

## تأثیر نانوذرات نقره بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان

### (*Ocimum basilicum* L.)

فروغ یوسف زایی<sup>۱\*</sup>، لطیفه پوراکبر<sup>۱</sup> و خلیل فرهادی<sup>۲</sup>

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

۲- استاد، دانشکده شیمی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۱۱

#### چکیده

نانوتکنولوژی یا کاربرد فناوری در مقیاس اتم و ملکول یکی از تکنولوژی‌های نوظهور در قرن حاضر می‌باشد که آینده اقتصادی جهان را به شدت متأثر خواهد کرد. گستردگی دامنه تأثیر این فناوری بسیار زیاد بوده و می‌تواند بیشتر جنبه‌های زندگی بشر را تحت تأثیر قرار دهد. این تحقیق به منظور سنتز نانو ذرات نقره با روش بیولوژیکی و بررسی اثرات نانو ذرات نقره (۴۰ ppm، ۱۵'۲۵'۱۰'۵'۱'۰/۵) بر شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان *Ocimum basilicum* L. انجام شد. اندازه‌گیری طول و وزن خشک ریشه و اندام هوایی نمایانگر تأثیر منفی افزایش غلظت‌های نانو ذرات نقره بر این پارامترها است. نتایج نشان داد بین غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره اختلاف معنی‌داری از نظر قند، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز نسبت به نمونه شاهد وجود داشت ( $p < 0.05$ ) و علت این امر را می‌توان در اثر نتیجه متفاوت نانو ذرات نقره در غلظت‌های مختلف بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه ریحان گذاشت.

**واژگان کلیدی:** طول ریشه، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، قند محلول، نانو ذرات نقره.

\* نویسنده مسئول: فروغ یوسف زایی، آدرس پست الکترونیکی: f.yosefzaei@yahoo.com

## مقدمه

نانوتکنولوژی یکی از فناوری‌های نوین است که اخیراً وارد عرصه کشاورزی شده است. نانو ذرات مجموعه‌های اتمی یا مولکولی با حداقل ابعاد بین ۱۰۰-۱ نانومتر هستند که خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی در مقابله با توده مواد خود دارند (Monica et al., 2009). کمیت ذره یا کواتوم ذره در زیست‌فناوری نانو اهمیت زیادی دارد و گیاهان منبع مناسبی برای تولید ذراتی با این ویژگی هستند. یکی از تحقیقات جالب در این مورد ساخت نانو توسط گیاهان زنده معمولی است. برای مثال، ریشه‌های یونجه توانایی جذب یون نقره از محیط آگار و انتقال آن‌ها به جوانه‌های گیاهان در حالت اکسیداسیون را دارند. در این جوانه زدن اتم‌های نقره خودشان منظم می‌شوند و به شکل ذرات نانو در می‌آیند. نانو ذرات نقره و طلا با استفاده از عصاره برگ‌های *Sorbusaucuparia* ظرف مدت ۱۵ دقیقه سنتز شده‌اند. نانوذرات تولیدشده بیش از ۳ ماه پایدار بوده‌اند. اثر مقدار عصاره برگ، غلظت سوبسترا، دما و زمان واکنش بهینه‌سازی فرایند تولید نانوذرات را افزایش می‌دهند. با افزایش غلظت یون‌های فلزی از  $10^{-4}$  به  $10^{-2}$  مولار، افزایش اندازه ذرات مشاهده می‌شود (Dubey et al., 2010).

تحلیل‌های میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که تجمع اتم‌های نقره درون بافت گیاه به تشکیل ذرات نانو این فلز منجر می‌شود (Gardea-Torresdey et al., 2003). ساخت و تجمع ذرات نانو با استفاده از روش‌های شیمی سبز (شیمی بدون آلودگی)، از سال ۱۹۹۰ مورد توجه واقع شد. باکتری‌ها و گیاهان نخستین موجوداتی بودند که در این مسیر به کار رفتند (Niemeyer et al., 2004, Peto et al., 2002). در سال‌های بعد موجودات تک‌سلولی و پرسلولی، مانند اکتینوماست‌ها و مخمرها شناسایی شدند که در تولید مواد به صورت داخل و خارج سلولی به کار می‌روند (Mann, 1995 Senapati, et al., 2004). از روزگاران قدیم ریحان (*Ocimum basilicum* L.) به‌عنوان یک گیاه دارویی

به‌طور وسیع در خاور دور به‌ویژه در چین و هند استفاده می‌شده است. ریحان، از خانواده نعنائیان (*Lamiaceae*) با عدد کروموزومی  $2n=48$  گیاهی یک‌ساله علفی ایستاده، تقریباً بدون کرک معطر و به ارتفاع ۶۰-۳۰ سانتی‌متر می‌باشد. این گیاه حالت تب بر، ضد انگل و اشتها آور داشته و برای معالجه ناراحتی‌های قلبی و درمان آفت دهان به کار می‌رود (Gheramy, 1981, Agnihotri and Kaushik, 1999). مان‌ها به‌عنوان یکی از محصولات فرعی مراتع جنگل‌ها، حاصل برهم‌کنش عوامل زنده و غیرزنده در اکوسیستم‌ها با خواص درمانی هستند که مصارف متنوع آن‌ها ریشه در طب سنتی کهن دارد. گزانگبین یکی از مان‌های منحصربه‌فرد ایران است که تنها در حاشیه رشته‌کوه زاگرس در ارتفاع ۲ تا ۳ هزار متر از سطح دریا در اقلیم استپی سرد ایران یافت می‌شود. مان گزانگبین در واقع عسلکی است که از انتهای لوله گوارش پوره‌های حشره پسپیل تهیه‌شده گز ترشح‌شده در مجاورت هوا رطوبت خود را از دست می‌دهد و به رنگ سفید شیری درمی‌آید (Mohammadi and Dini, 2003).

هدف از این مطالعه بررسی اثر نانو ذرات نقره بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

روش سنتز نانوذرات نقره با استفاده از گیاه مان درخت بلوط

جهت تهیه‌ی عصاره آبی مان درخت بلوط ۵ گرم از مان این گیاه، با آب دیونیزه شسته شده و به یک ارلن مایر ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد و در نهایت مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن افزوده گردید. سپس مخلوط به‌دست‌آمده به مدت ۲۵ دقیقه در حمام آب گرم تحت دمای ۷۶ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. مخلوط حاصل سه بار با کاغذ صافی فیلتر شد و سپس توسط سانتریفوژ با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) به مدت ۲۰ دقیقه خالص‌سازی گردید. محلول

پس از برداشت نمونه‌های شاهد و تیمار طول بلندترین ریشه از ناحیه یقه تا نوک ریشه و طول بلندترین ساقه از ناحیه یقه تا نوک مریستم انتهایی با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد.

#### اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی

پس از برداشت ریشه، ساقه و برگ گیاهان مربوط به یک گلدان، جداسازی و با آب شستشو داده شد و پس از خشک کردن نمونه‌ها با دستمال کاغذی وزن تر آن‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شدند. سپس نمونه‌ها در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. پس از مدت‌زمان ذکر شده وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

#### اندازه‌گیری قندهای محلول

میزان قندهای محلول به روش فنل سولفوریک بر اساس هیدرولیز اسیدی قندهای محلول و ایجاد ترکیب فورفورال که با فنل تولید یک کمپلکس رنگی می‌کند اندازه‌گیری شد. ۰/۵ گرم وزن تر گیاه از هر تیمار توزین شد و در داخل ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به وسیله هاون خوب له گردید سپس با تنظیم صاف شد و از عصاره گیاهی حاصله ۲ میلی‌لیتر برداشته شد و به داخل یک لوله آزمایش منتقل گردید، روی آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ (v/w) ریخته شد و در نهایت لوله‌ها به مدت ۱ ساعت 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 ۴۸۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز میزان قندهای محلول برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ( $\text{mg g}^{-1} \text{FW}$ ) محاسبه گردید.

#### سنجش محتوای نیترات

برای سنجش محتوای نیترات از روش Xiong و همکاران (۲۰۰۶) استفاده گردید (Xiong et al., 2006). برای سنجش محتوای نیترات ۲ گرم از بافت تر برگ و ۱ گرم بافت تر ریشه به‌طور جداگانه به قطعات ریز خرد شدند و در داخل

حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته قابل استفاده می‌باشد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر عصاره آبی تازه تهیه‌شده به ۱۰۰ میلی‌لیتر از نمک ۱ میلی‌مولار نقره نیترات افزوده‌شده بدین ترتیب با تغییر رنگ محلول از زرد کم‌رنگ به زرد مایل به قهوه‌ای، نانوذرات نقره حاصل شد (Forough and Farhadi, 2011).

#### محیط کشت

بذرهای گیاه ریحان از مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه تهیه گردید. برای تیمار با نانوذرات نقره ۸ بذر سالم ریحان در داخل هر گلدان پلاستیکی که حاوی دو قسمت خاک مزرعه، یک قسمت ماسه (که به مدت ۴ ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر اتوکلاو شده بودند) و یک قسمت خاک برگ بود، کشت شد. رشد گیاهان در اتاقک‌های کشت با شرایط نوری ۱۴ ساعت روشنایی، ۱۰ ساعت تاریکی و دمای بیشینه ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دمای کمینه ۲۱ درجه سانتی‌گراد و شدت نور  $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}$  انجام گرفت.

#### اعمال تیمار

در هر گلدان بعد از رشد بذرها ۴ پایه که رشد همسان داشتند نگه‌داشته و بقیه پایه‌ها حذف شدند. زمانی که گیاهچه‌های ریحان به مرحله ۶-۸ برگگی رسیدند تحت تیمار با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره ۴۰ ppm  $25^{\circ}10'$   $1^{\circ}05'$  به صورت محلول‌پاشی به مدت ۲۰ روز قرار گرفتند. از هر تیمار ۶ تکرار کشت گردید. پس از پایان دوره تیماردهی گیاهان گروه‌های شاهد و تیمار به‌منظور اندازه‌گیری‌ها جمع‌آوری شدند. سه تکرار از هر تیمار، بعد از جداسازی اندام هوایی از ریشه‌ها جهت اندازه‌گیری وزن خشک داخل آون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند و سه تکرار دیگر جهت انجام آزمایش‌هایی که نیاز به اندام تر گیاه داشتند، در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

#### اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)**

سنجش فعالیت آنزیم CAT با استفاده از روش Aebi (۱۹۸۴) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) محتوی ۰/۲ میلی‌لیتر  $H_2O_2$  ۱ درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره‌ی استخراجی بود. فعالیت آنزیم CAT به صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ( $Mm^{-1} cm^{-1}$ ) ۰/۰۴۳۶ استفاده شد.

**آنالیز آماری**

برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها از برنامه رایانه‌ای SPSS و آزمون دانکن در سطح احتمال آماری ( $p < 0.05$ ) استفاده گردید. در کلیه نمودارها بارهای عمودی نشان‌دهنده SE  $\pm$  برای سه تکرار می‌باشد.

**نتایج****اثر تیمارهای مختلف بر صفات کمی گیاه ریحان**

بررسی نتایج نشان داد که با اعمال نانوذره در غلظت‌های (۱ ppm، ۵، ۱۰) طول اندام هوایی نسبت به شاهد افزایش یافت. بیشترین طول ریشه در تیمار ۵ ppm و کم‌ترین آن در ۴۰ ppm حاصل شد. نانوذرات نقره در غلظت‌های بالا بازدارندگی را بر طول ریشه نشان دادند. نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات طول ریشه و طول اندام هوایی اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ را نشان داد (شکل ۱).

غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر وزن تر ریشه و برگ ریحان در شکل (۲) نشان داده شده است. طبق این نمودار، نتایج حاصل از بررسی‌ها بر وزن تر برگ در گیاه تیمار دیده نشانگر آن است که در غلظت‌های بالای نانوذرات نقره وزن تر برگ کاهش چشمگیری یافت. اثر نانوذرات نقره در غلظت ۰/۵ ppm سمیت کمتری بر وزن تر برگ نشان داد و بیشترین سمیت در ۴۰ ppm مشاهده گردید بیشترین وزن

لوله‌های آزمایش قرار داده شدند. سپس روی آن‌ها ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. لوله‌های حاوی نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم جوشان گذاشته شدند. بعد از سرد شدن لوله‌ها، نمونه‌ها با پارچه نظیف صاف و حجم عصاره‌ی صاف شده با آب مقطر به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از آن برداشته شد و به آن ۰/۴ میلی‌لیتر اسید سالیسیلیک ۵ درصد در اسید سولفوریک ۹۶ درصد (W/V) اضافه شد و بعد از سرد شدن آن ۹/۵ میلی‌لیتر سود ۸ درصد اضافه گردید. در نهایت جذب محلول حاصل در ۴۱۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد جهت تعیین میزان نیترات، منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های معلوم نیترات تهیه گردید.

استخراج عصاره‌ی گیاهی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و کاتالاز برای استخراج عصاره‌ی گیاهی ۰/۵ گرم از بافت تر برگ به همراه ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج تریس-اسیدکلریدریک ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) محتوی ۳ میلی‌مولار  $MgCl_2$ ، ۱ میلی‌مولار EDTA در هاون سرد ساییده شد. هموژنات حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد با سرعت ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی گایاکول پراکسیداز و کاتالاز مورد استفاده قرار گرفت (Kang et al., 2002).

**سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)**

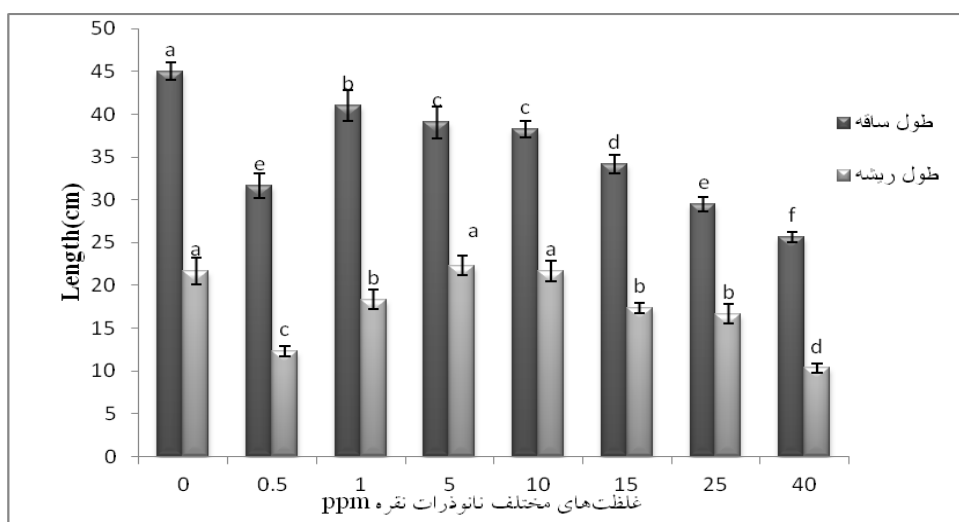
سنجش فعالیت آنزیم GPX با استفاده از روش Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) محتوی ۱ میلی‌لیتر گایاکول ۱ درصد، ۱ میلی‌لیتر  $H_2O_2$  ۱ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره‌ی استخراجی بود. فعالیت GPX به صورت افزایش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه میزان فعالیت از ضریب خاموشی ( $Mm^{-1} cm^{-1}$ ) ۲۶/۶ استفاده شد.

بر اساس سنجش‌هایی که در برگ صورت گرفت مشاهده شد میزان قند محلول در برگ با افزایش غلظت نانوذرات نقره افزایش یافت. بیشترین میزان قند محلول در تیمار با غلظت ۴۰ ppm و کمترین در تیمار با غلظت ۰/۵ ppm مشاهده شد (شکل ۴).

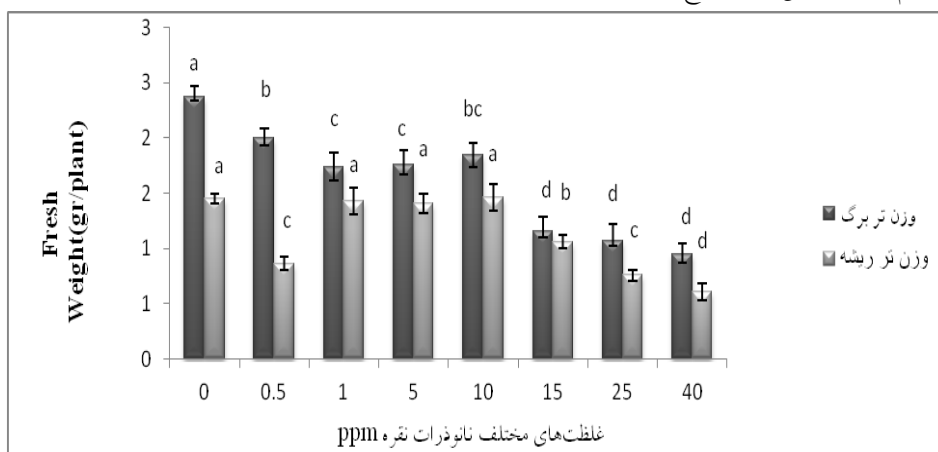
شکل ۵ نشان داد که میزان نیترات برگ و ریشه از غلظت ۰/۵ تا ۵ ppm کاهش و از غلظت ۱۰ ppm به بالاتر افزایش نشان داد. بیشترین میزان نیترات در برگ در تیمار ۴۰ ppm در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد.

تر ریشه مربوط به تیمار ۱۰ ppm بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر نانوذرات نقره در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود.

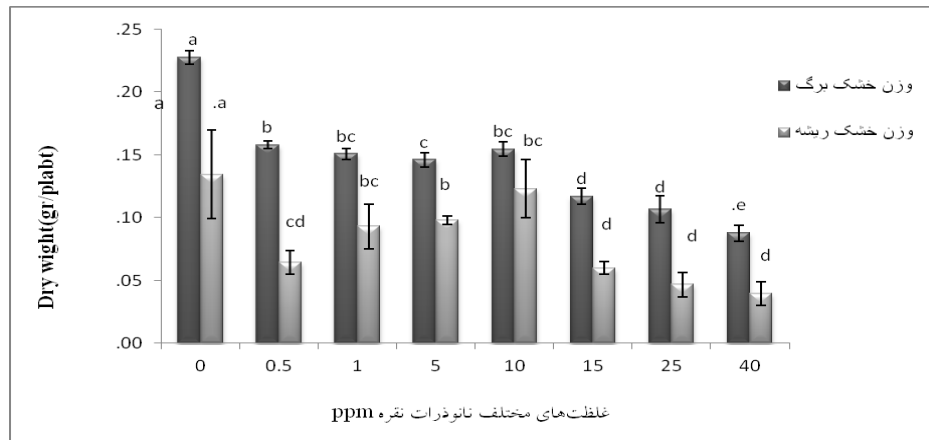
نتایج حاصل از بررسی‌ها بر وزن خشک ریشه و برگ در گیاه تیمار دیده نشانگر آن است که با افزایش غلظت نانوذرات نقره وزن خشک برگ کاهش چشمگیری می‌یابد. بیشترین وزن خشک ریشه در بین تیمارهای نانوذرات مربوط به غلظت ۱۰ ppm و کمترین مربوط به ۴۰ ppm بود (شکل ۳).



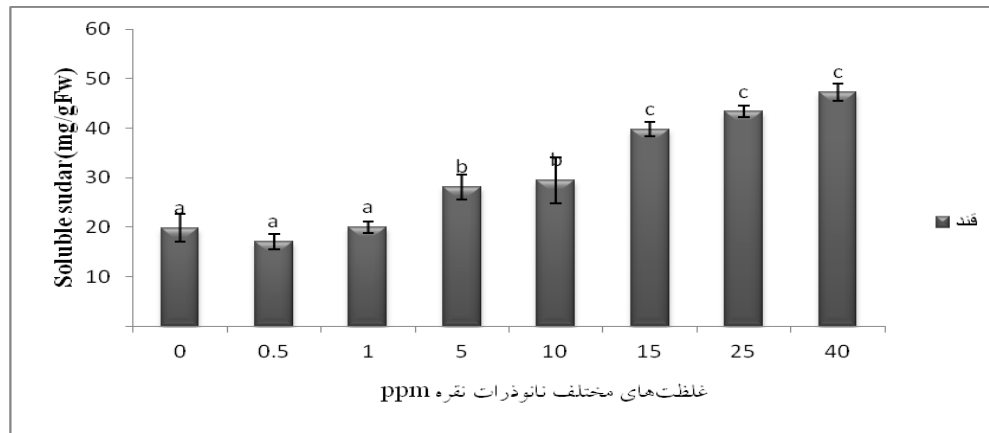
شکل ۱- تغییرات طول ریشه و اندام هوایی گیاه ریحان در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانوذرات نقره. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح (P<0.05) است.



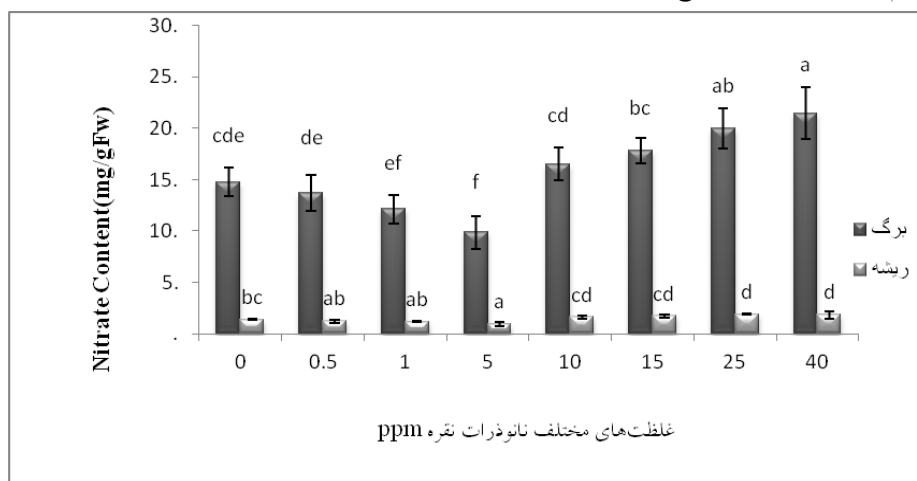
شکل ۲- تغییرات وزن تر برگ و ریشه گیاه ریحان در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانوذرات نقره. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح (P<0.05) است.



شکل ۳- تغییرات وزن خشک برگ و ریشه گیاه ریحان در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانوذرات نقره. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $(P < 0.05)$  است.



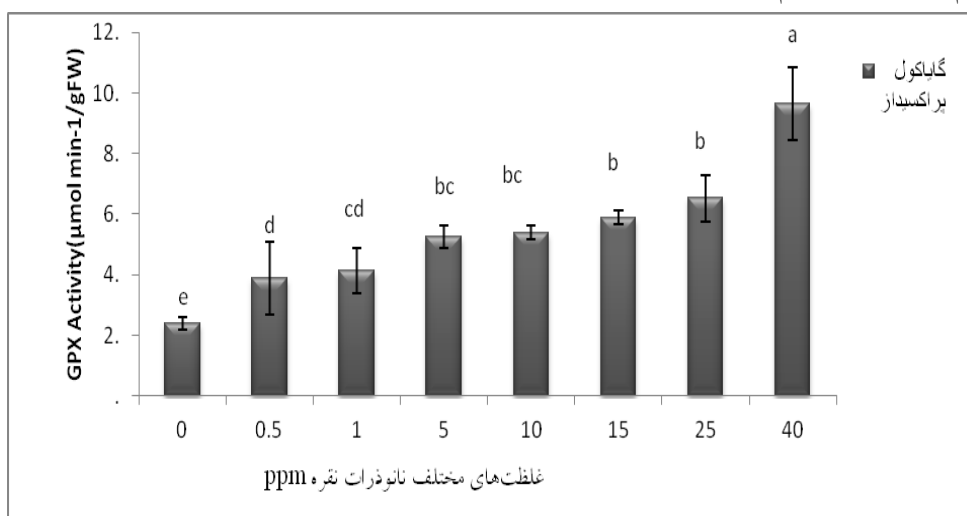
شکل ۴- تغییرات قند محلول گیاه ریحان در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانوذرات نقره. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $(P < 0.05)$  است.



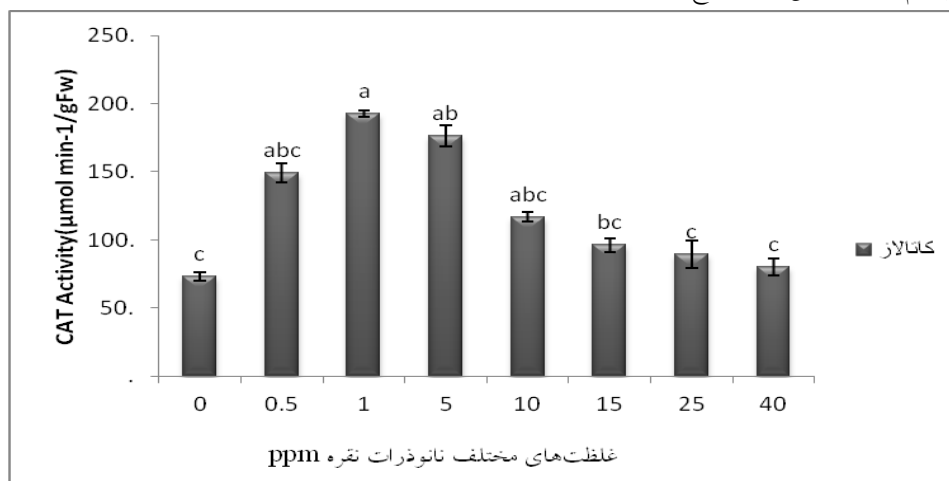
شکل ۵- تغییرات محتوای نیترات گیاه ریحان در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانوذرات نقره. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $(P < 0.05)$  است.

در ایجاد مقاومت در قبال تنش نانوذرات نقره است، موردسنجش قرار گرفت. طبق این نمودار میزان فعالیت این آنزیم در برگ‌ها تحت تیمار نانوذرات نقره کاهش یافت. در کلیه گیاهان تحت تیمار با افزایش غلظت نقره فعالیت آنزیم کاتالاز هم کاهش نشان داد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تحت تیمار نانوذرات نقره در غلظت ۱ ppm و کمترین در غلظت ۴۰ ppm مشاهده شد. بر اساس نتایج واریانس، تأثیر نانوذرات نقره بر میزان فعالیت کاتالاز برگ گیاه ریحان در مقایسه با گیاه شاهد در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود.

در کلیه گیاهان تحت تیمار با افزایش غلظت نانوذرات نقره فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش یافت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاهان تحت تیمار در غلظت ۴۰ ppm و کمترین مربوط به تیمار نانوذرات نقره با غلظت ۰/۵ ppm مشاهده شد. بر اساس نتایج واریانس، تأثیر نانوذرات نقره بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ گیاه ریحان در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار در مقایسه با شاهد بود (شکل ۶). تغییرات میزان فعالیت آنزیم CAT در شکل (۷) آمده است. فعالیت این آنزیم که یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دخیل



شکل ۶- تغییرات میزان فعالیت آنزیم GPX گیاه ریحان در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانوذرات نقره. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ( $P < 0.05$ ) است.



شکل ۷- تغییرات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه ریحان در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانوذرات نقره. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ( $P < 0.05$ ) است.

## بحث

مطالعه علائم ظاهری در گیاه ریحان تحت تیمار غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره نقره رشد گیاه تضعیف می‌شود. با افزایش نانوذرات نقره طول ریشه، طول اندام هوایی، وزن تر و خشک برگ و ریشه کاهش نشان داد؛ که این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیقات انجام‌گرفته بر روی بذر گندم هم‌سویی نشان می‌دهد (قرینه و همکاران، ۱۳۹۰). مطالعات نشان داده است که تأثیر نانوذرات بر روی گیاهان می‌تواند مفید (برای رشد گیاهان و توسعه آن‌ها) ویل غیرمفید (جلوگیری از رشد ریشه) باشد (Zhu et al., 2008). Zheng و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کرده‌اند که نانوذرات  $TiO_2$  در گیاه اسفناج موجب افزایش رشد می‌گردد. Yin و همکاران (۲۰۱۱) کاهش طول و وزن خشک ریشه با افزایش غلظت نانوذرات نقره را در گیاه *Lolium multifroum* مشاهده نموده‌اند. Zheng و همکاران (۲۰۰۵) افزایش جوانه‌زنی، وزن خشک و سرعت فتوسنتز را در اسفناج در اثر تیمار با نانو  $TiO_2$  مشاهده نموده‌اند. در این آزمایش نانوذرات نقره در غلظت‌های بالا بازدارندگی چشمگیری را بر طول ریشه نشان داده است. علاوه بر نانوذرات نقره نانوذرات دیگری از جمله  $ZnO$  اثر سمیت بر روی طول ریشه برنج نشان داده‌است (Zheng et al., 2005). همچنین نانوذره اکسید آلومینیم اثر بازدارندگی بر روی طول ریشه ذرت، خیار، سویا، کلم و هویج داشته است (Yang et al., 2005). نانوذرات اکسید روی نیز که یکی از سمی‌ترین نانوذرات گزارش‌شده است رشد ریشه تربچه، کاهو، ذرت و خیار را متوقف می‌کند (Bentham, 1848). Shah و همکاران (۲۰۰۹) نشان داده‌اند که نانوذرات فلزی باعث افزایش نسبت اندام هوایی به ریشه در کاهو می‌شود (Shah and Belozero, 2009). Lee و همکاران (۲۰۰۸) کاهش رشد گندم و لوبیا را در تیمار با نانوذرات مس گزارش کرده‌اند.

نشان داده‌شده است که نانولوله‌های کربنی (CNT) جوانه‌زنی و طول ریشه در گیاه ریشه دانه رست‌های گوجه‌فرنگی را بهبود می‌دهند (Khodakovskaya et al., 2009) و نانوذرات آلومینیوم طول ریشه تربچه و کلزا را تقویت می‌کند (Niemeyer et al., 2004). نانوذرات فلزی رشد دانه رست‌های *Lactuca* را تحت تأثیر قرار می‌دهند، این اثر با اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه این گیاه پس از ۱۵ روز انکوباسیون مورد آزمایش قرار گرفته است؛ در مقایسه با نسبت ساقه به ریشه کنترل افزایش مشاهده‌شده است (Shah and Belozero, 2009). تجمع نانوذرات نقره در سلول‌های گیاهی موجب کاهش عملکرد آن‌ها می‌شود (Haverkamp and Marshall, 2009). Yin و همکاران (۲۰۱۱) نشان داده‌اند که سلول‌های کلاهک ریشه گیاه *L. multiflorum* تحت تیمار نانوذرات نقره آسیب‌دیده و بر این باورند که سلول‌ها غیرطبیعی شده و موجب کاهش رشد ریشه می‌شود. مهار رشد ریشه تا حد زیادی میان نانوذرات و گیاهان متفاوت است و تا حدی با غلظت نانوذرات در ارتباط است. بی‌نظمی در مسیر انتقال آب و مواد معدنی یکی از راه‌های پیشنهادی برای این‌که نانوذرات چگونه موجب آسیب زدن به گیاه می‌شود را بیان می‌کند (Asli and Neumann, 2009) علاوه بر این نانوذرات فلزی ممکن است فلزهای حل‌شده را انتشار دهد که توسط گیاه جذب می‌شود (Stampoulis et al., 2009). در مطالعه حاضر نانوذرات نقره سبب افزایش میزان قند محلول در برگ گیاه ریحان شد همچنین در گیاهانی که تحت غلظت بالای نانوذرات نقره میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب افزایش و کاهش نشان داد. در غلظت‌های کم نانوذرات نقره میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش داد. Krishnaraja و همکاران (۲۰۱۲) نشان داده‌اند که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه *Bacopa monnieri* تحت تیمار نانوذرات نقره در غلظت ۱۰ ppm افزایش می‌یابد همچنین نانوذرات نقره با افزایش



این مطالعه نشان داد که گیاه ریحان در برابر غلظت‌های بالای نانوذرات نقره حساس است. نانوذرات به‌طور نامطلوبی بر گیاه ریحان اثر می‌گذارد. تحت تأثیر نانوذرات تغییراتی در پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی گیاه مشاهده شد. کاهش طول، وزن خشک و وزن تر ریشه و برگ می‌تواند ناشی از اثرات مخرب نانوذرات در غلظت‌های بالا بر روی گیاه ریحان باشد.

غلظت سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز شد. توجه به این مسئله نیز ضروری است که نانوذرات از نظر میزان مسمومیت یکسان نیستند. مطالعات آینده باید به سمت مکانیسم‌های Phytotoxicity هدایت شود برای مثال اندازه، خواص فیزیکی و شیمیایی نانوذرات در ریزوسفر و سطح ریشه ممکن است جذب و انتقال نانوذرات توسط گیاه و همچنین روی Phytotoxicity تأثیر داشته باشد.

## منابع

- قرینه م، قمری م، فرید م، بخشنده ع و رکنی ن. (۱۳۹۰). اثرات پوششی بذر با نانوذرات نقره بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گندم *Triticum aestivum* L. نشریه زراعت شماره ۷۸-۷۴، ۹۲.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105, 121-126.
- Agnihotri, A., and Kaushik, N. (1999). Transfer of double low characteristics in early maturing Brassica napus. *Journal of Oilseeds Research*, 16(2), 227-229.
- Asli, S., and Neumann, P. M. (2009). Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant, cell & environment*, 32(5), 577-584.
- Dubey, S. P., Lahtinen, M., Manu, Särkkä., and Heikki Sillanpää, Mika. (2010). Bioprospective of *Sorbus aucuparia* leaf extract in development of silver and gold nanocolloids. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 80(1): 26-33.
- Forough, M., and Farhadi, K. (2011). Biological and green synthesis of silver nanoparticles. *Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences*, 34(4), 281-287.
- Gardea-Torresdey, J. L., Gomez, E., Peralta-Videa, J. R., Parsons, J. G., Troiani, H., and Jose-Yacaman, M. (2003). Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Langmuir*, 19(4), 1357-1361.
- Gheramy, B. (1981) Astragal manna. Isfahan University of Technology. PP: 21-22.
- Haverkamp, R., and Marshall, A. (2009). The mechanism of metal nanoparticle formation in plants: limits on accumulation. *Journal of Nanoparticle Research*, 11(6), 1453-1463.
- Kang, H. M., and Saltveit, M. E. (2002). Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum*, 115(4), 571-576.
- Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F., et al. (2009). Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS nano*, 3(10), 3221-3227
- Krishnaraj, C., Jagan, E., Ramachandran, R., Abirami, S., Mohan, N., and Kalaichelvan, P. (2012). Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism. *Process Biochemistry*, 47(4), 651-658.
- Lee, W. M., An, Y. J., Yoon, H., and Kweon, H. S. (2008). Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. *Environmental toxicology and chemistry*, 27(9), 1915-1921.
- Mann, S. (1995). *Biomimetic materials chemistry*: John Wiley & Sons.
- Mohammadi, M., and Dini, M. (2003). Identification of Manna Sources, production mechanism and utilization in Iran. *Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research*. 17, 75 – 119.
- Monica, R. C., and Cremonini, R. (2009). Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*, 62(2), 161-165.
- Niemeyer, C. M., and Mirkin, C. A. (2004). *Nanobiotechnology: concepts, applications and perspectives* (Vol. 1): John Wiley & Sons
- Peto, G., Molnar, GL., and Paszti, Z. (2002) Electronic structure of gold nanoparticles deposited on SiO<sub>x</sub>/Si. *Mater Science and Engineering of Composite Materials*. 19, 95-99.

- Senapati, S., Mandal, D., & Ahmad, A. (2004). Fungus mediated synthesis of silver nanoparticles: a novel biological approach.
- 22-Shah, V., and Belozeroval, I. (2009). Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds. *Water, air, and soil pollution*, 197(1-4), 143-148.
- Stampoulis, D., Sinha, S. K., and White, J. C. (2009). Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environmental science & technology*, 43(24), 9473-9479.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N., and Smith, B. (1985). Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 121(5), 453-461.
- Xiong, Z.-T., Liu, C., and Geng, B. (2006). Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(3), 273-280.
- Yang, L., and Watts, D. J. (2005). Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. *Toxicology letters*, 158(2), 122-132.
- Yin, L., Cheng, Y., Espinasse, B., Colman, B. P., Auffan, M., Wiesner, M., et al. (2011). More than the ions: the effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. *Environmental science & technology*, 45(6), 2360-2367.
- Zheng, L., Hong, F., Lu, S., and Liu, C. (2005). Effect of nano-TiO<sub>2</sub> on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. *Biological trace element research*, 104(1), 83-91.
- Zhu, H., Han, J., Xiao, J. Q., and Jin, Y. (2008). Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. *Journal of Environmental Monitoring*, 10(6), 713-717.

## The effect of silver nanoparticles on morphological and physiological indexes of *Ocimum basilicum* L.

Forough Yosefzai<sup>\*1</sup>, Latifeh Poorakbar<sup>1</sup>, Khalil Farhadi<sup>2</sup>

1- Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University

2- Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Urmia University

### Abstract

Nanotechnology or using technology in the case of atoms and molecules is one of the most important techniques in present century, which will effect on future of world economy. This study was designed to examine the Nanoparticles synthesis and effects of silver nanoparticles (0, 0.5,1,5,10,25,40 ppm) on morphological and physiological indexes of basil(*Ocimum basilicum* L.). Measurement of root and shoots dry weight and lenght showed that increasing of Silver nanoparticles concentrations have an adverse effect on them. Results show that there was significant difference ( $p<0.05$ ) between silver nanoparticles concentration Soluble sugars, Guaiacol peroxidase and Catalase compared to control and its reason can be found in the effect of different results of silver nanoparticles in different concentrations on morphologic and physiologic of basil plant.

**Key words:** Root length, Catalase, Guaiacol peroxidase, Soluble sugars, Silver nanoparticles

\* Corresponding Author: Forough Yosefzai, E-mail: f.yosefzai@yahoo.com