تأثیر نانوذرات نقره سنتز شده به روش زیستی بر رشد، شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه بادرنجبویه

آسیه شاه ولی بر و صدیقه اسمعیل زاده بهابادی*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل

(تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۰۸/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٦/۱۱/۰٤)

چکیده:

استفاده از نانوذرات زیستی نقش مهمی در افزایش بهره وری کشاورزی ایفا می‌کند. در سال‌های اخیر استفاده از نانوذرات در گیاهان به عنوان آفت کش‌ها، عوامل حفاظتی و مواد مغذی مورد توجه قرار گرفته است. بادرنجبویه گیاه دارویی از خانواده نعنائیان است که دارای خواص دارویی ضد باکتریایی، ضد سرطانی و ضد ویروسی است. در این پژوهش اثر غلظت های مختلف نانوذرات نقره بر برخی شاخص های فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه، در سال ۱۳۹۵ در شرایط کشت گلدانی در دانشکده علوم پایه دانشگاه زابل اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار با اعمال تیمار نانوذرات نقره در چهار غلظت (۱۰۰ppm، ٦۰، ۲۰، ۰) انجام شد. نتایج نشان داد شاخص‌های مختلف رشد از جمله وزن‌تر ریشه و ساقه، طول ریشه و ساقه و میزان پروتئین به طور معنی داری تحت تاثیر نانوذرات نقره افزایش یافت، به طوری‌که بیشترین میزان این شاخص‌ها در غلظت ppm ٦۰ نانوذرات نقره و در روز ۱۵ که تحت تاثیر نانوذرات نقره بودند مشاهده شد. همچنین میزان پرولین و کربوهیدرات تحت تاثیر غلظت‌های نانوذرات نقره در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد که بیشترین افزایش تحت تاثیر غلظت ppm ۱۰۰ نانوذرات نقره و در روز ۱۵ که تحت تاثیر نانوذرات نقره بودند مشاهده شد. میزان متابولیت‌های ثانوی از جمله فنل و فلاونوئید تحت تاثیر نانوذرات نقره در غلظت ppm ۱۰۰ نانوذرات نقره و پس از گذشت ۲۰ روز که تحت تاثیر نانوذرات نقره بودند مشاهد شده که با بیشترین افزایش همرا بوده است. حداکثر افزایش میزان آنتوسیانین تحت تاثیر غلظت ppm ٦۰ نانوذرات نقره و با گذشت ۱۵ روز که تحت تیمار نانوذرات نقره بوداست. نتایج بررسی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نشان داد، در تمام غلظت‌های نانوذرات نقره، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی افزایش یافته که وابسته به زمان بوده است. افزایش فعالیت آنزیم-های آنتی اکسیدانی (کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) تحت تاثیر نانوذرات نقره منجر به کاهش فعالیت محتوای مالون دی آلدئید (MDA) شد. براساس نتایج این تحقیق، نانوذرات نقره به عنوان محرکی مناسب جهت افزایش رشد و تولید متابولیت‌های ثانوی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: شاخص‌های فیزیولوژیکی، گیاه بادرنجبویه، متابولیت‌های ثانوی، نانوذرات نقره

مقدمه:

فناوری نانو علمی در مورد دستکاری و مهندسی مواد در مقیاس ۱-۱۰۰ نانومتر است (Dudo *et al*., 2011, Khot *et al*., 2012). نانوذرات نقره (AgNPs) معمولا شامل ۱۵۰۰۰-۲۰ اتم

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: esmaeilzadeh@uoz.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

نقره هستند (Chen and Schluesener, 2008). به علت اندازه کوچک نانوذرات و سطح تماس بیشتری که دارند، میزان چسبندگی به سطح سلولی افزایش می‌یابد که منجر به افزایش کارایی آنها می‌شود (Shah and Belozerova, 2009). کاهش اندازه مواد در حد نانومتر به دلیل افزایش نسبت سطح به حجم باعث تغییر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی‌آنها شده، به گونه ای که ویژگی‌های مواد در ابعاد نانومتری با خصوصیات آنها در ابعاد بزرگتر از نانومتر بسیار متفاوت خواهد بود (Cho *et al.*, 2005). نانوذرات نقره کاربردهای مختلفی در صنعت‌های مانند الکترونیک، علوم زیست پزشکی، صنعت داروسازی، لوازم آرایشی و بهداشتی، تصفیه آب و سیستم های کاتالیزوری دارد (Albrecht *et al.*, 2006).

نانوذرات نقره به‌دلیل اهمیت‌های زیستی و کاربردهای پزشکی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند و با استفاده از روش های مختلف فیزیکی، شیمیایی یا زیستی سنتز می شوند. نانوذرات نقره حاصل از روش‌های شیمیایی که امروزه به‌کار برده می‌شوند، به‌دلیل استفاده از مواد شیمیایی خطرناک و سمی بودن و آسیب‌های زیست‌محیطی حاصل از آنها، نگرانی‌های زیادی را ایجاد کرده‌اند. روش‌های شیمیایی تهیه این نانوذرات منجر به باقی‌ماندن مقداری از واکنشگرهای سمی و استفاده نکردن از نانوذرات حاصل در کاربردهای زیستی می‌شود. امروزه گیاهان و محصولات کشاورزی به‌عنوان منابع تجدیدپذیر و ارزان در جهت تهیه نانومواد زیستی مورد توجه خاصی قرار گرفته‌اند. در مقایسه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی، در سنتز زیستی نانوذرات از فشار، دما، انرژی بالا و مواد شیمیایی سمی استفاده نمی شود و مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست است (Velayutham *et al.*, 2013).

فناوری نانو تقریبا در تمام زمینه‌های علمی کاربرد دارد. از نانوذرات برای رشد گیاهان و کنترل بیماری‌های گیاهی استفاده می‌شود (Park *et al.*, 2006). نانوذرات اثرات مثبت و منفی بر عملکردهای مختلف گیاهان دارند (Rico *et al.*, 2011). اثر نانوذرات روی عملکرد هر سیستم زیستی، از جمله گیاهان در درجه اول به خواص فیزیکی نانوذرات، مانند اندازه، شکل، وزن، ترکیب شیمیایی، تغییرات سطح، واکنش‌پذیری (Khodakovskaya *et al.*, 2012) و غلظت نانوذرات بستگی دارد و از یک گیاه به گیاه دیگر متفاوت است. به طور کلی مطالعات محدودی در زمینه اثر نانوذرات بر گیاهان دارویی و به ویژه نانوذرات سنتز شده به روش زیستی وجود دارد. Gruyer و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که نانوذرات نقره می‌تواند اثر مثبت یا منفی روی افزایش طول ریشه داشته باشد، آنها گزارش دادند که طول ریشه در جو افزایش یافته، اما در کاهو مهار شده است. به طور مثال اثر مخلوط نانوذرات تیتانیم و سلیسیم بر روی گیاهچه سویا سنجیده شده محققین گزارش کردند که نانوذرات جوانه زنی، رشد در گیاهچه سویا افزایش داده‌اند (lu *et al.*, 2002). در پژوهشی دیگر Homaee و Ehsanpor بر گیاه سیب زمینی تحت تنش نانوذرات نقره میزان کلروفیل به طور قابل توجهی در غلظت‌های پایین افزایش و در سطوح بالاتر کاهش داشته است (Homaee and Ehsanpour, 2015). نانوذرات نقره در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برلیتر اثر مثبت بر کلروفیل a و محتویات کلروفیل کل در گیاهچه خردل (*Brassica juncea*) داشته که با ۲۵ و ۴۰ درصد افزایش همراه بوده است. گزارش شده است، گیاه نخود تحت تاثیر نانوذرات TiO_2 در شرایط کشت درون شیشه‌ای میزان متابولیت‌های ثانوی در آن افزایش پیدا کرده است (AL-Oubaidi and Kasid, 2015). اثر نانوذرات نقره بر میزان کربوهیدرات در دو گیاه لوبیا و ذرت مورد آزمایش قرار گرفته است که نتایج آن نشان داده که تا غلظت ppm ۶۰ نانوذرات نقره مقدار کربوهیدرات در هر دو گیاه افزایش داشته اما در غلظت‌های بالاتر روند کاهشی داشته است (Salama, 2012).

بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) یک گیاه چند ساله معطر متعلق به خانواده نعناعیان بومی مدیترانه (Small, 2006) و به طور گسترده‌ای در مناطق اروپای مرکزی و جنوبی و آسیا رشد می‌کند (Zargari, 1990). در ایران برای درمان سردرد، سوء هاضمه، کولیک، تهوع، کم‌خونی، سرگیچه، ضعف، آسم، برونشیت، آمنوره، نارسایی قلبی، آریتمی قلبی، بی خوابی، صرع، افسردگی، هیستری، زخم استفاده می‌شود (Anon,

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

2002). مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس بادرنجبویه شامل سیترونلال (۱۰ تا ۵۰ درصد) تشکیل می‌دهد. از ترکیبات دیگر شامل اسانس (میانگین ۰/۱ درصد با سیترال-ژرانیل و نرال، لینالول، اوژنول، سیترونلال، ژرانیول) تانن، ماده تلخ، رزین، پلی فنل‌ها، فلاونوئید، سوکسینیک اسید و رزمارینک اسید است (Awad *et al.*, 2009). اسانس آن دارای خواص ضد میکروبی، ضدباکتری، ضد ویروسی است. گیاه بادرنجبویه به دلیل تولید متابولیت های ثانوی و اهمیت بسیاری که در مصارف پزشکی، صنایع آرایشی و بهداشتی و نیز صنایع غذایی دارد، بسیار مورد توجه است. کاربرد این گیاه داروئی در تولید مواد آرایشی، بهداشتی و غذائی در جهان گسترش یافته است، بنابراین بهبود کمیت و کیفیت ویژگیهای گیاهی مواد موثره مهم موجود، امری ضروری است. جستجو در منابع نشان می دهد تا کنون گزارشی مبنی بر اثرات نانوذرات بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه بادررنجبویه وجود ندارد. لذا هدف از تحقیق تحقیق حاضر بررسی اثر غلظت های مختلف نانوذرات نقره سنتز شده به روش زیستی بر شاخص های رشد، میزان متابولیت های ثانوی، پرولین، کربوهیدرات و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی گیاه بادرنجبویه می باشد.

مواد و روش‌ها

مراحل کاشتن گیاه: این پژوهش در ر سال ۱۳۹۵ در شرایط کشت گلدانی در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم پایه دانشگاه زابل اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار با اعمال تیمار نانوذرات نقره در چهار غلظت (۱۰۰ppm، ۶۰، ۲۰، ۰) انجام شد. گلدان‌ها با مخلوطی ۳:۱ با پرلیت و ماسه اتوکلاوه شده پر شد و در هر گلدان ۱۲ بذر (تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان) در عمق ۱ سانتی متری کاشته شد. گلدان ها در اتاقک رشد (ژرمیناتور) با دمای ۲۸ درجه سانتی-گراد، ۱۶ ساعت روشنایی ۸ ساعت تاریکی و با رطوبت ۸۰-۷۰ درصد قرار داده شد. از مرحله دو برگی با محلول غذایی هوگلند تغذیه شدند. قبل از اعمال تیمار نانوذرات نقره، عمل تنک کردن گلدان‌ها انجام شد و برای هر تیمار در هر گلدان ٤ گیاه گذاشته شد و سایر گیاهان حذف شد.

بیوسنتز نانوذرات نقره و مشخصه‌های نانوذرات نقره: نانوذرات نقره از نیترات نقره با استفاده از عصاره میوه جغجغه (*Prosopis farcta*) سنتز شد. بدین منظور ابتدا عصاره آبی میوه گیاه جغجغه تهیه شد. برای سنتز نانو ذرات نقره بعد از اضافه کردن محلول نیترات نقره ۰/۰۱ مولار به عصاره آبی میوه جغجغه، ظرف مخلوط عصاره و محلول نیترات نقره در دمای اتاق و در مکان تاریک قرار گرفت تا واکنش تبدیل Ag^{+} به Ag^{0} صورت گیرد. سپس برای به‌دست آوردن نانو ذرات نقره تولید شده، محلول حاوی نانو ذرات نقره با سانتریفیوژ ٤۰۰۰ دور به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول بالای لوله را بیرون ریخته و نانو ذرات نقره که در ته لوله جمع شده‌اند را با آب مقطر دو بار تقطیر شده هم زده و دوباره سانتریفیوژ شد، این عمل ۳ بار تکرار می‌گردد تا درجه خلوص نانو ذرات نقره به‌دست آمده افزایش یابد. بیوسنتز نانوذرات نقره توسط اسپکتروسکوپی مرئی- فرابنفش، پراش پرتو ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) شناسایی و تایید شد (سالاری، ۱۳۹۵).

اعمال تیمار: نانوذرات نقره سنتز شده، در چهار غلظت (۱۰۰ppm، ٦۰، ۲۰، ۰) در مرحله ۸ برگی گیاه (۳ ماه بعد از کشت) به صورت اسپری برگی اعمال شد. انتخاب غلظت های ذکر شده بر اساس محدوده غلظت نانوذرات استفاده شده در گیاهان دارویی دیگر و به ویژه خانواده نعناعیان انتخاب گردید. در ادامه، گیاهان در روز های مختلف بعد از اعمال تیمار (۵، ۱۰، ۱۵و ۲۰ روز) برداشت شدند.

اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه: پس از هر مرحله برداشت نمونه‌های شاهد و تیمار طول ریشه از ناحیه‌ی یقه تا نوک ریشه و طول ساقه از ناحیه‌ی یقه تا نوک جوانه انتهایی با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری قطر ساقه: پس از هر مرحله برداشت ساقه گیاهان مربوط به هر گلدان از نمونه‌های شاهد و تیمار با کولیس اندازه‌گیری شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

اندازه‌گیری وزن‌تر اندام هوایی و وزن تر ریشه: در هر مرحله از برداشت وزن‌تر اندام‌های هوایی و وزن‌تر ریشه‌های گیاهان مربوط به هر گلدان با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شدند. سپس نمونه‌ها به منظور انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در دمای منفی ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند.

سنجش میزان پروتئین: غلظت مقدار پروتئین نمونه‌ها به‌روش برادفورد تعیین شد (Bradford, 1976). برای تعیین غلظت پروتئین‌های نمونه‌ها از هرعصاره پروتئینی مقدار ۵۰ میکرولیتر در لوله‌ی آزمایش ریخته و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد به آن اضافه شد و پس از ورتکس کردن، مقدارجذب آنها درطول موج ۵۹۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (مدل Jenway 6405) سنجیده شد، و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومن گاوی محاسبه و بر حسب میلی‌گرم برگرم وزن‌تر محاسبه گردید.

تعیین میزان فنل کل: برای تعیین میزان فنل کل از روش McDonald و همکاران (۲۰۰۱) استفاده گردید. پس از تهیه عصاره با حلال متانول ۷۰٪ محتوای فنل کل با استفاده از روش فولین‌سیوکالتیو اندازه‌گیری گردید. برای تعیین مقادیر ترکیبات فنلی در لوله آزمایش به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره، ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیکالتو (۱:۹) و ٤۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷ درصد اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه آنکوبه شد. پس از مدت زمان یاد شده جذب نوری آن در طول موج ۷٦۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (مدل Jenway 6405) خواند شد. جهت تعیین میزان فنل کل، منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های معلوم گالیک اسید تهیه گردید.

سنجش میزان فلاونوئید: برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۸۰٪)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید (۱۰٪)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ٤۰ دقیقه در طول موج ٤۱۵ نانومتر نسبت به بلانک توسط اسپکتروفتومتر (مدل Jenway 6405) اندازه‌گیری گردید. بلانک حاوی تمام ترکیبات ذکر شده در بالا بود اما به جای عصاره، همان حجم متانول ۸۰٪ به آن اضافه شده بود. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Chang *et al*., 2002).

اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین: برای اندازه‌گیری آنتوسیانین از روش Wagner (۱۹۷۹) استفاده شد ۰/۱گرم از وزن‌تر برگ به همراه ۱۰میلی لیتر متانول اسیدی (شامل متانول و ۱ درصد اسید کلریدریک) ساییده شد. سپس عصاره‌ی حاصل به مدت۱۰ دقیقه در ٦۰۰۰ دور سانتریفوژ (Eppendorf 5810R) شده و فاز بالای آن به مدت ۲٤ ساعت در تاریکی و در دمای آزمایشگاه نگهداری شد بعد از ۲٤ ساعت جذب هریک از نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه توسط اسپکتروفتومتر (مدل Jenway 6405) خوانده شد برای محاسبه‌ی غلظت آنتوسانین از ضرب خاموشی ($m\ M^{-1}cm^{-}$ ۳۳۰۰۰[1]) استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات: میزان کربوهیدرات به روش Dubois و همکاران (۱۹۵٦) سنجیده شد مقدار ۰/۵گرم وزن‌تر گیاه از هر تیمار توزین شد و در داخل ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به وسیله هاون خوب له گردید سپس با تنظیف صاف شد و از عصاره گیاهی حاصل ۲ میلی‌لیتر برداشته شد و به داخل یک لوله آزمایش منتقل گردید، روی آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ (v/w) ریخته شد و به آن ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک اضافه شد و کاملا مخلوط شد در نهایت به هرکدام از لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به حال خود رها شدند تا رنگ ظاهر و تثبیت شود. برای شاهد به جای عصاره گیاهی از ۲ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده گردید و مراحل فوق در مورد آن نیز اجرا شد. بعد از ظهور رنگ میزان جذب در ٤۹۰ نانومتر توسط دستگاه توسط اسپکتروفتومتر (مدل Jenway 6405) سنجیده شد. جهت محاسبه مقدار قند از منحنی استاندار تهیه شده از گلوکز استفاده خواهد شد.

سنجش میزان پرولین: میزان پرولین آزاد در قسمت‌های مختلف نمونه‌های شاهد و تیمار بر طبق روش Bates و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. برای سنجش میزان پرولین ۰/۱ گرم برگ نمونه‌ها به همراه ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد در هاون ساییده شد و به مدت ۷۲ ساعت در یخچال در دمای ٤ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا اسید آمینه‌ی پرولین آزاد شود. بعد از ۷۲ ساعت نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ (Eppendorf 5810R) شدند، سپس به ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین (شامل ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٦ مولار، ۳۰ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال و ۱/۲۵ گرم نین هیدرین) اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه (Memmert WNB22) قرار داده شد. بعد از خارج ساختن نمونه‌ها از حمام آب گرم، نمونه‌ها به وسیله‌ی یخ به سرعت سرد شدند و روی هر نمونه ٤ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به هم زده شد. بعد از تشکیل دو فاز جذب فاز رویی برای هر نمونه در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه توسط اسپکتروفتومتر (مدل Jenway 6405) خوانده شد. جهت تعیین میزان پرولین، منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های معلوم پرولین تهیه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT):سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش (۱۹۸٤) Aebi انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار(pH=۷) محتوی ۰/۲میلی‌لیتر H_2O_2 ۱درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره‌ی استخراجی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲٤۰ نانومترتوسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Jenway 6405) محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی (Mm^{-1} cm $^{-1}$ ۰/۰٤۳٦) استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز(GPX): سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷) محتوی ۱ میلی‌لیتر گایاکول پراکسیداز ۱ درصد، ۱ میلی‌لیتر H_2O_2 ۱درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره‌ی استخراجی بود. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به صورت افزایش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ٤۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (مدل Jenway 6405) محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ($Mm^{-1}\,cm^{-1}$ ۲٦/٦) استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX): سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (با اسیدیته ۷) محتوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی مولار، ۰/۳ میلی‌لیتر H_2O_2 ۱ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به صورت کاهش در جذب H_2O_2 طی ۱ دقیقه در طول موج ۲٤۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر (مدل Jenway 6405) محاسبه شد ($mM^{-}\,cm^{-1}$ ۲/۸[1] = ضریب خاموشی).

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپید: اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی به وسیله تست تیوباربیتوریک اسید (TBAT) با سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید انجام شد. ۰/۲ گرم بافت تر برگ و ریشه در ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک‌اسید (TCA) ۰/۱ درصد همگن شده سپس عصاره‌ی حاصل به فالکون انتقال یافته و به مدت ۵ دقیقه در g ٦۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی ٤ میلی‌لیتر کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک‌اسید بود اضافه شد. مخلوط فوق به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۵ درجه سانتی گراد)، انکوبه گردیدند. سپس مخلوط حاصل بلافاصله در حمام یخ سرد شد و بعد از آن در سرعت ٦۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Eppendorf 5810R) گردید. میزان جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر تعیین و جذب ویژه در ٦۰۰ نانومتر از آن کسر شد. غلظت مالون‌دی-آلدئید (MDA) با استفاده از ضریب تصحیح ($\mu\ mol^{-1}\ cm^{-1}$) ۰/۱۵۵ محاسبه و براساس واحد میکرومول‌برگرم وزن‌تر ($\mu mol\ g^{-1}$ FW) بیان شد (Heath and Packer, 1968).

آنالیز آماری داده‌ها: برای کاهش خطا، نمونه برداری و آزمایش‌ها به صورت ۳ تکرار انجام شد. آنالیز داده‌های آماری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

بر اساس مدل طرح پایه بلوک‌های کاملا تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS با تجزیه‌ی واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح احتمال آماری P<0.05 انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار EXCEL سری ۲۰۱۳ رسم شدند.

نتایج:

سنتز زیستی نانوذرات نقره و ویژگی‌های آن: نانوذرات نقره با استفاده از عصاره میوه جغجغه با روش زیستی سنتز شدند. نانوذرات نقره به‌دست آمده به فرم کروی و با میانگین اندازه ذرات ۱۲/٦۸ نانومتر بود (شکل ۱).

اثر نانوذرات بر رشد و نمو گیاه بادرنجبویه: طول ریشه: طول ریشه گیاه بادرنجبویه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره در روزهای ۱۰ و ۱۵ برداشت که تحت تیمار نانوذرات نقره بودند، طول ریشه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره نسبت به کنترل افزایش داشت به طوری که بیشترین میزان افزایش طول ریشه در روز ۱۵ و در غلظت ٦۰ppm نانوذرات نقره مشاهده شد (شکل ۲a). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که طول ساقه تحت تاثیر تمام غلظت‌های نانوذرات نقره (ppm ۱۰۰ و ٦۰ و ۲۰) در روزهای ۱۰ و ۱۵و ۲۰ به طور معنا داری نسبت به شاهد افزایش یافت. بیشترین افزایش طول ساقه نسبت به شاهد مربوط به غلظت ٦۰ ppm نانوذرات نقره با اندازه (cm ۲۱) و پس از گذشت ۱۵ روز مشاهده شد (شکل ۲b). بیشترین میزان افزایش قطر ساقه تحت تاثیر غلظت ٦۰ ppm نانوذرات نقره و در روز ۱۵ پس از برداشت مشاهد شد (شکل ۲c). نتایج تحقیق حاضر نشان داد وزن اندام هوایی در روز ۱۵ پس از برداشت وزن اندام هوایی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (ppm ۱۰۰، ٦۰، ۲۰) نسبت به شاهد افزایش داشت که این افزایش از لحاظ آماری معنادار بوده، به طوری که بیشترین افزایش وزن اندام هوایی مربوط به غلظت ٦۰ ppm نانوذرات نقره بود (شکل ۳a). نتایج تحقیق حاضر نشان داد وزن اندام هوایی در روز ۱۵ پس از برداشت وزن اندام هوایی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (ppm ۱۰۰، ٦۰، ۲۰) نسبت به شاهد افزایش داشت که این افزایش از لحاظ آماری معنادار بوده، به طوری که بیشترین افزایش وزن اندام هوایی مربوط به غلظت ٦۰ ppm نانوذرات نقره بود (شکل ۳a).

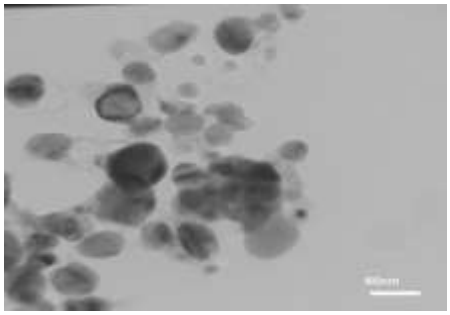
اثر نانوذرات بر پروتئین گیاه بادرنجبویه: در پژوهش حاضر گیاه بادرنجبویه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (ppm ۱۰۰، ٦۰، ۲۰) هیچ تغییری در میزان پروتئین در مقایسه با شاهد در روز ۵ مشاهده نشد. با این حال میزان پروتئین در روز ۱۰ تحت تیمار نانوذرات نقره در غلظت‌های ppm ۱۰۰ و ٦۰، نانوذرات نقره به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش یافت. بیشترین مقدار پروتئین در گیاه بادرنجبویه تحت تنش نانوذرات نقره در غلظت ٦۰ ppm و ۱۰۰ نانوذرات نقره و در روز ۱۵ تحت تیمار نانوذرات نقره مشاهده شد (شکل ۳c).

اثر نانوذرات نقره بر میزان متابولیت‌های ثانوی: میزان فنل در تمام غلظت‌ها نانوذرات نقره (ppm ۲۰، ٦۰، ۱۰۰) و زمان مختلف (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ روز) در مقایسه به شاهد افزایش داشته که حداکثر این افزایش مربوط به روز ۲۰ که تحت تیمار نانوذرات نقره بوده و غلظت ppm ۱۰۰ نانوذرات نقره می‌باشد و کمترین میزان فنل مربوط به گروه شاهد می‌باشد (شکل ٤a). نانوذرات نقره منجر به افزایش فلاونوئید در تمام غلظت‌ها نانوذرات نقره (ppm ۱۰۰، ٦۰، ۲۰) و در زمان‌های مختلف (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ روز) نسبت به گروه شاهد شده که از نظر آماری این افزایش در سطح ($p\leq0.05$) معنی دار بود و در روز ۲۰ تحت تیمار نانوذرات نقره تمام غلظت‌ها (ppm ۱۰۰، ٦۰، ۲۰،۰) نانوذرات نقره حداکثر افزایش را داشتند و کمترین میزان فلاونوئید در گروه شاهد مشاهد شد (شکل ٤b). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد در غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (ppm ۱۰۰، ٦۰، ۲۰) در روزهای مختلف باعث افزایش میزان آنتوسیانین در مقایسه با شاهد شده است (شکل ٤c).

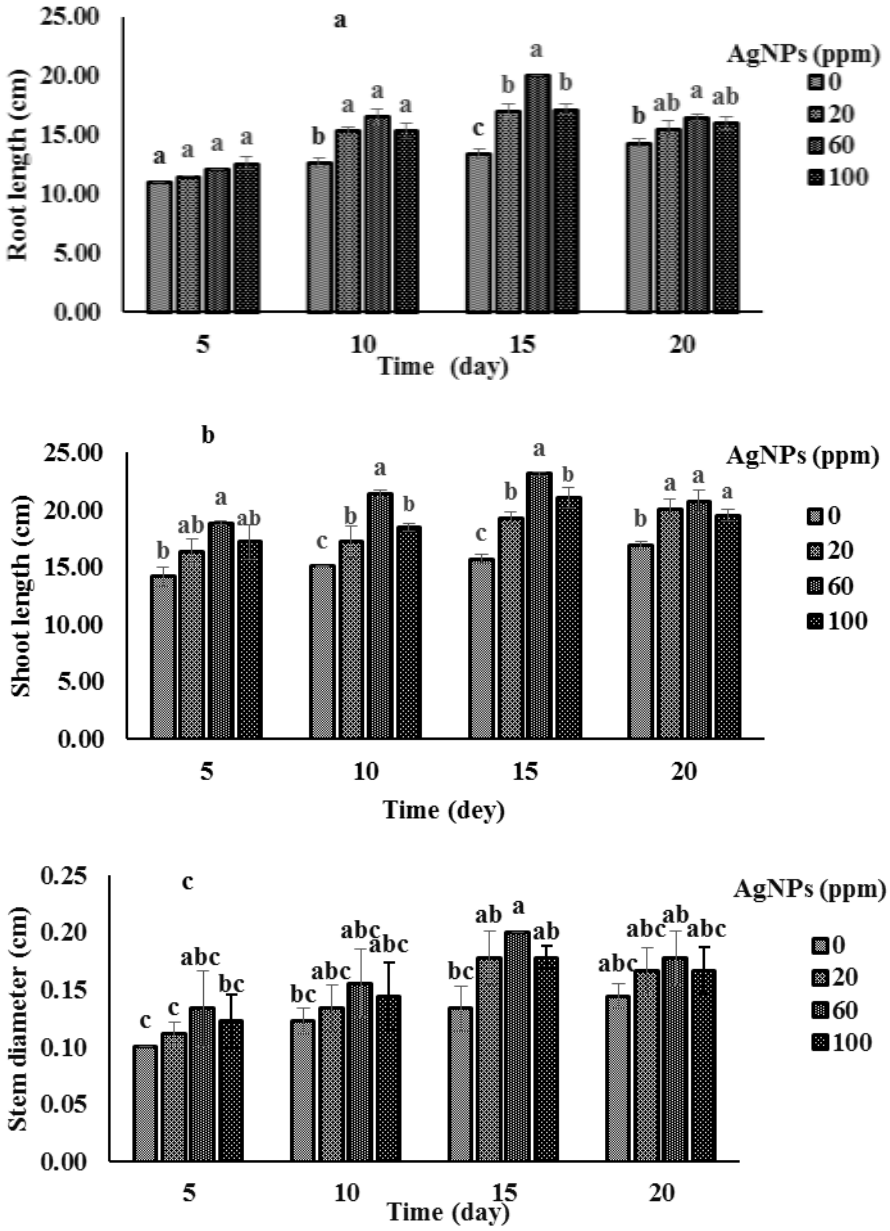
اثر نانوذرات نقره بر میزان کربوهیدرات گیاه بادرنجبویه: همان طور که در شکل ۵a نشان داده شده است، میزان کربوهیدرات در روزهای ۵ و ۱۰ تحت تاثیر نانوذرات نقره به طور معنی داری در غلظت‌های ppm ۱۰۰ و ٦۰

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]



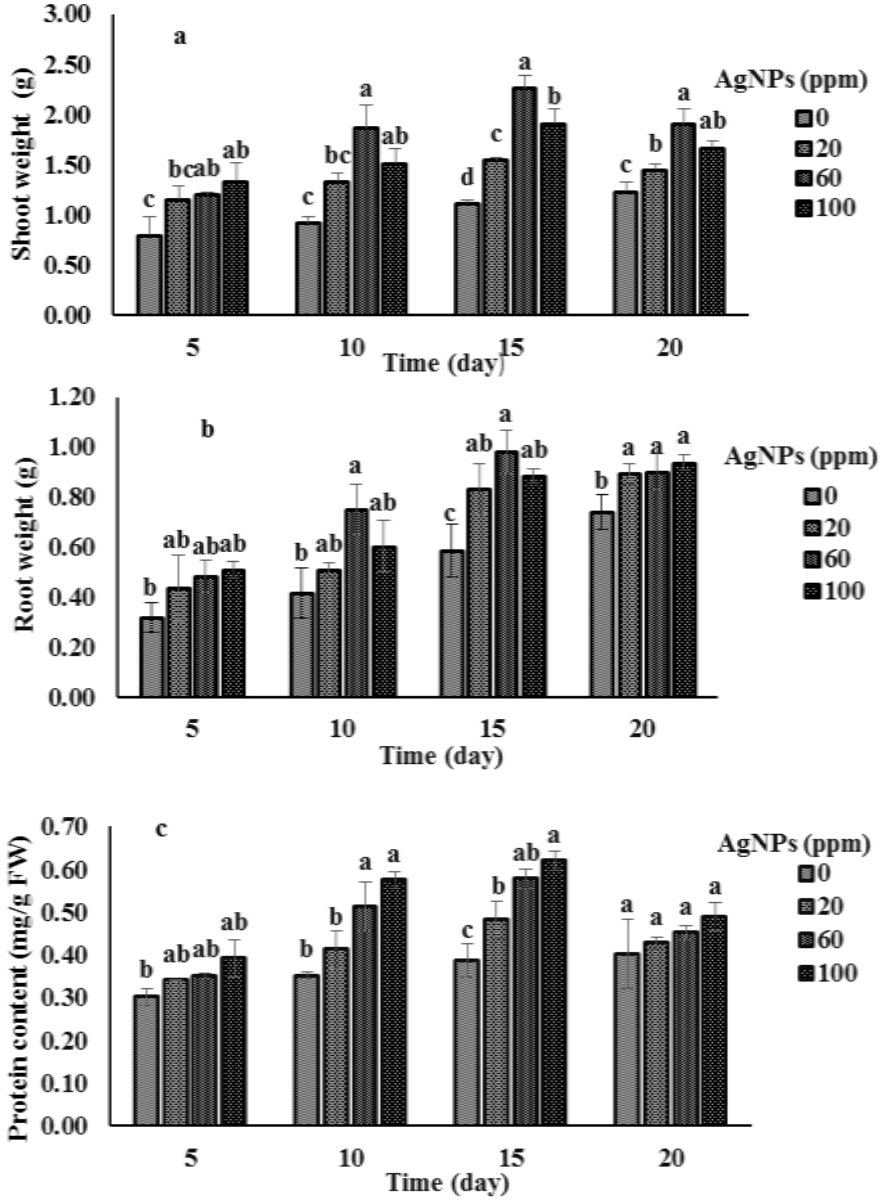
شکل ۱- تصویر نانوذرات نقره سنتز شده به روش زیستی با استفاده از میکروسکوپ TEM



شکل۲ - اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر پارامترهای رشد (طول ریشه a، طول ساقه b، قطر ساقه c گیاه بادرنجبویه. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE ± (انحراف معیار) می‌باشد. میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر تیمار در یک زمان برداشت از نظر آماری در سطح ($p\leq0.05$) تفاوت معنی‌دار ندارند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]



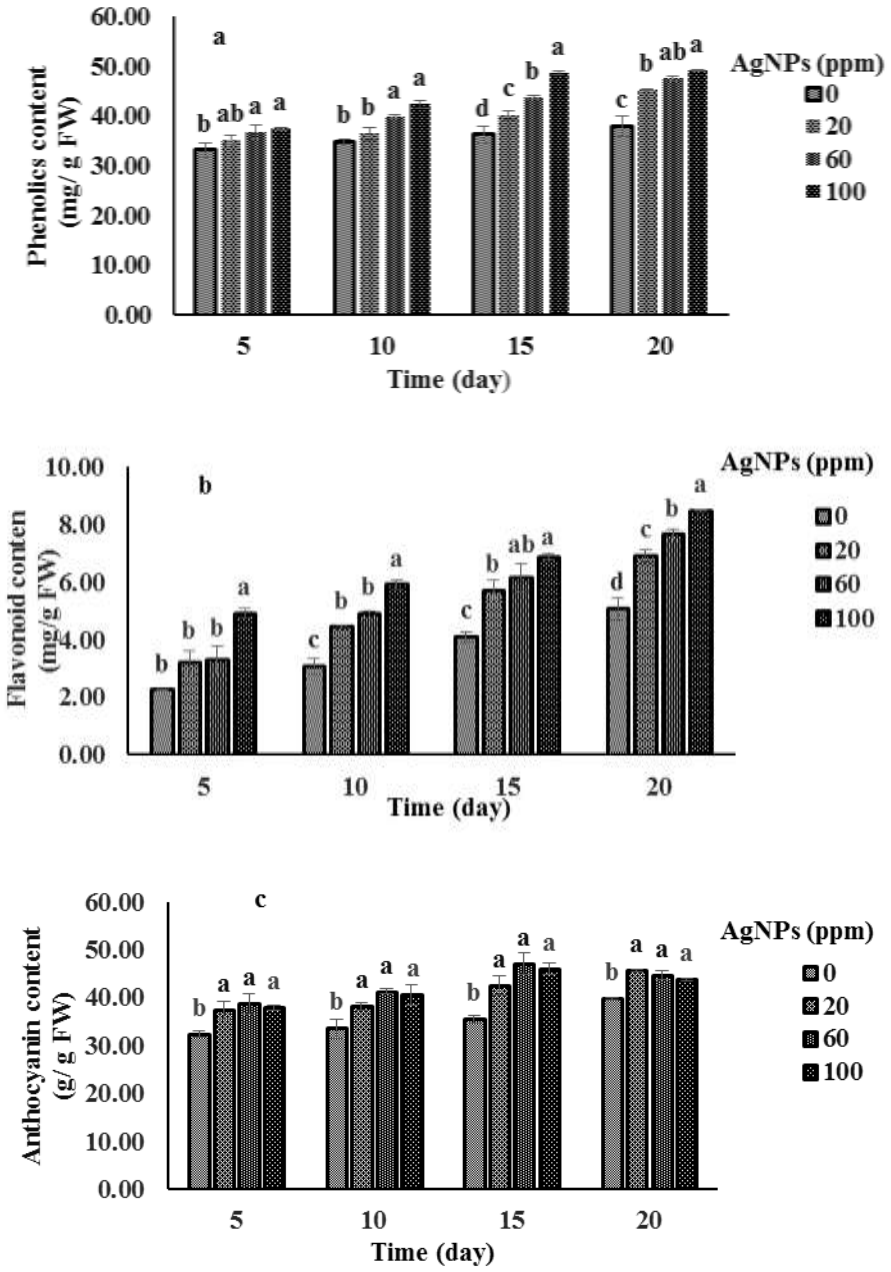
شکل۳ - اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر پارامترهای وزن اندام هوایی a، وزن‌تر ریشه b) و میزان پروتئین (c) گیاه بادرنجبویه. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE ± (انحراف معیار) می‌باشد. میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر تیمار در یک زمان برداشت از نظر آماری در سطح ($p\leq0.05$) تفاوت معنی‌دار ندارند.

نانوذرات نقره در مقایسه با شاهد افزایش یافت. میزان کربوهیدرات با افزایش غلظت نانوذرات نقره در روز ۱۵ نسبت به شاهد افزایش یافت. در روز ۲۰ غلظت ppm ۱۰۰ نانوذرات نقره نسبت به شاهد افزایش یافته بود.

اثر نانوذرات نقره بر میزان پرولین گیاه بادرنجبویه: براساس مقایسه میانگین داده‌ها میزان پرولین در تمام روزهای تحت تیمار نانوذرات نقره در اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (ppm ۱۰۰، ٦٠، ۲۰) نسبت به شاهد افزایش نشان داد. بیشترین اثر نانوذرات نقره بر میزان پرولین تحت تاثیر غلظت ppm ۱۰۰ و در روز ۱۵ مشاهده شد (شکل ٥b).

اثر نانوذرات نقره بر میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی: براساس نتایج تحقیق حاضر بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در روزهای ۱۵ و ۲۰ که تحت تاثیر غلظت ppm ۱۰۰ نانوذرات نقره در مقایسه با شاهد مشاهده گرددید (شکل ٦a). براساس

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

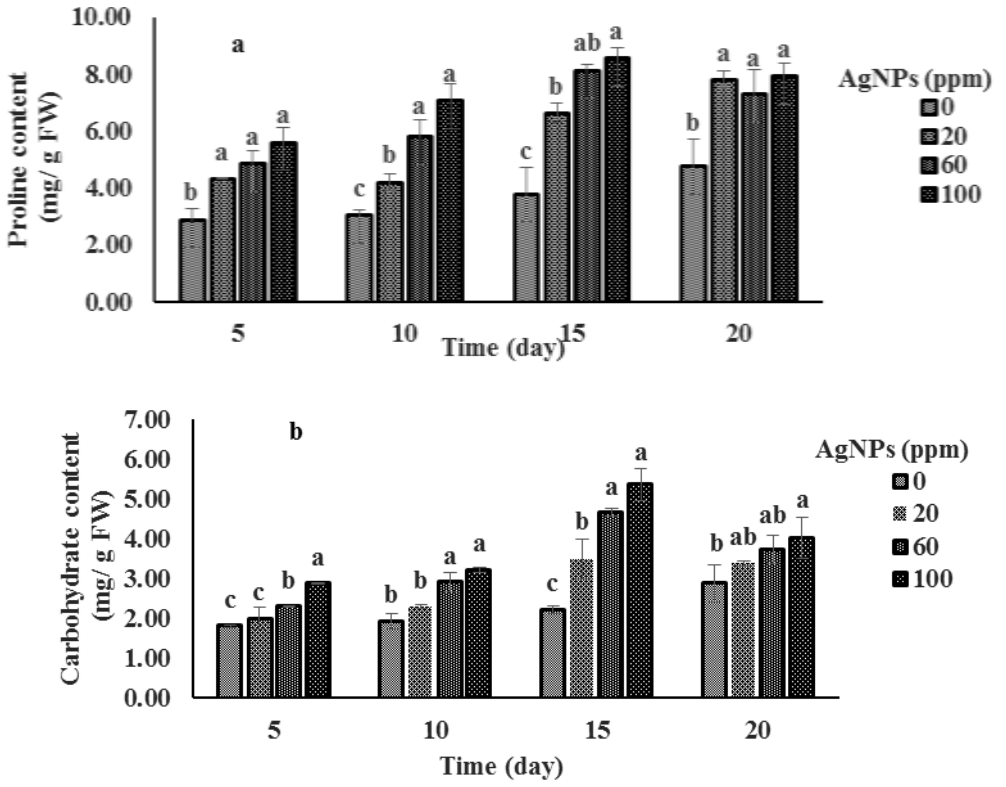


شکل ٤- اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر میزان متابولیت‌های ثانوی (فنل a، فلاونوئید b، آنتوسیانین c) گیاه بادرنجبویه. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE ± (انحراف معیار) می‌باشد. میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر تیمار در یک زمان برداشت از نظر آماری در سطح ($p\leq0.05$) تفاوت معنی‌دار ندارند.

نتایج تحقیق حاضر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات در روزهای ۱۵ و ۲۰ نسبت به شاهد به طور معنی داری افزایش پیدا کرد به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در روزهای ۱۵ و ۲۰ تحت تاثیر غلظت ppm ۱۰۰ مشاهده شد (شکل ٦b). میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ گیاه بادرنجبویه در نمونه‌های شاهد گیاه بادرنجبویه در طی دوره رشدی افزایش نشان داد (شکل ٦c).

اثر نانوذرات بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی (MDA): بررسی‌ها نشان داد که میزان MDA در تمام غلظت‌ها نانوذرات نقره (ppm ۱۰۰، ٦٠ ، ٢٠) در روزهای ۵ و ۱۰ در مقایسه با شاهد افزایش داشته که این افزایش در سطح ($p\leq0.05$) معنی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]



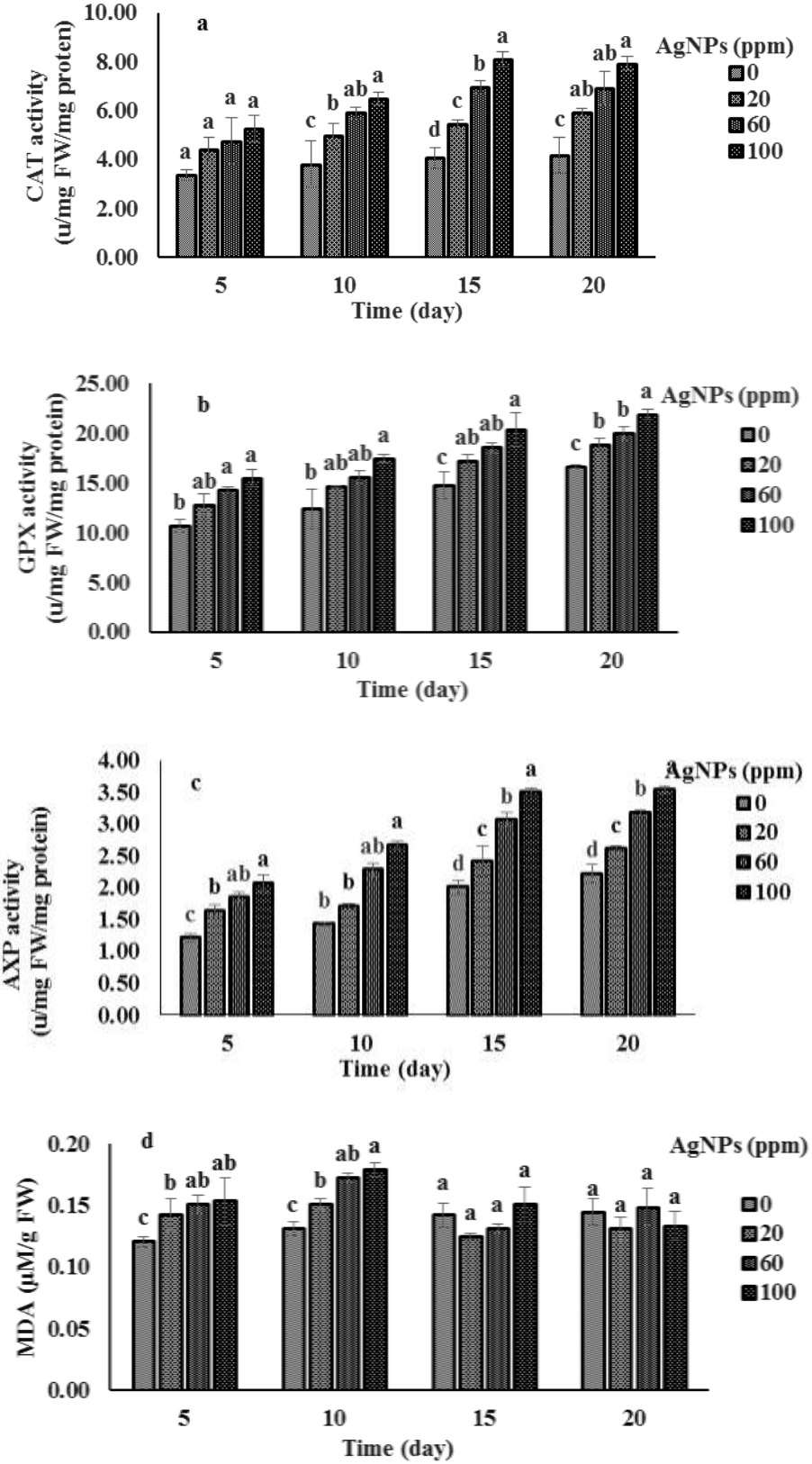
شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر میزان پرولین (a) و میزان کربوهیدرات (b) گیاه بادرنجبویه. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE ± (انحراف معیار) می‌باشد. میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر تیمار در یک زمان برداشت از نظر آماری در سطح ($p\leq0.05$) تفاوت معنی‌دار ندارند.

دار بود. اما در روز ۱۵ تحت تیمار میزان MDA در غلظت‌های ppm ۲۰ و ۶۰ نانوذرات نقره نسبت به شاهد کاهش نشان داد (شکل 6d).

بحث

در مطالعه حاضر تاثیر نانوذرات نقره که به روش زیستی سنتز شده، بر رشد گیاه بادرنجبویه بررسی شد. غلظت ppm۶۰ نانوذرات نقره و در زمان ۱۵ روز بعد از تیمار بیشترین تاثیر را بر رشد داشت. در بررسی انجام گرفته شده روی گیاه کلم راپا نانوذرات نقره که به روش زیستی سنتز شده در غلظت‌های پایین به عنوان محرک رشد عمل کرده و در غلظت‌های بالا باعث مهار رشد گیاه شلغم (*Brassica rapa ssp.*) شده است (Baskar *et al.*, 2015). مطالعه Salama (۲۰۱۲) روی گیاه ذرت و لوبیا نشان داد که نانوذرات نقره در غلظت ppm ۶۰ سبب افزایش رشد در گیاهان می‌شود اما در غلظت‌های بالاتر از آن اثر مهاری بر روی رشد گیاه دارد. نانوذرات نقره که به روش زیستی سنتز شده بوده در گیاه سنبل آبی باعث افزایش رشد در غلظت‌های ۱ و ۱۰۰ میلی‌گرم برلیتر شده است در حالی که در غلظت ۱۰ میلی‌گرم برلیتر باعث کاهش رشد گیاه شده است (Rani *et al.*, 2016). این افزایش رشد می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، مانند سیتوکنین‌ها و جیبرلین‌ها باشد (Stampoulis *et al.*, 2009). بنابراین اثرات نانوذرات نقره بسته به غلظت نانوذرات و نوع گونه گیاهی بر رشد متفاوت است. میزان پروتئین در گیاهان بادرنجبویه منجر به افزیش رشد در گیاه می‌شود که نشان دهنده این است محتوی پروتئین درونی گیاه عاملی مهمی در کنترل رشد گیاه می‌باشد. بیوسنتز نانوذرات نقره به روش زیستی منجر به افزایش پروتئین در گیاه بادرنجبویه شد که نتایج این تحقیق با نتایج Krishnaraj و همکاران (۲۰۱۲) بر روی گونه *Bacopa monnieri* میزان پروتئین افزایش داشته

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]



شکل ٦- اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (آنزیم کاتالاز (a)، آنزیم گایاکول پراکسیداز (b) آنزیم آسکوربات پراکسیداز (c) میزان MDA (d) گیاه بادرنجبویه. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SE ± (انحراف معیار) می‌باشد. میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر تیمار در یک زمان برداشت از نظر آماری در سطح ($p\leq0.05$) تفاوت معنی دار ندارند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

است مطابقت دارد. علاوه بر این، Anusuya و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند که نانوذرات نقره-کیتوزان به طور قابل توجهی میزان پروتئین کل را در گیاهچه نخود افزایش می‌دهد. بنابراین تغییرات میزان پروتئین بستگی به غلظت نانوذرات نقره استفاده شده در گیاه مورد مطالعه دارد.

مقدار فنل در گیاه گوجه فرنگی در تمام غلظت نانوذرات نقره در مقایسه با شاهد افزایش یافته بود (Mehrian and Karimi, 2017). مشتقات فنلی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی دخیل هستند که به تعداد گروه‌های هیدروکسیلی موجود در مولکول بستگی دارد. علاوه بر این، ساختارهای فنلی می توانند به عنوان عامل‌های فلز زدا عمل کنند (Michalak, 2006)، که باعث کاهش ROS و رادیکال‌های لیپیدی می‌شود. میزان فلاونوئید در کالوس گیاه *Satureja khuzestanica* تحت تاثیر نانولوله‌های کربنی چند دیواره به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش داشته است (Ghorbanpour and Hadian, 2015). Aghajani و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که نانوذرات نقره می‌تواند مراحل رشد گیاه و مقدار متابولیت‌های ثانوی را تغییر دهد. فلاونوئیدها ترکیبات پلی فنولیکی و از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند. فلاونوئیدها نقش حفاظتی در برابر رادیکال‌های آزاد دارند (Agati *et al*., 2007)، زیرا تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را مهار می‌کنند و آنها را خذف می‌کند (Rice-Evans *et al*., 1997). نتایج Homaee و Ehsanpor در سال (۲۰۱۵) نشان داده که میزان آنتوسیانین درگیاه سیب زمینی تحت تاثیر غلظت ۲ میلی‌گرم برلیتر نانوذرات نقره نسبت به شاهد افزایش داشت. آنتوسیانین دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است که از سلول‌ها در برابر ROS محافظت می‌کند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد میزان آنتوسیانین تحت تاثیر نانوذرات نقره افزایش یافت.

براساس نتایج حاصل از این تحقیق نانوذرات نقره باعث افزایش میزان کربوهیدرات در گیاه بادرنجبویه شده، که نتایج تحقیقات محققین نشان داده که در گونه‌های *Eichhornia crassipes* میزان کربوهیدرات افزایش یافته بود (Rani *et al*., 2016). افزایش میزان کربوهیدرات در شرایط تنش باعث محافظت از سلول‌های گیاهی از طریق تنظیم اسمولاریته داخلی، نگهداری تورژسانس و همچنین پایداری غشاها و پروتئین‌ها می‌شود (Bohnert *et al*., 1995). پرولین با افزایش فعالیت آنزیم‌ها آنتی‌اکسیداتیو، و با خذف فعالیت اکسیژن واکنش پذیر (ROS)، مقاومت گیاه به استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد، بنابراین باعث حفظ فعالیت ردوکس می‌شود (Matysik *et al*., 2002). میزان پرولین در گیاه گندم تحت تاثیر نانوذرات نقره با افزایش غلظت در مقایسه با شاهد به طور معنی داری افزایش یافته که حداکثر افزایش درغلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برلیتر بوده است (Karimi and Mohsenzadeh, 2017). بنابراین به نظر می‌رسد در گیاه میزان پرولین به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر استرس اکسیداتیو عمل می‌کنند با افزایش غلظت نانوذرات نقره افزایش می‌یابد.

کاتالاز یکی از مهم‌ترین اجزای مکانیسم حفاظت کننده در گیاه است که در میتوکندری و پراکسی‌زوم وجود دارد (Gupta *et al*., 2009)، و نقش مهمی در پاک سازی رادیکال‌های آزاد خصوصا تولید پراکسید هیدروژن در طول تنفس نوری و شرایط تنش دارد (Bowler *et al*., 1992). نتایج Sharma و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافته و در نتیجه میزان ROS کاهش می‌یابد. آنزیم آسکوربات پراکسیداز یکی از مهم‌ترین پراکسیداز در رفع سمیت H_2O_2 هم در سیتوزول و هم در کلروپلاست‌هاست (Mittova *et al*., 2000). نتایج پژوهش Sharma و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با افزایش غلظت نانوذرات نقره در گیاه خردل افزایش نشان داده است. Sharma و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که نانوذرات نقره باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شده است. این افزایش مشاهده شده در فعالیت‌های آنزیمی می‌تواند یکی از مکانیسم‌های اصلی حفاظت در مقابل افزایش تولید ROS باشد. فعالیت آنزیم ممکن است تغییر کند که به غلظت، نوع نانوذرات و مدت زمانی که تحت تاثیر آن قرار می‌گیرد بستگی دارد (Movafeghi *et al*., 2017). رادیکال‌های آزاد اکسیژن با اثر بر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع در غشاء، واکنش های زنجیرهای پراکسیداسیون را تحریک و منجر به تخریب اسیدهای چرب می‌شوند (Savoure *et al*., 1999). کاهش میزان MDA تحت تاثیر غلظت‌های ppm ۲۵ و ۵۰ نانوذرات نقره در مقایسه با شاهد گزارش شده است (Sharma *et al* ., 2012). MDA که در بافت‌ها تحت شرایط تنش بوجود می‌آید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها شناخته شده است. به نظر می‌رسد کاهش میزان MDA در روزهای ۱۵ و ۲۰ تحت تاثیر نانوذرات نقره به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی باشد.

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر، شاخص‌های رشد و پاسخ‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه بادرنجبویه تحت تاثیر غلظت های مختلف نانوذرات نقره در زمان‌های مختلف برداشت بررسی شد. نتایج تحقیق حاضر نشان دادکه نانوذرات نقره که به روش زیستی سنتز شده باعث افزایش رشد و تولید متابولیت‌های ثانوی گردید. غلظت ppm ۶۰ نانوذرات نقره در روز ۱۵ پس از برداشت باعث بیشترین میزان شاخص‌های مختلف رشد ازجمله طول ریشه و ساقه، وزن‌تر ریشه و ساقه ومیزان پروتئین گردید. نتایج نشان داد، افزایش مقدار پرولین، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، نشان دهنده فعال شدن سیستم دفاعی گیاه برای کاهش پراکسیداسیون لیپید تحت تاثیر نانوذرات نقره بود .بر اساس نتایج این تحقیق، نانوذرات نقره به عنوان محرکی مناسب جهت افزایش رشد و تولید متابولیت‌های ثانوی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه زابل انجام شده است (شماره گرنت: UOZ-GR-9618-20).

منابع

سالاری تجدانو، س. ۱۳۹۵. سنتز نانوذرات نقره با استفاده از میوه گیاه جغجغه . پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه زابل، زابل ایران.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in enzymology 105: 121-126.

Agati, G., Matteini, P., Goti, A. and Tattini, M. (2007) Chloroplast-located flavonoids can scavenge singlet oxygen. New Phytologist 174: 77-89.

Aghajani, Z., pourmeidanI, A. and EkhtiyarI, R. (2013) Effect of nano-silver on stages of plant growth and yield and composition of essential oil of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen. African Journal of Agricultural Research 8: 707-710.

Albrecht, M. A., Evans, C. W. and Raston, C. L. (2006) Green chemistry and the health implications of nanoparticles. Green Chemistry *8*: 417-432.

AL-Oubaidi, H. K. M. and Kasid, N. M. (2015) Increasing (phenolyic and flavonoids compounds of *Cicer arietinum L.* from embryo explant using titanium dioxide nanoparticle in vitro. world journal pharmaceutical research 4:1791–1799.

Anon, N. (2002) Iranian herbal pharmacopoeia. Tehran: Ministry of Health Publication 1: 114-121.

Anusuya, S. and Banu, K. N. (2016) Silver-chitosan nanoparticles induced biochemical variations of chickpea (*Cicer arietinum L.*). Biocatalysis and Agricultural Biotechnology *8*: 39-44.

Awad, R., Muhammad, A., Durst, T., Trudeau, V. L. and Arnason, J. T. (2009) Bioassay-guided fractionation of lemon balm (*Melissa officinalis L.*) using an in vitro measure of gaba transaminase activity. Phytotherapy Research 23:1075-1081.

Baskar, V., Venkatesh, J. and Park, S. W. (2015) Impact of biologically synthesized silver nanoparticles on the growth and physiological responses in *Brassica rapa ssp*. Pekinensis. Environmental Science and Pollution Research 22: 17672-17682.

Bates, L. S., Waldron, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205–208.

Bohnert, H. J., Nelson, D. E. and Jensen, R. G. (1995) Adaptations to environmental stresses. The plant cell *7*: 1099-1111.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. Analytical Biochemistry 72:248–254.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, Journal of Food and Drug Analysis 10: 178-182.

Chen, X. and Schluesener, H. J. (2008) Nanosilver: a nanoproduct in medical application. Toxicol Lett 176: 1 -12.

Cho, K. H., Park, J. E., Osaka, T. and Park, S. G. (2005) The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. Electrochimica Acta 51: 956-960.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28: 350-6

Dudo, A., Choi, D. and Scheufele, D. A. (2011) Food nanotechnology in the news. Coverage patterns and thematic emphases during the last decade. Appetite 56: 78-89.

Ghorbanpour, M. and Hadian, J. (2015) Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant satureja khuzestanica grown in vitro. *Carbon 94*: 749-759.

Gruyer, N., Dorais, M., Bastien, C., Dassylva, N. and Triffault-Bouchet, G. (2013) Interaction between sliver nanoparticles and plant growth. In: International symposium on new technologies for environment control, energy-saving and crop production in greenhouse and plant factory–greensys, Jeju, Korea, 6–11 Oct.

Gupta, M., Sharma, P., Sarin, N. B. and Sinha, A. K. (2009) Differential response of arsenic stress in two varieties of *brassica juncea l*. Chemosphere 74: 1201-1208.

Heath, R.L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archves of Biochemistry and Biophysics, 125:189–198.

Homaee, M. B. and Ehsanpour, A. A. (2015) Physiological and biochemical responses of potato (*Solanum tuberosum*) to silver nanoparticles and silver nitrate treatments under in vitro conditions. Indian Journal of Plant Physiology 20: 353-359.

Karimi, J. and Mohsenzadeh, S. (2017) Physiological Effects of Silver Nanoparticles and Silver Nitrate Toxicity in *Triticum aestivum*. Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science 41: 111-120.

Khodakovskaya, M. V., de Silva, K., Biris, A. S., Dervishi, E. and Villagarcia, H. (2012) Carbon nanotubes induce growth enhancement of *tobacco* cells. ACS Nano 6:2128.

Khot, L. R., Sankaran, S., Maja, J. M., Ehsani, R., and Schuster, E. W. (2012) Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: a review. Crop protection *35*: 64-70.

Krishnaraj, C., Jagan, E. G., Ramachandran, R., Abirami, S. M., Mohan, N. and Kalaichelvan, P. T. (2012) Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri (Linn.)* Wettst. Plant growth metabolism. Process Biochemistry 47: 651-658.

Lu, C. M., Zhang, C. Y., Wen, J. Q. and Wu, G.R. (2002) Effects of nano material on germination and growth of *soybean*. Soybean Science 21:168-171.

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

McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M. and Robards, K**.** (2001) Phenolic content and antioxidant activity of *olive* extracts. Food chemistry 73: 73-84.

Mehrian, S. K. and Karimi, N. (2017) Biological testing of the chemically synthesized silver nano-particles for nitrate, chloride, potassium and sodium contents, and some physiological and biochemical characteristics of *tomato* plants. Indian Journal of Plant Physiology *22*: 48-55.

Michalak, A. (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies 15: 523–530.

Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. and Tal, M. (2000) Activities of SOD and the ascorbate-glutathione cycle enzymes in subcellular compartments in leaves and roots of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative lycopersicon pennellii. Physiologia Plantarum, 110: 42-51.

Movafeghi, A., Khataee, A., Abedi, M., Tarrahi, R., Dadpour, M. and Vafaei, F. (2017) Effects of TiO_2 nanoparticles on the aquatic plant spirodela polyrrhiza: Evaluation of growth parameters, pigment contents and antioxidant enzyme activities. Journal of Environmental Sciences.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Park, H. J., Kim, S. H., Kim, H. J. and Choi, S. H. (2006) A new composition of nanosized silica-silver for control of various plant diseases. The plant pathology journal 22: 295-302.

Rani, P. U., Yasur, J., Loke, K. S. and Dutta, D. (2016) Effect of synthetic and biosynthesized silver nanoparticles on growth, physiology and oxidative stress of water hyacinth: *Eichhornia crassipes (mart)* solms. Acta physiologiae plantarum 38: 58.

Rice-Evans, C., Miller, N. and Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in plant science *2*: 152-159.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

Rico, C. M., Majumdar, S., Duarte-Gardea, M, Peralta-Videa, J. R. and GardeaTorresdey, J. L. (2011) Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. Journal of agricultural and food chemistry 59:3485–3498.

Salama, H. M. H. (2012) Effects of silver nanoparticles in some crop plants, scavenging and anti-inflammatory properties of STW 5 (Iberogast®) and its components. Phytomedicine 13: 36-44.

Savoure, A. et al. 1999. Nacl and cuso4 treatments trigger distinct oxidative defence mechanisms in nicotiana plumbaginifolia l. Plant, Cell & Environment, 22: 387-396.

Shah, V. and Belozerova, I. (2009) Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds. Water, Air, and Soil Pollution 197: 143-148.

Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K. and Arora, S. (2012) Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. Applied biochemistry and biotechnology 167: 2225-2233.

Small, E. (2006). *Culinary herbs*. NRC Research Press.

Stampoulis, D., Sinha, S. K. and White, J. C. (2009) Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. Environmental science & technology 43: 9473-9479.

Updhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N. and Smidth, B. N. (1985) Effect of paclobutrazol on the activies of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Journal of Plant Physiology 121: 453-461.

Velayutham, K., *et al*. (2013) SivaLarvicidal activity of green synthesized silver nanoparticles using bark aqueous extract of *Ficus racemosa* against *Culex quinquefasciatus* and *Culex gelidus*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 6 : 95-101.

Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. Journal of Plant Physiology 64: 88-93.

Wang, J., *et al*. (2013) Phytostimulation of poplars and Arabidopsis exposed to silver nanoparticles and Ag^{+} at sublethal concentrations. Environmental Science & Technology 47: 5442-5449.

Zargari, A. I. (1990) Medicinal plants. Tehran: Tehran University Press 1: 77–81.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]

The effect of silver nanoparticles synthesized by biological method on on growth, physiological and biochemical properties of *Melissa officinalis* L.

Asiyeh shavalibor[1] and Sedigheh Esmaeilzadeh Bahabadi*[1]

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran.
(Received: 21/11/2017, Accepted: 24/01/2018)

Abstract

Using bio nanoparticles plays an important role in increasing agricultural productivity. In recent years, the use of nanoparticles in plants has been considered as pesticides, protective agents and nutrients. *Melissa Officnalis* L. is a medicinal plant of the family of Lamiaceae, which has antibacterial, anticancer and antiviral properties. In this research effects of different concentrations of silver nanoparticles on some physiological parameters of *M. Officnalis* L. was performed under pot condition in Basic Sciences Faculty of University of Zabol, in 2017. Experiment was conducted using randomized complete block design with 3 replications by silver nanoparticles treatment in four concentrations (100, 60, 20, 0 ppm). The results showed that different growth parameters including root and stem fresh weight, root and shoot length and protein content significantly increased under AgNPs, with the highest amount at 60 ppm AgNPs on day 15. Proline and carbohydrate also increased under different concentrations of AgNPs compared to control, with highest content at 100 ppm AgNPs on day 15. The maximum content of secondary metabolites, including phenol and flavonoids, was observed the at 100 ppm AgNPs on day 20. The maximum increase in the anthocyanin content was observed at concentration of 60 ppm AgNPs on day 15. The increased activity of antioxidant enzymes (catalase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase) under different concentrations of AgNPs led to a decrease in MDA content. According to the results of this study, AgNPs are suggested as a suitable stimulant for increasing growth and production of secondary metabolites.

Keywords: *Melissa officinalis*, Silver nanoparticles, secondary metabolites, physiological properties

Corresponding author, Email: esmaeilzadeh@uoz.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.11.9]