مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی online
دوره ١٤، شماره ١، بهار و تابستان ١٤٠٤
صفحه ٧٦-٦٠

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2025
Volume 14, Number 1, Pages: 60-76

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

10.61882/gebsj.14.1.5

سنتز سبز نانوذرات اکسید روی و مس با استفاده از عصاره گیاه مورینگا و ارزیابی اثر آن‌ها بر بیان ژن *Mo-CBP3*

Green Synthesis of ZnO and CuO Nanoparticles Using Extract of Moringa and Evaluation of Their Effects on *Mo-CBP3* Gene Expression

صالحه گنجعلی[۱]، حمیده خواجه[*۲]، ایوب مزارعی[*۳]، حسین کمال‌الدینی[٤]، حسن احمدی[٥]

Salehe Ganjali[1], Hamide Khajeh[2*], Ayoub Mazarei[3*], Hossein Kamaladini[4], Hassan Ahmadi[5]

١- استادیار، ٣- دانش آموخته دکتری بیوتکنولوژی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

٢- کارشناس ارشد ژنتیک مولکولی پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل، ایران.

٤- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم دانشگاه زابل، ایران.

٥- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل، ایران

1. Assistant Professor, 3. PhD Graduate of Biotechnology, Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Zabol, Iran.
2. MSc. Molecular Genetics of Agricultural Biotechnology Research Institute, University of Zabol, Iran.
4. Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Zabol, Iran.
5. MSc. Biotechnology of Agricultural Biotechnology Research Institute, University of Zabol, Iran.

*Corresponding Author, Email: * نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:
mazaraie70@gmail.com and Hmdekhaje@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۲/۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۸/۱- تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۸/۶)
Received: 2025/04/26 | Accepted: 2025/10/23 | Published: 2025/10/28

Abstract

The use of plant extracts for the green synthesis of nanoparticles is an environmentally friendly approach that employs natural solvents and, due to increased production efficiency and reduced cost, time, and energy, can serve as a suitable alternative to conventional physical and chemical methods. This study aimed to synthesize zinc oxide (ZnO) and copper oxide (CuO) nanoparticles using Moringa plant extract and to evaluate the effects of different concentrations (0, 100, 150, and 250 ppm) on the relative expression of the Mo-CBP3 gene in Moringa at 48 and 72 hours after treatment. Structural characterization of the nanoparticles using scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-ray (EDX) analysis showed that the synthesized particles were spherical with sizes of 25–37 nm for ZnO and 32–36 nm for CuO. Analysis of variance revealed that application of ZnO and CuO nanoparticles altered Mo-CBP3 gene expression. The highest relative expression (1.51-fold) was observed 48 hours after treatment with 150 ppm ZnO, showing a 6.67% increase compared to the control. Increasing the ZnO concentration led to a significant decrease in gene expression at 72 hours, while 100 ppm CuO induced the highest relative expression (1.504-fold) at 48 hours, corresponding to a 6.55% increase over the control. In combined treatments, co-application of 150 ppm ZnO and 100 ppm CuO resulted in the highest relative Mo-CBP3 expression at 48 hours, showing a 2.73% increase compared to the control. Overall, these results indicate that ZnO and CuO nanoparticles act as effective elicitors for enhancing the expression of the antifungal Mo-CBP3 gene, with the most pronounced effect observed 48 hours after treatment.

Key words: Green synthesis, Medicinal plants, Scanning Electron Microscopy, Nano elicitor, Real Time PCR

چکیده

استفاده از عصاره‌های گیاهی برای سنتز سبز نانوذرات رویکردی سازگار با محیط زیست است که از حلال‌های طبیعی بهره می‌برد و به دلیل افزایش بازدهی تولید و کاهش هزینه، زمان و انرژی، می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های فیزیکی و شیمیایی متداول باشد. این مطالعه با هدف سنتز نانوذرات اکسید روی (ZnO) و اکسید مس (CuO) با استفاده از عصاره گیاه مورینگا و بررسی اثر غلظت‌های مختلف (۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ ppm) بر بیان نسبی ژن Mo-CBP3 در مورینگا در ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار انجام شد. بررسی ویژگی‌های ساختاری نانوذرات با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و آنالیز پراکندگی انرژی اشعه ایکس (EDX) نشان داد که ذرات سنتز شده کروی با اندازه ۲۵ تا ۳۷ نانومتر برای ZnO و ۳۲ تا ۳۶ نانومتر برای CuO هستند. تجزیه واریانس نشان داد که کاربرد نانوذرات ZnO و CuO بیان ژن Mo-CBP3 را تغییر داد. بیشترین بیان نسبی (۱.۵۱ برابر) ۴۸ ساعت پس از تیمار با ۱۵۰ ppm ZnO مشاهده شد که ۶.۶۷ درصد افزایش نسبت به شاهد نشان داد. افزایش غلظت ZnO منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن در ۷۲ ساعت شد، در حالی که ۱۰۰ ppm CuO بیشترین بیان نسبی (۱.۵۰۴ برابر) را در ۴۸ ساعت القا کرد که ۶.۵۵ درصد افزایش نسبت به شاهد است. در تیمارهای ترکیبی، کاربرد همزمان ۱۵۰ ppm ZnO و ۱۰۰ ppm CuO بیشترین بیان نسبی Mo-CBP3 را در ۴۸ ساعت نشان داد که ۲.۷۳ درصد افزایش نسبت به شاهد است. در مجموع، این نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات ZnO و CuO به‌عنوان القاکننده‌های مؤثر برای افزایش بیان ژن ضدقارچی Mo-CBP3 عمل می‌کنند، با بیشترین اثر ۴۸ ساعت پس از تیمار.

کلمات کلیدی: سنتز سبز، گیاهان دارویی، میکروسکوپ الکترونی روبشی، نانو القاکننده، Real Time PCR

رفرانس دهی این مقاله Citation

Ganjali S, Khajeh H, Mazarei A, Kamaladini H, Ahmadi H. (2025). Green synthesis of ZnO and CuO nanoparticles using extract of moringa and Evaluation of their effects on Mo-CBP3 gene expression. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 14 (1): 60-76. Doi: 10.61882/gebsj.14.1.5
URL: http://gebsj.ir/article-1-511-en.html

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 14, Number 1, 2025

خلاصه

استفاده از عصاره گیاهان در فیتوسنتز نانوذرات، به عنوان یک روش سازگار با محیط زیست بوده که در آن از حلال‌های طبیعی استفاده می‌شود و به دلیل افزایش میزان تولید و کاهش هزینه، زمان و انرژی می‌تواند به عنوان یک جایگزین مناسب ممکن، برای روش‌های مرسوم مانند روش‌های فیزیکی و شیمیایی استفاده شود زیرا در روش‌های مرسوم سنتز نانو ذرات معمولا گران قیمت هستند و به دما و فشار بالا نیاز دارند و در عین حال به دلیل تولید مواد شیمیایی سمی برای محیط زیست و موجودات زنده سمی و خطرناک می‌باشند. از این رو هدف از این تحقیق سنتز سبز نانو ذرات اکسید روی و مس با استفاده از عصاره گیاه مورینگا و ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف آن‌ها (۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ppm ۲۵۰) در دو بازه زمانی (٤٨ و ٧٢ ساعت پس از محلولپاشی) بر سطح بیان نسبی ژن *Mo-CBP3* در گیاه مورینگا بود. بررسی ساختار نانو ذرات اکسیدروی و مس با تکنیک میکروسکوپ الکترونی روبشی و پراکنش انرژی اشعه ایکس نشان داد که شکل نانو ذرات سنتز شده کروی و اندازه ذرات آن‌ها به ترتیب ۳۷-۲۵ و ۳٦-۳۲ نانومتر بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اعمال نانو الیسیتورهای اکسید روی و مس باعث تغییر در الگوی بیان ژن *Mo-CBP3* شد و بیشترین میزان سطح بیان نسبی (۱/۵۱)، ٤٨ ساعت بعد از اعمال تیمار با ppm ۱۵۰ اکسید روی مشاهده شد که نسبت به سطح شاهد افزایشی ٦٧/٦ درصد نشان داد و با افزایش غلظت نانو اکسید روی در بازه زمانی ٧٢ ساعت کاهش قابل توجهی در بیان ژن مورد مطالعه مشاهده شد؛ اما تیمار با غلظت ppm ۱۰۰ نانو ذرات اکسید مس در بازه زمانی ٤٨ ساعت بیشترین میزان سطح بیان نسبی ژن *Mo-CBP3* با میانگین ۱/۵۰٤ را سبب شد که افزایشی ۵۵/٦ درصدی نسبت به سطح شاهد داشت. در تیمار اثرات متقابل مشاهده شد که کاربرد توام نانو ذرات اکسید مس و روی سبب افزایش سطح بیان نسبی ژن نسبت به شاهد شد به طوری که طی اعمال غلظت ppm ۱۵۰ اکسید روی و ppm ۱۰۰ اکسید مس در بازه زمانی ٤٨ ساعت بعد از اعمال تیمار بیشترین میزان سطح بیان نسبی ژن مشاهده شد نسبت به سطح شاهد افزایشی ۷۳/۲ درصد نشان داد. در کل نتایج این تحقیق نشان داد که نانو الیسیتورهای اکسید روی و مس در زمان ٤٨ ساعت بعد از اعمال تیمار تأثیر مثبت بر بیان ژن *Mo*-CBP3 داشت و نانوذرات سنتز شده می‌توانند به عنوان نانوالیسیتورهای مؤثر برای افزایش بیان ژن ضدقارچی Mo-CBP3 مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات کلیدی: سنتز سبز، گیاهان دارویی، میکروسکوپ الکترونی روبشی، نانو الیسیتور، Real Time PCR

Introduction

مقدمه

یکی از مهمترین روش‌های کنترل قارچ و بیماری‌های گیاهی، استفاده از ترکیبات شیمیایی سنتزی می‌باشد (Farahani *et al*., 2018)؛ اما استفاده بیش از حد این قبیل مواد شیمیایی و عدم رعایت اصول به کار گیری از این ترکیبات از یک طرف منجر به بروز پدیده‌ی مقاومت در آفات و امراض نسبت به این ترکیبات شده و از طرف دیگر، موجب بروز آلودگی‌های زیست محیطی و مسمومیت موجودات غیر هدف گردیده است (Gujar *et al*., 2012; Othman *et al*., 2019). بنابراین، یافتن روش‌های جایگزین این ترکیبات که ضمن دارا بودن کارایی مطلوب در کنترل عوامل زنده‌ی خسارت‌زا، برای محیط زیست و موجودات غیر هدف از جمله انسان، دام و دشمنان طبیعی ایمن باشند بیش از پیش مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Meela *et al*., 2019). از این رو تحقیقات گسترده‌ای جهت جایگزینی روش‌های جدیدتر به منظور مبارزه با عوامل بیماری‌زای مقاوم به قارچ کش‌ها در سراسر دنیا انجام می شود؛ مطالعات انجام شده نشان داده است که برخی از گیاهان دارویی از طریق تولید متابولیت های ثانویه، مکانیسم های دفاع شیمیایی در برابر آفات و بیماری ها دارند (Madariaga-Mazón *et al*., 2019; Hernández-Ceja *et a*l., 2021) که برخلاف متابولیت‌های اولیه نظیره کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، پروتئین ها و غیره به خودی خود در

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

مراحل مختلف رشد گیاه تأثیر ندارند، بلکه در دفاع از گیاهان در برابر گیاهخواران و بیمارگرها مؤثر می‌باشند (Ramírez-Gómez *et al*., 2019; Deresa and Diriba, 2023).

مورینگا با نام علمی *Moringa* oleifera به دلیل دارا بودن طیف وسیعی از این متابولیت‌ها، از زمان‌های بسیار قدیم مورد استفاده قرار می‌گرفته است (Abdallah *et al*., 2023; Falowo *et al*., 2017). این گیاه به وفور در مناطق استوایی و نیمه گرمسیری یافت می‌شود و بومی مناطق هند، پاکستان، بنگلادش، افغانستان و مالایا می‌باشد (Gopalakrishnan *et al*., 2016; Minaiyan *et al*., 2014). تمام قسمت‌های این درخت از جمله برگ، غلاف، دانه، ریشه و ... قابل خوردن و دارای خواص دارویی چون ضد التهاب، تب بر، ضد سرطان، آنتی اکسیدان، نوتروپیک، محافظ کبد، محافظ گوارش، ضد زخم، قلب و عروق، ضد چاقی، ضد میکروبی و تعدیل کننده ایمنی از جمله اثرات فارماکولوژیک مطالعات شده بر روی این گیاه می‌باشد (Hannan *et al., 2014*; Dhakad *et al., 2019;* Patil1 *et al., 2022*) که تمامی این اثرات را به وجود ترکیبات فعال زیستی مانند اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، فیتواسترول ها، قندهای طبیعی، ویتامین ها، مواد معدنی و اسیدهای آلی نسبت داده‌اند (Promkum *et al*., 2010; Mbikay, 2012; Kou *et al*., 2018). تمام قسمت‌های درخت مورینگا دارای خواص دارویی هستند که عمدتاً برای اهداف دارویی استفاده می‌شوند اما برگ‌های آن با غنای استثنایی از ترکیبات گیاهی فعال بیولوژیکی مفیدترین قسمت آن می‌باشد (Mahdi *et al*., 2018; Teixeira *et al*., 2014) که براساس مطالعات گذشته عصاره برگ‌های مورینگا الیفرا همچنین حاوی تانن ها، ساپونین ها، فلاونوئیدها، ترپنوئید ها و گلیکوزیدها می‌باشد که به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی دارای خواصی چون خاصیت ضد سرطانی، ضد میکروبی، ضد قارچی و غیره است (Raafat and Hdaib, 2017; Jaiswal *et al*., 2013).

اخیراً، یک پروتئین جدید متصل به کیتین (*CBP*) از *M oleifera* خالص‌سازی و به *Mo-CBP3* نامگذاری شده است (Gifoni *et al*., 2013; Freirea *et al*., 2019). پروتئین‌های متصل شونده به کیتین (*CBPs*) نشان‌دهنده گروهی از پروتئین‌ها گیاهی هستند که اغلب دارای جرم مولکولی از ۳.۱ کیلو دالتون تا ۲۰ کیلو دالتون و مقاومت بالا در برابر تغییرات شدید pH و پروتئولیز هستند. برخی از *CBP* ها توانایی مهار رشد قارچ را دارند (Batista *et al*., 2014) زیرا به کیتین، یک جزء کلیدی دیواره سلولی قارچ، متصل شده و عملکرد مناسب آن را مختل می کنند و پیشنهاد شده است که اتصال این پروتئین ها به کیتین در قارچ های رشته ای منجر به اختلال در بیوژنز دیواره سلولی و قطبیت سلولی می شود (Yao *et al*., 2010).*Mo-CBP3* یک پروتئین ضد قارچی مقاوم در برابر حرارت ١٤ کیلو دالتون است که از جوانه زنی هاگ و رشد میسلیوم آسکومیست *Fusarium solani* و سایر قارچ‌ها از جمله *F.oxysporum*، *Colletotrichum musae* و *Colletotrichum gloeosporioides* جلوگیری می‌کند این پروتئین ممکن است در توسعه داروهای ضد قارچی جدید یا محصولات تراریخته با افزایش مقاومت در برابر قارچ های بیماریزای گیاهی مفید باشد (Freire *et al*., 2015). اگرچه مکانیسم اثر *Mo-CBP3* و بسیاری دیگر از پروتئین‌های متصل به کیتین به طور کامل شناخته نشده است، ولی فعالیت ضد قارچی این *CBPs* احتمالاً نتیجه اتصال پروتئین به کیتین دیواره سلولی قارچی نوپا باشد (Freire *et al*., 2015; Batista *et al*., 2014). بعبارتی مکانیسم احتمالی اثر ضد قارچی پروتئین *Mo-CBP3* به توانایی آن در اتصال به کیتین تازه سنتز شده دیواره سلولی قارچ بازمی‌گردد. اتصال *Mo-CBP3* به کیتین سبب اختلال در سازمان‌دهی شبکه ساختاری دیواره می‌شود و مقاومت مکانیکی سلول را کاهش می‌دهد .(Langner and Göhre, 2016) این اختلال می‌تواند جوانه‌زنی اسپور و رشد میسلیوم را مهار کرده و فشار اسمزی و یکپارچگی سلول قارچ ودیواره سلولی آن را به مخاطره اندازد که اختلال در دیواره سلولی ممکن است موجب ایجاد استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شود که آسیب به غشا و سیتوپلاسم سلول را تشدید می‌کند (Freire *et al*., 2014). با وجود اینکه شواهد مستقیم برای دخالت *Mo-CBP3* در بیوسنتز دیواره سلولی محدود است، فرض می‌شود که این پروتئین با اتصال به کیتین تازه سنتز شده، فرآیند بیوژنز دیواره را مختل کرده و باعث ضعف دیواره و مرگ سلولی می‌شود. ویژگی‌های منحصر به فرد-*Mo CBP3*شامل پایداری در برابر حرارت و فعالیت قوی در غلظت‌های پایین، آن را به نامزد امیدوارکننده‌ای برای توسعه داروهای ضدقارچی و محصولات تراریخته مقاوم به قارچ تبدیل کرده است (Freire *et al*., 2014; Langner and Göhre, 2016)

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

یکی از راه‌های تغییر در بیان ژن‌های گیاهی، استفاده از الیسیتورها است. الیسیتورها ترکیب‌هایی با منشأ زیستی و یا غیر زیستی هستند که از طریق القای پاسخ‌های دفاعی باعث تغییرات بیانی می‌شوند (Rahimi Sherbaf Moghadas *et al.,* 2021; Banerjee *et al*., 2019). از جمله الیسیتورهایی که امروزه تمایل به استفاده از آنها افزایش یافته است، نانوالیسیتورها هستند. نانو الیسیتورها شامل ذرات فلزی و اکسیدی با ابعاد کمتر از ۱۰۰ نانومتر می‌باشند (Lv *et al*., 2020; Moghadami *et a*l., 2023) که با سطح ویژه بالا و واکنش‌پذیری سطحی بالا نه تنها از طریق تماس فیزیکی جذب می‌شوند بلکه می‌توانند با پروئین‌های زیستی میانکنش دهند و حتی توسط سلول جذب گردند (Banerjee *et al.*, 2019).

نانوذرات، به دلیل اندازه نانومتری و سطح ویژه بالا، می‌توانند به عنوان الیسیتورهای دفاعی گیاهان عمل کنند؛ مطالعات متعددی نشان داده‌اند که تماس گیاه با نانوذرات می‌تواند تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را تحریک کند، که این ROS ها به‌عنوان سیگنال‌های ثانویه موجب فعال‌سازی مسیرهای دفاعی گیاه و بیان ژن‌های مرتبط با مقاومت می‌شوند (Lala, 2021). افزون بر این، نانوذرات قادرند مسیرهای هورمونی- دفاعی مانند مسیرهای مرتبط با سیگنالینگ اسید سالیسیلیک یا JA/H_2O_2 را فعال کنند؛ این مسیرها می‌توانند باعث افزایش بیان آنزیم‌های دفاعی مثل کیتینازها، پروتئینازها و پلی‌فنول اکسیدازها شوند، که نقش مهمی در تقویت دیواره سلولی و مهار پاتوژن‌ها دارند (Tripathi *et al*., 201). در برخی مطالعات گزارش شده که نانوذرات نه تنها پاسخ دفاعی گیاه را القا می‌کنند، بلکه اثر مهاری مستقیم بر رشد پاتوژن‌ها نیز دارند؛ و می‌توانند یک اثردوگانه ایجاد کنند که هم از طریق فعال‌سازی سیستم ایمنی گیاه و هم از طریق اثر مستقیم ضدپاتوژن، مقاومت را افزایش می‌دهد؛ از این رو، نانوذرات به‌عنوان القاکننده‌های دفاعی، پتانسیل بالایی برای استفاده در استراتژی‌های مدیریت بیولوژیک بیماری‌های گیاهی دارند (Tripathi *et al.*, 201).

مطالعات مختلفی در مورد تاثیر نانو ذارت بر روی بیان ژن‌های گیاهی انجام شده است از جمله می‌توان به نتایج Vahedi و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی اثر تیمارهای کیتوزان و نانو ذرات نقره بر بیان ژن بتا آمیرین سنتاز در گیاه زنیان (جمعیت سیستان و پاکستان) اشاره داشت که اظهار کردند الیسیتور نانوذرات نقره همراه با کیتوزان در زمان ٤٨ ساعت بعد از اعمال تیمار تأثیر مثبت بر بیان ژن بتاآمیرین سنتاز داشته و میزان افزایش بیان ژن در این حالت در جمعیت پاکستان نسبت به سیستان بیشتر بود و یا تحقیق Rahimi Sherbaf Moghadas و همکاران (۲۰۲۱) که اثر نانو نانولوله‌های کربنی، نانو ذرات نقره سبز و شیمیایی را بر بیان برخی ژن‌های گیاه شقایق شرقی بررسی نمودند ونتایج نشان داد تحت تأثیر این الیسیتورها، بیان نسبی ژن‌ها به شدت تغییر کرد، به طوریکه در هر دو ژن *COR* و *DBOX* بیشترین میزان بیان نسبی در ٤٨ ساعت پس از تیمار گرافن با پوشش نانوذره نقره شیمیایی، به ترتیب ٥٧/٩٦ و ٨/٣٤ به دست آمد و بیشترین بیان نسبی ژن *ODM6T* مربوط به تیمار الیسیتور ترکیبی گرافن به همراه نانوذره نقره سبز، به میزان ٤٥/٧٧ برابر بود. همچنین Babaei و همکاران (۲۰۱۸) که اثر الیسیتور کیتوزان و نانو ذرات نقره بر بیان ژن *Hyp-1* در گل راعی را مورد مطالعه قرار دادند و گزارش شد که نانو ذرات نقره اثر منفی بر بیان ژن *Hyp-1* داشته و با افزایش غلظت نانو ذرات نقره بیان ژن *Hyp-1* کم شده اما کیتوزان اثر مثبتی بر بیان ژن*Hyp-1* داشته ولی با افزایش غلظت تا سطح ppm ۲۰۰ نیز از میزان بیان ژن کاسته شد.

روش‌های متداول سنتز نانوذرات نظیر فرآیند سل–ژل، ته‌نشینی شیمیایی، روش هیدروترمال، سنتز به کمک مایکروویو و رسوب بخار شیمیایی، اگرچه امکان تولید نانوذرات با ویژگی‌های کنترل‌شده را فراهم می‌کنند، اما اغلب مستلزم استفاده از معرف‌های شیمیایی خطرناک، دما و فشار بالا و شرایط عملیاتی پیچیده هستند که می‌توانند منجر به اثرات نامطلوب زیست‌محیطی شوند. در نتیجه، توسعه روش‌هایی سازگار با محیط زیست برای سنتز مواد نانو به یک ضرورت علمی و صنعتی تبدیل شده است (Naghavi *et al*., 2024). در این راستا، روش‌های سنتز زیستی با بهره‌گیری از میکروارگانیسم‌ها، آنزیم‌ها و به‌ویژه گیاهان یا عصاره‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین‌هایی ایمن، پایدار و دوستدار محیط زیست معرفی شده‌اند. این روش‌ها با فراهم کردن شرایط واکنشی ملایم و سینتیک واکنش کندتر، امکان کنترل بهتر بر فرآیند جوانه‌زنی و رشد کریستال‌ها، اندازه، مورفولوژی و پایداری نانوذرات را فراهم می‌سازند. علاوه بر این، سنتز زیستی نانوذرات مسیر مناسبی

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

برای بهبود قابلیت تکرارپذیری و کاهش هزینه‌های تولید ارائه می‌دهد (Geletaw and Dejene, 2023). مزایای یادشده موجب افزایش قابل‌توجه تحقیقات در زمینه مسیرهای سنتز سبز شده است، به‌گونه‌ای که این رویکرد امکان طراحی و تولید نانوذرات با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی قابل‌کنترل را برای کاربردهای متنوع در حوزه‌های مختلف فناوری نانو فراهم می‌سازد (Radwan *et al*., 2021). گیاه مورینگا غنی از مواد معدنی، ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها و به‌عبارتی منبع غنی از فیتوکیمیکال‌ها می‌باشد که موجب تمایز این درخت و مطرح شدنش در جوامع علمی شده است (Patil1 *et al*., 2022). پروفایل فیتوشیمیاییِ زیست‌فعالِ *M. oleifera* شامل ترکیباتی مانند کینین، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، استروئیدها، گلیکوزیدها، نیازینین‌ها، نیازیمینین‌ها و بسیاری ترکیبات دیگر است (Patil1 *et al*., 2022)؛ این تنوع گسترده متابولیت‌های ثانویه توجه زیادی را به M. oleifera به‌عنوان یک ابزار سبز برای سنتز انواع نانوذرات دارای فعالیت‌های زیستی جلب کرده است (Paikra *et al*., 2017) در برخی مطالعات به‌طور تجربی نشان داده شده است که متابولیت‌های ثانویه *M. oleifera* می‌توانند سنتز نانوذرات با فعالیت‌های چشمگیر را میانجی‌گری کنند (Perumalsamy *et al*., 2024). به عنوان نمونه، فلاونوئیدها، فنولیک‌ها، پلی‌ساکاریدها و ترپنوئیدهای موجود در برگ‌ها، گل‌ها، ساقه، پوست و غلاف گیاه به‌عنوان عوامل کلیدی در سنتز نانوذرات متنوع با اندازه‌ها و شکل‌های مختلف شناخته شده‌اند (Espenti *et al*., 2020; Das *et a*l., 2020). از این رو باتوجه به اهمیت روش‌های سنتز سازگار نانو ذرات با محیط زیست و غنای بالای فیتوکیمیکال‌های گیاه مورینگا، هدف از این مطالعه سنتز سبز نانوذرات اکسید روی و مس با استفاده از عصاره گیاه مورینگا و بررسی اثر غلظت‌های مختلف آن‌ها در دو بازه زمانی ٤٨ و ٧٢ ساعت بر میزان بیان ژن *Mo-CBP3* در گیاه مورینگا است.

مواد و روش‌ها
Materials and Methods

جمع آوری و تهیه عصاره گیاه مورینگا: در ابتدا اندام‌های هوایی گیاه مورینگا (جمع‌آوری از شهرستان سراوان استان سیستان و بلوچستان) با آب مقطر به خوبی شستشو داده شدند سپس در دمای اتاق قرار گرفته تا خشک شوند و پس از پودر کردن آن‌ها، ۵ گرم پودر آماده شده با ۱۰۰سی‌سی آب دیونیزه مخلوط شد و به مدت زمان ۱۵ دقیقه در دمای جوش روی هیتر قرار گرفت و بعد از سرد شدن با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر شد و عصاره آبی حاصل برای آزمایشات بعدی در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

سنتز سبز نانوذرات اکسید مس: ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر از محلول سولفات مس (خلوص ۹۹ درصد. شرکت مرک آلمان) بدون آب در ارلن شیشه‌ای‌کوچک ریخته، سپس آن را روی هیتر با همزن مغناطیسی به دمای۱۲۰–۱۰۰ سانتیگراد رسانده و سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره گیاه مورینگا قطره قطره با بورت به آن اضافه می‌شود. در ابتدا رنگ محلول از آبی به سبز تغییر می‌یابد اما بعد از همزدن مداوم طی مدت زمان ٢٤ ساعت رنگ محلول به قرمز آجری تبدیل می‌شود. سپس روی ارلن ٢٤ ساعت درپوش آلومینیومی گذاشته تا سنتز نانو ذرات به بخوبی صورت گیرد. بعد از سنتز، محلول حاوی نانو ذرات را به مدت ۱۵ دقیقه سرعت rpm ۵۵۰۰ سانتریفیوژ کرده و پودر بدست آمده را در دمای ۹۰°C درجه به مدت ٢٤ ساعت در آون قرار می‌گیرد تا خشک شود (Ghahremani and Izanloo, 2020).

سنتز سبز نانوذرات اکسید روی: ابتدا به۱۰۰ سی‌سی محلول استات روی (خلوص ۹۹ درصد–شرکت مرک آلمان) ۱۰ سی‌سی عصاره گیاه مورینگا اضافه و سپس محلول حاصل به مدت یک ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد روی همزن مغناطیسی قرار داده می‌شود. سپس به محلول حاصله قطره قطره سود ۱ مولار اضافه می‌گردد تا زمانی که pH محلول به ۱۲ برسد. در مرحله بعد ذرات کلوئیدی حاصل، سانتریفیوژ و رسوب به دست آمده خشک می‌شود (Behjati et al., 2020).

بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی و ساختاری نانو ذرات سنتز شده: از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل ((Scanning Electron Microscopy)، با ولتاژ ۲۵ kV و بزرگنمایی x ۱۰۰۰۰۰) و پراکنش انرژی اشعه ایکس (EDAX) استفاده گردید.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

کشت گیاه: پس از تهیه بذرها از شهرستان سراوان، به منظور جوانه زنی و تولید گیاهچه، بذرها در سینی‌های نشا کشت و پس از جوانی زنی، گیاهچه های همسان و هم اندازه مورینگا با ریشه مناسب و کیفیت مطلوب رشدی به گلدانهای پلاستیکی با بستر کشت، شامل۱۰٪ماسه، ۳۵ کوکوپیت، ۳۵٪ پرلیت و۱۰٪ خاک مزرعه منتقل شدند. به منظور بررسی تاثیر سنتز سبز نانو ذرات اکسید روی و مس بر بیان ژن *MO-CBP3* در گیاه مورینگا، آزمایشی به صورت فاکتوریل درقالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار در دانشگاه زابل در شرایط گلدانی در سال ۱۴۰۳ (۲۰۲۴ میلادی) انجام شد. فاکتور اول شامل محلولپاشی با نانو ذرات اکسید روی و مس سنتز سبز با غلظت های صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ پی‌پی‌ام و فاکتور دوم زمان (۴۸ و ۷۲ ساعته) بود که در مرحله ی ۴ برگی گیاهچه‌ها تیمارها اعمال شدند. نمونه‌ها در دو دور متوالی، ۴۸ و ۷۲ ساعته، برداشت و در داخل نیتروژن مایع به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراجRNA، نمونه ها در دمای۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

استخراج RNA: RNA گیاه مورینگا با استفاده از کیت Total RNA isolation شرکت دنازیست آسیا (Cat. No.: S-1010-50)، مطابق دستورالعمل کیت استخراج شد. کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز یک درصد بررسی شد. تشکیل دو باند RNA ریبوزومی *18srRNA* و *28srRNA* روی ژل نشان دهنده کیفیت بالای RNA تخلیص شده بود. جهت از بین بردن DNA ژنومی از DNase شرکت پیشگام استفاده شد.

طراحی آغازگرها: در این مطالعه از آغازگرهای اختصاصی *MO-CBP3* به همراه ژن *18srRNA* استفاده شد. طراحی این آغازگرها بر اساس انتهای '۳ به کمک داده‌های موجود در پایگاه اینترنتی National Center for Biotechnology Information (NCBI) و همچنین نرم افزار Primer 3 صورت گرفت. مشخصات آغازگرها در جدول ۱ آورده شده است:

جدول ۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده برای واکنش Real Time PCR در گیاه مورینگا

Table 1. The sequences of primers used in RT-PCR for Moringa

Gene	primer	primer sequence	Annealing temperature (°C)
18srRNA	F	5'-GACACTAATGCGCCCGGTAT-3'	60
	R	5'-AGGGGTCGAAGCGGTAGAGG-3'	61
MO-CBP3	F	5'-CCCAGTGAAGGACACCGC-3'	59
	R	5'-CCCAGTGAAGGACACCGC-3'	58

سنتز cDNA و بررسی بیان نسبی ژن *MO-CBP3*: ابتدا با استفاده از RNA استخراج شده یک تست PCR با پرایمر انجام شد تا اطمینان حاصل شود هیچ خرده DNA باقی نمانده است. سپس اقدام به سنتز cDNA شد. مراحل ساخت cDNA با استفاده از کیت Geneall(GeneAll Biotechnology (South Korea), Cat. No. 601-005: First-Strand cDNA Synthesis Kit)، شرکت پیشگام انجام گرفت. پس از سنتز cDNA بیان‌ژن‌ها با روشReal Time PCR و با دستگاه Real Time PCR set Corbett (3000) با استفاده از کیت EvaGreen (جدول ۲) انجام شد. بدین ترتیب که cDNAهای ساخته شده با استفاده از دستگاه Real Time PCR و با شرایط تکثیر شامل: واسرشت اولیه ۱۵دقیقه، سپس۴۰ چرخه به صورت واسرشت سازی ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال ۴۵ ثانیه در دمای اتصال (مناسب برای جفت آغازگر مورد نظر) و طویل‌سازی ۲۰ ثانیه در دمای ۶۰- ۶۵ درجه سانتی‌گراد و در نهایت طویل سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت:

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

جدول ۲- میزان و مواد لازم جهت انجام Real Time PCR

Table 2. The amount and materials required for Real Time PCR

Materials	Amount
cDNA	1 µl
Eva Green Master X5	4 µl
Primer Forward 10uM	0.5 µl
Primer Reverse 10uM	0.5 µl
PCR-grade water	14 µl

جهت تجزیه و تحلیل نسبت بیان ژن هدف (ژن *MO-CBP3*) در مقایسه با ژن کنترل *18srRNA* برای تمام تیمارها از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. نرخ بیان هر ژن با استفاده از فرمول $۲^{-\Delta\Delta ct}$ (٤٥) محاسبه شد:

$$\Delta\Delta Ct = (\Delta Ct \text{ نمونه آزمایشی} - \Delta Ct \text{ نمونه کنترل})$$

$$= (\Delta Ct \text{ ژن هدف} - \Delta Ct \text{ ژن خانه‌دار})$$

برای هر نمونه سه تکرار برای ژن اختصاصی و سه تکرار برای ژن کنترل داخلی در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل نتایج با شروع واکنش منحنی تکثیر رسم شده توسط دستگاه آغاز می‌شود و برای تجزیه داده‌ها از روش ΔCT استفاده شد. در این روش بین Ct های ژن کنترل داخلی و ژن مورد نظر تفاوت وجود دارد. بنابراین این تفاوت را درCt های ژن مورد نظر و ژن کنترل، اعمال کردیم و داده‌ها که همانCtها هستند را نرمال نمودیم. برای نرمال کردن داده‌ها Ct ژن مورد بررسی را در تک تک نمونه‌ها از Ct ژن کنترل داخلی همان نمونه تفریق کردیم. از آنجایی که داده‌های نرمال برای هر نمونه از تفریق Ct ژن مورد نظر از Ct ژن کنترل داخلی به‌دست آمده است داده نرمال شده را ΔCT می‌نامیم

$$\Delta CT = Ct \text{ (ژن مورد نظر)} - Ct \text{ (ژن کنترل داخلی)}$$

ΔCT از نوع لگاریتمی برپایه ۲ می‌باشد (زیرا در time real هر سیکل محصول ما ۲ برابر می‌شود) بنابراین باید ΔCT ها را به جای تقسیم کردن از هم تفریق نمود. پارامتر جدید را که از تفریق ΔCT نمونه مورد نظر از ΔCT نمونه شاهد به دست آمده است ΔΔCT می‌نامیم:

$$\Delta\Delta CT = \Delta Ct \text{ (ژن مورد نظر)} - \Delta Ct \text{ (ژن کنترل داخلی)}$$

Ct، ΔCt و ΔΔCt بر اساس لگاریتم بر پایه ۲ هستند بنابراین آنها را به حالت خطی درآوردیم، پس (ΔΔCT-)^۲ بیانگرسطح بیان نسبی ژن بود.

$$\text{The Relative gene expression (RGE)} = 2^{(-\Delta\Delta Ct)}$$

در نهایت داده‌های حاصله با استفاده ازنرم افزار اماری SAS 9.1 مورد تجزیه قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها نیز در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن ارزیابی شد و همچنین برای رسم شکل‌ها و نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث
Results and Discussion

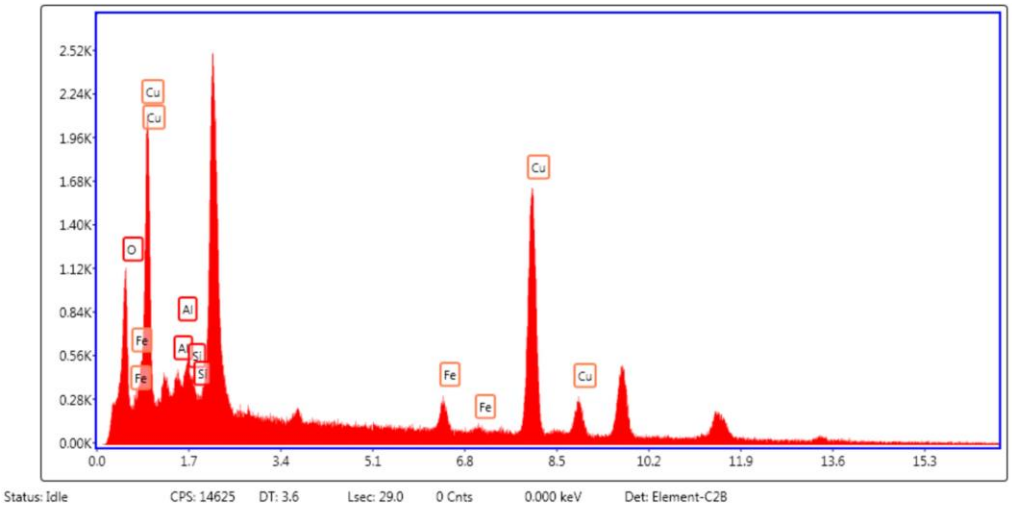
مطالعه تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

شناسایی مواد با استفاده از آنالیز EDAX (Energy Dispersive X-Ray Analysis)

در بررسی نانو ساختارهای مغناطیسی روی و مس توسط پراکنش انرژی اشعه ایکس (EDAX) حضور عنصر روی و مس به خوبی مشاهده شد (شکل ۱ و ۲) که نشان‌دهنده تشکیل نانوذرات مورد نظر هستند، علاوه بر روی و مس، عناصری مانند Al، Si، Fe، O، Cl، Ca، Cu و Zn در طیف مشاهده شد. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که طیف‌های EDAX نانوذرات سنتز شده با عصاره گیاهی، نه‌تنها پیک‌های مربوط به فلز

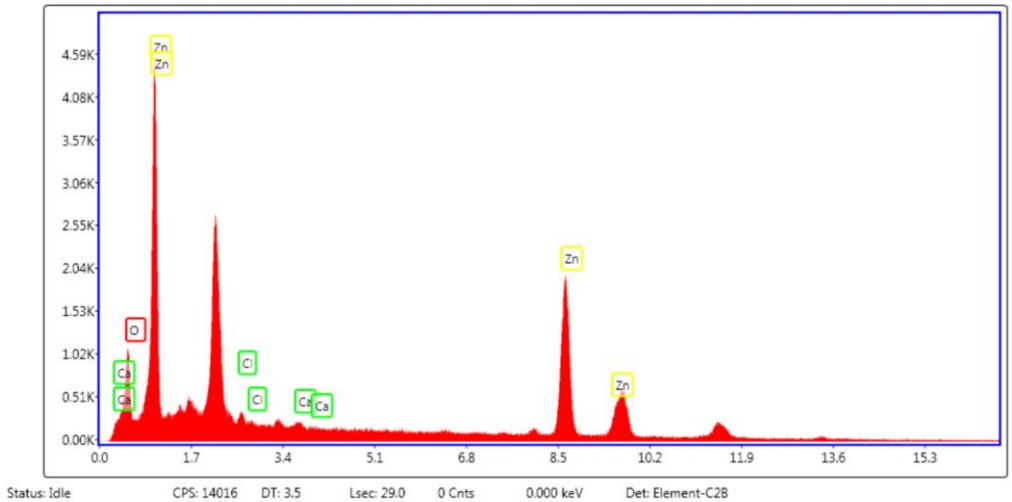
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

هدف، بلکه پیک‌های جزئی عناصر آلی/معدنی را نیز شامل می‌شوند که معمولاً از **ترکیبات عصاره و مولکول‌های آلی جذب‌شده روی سطح نانوذرات** ناشی می‌شوند (Assad *et al., 2025*)؛ بعبارتی منشأ این عناصر می‌تواند چندگانه باشد. چون گیاهان به‌طور طبیعی حاوی عناصر کم‌مقدار معدنی و ترکیبات آلی نظیر پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها و پروتئین‌ها هستند که در سنتز سبز نانوذرات می‌توانند به‌عنوان عوامل کاهنده و پایدارکننده عمل کنند (Alharbi *et al., 2022; Singh et al., 2023*) از این رو بخش قابل توجهی از این عناصر احتمالاً ناشی از ترکیبات معدنی و زیستی موجود در عصاره گیاه مورینگا است. همچنین، حضور عنصر اکسیژن در طیف EDAX می‌تواند به تشکیل فازهای اکسیدی مس و روی در طول فرآیند حرارتی و خشک‌سازی نمونه مربوط باشد. برخی عناصر دیگر مانند Si و Al ممکن است ناشی از آلودگی‌های جزئی ظروف شیشه‌ای یا بستر نمونه در هنگام آماده‌سازی و آنالیز باشند، و عنصر Cl می‌تواند به باقی‌مانده نمک‌های محلول یا مواد شیمیایی مورد استفاده در سنتز و شست‌وشو مرتبط باشد (Assad *et al., 2025*).



شکل ۱- تجزیه XRD نانو ذرات سنتز شده اکسید مس با استفاده از عصاره گیاه مورینگا

Fig 1. XRD analysis of synthesized copper oxide nanoparticles using Moringa extract



شکل ۲- تجزیه XRD نانو ذرات سنتز شده اکسید روی با استفاده از عصاره گیاه مورینگا

Fig 2. XRD analysis of synthesized copper oxide nanoparticles using Moringa extrac

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

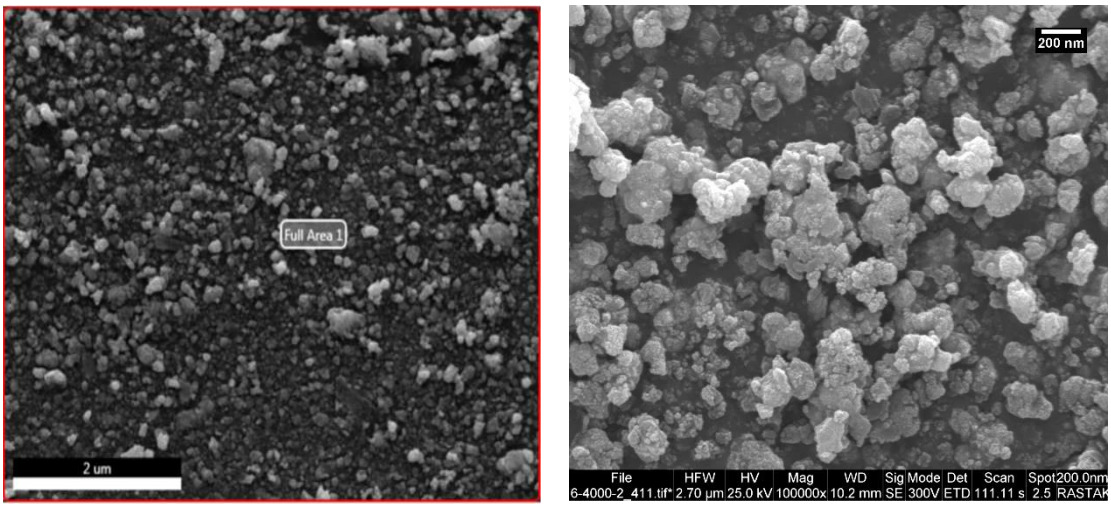
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

بنابراین، مشاهده عناصر فرعی در EDAX که شدت بسیار پایین‌تری نسبت به عناصر مورد هدف دارند، می‌تواند هم به **جایگاه سطحی ترکیبات عصاره مورینگا** (پایدارکننده‌های طبیعی) و هم به **آلودگی‌های جزئی از محیط یا مواد مصرفی در آماده‌سازی نمونه** مرتبط باشد و از طرفی این عناصر فرعی در بسیاری از گزارش‌های سنتز سبز نانوذرات مشاهده شده و به‌عنوان ترکیبات جانبی ناشی از عصاره گیاهی یا پوشش آلی تایید شده‌اند (Naiel *et al., 2022;* Kaur *et al., 2025*).

بررسی ساختاری نانوذرات اکسید روی و مس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی

یکی از روش‌های ویژگی‌یابی نانوذرات فلزی، استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی است که به کمک آن میتوان شکل و اندازه نانو ذرات سنتز شده را مشخص کرد. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی به دست آمده از نانوذرات فلزی روی و مس تحت شرایط بهینه ذکر شده، نشان از سنتز نانو مواد کروی شکل می‌باشد. اندازه ذرات تولید شده اکسید روی و مس به ترتیب در دامنه ۳۷-۲۵ و ۳۶-۳۲ نانومتر بودند (شکل ۳ و ٤). از لحاظ مرفولوژی (ریخت شناسی) نانوذرات به اشکال هندسی همشکل و متبلور مشاهده شدند. همچنین با توجه به این که مدت زمان انتظار برای آنالیز زیاد بوده است نانوذرات مغناطیسی روی و مس حاوی عصاره مورینگا تا حدودی کلوخه‌ای (آگلومره) شده‌اند.

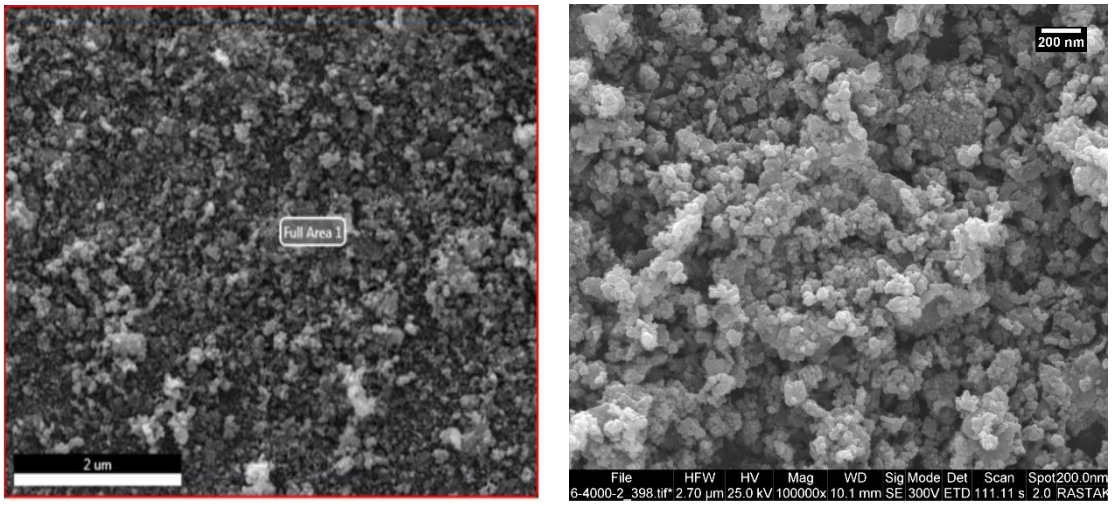
آگلومره شدن نانوذرات در تصاویر SEM یک پدیده رایج و شناخته‌شده است که ناشی از ترکیبی از عوامل فیزیکی و شیمیایی است. آگلومره شدن نانوذرات در تصاویر SEM یک پدیده رایج و شناخته‌شده است که ناشی از تعامل همزمان چند عامل فیزیکی و شیمیایی است. یکی از مهم‌ترین عوامل، **نیروهای میان‌ذره‌ای** مانند واندروالس و چسبندگی سطحی است؛ به دلیل نسبت بالای سطح به حجم در نانوذرات، این نیروها نقش غالب پیدا می‌کنند و ذرات تمایل دارند به یکدیگر جذب شده و خوشه تشکیل دهند، به‌ویژه زمانی که سطح ذرات فاقد پوشش پایدارکننده باشد (Kister *et al*., 2018). علاوه بر این، **فرآیند خشک شدن نمونه پیش از SEM** باعث کاهش فاصله بین ذرات و افزایش غلظت آن‌ها در محلول می‌شود، که این امر نیروهای جاذبه میان ذرات را تقویت و تشکیل آگلومره‌ها را تسهیل می‌کند، حتی اگر ذرات ابتدا در محلول به خوبی پراکنده بوده باشند (Michen *et al., 2015*). عامل سوم، **پایداری کلوئیدی و بار سطحی ذرات** است؛ کاهش بار سطحی یا تغییر pH موجب غلبه نیروهای جاذبه مانند واندروالس بر دافعه الکترواستاتیک شده و تجمع ذرات و تشکیل آگلومره‌ها را تشدید می‌کند (Moore *et al., 2015*). از این رو براساس موارد بیان شده احتمالا آگلومره شدن نانوذرات در SEM نتیجه‌ی تعامل پیچیده‌ی نیروهای میان‌ذره‌ای، شرایط آماده‌سازی نمونه و وضعیت الکتریکی سطح ذرات است.



شکل ۳- تصویر SEM نانو ذرات سنتز شده اکسید مس با استفاده از عصاره گیاه مورینگا

Fig 3. SEM image of copper oxide nanoparticles synthesized using Moringa plant extract

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]



شکل ٤- تصویر SEM نانو ذرات سنتز شده اکسید روی با استفاده از عصاره گیاه مورینگا

Fig 4. SEM image of copper oxide nanoparticles synthesized using Moringa plant extract

همان‌گونه که نتایج ساختاری نشان داد، اندازه ذرات نانو ZnO و CuO به‌ترتیب حدود ۲۵–۳۷ نانومتر و ۳۲–۳٦ نانومتر اندازه‌گیری شد. این اختلاف نسبی در اندازه ذرات نه‌تنها نشان‌دهنده تفاوت در مشخصات فیزیکوشیمیایی آن‌هاست، بلکه می‌تواند به‌طور مستقیم بر رفتار و پاسخ‌های بیولوژیکی گیاهان اثر بگذارد. گزارش شده است که اندازه نانوذرات یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر جذب، توزیع و اثرات بیولوژیک در گیاهان است؛ به‌گونه‌ای که ذرات کوچکتر به‌علت سطح ویژه بیشتر، نه‌تنها زیست‌توزیع و نفوذ بهتر به بافت‌های گیاهی را نشان می‌دهند، بلکه واکنش‌پذیری سطحی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را نیز افزایش می‌دهند، که این پدیده با افزایش سمیت و استرس اکسیداتیو در گیاهان ارتباط داده شده است (Zong *et al*., 2022; Kim *et al*., 2024). برای مثال، در مطالعه‌ای گزارش شده که کاهش اندازه ذرات ZnO منجر به افزایش تجمع در ریشه و پیامدهای فیزیولوژیک منفی شد، که نشان‌دهنده حساسیت بالاتر ذرات ریز نسبت به ذرات بزرگ‌تر در سیستم‌های گیاهی است (Kim *et al*., 2024). به‌طور مشابه، در مورد نانوذرات CuO نیز مشاهده شده که اندازه ذرات می‌تواند توزیع و انتقال عناصر غذایی و میزان آسیب اکسیداتیو را تحت تأثیر قرار دهد (Zong *et al*., 2022). این تفاوت اندازه ذرات احتمالاً باعث تغییر در نرخ حل‌شدن یون‌ها، نفوذ به بافت‌های گیاهی، تعامل با دیواره سلولی، و القای پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود .ذرات با اندازه کوچک‌تر به‌دلیل نسبت سطح به حجم بالاتر، می‌توانند ROS بیشتری تولید کرده و سازوکارهای دفاعی آنتی‌اکسیدانی را بیشتر فعال کنند، که این سازوکارها مستقیماً با استرس اکسیداتیو و تنظیم ژنتیکی پاسخ‌های گیاهی مرتبط هستند (Zong *et al*., 2022; Kim *et al*., 2024).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر نانو ذره روی، نانو ذرات مس، زمان، اثرات متقابل دوگانه و سه گانه بر بیان ژن *MO-CBP3* در سطح احتمال یک درصد معنی دار شدند. اثر اصلی نانو ذرات روی و مس بر بیان نسبی ژن *MO-CBP3* موثر و با افزایش غلظت نانو ذرات میزان بیان نسبی ژن مذکور نسبت به شاهد افزایش پیدا کرده و سیر صعودی داشته است به طوری که بیشترین میزان بیان نسبی ژن *MO-CBP3* طی کاربرد نانوذره اکسید روی و مس به ترتیب در غلظت های ppm ۱۵۰ و ۱۰۰ مشاهده شد؛ از طرفی اثر زمان بر بیان ژن مورد بررسی معنی دار و مشخص شد که هر چه مدت زمان تماس تیمارهای نانو ذرات روی و مس با نمونه ها افزایش یافته از میزان بیان ژن مورد بررسی کاسته شده است به گونه ای که در بازه ی زمانی ٤٨ ساعت بیان ژن بیشتری نسبت به بازه ی زمانی ۷۲ ساعت مشاهده شد. نتایج اثر متقابل دوگانه نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات روی و مس، بیان نسبی ژن *MO-CBP3* افزایش می‌یابد اما این افزایش معنادار فقط در بازه زمانی ٤٨ ساعته بوده و با گذشت زمان کاهشی شده است به طوری که بیشترین میزان بیان ژن طی کاربرد نانو ذره اکسید روی در غلظت ppm ۱۵۰ و بازه زمانی ٤٨ ساعت مشاهده شد (شکل A–۵) همچین طی کاربرد نانو ذره اکسید مس هم بیشترین میزان بیان در غلظت ppm ۱۰۰ و بازه زمانی ٤٨ حاصل شد (شکل B–۵) در اثر متقابل سه گانه نیز همین امر صادق بوده و بیشترین میزان بیان نسبی ژن *MO-*

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

CBP3 در غلظت ppm ۱۰۰ نانوذرات اکسید مس و ۱۵۰ppm نانوذره اکسید روی در بازه زمانی ۴۸ ساعت بعد از اعمال تیمار بوده و با گذشت زمان میزان بیان ژن کمتر شده است (شکل ٦)

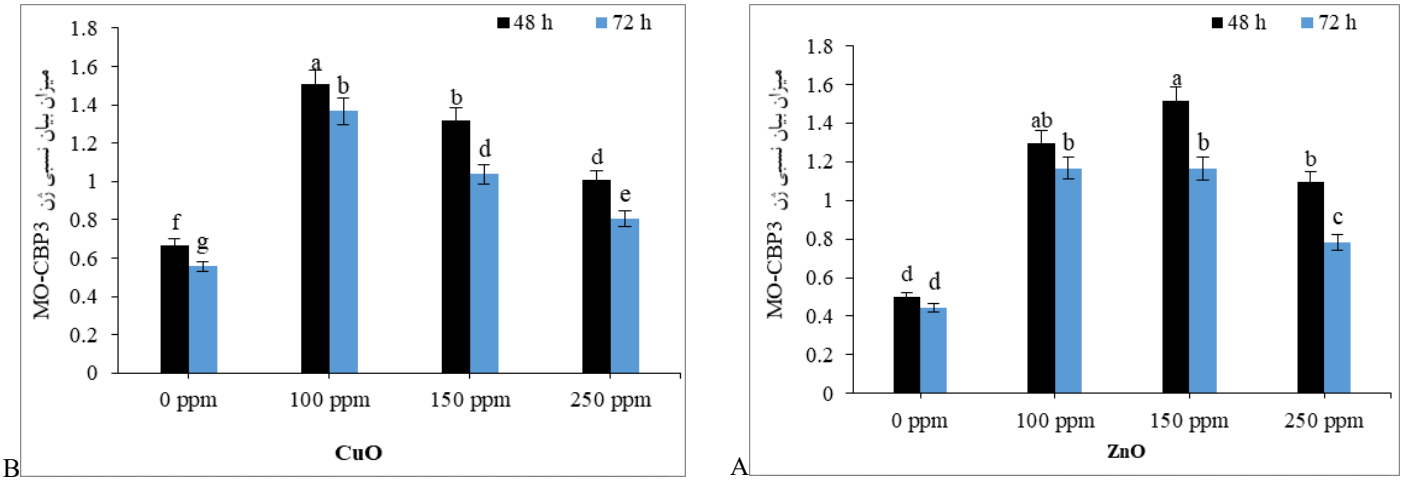
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نانو ذرات روی و مس بر بیان ژن نسبی *MO-CBP3* گیاه مورینگا در بازه زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت.

Table 3. Analysis of variance (mean squares) of the effects of zinc oxide and copper oxide nanoparticles on relative *MO-CBP3* gene expression in Moringa at 48 and 72 hours

S.O.V	Df	sum of squares	Squares Mean of	F
ZnO nano particle	3	4.91	1.63	265.63**
CuO nano particle	3	6.41	2.13	347.28**
Time	1	1.05	1.15	170.73**
Interaction between ZnO×CuO	9	1.64	0.18	29.69**
Interaction between ZnO×T	3	0.36	0.12	19.68**
Interaction between CuO×T	3	0.06	0.02	3.38**
Interaction between ZnO×CuO×T	9	0.27	0.03	4.97**
Error	64	0.39	0.006	
Total	95	15.12		

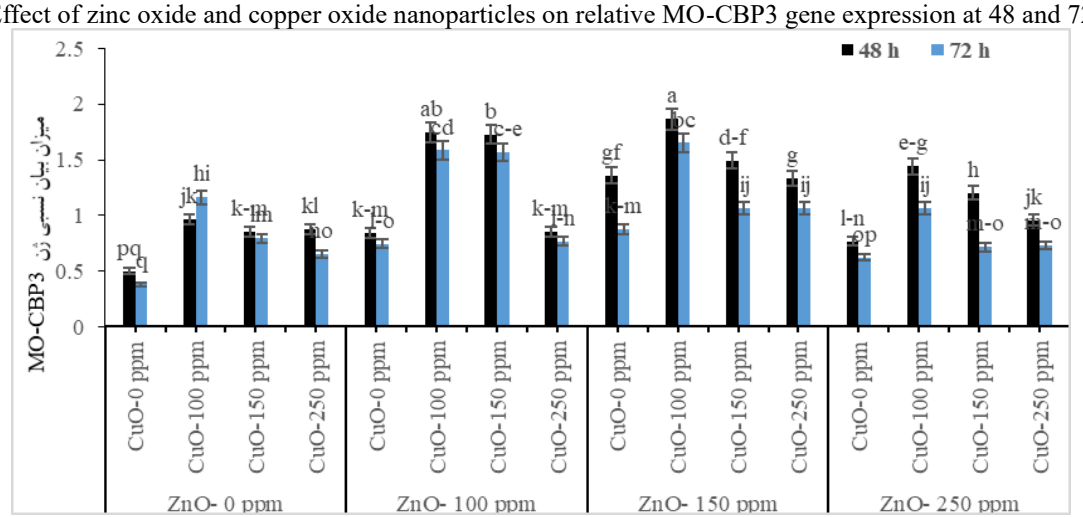
ns، * و **: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۵ و ۱ درصد

ns,* and **: Non–significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively



شکل ۵- اثر نانو ذرات اکسید روی و اکسید مس بر بیان نسبی ژن *MO-CBP3* در بازه زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت

Fig 5. Effect of zinc oxide and copper oxide nanoparticles on relative MO-CBP3 gene expression at 48 and 72 hours



شکل ٦- اثر متقابل نانو ذرات اکسید مس و روی بر بیان نسبی ژن *MO-CBP3* در بازه زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت

Fig 6. Effect of interaction between CuO and ZnO nanoparticles on relative *MO-CBP3* gene expressions at 48 and 72 hours

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

تاکنون پژوهش‌های زیادی در رابطه با تأثیر الیسیتورها بر بیان ژن‌های مختلف گیاهی صورت گرفته است و مشخص شده است که نوع و غلظت الیسیتور نقش مهمی در فرآیند تحریک دارد و بر شدت پاسخ ها مؤثر است (Trontin *et al*., 2016; Mosa *et al*., 2018; Babajani *et al*., 2019). محققانی چون Jo´sko و همکاران (۲۰۲۱) و Rizwan و همکاران (۲۰۱۷) معتقدند که در مطالعات بیان ژن، خصوصیات نانو ذره، غلظت آن و بافت مورد استفاده بسیار حائز اهمیت‌اند، به دلیل این که اطلاعات زیادی از موارد استفاده ی نانو ذرات و اثرات آنها بر گیاهان در دسترس نیست، لذا تصمیم گیری در مورد عملکرد آنها در سلول‌های گیاهی نیازمند مطالعات بیشتری در این زمینه است. در تحقیق حاضر مشخص شد که با افزایش غلظت نانو ذرات اکسید روی، میزان بیان ژن *MO-CBP3* بیشتر شده اما این روند افزایشی فقط تا بازه زمانی ٤٨ ساعت بعد از اعمال تیمار بوده و با گذشت زمان، این سیر نزولی شده است.

دراین تحقیق طی اعمال غلظت‌های مختلف نانو ذرات مشخص شد که غلظت ppm ۱۵۰ نانو ذره اکسید روی و ppm ۱۰۰ نانو اکسید مس غلظت‌های موثری تری هستند؛ غلظت مؤثر الیسیتور بر حسب گونه‌ی گیاهی متفاوت بوده به طوری که ممکن است غلظت بهینه الیستوری که در یک گیاه اثر تحریکی دارد، بر گیاهی دیگر اثر نداشته باشد؛ مثلا در گیاه *Melissa officinalis* غلظت بهینه نانو ذرات اکسید روی غلظت ppm ۳۰۰ گزارش شده است (Babajani *et al*., 2019) در حالی که در گیاه *Datura stramonium* غلظت بهینه ppm ۵۰۰ بوده است (Vafaie Moghadam *et al*., 2021).

به نظر میرسد علاوه بر غلظت الیسیتور، مدت زمان قرارگیری در معرض الیسیتور نیز بر بیان ژن مؤثر باشد (Trontin *et al*., 2016)، به دلیل این که میزان بیان ژن*MO-CBP3* در بازه ی ٤٨ ساعت بیش از بازه ی زمانی ۷۲ ساعت بود که این کاهش روند بیان ژن با یافته‌های مطالعه Babaei و همکاران (۲۰۱۸) و Vahedi و همکاران (۲۰۲۳) همراستا بود. در پژوهشی Rahimi Sherbaf Moghadas و همکاران (۲۰۲۱) طی بررسی بیان ژن‌*های COR*، *T6ODM* و *DBOX* در گیاه شقایق شرقی، بیشترین میزان بیان را در روز دوم (٤٨ ساعت) اعلام کردند و در روز سوم یعنی ۷۲ ساعت پس از اعمال تیمار، بیان ژن‌های مذکور کاهش یافت که این نتایج با کاهش بیان *MO-CBP3* مورینگا طی بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت در این تحقیق مطابقت دارد. در تحقیقی دیگر طی بررسی بیان ژن‌های *D4H*، *DAT* و *STR* در گیاه *Catharanthus roseus* توسط Rezaee و همکاران (۲۰۱۸) بیشترین میزان بیان، ۸ ساعت پس از اعمال تیمار نانو ذرات اکسید روی مشاهده شد و پس از ٢٤ ساعت بیان ژن‌های مذکور کاهش یافت. کاهش الگوی بیان یا تغییر الگو بیان در بازه زمانی طولانی احتمالا نشان‌دهنده بروز استرس اکسیداتیو بیش‌ازحد، اختلال در تعادل فیزیولوژیک، یا تجمع نانوذرات در سلول است که طی قرار گرفتن طولانی مدت در معرض غلظت‌های بالای نانو ذرات فلزی و اکسیدی رخ میدهد که ممکن است با فعال کردن مکانیسم‌های بازدارنده بیان ژنی سبب اختلال در رونویسی، کاهش پایداری mRNA، یا سرکوب آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی شوند که این امر ممکن است متعاقبا کاهش بیان ژن‌ها را در بازه زمانی طولانی تر توجیح کند (Leopold *et al*., 2022)

در تحقیق حاضر مشخص شد که میزان بیان نسبی ژن *MO-CBP3* طی تیمار نانو ذرات اکسید مس و با افزایش غلظت آن نسبت به سطح شاهد روندی افزایش داشته اما با افزایش مدت زمان قرار گیری در معرض تیمار نانو ذرات اکسید مس، میزان نسبی بیان روندی کاهشی داشت. در تایید نتایج این مطالعه مبنی بر کاهش بیان نسبی ژن *MO-CBP3* طی افزایش مدت زمان تیمار در مطالعاتی تاثیر بازه‌های زمانی مختلف را طی اعمال نانوذرات اکسید مس بر ژن‌های *SOD* و *CAT* در گیاه سیب‌زمینی (Hernández-Hernández *et al*., 2018) و بیان ژن‌های *OsCDC2* و *OsCVCD* در ریشه گیاه برنج (Wang *et al*., 2015) بررسی و گزارش شد که ژن‌های مورد مطالعه بیشترین تغییرات بیانی را در ساعت‌های اولیه پس از تیمار با نانو الیسیتورها نشان داده و پس از گذشت زمان، بیان آنها به طور معنی داری کاهش یافته است.

در تحقیقی مشابه Da Costa و همکاران (۲۰۱۵) اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید مس را بر بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی *APX* و *SOD* بررسی و نتایج نشان داد که طی افزایش غلظت الیسیتور، میزان بیان نسبت به سطح شاهد افزایش می‌یابد که در تایید با نتایج این تحقیق می‌باشد. با افزایش غلظت نانوذرات، شدت استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول‌های گیاهی افزایش

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

می‌یابد؛ ROS به عنوان پیام‌رسان‌های ثانویه عمل کرده و موجب فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی دفاعی از جمله MAPK و مسیرهای وابسته به سالیسیلیک اسید، جاسمونیک اسید و اتیلن می‌شوند. در نتیجه، تحریک این مسیرها به‌صورت وابسته به دوز باعث افزایش رونویسی و بیان ژن‌های مرتبط با دفاع گیاه می‌گردد (Javed *et al*., 2024).

براساس نظرات Khodayari و همکاران (۲۰۱٤) و Khoshmodi و همکاران (۲۰۱۳) می‌توان از نانو الیسیتورها برای افزایش بیان ژن‌های مؤثر در مسیر بیوسنتزی گیاهان استفاده کرد اما توجه به مدت زمان تیمار، استفاده بهینه از الیسیتورها ضروری است زیرا ممکن است که بیان ژن‌های مطلوب مورد نظر طی استفاده مستمر از الیسیتور و قرار گرفتن در معرض دایم آن‌ها، خود باعث کاهش بیان شود و از آنجایی که عمدتاً طی واکنش‌های دفاعی مختلف سلولی متابولیت‌های ثانویه تولید می‌شوند افزایش تولید آنها ممکن است منجر به یک سری تغییرات سلولی و واکنش‌های فوق حساسیت شود که در نتیجه آن ممکن است مرگ سلولی رخ می‌دهد (Khodayari *et al*., 2014). همچنین ممکن است کاربرد نانو الیسیتورها، منجر به تنش اکسیداتیو شود که این امرخود سبب تولید گونه‌های مختلف اکسیژن می‌شود که در نتیجه آن ممکن است آسیب‌هایی به مولکولهای زیستی وارد شود و از طرفی خود این ذرات نیز ممکن است یون‌هایی را به محیط وارد کنند (Chomoucka e*t al*. 2010).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان چنین استنباط کرد که نانوذرات ZnO و CuO به روش سنتز سبز و با استفاده از عصاره مورینگا به‌عنوان عامل زیستی، با موفقیت سنتز شدند و استفاده از هیتر مغناطیسی فرایند احیای یون‌های فلزی را تسهیل کرد. نتایج آنالیز مولکولی نشان داد که هر چند که اعمال نانو ذرات اکسید روی و مس سبب تغییر بیان ژن *MO-CBP3* شده اما این تغییر در غلظت ppm ۱۵۰ نانو ذره اکسید روی و غلظت ppm ۱۰۰ نانو ذره اکسید مس پس از ٤٨ ساعت پاسخ بهتری در افزایش بیان ژن مورد مطالعه داشته است. همچنین با افزایش بیش از حد غلظت و طول مدت تماس هر دو تیمار نانو ذره (غلظت ppm ۲۵۰ و بازه زمانی ۷۲ ساعت) کاهش بیان *Mo-CBP3* مشاهده شد که ممکن است نشان دهنده بروز پاسخ منفی یا تنش اکسیداتیو در گیاه باشد. یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که نانوذرات سنتزشده به روش سبز با عصاره مورینگا می‌توانند به‌عنوان الیسیتور زیستی برای القای بیان ژن‌های دفاعی گیاه مورد مطالعه به کار روند.

منابع

References

Abdallah, R., Mostafa, N. Y., Kirrella, G. A., Gaballah, I., Imre, K., Morar, A., ... & Elshebrawy, H. A. (2023). Antimicrobial effect of *Moringa oleifera* leaves extract on foodborne pathogens in ground beef. Foods, 12(4), 766. https://doi.org/10.3390/foods12040766.

Alharbi, N. S., Alsubhi, N. S., & Felimban, A. I. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using medicinal plants: Characterization and application. Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 15(3), 109-124. https://doi.org/10.1016/j.jrras.2022.06.012

Assad, N., Laila, M. B., Hassan, M. N. U., Rehman, M. F. U., Ali, L., Mustaqeem, M., ... & Malik, T. (2025). Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles using Equisetum diffusum D. Don. with broad-spectrum antibacterial, anticancer, antidiabetic, and antioxidant potentials. Scientific Reports, 15(1), 19246. https://doi.org/10.1038/s41598-025-02450-9

Babaei, Z., Solouki, M., & Fazeli-Nasab, B. (2019). Investigating The Effect of Biological and non-Biological Elicitor on Expression of Hyp-1 Gene in *Hypericum perforatum*. Modern Genetics, 13(4), 543-549. DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.9.2. In Persian

Babajani, A., Iranbakhsh, A., Oraghi Ardebili, Z., & Eslami, B. (2019). Differential growth, nutrition, physiology, and gene expression in Melissa officinalis mediated by zinc oxide and elemental selenium nanoparticles. Environmental Science and Pollution Research, 26(24), 24430-24444. https://doi.org/10.1007/s11356-019-05676-z

Banerjee, K., Pramanik, P., Maity, A., Joshi, D. C., Wani, S. H., & Krishnan, P. (2019). Methods of using nanomaterials to plant systems and their delivery to plants (mode of entry, uptake, translocation, accumulation, biotransformation and barriers). In Advances in

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

phytonanotechnology (pp. 123-152). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815322-2.00005-5

Batista, A. B., Oliveira, J. T., Gifoni, J. M., Pereira, M. L., Almeida, M. G., Gomes, V. M., ... & Vasconcelos, I. M. (2014). New insights into the structure and mode of action of *Mo-CBP3*, an antifungal chitin-binding protein of *Moringa oleifera* seeds. PloS one, 9(10), e111427. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111427

Behjati, M. M., Nemati, A., & Ardalan, P. (2020). Evaluation of the ZnO nanoparticles biosynthesized by Amaranthus Ruentus on the expression of apoptotic genes (*Bax* and *Bcl-2*) in breast cancer cells (*MDAMB-231*). DOR: 20.1001.1.22285105.2019.9.4.11.0. In Persian

Bindhu MR, Umadevi M, Esmail GA, Al-Dhabi NA, Arasu MV. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles from *Moringa oleifera* flower and assessment of antimicrobial and sensing properties. J Photochem Photobiol B Biol. 2020;205:111836. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111836

Chomoucka, J., Drbohlavova, J., Huska, D., Adam, V., Kizek, R., & Hubalek, J. (2010). Magnetic nanoparticles and targeted drug delivering. Pharmacological research, 62(2), 144-149. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.01.014

Da Costa, M. V. J., & Sharma, P. K. (2016). Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*. Photosynthetica, 54, 110-119. https://doi.org/10.1007/s11099-015-0167-5

Das PE, Majdalawieh AF, Abu-Yousef IA, Narasimhan S, Poltronieri P. Use of a hydroalcoholic extract of *moringa oleifera* leaves for the green synthesis of bismuth nanoparticles and evaluation of their anti-microbial and antioxidant activities. Materials (Basel). 2020;13:876. https://doi.org/10.3390/ma13040876

Dejene, B. K., & Geletaw, T. M. (2023). A review of plant-mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles for self-cleaning textiles. Research Journal of Textile and Apparel. https://doi.org/10.1108/RJTA-12-2022-0154

Deresa, E. M., & Diriba, T. F. (2023). Phytochemicals as alternative fungicides for controlling plant diseases: A comprehensive review of their efficacy, commercial representatives, advantages, challenges for adoption, and possible solutions. Heliyon, 9(3). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13810

Espenti CS, Rama Krishna AG, Rami Reddy YV. Green biosynthesis of ZnO nanomaterials and their anti-bacterial activity by using *Moringa Oleifera* root aqueous extract. SN Appl Sci. 2020;2:1–11. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.126483

Falowo, A.B.; Muchenje, V.; Hugo, A.; Aiyegoro, O.A.; Fayemi, P.O. Antioxidant activities of *Moringa oleifera* L. and *Bidens pilosa* L. leaf extracts and their effects on oxidative stability of ground raw beef during refrigeration storage. CyTA J. Food 2017, 15, 249–256. https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1243587

Farahani, S., Bandani, A., & Eslami, S. (2018). Comparison of susceptibility of two Iranian populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) to spirodiclofen.https://doi.org/10.22073/pja.v7i3

Freire reire, J. E. et al., Mo-CBP3, an antifungal chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds, is a member of the 2S albumin family, PLoS ONE, 2015. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119871

Freire, J. E., Vasconcelos, I. M., Moreno, F. B., Batista, A. B., Lobo, M. D., Pereira, M. L., ... & Grangeiro, T. B. (2015). Mo-CBP3, an antifungal chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds, is a member of the 2S albumin family. PloS one, 10(3), e0119871. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119871

Ghahremani, F., & Izanloo, C. (2020). Green synthesis of Copper Oxide Nanopartcles Using Extract of *Hypericum Perforatum* and Marrubium Vulgare and Evaluation of Antioxidant Properties of Herbal Extracts and Antibacterial Feature of Green-Synthesized Nanostructures. , 12(44), 239-249. DOR: 20.1001.1.20086156.1399.12.44.3.6. In Persian

Ghebremichael, K. A., Gunaratna, K. R., Henriksson, H., Brumer, H., & Dalhammar, G. (2005). A simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed. Water research, 39(11), 2338-2344. https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.04.012

Gifoni, J. M., Oliveira, J. T., Oliveira, H. D., Batista, A. B., Pereira, M. L., Gomes, A. S., ... & Vasconcelos, I. M. (2012). A novel chitin-binding protein from Moringa oleifera seed with potential for plant disease control. Peptide Science, 98(4), 406-415. https://doi.org/10.1002/bip.22068

Gopalakrishnan, L., Doriya, K., & Kumar, D. S. (2016). Moringa oleifera: A review on nutritive importance and its medicinal application. Food science and human wellness, 5(2), 49-56. https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.04.001

Hernández-Ceja, A., Loeza-Lara, P. D., Espinosa-García, F. J., García-Rodríguez, Y. M., Medina-Medrano, J. R., Gutiérrez-Hernández, G. F., & Ceja-Torres, L. F. (2021). In vitro antifungal activity of plant extracts on pathogenic fungi of blueberry (*Vaccinium* sp.). Plants, 10(5), 852. https://doi.org/10.3390/plants10050852

Hernández-Hernández, H., Juárez-Maldonado, A., Benavides-Mendoza, A., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Sánchez-Aspeytia, D., & González-Morales, S. (2018). Chitosan-PVA and copper nanoparticles improve growth and overexpress the SOD and JA genes in tomato plants under salt stress. Agronomy, 8(9), 175. https://doi.org/10.3390/agronomy8090175

Jaiswal, D., Rai, P. K., Mehta, S., Chatterji, S., Shukla, S., Rai, D. K., ... & Watal, G. (2013). Role of Moringa

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

oleifera in regulation of diabetes-induced oxidative stress. Asian Pacific journal of tropical medicine, 6(6), 426-432. https://doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60068-1

Javed, R., Khan, B., Sharafat, U., Bilal, M., Galagedara, L., Abbey, L., & Cheema, M. (2024). Dynamic interplay of metal and metal oxide nanoparticles with plants: Influencing factors, action mechanisms, and assessment of stimulatory and inhibitory effects. Ecotoxicology and Environmental Safety, 271, 115992. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.115992

Jośko, I., Kusiak, M., Xing, B., & Oleszczuk, P. (2021). Combined effect of nano-CuO and nano-ZnO in plant-related system: From bioavailability in soil to transcriptional regulation of metal homeostasis in barley. Journal of hazardous materials, 416, 126230. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.115992

Kaur, H., Sharma, A., Anand, K., Panday, A., Tagotra, S., Kakran, S., ... & Singh, G. (2025). Green synthesis of ZnO nanoparticles using E. cardamomum and zinc nitrate precursor: a dual-functional material for water purification and antibacterial applications. RSC advances, 15(21), 16742-16765. https://doi.org/10.1039/D5RA01469G

Ke, M., Zhu, Y., Zhang, M., Gumai, H., Zhang, Z., Xu, J., & Qian, H. (2017). Physiological and molecular response of *Arabidopsis thaliana* to CuO nanoparticle (nCuO) exposure. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 99(6), 713-718. https://doi.org/10.1007/s00128-017-2205-4

Khodayari, M., Omidi, M., Shah Nejat Bushehri, A., Yazdani, D., Naqvi, M. R., & Kadkhoda, Z. (2014). Effect biological elicitor and nano elicitor on increasing the production of alkaloids in opium poppy (*Papaver somniferum*). Iranian Horticultural Science, 45, 287-295. https://doi.org/10.22059/ijhs.2014.52877. In Persian

Kim, S. H., Bae, S., Sung, Y. W., & Hwang, Y. S. (2024). Effects of particle size on toxicity, bioaccumulation, and translocation of zinc oxide nanoparticles to bok choy (*Brassica chinensis* L.) in garden soil. Ecotoxicology and Environmental Safety, 280, 116519. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116519

Kister, T., Monego, D., Mulvaney, P., Widmer-Cooper, A., & Kraus, T. (2018). Colloidal stability of apolar nanoparticles: The role of particle size and ligand shell structure. ACS nano, 12(6), 5969-5977. https://doi.org/10.1021/acsnano.8b02202

Lala, S. (2021). Nanoparticles as elicitors and harvesters of economically important secondary metabolites in higher plants: A review. IET nanobiotechnology, 15(1), 28-57. https://doi.org/10.1049/nbt2.12005

Langner, T., & Göhre, V. (2016). Fungal chitinases: function, regulation, and potential roles in plant/pathogen interactions. Current genetics, 62(2), 243-254. https://doi.org/10.1007/s00294-015-0530-x

Leopold, L. F., Coman, C., Clapa, D., Oprea, I., Toma, A., Iancu, Ș. D., ... & Coman, V. (2022). The effect of 100–200 nm ZnO and TiO2 nanoparticles on the in vitro-grown soybean plants. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 216, 112536. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112536

Lv, Z., Jiang, R., Chen, J., & Chen, W. (2020). Nanoparticle-mediated gene transformation strategies for plant genetic engineering. The Plant Journal, 104(4), 880-891. https://doi.org/10.1111/tpj.14973

Madariaga-Mazón, A., Hernández-Alvarado, R. B., Noriega-Colima, K. O., Osnaya-Hernández, A., & Martinez-Mayorga, K. (2019). Toxicity of secondary metabolites. Physical Sciences Reviews, 4(12). https://doi.org/10.1515/psr-2018-0116

Mahdi, H. J., Khan, N. A. K., Asmawi, M. Z. B., & Mahmud, R. (2018). In vivo anti-arthritic and anti-nociceptive effects of ethanol extract of *Moringa oleifera* leaves on complete Freund's adjuvant (CFA)-induced arthritis in rats. Integrative medicine research, 7(1), 85-94. https://doi.org/10.1016/j.imr.2017.11.002

Meela, M. M., Mdee, L. K., Masoko, P., & Eloff, J. N. (2019). Acetone leaf extracts of seven invasive weeds have promising activity against eight important plant fungal pathogens. South African journal of botany, 121, 442-446. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.12.007

Michen, B., Geers, C., Vanhecke, D., Endes, C., Rothen-Rutishauser, B., Balog, S., & Petri-Fink, A. (2015). voiding drying-artifacts in transmission electron microscopy: Characterizing the size and colloidal state of nanoparticles. Scientific reports, 5(1), 9793. https://doi.org/10.1038/srep09793

Minaiyan, M., Asghari, G., Taheri, D., Saeidi, M., & Nasr-Esfahani, S. (2014). Anti-inflammatory effect of *Moringa oleifera* Lam. seeds on acetic acid-induced acute colitis in rats. Avicenna journal of phytomedicine, 4(2), 127. https://doi.org/10.22038/ajp.2014.1072

Moghadami, F., Hajmoradi, F., & Kalantari, M. (2023). Investigating the effect of silver nanoparticles on the activity of glycerol dehydrogenase by response surface methodology. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 12(1), 59-67. DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.7.1. In Persian

Moore, T. L., Rodriguez-Lorenzo, L., Hirsch, V., Balog, S., Urban, D., Jud, C., ... & Petri-Fink, A. (2015). Nanoparticle colloidal stability in cell culture media and impact on cellular interactions. Chemical Society Reviews, 44(17), 6287-6305. . https://doi.org/ 10.1039/C4CS00487F

Mosa, K. A., El-Naggar, M., Ramamoorthy, K., Alawadhi, H., Elnaggar, A., Wartanian, S., ... & Hani, H. (2018). Copper nanoparticles induced genotoxicty, oxidative stress, and changes in superoxide dismutase (SOD) gene expression in cucumber (*Cucumis sativus*)

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

plants. Frontiers in plant science, 9, 872. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00872

Naghavi,F. , Khoshroo,S. M. R. , Kazemipour,M. and Mahmoudi Zarandi,M. (2024). Effect of green copper nanoparticles synthesized with Aloe vera aqueous extract on germination parameters of pinto beans under salinity stress. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 37(1), 16-29. https://doi.org 10.22034/jpr.2024.2249. . In Persian

Naiel, B., Fawzy, M., Halmy, M. W. A., & Mahmoud, A. E. D. (2022). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Sea Lavender (*Limonium pruinosum* L. Chaz.) extract: characterization, evaluation of anti-skin cancer, antimicrobial and antioxidant potentials. Scientific Reports, 12(1), 20370. https://doi.org/10.1038/s41598-022-24805-2

Othman, M., Saada, H., & Matsuda, Y. (2020). Antifungal activity of some plant extracts and essential oils against fungi-infested organic archaeological artefacts. Archaeometry, 62(1), 187-199. https://doi.org/10.1111/arcm.12500

Paikra, B. K., & Gidwani, B. (2017). Phytochemistry and pharmacology of Moringa oleifera Lam. Journal of pharmacopuncture, 20(3), 194. https://doi.org/10.3831/KPI.2017.20.022

Perumalsamy, H., Balusamy, S. R., Sukweenadhi, J., Nag, S., MubarakAli, D., El-Agamy Farh, M., ... & Rahimi, S. (2024). A comprehensive review on Moringa oleifera nanoparticles: importance of polyphenols in nanoparticle synthesis, nanoparticle efficacy and their applications. Journal of nanobiotechnology, 22(1), 71. https://doi.org/10.1186/s12951-024-02332-8

Raafat, K., & Hdaib, F. (2017). Neuroprotective effects of Moringa oleifera: Bio-guided GC-MS identification of active compounds in diabetic neuropathic pain model. Chinese journal of integrative medicine, 1-10. https://doi.org/10.1007/s11655-017-2758-4

Radwan, A. M., Aboelfetoh, E. F., Kimura, T., Mohamed, T. M., & El-Keiy, M. M. (2021). Fenugreek-mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles and evaluation of its in vitro and in vivo antitumor potency. Biomedical Research and Therapy, 8(8), 4483-4496. https://doi.org/10.15419/bmrat.v8i8.687

Rahimi Sherbaf Moghadas, M., Naghavi, M., Sabokdast, M., Motemadi, E., & Nasiri, J. (2021). The effect of nano elicitors on the expression of the genes involved in alkaloids biosynthetic pathway in *Papaver orientale* L. suspension culture. Iranian Journal of Field Crop Science, 52(1), 133-141. https://doi.org/10.22059/ijfcs.2020.256665.654466. In Persian

Rezaee, M., Hosseini, R., & Asghari, B. (2016). Evaluating the effect of zinc and cobalt nanoparticles on expression of STR, DAT and D4H genes in periwinkle (*Cataranthus roseus*) suspenssion culture. Cell and Tissue Journal, 7(4), 355-364. https://doi.org/10.52547/JCT.7.4.355. In Persian

Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M. F., Ok, Y. S., Adrees, M., Ibrahim, M., ... & Abbas, F. (2017). Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. Journal of hazardous materials, 322, 2-16. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.061

Singh, H., Desimone, M. F., Pandya, S., Jasani, S., George, N., Adnan, M., ... & Alderhami, S. A. (2023). Revisiting the green synthesis of nanoparticles: uncovering influences of plant extracts as reducing agents for enhanced synthesis efficiency and its biomedical applications. International journal of nanomedicine, 4727-4750. https://doi.org/10.2147/IJN.S419369

Teixeira, E. M. B., Carvalho, M. R. B., Neves, V. A., Silva, M. A., & Arantes-Pereira, L. (2014). Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. leaves. Food chemistry, 147, 51-54. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.135

Tripathi, S., Mahra, S., Tiwari, K., Rana, S., Tripathi, D. K., Sharma, S., & Sahi, S. (2023). Recent advances and perspectives of nanomaterials in agricultural management and associated environmental risk: a review. Nanomaterials, 13(10), 1604. https://doi.org/10.3390/nano13101604

Trontin, J. F., Klimaszewska, K., Morel, A., Hargreaves, C., & Lelu-Walter, M. A. (2016). Molecular aspects of conifer zygotic and somatic embryo development: a review of genome-wide approaches and recent insights. In vitro embryogenesis in higher plants, 167-207. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3061-6_8

Vafaie Moghadam, A., Iranbakhsh, A., Saadatmand, S., Ebadi, M., & Oraghi Ardebili, Z. (2022). New insights into the transcriptional, epigenetic, and physiological responses to zinc oxide nanoparticles in *Datura stramonium*; potential species for phytoremediation. Journal of Plant Growth Regulation, 41(1), 271-281. https://doi.org/10.1007/s00344-021-10305-6

Vahedi, H. , Fahmideh, L., Fakheri, BA ., & Fazeli-Nasab. B., (2023). Effect of Chitosan and Silver nanoparticles on expression of Betaamyrin synthase gene in Ajowan. Modern Genetics, 18(2)235-244. URL: http://mg.genetics.ir/article-1-1616-fa.html. In Persian

Wang, S., Liu, H., Zhang, Y., & Xin, H. (2015). The effect of CuO NPs on reactive oxygen species and cell cycle gene expression in roots of rice. Environmental Toxicology and Chemistry, 34(3), 554-561. https://doi.org/10.1002/etc.2826

Yao, Q., Wu, C. F., Luo, P., Xiang, X. C., Liu, J. J., Mou, L., & Bao, J. K. (2010). A new chitin-binding lectin from rhizome of Setcreasea purpurea with antifungal, antiviral and apoptosis-inducing activities. Process

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]

Zong, X., Wu, D., Zhang, J., Tong, X., Yin, Y., Sun, Y., & Guo, H. (2022). Size-dependent biological effect of copper oxide nanoparticles exposure on cucumber (*Cucumis sativus*). Environmental Science and Pollution Research, 29(46), 69517-69526. https://doi.org/10.1007/s11356-022-20662-8

Zhang, H., Demirer, G. S., Zhang, H., Ye, T., Goh, N. S., Aditham, A. J., ... & Landry, M. P. (2019). DNA nanostructures coordinate gene silencing in mature plants. Proceedings of the National Academy of Sciences, 116(15), 7543-7548. https://doi.org/10.1073/pnas.1818290116

Biochemistry, 45(9), 1477-1485. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.05.026

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.5]