



## تأثیر محلول‌پاشی روی و نانوذره روی بر رشد، رنگیزه‌های فتوستزی و ترکیبات اسانس

### ریحان سبز

احمد آقایی<sup>۱,\*</sup>، صالح شهابی‌وند<sup>۱,\*</sup>، معصومه اطهاری<sup>۱</sup> و یوسف نصیری<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> ایران، دانشگاه مراغه، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> ایران، دانشگاه مراغه، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۰

### چکیده

روی به عنوان یک عنصر ریزمغذی ضروری، نقش مهمی در رشد و متابولیسم گیاه بر عهده دارد. این مطالعه، به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی برگی روی بر رشد، رنگیزه‌های فتوستزی و کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی ریحان در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. تیمارها شامل چهار سطح اکسید روی (۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و چهار سطح نانوذره اکسید روی (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بودند. نتایج نشان داد که کاربرد برگی روی تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بر صفات مورد اندازه‌گیری داشته است. تیمار اکسید روی و نانوذره روی باعث افزایش معنی‌دار در طول کل گیاه (ارتفاع بوته + طول ریشه)، وزن تر و خشک گیاه، تعداد برگ در بوته، میزان رنگیزه‌های فتوستزی و درصد اسانس ریحان شد و از این نظر نقش نانوذره روی مؤثرتر از اکسید روی بود. بیشترین مقدار شاخص‌های رشدی و میزان رنگیزه‌ها در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره روی مشاهده شد. بر اساس نتایج، ۳۴ ترکیب در اسانس ریحان شناسایی شد که بیشترین آنها مربوط به مونوترپین‌های اکسیئن‌دار بوده و سه متابولیت اصلی اسانس شامل متیل چاویکول، لینالول و آلفاکادینول بودند. همچنین بیشترین مقدار متیل چاویکول و آلفاکادینول در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره روی مشاهده شد. روی احتمالاً با افزایش هورمون‌های رشد، بهبود جذب برخی عناصر غذایی و افزایش ستر پیش‌سازهای متابولیت‌های ثانویه توانسته است باعث افزایش رشد و تولید اسانس در گیاه ریحان شود. یافته‌های این تحقیق نشان داد که تأثیر نانوذره روی در افزایش رشد و مواد مؤثره گیاه ریحان، مؤثرتر از کود اکسیدروی است.

**واژه‌های کلیدی:** اسانس ریحان، اکسید روی، محلول‌پاشی، نانوذره روی

\* نویسنده‌گان مسئول، تلفن: ۰۴۱۳۷۲۷۶۰۶۸، پست الکترونیکی: [aghaee2001@yahoo.com; shahabi70@yahoo.com](mailto:aghaee2001@yahoo.com; shahabi70@yahoo.com)

### مقدمه

نیستند ولی معمولاً نسبت به داروهای سنتزی در صنعت داروسازی، عوارض کمتری دارند و حتی در بسیاری از موارد ممکن است به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، سمیت داروهای دیگر را کاهش دهند (۱۹). امروزه ترکیبات شناسایی شده در گیاهان به عنوان داروهای جدید مورد استفاده قرار می‌گیرند و می‌توانند به عنوان کلیدی برای شناسایی روش‌های درمانی کم‌هزینه و دارای عوارض

گیاهان دارویی از گیاهان اقتصادی مورد استفاده بشر می‌باشند که مواد شیمیایی موثر و مفیدی را با مقادیر بسیار کم در خود ذخیره می‌کنند (۱). از اواسط قرن بیستم به بعد و به دنبال مشخص شدن عوارض سوء ناشی از استعمال داروهای شیمیایی مختلف، گیاهان دارویی و داروهای مستخرج از گیاه در بسیاری از موارد جایگزین داروهای شیمیایی شده‌اند. اگرچه این گیاهان نیز عاری از عوارض

شرایط خاک که معمولاً منجر به کمبود روی در گیاهان می‌شود شامل pH خاک بالا، مواد آلی کم و رطوبت کم خاک است (۹). محلولپاشی عناصر غذایی یک رویکرد جهت استفاده بهینه از کودها و همچنین اثربخشی آنها تحت شرایط نامساعد محیطی است (۳۵). شواهد فزاینده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد استفاده از محلولپاشی روی که از طریق آوندهای آبکش و با سرعت انجام می‌گیرد، روش بسیار موثر و عملی برای به حداقل رساندن جذب و تجمع روی است (۱۴).

به طور کلی موادی که حداقل در یک بعد دارای اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشند، به عنوان مواد نانو طبقه‌بندی می‌شوند. مهمترین کاربرد فناوری نانو در کشاورزی در زمینه کودهای نانو است که می‌تواند گیاهان را به تدریج و به صورت کنترل شده تغذیه کند، بر عکس آنچه در مورد کودهای معمولی اتفاق می‌افتد. کودهای نانو احتمالاً می‌توانند کارآیی بیشتری داشته و آلدگی خاک و سایر خطرات زیست محیطی را که ممکن است هنگام استفاده از کودهای شیمیایی رخ دهد، کاهش دهند (۲۶). یکی از مزایای استفاده از کودهای نانو این است که کاربرد آنها را می‌توان در مقادیر کمتری نسبت به استفاده از کودهای معمولی انجام داد (۲۶). اثرات مثبت نانوذره اکسید روی بر جوانه‌زنی دانه، ویگور (نیرومندی) دانه‌رست، محتوای کلروفیل برگ و رشد ساقه و ریشه در بادام‌زمینی، گندم و هویج مشاهده شده است (۸، ۲۸، ۳۴).

گزارش‌های کمی مبنی بر مقایسه اثر محلولپاشی روی معمولی و نانوذره روی بر ویژگی‌های گیاه ریحان وجود دارد، لذا این مطالعه به بررسی اثر اکسید روی معمولی و نانوذره روی بر برخی شاخص‌های رشدی، رنگیزه‌های فتوسترنزی و مواد فیتوشیمیایی گیاه دارویی ریحان در شرایط گلخانه‌ای می‌پردازد.

جانبی کمتر در درمان بسیاری از بیماری‌ها به کار روند (۱۲). نیاز روزافرون صنعت داروسازی به ماده اولیه دارویی، اهمیت کشت و فرآوری گیاهان دارویی و معطر را به شدت افزایش داده است (۱۶).

گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) از گذشته‌های دور به عنوان دارو برای درمان امراض گوناگون مانند سردرد، سرفه، اسهال، کرم‌ها و سوء عملکرد کلیه مطرح بوده است. انسان آن حاوی ترپنئیدهای بیولوژیکی فعال است که دارای خواص دفع حشرات، نماتدکشی، ضد باکتریائی و ضد قارچی است (۳۳). این گیاه دارای مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی به ویژه اسید رزمارینیک بوده که دارای خواص ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی است (۲۱). ریحان یکی از گیاهان بومی ایران است که در بسیاری از نقاط کشور کاشته می‌شود و بهدلیل اهمیت جهانی آن، در بسیاری از مناطق جهان کشت می‌شود (۳۷). طبق مطالعات انجام شده، انسان این گیاه و بهخصوص ترکیبات فنیل پروپانوئیدی آن به عنوان ترکیبات اصلی دارویی این گیاه شناخته شده‌اند (۱). ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده انسان‌ها با توجه به موقعیت جغرافیایی، نوع خاک، آب و هوا، ارتفاع از سطح دریا، فصل و ساعت نمونه‌برداری، نوع و مقدار عناصر غذایی خاک و میزان آب موجود می‌تواند متفاوت باشد (۳۶)، بدین صورت که یک گونه گیاهی در شرایط مختلف محیطی می‌تواند انسان‌هایی با ترکیبات مؤثره مختلف با فعالیت دارویی گوناگون را تولید کند (۱۰).

عنصر روی یکی از مهم‌ترین ریزمعذی‌های مورد نیاز برای رشد و تولید گیاهی است. روی نقش مهمی در فعالیت‌های فتوسترنزی برگ در گیاهان دارد و برای تقسیم سلولی، بیوسنتر کلروفیل، متابولیسم اکسیم، تولید میوه و عملکرد دانه گرده عنصری ضروری است (۳۲). کمبود روی به عنوان شایع‌ترین کمبود عناصر کم مصرف در کشورهای توسعه یافته و همچنین در حال توسعه شناخته شده است.

## مواد و روشها

درجه سانتی گراد قرار گرفتند. بعد از ۴۰ روز از کاشت، اولین مرحله محلول‌پاشی انجام گرفت سپس هر ۱۵ روز یکبار محلول‌پاشی و در کل سه مرتبه انجام گرفت و ۱۵ روز بعد از مرحله آخر محلول‌پاشی برداشت نمونه‌های گیاهی انجام گرفت. گیاهان شاهد، با مقادیر مساوی از آب مقطر در زمان‌های ذکر شده، محلول‌پاشی شدند. به طور تصادفی از هر واحد آزمایشی ۳ گیاه برداشت گردید. سپس طول کل گیاه (مجموع ارتفاع بوته به اضافه طول ریشه) و وزن تر کل گیاه (وزن تر اندام هوایی + وزن تر ریشه) و تعداد برگ در هر بوته، محاسبه شدند. وزن تر گیاه برای کلیه تیمارها با استفاده از ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری گردید. نمونه‌های ریشه و قسمت هوایی به مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد در سایه خشک گردید سپس اجزای گیاهی به درون پاکت‌های کاغذی که قبلًا وزن شده بود منتقل گردید تا وزن خشک کل گیاه (وزن خشک اندام هوایی + وزن خشک ریشه) تعیین شود.

به منظور سنجش کلروفیل از استون ۸۰ درصد استفاده گردید از هر نمونه مقدار ۰/۵ گرم در هاون چینی قرار داده و با مقدار ۴ میلی‌لیتر استون کاملاً ساییده شد، سپس محلول را در فالکون‌هایی که به وسیله فویل کاملاً پوشانده شده بودند تا در معرض نور نگیرند ریخته و به مدت ۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد و تعداد ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید و سپس از لایه رویی به وسیله سمپلر برداشته در میکروتیوب‌ها که آن‌ها هم به وسیله فویل پوشانده شده‌اند ریخته شد و پس از صفر کردن دستگاه اسیکتروفتومتری، در کوت، ۸۰۰ میکرولیتر استون و ۵۰ میکرولیتر از عصاره به دست آمده ریخته و در طول موج ۴۷۰ کاروتونئیدها و طول موج‌های ۶۶۴ و ۶۴۶، کلروفیل a و کلروفیل b قرائت گردید (۱۱).

جهت استخراج اسانس از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب استفاده شد. اسانس‌گیری به مدت سه ساعت انجام شد

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه مراغه انجام گرفت. تیمارها شامل تیمار اکسید روی در چهار سطح (۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و تیمار نانوذره اکسید روی در چهار سطح (۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بودند. بذور ریحان (تهیه شده از آزمایشگاه با غبانی دانشگاه مراغه) ابتدا به مدت ۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۵٪ درصد به همراه چند قطره توئین ۲۰ ضد عفنی شد و سپس بذور چند بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. برای جوانزی، کاغذ صافی را درون پتربی دیش‌های ۸ سانتی‌متری قرار داده و ۳۰ بذر درون هر پتربی دیش قرار گرفت و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به هر پتربی اضافه شد. نمونه‌های خاک از محوطه دانشگاه تهیه گردید. خصوصیات فیزیکوشیمیابی خاک (با بافت شنی-لومی) به صورت: شن ۶۸٪، سیلت ۲۵٪، رس ۷٪، ماده آلی ۱۴٪، روی ۹٪ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نیتروژن کل ۱۳٪، فسفر ۳۱٪ میلی‌گرم بر کیلوگرم، پتاسیم ۲۵٪ میلی‌گرم بر کیلوگرم، pH ۷/۵ و EC ۰/۷ dS/m بود. در این آزمایش گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۵ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر را با ۷ کیلوگرم خاک پر کرده و سپس در هر گلدان ۸ عدد بذر ریحان کشت شد و در گلخانه با دمای روزانه و شبانه به ترتیب ۲۸±۲ و ۱۸±۲ سانتی‌متر را با ۶۰ الی ۷۰ درصد قرار گرفتند. پس از کاشت بذرها ابتدا هر گلدان با ۴۰۰ سی‌سی آب مقطر و در ادامه هر دو روز یکبار با ۴۰۰ سی‌سی آب مقطر آبیاری گردید. محلول‌های اکسید روی و نانوذره اکسید روی (تهیه شده از آزمایشگاه شیمی دانشگاه مراغه) با اندازه حدود ۸۰ نانومتر، خلوص بالای ۹۹ درصد و چگالی ۵/۶ گرم بر سانتی‌متر مکعب) در غلظت‌های ۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شدند. برای افزایش حلalیت اکسیدهای فلزی در آب، سوسپانسیون‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه التراسونیک (۱۰۰ وات) و دمای ۴۵

کل گیاه (وزن خشک اندام هوایی + وزن خشک ریشه)، محلول‌پاشی اکسید روی در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و محلول‌پاشی نانوذره روی در هر سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) باعث تغییر مثبت معنی‌دار بر این شاخص رشدی نسبت به شاهد شد (شکل ۱-ج). تعداد برگ در بوته تحت تاثیر تیمار ۱۰۰ اکسید روی و سطوح ۵۰ و ۱۰۰ نانوذره، نسبت به گیاهان شاهد، افزایش معنی‌دار حاصل کرد (شکل ۱-د).

در مورد همه شاخص‌های رشدی شامل طول کل گیاه، وزن تر کل گیاه، وزن خشک کل گیاه و تعداد برگ در بوته، با افزایش غلظت هر دو تیمار (اکسید روی و نانوذره روی)، میزان شاخص رشدی نیز افزایش یافته است و نیز کمترین و بیشترین میزان همه شاخص‌های رشدی به ترتیب در گیاهان شاهد و سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره مشاهده شد (شکل ۱-الف تا ۱-د). همچنین در هر سطح تیمار، افزایش شاخص رشدی تحت تیمار نانوذره بیشتر از تیمار اکسید روی در همان سطح بود (شکل ۱-الف تا ۱-د).

اطلاعات درج شده در شکل ۲ (الف تا د) نشان داد که غلظت رنگیزهای فتوسترنزی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. میزان کلروفیل  $a+b$  و مجموع کلروفیل  $a+b$  تحت تاثیر دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ اکسید روی و نیز سه سطح ۵۰ و ۱۰۰ نانوذره روی، نسبت به شاهد بطور معنی‌دار بیشتر شدند (شکل ۲-الف). کاربرد برگی اکسید روی و نانوذره روی در هر سه سطح باعث افزایش معنی‌دار در میزان کلروفیل  $b$  و کارتنتوئیدهای برگ در مقایسه با گیاهان شاهد شد (شکل ۱-ب تا ۲-د). در مورد همه رنگیزه‌های فتوسترنزی، بیشترین مقدار رنگیزه در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره روی دیده شد. در مورد هر رنگیزه فتوسترنزی و در مقایسه تیمار اکسید روی با تیمار نانوذره روی در هر سطح مورد مطالعه، تیمار نانوذره، مقادیر بیشتری نسبت به تیمار اکسید روی داشت (شکل ۲-الف تا

و اسانس‌های استخراج شده با سولفات سدیم خشک آبگیری و داخل ویال شیشه‌ای در مکان تاریک و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری گردیدند. برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف سنجی جرمی (GC-MS) مدل Agilent 5977A ۵ ساخت کشور آمریکا، با ستون HP-5 MS درصد فنیل متیل پلی سیلوکسان، به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ماده جاذب ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. دمای ستون از ۵۰ درجه سانتی‌گراد شروع و در نهایت به ۲۵۰ درجه رسید. به عنوان گاز حامل از هلیم با درجه خلوص ۹۹/۹٪ و میزان جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه حرارتی در دامنه ۶۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه بر دقیقه و دمای محفظه تزریق درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی ترکیبات بر اساس زمان بازداری (RT) و جرم ثبت شده آنها انجام گرفت (۲۰).

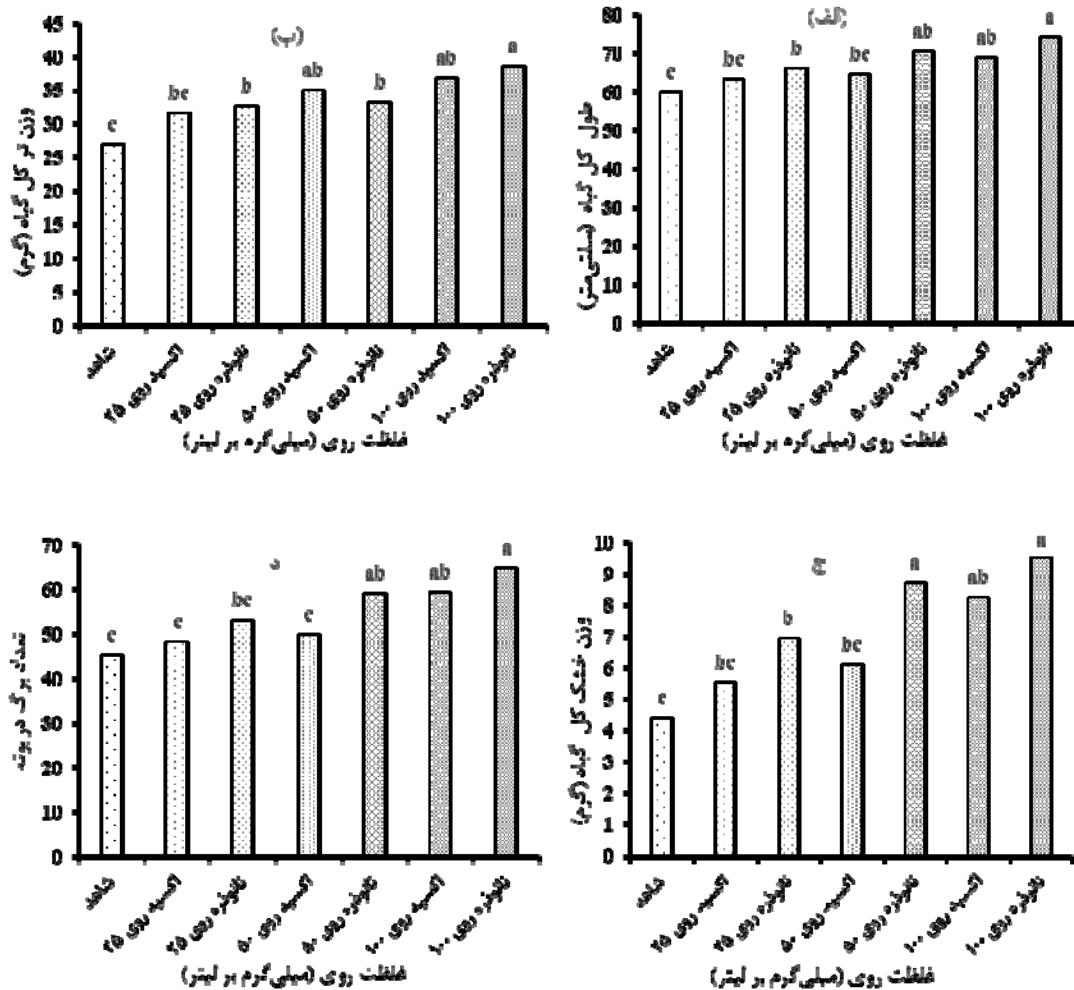
این تحقیق در قالب طرح کامل تصادفی و با سه تکرار انجام گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد ( $P \leq 0.05$ ) استفاده گردید. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم شدند.

## نتایج

یافته‌های مشخص شده در شکل ۱-الف نشان داد که تیمار برگی اکسید روی در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و تیمار برگی نانوذره روی در هر سه سطح ۵۰، ۱۰۰ و میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) در طول کل گیاه (طول ریشه + طول اندام هوایی) در مقایسه با گیاهان شاهد شد. نتایج (شکل ۱-ب) نشان داد که کاربرد اکسید روی در سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و کاربرد نانوذره روی در همه سطوح مورد مطالعه، وزن تر کل گیاه (وزن تر اندام هوایی + وزن تر ریشه) را بطور معنی‌دار نسبت به شاهد افزایش داد. در مورد شاخص وزن خشک

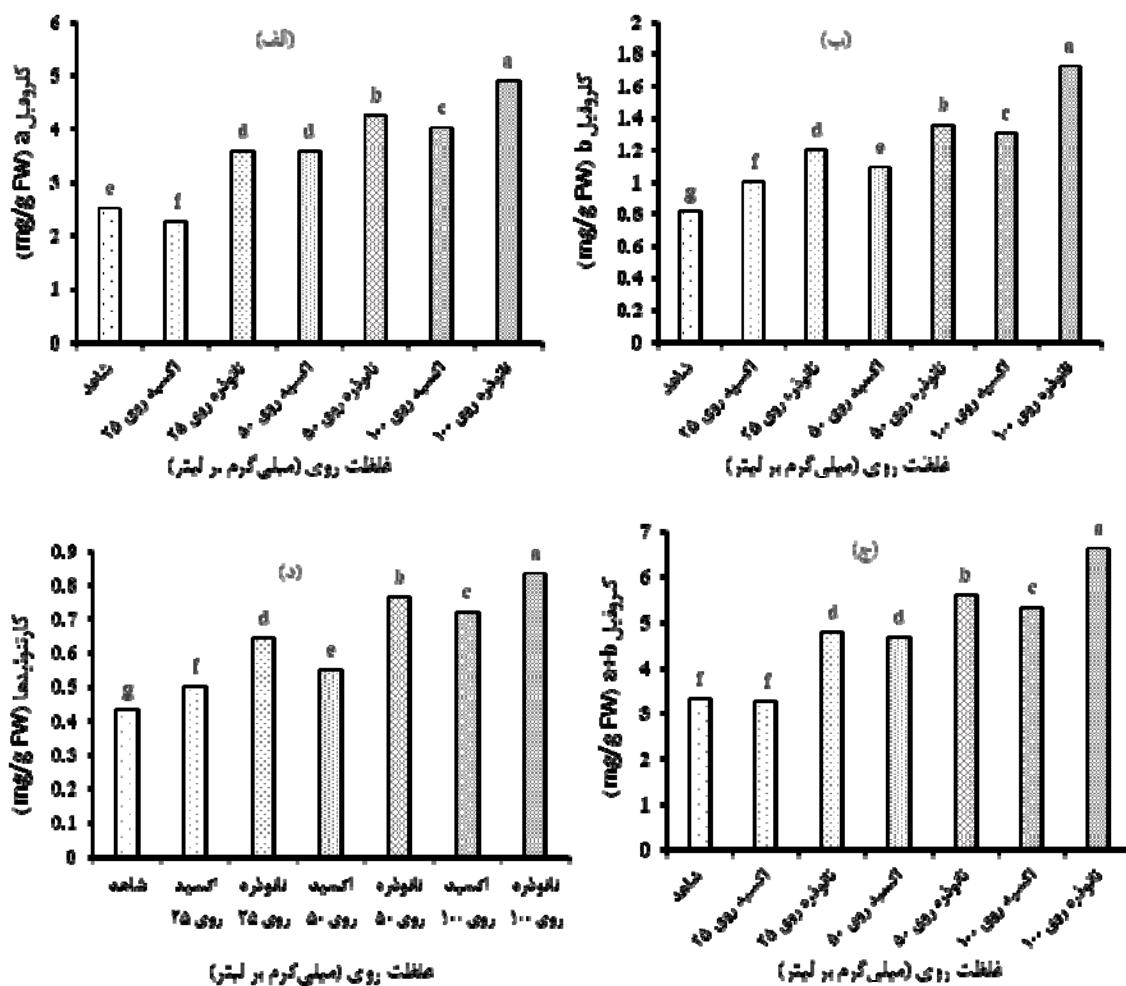
شد (شکل ۳). ترکیبات شیمیایی اسانس گیاهان ریحان تحت تیمارهای مختلف اکسید روی و نانوذرات اکسید روی (به صورت محلول پاشی برگی) در جدول ۱ ارائه شده است. آنالیزهای انجام شده با دستگاه GC-MS حضور ۳۴ ترکیب را در اسانس گیاهان تمامی تیمارها نشان داد. درصد کل ترکیبات شناسایی شده در اسانس تیمارها از ۹۲/۳۹۵ تا ۹۸/۷۷۸ درصد متغیر بود. بیشترین ترکیبات مربوط به مونوترپین‌ها (۷۱/۶ تا ۷۹/۱ درصد) و سزکوئی‌ترپین‌ها (۱۳/۷ تا ۲۳/۹ درصد) بودند.

درصد اسانس گیاه ریحان تحت تیمارهای مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است. یافته‌ها نشان داد کاربرد برگی اکسید روی در دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و کاربرد نانوذره روی در همه سطوح باعث افزایش معنی‌دار در درصد اسانس در مقایسه با ریحانهای شاهد شد (شکل ۳). با افزایش سطح تیمار اکسید روی و نانوذره روی، درصد اسانس نیز افزایش حاصل کرد و بیشترین و کمترین مقدار درصد اسانس به ترتیب در گیاهان تیمار شده با ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره و گیاهان شاهد ثبت



شکل ۱- اثر محلول پاشی اکسید روی معمولی و نانوذره اکسید در سطوح مختلف روی بر شاخص‌های رشدی گیاه ریحان شامل طول کل گیاه (الف)، وزن ترکیب کل گیاه (ب)، وزن خشک کل گیاه (ج) و تعداد برگ در بوته (د). حروف متفاوت روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد است.

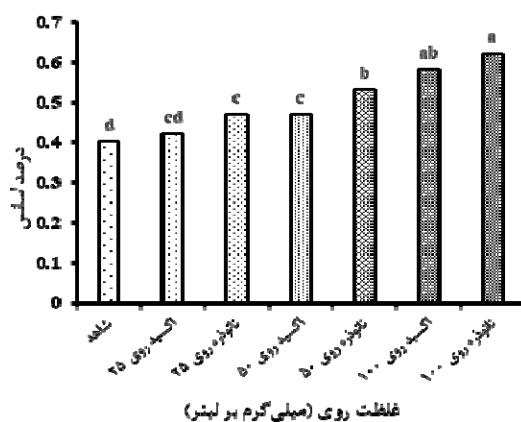
جدول ۱- درصد ترکیبات اسانس گیاهان ریحان تیمار شده با غلظت‌های مختلف اکسید روی و نانوذره اکسید روی



شکل ۲- اثر محلول‌پاشی اکسید روی معمولی و نانوذره اکسید روی در سطوح مختلف بر غلظت رنگیره‌های فتوستتری گیاه ریحان شامل کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب)، مجموع کلروفیل a+b (ج) و کاروتینوئیدها (د). حروف متغّریت روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد است.

شکل ۳- اثر محلول‌پاشی اکسید روی معمولی و نانوذره اکسید روی در سطوح مختلف بر درصد انسانس گیاه ریحان. حروف متغّریت روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد است.

همچنین مونوترپن‌های اکسیژن‌دار (۶۶/۴ تا ۷۴/۲ درصد) و سپس سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار (۶/۵ تا ۱۱/۹ درصد) مقادیر بیشتر نسبت به بقیه ترپن‌ها داشتند. ترکیبات غالب در انسانس نمونه‌های بررسی شده شامل متیل چاویکول (۵۳/۰۶۷ تا ۶۱/۱۸۸ درصد)، لینالول (از ۸/۸۸۳ تا ۱۳/۹۳۳)



گاز گربنیک محلول در سیتوپلاسم سلول‌های پارانشیم برگ می‌شود و منجر به افزایش کربوهیدرات‌ها می‌گردد، بنابراین به طور غیرمستقیم افزایش رشد گیاه را به همراه دارد (۲۲). همچنین می‌توان چنین بیان داشت که روی در تقسیم میتوز نیز نقش دارد و احتمالاً افزایش ویژگی‌های ریخت‌شناختی مانند تعداد برگ می‌تواند مرتبط با این موضوع باشد (۳۰). افزایش وزن خشک گیاه با مصرف روی را به موارد متفاوت از قبیل افزایش بیوستتر اکسین در حضور عنصر روی، افزایش آنزیم کربونیک انھیدراز که در همه بافت‌های فتوستراتی حضور دارد و برای بیوستتر کلروفیل مورد نیاز است، بهبود عملکرد فتوسیستم‌های نوری، افزایش فعالیت فسفواینول پیرووات کربوکسیلاز و ریبولوز فسفات کربوکسیلاز و افزایش جذب نیتروژن و فسفر در حضور عنصر روی مرتبط می‌دانند (۵).

در این تحقیق کاربرد نانوذره اکسید روی در همه سطوح آن باعث افزایش در صفات رشدی مورد مطالعه یعنی طول گیاه، وزن تر و خشک کل گیاه و تعداد برگ در بوته به طور معنی‌دار شد و اثر نانوذره در هر سطح نسبت به اثر اکسید روی در همان سطح، روی پارامترهای رشدی بیشتر بود (شکل ۱-الف تا ۱-د). در آزمایش مشابه، محلول‌پاشی اکسید روی به فرم معمول سبب افزایش ۹ درصدی و محلول‌پاشی اکسید روی به فرم نانوذرات موجب افزایش ۲۴ درصدی در وزن خشک اندام هوایی در رقم‌های ذرت شد (۳). در تحقیقی دیگر، وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه گیاه قهره تحت تاثیر محلول‌پاشی نانوذره اکسید روی افزایش چشمگیری نشان داد در حالیکه تاثیر تیمار برگی سولفات‌روی بر پارامترهای رشدی مذکور به مراتب در مقایسه با نانوذره کمتر بود (۲۷). تاثیر رشدی و فیزیولوژیکی مختلف بین نانوذره اکسید روی و اکسید روی معمولی را می‌توان به انتشار آهسته یون روی ( $Zn^{2+}$ ) از نانوذرات روی نسبت داد. هر چند که نانوذرات روی با قدرت اتحال بالا شناخته شده‌اند، اما مطالعه قبلی حاکی از آن بود که اتحال نانوذرات روی در آب نسبتاً کند است و

درصد) و آلفا-کادینول (از ۴/۳۹۴ تا ۶/۹۲۸ درصد) بودند. سایر ترکیبات اغلب مقادیری کمتر از ۲ درصد را دارا بودند.

تیمارهای اکسید روی و نانوذرات اکسید روی در غلظت-های مختلف موجب تغییرات معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) در محتوای سه ترکیب اصلی متیل چاویکول، لینالول و آلفا-کادینول شدند. بیشترین و کمترین میزان متیل چاویکول به ترتیب در گیاهان تیمار شده با نانوذرات اکسید روی ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر (۶۱/۱۸۸ درصد) و اکسید روی ۵۰ میلی‌گرم (۵۳/۰۶۷ درصد) بدست آمد. در مورد میزان لینالول، بیشترین و کمترین مقادیر به ترتیب در گیاهان شاهد (۱۳/۹۳۳ درصد) و محلول‌پاشی شده با نانوذرات اکسید روی ۵۰ میلی‌گرم (۸/۸۸۳ درصد) مشاهده شد. بیشترین و کمترین میزان آلفا-کادینول نیز به ترتیب در تیمارهای نانوذرات اکسید روی ۵۰ میلی‌گرم (۶/۹۲۸ درصد) و نانوذرات اکسید روی ۱۰۰ میلی‌گرم (۴/۳۹۴ درصد) بدست آمد.

## بحث

در مطالعه حاضر محلول‌پاشی برگی اکسید روی در اکثر سطوح به خصوص در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، باعث افزایش پارامترهای رشدی شامل طول کل گیاه (طول اندام هوایی + طول ریشه)، وزن تر کل گیاه (وزن تر اندام هوایی + وزن تر ریشه)، وزن خشک کل گیاه (وزن خشک اندام هوایی + وزن خشک ریشه) و تعداد برگ در بوته شد. همچنین مشاهده شد که روند یکنواختی بین صفات ارتفاع گیاه با وزن تر و خشک گیاه و نیز تعداد برگ در بوته، با افزایش سطح تیمار وجود دارد. در مطالعات قبلی اثر مثبت ریز مغذی روی بر افزایش صفات رشدی در گیاهان مختلف مشخص شده است. در آزمایش مشابه کاربرد برگی اکسید روی باعث افزایش وزن خشک دو رقم ذرت در شرایط بدون تنش و نیز تحت تنش شوری شد (۳). عنصر روی با تأثیر بر آنزیم کربنیک آنھیدراز سبب افزایش

نانوکود کلات روی در افزایش محتوای اسانس ریحان بیشتر از سولفات روی و کلات روی بود و همچنین با افزایش مقدار روی بکار رفته، محتوای اسانس نیز افزایش یافت (۴). با توجه به نقش عنصر روی در فتوستتر و متاپولیسم قندها و نیز با عنایت به اینکه قندها (گلوكز) مهمترین منابع کرین و انرژی مورد استفاده در بیوسنتز اسانس (ترپین‌ها) هستند، از این رو نقش فراهمی روی در تولید و تجمع اسانس حائز اهمیت است. از طرف دیگر، نانوذرات به دلیل جذب بیشتر توسط گیاه (۲)، اثرگذاری بیشتری نسبت به ذرات معمولی دارند و این می‌تواند مؤثرتر بودن نانوذره روی (با افزایش سطح آن) را نسبت به اکسید روی، توجیه کند.

ترکیبات غالب اسانس در گیاه ریحان در مطالعه حاضر و در گیاهان شاهد و تیمار شده با روی در غلظت‌های مختلف آن، شامل ترپین‌های اکسیژن‌دار و در بین آنها سه ماده مตیل چاویکول، لینالول و آلفا کادینول بود، هر چند که میزان نسبی آنها در تیمارهای مختلف، متفاوت بود. در دو واریته از ریحان که از مزارع محلی در ایران جمع‌آوری شده بودند، بیشترین مقدار اسانس به ترتیب مربوط به متیل چاویکول و لینالول بود (۲۷). حنیف و همکاران (۱۷) نشان دادند که در اسانس ریحان ترکیبات مهم و اساسی از نوع مونوترپین‌های اکسیژن‌دار هستند و در بین آنها متیل چاویکول یا استراگول متاپولیت مهم با مقدار بالای را شامل می‌شود. همچنین در مطالعه دیگر، بیشترین مقدار اسانس در ریحان، متاپولیت ثانویه متیل چاویکول بود و آلفا کادینول از ترکیباتی بود که مقدار بالایی را در بین ترکیبات ثانویه نشان داد (۳۹).

نتایج جدول ۱ نشان داد که کاربرد برگی روی (اکسید روی و نانوذره روی) در غلظتها مختلف بر میزان ترکیبات اسانس ریحان موثر بوده است. Dehabadi و همکاران (۱۵) مشاهده کردند که محتوای کل مونوتروپین‌های اسانس *Mentha spicata* با استفاده از تیمار روی افزایش می‌یابد

تنها حدود ۲٪ روی در عرض ۲۴ ساعت از نانوذره آزاد شد (۲۹). از آنجا که محلول حاوی نانوذره روی در هر کاربرد برگی به صورت تازه تهیه شد، انتظار نمی‌رود که اتحلال آن زیاد باشد. با این حال، پس از اتصال نانوذرات به سطح برگ‌های ریحان، یون روی ممکن است به طور مداوم آزاد شود و منبع طولانی مدتی از روی را فراهم کند. نتایج شکل ۲ (الف تا د) نشان داد که هر دو تیمار آزمایشی در غلظت‌های مورد نظر تاثیر مثبتی بر میزان رنگیزه‌های فتوستتری شامل کلروفیل a، کلروفیل b و کارتونوئیدها در گیاه داروئی ریحان داشتند و تاثیر مثبت نانوذره اکسید روی در هر سطح مورد مطالعه، نسبت به اکسید روی معمولی در افزایش میزان رنگیزه‌ها بیشتر بوده است. اثر افزایشی عنصر روی به فرم معمولی و نانوذره بر میزان رنگیزه‌های فتوستتری در گیاهان مختلف در شرایط بدون تشخ و نیز در شرایط تشخ مشخص شده است (۱۳، ۴۰). کاربرد نانوذره روی در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر، باعث افزایش قابل توجه در میزان کلروفیل کل و کارتونوئیدهای هویج وحشی شد (۳۴). فلز روی با دخالت در تنظیم غلظت‌های سیتوپلاسمی آهن و منیزیم، در بیوسنتز کلروفیل و کارتونوئیدها نقش مهمی را ایفا می‌کند (۵). در ضمن روی می‌تواند با به تعویق انداختن تخریب و پیری سلولی به صورت غیرمستقیم بر میزان کلروفیل تاثیر داشته باشد (۲۵). از طرف دیگر با توجه به نقش روی در تحریک بیوسنتز پروتئین و آنزیمهای مختلف، می‌توان گفت روی بعنوان کوفاکتور آنزیم‌ها نقش مهمی در تجمع پیگمان‌های رنگی به خصوص کلروفیل و کارتونوئیدها دارد.

مشخص شده که عوامل محیطی و استرس‌زا می‌تواند ترکیب شیمیایی و اسانس گیاهان مختلف را تحت تاثیر قرار دهد. در این تحقیق درصد اسانس تحت تاثیر محلول‌پاشی برگی روی افزایش یافت و بیشترین درصد اسانس در گیاهان تیمار شده با نانوذره روی در سطح ۱۰۰ میلی گرم مشاهده شد (شکل ۳). در آزمایش مشابه، تاثیر

نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد برگی اکسید روی معمولی و نانوذره اکسید روی در سطوح مختلف تاثیر مثبت معنی‌دار بر رشد، رنگیزه‌های فتوسترنزی و کمیت و کیفیت اسانس ریحان دارد. بیشترین مقدار شاخص‌های رشدی، رنگیزه‌های کلروفیل a<sup>a</sup> و b<sup>b</sup> و کارتوئیدها و نیز درصد اسانس در گیاهان محلول‌پاشی شده با ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره روی مشاهد شد. بررسی ترکیبات اصلی اسانس ریحان مشخص کرد که مونوتربین‌های اکسیزن‌دار درصد مهمی از ترکیبات ثانویه موجود در اسانس را تشکیل می‌دهند. بیشترین میزان اسانس را سه ترکیب متیل چاویکول، لینالول و الفا کادینول شامل می‌شوند. همچنین کاربرد برگی نانوذره روی در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین مقدار متیل چاویکول و آلفا کادینول را ایجاد کرد. بنابراین کاربرد برگی روی و بخصوص نانوذره روی، نقش مهمی در افزایش زیست‌توده و اسانس گیاه ارزشمند ریحان دارد.

### تقدیر و تشکر

از دانشگاه مراغه بابت حمایت مالی از انجام این پژوهش قدردانی می‌شود.

در حالی که سزکوئی‌ترین‌ها کاهش می‌یابند. حسن پوراقدم و همکاران (۱۸) مشخص کردند که متیل چاویکول به عنوان ماده اصلی *Ocimum basilicum* با تیمار سولفات روی افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که روی با تاثیر بر مسیرهای متابولیکی اولیه در نهایت منجر به بیوسترنز اجزای فعال اسانس می‌شود (۱۸). و همکاران (۲۴) اظهار داشتند که بین مسیرهای متابولیکی اولیه و بیوسترنز/جمع متابولیت‌های ثانویه در گیاه *Pelargonium graveolens* ارتباط موثری وجود دارد. در مطالعه حاضر، کاربرد برگی نانوذره روی در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش دو متابولیت اصلی ریحان یعنی متیل چاویکول و آلفا-اپی کادینول شد (جدول ۱). کاربرد نانوذره روی به صورت کمپلکس با آمینو لولینیک اسید باعث افزایش مقدار متیل چاویکول در گیاه *Pimpinella anisum* شد (۳۸). ذرات نانو ممکن است افزایش ملایمی در تولید گونه‌های فعال اکسیزن در سلول ایجاد کنند (۶)، که این امر می‌تواند باعث تغییر در متابولیسم ثانویه شده و سیستم آنتی‌اکسیدان را فعال کند. بنابراین، استفاده از کود نانو به عنوان الیستیور، با تغییر در ترکیب شیمیایی اسانس، می‌تواند برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مورد نظر مفید باشد (۲۳).

### منابع

- ۱- امیدبیگی، ر، ۱۳۹۳. روش‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد سوم، انتشارات به نشر، ۴۰۰ صفحه.
- ۲- رستمی، ق، مقدم، م، قاسمی پیربلوطی، ع، تهرانی فر، ع، ۱۳۹۹. اثر سولفات و نانوذرات آهن و روی بر زیست‌توده، مقدار و ترکیبات روغن‌های انسانی نعناع فلفلی (L.) تحت تشن شوری. پژوهش‌های گیاهی، (۳)۳۳، ۵۰۵-۵۱۵.
- ۳- فتحی، ع، زاهدی، م، تراپیان، ش، ۱۳۹۴. ارزیابی اثر محلول پاشی اکسید روی به فرم معمول و نانوذرات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای پرولین در دو رقم Zea Mays L. تحت تشن شوری. علوم گیاهان زراعی ایران، (۲)۴۶، ۲۵۷-۲۶۶.
- ۴- فلاخی، ع، عباس‌حسنی، ع، سفیدکن، ف، ۱۳۹۵. اثر محلول پاشی منابع مختلف روی بر عملکرد و ویژگیهای فیتوشیمیایی گیاه *vulgaris*.

- 1- Abbasi, A. and Enayati, V., 2013. Decrease of cell defense mechanisms efficiency and oxidative stress accruing in lake of Mg condition. Iranian Journal of Dryland Agriculture, 1(4), 41-52.
- 2- Adrees, M., Khan, Z., Hafeez, M., Rizwan, M., Hussain, K., Asrar, M., Alyemeni, M., Wijaya, L., Ali, S., 2021. Foliar exposure of zinc oxide nanoparticles improved the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) and decreased cadmium concentration in grains under simultaneous Cd and water deficient stress. Ecotoxicology and environmental safety, 208, 111627.
- 3- Alloway, B.J., 2008. Zinc in Soils and Crop Nutrition, second ed. International Zinc Association and International Fertilizer Industry Association, Brussels, Belgium/Paris, France.
- 4- Andrade, E., Alves, C., Guimarães, E., Carreira, L., Maia J., 2011. Variability in essential oil composition of *Piper dilatatum* LC Rich. Biochemical Systematics and Ecology, 39(4), 669-75.
- 5- Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23, 112-121.
- 6- Asadi-Samani, M., Rafieian-Kopaei M., Azimi, N., 2013. Gundelia: A Systematic Review of Medicinal and Molecular Perspective. Pakistan Journal of Biological Sciences, 16(21), 1238-47.
- 7- Babaei, K., Sharifi, RS., Pirzad, A. and Khalilzadeh, R., 2017. Effects of bio fertilizer and nano Zn-Fe oxide on physiological traits, antioxidant enzymes activity and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. Journal of Plant Interactions.12, 381-389.
- 8- Cakmak, I., 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? Plant Soil 302, 1-17.
- 9- Dehabadi, S.Z., Asrar, Z. and Mehrabani, M., 2010. Biochemical changes in terpenoid compounds of *Mentha spicata* essential oils in response to excess zinc supply. Iranian Journal of Plant Biology, 2(1), 1-10.
- 10- Fattahi, B., Arzani, K., Souri, M.K. and Barzegar, M., 2020. Effect of cadmium and lead on morpho-physiological traits and Photosynthesis of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Iranian Journal of Horticultural Science, 50(4), 839-849.
- 11- Hanif, M.A., Nawaz, H., Ayub, M.A., Tabassum, N., Kanwal N., Rashid N., Saleem, M., Ahmad, M., 2017. Evaluation of the effects of Zinc on the chemical composition and biological activity of basil essential oil by using Raman spectroscopy. Industrial Crops and Products, 96, 91-101.
- 12- Hassanpouraghdam, M.B., Gohari, G.R., Tabatabaei, S.J., Dadpour, M.R. and Shirdel, M., 2010. NaCl salinity and Zn foliar application influence essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.). Acta agriculturae Slovenica, 97(2), 93-95.
- 13- Heidian, E., Rafieian-Kopaei, M., 2012. Effect of silymarin on liver phosphatidate phosphohydrolase in hyperlipidemic rats. Bioscience Research, 9(2), 59-67.
- 14- Li, X. M., Tian, S. L. and Pang, Z. C., 2009. Extraction of cuminum cyminum essential oil by combination technology of organic solvent with low boiling point and system distillation. Food Chemistry, 115, 1114-1119.
- 15- Lobiuc, A., Vasilache, V., Oroian, M., Stoleru, T., Burducea, M., Pintilie, O., Zamfirache, M.M., 2017. Blue and red LED illumination improves growth and bioactive compounds contents in acyanic and cyanic *Ocimum basilicum* L. microgreens. Molecules, 22, 4.
- 16- Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second edition, Academic Press Limited. Harcourt Brace and Company, Publishers, London, pp. 347-364.
- 17- Marslin, G., Sheeba, C.J., Franklin, G., 2017. Nanoparticles alter secondary metabolism in plants via ROS burst. Frontiers in Plant Science, 8, 832.
- 18- Misra, A., Srivastava, A.K., Srivastava, N.K. and Khan, A., 2005. Zn-acquisition and its role in growth, photosynthesis, photosynthetic pigments and biochemical changes in essential monoterpane oil(s) of *Pelargonium graveolens*. Photosynthetica, 43(1), 153-155.
- 19- Movahhedi Dehnavi, M., Modarres Sanavi, A.M., Soroush-Zade, A. and Jalali, M., 2004. Changes of proline, total soluble sugars, chlorophyll (SPAD) content and chlorophyll fluorescence in safflower varieties under drought stress and foliar application of zinc and manganese. Biaban, 9(1), 93-110.
- 20- Naderi, M.R. and Danesh-Shahraki, A., 2013. Nanofertilizers and their roles in sustainable agriculture. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5(19), 2229-2232.
- 21- Pirmoradi, M.R., Moghaddam, M., Farhadi N., 2013. Chemotaxonomic Analysis of the Aroma

- Compounds in Essential Oils of Two Different *Ocimum basilicum* L. Varieties from Iran. *Chemistry & Biodiversity*, 10, 1361-1371.
- 28- Prasad, T., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K.R., Sreeprasad, T., Sajanlal, P., Pradeep, T., 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*, 35, 905-927.
- 29- Reed, R.B., Ladner, D.A., Higgins, C.P., Westerhoff, P., Ranville, J.F., 2012. Solubility of nano-zinc oxide in environmentally and biologically important matrices. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31, 93-99.
- 30- Rossi, L., Fedenia, L.N., Sharifan, H., Ma, X., Lombardini, L., 2019. Effects of foliar application of zinc sulfate and zinc nanoparticles in coffee (*Coffea arabica* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 135, 160-166.
- 31- Rout, G., & Das, P., 2003. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I. Zinc. *Journal of Agronomy*, 23, 3-11.
- 32- Saa, S., Negron, C., Brown, P., 2018. Foliar zinc applications in *Prunus*: From lab experience to orchard management. *Scientia Horticulturae*, 233, 233-237.
- 33- Sestili, P., Ismail, T., Calcabrini, C., Guescini, M., Catanzaro, E., Turrini, E., Layla, A., Akhtar, S., Fimognari, C., 2018. The potential effects of *Ocimum basilicum* on health: a review of pharmacological and toxicological studies. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 14, 679-692.
- 34- Siddiqui, Z.A., Parveen, A., Ahmad, L., Hashem, A., 2019. Effects of graphene oxide and zinc oxide nanoparticles on growth, chlorophyll, carotenoids, proline contents and diseases of carrot. *Scientia Horticulturae* 249, 374-382.
- 35- Souri, M.K. and Dehnavorad, S., 2018. Tomato plant growth, leaf nutrient concentrations and fruit quality under nitrogen foliar applications. *Advances in Horticultural Science*, 32(1), 41-47.
- 36- Souri, M.K. and Hatamian, M., 2019. Aminochelates in plant nutrition; a review. *Journal of Plant Nutrition*, 42(1), 67-78.
- 37- Souri, M.K., Naiji, M., Kianmehr, M.H., 2019. Nitrogen release dynamics of a slow release urea pellet and its effect on growth, yield, and nutrient uptake of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of plant nutrition*, 42(6), 604-614.
- 38- Tavallali, V., Rahmati, S., Rowshan, V., 2017. Characterization and influence of Green synthesis of nano-sized zinc complex with 5-aminolevulinic acid on bioactive compounds of aniseed. *Chemistry & Biodiversity*, e1700197
- 39- Tavallali, V., Rowshan V., Bahmanzadegan, A., 2018. Variations in sweet basil in response to Green synthesized Zinc-Amino nano complexes. *Journal of Cleaner Production*, 196, 452-459.
- 40- Yadghari, R., Nyakan, M. and Mosavat, A., 2014. The effect of nano and non-nano forms chelate zinc on growth, chlorophyll content and soluble sugar pea plants (*Cicer arietinum* L.) in different levels of salinity. *Iranian Journal of Plant Ecophysiology Research*, 9, 137-150.

## The effect of foliar application of zinc oxide and zinc nanoparticles on growth, photosynthetic pigments and essential oil compounds of green basil

Aghaee A.<sup>1,\*</sup>, Shahabivand S.<sup>1,\*</sup>, Athari M.<sup>1</sup> and Nasiri Y.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Maragheh, Maragheh, I.R. of Iran

<sup>2</sup>Dept. of Plant production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, I.R. of Iran

### Abstract

Zinc as an essential micronutrient element has an important impact on the growth and metabolism in plants. This experiment was carried out to evaluate the effect of foliar application of zinc on growth, photosynthesis pigments, and essential oil quantity and quality of basil under greenhouse conditions. The treatments were four levels zinc oxide (0, 25, 50, 100 mg/L) and four levels zinc oxide nanoparticles (0, 25, 50, 100 mg/L). The results showed that foliar application of zinc had significant influence on the evaluated parameters. Treatments of Zinc oxide and zinc nanoparticle significantly increased plant length, plant wet and dry weights, leaf number per plant, photosynthesis pigments contents and essential oil percent, and in this regard, zinc nanoparticle impact was more effective than zinc oxide. The highest growth parameters and pigments content were observed at 100 mg/l zinc nanoparticle. Based on the results, 34 components were identified in the basil essential oil that maximum amounts were oxygenated monoterpenes, and three main components were methyl chavicol, linalool and alpha-cadinol. Also, maximum amount of methyl chavicol and alpha-cadinol was observed under 50 mg/l nanoparticles. Zinc has probably increased growth and production of essential oils in basil by increasing the growth hormones, improving the uptake of some nutrients, and increasing the synthesis of precursors of secondary metabolites. The findings of this study showed that the effect of zinc nanoparticle was more effective than zinc oxide in increasing growth and active substances of basil.

**Key words:** Basil essential oil, Zinc oxide, Foliar spraying, Zinc nanoparticle