷۲ و ۸۶ درصد می‌باشد (جدول ٤). با افزایش غلظت همچنین نانوذرات اکسید روی، محتوای پراکسیدهیدروژن افزایش می‌یابد. افزایش محتوا در غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره نسبت به شاهد ۳٤ و ۵۷ درصد می‌باشد (جدول ٤).

اثر نانوذرات اکسید روی بر محتوای قندهای محلول: نتایج به‌دست آمده از آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای قندهای محلول تحت تیمار نانوذرات معنی دار نمی‌باشد (جدول۱). در جدول ٤، نتایج اثر نانوذرات اکسید

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

روی بر محتوای قندهای مجلول نشان داده شده است. با توجه به مقایسه میانگین‌ها، با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، محتوای قندهای مجلول نسبت به شاهد تغییر معنی داری نشان نداده است (جدول ٤).

اثر نانوذرات اکسید روی بر فعالیت آنزیم‌ها: افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی بر فعالیت آنزیم کاتالاز اثر معنی داری نداشت، درحالی‌که فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز و فنیل‌آلانین‌پراکسیداز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین، فعالیت آنزیم گایاکل‌پراکسیداز در غلظت ٤۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نسبت به شاهد افزایش یافت و فعالیت این آنزیم در غلظت ۲۰۰ نسبت به ٤۰۰ پی‌پی‌ام تغییر معنی‌داری نداشت.

اثر نانوذرات اکسید روی بر غلظت یون روی در برگ: مطابق نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) غلظت یون روی تحت تیمار نانوذرات در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد. افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی اثر معنی‌داری بر غلظت یون روی در برگ داشت. غلظت یون روی در برگ با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی افزایش یافت.

بحث

نانومواد، توده‌های اتمی یا ملکولی با اندازه‌ی ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند. در سال‌های اخیر، سنتز نانوذرات توجه دانشمندان را در زمینه‌هایی مانند صنایع شیمیایی، فیزیکی، مواد، بیولوژیکی و پزشکی، نوری، مهندسی و علوم مکانیکی به خود جلب کرده است. در میان روش‌های سنتز سبز نانوذرات، سنتز توسط عصاره، بدلیل کنترل آسانتر رشد نانوذرات و همچنین عدم نیاز به خارج کردن باقیمانده موجودات از مواد سنتز شده، مقبولیت بیشتری نسبت به بقیه روش‌های سنتز زیستی دارد. در این پژوهش نانوذرات اکسید روی توسط عصاره زیتون سنتز شد. تأیید سنتز نانوذرات اکسید روی توسط آنالیزهای UV-visible ومیکروسکوپ TEM صورت گرفت. اولین آزمایشی که برای تأیید نانوذرات صورت می‌گیرد، آنالیزهای UV-visible می‌باشد. نانوذرات سنتز شده توسط ۸۰ میلی لیتر عصاره زیتون دارای حداکثر جذب در طول موج ۳۷۰ نانومتربود. مشابه با نتایج ما Rajiv و همکاران در سال ۲۰۱۳ موفق به سنتز نانوذرات اکسید روی توسط عصاره گیاه *Parthenium hysterophorus* شدند که حداکثر جذب در طول موج ۳۵۸ نانومتر بود (Rajiv *et al*., 2013).

در این تحقیق، اندازه نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط میکروسکوپ TEM ٤۱ نانومتر بود. Rajiv و همکاران در سال ۲۰۱۳ نانوذرات اکسید روی با اندازه ۸٤ نانومتر توسط عصاره گیاه *Parthenium hysterophorus* سنتز کردند. از طرف دیگر، نانوذرات به دلیل اثرات خاص و ویژگی‌های منحصر به فردشان، ورود گسترده ای به دنیای کشاورزی و بیولوژی داشته‌اند. این ذرات به اشکال مختلف در محیط زیست آزاد شده و تأثیرات ناشناخته آنها بر موجودات زنده و اکوسیستم، موجبات نگرانی‌های فراوانی شده است. گیاهان جز اساسی و ضروری تمام اکوسیستم‌ها می‌باشند و نقش اساسی در سرنوشت و جابه جایی نانومواد در محیط، از طریق جذب ایفا می کنند. اگرچه بررسی‌های نسبتاً زیادی در مورد سمیت نانومواد روی گونه‌های جانوری و باکتری‌ها صورت گرفته است، ولی بررسی‌های محدودی روی گیاهان عالی گزارش شده است. بنابراین در این پژوهش، اثر تیمار نانوذرات اکسید روی بر گیاه گاوزبان بررسی گردید.

نتایج رشد ما با نتایج رشد گیاه در تحقیقات Vinash و همکاران در سال ۲۰۱۰ در حضور نانوذرات اکسید روی بر گیاه نخود مطابقت دارد. در حالیکه تحقیقاتی که Yuhui و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام دادند، مشخص شد که نانوذرات اکسید روی، تأثیری بر رشد در گیاه گندم و گوجه نداشته است. تیمار نانوذرات اکسید روی مقدار مالون دآلدهید را در گیاهان مورد آزمایش افزایش داده است و این مطلب نشان می‌دهد که تیمار نانوذرات اکسید روی، منجر به خسارت به غشاء گردیده و پراکسیداسیون لیپیدها را تشویق نموده است. اندازه گیری محصولات پراکسیداسیون لیپید یکی از معمولترین و قابل‌قبول‌ترین روشهای اندازه گیری صدمات اکسیداتیو به غشاء است و به‌میزان وسیعی در گیاهان استفاده می‌شود. رادیکال‌های آزاد اکسیژن با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

اشباع، آلدهیدهایی مثل مالون دآلدهید تولید می‌کنند که این محصولات آلدهیدی معمولاً به عنوان شاخص تنش اکسیداتیو اندازه گیری می‌شوند (Shulaev and Oliver, 2006). سمیت نانوذرات اکسید روی می‌تواند بدلیل آزاد کردن یون روی و یا تولید رادیکال‌های آزاد باشد. تحت استرس فلزات سنگین، H_2O_2 و O_2^-، از طریق واکنش هابر-وایس، به رادیکال OH^- بسیار واکنش پذیر تبدیل می‌شود، که باعث پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (Apel and Hirt, 2004) در کار تجربی حاضر، تجمع MDA در غلظت ٤٠٠ پی‌پی ام به بالاترین مقدار رسیده است. یافته‌های Wang و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان می‌دهد که سمیت روی باعث افزایش محتوای مالون‌دآلدئید شد. نتایج حاصل از سنجش پراکسید هیدروژن در گاوزبان نشان داد که میزان این ترکیبات تحت تیمار نانوذره اکسید روی افزایش معنی‌داری داشته اند. نتایج میزان پراکسید هیدروژن ما با یافته‌های تحقیقات Shekhawat و Rao در سال ۲۰۱٤ در حضور نانوذرات اکسید روی، در گیاه خردل مطابقت دارد. در شرایط طبیعی بین میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و فعالیت مکانیسم‌های از بین برنده رادیکال‌های آزاد اکسیژن تعادل وجود دارد. اما در تنش‌های محیطی و زنده این تعادل به هم می‌خورد و موجب تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌گردد. گیاهان برای مقابله با تنش‌های محیطی سیستم‌های آنتی اکسیدانی دارند که قادر به سم‌زدایی و جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد. گیاهان با کمک سیستم‌های آنتی اکسیدان، قادر به کاهش اثرات تنش اکسیداتیو می‌باشند (Abdul Jaleel *et al*., 2009). نتایج محتوای پرولین نیز نشان می‌دهد که با افزایش غلظت نانوذرات، محتوای پرولین کاهش می‌یابد. تحت تنش‌های غیرزنده مختلف، گیاهان غلظت بالایی از پرولین آزاد در بافت تجمع می‌دهند. نتایج پرولین ما با نتایج تحقیقات Shekhawat و Rao در سال ۲۰۱٤ در حضور نانوذرات اکسید روی، در گیاه خردل مطابقت دارد. مکانیسم‌های مولکولی واضح که چگونه پرولین مقاومت گیاه را درمقابل تنش می‌افزاید هنوز کاملاً شناخته نشده است. اما گزارش شده که پرولین بخوبی می‌تواند رادیکال‌های هیدروکسیل را حذف کند و بدین ترتیب ماکرومولکول‌های اساسی سلول مثل پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA را از خطرات رادیکال‌های آزاد حفظ کند. همچنین پرولین به عنوان یک شلاته‌کننده فلز نیز گزارش شده است (Matysik. and Alia, 2002). تیمار نانوذرات اکسید روی تأثیر کاهشی معنی‌داری بر مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل داشت. کاهش در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تیمار نانوذرات اکسید روی، در برخی مطالعات گزارش شده است که عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها است. نتایج ما با یافته‌های Shekhawat و Rao در سال ۲۰۱٤ در گیاه خردل مطابقت دارد. نانوذره اکسید روی می‌تواند به دلیل آزاد کردن یون روی باعث بهم ریختگی کلروپلاست و کاهش در تعداد تیلاکوئید و در نتیجه کاهش کلروفیل شده باشد (Moore, 2006).

سمیت نانوذرات ممکن است بدلیل رها کردن یون فلزی و یا تولید رادیکال‌های آزاد باشد. در شرایط طبیعی بین میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و فعالیت مکانیسم‌های از بین برنده رادیکال‌های آزاد اکسیژن تعادل وجود دارد. اما در تنش‌های محیطی و زنده این تعادل به هم می‌خورد و موجب تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌گردد. گیاهان برای مقابله با تنش‌های مجیطی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی دارند که قادر به سم‌زدایی و جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد. با کمک سیستم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهان قادر به کاهش اثرات تنش اکسیداتیو می‌باشند (Abdul Jaleel *et al*., 2009). آنتی اکسیدان‌های گیاهان به دو دسته آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می‌شوند. دسته آنزیمی عبارتند از: آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، چرخه آسکوربات-گلوتاتیون، چرخه آب-آب، چرخه گلوتاتیون. اما دسته غیرآنزیمی مولکول‌هایی با وزن ملکولی پایین می‌باشند که هر یک دارای ساختار و خصوصیات شیمیایی خاص بوده و محل قرار گیری آن‌ها نیز متفاوت می‌باشد. این ترکیبات بواسطه دادن الکترون نقش اساسی در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد دارند (Abdul Jaleel *et al*., 2009). آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی به دو گروه تقسیم می‌شوند: ۱-آنتی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

اکسیدان‌های غشایی محلول در چربی نظیر کاروتنوئید ۲-آنتی اکسیدان‌های محلول در آب نظیر ترکیبات فنلی (Hayat *et al.*, 2010). در این تحقیق تحت تنش نانوذره اکسید روی، مقدار کاروتنوئیدها افزایش یافته است. نتایج حاصل از سنجش فلاونوئیدها و فنل در گاوزبان نشان داد که میزان این ترکیبات تحت تیمار نانوذره اکسید روی افزایش معنی داری داشته‌اند. ترکیبات فنلی به‌عنوان یکی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان شناخته شده‌اند که با مکانیسم‌های متعددی مثل خورندگی رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن، خاموش کردن اکسیژن یکتایی، کلات کردن یون‌های فلزی و یا قرار گرفتن به عنوان گهرمایه آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. این ترکیبات همچنین با اهداء سریع هیدروژن به رادیکال‌های لیپید از ادامه زنجیره پراکسیداسیون ممانعت می‌کنند (Sakihama *et al.*, 2002). ترکیبات فنلی در شرایط طبیعی در سلول سنتز می‌گردد اما تنش‌های محیطی یا زنده مقدار آن‌ها را در سلول تغییر می‌دهد. فلاونوئیدها نیز آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد اکسیژن را تجزیه کنند (Yamasaki *et al.*, 1997).

همچنین، Krishnaraj و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که نانوذرات نقره سنتز شده زیستی باعث افزایش محتوا ترکیبات فنلی *Bacopa monnieri* شد. از آنجا که همه این ترکیبات از سینامیک اسید مشتق می‌شوند و سینامیک اسید خود محصول عمل دآمیناز آنزیم PAL روی فنیل‌آلانین می‌باشند، به نظر می‌رسد که تغییرات در فعالیت PAL می‌تواند یکی از دلایل برای تغییر مقدار این ترکیبات در گیاهان باشد. فنیل‌آلانین آمونیالیاز آنزیم اصلی مسیر فنیل پروپانوئید می‌باشد که با دآمیناسیون تبدیل L-فنیل آلانین به ترانس سینامیک اسید را انجام می‌دهد. سینامیک اسید اولین حدواسط برای سنتز ترکیبات فنلی، آنتوسیانین، فلاونوئیدها، تانن و لیگنین می‌باشد (Singh *et al.*, 2009). تغییرات در فعالیت PAL و سایر آنزیم‌های دخیل در مسیر فنیل پروپانوئید و تجمع انواع ترکیبات فنلی می‌تواند جزء اولین مراحل پاسخ به تنش‌ها باشد. در نتیجه افزایش فعالیت و بیان PAL، ترکیبات فنلی در بافت‌های تحت تنش تجمع می‌یابند و گیاهان را علیه تنش‌های زنده و محیطی محافظت می‌نمایند. در پژوهش حاضر، تیمار نانوذرات اکسید روی منجر به افزایش فعالیت آنزیم APX و GPX در غلظت ۲۰۰ و ٤۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات شده است. اما تیمار نانوذرات بر روی فعالیت آنزیم CAT تأثیر معنی داری نداشت. موافق با نتایج ما، تحقیقات انجام شده نانوذرات نقره بر گیاه *Arabidopsis thaliana* اثر افزایشی فعالیت آنزیم‌های APX را گزارش کردند (Nair and Chung, 2015). همچنین Servin و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که نانوذرات اکسید تیتانیوم منجر به افزایش فعالیت آنزیم ASP در گیاه مورد مطالعه شد.

نتیجه گیری کلی

روش‌های سنتز سبز نانوذرات توسط عصاره مقبولیت بیشتری نسبت به بقیه روش‌های سنتز سبز دارد. در این پژوهش سنتز نانوذرات اکسید روی، توسط عصاره زیتون انجام گردید. سنتز نانوذرات اکسید روی توسط ماکزیمم جذب در طول موج ۳۷۰ نانومتر تأیید گردید و اندازه نانوذرات اکسید روی توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری، ٤۱ نانومتر تخمین زده شد. نتایج تیمار نانوذرات اکسید روی نشان داد که غلظت‌های بالاتر نانوذرات منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت‌های آنتی اکسیدانی گیاه شد. اما با وجود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، سمیت نانوذرات منجر به افزایش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون‌دآلدئید در گاوزبان شد.

منابع

Abdul Jaleel, C., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, Z., Chang-Xing, S. and Hong-Bo, R. (2009) Antioxidant defense responses: Physiological plasticity in higher plants under abiotic constrains. Acta Physiologiae Plantarum 31: 427-43.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

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

Apel, K., and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: Metabolism oxidative stress, and signaling transduction. Annual Review of Plant Biology 55: 373–399.

Dcunha, G .B., Satyanarayan, V. and Nair, P. M. (1996) Purification of phenylalanine ammonialyase from Rhodotorula glutinis. Phytochemistry 42: 17-20.

Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. and Thrope, T. A. (1981) Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid per oxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental botany 32: 93-101.

Guo, P., Cao, Y., Li, Z. and Zhao, B. (2004) Role of an endogenous nitric oxide burst in the resistance of wheat to stripe rust. Plant, Cell and Environment 27: 473-477.

Hayat, Q., Hayat, Sh., Irfan. M. and Ahmad, A. (2010) Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. Environmental and Experimental Botany 68: 14-25.

Krishnaraj, C., Jagan, E. G. and Ramachandran, S. M. (2010) Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism .Process Biochemistry 47: 651–658.

Krizek, D. T., Britz, S. J. and Mirecki, R. M. (1998) Inhibitory effect of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth. Physiologia Plantarum 103: 1-7.

Lee, C. W., Mahendra, S., Zodrow, K., Tsai, D. and Braam, P. J. J. (2010) Develop-mental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*. Environmental Toxicology Chemistry 29: 669–675.

Lozak, A., Soltyk, K., Ostapczukc, P. and Fijaleka, Z. (2002) Determination of selected trace elements in herbs and their influence. Science of the Total Environment 289:33-40.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Method Enzymology 148: 350-382.

Lin, D. and Xing, B. (2007) Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution 150: 243–250.

Rao, K. V., and Srestry, T. (2000) Antioxidative parameters in the seedlings of pigeon pea (*Cacanus cajan*) in response to Zn and Ni stresses. Plant Science 157:113–128.

Matysik, J., and Alia, D. (2002) Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plant. Current Science 82: 525–532.

Moore, M. N. (2006) Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic Environ. Environment International 32: 967–976.

Nair, P. M. G. and Chung, I. M. (2015) Physiological and molecular level studies on the toxicity of silver nanoparticles in germinating seedlings of mung bean (*Vigna radiata* L.). Acta Physiologiae Plantarum 37: 1719.

Nakano, V. and Asada, K. (1981) Hydrogen Peroxide is scavenged by ascorbate-specific Peroxidase in Spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Nohynek, G. J., Lademann, J., Ribaud, C., and Roberts. M. S. (2007) Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. Critical Reviews in Toxicology 37: 251–277.

Ostiguy, C., Roberge, M. S., Menad, L. and Endo, C. A. (2010) Best practices guide to synthetic nanoparticle management. Bibliotheque et Archives nationales 334-337.

Rajiv, P., Rajeshwari, S. and Venckatesh, R. (2013) Bio-Fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Parthenium hysterophorus* L. and its size-dependent antifungal activity against plant fungal pathogens. spectrochimica acta a mol biomol spectroscopy 112 : 384–387.

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

Roe, J. H. (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. Journal of Biological Chemistry 212: 335-343.

Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C. and Yamasaki, H. (2002) Plant phenolics antioxidant and oxidant activity: Phenolics-induced oxidative damage mediated by metal in plants. Toxicology 177: 67-80.

Sangeetha, G., Rajeshwari, S. and Venckatesh, R. (2011) Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *aloe barbadensis miller* leaf extract: Structure and optical properties. Materials Research Bulletin 46, 12:2560-2566.

Shafaghi, B., Naderi, N., Tahmasb, L. and Kamalinejad, M. (2002) Anxiolytic effect of *echium amoenum* L.in mice. Iran Journal of Pharmaceutical Research 1:37-41.

Shulaev, V. and Oliver, D. J. (2006) Metabolic and proteomic markers for oxidative stress.new tools for reactive oxygen species research. Plant Physiology 141: 367-372.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

Singh, K., Kumar, S., Rani, A., Gulati, A. and Ahoja, P. S. (2009) Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and cinnamate 4-hydroxylase (C_4H) and catechins (flavon-3-ols) accumulation in tea. Functional and Integrative Genomics 9: 125-134.

Vinash, A., Pandeyab, C., Sharda, S. and Raghvendra, S. (2010) Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. Journal of Experimental Nanoscience 5: 488–497.

Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology 64: 88-93.

Wang, C., Zhang, S. H., Wang, P. F., Hou, J., Zhang, W. J., Li, W., and Lin, Z. P. (2009) The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. Chemosphere 75: 1468–1476.

Yamasaki, M., Shakihama, Y. and Ikenara, N. (1997) Flavonoid-perioxidase reaction as a detoxification mechanism of Plant Cells against H_2O_2. Plant Physiology 115: 1405-1412.

Yuhui, M., Linglin, K., Xiao, H., Wei, B., Yayun, D., Yuliang, Z. and, Zhifang, C. (2010) Effects of rare earth oxide nanoparticles on root elongation of plants. Chemosphere 78: 273–279.

Zhang, Z., Pang, X., Duan, X., Ji, Z. L. and Jiang, Y. (2005) Role of peroxidase in anthocyanine degradation in litchi fruit pericarp. Food Chemistry 90: 47-52.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]

Investigation of toxicity of zinc oxide nanoparticles synthesized by olive extract on growth and pigments in *Borago officinalis*

Shahla Hashemi [1,2], Nazi Nadernejad[2*], Shahram Pourseyedi[3], Zahra Asrar[2]

[1]Biology Department, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran
[2]Young Researchers and Elite Club, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[3]Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran
(Received: 21/08/7 Accepted: 06/01/2018)

Abstract

The synthesis of metal nanoparticles has attracted the attention of scientists in various fields, particularly in the chemical, physical, biological and medical sciences. Using extract of plant for nanoparticle synthesis can be advantageous over other biological processes because it eliminates the elaborate process of maintaining cell cultures and can also be suitably scaled up for large-scale nanoparticle synthesis. In this study, zinc oxide (ZnO) nanoparticles were successfully synthesized from $ZnNO_3$ using Olive (*Olea europaea*). Nanoparticles were characterized with the help of Transmission electron microscopy (TEM) and UV–Visibe absorption spectroscopy. To study the effects of zinc oxide (ZnO) nanoparticles (0, 200, 400 ppm) on growth, proline and Malondialdehyde (MDA), total phenol, flavonoid, Hydrogen peroxide (H_2O_2), chlorophylls and anthocyanin content in plant of *Borago officinalis*, experiment was carried out at shahid bahonar university of Kerman University in 2014. Synthesised ZnO nanoparticles were confirmed by the absorption maxima at the wavelength of 370 nm. TEM image revealed that ZnO nanoparticles were spherical with average size 41 nm. The results of the effect of nanoparticles on *Borago officinalis* showed the plants that treated with zinc oxide (ZnO) nanoparticles, increased root and shoot length. But soluble suger, anthocyanin and CAT activity in the plants that treated with zinc oxide (ZnO) nanoparticles had no significant effect. On the other hand, Zinc oxide (ZnO) nanoparticles decreased proline and chlorophyll content. In addition, ZnO nanoparticles treatment at 400 ppm increased phenol content, H_2O_2, lipid peroxidation and APX, GPX, PAL activity. Reactive oxygen species generation was a toxicological mechanism of nanoparticles that increased H_2O_2 content and lipid peroxidation in plants. ZnO nanoparticles causing increased production of reactive oxygen species and decreased proline and chlorophyll content in *Borago officinalis.*

Keywords: ZnO, Toxicity, Pigment, Olive, *Borago officinalis*, Nanoparticles.

***Corresponding author, Email: nnnadernejad@yahoo.com**

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-16]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.12.6]