



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "حفاظت زیست بوم گیاهان"

دوره سوم، شماره ششم، بهار و تابستان ۹۴

<http://pec.gonbad.ac.ir>

اثر محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر تعدیل اثرات مخرب خشکی در گیاه گلابی وحشی (*Pyrus biosseriana buhse.*)

*مهرداد زرافشار^۱، مسلم اکبری نیا^۲، حسین عسکری^۳، سیده محسن حسینی^۴، مهدی رهایی^۵
^۱دانش آموخته، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، آدانشیار، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، آستادیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده مهندسی انرژی و فناوری های نوین، دانشگاه شهید بهشتی، آستاد، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، آستادیار، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران
 تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۱۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۸/۲۴

چکیده

در این تحقیق از پتانسیل نانوذرات دی اکسید تیتانیوم برای تعدیل اثرات مخرب تنش خشکی در نهال های گلابی وحشی استفاده شد. تیمارهای اعمال شده شامل اسپری کردن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با غلظت های ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون بعد از آخرین آبیاری بر برگ های نهال بود. تیمارها در قالب طرح کاملا تصادفی با شش تکرار اجرا شد. تخصیص بیوماس، رشد، تغییرات فیزیولوژیک-بیوشیمیایی و مطالعات میکروسکوپی یک به عنوان شاخص قابل اندازه گیری مد نظر قرار گرفت. آنالیز تکرار در زمان و ارزیابی روند تغییرات نشان داد که فعالیت فتوسنتزی نهال ها تحت تاثیر اثرات منفی خشکی قرار گرفته است. تجزیه واریانس یکطرفه نشان داد که از نظر بیوماس ریشه و ساقه و همچنین رشد ارتفاعی و طول ریشه بین تیمارها اختلاف قابل توجهی در سطح ۵ درصد وجود دارد و در این بین اثرات مثبت اسپری کردن نانوذرات در مقایسه با نهال های تحت خشکی که اسپری نشده اند مشهود است. در مقایسه با نهال های شاهد، پتانسیل آبی در نهال های تحت خشکی بیش از سه برابر کاهش یافت. در حالی که این وضعیت با اعمال نانوذرات دی اکسید تیتانیوم تعدیل شده است. بعد از اسپری کردن نانوذرات، محتوای نسبی رطوبت حدود ۱۰۰ درصد در مقایسه با نهال های تحت خشکی افزایش داشت. افزایش چشمگیر نشت الکتروولیت نیز در نهال های تحت خشکی ثبت شد. اگرچه میزان پرولین برگ در نهال های تحت خشکی حدود ۲۰ درصد افزایش داشته، با اعمال نانوذرات تغییر فزاینده مشاهده نشد. تمامی تیمارها باعث افزایش آنزیم پراکسیداز شد که بیشترین مقدار در تیمار ۱۰۰

*نویسنده مسئول: mehrdadzarafshar@gmail.com

قسمت در میلیون مشاهده شد. آنزیم کاتالاز افزایش چشمگیری در نهال‌های تحت خشکی داشت و از سوی دیگر اسپری نانوذرات سبب افزایش این آنزیم نشد.

واژه‌های کلیدی: گلابی، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، اسپری کردن، بیوماس، تغییرات فیزیولوژیک-بیوشیمیایی.

مقدمه

نانوتکنولوژی یکی از پیشرفت‌های بسیار بدیع و نوظهوری است که با استفاده از نانوذرات که تغییرات فیزیکی و شیمیایی اساسی در آنها ایجاد شده، جایگاه برجسته‌ای در علوم مختلف از جمله علوم گیاهی و کشاورزی پیدا کرده است (Lyons & Scrinis, 2007). با وجود این، تاکنون اثرات مثبت یا منفی نانوذرات بر اکوسیستم‌های خاکی، هوایی و آبی تایید نشده است (USEPA, 2007). برخی از تحقیقات بر سنتز نانوذرات فلزی از گیاهان متمرکز شده که نشان دهنده این است گیاهان نیز می‌توانند به‌عنوان مسیرهای زیستی و سبز برای تولید نانوذرات مطرح باشند (Sharma *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2009). کنترل علف‌های هرز (Barike *et al.*, 2008)، کنترل آفات و حشرات (Rahman *et al.*, 2009)، کاهش استفاده از مواد و کودهای شیمیایی (Nair *et al.*, 2010)، افزایش قدرت جوانه زنی بذر (Khodakovskaya *et al.*, 2009) و افزایش رشد و بیوماس گیاه (Yang *et al.*, 2006) از جمله کاربردهای اساسی نانوذرات در علوم گیاهی است که البته هنوز مطالعات و اطلاعات بسیار اندکی در رابطه با اثرات مثبت و منفی نانوذرات بر گیاهان آوندی وجود دارد (Monica & Cremonini, 2009). به‌طوری‌که در پژوهش‌های پیشین نتایج ضد و نقیضی گزارش شده است. تیمارهای نانوکربن‌های چند دیواره^۱ جذب بیشتر آب توسط بذر گیاه گوجه فرنگی و در نهایت افزایش جوانه زنی را سبب شده است (Khodakovskaya *et al.*, 2009) و در مقابل نانوکربن تک دیواره عامل دار نشده (SWCNTs) باعث کاهش قابل ملاحظه ریشه گیاه گوجه فرنگی شده است (Canas *et al.*, 2008). پاسخ گیاهان به‌نانوذرات بر حسب نوع گونه، مرحله رویشی، سنی و ماهیت نانوذرات متفاوت است. لذا هنوز پرسش‌های فراوانی برای محققین بی پاسخ مانده است (Nair *et al.*, 2010). با این حال، اثرات مثبت برخی از نانوذرات از قبیل تیتانیوم در رابطه با برخی از گیاهان به‌اثبات رسیده است. اعمال نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌عنوان تیمار بر بذرهای اسفناج باعث افزایش جوانه زنی و رشد این گیاه شده است (Zheng *et al.*, 2005; Mingyu *et al.*, 2008). نانواکسید تیتانیوم قادر است با بهبود جذب نور و فعالیت آنزیم روبیسکو (Rubisco) (Mingyu *et al.*, 2008)، افزایش جذب نیترات (Yang *et al.*, 2006) و تسریع در تبدیل مواد غیرآلی به‌آلی (Nair *et al.*, 2010) باعث افزایش وزن خشک و تر گیاه شود. تاثیر مثبت نانوذرات

1. MWCNTs

دی‌اکسید تیتانیوم بر سیستم فتوسیستم II و غشای تیلاکوئیدی نیز گزارش شده است (Hang *et al.*, 2005). اگرچه تحقیقات پیشین پتانسیل نانوذرات تیتانیوم در بهبود عملکردهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاهان را تایید کرده است (Mingyu *et al.*, 2007; Berahmand *et al.*, 2012). اثر این نانوذرات در بهبود عملکرد گیاهان در شرایط استرس‌های زنده و غیرزنده کمتر مورد توجه قرار گرفته است (Mohammadi *et al.*, 2013). طبق نظر شائو و همکاران (Shao *et al.*, 2009) تنش خشکی مهمترین تنش غیر زنده^۱ است که بر رشد، توسعه و عملکرد گیاهان به شدت تاثیر مہار کننده دارد. لذا تحقیق حاضر به گونه‌ای طرح ریزی شده که اثرات نانوذرات تیتانیوم بر نهال‌های تحت تنش خشکی گونه گل‌ابی وحشی (*P. Biosseriana*) در سطوح مورفولوژی و فیزیولوژی ارزیابی شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: پژوهش حاضر بر نهال‌های دوساله گونه گل‌ابی وحشی (*Pyrus biosseriana*) از خانواده Rosaceae انجام گرفت. در همین راستا با بذرگیری از درختان مادری از جنگل‌های جوزک-درکش (بجنورد)، ۵۰ نهال در دانشکده منابع طبیعی-دانشگاه تربیت مدرس (نور، مازندران) تولید شد و در ادامه ۳۶ نهال یکسان و همگن از لحاظ قطر و ارتفاع برای اعمال تیمارها انتخاب شد. تا قبل از شروع آزمایش تمامی گلدان‌ها بر اساس محاسبه ظرفیت زراعی هر سه روز یک‌بار به میزان ۷۰۰ میلی‌لیتر آبیاری شدند. برای اعمال تنش خشکی از روش قطع آبیاری تا زمان مشاهده علائم پژمردگی برگ استفاده شد (Siemens & Zwiazek, 2003). تجربیات گذشته نگارندگان در رابطه با این گونه نشان داده بود که این ژرم پلاسما وحشی در مرحله نهال، حدود دو هفته می‌تواند بی‌آبی را تحمل کند. لذا زمان آزمایش ۱۴ روز در نظر گرفته شد.

مشخصات نانوذرات: نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2 NPs) ساخت کمپانی داگوسا^۲ به صورت سوسپانسیون مورد استفاده قرار گرفت. نانوذرات به شکل کریستالی با قطر متوسط ۲۴/۵ نانومتر و سطح ویژه $55 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ بوده است. نانوذره تیتانیوم ترکیبی از آناتاز^۳ و روتیل^۴ دارد که سهم آناتاز بیشتر است (۸۹/۲ درصد).

اعمال تیمارهای نانوذرات در نهال‌های تحت تنش خشکی: برای اعمال نانوذرات تیتانیوم از روش محلول‌پاشی بر اندام هوایی گیاه استفاده شد (Jaberzadeh *et al.*, 2010; Sorooshzadeh *et al.*, 2012). تیمارهای نانوذرات با غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون بلافاصله بعد از آخرین آبیاری

1. Abiotic stress
2. Deguusa P-25
3. Anatase
4. Rutile

(آغاز دوره تنش خشکی) و فقط یک مرتبه به صورت اسپری بر نهالها اعمال شد. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار اجرا گردید. با تیمار شاهد و تیمار تنش خشکی بدون اسپری کردن نانوذرات، شش تیمار در این تحقیق مورد توجه قرار گرفت.

پارامترهای مورد بررسی: پارامترهای نرخ فتوسنتز خالص^۱، هدایت روزنه‌ای^۲ و تعرق^۳ بر روی سه گیاه از هر تیمار با استفاده از دستگاه (ADC Bioscientific Ltd.) Lcpro+ gas exchange ساخت کشور انگلستان در روزهای سوم، دهم و چهاردهم پس از قطع آبیاری ثبت شد. در انتهای دوره آزمایش و در سرگاه (قبل طلوع آفتاب) با استفاده از دستگاه بمب فشار قابل حمل (Skye, SKPM 1400, UK)، پتانسیل آبی در آوند چوبی^۴ در سه گیاه از هر تیمار اندازه‌گیری و ثبت شد. در انتهای دوره آزمایش تمامی نهالها از خاک خارج شده و به سه قسمت برگ، ساقه و ریشه تقسیم و برای ثبت وزن خشک اندامها به آزمایشگاه منتقل شدند. تعدادی برگ با تکرار کافی برای ادامه تحقیقات با استفاده از ازت مایع به صورت جامد فریز و در دمای ۸۵- درجه سانتی‌گراد نگه داری شد. بعد از خشک کردن اندامهای گیاهی در آون با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت بیوماس خشک ریشه، ساقه و برگ نیز توزین شد. محتوای نسبی رطوبت برگ نیز طبق روش معمول اندازه‌گیری و ثبت شد (Martinez *et al.*, 2007). میزان نشت الکتروولت نیز به عنوان شاخص آسیب‌غشایی طبق روش معمول اندازه‌گیری شد (Campos Bates *et al.*, 2003). با استفاده از نمونه‌های برگ منجمد شده و طبق روش‌های متداول، میزان پرولین (Bates *et al.*, 1973) و آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز (Ebermann & Stich, 1982) نیز مورد مطالعه قرار گرفت. حضور نانوذرات در سطح اپیدرم برگ و سلول‌های روزنه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (KYKY-EM3200) ارزیابی شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی اطلاعات به دست آمده در محیط نرم‌افزار Excel سازماندهی و نمودارهای مربوطه با استفاده از این نرم‌افزار ترسیم شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS^{۱۸} انجام شد. داده‌های تبادلات گازی که در طول آزمایش و در روزهای مختلف ثبت شده بودند تحت یک آزمون تکرار در زمان^۵ بررسی شدند (Parad *et al.*, 2013). داده‌های کمی رشد، فیزیولوژی و بیوشیمیایی پس از تست

1. Net CO₂ assimilation rate
2. Stomatal conductance
3. Transpiration
4. Xylem water potential
5. Repeated measure ANOVA

نرمالیتی و همگنی با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه^۱ تجزیه و تحلیل شد. مقایسه مقادیر میانگین‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

تبادلات گازی: نتایج آزمون تکرار در زمان نشان داد که پارامترهای فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و تعرق تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده (اثر اصلی) و زمان آزمایش (اثر درونی) قرار گرفته‌اند. از طرف دیگر، اثرات متقابل این دو عامل نیز تاثیر معنی داری بر سه فاکتور یاد شده داشته است (جدول ۱). بررسی روند تغییرات در فاکتورهای فتوسنتزی در طول دوره ۱۴ روزه نیز نشان داد که با گذشت زمان و با افزایش شدت تنش بر نهال‌ها، کاهش معنی داری در سطح ۵ درصد در مقادیر فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای ثبت شده است. مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که نهال‌های تحت خشکی که با نانوذرات تیتانیوم اسپری شده‌اند در مقایسه با نهال‌های تحت خشکی و بدون اسپری کردن نانوذرات تیتانیوم کمتر تحت تاثیر خشکی قرار گرفته‌اند. تیمارهای اسپری کردن با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون در مقایسه با تیمار خشکی روند نزولی کمتری را نشان می‌دهند (شکل ۱).

مطالعات میکروسکوپی: بررسی میکروگراف‌های تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که نانوذرات تیتانیوم به‌طور تجمعی بر سطح اپیدرم برگ قرار گرفته‌اند. حضور نانوذرات بر سطح روزنه‌ها نیز کاملاً مشهود است. ابعاد ذرات تیتانیوم در مقیاس نانوذره نیز در میکروگراف‌ها به‌روشنی قابل مشاهده است (شکل ۲).

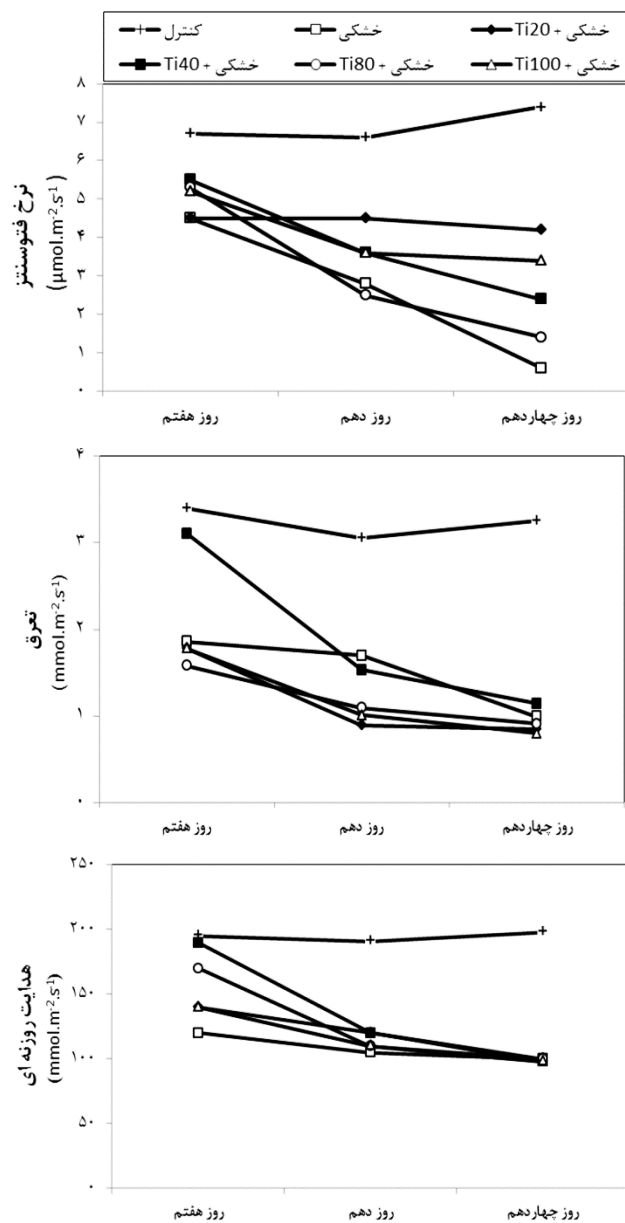
رشد و تخصیص بیوماس: نتایج تجزیه واریانس گویای آن است که رشد ارتفاعی نهال‌ها تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده، اختلاف معنی داری را در سطح پنج درصد با تیمار کنترل نشان می‌دهد. رشد ارتفاعی نهال‌های تحت خشکی بدون اعمال نانوذرات و حتی با اسپری نانوذرات تا حدود ۵۰ درصد در مقایسه با نهال‌های کنترل که رطوبت آنها در حد ظرفیت زراعی حفظ شده بود، کاهش یافت. از این لحاظ بین تیمار خشکی و تیمارهای نانوذرات اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد. از لحاظ طول ریشه، کمترین و بیشترین مقادیر به ترتیب مربوط به نهال‌های تحت تنش خشکی و تیمار نانوذرات با غلظت ۲۰ قسمت در میلیون بود (حدود ۴/۵ برابر بیشتر). بررسی تخصیص بیوماس در اندام‌های مختلف گیاه نیز نشان داد که بیوماس خشک ریشه و ساقه تحت تاثیر تیمارها اختلاف معنی داری را نشان داده و در مقابل بیوماس برگ اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهد. از لحاظ بیوماس ساقه و ریشه بین تیمار کنترل و نانوذرات با غلظت ۲۰ قسمت در میلیون اختلاف معنی دار آماری ثبت نشده است.

1. One-Way ANOVA

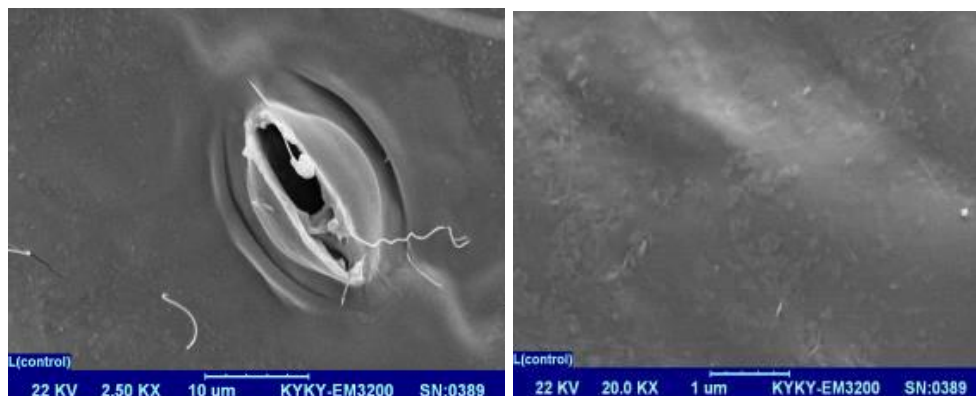
کمترین میانگین وزن خشک گیاه به نهال‌های تحت خشکی بدون اعمال نانوذرات مربوط می‌شود. به طوری که بیوماس ساقه و ریشه در مقایسه با کنترل به ترتیب دو و سه برابر کاهش یافته است (شکل ۳).

پارامترهای فیزیولوژیک: مقایسات آماری نشان داد که پتانسیل آبی گیاه تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده قرار گرفته است. طوری که کمترین میزان در نهال‌های تحت تنش خشکی ثبت شد (تا سه برابر کاهش در مقایسه با کنترل). بین تیمار کنترل و تیمار نانوذرات تیتانیوم اختلاف معنی دار مشاهده نشد. بررسی مقادیر محتوای نسبی رطوبت نیز نشان داد که اعمال نانوذرات در نهال‌های تحت خشکی به بهبود میانگین محتوای نسبی رطوبت منجر شده است. طبق انتظار، بیشترین مقدار RWC نیز در نهال‌های کنترل ثبت شد. در مقایسه با تیمار شاهد، با قطع آبیاری، محتوای نسبی رطوبت حدود ۵۰ درصد در تیمار خشکی کاهش یافت. در مقایسه با تیمار خشکی، اسپری نانوذرات حدود ۱۰۰ درصد افزایش RWC را سبب شد. همچنین با اعمال نانوذرات بر نهال‌های تحت تنش خشکی، میزان درصد نشت الکترولیت به عنوان شاخص آسیب سلولی، کاهش یافته و بیشترین میزان آن در نهال‌های تحت خشکی و بدون اسپری کردن نانوذرات ثبت شد. تنش خشکی به مدت ۱۴ روز، درصد نشت الکترولیت را در نهال‌های تحت خشکی حدود ۱/۵ برابر افزایش داد (شکل ۴).

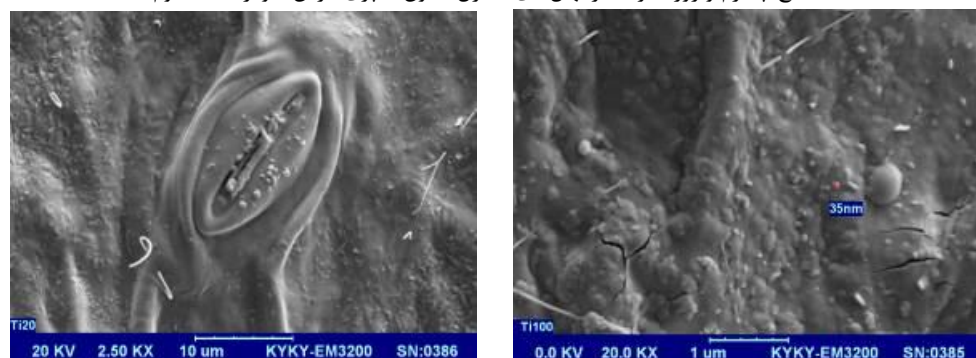
پارامترهای بیوشیمیایی: نتایج آزمون دانکن نشان داد که بیشترین مقدار پرولین، با حدود ۲۰ درصد افزایش در مقایسه با شاهد، در نهال‌های تحت تنش خشکی ثبت شد و در مقابل بین میزان پرولین سایر تیمارها اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد. مطالعات ایزوآنزیمی نیز نشان داد که آنزیم پراکسیداز و کاتالاز تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده قرار گرفته‌اند. بیشترین مقدار پراکسیداز در تیمار نانوذرات ۱۰۰ قسمت در میلیون و کمترین میزان آن در نهال‌های تیمار شاهد اندازه گیری شد. در مقایسه با تیمار خشکی و با اعمال نانوذرات با غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون، آنزیم پراکسیداز بیش از ۱/۵ برابر افزایش داشت. به طور کلی اسپری کردن نانوذرات سبب افزایش آنزیم پراکسیداز شد. بیشترین و کمترین میزان آنزیم کاتالاز به ترتیب در تیمار خشکی (دو برابر افزایش) و کنترل ثبت شد (شکل ۵).



شکل ۱- تاثیر اسپری کردن نانوذرات تیتانیوم با غلظت‌های مختلف بر روند تبدلات گازی نهال‌های گلابی وحشی تحت تنش خشکی



شکل ۱- سطح اپیدرم و روزنه برگ در نهال‌های کنترل (بدون اسپری کردن نانوذرات تیتانیوم)



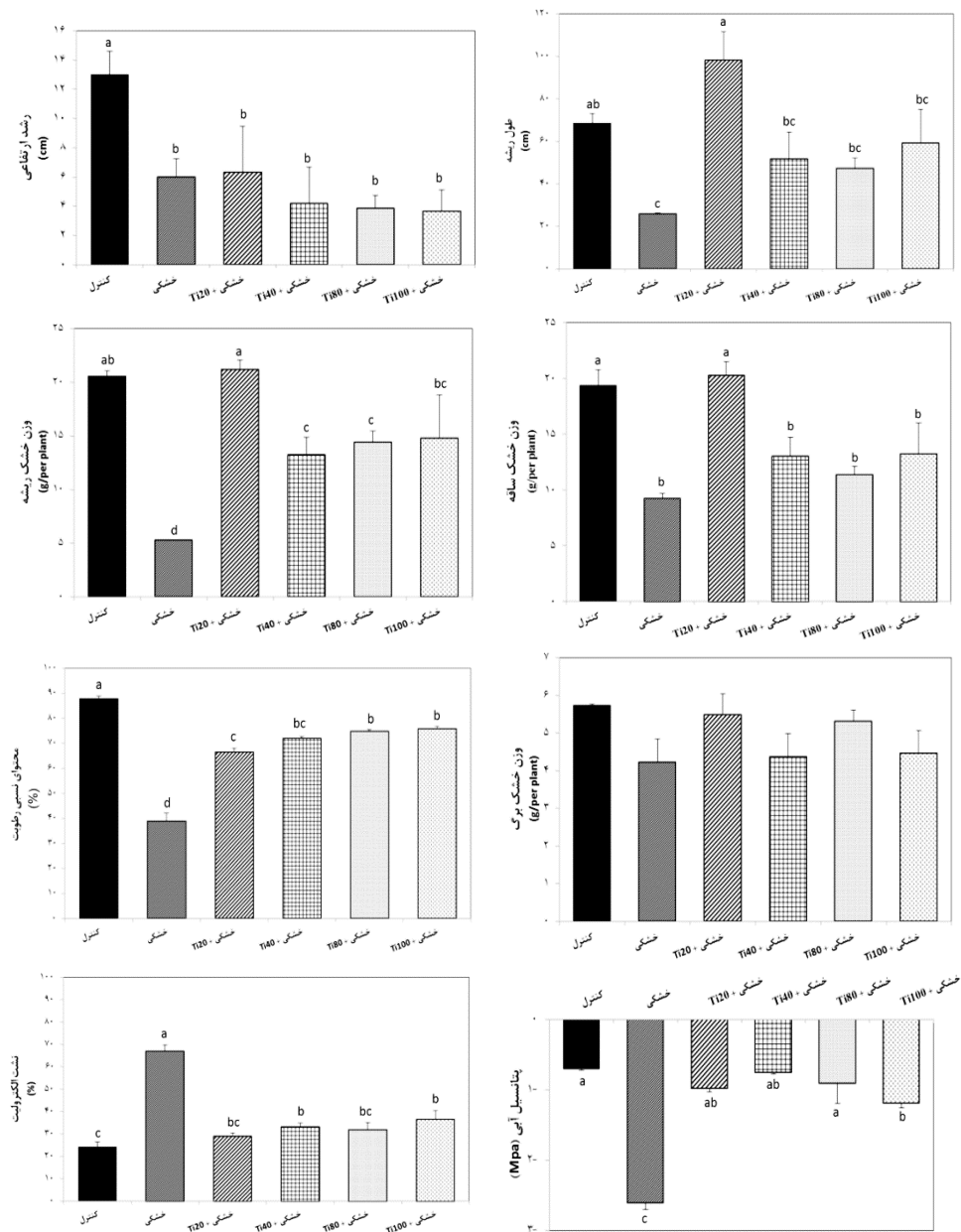
شکل ۲- سطح اپیدرم و روزنه برگ در نهال‌های تحت تنش خشکی بعد از اسپری کردن نانوذرات تیتانیوم

شکل ۲- میکروگراف حاصل از میکروسکوپ الکترونی از سطح اپیدرم برگ

جدول ۱- تاثیر تیمار و زمان آزمایش بر پارامترهای تبادلات گازی در نهال‌های گلایی وحشی

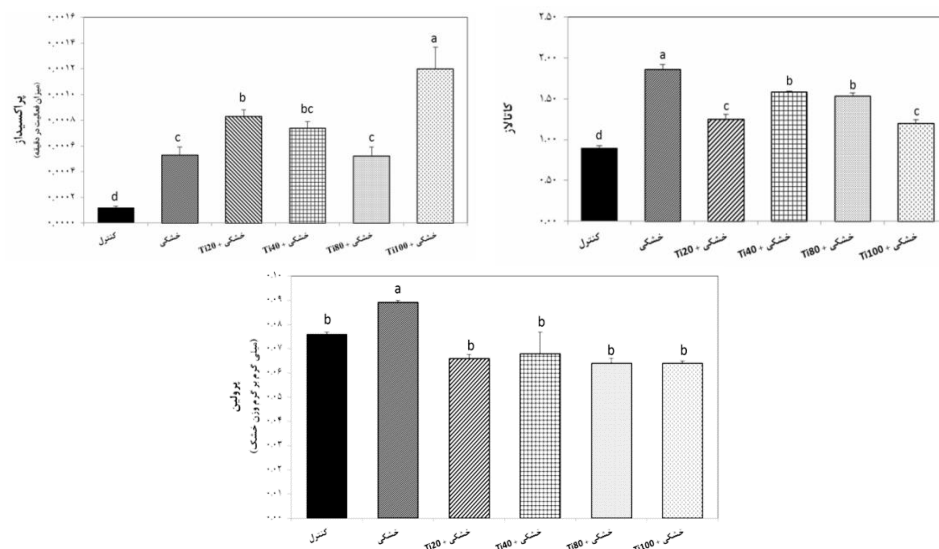
تعرق ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	هدایت روزنه‌ای ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	فتوسنتز ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	اثرات اصلی
۴۷۸/۷۵*	۳۰۱/۲۱*	۷۲۴/۹۹*	تیمار
(CV=٪۲۸/۰۷)	(CV=٪۱۹/۴۱)	(CV=٪۲۲/۱۶)	
۱۹۲/۳*	۸۹۰/۴۴*	۳۶۳/۳۳*	اثرات فرعی
۱۰۰/۹۴ ^{ns}	۹۹/۴۷*	۴۴/۹۵*	زمان زمان × تیمار

توضیح: اعداد گزارش شده با مقادیر F مرتبط است. علامت ستاره (*) نشان از اختلاف معنی‌دار آماری در سطح یک درصد و علامت ns عدم اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد.



شکل ۴: تاثیر اسپری کردن نانوذرات تیتانیوم با غلظت‌های مختلف بر پارامترهای فیزیولوژیک نهال‌های گلابی وحشی تحت تنش خشکی

توضیح: حروف متفاوت بر روی ستون‌ها حاکی از اختلاف معنی‌دار آماری در سطح یک درصد است.



شکل ۵- تاثیر اسپری کردن نانوذرات تیتانیوم با غلظت‌های مختلف بر پارامترهای بیوشیمیایی نهال‌های گلابی وحشی تحت تنش خشکی
توضیح: حروف متفاوت بر روی ستون‌ها حاکی از اختلاف معنی‌دار آماری در سطح یک درصد است.

بحث

کاهش تبدلات گازی یکی از راهکارهای مقاومت به خشکی در ژنوتیپ‌های گلابی معرفی شده است (جوادی و بهرام‌نژاد، ۱۳۸۹). در این مطالعه با گذشت زمان و افزایش شدت تنش خشکی میزان فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و تعرق در نهال‌های گلابی وحشی کاهش یافته، ولی نانوذرات با حضور بر روی سلول‌های اپیدرم و روزنه‌ها به‌عنوان سد فیزیکی از اثرات منفی و فزاینده خشکی جلوگیری کرد. کاهش رشد و بیوماس گیاه یکی از بارزترین اثرات محدودیت فتوسنتز است (Chaves & Oliveria, 2004). در تیمار خشکی میزان بیوماس ریشه و ساقه در مقایسه با نهال‌های شاهد به ترتیب حدود سه و دو برابر کاهش یافته است. این در حالی است که با اسپری کردن نانوذرات تیتانیوم با غلظت ۲۰ قسمت در میلیون بر برگ نهال‌های تحت خشکی اختلاف معنی‌داری در بیوماس ساقه، برگ و ریشه در مقایسه با نهال شاهد مشاهده نشد. پیش از این افزایش بیوماس با کاربرد تیتانیوم گزارش شده است (Nair *et al.*, 2010). در تحقیقی جبارزاده و همکاران (Jabarzadeh *et al.*, 2010) نیز افزایش عملکرد دانه گندم را تحت تنش خشکی بعد از اسپری دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد را گزارش کردند. یکی از خصوصیات منحصر به فرد نانوذرات قدرت نفوذ پذیری بالا است که به سبب ابعاد در محدوده نانو صورت می‌گیرد. لذا نانوذرات به راحتی می‌توانند از دهانه روزنه با محدوده میکرون به راحتی عبور کنند. از سوی

دیگر، اگرچه دیواره سلول گیاهی به‌مثابه یک سد از ورود عوامل خارجی جلوگیری می‌کند، نانوذرات با قطر کمتر از ۲۰ نانومتر می‌توانند به‌راحتی از حفرات دیواره سلولی عبور کنند و وارد فضای داخلی سلول و غشای پلاسمایی شوند (Moore, 2006). محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2013) با استفاده از آنالیز TEM^۱ ورود نانوذرات تیتانیوم را در سلول گیاهی تایید کردند. در این مطالعه، اگرچه آنالیز یاد شده صورت نگرفت، ولی تغییر در اکثر پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، ورود نانوذرات به‌درون سلول و غشای پلاسمایی را تایید می‌کند. تحقیقات پیشین نشان داده که نانوذرات تیتانیوم قادر است با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی از اثرات مخرب تنش اکسیداتیو و مرگ سلول گیاهی جلوگیری کند (Lei *et al.*, 2008). در این پژوهش، به‌طور آشکار نشان داده شد که حضور نانوذرات تیتانیوم باعث افزایش و بهبود عملکرد آنزیم پراکسیداز شده است. از سوی دیگر اعمال نانوذرات تیتانیوم میزان نشت الکترولیت در سلول گیاهی را به‌طور قابل توجهی در مقایسه با نهال‌هایی که اسپری کردن بر آنها انجام نشده، کاهش داده است. لذا می‌توان گفت که در حضور نانوذرات تیتانیوم اثرات مخرب تنش اکسیداتیو تعدیل پیدا کرده است؛ چرا که میزان نشت الکترولیت کاهش یافته است. در پاسخ به تنش خشکی و شوری، سلول گیاهی شروع به سنتز و تجمع برخی از آمینو اسیدها (از قبیل پرولین)، پروتئین‌ها، قندها (از قبیل گلوکز و ساکارز)، ترکیبات الکلی، سیکلیتول‌ها و اسیدهای آلی می‌کند (Hasegawa *et al.*, 2005; Masinde *et al.*, 2000; Arndt *et al.*, 2000). در این تحقیق، اگرچه میزان پرولین در نهال‌های تحت خشکی افزایش پیدا کرد، حضور نانوذرات تاثیر فرایندهای بر میزان پرولین نداشت. لذا به‌نظر می‌رسد که تاثیر نانوذرات بر سیستم آنزیم گیاهی برجسته و ملموس‌تر است. بدون شک در صورتی که نانوذرات تیتانیوم با غلظت‌های بالا استفاده شوند، می‌تواند باعث سمیت گیاه شود. لذا در این تحقیق با مرور منابع مختلف، غلظت‌های پایین بر حسب قسمت در میلیون در نظر گرفته شد و بر هیچ‌کدام از سطوح مورفولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه اثر سمیت نداشته است. در یک مطالعه آزمایشگاهی، قوش و همکاران (Ghosh *et al.*, 2012) گزارش کردند که غلظت ۳۱۹ قسمت در میلیون بر رشد ریشه گیاه *Allium cepa* اثر سمیت داشته است. در صورتی که غلظت‌های پایین از نانوذرات تیتانیوم توجه شود، باعث تنش اکسیداتیو قابل ملاحظه‌ای در سلول گیاهی نخواهد شد (Singh *et al.*, 2012; Larue *et al.*, 2012). در نهایت می‌توان گفت که اسپری کردن نانوذرات تیتانیوم به‌ویژه با غلظت‌های کم (۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون) بر روی اندام هوایی نهال‌های گل‌ابی وحشی از طریق تعدیل تبادلات گازی و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، باعث تعدیل اثرات مخرب تنش خشکی می‌شود. از آن جا که تحقیقات مشابه در این زمینه کمتر انجام شده، تایید دقیق‌تر این نتایج، مستلزم بررسی‌های بیشتر آزمایشگاهی، به‌ویژه از لحاظ مولکولی و آنالیز بیان ژن است.

1. Tunneling Scanning Microscope

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می دانند که از ستاد ویژه توسعه فناوری نانو که از این تحقیق حمایت مالی کردند، تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

- Arndt S.K., Wanek W., Clifford S.C., Popp M. 2000. Contrasting adaptations to drought stress in field-grown *Ziziphus mauritiana* and *Prunus persica* trees: Water relations, osmotic adjustment and carbon isotope composition, *Australian Journal of Plant Physiology*, 27: 985–996.
- Barik T.K., Sahu B., Swain V. 2008. Nanosilica-from medicine to pest control. *Parasitol. Res.* 10 (3): 253–258.
- Bates L., Waldren R.P., Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- Berahmand A.A., Ghafarian Panahi A.H., Sahabi H., Feizi P., Rezvani Moghaddam N., Shahtahmassebi, Fotovat A., Karimpour H., Gallehgir O. 2012. Effects of silver nanoparticles and magnetic field on growth of fodder maize (*Zea mays* L.), *Biol. Trace Elem Res.* 149: 419 – 424.
- Campos P.S., Quartin V., Ramalho J.C., Nunes M.A. 2009. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp Plants, *Journal of Plant Physiology*, 160: 283–292.
- Cañas J.E., Long M., Vadan S.R., Dai L., Luo M.X., Ambikapathi R., Henry L.E., Olszyk D. 2008. Effects of functionalized and non-functionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species, *Environmental Toxicology and Chemistry. SETAC*, 27 (9): 1922-31.
- Chaves M.M., Oliveira M.M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture, *Journal of Experimental Botany*, 55: 2365–2384.
- Ebermann R., Stich K. 1982. Peroxidase and amylase isoenzymes in the sapwood and heartwood of trees, *Phytochemistry*, 21: 2401–2402.
- Ghosh M., Bandyopadhyay M., Mukherjee A. 2010. Genotoxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticle at two trophic levels: plant and human lymphocytes, *Chemosphere*, 81: 1253-1262.
- Hasegawa P.M., Bressan R.A., Zhu J.K., Bohnert H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51: 463-499.
- Hong F., Zhou J., Liu C., Yang F., Wu C., Zheng L., Yang P. 2005. Effects of Nano-TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of Spinach, *Biological Trace Element Research*, 105: 269-279.

- Jaberzadeh A., Moaveni P., Tohidi Moghadam H.R., Modari A. 2010. Effects of TiO₂ NPs foliar spraying on the wheat under drought stress, Iranian journal of plant Eco- physiology, 4 (2): 295-301.
- Javadi T., Bahramnejad B. 2011. Relative Water Content and Gas Exchange of Three Wild Pear Genotypes under Water Stress Conditions, Journal of horticulture science, 2 (4): 223-233. (In Persian).
- Khodakovskaya M., Dervishi E., Mahmood M., Xu Y., Li Z., Watanabe F., Biris A. 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth, ACS Nano, 3 (10): 3221–3227. (In Persian).
- Kumar V., Yadav S.K. 2009. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications, J. Chem. Technol. Biotechnol. 84: 151–157.
- Larue C., Laurette J., Herlin-Boime N., Khodja H., Fayad B.F., Lank A.M., Brisset F., Carriere M. 2012. Accumulation, translocation and impact of Tio 2 nanoparticles in wheat (*Triticum aestivum* ssp.): influence of diameter and crystal phase, Science of the Total Environment., 431: 197–208.
- Lei Z., Su M.Y., Wu X.C., Qu C.X., Chen L., Huang H., Liu X.Q., Hong F.S. 2008. Antioxidant stress is promoted by Nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-Beta radiation, Biological Trace Element Research. 121: 69–79.
- Martínez J.P., Silva H., Ledent J.F., Pinto M. 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.), European Journal of Agronomy, 26: 30–38.
- Masinde P.W., Stützel H., Agong S.G., Frickle A. 2005. Plant growth, water relations and transpiration of spider plant (*Gynandropsis gynandra* (L.) Briq) under water limited conditions, Journal of the American Society for Horticultural Science, 130 (3): 469-477.
- Mingyu S., Hong F., Liu C., Wu X., Liu X., Chen L. 2007. Effects of nano-anatase TiO₂ on absorption, distribution of light and photo reduction activities of chloroplast membrane of spinach, Biological Trace Element Research, 118: 120–130.
- Monica R.C., Cremonini R. 2009. Nanoparticles and higher plants, Caryologia, 62 (2): 161–165.
- Moore M.N. 2006. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment, Environ International Corporation., 32: 967–976.
- Nair R., Varghese S.H., Nair B.G., Maekawa T., Yoshida Y., Sakthi Kumar D. 2010. Nano particulate material delivery to plants, Plant Science, 179: 154–163.
- Parad G.A., Zarafshar M., Striker G.G., Sattarian A., 2013. Some physiological and morphological responses of *Pyrus boissieriana* to flooding. Trees, 27: 1387–1393.

- Rahman A., Seth D., Mukhopadhyaya S.K., Brahmachary R.L., Ulrichs C., Rao P.B. 2009. Nanoparticle-virus complex shows enhanced immunological effect against baculovirus, *Journal of Nanoscience Nanotechnol.*, 9 (9): 5567 – 71.
- Kaur A. 2008. Drought resistance in seedlings of five important tree species in Tarai region of Uttarakhand, *Tropical ecology*, 49 (1): 43-52.
- Mohammadi R., Maali-Amiri R., Abbasi A. 2013. Effect of TiO₂ Nanoparticles on Chickpea Response to Cold Stress, *Biological Trace Element Research*. 152: 403–410.
- Scrinis G., Lyons K. 2007. The emerging nano-corporate paradigm: Nanotechnology and the transformation of nature, food and Agri-food systems, *International Journal of Sociology of Food and Agriculture*, 15 (2): 22-44.
- Shao H.B., Chu L.Y., Jaleel C.A., Manivannan P., Panneerselvam R., Shao, M.A. 2009. Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants-biotechnologically and sustainably improving agriculture and the Eco environment in arid regions of the globe, *Crit. Rev. Biotechnol.*, 29: 131-151.
- Sharma V.K., Yngard R.A., Lin, Y. 2009. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities, *Adv. Colloid Interface Sci.* 145: 83–96
- Siemens J.A., Zwiazek J.J. 2003. Effects of water deficit stress and recovery on the root water relations of trembling aspen (*Populus tremuloides*) seedlings, *Plant Science*. 165: 113-120.
- Singh D., Kumar S., Singh, S.C., Lal B., Singh N.B. 2012. Applications of liquid assisted pulsed laser ablation synthesized TiO₂ nanoparticles on germination, growth and biochemical parameters of *Brassica oleracea* var. *capitata*, *Science Adv Mather*, 4: 522–531.
- Sorooshzadeh A., Hazrati S., Oraki H., Govahi M., Ramazani A. 2012. Foliar application of nano-silver influence growth of saffron under flooding stress. Conference of NANOCON. Brno, Czech Republic, EU.
- USEPA. 2007. Nanotechnology white paper. EPA 100/B-07/001. Washington, DC 20460: Science Policy Council, U.S. Environmental Protection Agency. 120 pp.
- Yang F., Hong F., You W., Liu C., Gao F., Wu C., Yang, P. 2006. Influence of nano-anatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach, *Biological Trace Element Research*, 110 (2): 179-190.
- Zhang L., Hong F., Lu S., Liu C. 2005. Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of Spinach, *Biological Trace Element Research*, 105: 83-91.