



## The Effect of Green Zinc Oxide Nanoparticles on the Physicochemical Properties of *Ganoderma lucidum* Mushroom

Zahra Khazaei<sup>1</sup>, Mahdi Behnamian<sup>2\*</sup>, Sara Dezhsetan<sup>3</sup> and Asghar Estaji<sup>2</sup>

- 1- Ph.D. Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran  
2- Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran  
3- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

\*Corresponding author: mbehnamian@gmail.com

(Received: 09 November 2022

Revise: 25 December 2022

Accepted: 03 January 2023)

### Extended Abstract

- 1. Introduction:** Nanotechnology is an emerging technology which can revolutionize various scientific fields such as agriculture. Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) are one of the metal oxide nanoparticles that are biocompatible and environmentally friendly. Zinc is an active element and a strong reducing agent. *Ganoderma lucidum* is a parasite fungus which has been used as a popular food and also to treat of various diseases. The medicinal value of strains of this fungus are related to their biologically active compounds such as proteins, flavonoids, antioxidants, vitamins, and minerals. Different issues have been reported for chemical synthesis of ZnONPs such as high cost and toxicity of chemicals, therefore, nowadays green synthesis method is widely used to synthesize metal nanoparticles due to its environmental friendliness, lower toxicity rate and more safety. Various natural components such as plants, algae, fungi and bacteria are used to synthesize zinc oxide nanoparticles which among them, green synthesis by plant extracts has attracted special attention for the synthesis of various metal nanoparticles. The purposes of the current study were to evaluate the possibility of using *Foeniculum vulgare* L. seed extract to synthesize green ZnONPs and the influence of ZnONPs and ZnO treatments on different characteristics of *G. lucidum* strains.
- 2. Materials and Methods:** In this study, the aqueous extract of *F. vulgare* L. seeds was used to synthesize green ZnONPs. *G. lucidum* strains (G101 and G116) were obtained from the forests of Mazandaran province and were used after verification of their nature. The formation of nanoparticles was confirmed by dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM). The effect of different concentrations of ZnONPs and ZnO (0, 4, 6 and 8 mM) on total phenolic content, flavonoids, antioxidant capacity, carbohydrates, ascorbic acid, beta-carotene and lycopene, and the activity of antioxidant enzymes including polyphenol oxidase (PPO), ascorbate peroxidase (APX), glutathione peroxidase (GPX) and glutathione reductase (GR) of two wild strains of *G. lucidum* were studied in submerged culture. The study was conducted as a factorial experiment based on completely randomized design with three replications. Analysis of variance was performed using SAS v.19 software and mean comparisons were conducted based on SNK method.
- 3. Results and Discussion:** The results indicated that the shape of ZnONPs was spherical and they had a uniform distribution, with an average particle size of 13 to 25 nm. Bulk ZnO and ZnONPs significantly affected the biochemical properties of *G. lucidum* strains. The flavonoid content of both *G. lucidum* strains increased with increasing the concentration of bulk ZnO and ZnONPs. The results showed that ascorbic acid content of *G. lucidum* significantly increased in response to different concentrations of bulk ZnO and ZnONPs. The results clearly revealed a significant difference between treatments in terms of  $\beta$ -carotene and lycopene content, so that  $\beta$ -carotene and lycopene content increased with increasing the concentration of bulk ZnO and ZnONPs to 6 mM, but increasing the concentration until 8 mM, led to a significant decrease in these traits. Also, the results indicated a significant difference between treatments in terms of the activity of antioxidant enzymes including GPX, APX, PPO and GR. Based on results, the antioxidant enzymes activity increased with increasing the concentration of bulk ZnO and ZnONPs to 6 mM, and then, decreased at concentration of 8 mM. Also in both strains, the activity of antioxidant enzymes on 8<sup>th</sup> day was higher than on 4<sup>th</sup> day. The stress caused by heavy metals induces the biosynthesis of antioxidant compounds in plant cells. Studies have shown that application of ZnONPs leads to increasing total phenol content resulting in enhancing antioxidant capacity of treated crops. Also, based on reports enhancing the antioxidant enzymes activity and increasing flavonoids and ascorbic acid content

caused by ZnONPs application lead to lower reactive oxygen species in plant cells under stress conditions leading to lower cellular damages.

- 4. Conclusion:** Our study determined the appropriate concentrations of ZnONPs and ZnO based on positive effects on content and activity of antioxidant agents in *G. lucidum* strains. Among treatments, ZnONPs had a greater positive effect on mycelium antioxidant characteristics than bulk ZnO and also, the effects in G101 strain were more pronounced than in G116.

**Keywords:** Antioxidant capacity, Ascorbic acid, Mycelium culture, ZnO nanoparticles

**Citation:** Khazaei, Z., Behnamian, M., Dezhsetan, S. & Estaji, A. (2023). The effect of green zinc oxide nanoparticles on the physicochemical properties of *Ganoderma lucidum* mushroom. *Journal of Vegetables Sciences*, 14(2), 01-24. doi: 10.22034/IUVS.2023.1972377.1247

**Copyrights:**

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted to Journal of Vegetables Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).





## اثر نانوذرات سبز اکسید روی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی قارچ گانودرما لوسیدوم (*Ganoderma lucidum*)

زهرا خزایی<sup>۱</sup>، مهدی بهنامیان<sup>۲\*</sup>، سارا دژستان<sup>۳</sup> و اصغر استاجی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

\*نویسنده مسئول: mbehnamian@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۸

### چکیده

نانوفناوری یک تکنولوژی نوظهور است که می‌تواند زمینه‌های مختلف علمی از جمله کشاورزی را متحول کند. در این مطالعه، نانوذرات اکسید روی (ZnONPs) با کمک عصاره آبی بذر رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.)، به روش سنتز سبز تولید شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. از غلظت‌های ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار نانوذره اکسید روی و فرم بالک اکسید روی استفاده شد. نمونه‌برداری در روزهای ۴، ۶ و ۸ پس از تیمار انجام گرفت. تشکیل نانوذرات توسط پراکندگی نور دینامیکی (DLS) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) تأیید شد. اندازه ZnONPs بین ۱۳ تا ۲۵ نانومتر متغیر بود. تأثیر غلظت‌های مختلف ZnONPs و ZnO بر فنول کل، فلاونوئیدها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کربوهیدرات کل، اسید آسکوربیک (ASA)، بتاکاروتن و لیکوپن و آنزیم‌های پلی‌فنول‌اکسیداز (PPO)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) دو سویه وحشی گانودرما در کشت مایع میسلیم مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که این تیمارها باعث افزایش معنی‌دار میزان فنول کل، فلاونوئیدها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کربوهیدرات کل، بتاکاروتن و لیکوپن و اسید آسکوربیک نسبت به شاهد شدند، به طوری که بالاترین مقادیر فاکتورهای مورد اندازه‌گیری در غلظت ۸ میلی‌مولار ZnONPs در روز هشتم ثبت شد، ولی میزان فعالیت آنزیم‌های PPO، APX، GPX و GR با گذشت زمان تا غلظت ۶ میلی‌مولار نانوذرات افزایش یافت و پس از آن وارد مرحله کاهشی گردید. استفاده از اکسید روی و به‌ویژه فرم نانو ذره آن منجر به افزایش فعالیت متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی شده و می‌تواند برای بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قارچ گانودرما در کشت مایع مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اسید آسکوربیک، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کشت میسلیم، نانوذرات اکسید روی

استناد: خزایی، ز.، بهنامیان، م.، دژستان، س. و استاجی، ا. (۱۴۰۲). اثر نانوذرات سبز اکسید روی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی قارچ گانودرما لوسیدوم (*Ganoderma lucidum*). علوم سبزی‌ها، ۱۴(۲)، ۱-۲۴.

### حق چاپ:



حق چاپ برای نویسنده (گان) این مقاله محفوظ است. بر اساس قوانین انتشارات با دسترسی آزاد، تمام مطالعات چاپ شده در این مجله به صورت آزاد در وب سایت مجله برای عموم بدون پرداخت هزینه قابل دسترس است.

## مقدمه

سلولی، رشد و ترمیم آن‌ها تأثیر می‌گذارد و در همانندسازی DNA و RNA نقش غیرمستقیم دارد (Song *et al.*, 2015). این عنصر همچنین در غلظت-های پایین برای فعالیت آنزیمی، متابولیسم، رشد و تکمیل چرخه‌های بیولوژیکی قارچ‌ها از جمله قارچ گانودرما مورد نیاز است. ولی غلظت‌های بالاتر این عنصر می‌تواند منجر به ایجاد سمیت در قارچ شود (Matute *et al.*, 2011).

اکثر محصولات صنعتی، از جمله نانو ذرات، هنگام ورود به محیط آبی ایجاد سمیت می‌کنند (Moore, 2006)، به طوری که Poynton و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که ZnONPs در محیط آبی، یون تولید کرده و منجر به ایجاد مسمومیت می‌شود. هنگامی که ZnONPs توسط لیزوزوم‌ها جذب می‌شوند، یون‌های روی به سرعت در سلول‌ها آزاد گردیده و باعث تولید سطوح بالای از رادیکال‌های آزاد شده و یا با اتصال مستقیم به پروتئین‌های درون سلولی، لیزوزوم‌ها، شبکه آندوپلاسمی و اسید نوکلئیک می‌توانند فعالیت آنزیمی و فیزیولوژیکی سلول‌ها را مختل کرده و به آن‌ها آسیب برسانند (Xia *et al.*, 2008). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در زدودن گونه‌های فعال اکسیژن دارند (Hosseini *et al.*, 2023). در این میان، پلی‌فنول-اکسیداز (PPO)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، و ردوکتاز (GR) (Kumari *et al.*, 2011) همراه با آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند آسکوربات وظیفه خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را بر عهده دارند (Zhao *et al.*, 2020). APX آنزیم اصلی در چرخه آسکوربات-گلوکاتایون است که در واکنش‌های ردوکس در کنترل میزان رادیکال‌های آزاد در گیاهان نقش دارد (Akanbi-Gada *et al.*, 2019). آنزیم GPX به حفظ کاهش سطح گلوکاتایون (GSH) کمک می‌کند (Ahmad, 2018). این دو آنزیم نقشی کلیدی در متابولیسم فنولی دارند و در پاسخ به تنش‌های

قارچ گانودرما (*Ganoderma lucidum*) متعلق به راسته Polyporales و خانواده Ganodermataceae است و به صورت انگل روی درختان چوب‌سخت یا به صورت ساپروفیت روی درختان چوب‌سخت مرده، زندگی می‌کند. این گونه به عنوان پادشاه قارچ‌ها نامگذاری شده است (Aygün *et al.*, 2020). این قارچ از سال ۲۰۰۰ به عنوان یک غذای محبوب در برخی از کشورهای آسیایی و غربی در پیشگیری از برخی بیماری‌ها استفاده می‌شود (Sullivan *et al.*, 2006). از جمله خواص دارویی آن کاهش ابتلا به بیماری‌هایی مانند سرطان کبد و قلب و تقویت سیستم ایمنی بدن است. ارزش دارویی سویه‌های این قارچ به ترکیبات زیست‌فعال آن مانند پلی‌ساکاریدها، تری‌ترپن‌ها، استرول‌ها، لکتین‌ها و پروتئین‌ها (Ferreira *et al.*, 2010)، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، آنتی‌اکسیدان‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی مربوط می‌شود (Aygün *et al.*, 2020).

نانوفناوری به عنوان علمی جدید و جذاب، امکان تحقیقات پیشرفته در بسیاری از زمینه‌ها از جمله کشاورزی را فراهم کرده است. خواص فیزیکوشیمیایی نانوذرات در مقایسه با شکل معمولی آن‌ها متفاوت بوده و عملکرد آن‌ها به ترکیب شیمیایی، اندازه و شکل ذرات بستگی دارد (Stoimenov *et al.*, 2002). یکی از پرکاربردترین نانو مواد فلزی، اکسید روی (ZnO) است (Krol *et al.*, 2017). این نانوذره به دلیل داشتن سطح تماس بالا و تولید ساختارهای کریستالی، منحصر به فرد می‌باشد (He *et al.*, 2011). همچنین در مقایسه با مواد آلی، گزینش‌پذیری بیشتر و مقاومت حرارتی بالاتری دارد (Padmavathy & Vijayaraghan, 2008). عنصر روی به عنوان کوفاکتور آنزیم‌هایی با خواص آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کند (Kozarski *et al.*, 2015)، و در تثبیت ساختار مولکولی و غشای اندامک-های درون سلولی و همچنین متابولیسم اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی داشته و بر تقسیم

اکسید روی استفاده شد. نمونه‌برداری در روزهای ۴، ۶ و ۸ پس از تیمار انجام گرفت. تیمار فاقد اکسید روی به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

**تهیه قارچ گانودرما:** دو سویه گانودرما لوسیدوم GI01 از (۳۴) درجه و ۳۶ دقیقه عرض جغرافیایی و ۵۲ درجه و ۴ دقیقه طول جغرافیایی و ۹ متر ارتفاع از سطح دریا) و همچنین سویه GI16 از (۳۴) درجه و ۳۶ دقیقه عرض جغرافیایی، و ۵۲ درجه و ۴ دقیقه طول جغرافیایی و ۱۸ متر ارتفاع از سطح دریا) از جنگل‌های استان مازندران برداشت شدند و پس از تأیید، مورد استفاده قرار گرفتند. **تهیه عصاره بذر رازیانه:** بذر رازیانه رقم ایتالیایی 'Finocchio Montebianco' برای سنتز سبز نانوذرات روی استفاده شد. برای این منظور، ابتدا بذور در آب شستشو داده شده و سپس ۱۰۰ گرم بذر خشک به کمک آسیاب، پودر گردید و با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه مخلوط شد. محلول تا دمای ۶۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد و پس از ۱ ساعت، عصاره به‌کمک سانتریفیوژ (۴۵۰۰ g) جداسازی گردید و تا زمان مصرف در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (Sajadi et al., 2016).

**سنتز سبز ZnONPs:** برای سنتز ZnONPs، ۵۰ میلی‌لیتر از عصاره بذری تهیه شده با ۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه مخلوط شد. سپس ۶/۴ گرم نیترات روی به محلول عصاره رقیق شده اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق همزده شد. پس از حل شدن کامل نیترات روی، pH محلول توسط NaOH (۵ مولار) روی ۱۲ تنظیم شده و به مدت ۱ ساعت تا تشکیل رسوب زرد همزده شد. در نهایت، رسوب حاصل سه نوبت با آب دیونیزه شستشو داده شده و پس از آن به‌کمک سانتریفیوژ (۳۰۰۰ g) از محیط مایع جداسازی شد. برای حذف ناخالصی‌ها، رسوب به‌دست آمده در کوره الکتریکی در دمای ۵۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲۰ دقیقه حرارت داده شد. پس از خشک شدن، رنگ رسوب از زرد به سفید تغییر کرد که نشان دهنده تشکیل ZnONPs بود (Arvanag et al., 2019).

غیرزیستی مختلف از جمله فلزات، القا می‌شوند (Taranto et al., 2017).

روش‌های شیمیایی متعددی برای سنتز اکسید روی گزارش شده است که هر کدام از آن‌ها دارای مشکلات و معایبی هستند که از آن جمله می‌توان به نیاز به تجهیزات گران‌قیمت، فضای زیاد برای نصب تجهیزات و سمی بودن مواد شیمیایی اشاره کرد (Mahdizadeh et al., 2019). از این رو، به‌کارگیری روش سبز برای سنتز نانوذرات به‌دلیل سازگاری با محیط زیست، سمیت کمتر و سالم بودن پیشنهاد شده است. در این روش، از مواد شیمیایی کمتری استفاده می‌شود که به‌نوبه خود باعث کاهش آلودگی، هزینه و انرژی می‌شود (Sharmila et al., 2019). تاکنون از اجزای طبیعی مختلفی مانند گیاهان، جلبک‌ها، قارچ‌ها و باکتری‌ها برای سنتز نانوذرات اکسید روی استفاده شده است ولی استفاده از عصاره‌های گیاهی توجه ویژه‌ای را برای سنتز سبز نانوذرات فلزی مختلف به خود جلب کرده است (Ali et al., 2019). در این روش، عصاره گیاه به‌عنوان یک عامل احیاکننده و تثبیت‌کننده زیستی برای سنتز نانوذرات اکسید روی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Marslin et al., 2018). متابولیت‌های موجود در عصاره‌های گیاهی مانند ترکیبات فنولی، تانن‌ها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، پلی‌پتیدها، نشاسته‌ها و غیره به‌عنوان نشانگرهای زیستی و پوششی برای نمک‌های فلزی عمل کرده و نانوذرات مورد نظر را تولید می‌کنند (Velsankar et al., 2020).

در مطالعه حاضر، اثر ZnONPs سنتز سبز شده به-کمک عصاره آبی بذر گیاه رازیانه و فرم بالک آن بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* در کشت مایع مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

**طرح آزمایشی:** آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. از غلظت های ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار نانوذره اکسید روی و فرم بالک



۶۴۵ و ۶۶۳ اندازه‌گیری شد و میزان بتاکاروتن و لیکوپن با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید:

طول موج‌ها: A:

$$\begin{aligned} \text{رابطه ۲:} & \quad * -0.0458 = \text{لیکوپن (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره)} \\ & \quad A663 + 0.204 * A645 + 0.372 * A505 - 0.0806 * A453 \\ \text{رابطه ۳:} & \quad A663 * 0.216 = \beta - \text{کاروتن (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره)} \\ & \quad -1.22 * A645 - 0.304 * A505 + 0.452 * A453 \end{aligned}$$

**استخراج عصاره آنزیمی:** برای این منظور، یک مخلوط هموزن با ۱ گرم بافت میسلیموم و ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱ مولار (pH ۷) حاوی ۱ میلی مولار EDTA، ۵٪ (w/v) PVPP و ۱٪ Triton X-100 (v/v) تهیه شد. سپس این مخلوط در ۱۲۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شده و مایع رویی به‌عنوان عصاره آنزیمی برای ارزیابی فعالیت آنزیمی استفاده شد (Qu *et al.*, 2020).

**آنزیم پلی فنول اکسیداز (PPO):** فعالیت آنزیم PPO با روش Luh و Phithakpol (۱۹۷۲) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، ۱ میلی‌لیتر کاتکول ۰/۰۴ میلی‌مولار و ۴۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۶/۸) بود. میزان جذب با اسپکتروفتومتر (Genway 6705) UV-Vis در طول موج ۴۱۰ نانومتر برای ۳ دقیقه قرائت شد و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیمی بر گرم وزن تر ( $U \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ ) بیان گردید. از محلول حاوی تمام مواد فوق به‌جز عصاره خام به‌عنوان بلنک استفاده شد.

**آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX):** برای اندازه‌گیری آنزیم APX از روش Asada (۱۹۹۲) استفاده شد. مخلوط واکنش حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، ۰/۲ میلی‌لیتر آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، ۰/۱ میلی‌لیتر  $\text{H}_2\text{O}_2$  یک درصد، ۲/۵ میلی‌لیتر فسفات پتاسیم ۴۰ میلی‌مولار و ۰/۱ میلی‌مولار EDTA (pH ۷) بود. میزان جذب با اسپکتروفتومتر (Genway 6705) UV-Vis در طول موج ۲۹۰ نانومتر برای ۳ دقیقه ثبت شد و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیمی بر گرم وزن تر ( $U \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ ) بیان گردید. از محلول حاوی تمام مواد فوق به‌جز عصاره خام به‌عنوان بلنک استفاده شد.

از جداسازی فاز رویی محلول، ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ به رسوب باقیمانده اضافه و فرآیند عصاره‌گیری تکرار شد. سپس عصاره استخراج شده در ۴۵۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیده و ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره تهیه و با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱۳ مولار) مخلوط گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر (Genway 6705) UV-Vis در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد و میزان کربوهیدرات کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ( $\text{mg g}^{-1} \text{ FW}$ ) بیان گردید. از گلوکز برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد (McCready *et al.*, 1950).

**اسید آسکوربیک:** تعیین میزان اسید آسکوربیک به روش Barros و همکاران (۲۰۰۷) انجام گرفت. برای این منظور، ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه خشک‌شده (در آن در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد) با ۱۰ میلی‌لیتر اسید متافسفريك در دمای اتاق استخراج و سپس از کاغذ صافی شماره ۴ به‌عنوان فیلتر عبور داده شد. در نهایت، ۱ میلی‌لیتر عصاره فیلترشده با ۹ میلی‌لیتر ۲،۶-دی کلروایندوفنول ۰/۰۵ میلی‌مولار مخلوط گردیده و میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر (Genway) UV-Vis (6705) در ۵۱۵ نانومتر ثبت شد و میزان AsA بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ FW}$ ) بیان گردید. از محلول حاوی تمام مواد فوق به‌جز عصاره خام به‌عنوان بلنک استفاده شد.

**بتاکاروتن و لیکوپن:** برای اندازه‌گیری بتاکاروتن و لیکوپن از روش Nagata و Yamashit (۱۹۹۲) استفاده شد. برای این منظور، ابتدا ۰/۵ گرم میسلیموم قارچ با نیتروژن مایع سابیده شد. سپس عصاره‌گیری با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر استون هگزان با نسبت ۶ به ۴ انجام گرفت و در نهایت، با سرعت ۱۸۰۰ g به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. میزان جذب مایع رویی در دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis (Genway 6705) در طول موج‌های ۴۵۳، ۵۰۵،

و ۸ پس از تیمار انجام گرفت. تیمار فاقد اکسید روی به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS v.19 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون SNK انجام گرفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

### نتایج و بحث

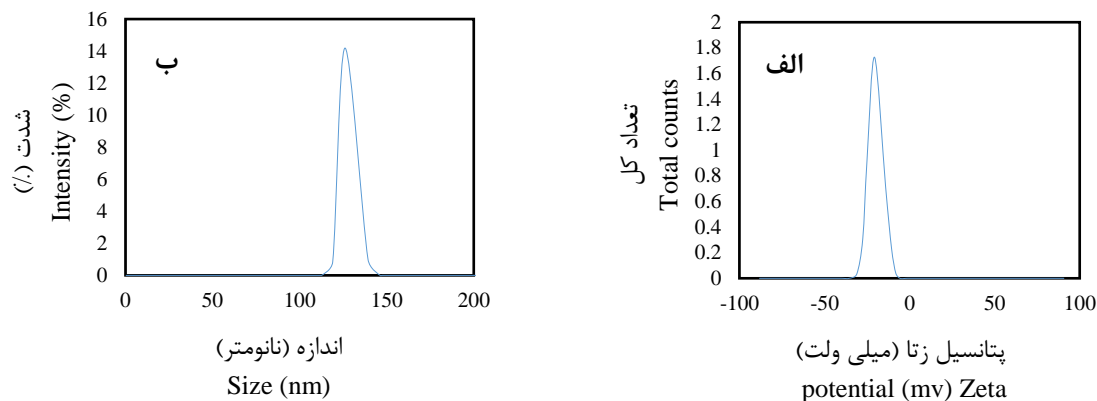
**خصوصیات ZnONPs:** تجزیه و تحلیل DLS وجود نانوذرات را در محلول تأیید کرده و به ارزیابی پراکندگی ذرات آن‌ها کمک می‌کند. بر اساس تجزیه DLS، اندازه متوسط نانوذرات سنتز شده ۱۲۶ نانومتر بود (شکل الف ۱) که با نتایج به‌دست آمده توسط (Yusof *et al.*, 2020) مطابقت داشت، به‌طوری که نانوذرات اکسید روی سنتز شده به‌کمک باکتری *Lactobacillus plantarum* در حدود ۱۲۴ نانومتر گزارش شد.

در این مطالعه، پتانسیل زتای ZnONPs سنتز شده ۲۰/۵- میلی ولت بود (شکل ب ۱) که نشان‌دهنده وقوع پایداری بین ذرات می‌باشد. نتیجه مشابهی توسط Vimala و همکاران (۲۰۱۴) گزارش شده بود که پتانسیل زتای ۲۱/۵- میلی ولت را برای نانوذرات اکسید روی بیان کردند. Rao و همکاران (۲۰۱۳) پیشنهاد کردند که مقدار منفی و زیاد پتانسیل زتا در یک محیط آبی معمولاً ناشی از نیروی دافعه بین ذرات است که باعث افزایش پایداری بین ZnONPs می‌شود. همچنین این مقدار بار منفی در داخل و در میان نانوذرات سنتز سبز شده، می‌تواند منعکس‌کننده وجود فلاونوئید و سایر ترکیبات فنولی باشد، که نقش احیاکنندگی در عصاره گیاه مورد نظر را دارند.

**آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX):** فعالیت آنزیم GPX با روش Paglia و Valentine (۱۹۶۷) با اندکی تغییر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۰/۴ مولار بافر فسفات (pH ۷)، ۰/۵ میلی‌مولار EDTA، ۰/۹ میلی‌لیتر  $\text{NaN}_3$  ۵ میلی‌مولار، ۱ میلی‌لیتر گلوتاتیون ۵ میلی‌مولار، ۱ میلی‌لیتر  $\text{H}_2\text{O}_2$  ۴ میلی‌مولار و ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بوده که به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis (Genway 6705) در ۳۴۰ نانومتر برای ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیمی بر گرم وزن تر ( $\text{U g}^{-1} \text{FW}$ ) بیان گردید. از محلول حاوی تمام مواد فوق به‌جز عصاره خام به‌عنوان بلنک استفاده شد.

**آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز (GR):** برای اندازه‌گیری فعالیت GR از روش Halliwell و Foyer (۱۹۷۶) با اندکی تغییرات استفاده شد. مخلوط واکنش از ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، ۱۰۰ میکرولیتر گلوتاتیون دی‌سولفید ۵۰ میلی‌مولار، ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH ۷/۸) و ۵۰ میکرولیتر NADPH ۱۰ میلی‌مولار تهیه شد. میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis (Genway 6705) در ۳۴۰ نانومتر برای ۳ دقیقه ثبت شد و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیمی بر گرم وزن تر ( $\text{U g}^{-1} \text{FW}$ ) بیان گردید. از محلول حاوی تمام مواد فوق به‌جز عصاره خام به‌عنوان بلنک استفاده شد.

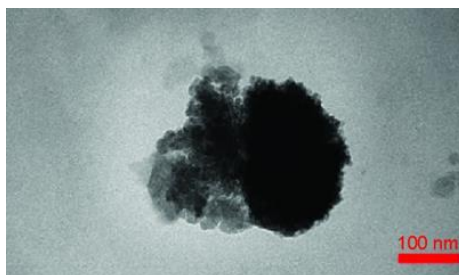
**تجزیه آماری:** این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. از غلظت‌های ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار نانوذره اکسید روی و فرم بالک اکسید روی استفاده شد. نمونه‌برداری در روزهای ۴، ۶



شکل ۱- پتانسیل زتا (الف) و قطر (ب) نانوذرات اکسید روی با آنالیز DLS براساس شدت  
Figure 1- Zeta potential (a) and particle diameter (b) of ZnONPs obtained by DLS analysis based on intensity

نانوذرات کوچک‌تر (Ogunyemi *et al.*, 2019) ناشی از پلاریزاسیون و جذب الکترواستاتیکی نانوذرات ZnO ذرات با اندازه‌های بزرگ‌تر نیز مشاهده شدند (Fakhari *et al.*, 2019).

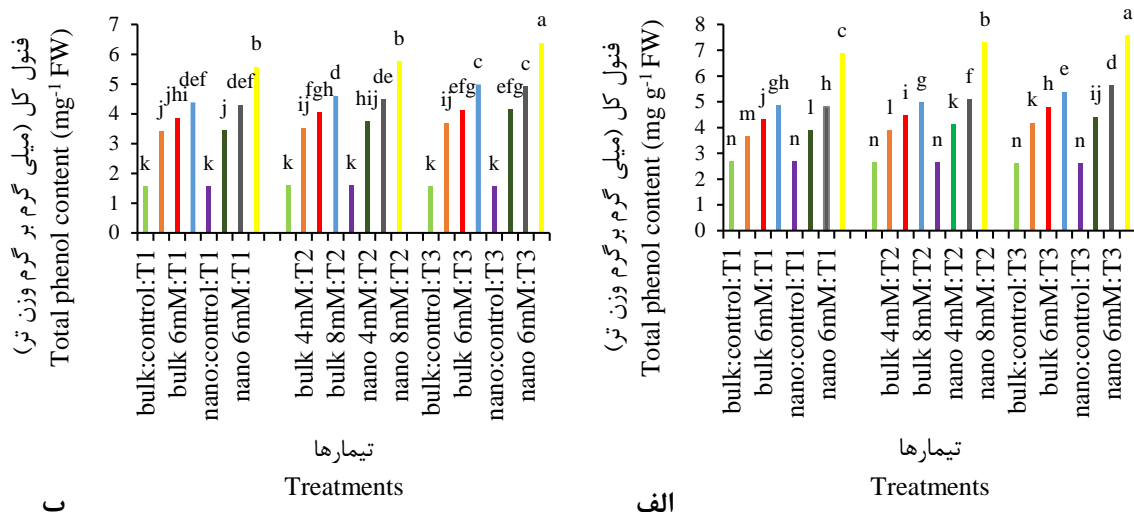
تصویربرداری TEM (شکل ۲) برای ارزیابی شکل، ساختار و اندازه ZnONPs سنتز شده به روش سبز مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که شکل ZnONPs کروی و دارای توزیع یکنواخت با اندازه متوسط ذرات ۱۳ تا ۲۵ نانومتر بود. با وجود این، احتمالاً به دلیل تجمع



شکل ۲- تصویر TEM نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره بذر *F. vulgare*  
Figure 2- TEM image of the ZnONPs synthesized using *F. vulgare* seed extract

شد (شکل ۳ و ۴). در این مطالعه، بالاترین میزان فنول کل و فلاونوئید در غلظت ۸ میلی‌مولار نانوذره روی در روز هشتم ثبت شد که در مقایسه با تیمار شاهد یک افزایش ۴/۱ و ۲/۹ برابری در فنول کل را به ترتیب در سویه‌های GI01 و GI16 تجربه کرد. این افزایش برای فلاونوئید در هر دو سویه معادل ۸/۲ برابر مقادیر ثبت شده در روز هشتم برای تیمار شاهد بود.

فنول کل و فلاونوئید: در مطالعه حاضر، میزان فنول کل و فلاونوئید در هر دو سویه با افزایش غلظت ZnO و ZnONPs و طول دوره کشت نسبت به شاهد افزایش یافت که نشان‌دهنده اثر مثبت غلظت و زمان بر میزان فاکتورهای مورد مطالعه بود. با وجود این، تیمار نانوذرات تأثیر بیشتر و معنی‌داری نسبت به تیمار ZnO داشت و منجر به افزایش بیشتر در میزان فنول کل و فلاونوئید



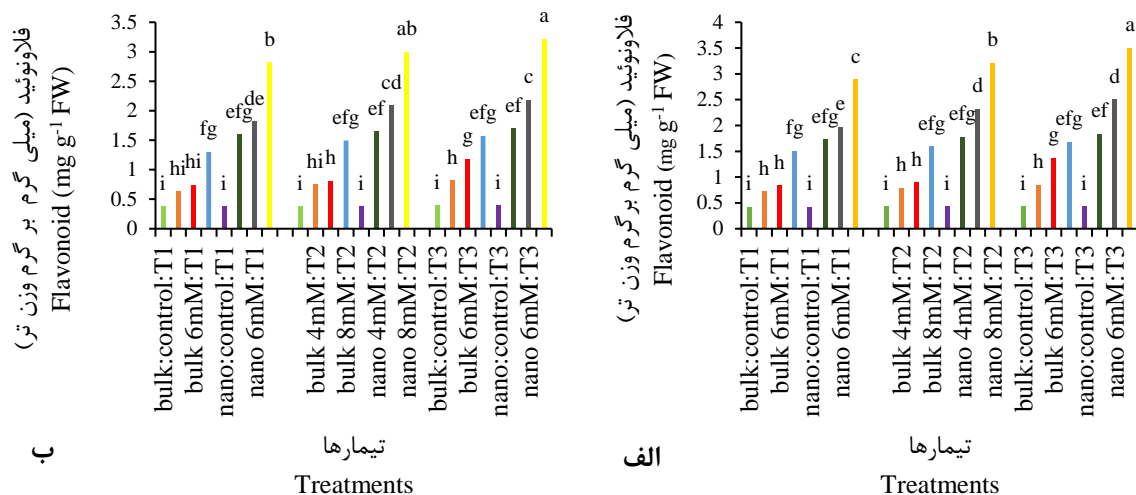
شکل ۳- اثر ZnO و ZnONPs بر میزان فنول کل دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* (الف: G101 و ب: G116)

در روزهای T<sub>1</sub>: چهارم، T<sub>2</sub>: ششم و T<sub>3</sub>: هشتم

Figure 3- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on total phenol content of two strains (a: G101 and b: G116) of *Ganoderma lucidum* on days T<sub>1</sub>: 4<sup>th</sup>, T<sub>2</sub>: 6<sup>th</sup> and T<sub>3</sub>: 8<sup>th</sup>

دیگری، Chang و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که نانوذرات اکسید روی می‌توانند با ترغیب تولید رادیکال‌های آزاد فعالیت‌های متابولیکی را تحت تأثیر قرار دهند، به طوری که اثر بخشی آن‌ها بر تولید متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنولی بیش از فرم غیرنانو آن‌ها بود. Tirani و همکاران (۲۰۱۹) نیز گزارش کردند که میزان ترکیبات فنولی، از جمله فلاونوئیدها در نمونه‌های تیمار شده با نانوذرات روی در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با شکل غیرنانو افزایش یافت، که می‌تواند به قابلیت آن‌ها در محافظت بهتر در برابر گونه‌های فعال اکسیژن و خنثی‌سازی بیشتر این رادیکال‌ها نسبت داده شود. در مطالعه‌ای دیگر نیز نشان داده شد که Se و ZnO در قارچ‌های صدفی درختی (*Pleurotus ostreatus*) و شاه‌صدف (*Pleurotus eryngii*) باعث ترغیب سنتز ترکیبات فنولی شدند و در نتیجه افزایش این ترکیبات، آسیب ناشی از سلنیوم و روی کاهش یافت (Gasecka *et al.*, 2016) که نتایج مطالعه حاضر با این مطالعات مطابقت دارد.

قارچ‌ها تحت شرایط تنش‌های زیستی و غیرزیستی واکنش‌هایی را بروز می‌دهند که منجر به القای تولید رادیکال‌های آزاد شده (Dong *et al.*, 2019) و آن‌ها نیز به نوبه خود به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان، سنتز آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و همچنین سایر متابولیت‌های ثانویه را با تنظیم مسیرهای انتقال پیام، القا می‌کنند (Apel & Hirt, 2004). یکی از این ترکیبات، فنول‌ها هستند که در قارچ‌ها در مقادیر نسبتاً بالا وجود داشته (Sanchez, 2017) و به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند و از طریق انتقال تک الکترون، در زدودن رادیکال‌های آزاد نقش مهمی ایفا می‌کنند (Juma *et al.*, 2016). در مطالعه‌ای، Bhumii و همکاران (۲۰۱۴)، گزارش کردند که تنش فلزات سنگین، میزان ترکیبات فنولی را افزایش داد. ترکیبات فنولی از یک طرف فلزات را کلاته می‌کنند و از طرف دیگر نقش مهمی در حذف گونه‌های فعال اکسیژن دارند که به طور عمده به دلیل خاصیت اکسیداسیون و احیاء آن‌ها بوده و می‌توانند نقش مهمی در جذب و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد داشته باشند. در مطالعه



شکل ۴- اثر ZnO و ZnONPs بر میزان فلاونوئید دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* (الف: G101 و ب: G116)

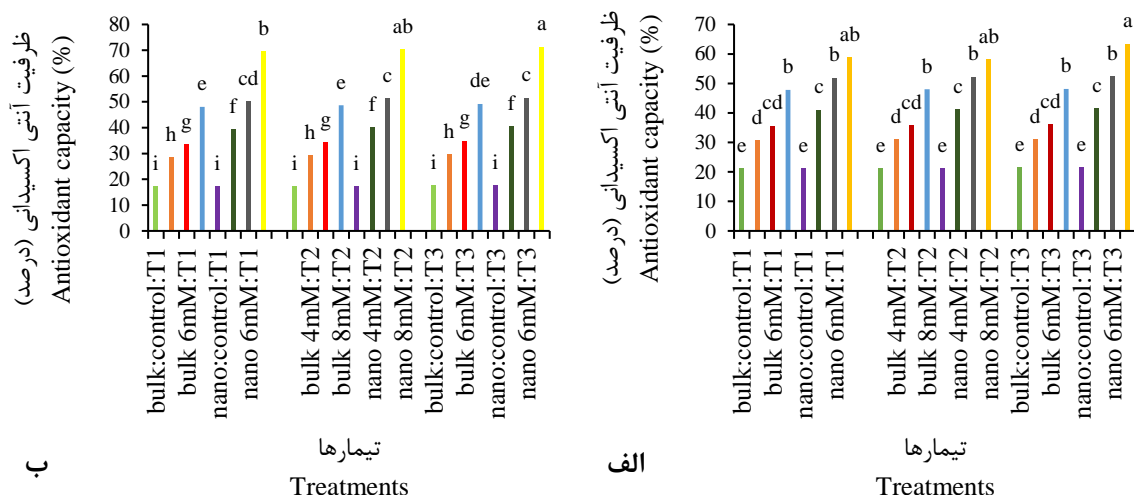
در روزهای T<sub>1</sub>: چهارم، T<sub>2</sub>: ششم و T<sub>3</sub>: هشتم

Figure 4- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on flavonoid content of two strains (a: G101 and b: G116) of *Ganoderma lucidum* on days T<sub>1</sub>: 4<sup>th</sup>, T<sub>2</sub>: 6<sup>th</sup> and T<sub>3</sub>: 8<sup>th</sup>

داده شد که نانو ذرات اکسید روی باعث افزایش ترکیبات فنولی می‌شوند که می‌تواند دلیل اصلی افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی باشد. Zare و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند که سطح فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانو ذرات اکسید روی بالاتر از اکسید روی معمولی است، به طوری که نمونه‌های تیمار شده با نانوذرات اکسید روی دارای ترکیبات فنولی بیشتری بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان دادند. در مطالعه دیگری که توسط Doroteo و همکاران (۲۰۱۳) انجام گرفت مشخص شد که نانوذرات باعث افزایش میزان ترکیبات فنولی شده و در حذف رادیکال‌های آزاد و همچنین در کاهش فعالیت آنزیم‌هایی مخرب نقش دارند و منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شدند. این یافته‌ها، نتایج مطالعه حاضر را تأیید می‌کنند.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج نشان داد که تیمارهای ZnO و ZnONPs و همچنین طول دوره کشت، تأثیر معنی‌داری بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در هر دو سویه مورد مطالعه در مقایسه با تیمار شاهد داشت. در این آزمایش، با افزایش غلظت و طول دوره کشت، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش و به حداکثر میزان خود در روز ۸ در غلظت ۸ میلی‌مولار نانوذره رسید (شکل ۵) و یک افزایش ۴/۲ برابری در سویه G101 و ۳/۸ برابری در سویه G116 در مقایسه با تیمار شاهد در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اتفاق افتاد.

تنش ناشی از فلزات سنگین باعث القاء و بیوسنتز ترکیباتی می‌شود که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند (Garcia-Lopez et al., 2019). در مطالعه‌ای که توسط Read و همکاران (۲۰۱۹) انجام شد، نشان

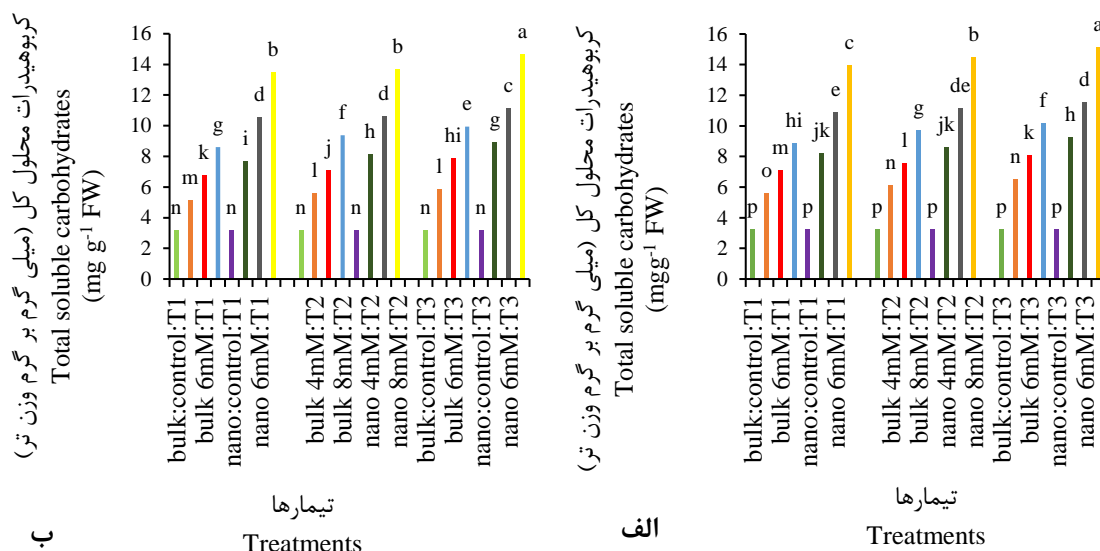


شکل ۵- اثر ZnO و ZnONPs بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* (الف: G101 و ب: G116) در روزهای T<sub>1</sub>: چهارم، T<sub>2</sub>: ششم و T<sub>3</sub>: هشتم

Figure 5- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on antioxidant capacity of two strains (a: G101 and b: G116) of *Ganoderma lucidum* on days T<sub>1</sub>: 4<sup>th</sup>, T<sub>2</sub>:6<sup>th</sup> and T<sub>3</sub>: 8<sup>th</sup>

معنی‌داری بر میزان کربوهیدرات کل سویه‌ها داشت، به‌طوری که بیشترین میزان کربوهیدرات کل در پاسخ به غلظت ۸ میلی‌مولار نانوذرات در روز هشتم تیمار مشاهده شد (شکل ۶).

کربوهیدرات محلول کل: میزان کربوهیدرات محلول کل گانودرما لوسیدوم در پاسخ به غلظت‌های مختلف ZnO و ZnONPs به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۶)، اما شکل نانوذره روی تأثیر



شکل ۶- اثر ZnO و ZnONPs بر کربوهیدرات محلول کل دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* (الف: G101 و ب: G116) در روزهای T<sub>1</sub>: چهارم، T<sub>2</sub>: ششم و T<sub>3</sub>: هشتم

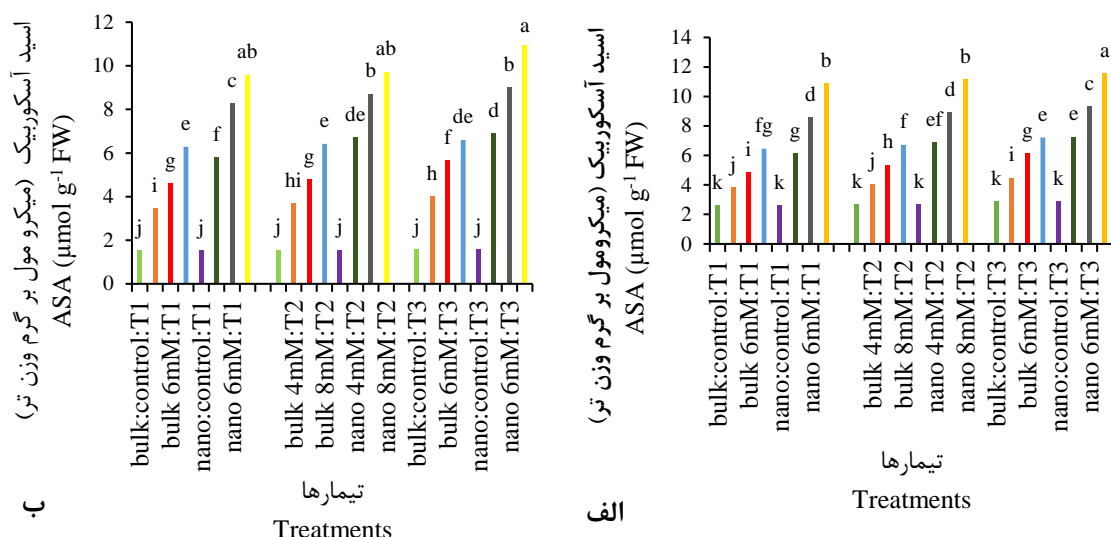
Figure 6- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on total soluble carbohydrates of two strains (a: G101 and b: G116) of *Ganoderma lucidum* on days T<sub>1</sub>: 4<sup>th</sup>, T<sub>2</sub>:6<sup>th</sup> and T<sub>3</sub>: 8<sup>th</sup>

اسید آسکوربیک در هر دو سویه تأثیر بیشتری نشان داد. به طوری که بیشترین میزان اسید آسکوربیک در پاسخ به غلظت ۸ میلی‌مولار ZnONP در روز هشتم به دست آمد (شکل ۷)، میزان اسید آسکوربیک در سویه GI01، ۶/۸ برابر و در سویه GI16، ۴/۱ برابر در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت. این افزایش در مقایسه با تیمار ۸ میلی‌مولار ZnO در روز هشتم در حدود ۶۰ درصد بود.

اسید آسکوربیک در قارچ به عنوان یک مولکول آنتی اکسیدان عمل کرده و می‌تواند رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش اکسیداتیو را از بین ببرد (Sanchez, 2017). در یک مطالعه، اثر Zn و Se بر روی قارچ‌های صدفی درختی (*P. ostreatus*) و شاه‌صدف (*P. eryngii*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که به دلیل تنش ناشی از تیمارهای فوق، میزان اسید آسکوربیک افزایش یافت (Gasecka et al., 2016). در مطالعه‌ای دیگر، An و همکاران (۲۰۰۸)، گزارش دادند که تیمار نانوذرات نقره (Ag-NPs) باعث افزایش میزان اسید آسکوربیک در مارچوبه (*Asparagus officinalis*) شد. همچنین Faizan و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تیمار ZnONP به طور قابل توجهی میزان اسید آسکوربیک در گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) را افزایش داده و با افزایش غلظت این نانوذره، میزان اسید آسکوربیک نیز افزایش یافت که نتایج مطالعه حاضر با این مطالعه همخوانی دارد.

قارچ‌ها حاوی مقادیر نسبتاً بالایی از کربوهیدرات‌ها هستند که دارای نقش آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. همچنین، کربوهیدرات‌ها در تنظیم اسمزی سلول در شرایط تنش نقش مهمی ایفا می‌کنند و در نتیجه از ساختار ماکرومولکول‌ها و غشای سلولی محافظت می‌کنند (Sadak & Bakry, 2020). از طرفی، روی یک ریز مغذی مهم برای متابولیسم ماکرومولکول‌های سلولی مختلف مانند پروتئین و کربوهیدرات‌ها بوده (Kozarski et al., 2015) و نقش مهمی در بیوسنتز کربوهیدرات‌ها دارد (Soliman et al., 2015). در مطالعه‌ای، اثر ZnONPs در تنباکو مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که میزان کربوهیدرات کل در نمونه‌های تیمار شده نسبت به نمونه‌های شاهد افزایش یافت (Poyedinok et al., 2020). در مطالعه دیگری، اثر نانو اکسید روی و اکسید روی معمولی بر بذر کتان (*Linum usitatissimum*) بررسی شد و نتایج آماری نشان داد که غلظت‌های مختلف تیمارهای فوق میزان کربوهیدرات کل را افزایش داد (Sadak & Bakry, 2020). این یافته‌ها، نتایج مطالعه حاضر را تأیید می‌کنند.

**اسید آسکوربیک:** نتایج نشان داد که میزان اسید آسکوربیک قارچ گانودرما لوسیدوم در پاسخ به غلظت‌های مختلف ZnONP و ZnO به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. اما شکل نانو ذره روی بر میزان

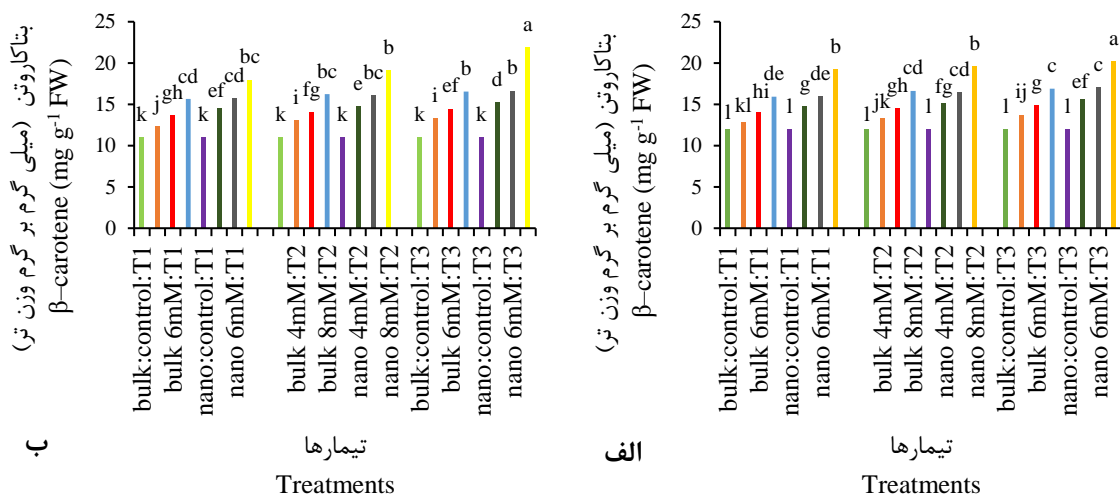


شکل ۷- اثر ZnO و ZnONPs بر اسید آسکوربیک (ASA) دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* (الف: G101 و ب: G116) در روزهای T<sub>1</sub>: چهارم، T<sub>2</sub>: ششم و T<sub>3</sub>: هشتم

Figure 7- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on ascorbic acid (ASA) of two strains (a: G101 and b: G116) of *Ganoderma lucidum* on days T<sub>1</sub>: 4<sup>th</sup>, T<sub>2</sub>:6<sup>th</sup> and T<sub>3</sub>: 8<sup>th</sup>

تیمار ۸ میلی مولار ZnONP در روز هشتم مشاهده شد (شکل ۸ و ۹). در هر دو سویه، میزان بتا کاروتن یک افزایش ۱/۸ برابری را نسبت به شاهد نشان دادند در حالی که در ارتباط با لیکوپن، افزایش ۱/۶ برابری در سویه G101 و ۱/۲ برابری در سویه G116 به ثبت رسید.

بتا کاروتن و لیکوپن: نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که بین تیمارها از نظر میزان بتا کاروتن و لیکوپن تفاوت معنی داری وجود دارد (شکل ۸ و ۹)، به طوری که با افزایش غلظت و طول دوره کشت میزان بتا کاروتن و لیکوپن افزایش یافت و بیشترین مقادیر در پاسخ به

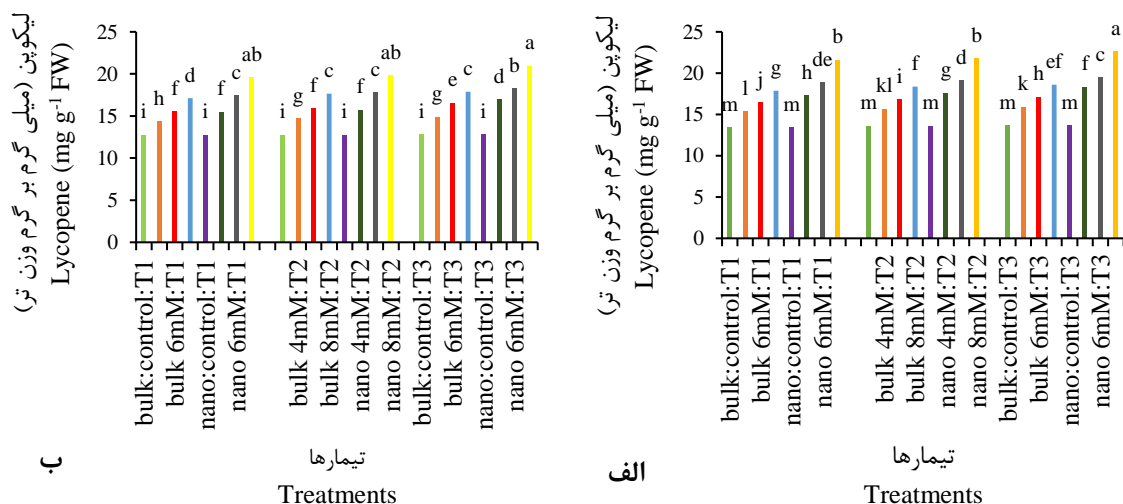


شکل ۸- اثر ZnO و ZnONPs بر بتا کاروتن دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* (الف: G101 و ب: G116) در روزهای T<sub>1</sub>: چهارم، T<sub>2</sub>: ششم و T<sub>3</sub>: هشتم

Figure 8- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on β-carotene of two strains (a: G101 and b: G116) of *Ganoderma lucidum* on days T<sub>1</sub>: 4<sup>th</sup>, T<sub>2</sub>:6<sup>th</sup> and T<sub>3</sub>: 8<sup>th</sup>

و آنتی‌اکسیدانی در برابر تنش اکسیداتیو موجودات زنده دارد (Abdel-Daim *et al.*, 2018). در مطالعه روی گوجه‌فرنگی، نتایج نشان داد که میزان لیکوپن گیاهان تیمار شده با ZnONPs نسبت به شاهد در تمام غلظت‌ها به جز در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم افزایش یافت (Raliya *et al.*, 2015). برخی از مطالعات نشان داده‌اند که میزان لیکوپن و بتاکاروتن در میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های پایین ZnONPs افزایش می‌یابد، اما با افزایش غلظت، سطح آن‌ها کاهش می‌یابد (Faizan *et al.*, 2021). بنابراین این یافته‌ها، نتایج تحقیق حاضر را تأیید می‌کند. این کاهش ممکن است به دلیل کاهش توانایی سلول در از بین بردن رادیکال‌های آزاد باشد. در نتیجه، به دلیل رادیکال‌های آزاد خنثی شده، متابولیسم سلولی و همچنین مسیرهای سنتز آنتی‌اکسیدان آسیب دیده و قادر به تولید آنتی‌اکسیدان ZnONPs در محیط آبی به صورت یون  $Zn^{2+}$  نیستند. درمی‌آید و از طریق انتشار در سطح بافت‌ها تجمع یافته و در واکنش‌های سلولی اختلال ایجاد کرده و باعث ایجاد سمیت می‌شود (Abdel-Daim *et al.*, 2019).

رنگدانه‌های کاروتنوئیدی از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی ضروری در قارچ‌ها هستند (Gessler *et al.*, 2002) و از آن‌ها در برابر تنش‌های محیطی محافظت می‌کنند (Sanchez, 2017). بتاکاروتن‌ها پیش‌ساز سنتز ویتامین A هستند (Juma *et al.*, 2016). در مطالعه‌ای، Hussein و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که سطوح بتاکاروتن و لیکوپن در قارچ *Lentinus squarrolousus* نسبت به سبزی‌هایی مانند هویج (*Daucus carota*)، خرمالو (*Popova* و Tran *kaki*) و گوجه‌فرنگی بالاتر بود. (۲۰۱۳) نیز گزارش کردند که میزان کاروتنوئیدها پس از تیمار با نانوذرات اکسید روی افزایش یافت و به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها، میزان رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش نانوذرات روی کاهش نشان داد. در مطالعه دیگری، Vorst و همکاران (۱۹۹۴) گزارش دادند که میزان بتاکاروتن در جلبک *Dunaliella* تحت تیمار مس، افزایش یافت و از طرفی در غلظت‌های بالاتر آهن کاهش میزان بتاکاروتن سلولی مشاهده شد. لیکوپن یکی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و نقش محافظتی



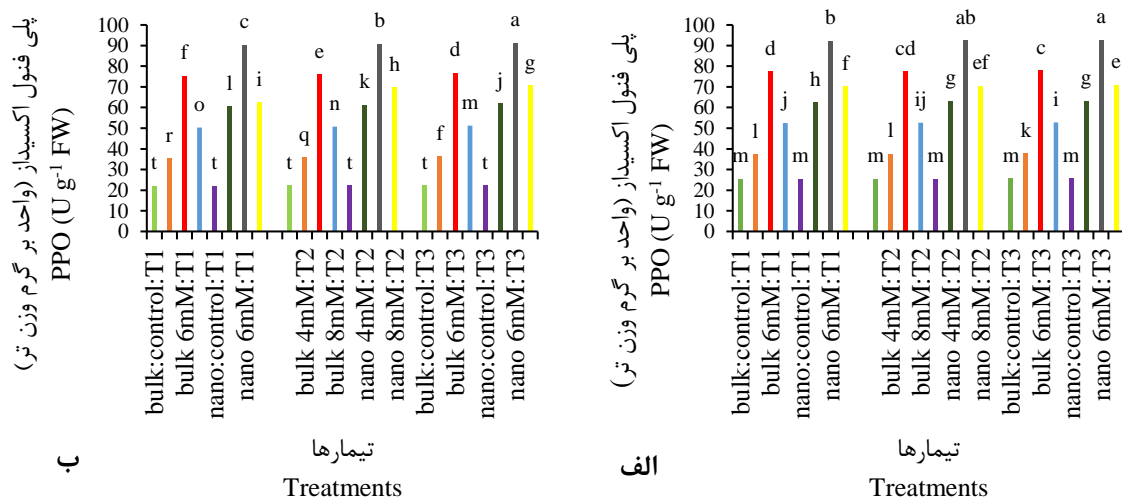
شکل ۹- اثر ZnO و ZnONPs بر لیکوپن دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* (الف: G101 و ب: G116) در روزهای T<sub>1</sub>: چهارم، T<sub>2</sub>: ششم و T<sub>3</sub>: هشتم

Figure 9- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on lycopene of two strains (a: G101 and b: G116) of *Ganoderma lucidum* on days T<sub>1</sub>: 4<sup>th</sup>, T<sub>2</sub>: 6<sup>th</sup> and T<sub>3</sub>: 8<sup>th</sup>

یافت، در حالی که میزان افزایش نسبت به تیمار ۶ ملی-مولار ZnO در روز هشتم فقط ۱۹ درصد بود. نانوذرات فیزیولوژی گیاهان را از طریق تأثیر بر میزان گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین متابولیسم ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تغییر داده و فرآیندهای فیزیولوژیکی آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Torabi *et al.*, 2023). تنش‌های غیرزیستی مانند فلزات سنگین باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد مانند  $O_2^{\cdot-}$ ،  $O_2$ ،  $OH^{\cdot}$  و  $H_2O_2$  و در نتیجه بروز تنش اکسیداتیو می‌شوند. عدم تعادل این مولکول‌ها در سلول منجر به تغییر در متابولیسم می‌شود. برای رفع این مشکل، سلول از مولکول‌های آنتی‌اکسیدان برای کاهش اثرات تنش اکسیداتیو استفاده می‌کند (Zoufan *et al.*, 2020). در این میان، آنزیم‌هایی مانند PPO، APX، GPX و GR به‌عنوان ترکیبات بسیار مفید سیستم دفاعی شناخته شده‌اند که آنزیم‌های APX و GPX در تجزیه  $H_2O_2$  به  $H_2O$  و  $O_2$  نقش دارند (Shen *et al.*, 2010). APX یک آنزیم اصلی در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون است که سطوح گونه‌های فعال اکسیژن را به‌واسطه واکنش‌های ردوکس کنترل می‌کند (Rico *et al.*, 2013).

### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج آماری نشان داد که غلظت ZnO و ZnONPs و طول دوره کشت تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه شامل PPO، APX، GPX و GR در مقایسه با تیمار شاهد داشت (شکل ۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۳). در این مطالعه، فعالیت آنزیمی با افزایش غلظت تا ۶ میلی‌مولار به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، اما با افزایش غلظت به ۸ میلی‌مولار، فعالیت آنزیم‌ها کاهش یافت. در هر دو سویه، بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در پاسخ به غلظت ۶ میلی‌مولار ZnONPs در روز هشتم مشاهده شد (شکل ۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۳)، به‌طوری که فعالیت APX در سویه GI01، ۳/۵ برابر و در سویه GI16، ۲/۹ برابر نسبت تیمار شاهد افزایش یافت. در همین زمان، فعالیت GPX در هر دو سویه یک افزایش حدود ۲/۷ برابری را تجربه کرد، در حالی که میزان افزایش در فعالیت آنزیم GR برای سویه‌های GI01 و GI16 به ترتیب ۳/۸ و ۳/۲ برابر در مقایسه با نمونه‌های شاهد بود. میزان فعالیت PPO در تیمار ۶ میلی‌مولار ZnONPs در روز هشتم نیز ۴/۱ برابر در سویه GI01 و ۳/۶ برابر در سویه GI16 در مقایسه با شاهد افزایش



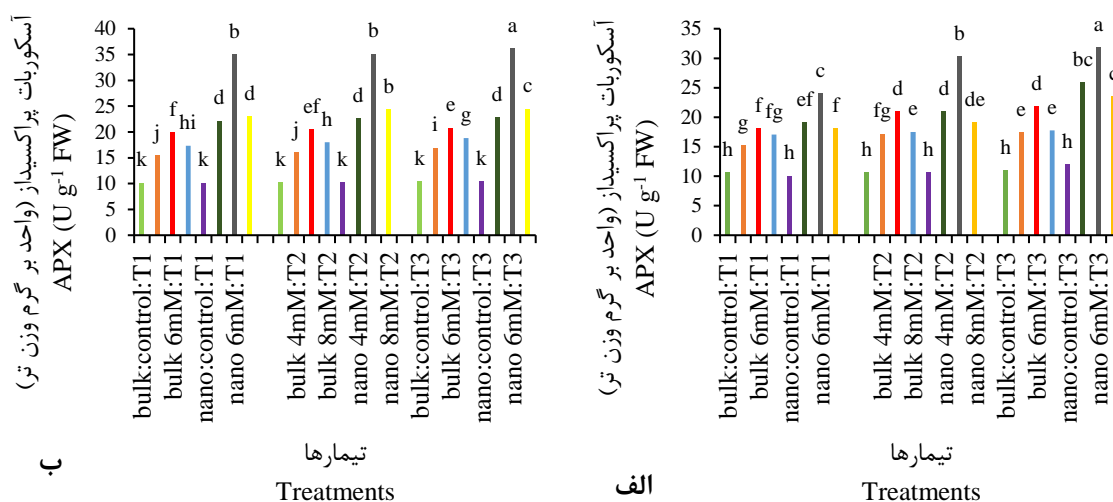
شکل ۱۰- اثر ZnO و ZnONPs بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (PPO) دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma*

*lucidum* (الف: GI01 و ب: GI16) در روزهای T1: چهارم، T2: ششم و T3: هشتم

Figure 10- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on activity of polyphenol oxidase enzyme (PPO) of two strains (a: GI01 and b: GI16) of *Ganoderma lucidum* on days T1: 4<sup>th</sup>, T2: 6<sup>th</sup> and T3: 8<sup>th</sup>

گردید. در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که در گیاه توتون (*Nicotiana tabacum L.*) تیمار شده با ZnONPs فعالیت آنزیم‌های GPX و PPO در مقایسه با نمونه-های شاهد افزایش یافت (Tirani *et al.*, 2019). آنزیم GPX یکی از آنزیم‌های موجود در سیستم آنتی-اکسیدانی است که حالت احیاءکننده GSH را از طریق چرخه آسکوربات-گلوتاتیون حفظ می‌کند.

در یک مطالعه گزارش شد که گیاه گوجه‌فرنگی تیمار شده با ZnONPs، از سطوح APX بالاتری نسبت به نمونه‌های شاهد برخوردار بود، ولی در غلظت‌های بالای نانوذرات، سطح  $H_2O_2$  افزایش و فعالیت آنزیم APX کاهش یافت (Akanbi-Gada *et al.*, 2019). Zoufan و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که تیمار روی در گیاهچه‌های *Chenopodium murale* باعث افزایش فعالیت آنزیم GPX و کاهش میزان  $H_2O_2$

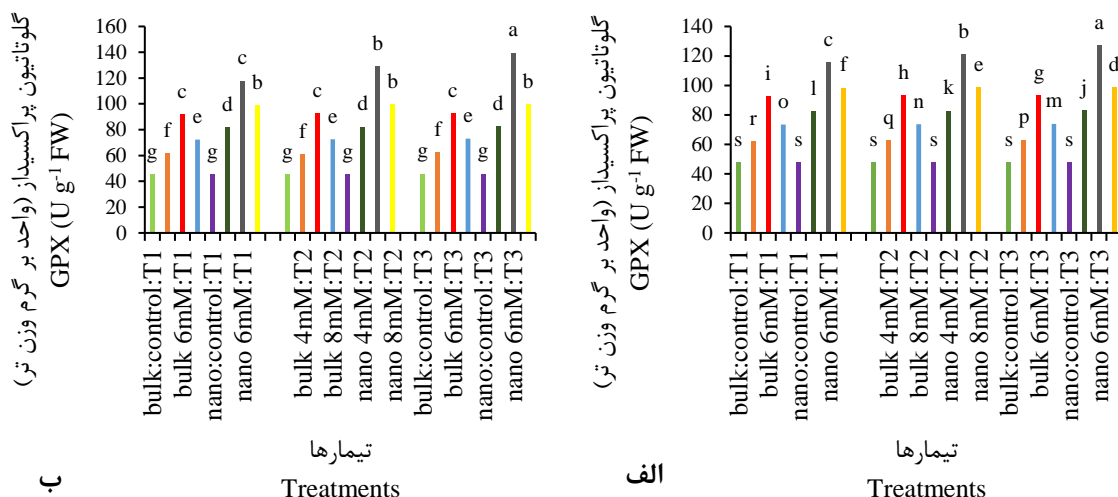


شکل ۱۱- اثر ZnO و ZnONPs بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* (الف: G101 و ب: G116) در روزهای T<sub>1</sub>: چهارم، T<sub>2</sub>: ششم و T<sub>3</sub>: هشتم

Figure 11- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on activity of ascorbate peroxidase enzyme (APX) of two strains (a: G101 and b: G116) of *Ganoderma lucidum* on days T<sub>1</sub>: 4<sup>th</sup>, T<sub>2</sub>: 6<sup>th</sup> and T<sub>3</sub>: 8<sup>th</sup>

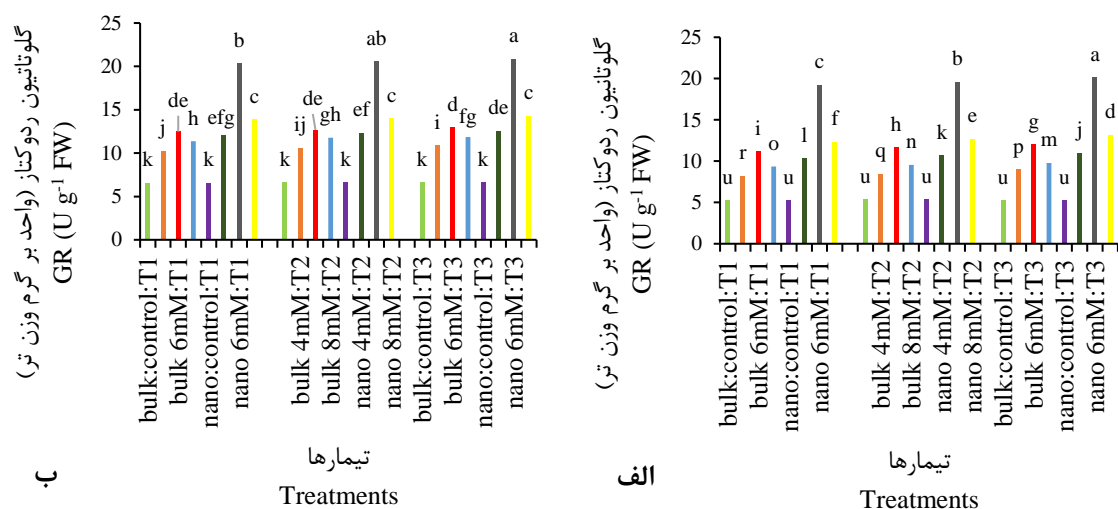
*et al.*, 2019; Tirani *et al.*, 2019; Zoufan *et al.*, 2020) و از سوی دیگر، آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد را کاهش خواهد داد، اما غلظت بالای آن‌ها باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد (Singh *et al.*, 2018)، که نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های این پژوهش‌ها همخوانی دارد.

علاوه بر این، GR ذخیره گلوتاتیون درون سلولی را حفظ می‌کند و در نهایت با رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل واکنش می‌دهد تا آن‌ها را از بین ببرد (Yousuf *et al.*, 2012). در مجموع، نتایج به‌دست آمده از مطالعات مختلف نشان داد که تیمار با غلظت‌های پایین ZnO و ZnONPs از یک سو باعث افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده (Akanbi-Gada



شکل ۱۲- اثر ZnO و ZnONPs بر فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز (GPX) دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* (الف: G101 و ب: G116) در روزهای T<sub>1</sub>: چهارم، T<sub>2</sub>: ششم و T<sub>3</sub>: هشتم

Figure 12- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on activity of glutathione peroxidase enzyme (GPX) of two strains (a: G101 and b: G116) of *Ganoderma lucidum* on days T<sub>1</sub>: 4<sup>th</sup>, T<sub>2</sub>:6<sup>th</sup> and T<sub>3</sub>: 8<sup>th</sup>



شکل ۱۳- اثر ZnO و ZnONPs بر فعالیت آنزیم گلوکوتایون ردوکتاز (GR) دو سویه وحشی قارچ *Ganoderma lucidum* (الف: G101 و ب: G116) در روزهای T<sub>1</sub>: چهارم، T<sub>2</sub>: ششم و T<sub>3</sub>: هشتم

Figure 13- The effect of bulk ZnO and ZnONPs on activity of glutathione reductase enzyme (GR) of two strains (a: G101 and b: G116) of *Ganoderma lucidum* on days T<sub>1</sub>: 4<sup>th</sup>, T<sub>2</sub>:6<sup>th</sup> and T<sub>3</sub>: 8<sup>th</sup>

این موضوع خود باعث تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی در میسلیوم‌ها در مقایسه با شاهد شد. در بین تیمارها، ZnONPs تأثیر بیشتری بر خواص آنتی-اکسیدانی میسلیوم‌ها نسبت به ZnO معمولی داشت، همچنین هر دو تیمار تأثیر بیشتری بر سویه G116 نسبت به G101 نشان دادند.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ZnO و ZnONPs میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند PPO، GPX، APX و GR و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند فنول کل، فلاونوئیدها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، میزان کربوهیدرات کل و اسید آسکوربیک را در میسلیوم هر دو سویه قارچ گانودرما افزایش دادند، که

## سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه محقق اردبیلی (شماره گرنت: ۱۰۲۶۹-۵۱) برای حمایت مالی از این اثر تشکر می‌کنند.

## References

- Abdel-Daim, M. M., & Abdeen, A. (2018). Protective effects of rosuvastatin and vitamin E against fipronil-mediated oxidative damage and apoptosis in rat liver and kidney. *Food and chemical toxicology*, 114, 69-77.
- Abdel-Daim, M. M., Eissa, I. A., Abdeen, A., Abdel-Latif, H. M., Ismail, M., Dawood, M. A., & Hassan, A. M. (2019). Lycopene and resveratrol ameliorate zinc oxide nanoparticles-induced oxidative stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 69, 44-50.
- Abe, N., Murata, T., & Hirota, A. (1998). Novel DPPH radical scavengers, bisorbicillinol and demethyltrichodimerol, from a fungus. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 62(4), 661-666.
- Ahmad, M. F. (2018). *Ganoderma lucidum*: Persuasive biologically active constituents and their health endorsement. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 107, 507-519.
- Akanbi-Gada, M. A., Ogunkunle, C. O., Vishwakarma, V., Viswanathan, K., & Fatoba, P. O. (2019). Phytotoxicity of nano-zinc oxide to tomato plant (*Solanum lycopersicum* L.): Zn uptake, stress enzymes response and influence on non-enzymatic antioxidants in fruits. *Environmental Technology and Innovation*, 14, 100325.
- Ali, M. A., Mosa, K. A., El-Keblawy, A., & Alawadhi, H. (2019). Exogenous production of silver nanoparticles by *Tephrosia apollinea* living plants under drought stress and their antimicrobial activities. *Nanomaterials*, 9(12), 1716.
- An, J., Zhang, M., Wang, S., & Tang, J. (2008). Physical, chemical and microbiological changes in stored green asparagus spears as affected by coating of silver nanoparticles-PVP. *LWT-Food Science and Technology*, 41(6), 1100-1107.
- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373-399.
- Arvanag, F.M., Bayrami, A., Habibi-Yangjeh, A., & Pouran, S.R. (2019). A comprehensive study on antidiabetic and antibacterial activities of ZnO nanoparticles biosynthesized using *Silybum marianum* L. seed extract. *Materials Science and Engineering: C*, 97, 397-405. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.058>.
- Asada, K. (1992). Ascorbate peroxidase—a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum*, 85(2), 235-241.
- Aygun, A., Ozdemir, S., Gülcan, M., Cellat, K., & Şen, F. (2020). Synthesis and characterization of Reishi mushroom-mediated green synthesis of silver nanoparticles for the biochemical applications. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 178, 112970.
- Barros, L., Ferreira, M. J., Queiros, B., Ferreira, I. C., & Baptista, P. (2007). Total phenols, ascorbic acid,  $\beta$ -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms

- and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 103(2), 413-419.
- Bhumi, G., Ratna, N., & Savithramma, N. (2014). Screening of zinc oxide nanoparticles for cell proliferation synthesized. *International Journal of Drug Development and Research*, 6, 0975-9344.
  - Chang, Y. N., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., & Xing, G. (2012). The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials*, 5(12), 2850-2871.
  - Dong, Q., Li, Y., Liu, G., Zhang, Z., Zhou, H., & Yang, H. (2019). High oxygen treatments enhance the contents of phenolic compound and ganoderic acid, and the antioxidant and DNA damage protective activities of *Ganoderma lingzhi* fruiting body. *Frontiers in microbiology*, 2363.
  - Doroteo, V. H., Díaz, C., Terry, C., & Rojas, R. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activity in vitro of 6 Peruvian plants. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 79, 13-20.
  - Faizan, M., Faraz, A., Hayat, S., Bhat, J. A., & Yu, F. (2021). Zinc oxide nanoparticles and epibrassinolide enhanced growth of tomato via modulating antioxidant activity and photosynthetic performance. *Biocell*, 45(4), 1081.
  - Faizan, M., Hayat, S., & Pichtel, J. (2020). Effects of zinc oxide nanoparticles on crop plants: A perspective analysis. In *Sustainable Agriculture Reviews*, 41 (pp. 83-99). Springer, Cham.
  - Fakhari, S., Jamzad, M., & Kabiri Fard, H. (2019). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison. *Green chemistry letters and reviews*, 12(1), 19-24.
  - Ferreira, I.C.F.R., Vaz, J.A., Vasconcelos, M.H., & Martins, A. (2010). Compounds from wild mushrooms with antitumor potential. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 10 (5), 424-436.
  - Foyer, C. H., & Halliwell, B. (1976). The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133(1), 21-25.
  - Garcia-Lopez, J. I., Niño-Medina, G., Olivares-Sáenz, E., Lira-Saldivar, R. H., Barriga-Castro, E. D., Vázquez-Alvarado, R., Rodríguez-Salinas, P.A., & Zavala-García, F. (2019). Foliar application of zinc oxide nanoparticles and zinc sulfate boosts the content of bioactive compounds in habanero peppers. *Plants*, 8(8), 254.
  - Gasecka, M., Mleczek, M., Siwulski, M., & Niedzielski, P. (2016). Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. *European Food Research and Technology*, 242(5), 723-732
  - Gessler, N. N., Sokolov, A. V., Bykhovsky, V. Y., & Belozerskaya, T. A. (2002). Superoxide dismutase and catalase activities in carotenoid-synthesizing fungi *Blakeslea trispora* and *Neurospora crassa* fungi in oxidative stress. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 38(3), 205-209.
  - He, L., Liu, Y., Mustapha, A., & Lin, M. (2011). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological research*, 166(3), 207-215.
  - Hosseini, M. A., Naghshiband Hassani, R., & Zaree Nahandi, F. (2023). Effect of foliar application of salicylic acid on the chilling injury of cucumber fruit during the storage. *Journal of Vegetables Sciences*, 12(2), 17-28. (In Farsi)

- Hussein, J. M., Tibuhwa, D. D., Mshandete, A. M., & Kivaisi, A. K. (2015). Antioxidant properties of seven wild edible mushrooms from Tanzania. *African journal of food Science*, 9(9), 471-479.
- Juma, I., Mshandete, A. M., Tibuhwa, D. D., & Kivaisi, A. (2016). Assessment of antioxidant potentials of the wild and domesticated saprophytic edible mushrooms from Tanzania. *Current Research in Environmental and Applied Mycology*, 6(2016), 1-10.
- Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrović, P., & Van Griensven, L. (2015). Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules*, 20(10), 19489-19525.
- Krol, A., Pomastowski, P., Rafińska, K., Railean-Plugaru, V., & Buszewski, B. (2017). Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. *Advances in colloid and interface science*, 249, 37-52.
- Kumari, M., Khan, S. S., Pakrashi, S., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2011). Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*. *Journal of hazardous materials*, 190(1-3), 613-621.
- Luh, B. S., & Phithakpol, B. (1972). Characteristics of polyphenoloxidase related to browning in cling peaches. *Journal of food science*, 37(2), 264-268.
- Mahdizadeh, R., Homayouni-Tabrizi, M., Neamati, A., Seyedi, S. M. R., & Tavakkol Afshari, H. S. (2019). Green synthesized-zinc oxide nanoparticles, the strong apoptosis inducer as an exclusive antitumor agent in murine breast tumor model and human breast cancer cell lines (MCF7). *Journal of cellular biochemistry*, 120(10), 17984-17993.
- Marslin, G., Siram, K., Maqbool, Q., Selvakesavan, R. K., Kruszka, D., Kachlicki, P., & Franklin, G. (2018). Secondary metabolites in the green synthesis of metallic nanoparticles. *Materials*, 11(6), 940.
- McCready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V., & Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical chemistry*, 22(9), 1156-1158.
- Moore, M. N. (2006). Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environment international*, 32(8), 967-976.
- Matute, R.G., Serra, A., Figlas, D., & Curvetto, N. (2011). Copper and zinc bioaccumulation and bioavailability of *Ganoderma lucidum*. *Journal of Medicinal Food*, 14(10), 1273-1279.
- Nagata, M., & Yamashita, I. (1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 39(10), 925-928.
- Ogunyemi, S.O., Abdallah, Y., Zhang, M., Fouad, H., Hong, X., Ibrahim, E., Masum, M.M.I., Hossain, A., Mo, J. & Li, B. (2019). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using different plant extracts and their antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 341-352.
- Paglia, D. E., & Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 70(1), 158-169.
- Poyedinok, N., Mykhaylova, O., Sergiichuk, N., Tugay, T., Tugay, A., Lopatko, S., & Matvieieva, N. (2020). Effect of colloidal metal

- nanoparticles on biomass, polysaccharides, flavonoids, and melanin accumulation in medicinal mushroom *Inonotus obliquus* (Ach: Pers.) Pilát. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 191(3), 1315-1325.
- Poynton, H. C., Lazorchak, J. M., Impellitteri, C. A., Smith, M. E., Rogers, K., Patra, M., & Vulpe, C. D. (2011). Differential gene expression in *Daphnia magna* suggests distinct modes of action and bioavailability for ZnO nanoparticles and Zn ions. *Environmental science and technology*, 45(2), 762-768.
  - Qu, T., Li, B., Huang, X., Li, X., Ding, Y., Chen, J., & Tang, X. (2020). Effect of peppermint oil on the storage quality of white button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Food and Bioprocess Technology*, 13(3), 404-418.
  - Raliya, R., Nair, R., Chavalmane, S., Wang, W. N., & Biswas, P. (2015). Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plant. *Metallomics*, 7(12), 1584-1594.
  - Rao, Y.S., Kotakadi, V.S., Prasad, T.N.V.K.V., Reddy, A.V. & Gopal, D.S. (2013). Green synthesis and spectral characterization of silver nanoparticles from Lakshmi tulasi (*Ocimum sanctum*) leaf extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 103, 156-159.
  - Read, T. L., Doolette, C. L., Cresswell, T., Howell, N. R., Aughterson, R., Karatchevtseva, I., & Lombi, E. (2019). Investigating the foliar uptake of zinc from conventional and nano-formulations: a methodological study. *Environmental Chemistry*, 16(6), 459-469.
  - Rico, C. M., Hong, J., Morales, M. I., Zhao, L., Barrios, A. C., Zhang, J. Y., & Gardea-Torresdey, J. L. (2013). Effect of cerium oxide nanoparticles on rice: a study involving the antioxidant defense system and in vivo fluorescence imaging. *Environmental science and technology*, 47(11), 5635-5642.
  - Sadak, M. S., & Bakry, B. A. (2020). Zinc-oxide and nano ZnO oxide effects on growth, some biochemical aspects, yield quantity, and quality of flax (*Linum uitatissimum* L.) in absence and presence of compost under sandy soil. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1), 1-12.
  - Sajadi, S.M., Nasrollahzadeh, M., & Maham, M. (2016). Aqueous extract from seeds of *Silybum marianum* L. as a green material for preparation of the Cu/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles: a magnetically recoverable and reusable catalyst for the reduction of nitroarenes. *Journal of colloid and interface science*, 469, 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.02.009>.
  - Sanchez, C. (2017). Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synthetic and systems biotechnology*, 2(1), 13-22.
  - Sharmila, G., Thirumarimurugan, M., & Muthukumaran, C. (2019). Green synthesis of ZnO nanoparticles using *Tecoma castanifolia* leaf extract: characterization and evaluation of its antioxidant, bactericidal and anticancer activities. *Microchemical Journal*, 145, 578-587.
  - Shen, C. X., Zhang, Q. F., Li, J., Bi, F. C., & Yao, N. (2010). Induction of programmed cell death in *Arabidopsis* and rice by single-wall carbon nanotubes. *American Journal of Botany*, 97(10), 1602-1609.
  - Singh, J., Dutta, T., Kim, K.H., Rawat, M., Samddar, P. & Kumar, P.

- (2018). Green synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 1-24.
- Soliman, A. S., El-feky, S. A., & Darwish, E. (2015). Alleviation of salt stress on *Moringa peregrina* using foliar application of nanofertilizers. *Journal of Horticulture and Forestry*, 7(2), 36-47.
  - Song, C. Z., Liu, M. Y., Meng, J. F., Chi, M., Xi, Z. M., & Zhang, Z. W. (2015). Promoting effect of foliage sprayed zinc sulfate on accumulation of sugar and phenolics in berries of *Vitis vinifera* cv. Merlot growing on zinc deficient soil. *Molecules*, 20(2), 2536-2554.
  - Stoimenov, P. K., Klinger, R. L., Marchin, G. L., & Klabunde, K. J. (2002). Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir*, 18(17), 6679-6686.
  - Su, Z., Hu, M., Gao, Z., Li, M., Yun, Z., Pan, Y., & Jiang, Y. (2019). Apple polyphenols delay senescence and maintain edible quality in litchi fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 157, 110976.
  - Sullivan, R., Smith, J. E., & Rowan, N. J. (2006). Medicinal mushrooms and cancer therapy: translating a traditional practice into Western medicine. *Perspectives in biology and medicine*, 49(2), 159-170.
  - Taranto, F., Pasqualone, A., Mangini, G., Tripodi, P., Miazzi, M. M., Pavan, S., & Montemurro, C. (2017). Polyphenol oxidases in crops: biochemical, physiological and genetic aspects. *International journal of molecular sciences*, 18(2), 377.
  - Tirani, M. M., Haghjou, M. M., & Ismaili, A. (2019). Hydroponic grown tobacco plants respond to zinc oxide nanoparticles and bulk exposures by morphological, physiological and anatomical adjustments. *Functional Plant Biology*, 46(4), 360-375.
  - Torabi Giglou, M., Heydarnajad Giglou, R., Azarmi, R., Salimi, Gh., Maleki Lajaye, H., Mokhtari, A.H., & Bagherian, M. (2023). Effects of kitoplus and chitosan coated iron nano-oxide on morpho-physiological properties of peppermint under drought stress. *Journal of Vegetables Sciences*, 12(2), 135-146. (In Farsi)
  - Tran, T. A., & Popova, L. P. (2013). Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish journal of Botany*, 37(1), 1-13.
  - Vamanu, E. (2014). Antioxidant properties of mushroom mycelia obtained by batch cultivation and tocopherol content affected by extraction procedures. *BioMed research international*, 2014.
  - Velsankar, K., Sudhakar, S., Parvathy, G., & Kaliammal, R. (2020). Effect of cytotoxicity and antibacterial activity of biosynthesis of ZnO hexagonal shaped nanoparticles by *Echinochloa frumentacea* grains extract as a reducing agent. *Materials Chemistry and Physics*, 239, 121976.
  - Vimala, K., Sundarraj, S., Paulpandi, M., Vengatesan, S. & Kannan, S. (2014). Green synthesized doxorubicin loaded zinc oxide nanoparticles regulates the Bax and Bcl-2 expression in breast and colon carcinoma. *Process biochemistry*, 49(1), 160-172.
  - Vorst, P., Baard, R. L., Mur, L. R., Korthals, H. J., & van den Ende, H. (1994). Effect of growth arrest on carotene accumulation and photosynthesis in *Dunaliella*. *Microbiology*, 140(6), 1411-1417.
  - Xia, T., Kovochich, M., Liong, M., Madler, L., Gilbert, B., Shi, H., &

- Nel, A. E. (2008). Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. *ACS nano*, 2(10), 2121-2134.
- Yousuf, P. Y., Hakeem, K. U. R., Chandna, R., & Ahmad, P. (2012). Role of glutathione reductase in plant abiotic stress. In *Abiotic stress responses in plants* (pp. 149-158). Springer, New York, NY.
  - Yusof, H. M., Mohamad, R. & Zaidan, U. H. (2020). Sustainable microbial cell nanofactory for zinc oxide nanoparticles production by zinc-tolerant probiotic *Lactobacillus plantarum* strain TA4. *Microbial cell factories*, 19(1), 1-17.
  - Zare, M., Namratha, K., Byrappa, K., Surendra, D. M., Yallappa, S., & Hungund, B. (2018). Surfactant assisted solvothermal synthesis of ZnO nanoparticles and study of their antimicrobial and antioxidant properties. *Journal of materials science and technology*, 34(6), 1035-1043.
  - Zhao, L., Lu, L., Wang, A., Zhang, H., Huang, M., Wu, H. & Ji, R. (2020). Nano-biotechnology in agriculture: use of nanomaterials to promote plant growth and stress tolerance. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(7), 1935-1947.
  - Zoufan, P., Baroonian, M., & Zargar, B. (2020). ZnO nanoparticles-induced oxidative stress in *Chenopodium murale* L, Zn uptake, and accumulation under hydroponic culture. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(10), 11066-11078.