بررسی اثر نانوذرات تیتانیوم‌دی‌اکسید (TiO_2) بر رنگیزه های فتوسنتزی و برخی از خصوصیات بیوشیمیایی و آنتی اکسیدانی گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.)

آتنا غلامی[1]، حسین عباسپور[2]، مهیار گرامی[3]،حمید هاشمی مقدم[4]*

1- دانش آموخته دکتری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی،واحد دامغان
2- دانشیار زیست گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان
3- استادیار زیست گیاهی، عضو هیات علمی موسسه آموزش عالی سنا ساری
4- دانشیار شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان

(تاریخ دریافت: 97 /09/08 تاریخ پذیرش: 99/04/09)

چکیده

استفاده از فناوری نانو، می‌تواند کاربردهای مهم و جدیدی را در زمینه های مختلف علوم کشاورزی ایجاد نماید به گونه ای که بر بهبود عملکرد گیاهان، افزایش رشدو فتوسنتز تاثیرگذار باشد. با استفاده از این فناوری می‌توان شیوه های مدیریت محصول را بهبود بخشید. میزان جذب نانو ذرات در گیاهان متفاوت بوده و بستگی به نوع گیاه، ترکیب شیمیایی و اندازه این ذرات دارد. نانو ذره دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) به طور وسیعی در صنایع کشاورزی به جهت افزایش خصوصیات رشدی گیاهان به کار می‌رود. بدین منظور این پژوهش به مطالعه اثر نانوذرات تیتانیوم‌دی‌اکسید بر رنگیزه های فتوسنتزی و برخی از خصوصیات بیوشیمیایی و آنزیم های آنتی اکسیدانی گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) پرداخته است. این تحقیق بصورت طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در سال 1396-97 در گلخانه دانشگاه آزاد دامغان صورت پذیرفت. غلظت‌های مختلف نانوذره تیتانیوم در هفت سطح (0، 20، 40، 80، ،100، 200 و 400 پی پی ام) طی سه مرحله با بازه زمانی یکهفته بر گیاه رزماری محلول پاشی شدند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره تیتانیوم مقدار کلروفیل a ، کلروفیلb، کلروفیل کل و کاروتنوئید روند افزایشی را نشان داد به گونه‌ای که بیشترین مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئید مربوط به غلظت 200 پی پی ام نانوذره تیتانیوم بود. همچنین اثر نانوذره تیتانیوم بر مقدار قند محلول حاکی از آن بود که با افزایش غلظت‌های نانوذره تیتانیوم روند افزایشی در این صفت مشاهده گردید که بیشترین مقدار مربوط به غلظت‌های100، 200 و 400 پی پی ام نانوذره بود. نتایج محلول پاشی نانوذره تیتانیوم بر مقادیر آنزیم های آنتی اکسیدانی بیانگر آن بود که در سطوح بالای غلظتی نانوذره تیتانیوم (۸۰،۱۰۰، 200 و 400 پی پی ام) مقدار این آنزیم های آنتی اکسیدانی افزایش معنی داری را نسبت به نمونه شاهد داشت. بطورکلی به کارگیری غلظت‌های مختلف نانوذره تیتانیوم بر برخی از خصوصیات آنتی اکسیدانی و بیوشیمیایی گیاه رزماری تاثیر گذار بود به گونه‌ای که در غلظتهای بالای این نانوذره، بیشترین روند افزایشی را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند.

کلید واژگان: فناوری نانو، نانوذره تیتانیوم، رنگیزه های فتوسنتزی، گیاه رزماری

*مسئول مکاتبات: hashemimoghaddam@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

1- مقدمه

گیاه رزماری(*Rosmarinus officinalis* L.) متعلق به خانواده نعناعیان، گیاهی است چند ساله به فرم بوته ای که در تمامی فصل‌های سال سبز با ارتفاع یک تا دو متر می باشد. این گیاه دارای شاخه های بلند و باریک خوشبو، گرم و تند است و جزء گیاهان ادویه ای به شمار می رود. برگ های این گیاه ضخیم و چرمی درخشان به صورت خطی با گل‌های کوچک و آبی کم رنگ است. روزماری یک ادویه خوب برای غذا به شمار میرود همچنین یک داروی گیاهی مناسب برای رفع ریزش مو و توقف آن است [1]. سالیان دراز است که مردم نواحی مختلف جهان از گیاه رزماری بصورت تازه و یا خشک کرده آن در غذاهای خود استفاده می کنند.بهره‌گیری از علوم و فناوری‌های جدید در جهت رفع نیازهای بشری همواره مورد توجه بشر بوده است. استفاده از فناوری‌های نوین می‌تواند باعث افزایش بهره‌وری کشاورزی گردد. امروزه فناوری نانو دارای پتانسیل بسیار بالایی در جهت ارتقاء محصولات کشاورزی و باغبانی می‌باشد. در همین راستا، روش‌های نوین فناوری نانو به عنوان یک فناوری بین رشته‌ای و پیشتاز رفع مشکلات و کمبودها در بسیاری از عرصه‌های علمی، به خوبی جایگاه خود را در علوم کشاورزی و صنایع وابسته آن به اثبات رسانده است. فناوری نانو کاربردهای وسیعی در بخش کشاورزی از جمله افزایش تولیدات زراعی، کم کردن سموم و کودها در کنار حفظ محیط زیست و منابع کره زمین دارد[2]. پاسخ گیاهان به نانو ذرات برحسب نوع گونه، مرحله رویشی، سن و ماهیت نانو ذرات متفاوت است [3]. اینفناوریمی‌تواند راههایی برای بالا بردن ارزش محصولات کشاورزی و رفع مشکلات محیطی ارائه دهد[4]. در بین نانوذرات، نانو ذره دی اکسید تیتانیوم کاربرد بیشتری در صنعت دارد. برخی از ویژگی‌های این ماده که موجب برتری آن نسبت به سایر ذرات شده است شامل مقاومت شیمیایی بالا، غیر سمی بودن آن، طول عمر بالای این ماده، در دسترس بودن و هزینه کم آن است[5]. نانو ذرات عبارتند از ذراتی که حداقل یک بعد از آنها کمتر از 100 نانومتر باشد. اثر نانوذرات روی عملکرد هر سیستم بیولوژیکی، از جمله گیاهان در درجه اول به خواص فیزیکی نانوذرات، مانند اندازه، شکل، وزن، ترکیب شیمیایی، تغییرات سطح و واکنش پذیری بستگی دارد. همچنین، به غلظت نانوذرات بستگی دارد و از یک گیاه به گیاه دیگر متفاوت است. نانو ذرات در این مقیاس دارای خواص جدیدی هستند که اگر به درستی سنتز شوند می‌توانند در زمینه‌های علوم پزشکی، صنایع الکترونیک، انرژی، بیوتکنولوژی و زیست محیطی بکار گرفته شوند استفاده از نانوذرات فلزی یکی از رویکردهای اخیر در جامعه علمی بوده که بیشتر مورد توجه قرارگرفته شده است[6]. یکی از ویژگی‌های مهم نانوذرات تیتانیوم که آنها را بسیار مهم و موثر می‌سازد خواص فتوکاتالیتی آنهاست. فوتوکاتالیست TiO_2 بیشتر برای تجزیه فوتون ترکیبات آلی استفاده می‌شود. این ترکیباتبه عنوان یک فتوکاتالیست در ضدعفونی (استریلیزاسیون) آلودگی های مختلف محیطی مانند مواد آلی، ویروس ها، باکتری ها، قارچ ها، جلبک ها و سلول های سرطانی استفاده می شود[7]. همچنین این ترکیبات باعث تحریک تقسیم سلولی و افزایش ابعاد آن می‌گردد و القاء کالوس‌دهی را در شرایط تاریکی در محیط‌های این ویترو تحریک می‌نماید که این اثر با افزایش جذب نور و سرعت بخشیدن در انتقال انرژی نورانی و جلوگیری از فروپاشی کلروپلاست‌ها وبالا بردن ظرفیت فتوسنتزی انجام می‌گیرد [8]. با توجه به اهمیت نانوذره تیتانیوم و خاصیت فتوکاتالیستی آن، این پژوهش به مطالعه اثر نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید (TiO_2) بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) پرداخته است.

2- مواد و روشها

2-1- مواد و تجهیزات مورد استفاده

آب اکسیژنه، اتانول، استن، اسید استیک، اسید اورتوفسفریک، اسید سولفوسالیسیلیک، کوماسی بریلیانت بلو، اسید کلریدریک، اتیلن دی آمین تری استیک اسید، نیترات کلسیم، سولفات روی، سولفات مس، سولفات منیزیم، نین هیدرین، نیترات پتاسیم، فسفات منو پتاسیک، کربنات سدیم، فنل، اسید تیوباربیتوریک، هیدروکسید باریم، اسیدتری کلرواستیک، کلرورآهن، تری کلرو استیک اسید، اسید سولفوریک، گایاکول، فسفات هیدروژن پتاسیم، گلوکز، تولوئن، نیترات آمونیوم، نیتروژن مایع، بافرتریس،

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

فسفات دی پتاسیک همگی از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. سرم آلبومن گاوی از شرکت سیگما الدریچ تهیه گردید. نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم با خلوص 99/99٪ با قطر 20 نانومتر در فرم روتیل/ آناتاز 80/20 از شرکت US Nano خریداری گردید.

وسایل مورد استفاده عبارتند از: اسپکتروفتومتر(Shimadzu UV-120-02) آون (Electrolux)، اتوکلاو (Electric Steroclave)، بن‌ماری(Fan Azma)، pH متر (Metrohm)، ترازوی آنالیتیک(Savtorius)، سانتریفوژ معمولی (Tomy Seiko) ، شیکر(Fan Azma Gostor)

2-2- طرح آزمایش، مواد اولیه و سنجش پارامترها

این پژوهش در دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان در سال 96-1395صورت پذیرفت. به منظور بررسی تاثیر نانوذره تیتانیوم بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه رزماری ، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نانو ذره تیتانیوم از US Research Nanomaterials,Inc تهیه گردید.سایر مواد مصرفی در گرید نجزیه ای از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.غلظت‌های مختلف نانوذره تیتانیوم (0، 20، 40، 80، ،100، 200 و 400 پی پی ام) بر گیاه رزماری، طی سه مرحله با بازه زمانی یکهفته محلول پاشی شدند. گیاهچه‌های45 روزه رزماری از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی کرج تهیه شدو به گلدان‌های پلاستیکی با بستر حاوی پرلیت و پیت موس انتقال داده شد.تامین نیاز تغذیه‌ای توسط محلول غذایی هوگلند صورت گرفت. بعداز گذشت یک هفته غلظت‌های مختلف نانوذره به صورت محلول‌پاشی برگی به گیاه اعمال شد. همچنین بعد از آن شوری به صورت آبیاری به همراه محلول غذایی هوگلند در اختیار گیاهان قرار گرفت. سپس مقدار رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل‌کل، کاروتنوئید)، بیوشیمیایی (فلاونوئید، قندمحلول، آنتوسیانین و آب اکسیژنه) و برخی از خصوصیات آنتی اکسیدانی (فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و درصد مهار رادیکال آزاد) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار SAS صورت گرفت و رسم نمودارها در نرم افزار Excel انجام شد.

همچنین لیست دستگاه ها و ابزار و مواد مورد نیاز در جداول 1، 2 و 3 نشان داده شده است.

2-2-1- سنجش کلروفیل (a، b) و کارتنوئید

اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه استویا از طریق روش آرنون [9] و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. پس از تهیه نمونه‌ها، جذب محلولبا استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج‌های 663، 645 و480 نانومتر اندازه‌گیری و برای شاهد نیز از استون 80% استفاده گردید. مقدار کلروفیل‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم محاسبه گردید.

2-2- 2- سنجش آنتوسیانین کل

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل، مقدار 0/02 گرم از بافت خشک گیاهی با 4 میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک 1% متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت 24 ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس، محلول به مدت 10 دقیقه و در 13000 دور سانتریفوژ گردید. فاز رویی را برداشته و جذب محلول‌ها در طول موج 530 و 657 نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از محلول اسید کلریدریک 1% متانول به عنوان شاهد استفاده گردید. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید[10].

$$A=A_{530}-(0.25-A_{657})$$

A : جذب محلول (اعداد اندیس نشانگر طول موج‌هایی است که جذب در آنها اندازه‌گیری شده است).

2-2-3- استخراج محلول آنزیمی

جهت استخراج محلول‌های آنزیمی کاتالاز و گایاکول پراکسیداز 0/5 گرم از نمونه برگی با استفاده از هاون چینی کاملا سرد و نیتروژن مایع ساییده شدند و سپس به آن2 میلی‌لیتر از بافرفسفات سرد (pH=7) محتوی 0/5EDTA میلی‌مولار، اضافه شد. هموژن‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش، به مدت 15 دقیقه با 20000 دور در دقیقه و دمای 4 درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. برای پیشگیری از اثرات مضر انجماد و ذوب متوالی نمونه‌ها، محلول آنزیمی تا زمان اندازه‌گیری در دمای 20- سانتی‌گراد نگهداری شد (46). آنزیم آسکوربات پراکسیداز دوام کمی در محیط خارج از سلول دارد به طوری‌که برخی از ایزوزیم‌های آن، نیمه‌ی عمر کمتر از 2 دقیقه در محیط‌های با غلظت پائین آسکوربات دارند. به همین دلیل جهت حفظ ساختار

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

و پایداری آن به محلول استخراج آنزیم پلی‌وینیل پیرولیدین (5%) و آسکوربات 2 میلی‌مولار اضافه شد و در سایر موارد استخراج آنزیم آسکوربات پراکسیداز مشابه آنزیم‌های فوق می‌باشد.

2-2-3-2-1- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش لوک [11] استفاده شد.20 میکرولیتر عصاره آنزیمی با 980 میکرولیتر از بافرفسفات حاوی آب‌اکسیژنه دومیلی‌مولار مخلوط شدند و تغییرات جذبآن‌ها درطول موج 240 نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد.

2-2-3-2-2- گایاکول پراکسیداز

کمپلکس واکنشی (2 میلی‌لیتر) شامل 1 میلی‌لیتر بافرفسفات 100 میلی‌مولار (PH=7)، 250 میکرولیتر از 0/1EDTA میلی‌مولار، 1 میلی‌لیتر گایاکول 5 میلی‌مولار، 1 میلی‌لیتر پراکسید 15 میلی‌مولار و 50 میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شد. واکنش با اضافه کردن محلول آنزیمی شروع شده و افزایش جذب در طول موج 470 نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیمی بر اساس میزان تتراگایاکول تشکیل شده و با استفاده از ضریب خاموشی $1/33\ mmol^{1}.cm^{-1}$ به دست آمد [12].

2-2-3-2-3-سنجش فعالیت درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH)

جهت اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال آزاد 2 میلی‌لیتر عصاره با 2 میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH%0/004 مخلوط گردید. جذب نمونه‌ها در 517 نانومتر در مقابل شاهد متانول خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد (I%) هر عصاره به کمک فرمول ذیل محاسبه شد [13].

$$\%I = (A_{control} - A_{sample}) / A_{control} \times 100$$

2-2-4- اندازه گیری میزان قند محلول

جهت سنجش میزان قند محلول، 0/1 گرم بافت تازه را با 5 میلی‌مولار اتانول 80% گرم در هاون چینی خرد و 15 دقیقه در بن ماری قرار داده شد. بعد از آن، عصاره الکلی حاوی قند محلول را جدا و قسمت پایینی همراه با 5 میلی‌مولار اتانول 80% دوباره برای تکرار عصاره گیری به حمام آب جوش منتقل گردید. عمل استخراج با اتانول 4 بار تکرار شد. بعد از استخراج به منظور تبخیر الکل، عصاره بدست آمده در دمای 70 درجه قرار گرفت. برای حذف کلروفیل عصاره حاصل به نسبت 1 به 5 با کلروفرم مخلوط شد و بعد از ورتکس به مدت 5 دقیقه به حال سکون رها شد. فاز بالایی عصاره بدست آمده به مدت 10 دقیقه در سرعت 10000 rpmسانتریفوژ شد. قسمت شفاف بالایی جدا و برای اندازه گیری قند محلول استفاده گردید. اندازه‌گیری قند با اندازه‌گیری بوسیله انترون بر طبق روشمک ردی [14]. انجام پذیرفت. سه میلی‌لیتر محلول انترون به 200 میکرولیتر عصاره اضافه گردید و به مدت 20 دقیقه در حمام آب جوش قرار داده وپس از سرد شدن نمونه‌ها میزان جذب آنها در طول موج 620 نانومتراندازه‌گیری شد. جهت تهیه 100 میلی‌لیتر معرف آنترون، ابتدا 76 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 98 درصد با 30 میلی‌لیتر آب مقطر رقیق گردید. بعد از سرد شدن 150 میلی‌گرم آنترون در آن حل و در ظرف کهربایی نگهداری شد.

2-2-5- سنجش محتوای آب اکسیژنه

برای اندازه‌گیری میزان آب اکسیژنه، از روشسرگیو و همکاران (1997) استفاده شد. برای این منظور، 500 میلی‌گرم از بافت برگی را با 5 میلی‌لیتر TCA 0/1درصد در حمام یخ، ساییده تا هموژن شوند. سپس همگنای حاصل به مدت 15 دقیقه در 12000 دور سانتریفیوژ شد. 0/5 میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و 0/5 میلی لیتر از بافر فسفات بتاسیم 10Mmو 1 میلی‌لیتر یدورپتاسیم 1مولار به آن اضافه گردید. در نهایت، جذب نمونه در طول موج 390 نانومتر خوانده شد. میزان پراکسیدهیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد بدست خواهد آمد [15].

2-2-6- سنجش مقدار فلاونوئیدهای کل

از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئیدها استفاده شد [16]. هر کدام از عصاره‌های متانولی گیاهی (0/5 mL از $1:10g.\ mL^{-1}$) به صورت جداگانه با 1/5 میلی لیتر متانول، 0/1 میلی لیتر کلرید آلومینیوم (10% متانولی)، 0/1 میلی لیتر استات پتاسیم (1M) و 2/8 میلی لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول ها در دمای اتاق به مدت 30 دقیقه قرار داده شدند. جذب هر ترکیب واکنشی در 415 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتراندازه گیری شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

3- نتایج و بحث

3-1- نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثر نانو ذره تیتانیوم بر رنگدانه های فتوسنتزی و غیر فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نانو ذره تیتانیوم بر رنگدانه های فتوسنتزی و غیر فتوسنتزی (کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل، کاروتنوئید و آنتوسیانین) درسطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول 1).

Table 1 Analysis of variance of the effect of titanium nanoparticles on photosynthetic and non-photosynthetic pigments

	Anthocyanin	Carotenoids	Chlorophyll total	Chlorophyll b	Chlorophyll a	Degree of freedom
TiO_2	0.002**	0.7**	0.431**	0.11**	0.132**	7
Error	0.000065	0.003	0.008	0.006	0.004	16

*and **Significance effect at 1 and 5 percent probability level, respectively

مقایسه میانگین اثر نانو ذره تیتانیوم بر رنگدانه‌های فتوسنتزی حاکی از آن بود که با افزایش غلظت نانو ذره تیتانیوم مقدار کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل و کاروتنوئید روند افزایشی را نشان داد به گونه‌ای که بیشترین مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئید مربوط به غلظت 200 و 400 پی پی ام نانو ذره تیتانیوم بود به گونه ای که مقادیر کلروفیل کل در غلظتهای 200 و 400 پی پی ام به ترتیب 3/2 و 3/1 میلی گرم بر گرم وزن تر بود که نسبت به نمونه شاهد (2/2 میلیگرم بر گرم وزن تر) روندافزایشی معنی داری داشت (نمودار1).

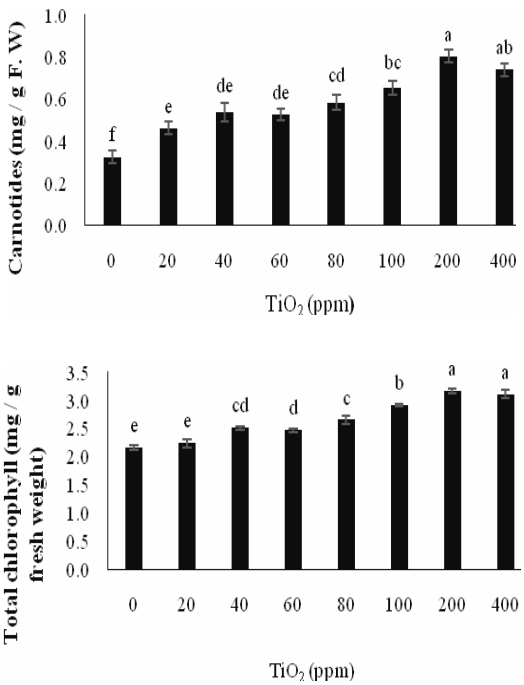
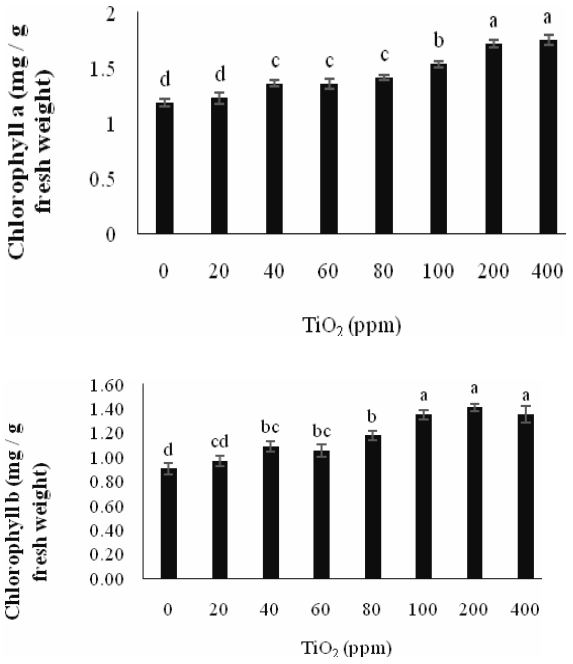


Fig 1 Investigation of the effect of titanium nanoparticles on photosynthetic pigments in Rosemary

در هر ستون میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

مقایسه میانگین اثر نانو ذره تیتانیوم بر مقدار آنتوسیانین نشان داد که با افزایش غلظت‌های نانوذره تیتانیوم، مقدار این صفت افزایش یافت به صورتیکه بیشترین مقدار آن در غلظت 200 پی پی ام (0/14 میلی گرم برگرم وزن خشک) بود که نسبت به نمونه شاهد(0/06 میلی گرم برگرم وزن خشک) معنی دار گزارش شد. (نمودار2).



[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

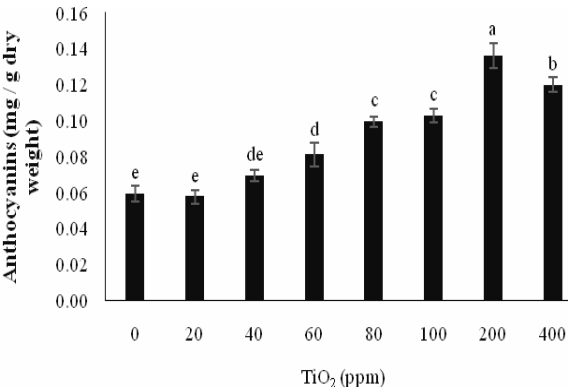


Fig 2 The effect of titanium nanoparticles on the amount of anthocyanin in rosemary

3-2-نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثر نانو ذره تیتانیوم بر برخی از صفات بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نانو ذره تیتانیوم بر برخی از صفات بیوشیمیایی (قند محلول، فلاونوئید و مقدار آب اکسیژنه) وآنزیم‌های آنتی اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و درصد مهار رادیکال آزاد) درسطح یک درصد معنی دار بود(جدول2).

Table 2 Variance analysis of the effect of titanium nanoparticles on some biochemical compounds and rosemary plant enzymes

	Catalase	Peroxidase	Polyphenol Oxidase	H_2O_2	Percentage of restraint	Flavonoid	Soluble Sugar	Degree of freedom
TiO_2	0.153**	133.02**	0.001**	0.005**	278.64**	361.032	0*	7
Error	0.005	20.984	0.0000337	0.0000758	10.043	16.659	0.0000494	16

**Significant effect on probability level of one percent

مقایسه میانگین اثر نانو ذره تیتانیوم بر مقدار فلاونوئید حاکی از آن بود که با افزایش غلظت نانو ذره تیتانیوم، مقدار فلاونوئید در گیاه رزماری افزایش یافت که این افزایش در غلظتهای۲۰۰،۱۰۰ و 400 پی پی ام (به ترتیب 58، 61 و 61 میلی گرم کوئرستین برگرم وزن تر) بیشترین مقدار را داشت(نمودار3).

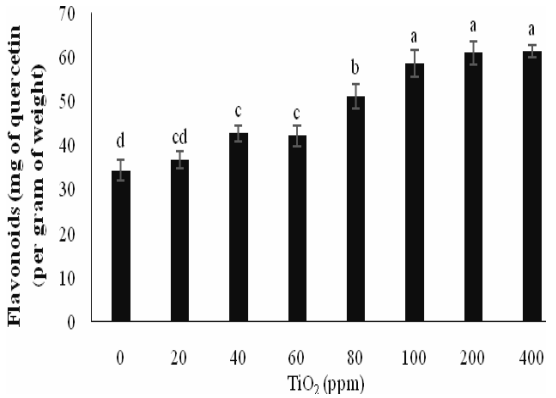


Fig 3 Investigation the effect of titanium nanoparticles on the amount of flavonoids in rosemary

در هر ستون میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

مقایسه میانگین اثر نانو ذره تیتانیوم بر مقدار آب اکسیژنه حاکی از آن بود که با افزایش غلظت‌های نانو ذره تیتانیوم روند کاهشی در این صفت مشاهده گردید که کمترین مقدار آب اکسیژنه مربوط به غلظت 200 پی پی ام نانو ذره بود(نمودار4).

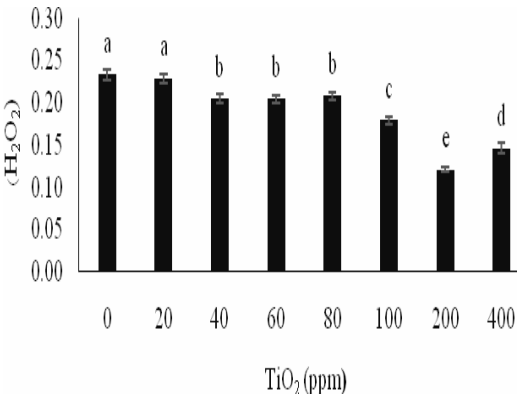


Fig 4 Investigation the effect of titanium nanoparticles on the amount of oxygenated water in rosemary

مقایسه میانگین اثر نانو ذره تیتانیوم بر مقدار قند محلول نشان داد که با افزایش غلظت‌های نانو ذره تیتانیوم روند افزایشی در این صفت مشاهده گردید که بیشترین مقدار مربوط به غلظت-

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

های100، 200 و 400 پی پی ام نانو ذره بود که نسبت به نمونه شاهد معنی دار بود به گونه ای که در سطوح پایین نانو ذره تیتانیوم (20، 40، 60 و 80 پی پی ام) روند افزایشی آن نسبت به نمونه شاهد معنی دار نبود(نمودار5).

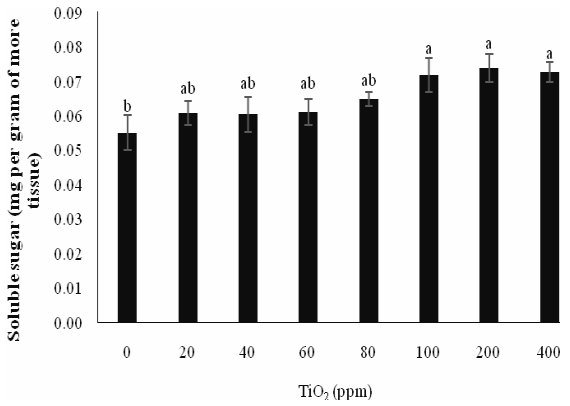


Fig 5 Evaluation of the effect of titanium nanoparticles on the soluble sugar in rosemary (in each column, the averages that have at least one common letter do not have a statistically significant difference)

مقایسه میانگین اثر نانو ذره تیتانیوم بر مقدار آنزیم کاتالاز نشان داد که غلظتهای بالای نانو ذره تیتانیوم (100، 200 و 400 پی پی ام) توانست مقدار این آنزیم را در گیاه رزماری افزایش معنی‌داری دهد به گونه‌ای که مقدار این آنزیم در غلظت 200 پی پی ام، 1 واحد آنزیمی بر میلیگرم پروتئین در دقیقه و در نمونه شاهد 0/4 واحد آنزیمی بر میلیگرم پروتئین در دقیقه گزارش شد. همچنین مقدار آنزیم پراکسیداز نیز در غلظتهای80، 100، 200 و 400 پی پی ام نانو ذره تیتانیوم به ترتیب 61/08، 59/37، 68/27 و 63/12 واحد آنزیمی بر میلیگرم پروتئین در دقیقه نسبت به نمونه شاهد (40 واحدآنزیمی بر میلیگرم پروتئین دردقیقه) بود که بیشترین مقدار این آنزیم مربوط به نمونه‌هایی بود که باغلظت 200 پی پی ام محلول پاشی شدند. مقایسه میانگین صفت آنزیم پلی فنل اکسیداز نشان داد که در سطوح بالای غلظتی نانو ذره تیتانیوم (۸۰،۱۰۰، 200 و 400 پی پی ام) مقدار این آنزیم افزایش معنی داری را نسبت به نمونه شاهد داشت. مقایسه میانگین صفت درصد مهار رادیکال آزاد حاکی از آن بود که در غلظت 200 پی پی ام نانو ذره تیتانیوم، بیشترین مقدار درصد مهار رادیکال آزاد (66 درصد) را نسبت به نمونه شاهد (40 درصد) نشان داد. این نتیجه بیانگر آن است که افزایش غلظت نانو ذره منجر به افزایش درصد مهار رادیکال آزاد در گیاه رزماری گردید (جدول3).

Table 3 Comparison of the effect of titanium nanoparticles on some antioxidant enzymes in rosemary

Polyphenol oxidase (Enzyme unit per mg of protein per minute)	Peroxidase (Enzyme unit *per mg* of protein per minute)	Catalase (Enzyme unit per mg of protein per minute)	Percentage of restraint	Treatment of Titanium nanoparticles (PPM)
0.13^{c}	49^{e}	0.4^{d}	40^{f}	Ti (0 ppm)
0.13^{c}	51.47^{de}	0.4^{d}	40^{f}	Ti (20 ppm)
0.13^{c}	54.23^{de}	0.5^{cd}	48^{de}	Ti (40 ppm)
۰/۱۳^{c}	52.27^{de}	0.4^{d}	46^{e}	Ti (60 ppm)
0.15^{b}	61.07^{abc}	0.6^{c}	53^{cd}	Ti (80 ppm)
0.15^{ab}	59.37^{bcd}	0.8^{b}	62^{ab}	Ti (100 ppm)
0.16^{a}	68.27^{a}	1^{a}	66^{a}	Ti (200 ppm)
0.16^{a}	63.13^{ab}	0.9^{ab}	58^{bc}	Ti (400 ppm)

3-3- نتایج مطالعات میکروسکوپیک

بررسی میکروگرافهای تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی نشان داد که نانوذرات تیتانیوم به طور تجمعی بر سطح اپیدرم برگ قرارگرفته اند. اندازه ذرات بین 30 تا 38 نانومتر گزارش شد(شکل6).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

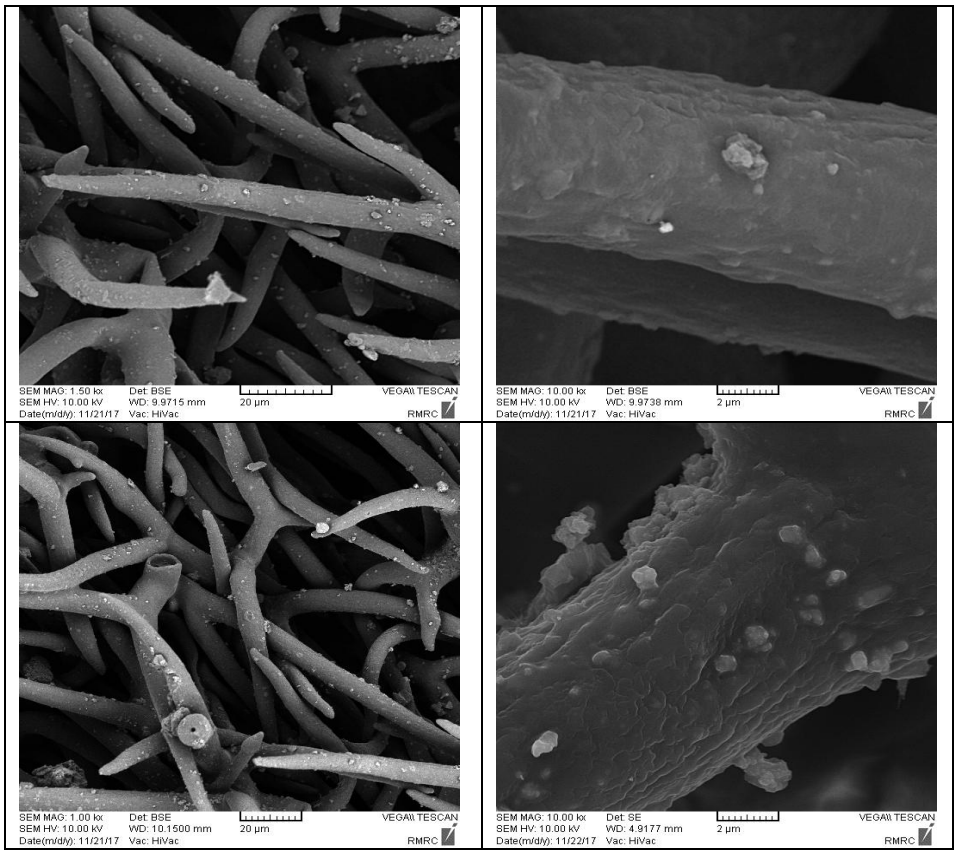


Fig 6 Electron microscopy images (SEM) of sprayed rosemary leaves (titanium 400 ppm

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول پاشی نانوذرات تیتانیوم‌دی‌اکسید (TiO_2) بر رنگیزه های فتوسنتزی و برخی از خصوصیات بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی گیاه رزماری (***Rosmarinus officinalis*** L.) موثر می‌باشد به گونه‌ای که غلظت‌های مختلف نانوذره تیتانیوم منجر به روند افزایشی در رنگیزه های فتوسنتزی و غیرفتوسنتزی گردید که با تحقیقات هونگ و همکاران (2005) مطابقت داشت آنها دریافتند که به کارگیری نانوذره تیتانیومبر گیاه اسفناج منجر به افزایش مقدار کلروفیل، فتوسنتز و وزن خشک گیاه شد[17]. گزارش یانگ و همکاران (2006) حاکی از آن بود که نانو ذرات تیتانیوم با افزایش فعالیت آنزیم رابیسکو منجر به افزایش رشد می‌گردد[18]. پژوهشگوپتا و تریفاتی (2011) نشان داد که به کارگیری نانوذرات تیتانیوم بر گیاه اسفناج(***Spinacia oleracea***) باعث تجزیه ترکیبات آلی و افزایش هیدروژن می‌گردد. همچنین محلول پاشی این ترکیب منجر به افزایش وزن تر و خشک گیاه و محتوای کلروفیلی و مقدار فتوسنتز و افزایش فعالیت رابیسکو می‌شود[19].کاربرد بیولوژیکینانو ذره تیتانیوم باعث افزایش میزان فتوسنتزی خالص، هدایت آب و میزان تعرق در گیاهان می شودنانو آناتاز به شدت انتقال الکترون، فعالیت فتوسنتز، فعالسازیO_2 و فعالیت فتوفسفوریلاسیونی کلروفیل را در نور مرئی و نور ماوراء بنفش منجرمی شود[20]. زی و همکاران(2016) گزارش دادند که نانوذره تیتانیوم باعث افزایش جذب نور توسط کلروپلاست‌ها می‌شود که در نتیجه آن کمپلکس برداشت کننده نوری فعال می‌گردد. این فعال شدن، ظرفیت فتوسنتزی را افزایش می‌دهد[21]. محققان تلاش می‌کنند که جهت بالا بردن بهبود کارایی فتوسنتز در گیاهان از دستکاری های ژنتیکی و فناوری های نانو استفاده نمایند. نانوذرات تیتانیوم از دو طریق باعث افزایش فتوسنتز می‌شود یکی از طریق تغییر در فعالیت پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز از جمله فروکتوز 1و6 دی فسفاتاز که در چرخه کالوین موثر است و تغییر در چرخه پنتوز فسفات که در متابولیسم کربوهیدرات نقش دارد و دوم از طریق افزایش کلروفیل که باعث تحریک و افزایش فتوسنتز

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]
[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

می شود [22].

نتایج این پژوهش حاکی از آن بود که که غلظت‌های بالای نانوذره تیتانیومتوانست مقدار آنزیم های آنتی اکسیدانی را در گیاه رزماری افزایش معنی‌داری دهد به گونه‌ای که مقدار این آنزیم در غلظت 200 پی پی ام بیشترین مقدار را داشت.مطالعه ای به اثر محلول پاشی نانوذره تیتانیوم بر گیاه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) پرداخته شد که نشان دهنده آن بود که نانوذره تیتانیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌گردد[23]. مارتینزسانچز و همکاران (2010)، به بررسی اثر نانوذره تیتانیوم بر فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گیاه فلفل پرداختند. نتایج نشان داد که نانوذره تیتانیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالار، نیترات ردکتاز و پراکسیداز می‌شود[24]. همچنین استفاده از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند باعث تحریک تقسیم سلولی، افزایش اندازه سلول گردد.این ترکیب می‌تواند جذب نور را افزایش، انتقال و تبدیل انرژی نورانی را تسریع، از زوال کلروپلاست‌ها ممانعت و طول دوره فتوسنتزی کلروپلاست‌ها را افزایش دهد [17]. مطالعات مرتضی و همکاران (2013) در بررسی تأثیر محلول پاشی نانو ذرات تیتانیوم (در غلظت های 0/02 ، 0/04 و 0/06 درصد) بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد دانه‌ی زیره‌ی سبز نشان دادند که به‌کار گیری نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر گیاه زیره‌ی سبز، در مقایسه با گروه شاهد (بدون استعمال برگی)، تأثیر مثبتی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه داشت و بنابراین استفاده از این نانو ذره عملکرد گیاه را افزایش داد[25]. تحقیقات نشان داده‌اند که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب سنتز کلروفیل، تغییر در وزن خشک، عملکرد و برخی از ویژگی‌های متابولیسمی موجودات فتوسنتز کننده شده که این تغییرات غالباً همراه با القای سامانه‌های دفاعی و کاهش قابل توجه در شاخصهای خسارت بوده است[26]. همچنین در مورد مشابه صابروهمکاران (2014) گزارش کردند نانواکسیدتیتانیوم به واسطه تسریع فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، سبب افزایش سنتز اسیدهای آمینه، پروتئین کلروفیل و افزایش فتوسنتز می‌گردد[27]. پژوهش سالما(2012) نشان داد که محتوای کربوهیدرات‌ها در گیاهان لوبیا و ذرت تیمارشده با غلظت‌های20، 40 و 60 پی پی ام نانوذرات نقره افزایش یافت، اما در تیمار 80 و 100پی پی امکاهش یافت [28].

گزارش شده است که در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) استفاده از نانو ذرات آهن Fe_3O_4، منجر به افزایش غلظت ذرات، سطح کربوهیدرات کل به طور معنی‌داری شد [29] که با نتایج پژوهش حاضر همسو است

نانوذرات تیتانیوم می‌تواند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در گیاهان افزایش دهد[30]، این ترکیب همچنین فعالیت‌های دیگر آنزیم‌هایی که در متابولیسم نیتروژن مانند گلوتامات دهیدروژناز، را افزایش می‌دهدهمچنین یک محرک برای جذب نیترات و سایر ترکیبات آلی و غیر آلی نیتروژن است و در نهایت پروتئین کل و کلروفیل را در گیاه افزایش می‌دهد. نانوذراتتیتانیوم دی اکسید با افزایش جذب فوتون باعث تحریک واکنش اکسایش و کاهش در گیاه می‌شود که در نهایت منجر به افزایش ظرفیت فتوسنتزی در گیاه و جلوگیری از پیری کلروپلاست می‌شود [31]. این نانوذرات باعث افزایش فعالیت کربوکسیلاسیون آنزیم رابیسکوو بهبود وضعیت رشد گیاه می‌گردد [17] به گونه‌ای که ژن مارکر ناشی از نانو آنتاز برای mRNA روبیکس (rca) activated و افزایش سطح پروتئین و فعالیت فعال روبیسکو باعث بهبود کربوکسیلاسیون این آنزیم و سرعت بالای واکنش کربن فتوسنتزی شد. همچنین این ترکیب از طریق کاهش اثرات سمی عناصر دیگر، باعث افزایش رشد می‌شود. نانوذرات تیتانیوم موجب افزایش فعالیت آهن در کلروپلاست برگ و کروموپلاست میوه می گردد و در نهایت جذب مواد غذایی را بالا می برد[32]. نانو آناتاز قدرت ریشه را جهت جذب تحریک می‌کند و سبب افزایش توانایی ریشه در جذب آب و مواد غذایی می‌گردد که به دنبال آن وزن تر و خشک گیاه افزایش می یابد [18].

4- منابع

[1] Sharifi Ashorabady, A. (2000). Effect of soil fertility in agricultural ecosystem. The PhD Thesis of Agriculture, Islamic Azad University, Science and Research, page 252, (In Persian).

[2] Montano, P,A, Shenoy, G,K, Alp, E,E, Schulze, W,& Urban, J. (1986). Lett Nanomaterials Toxicity Health and Environmental, 56, 2076.

[3] Nair, R, Varghese, S,H, Nair, B,G, Maekawa, T, Yoshida, Y, & Sakthi Kumar, D.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

&Vanbeek, T, A. (2004). Screening of radical scavengingactivity of some medicinal and aromatic plants extracts. Food Chemistry 85: 231-237.

[14] McCready, R,M, Guggolz, J. Silviera, V, &Owens, H, S. (1950). Determination of starch and amylase in vegetables, *Analytical chemistry*, 22,1156-1158.

[15] Sergiev, I, Alexieva, V, & Karanov, E .(1997). Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus Academic Bulgare Science*, 51: 121-124.

[16] Chang, C,Yang, M, Wen, H, & Chern, J. (2002).Estimation of total flavonoid content in propolbytwocomplementarycolorimetermethods, *Journal Food Drug analysis*, 10: 178-182.

[17] Hong, F, Zhou, J, Liu, C, Yang, F, Wu, C, Zheng, L, & Yang, P. (2005). Effect of nano-TiO2 on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. *Biological trace element research*, 105(1-3), 269-279.

[18] Yang, F, & Hong, S. (2006). Influence of nano anatase TiO2 on the nitrogen metabolism of growing spinach.*Biological Trace Element Research*, 110: 179-190.

[19] Gupta, S,M, & Tripathi, M . (2011). A review ofTiO2 nanoparticles, *Chin. Sci. Bull*, 56, 1639–1657.

[20] Qi, M, Liu, Y, & Li,T. (2013). Nano-TiO2 Improve the Photosynthesis of Tomato Leaves, *Biological traceelement research*, 156: 323-328.

[21] Ze, Y, Liu, C, Wang, L, Hong ,M, & Hong, F. (2011). The regulation of TiO2 nanoparticles on the expression of light-harvesting complex II and photosynthesis of chloroplasts of Arabidopsis thaliana. *Biological Trace Element Research*,143: 1131–1141.

[22] Kiss, F, Deak, G Feher, M, Balo, G,H, A, Szabolsci, L, & Pais, I. (1985). The effect of titanium and gallium in photosyntetic rate of algae.*Journal of Plant Nutrition* ,8, 825-832.

[23] Song, U, Jun, H, Waldman, B, Roh, J, Kim, Y, i, & Lee ,E. J. (2013). Functional analyses of oparticle toxicity:a comparative study of the fects of TiO2 and Ag on tomatoes (Lycopersicon esculentum). Ecotoxicology andEnvironmental Safety, 93 (1): 60–67.

(2010). Nano particulate material delivery to plants, *Plant Science*, 179: 154–163.

[4] Reynolds, G,H. (2002). Forward to the Future Nanotechnology and Regulatory Policy, *Pacific Research Institute*, 20p.

[5] Sungkaworn, T, Triampo, W, Nalakarn, P, Triampo,D, Tang, I,M, & Lenbury, Y. (2007). The effects of TiO2 nanoparticles on tumor cell colonies: fractal dimension and morphological properties, *InternationalJournal of Biomedical Science*, 2(1):67-74.

[6] Bollella, P, Schulz, C, Favero, G, Mazzei, F, Ludwig R, & Gorton, L. (2017). Green Synthesis and Characterization of Gold and Silver Nanoparticles and their Application for Development of a Third Generation Lactose Biosensor *Electroanalysis*, Vol. 29, No. 1, p. 77-86.

[7] Duffy, E,F, Touati, F,A, & Kehoe, S,C. (2004)A novel TiO2-assisted solar photocatalyticbatchprocess disinfection reactor for the treatment of biological and chemical contaminants indomestic drinking water in development contries,*Sol. Energy*, 77, 649-655.

[8] Gao, F, Chao, I, Zheng, L, Mingyu, S, Xiao, W, Yang, F, Cheng ,W, Ping, Y. (2006). Mechanism of nano anatase TiO2 on promoting photosynthetic carbon reaction of spinach, *Biological TraceElement Research*, 111 .239-245.

[9] Arnon, D,I. (1949). Copper enzymes in isolatedchloroplasts. Polyphenol oxidase in Beta vulgaris,*Plantphysiology*, 24: 1-15.

[10] Mita S, Murano, N, Akaike, M, & Nakamura, K.(1997). Mutants of Arabidopsis thaliana with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars,*Plant Journal*, 11: 841-851.

[11] Luck, H. (1974). In: Methods in Enzymatic Analysis (ed. Bergmeyer,H.) p885. *Academic press.New York.*

[12] Tang, W, & Newton, J,R. (2005). Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine, *Journal of Plant Growth Regulation*, 46: 31-43.

[13]]Miliauskas, G, Yenkutonis, P, R,

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

[24] Martínez-Sánchez, F,M, Nunez, A, Amoros, J, & Gimenez, C,F. (2010). Effect of titanium leaf spray treatments on ascorbic acid levels of Capsicum annuum L. fruits. *Journal Plant Nutrition*. 16(5), 975-981.

[25] Morteza, E., Moaveni, P., Farahani, H. A., & Kiyani, M. 2013. Study of photosynthetic pigments changes of maize (*Zea mays* L.) under nano TiO 2 spraying at various growth stages. SpringerPlus, 2(1): 247.

[26] Feizi, H, Moghaddam, P,R, Shahtahmassebi, N, & Fotovat, A. (2012). Impact of bulk and nanosizetitanium dioxide (TiO2) on wheat seed germinationand seedling growth. *Biological Trace ElementResearch*,146,101-106.

[27] Saber, S,Z, Ghasimi, Hagh, & Mostafavi, S,h. (2014). Effect of Titanium Nano Mechanism on Physiological Processes of Spinach (*Spinacia oleracea*). The 2nd National Conference on Sustainable Agriculture and Environment, 16pp.Hamedan, Iran. (In Persian).

[28] Salama, H. (2012). Effects of silver nano-particles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (Zea mays L.), *Int Res J Biotech*, 3(10), 190-7.

[29] Elfeky, A,S, Mohanned, M,A, Khater, M,S, &Osman, Y,A,H. (2013). Effect of magnetite nanofertilizer on growth and yield of Ocimum basilicum L.International Journal of Indigenous MedicalPlants, 46(3): 1286-1293.

[30] Castiglione, M,R,, Giorgetti, L, Geri, C, &Cremonini, R. (2011). The effects of nano-TiO_2 on seed germination, development and mitosis of roottip cells of Vicia narbonensis L. and Zea mays L,*Journal of Nanoparticle Research*, 13, 2443-2449.

[31] Ma, X, Geiser-Lee, J, Deng, Y, & Kolmakov, A. (2010). Interactions between engineerednanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity,uptake and accumulation, *Science of the total environment*, 408,3053-3061.

[32] Alcaraz, C, Botia, M, Carlos, F, & Fernando, R.(2004). Effect of foliar sprays containing calcium, magnesium and titanium on peach (Prunus persica L.) fruit qulity. *Journal of the Science of Food andAgriculture*, 949-954.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]

The effect of titanium dioxide nanoparticles (TiO2) on photosynthetic pigments and some biochemical and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L.

Gholami, A. [1], Abbaspour, H. [2], Gerami, M. [3], Hashemi-Moghaddam, H. [4*]

1. Ph.D. graduate, Department of Biology, Faculty of Biological Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
2. Associate professor, Department of Biology, Faculty of Biological Science, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Assistance professor, Department of Biology, Faculty of Biological Science, San University, Sari, Iran
4. Associate professor,Department of Chemistry, Faculty of Basic Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

(Received: 2018/11/29 Accepted: 2020/06/29)

The use of nanotechnology can create new important applications in various fields of agricultural resulting in improvement of plant yield, and increase of growth and photosynthesis. Using this technology, the techniques in product management can be improved. The absorption rate of nanoparticles varies in plants, depending on type of plant, chemical composition and size of particles. Nanoparticles of titanium dioxide (TiO2) are widely used in agricultural industries to enhance plant growth properties. In this case, the aim of this study was to study the effect of titanium dioxide nanoparticles on photosynthetic pigments and some biochemical properties and antioxidant enzymes of *Rosmarinus officinalis* L. This research was carried out in a completely randomized design with three replications in the greenhouse of Sana Institute of Higher Education of Sariin 2017-2018. Different concentrations of titanium nanoparticles in seven levels (0, 20, 40, 80, 100, 200 and 400 ppm) were sprayed onto rosemary plants in three stages with a one-hour interval. The results showed that the contents of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids were increased by increasing the concentration of titanium nanoparticles, since the highest total chlorophyll content and carotenoids were related to 200 ppm nanoparticle titanium concentration. Also, the effect of titanium nanoparticle on the amount of soluble sugar indicated that by increasing the concentration of titanium nanoparticles as 100, 200 and 400 ppm nanoparticles, there was an increasing trend in this trait. In addition, there was a significant increase in the amount of antioxidant enzymes studied in high concentration of titanium nanoparticles (80, 100, 200 and 400 ppm).Generally, the application of different concentrations of titanium nanoparticles affected some of the antioxidant and biochemical properties of rosemary plants, so that in high concentrations of this nanoparticle, the most increase was observed in comparison with the control sample.

Keyword: Nanotechnology, Titanium nanoparticle, Rosemary plant, Photosynthetic pigments

* Corresponding Author E-Mail Address: hashemimoghaddam@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.123]