

## مطالعه اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و تشریحی گیاه گل‌ناز یخی

*(Aptenia cordifolia)*لاله احمدی <sup>۱</sup>M.Sc.، مریم کلاهی <sup>۲\*</sup>Ph.D.، هانیه محجل شجاء <sup>۱</sup>Ph.D.، الهام محجل کاظمی <sup>۱</sup>Ph.D.

۱- دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه علوم گیاهی، تبریز، ایران  
 ۲- دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، اهواز، ایران

\* پست الکترونیک نویسنده مسئول: m.kolahi@scu.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۳

## چکیده

**هدف:** در این بررسی اثر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌عنوان نانوذره‌ای که گسترده‌ترین مصرف جهانی را در صنایع دارد بررسی و ویژگی‌های ریخت‌شناسی، تشریحی و فیزیولوژیکی گیاه گل‌ناز یخی با نام علمی *Aptenia cordifolia* در شیوه محلول‌پاشی با چهار غلظت مختلف، مورد مطالعه قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** تیمار نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌صورت محلول‌پاشی بروی گیاه گل‌ناز یخی دوبار در هفته انجام گرفت. پارامترهای رشدی، محتوای کلروفیل، فنل و فلاونوئید اندازه‌گیری شد. برای بررسی ساختار تشریحی گیاه؛ برش‌گیری دستی، رنگ‌آمیزی مرکب و شمارش روزنه‌ها انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون دانکن انجام گرفت.

**نتایج:** تیمار نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل *a* و *b* به‌طور معنی‌دار در گیاهان تحت تیمار شد. بیش‌ترین مقدار فنل و فلاونوئید در برگ چهارم گیاه تحت تیمار غلظت ۰/۰۵ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم مربوط بود. هم‌چنین تیمار نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش قطر دهانه‌ی آوندی در ریشه و کاهش قطر دهانه‌ی آوندی در ساقه‌ی بعضی از تیمارها شد.

**نتیجه‌گیری:** پاسخ‌های فیزیولوژیکی و تشریحی گل‌ناز یخی بیان‌گر پتانسیل و توان ژنتیکی این گیاه برای رشد در محیط آلوده به نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم است.

**واژگان کلیدی:** دی‌اکسید تیتانیوم، رشد، فیزیولوژیکی، گل‌ناز یخی

## مقدمه

توسعه فناوری نانو باعث انتشار قابل توجه نانوذرات تولید شده به محیط زیست از جمله محیط‌های آبی و خاکی شده است. به منظور حفاظت از سلامت انسان‌ها و محیط‌زیست از تاثیرات طیف وسیعی از نانو ذرات، مطالعات زیادی بر روی ارزیابی سمیت نانوذرات متمرکز شده است (۱). نانو ذرات بسته به ترکیب شیمیایی، اندازه و یا شکل ذرات عمل می‌کنند. در حال حاضر بحث گسترده‌ای در مورد خطرات و منافع بسیاری از نانوذرات در محیط زیست وجود دارد (۲). تیتانیوم (Ti)، نهمین عنصر فراوان است که در پوسته‌ی زمین به‌طور وسیعی پراکنده شده است. غلظت متوسط تیتانیوم در پوسته زمین ۴۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد. تیتانیوم فلزی، اکسید تیتانیوم و تیتانیوم کلرید ترکیباتی هستند که گسترده‌ترین مصرف جهانی را در صنایع دارند. نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌علت پایداری بالا ویژگی‌های ضدباکتریایی و ویژگی‌های فتوکاتالیتیکی، کاربردهای وسیعی دارند (۳). کاربردهای درمانی این نانوذرات شامل کشت دندان، شناسایی زیستی برای داروهای ضدسرطان، (۴) استفاده در ابزار جراحی (۵)، استفاده در لوسین‌های پوست بیش‌ازحد رنگ دانه‌دار شده، درمان بیماری‌های پوستی مثل آکنه و لگاری ۲، کوندیلوما ۳ عودکننده، آماس پوست اتوپیک و دیگر بیماری‌های غیرپوستی است (۳). گل‌نازخی علمی *Aptenia cordifolia L* به‌خانواده‌ی آیزوآسه (Aizoaceae) و راسته کاریفیالاس (Caryophyllales) تعلق دارد. این گیاه دارویی و زینتی به‌شکل گوشتی، بوته‌ای شکل با برگ‌های سبز قلب مانند، گل‌های کوچک و زیبا به‌رنگ قرمز، بنفش و ارغوانی می‌باشد که رشد سریعی دارد و دارای متابولیسم اسید کراسولاسه‌ای (CAM) است. گل‌نازخی به‌خاطر ویژگی‌های دارویی، به‌عنوان ضدالتهاب، ضد میکروبی و ضدعرق استفاده می‌شود.

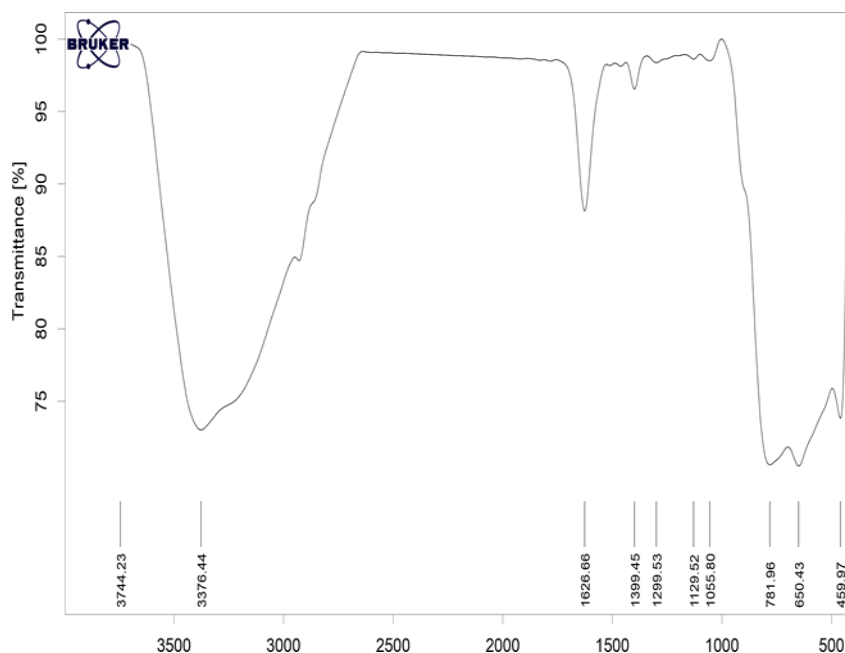
نانو ذرات در واکنش با گیاهان باعث تغییرات فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی متنوعی می‌شوند که بسته به نوع نانوذره و نوع گیاه بسیار متفاوت است (۶). اثر نانو ذرات بر گیاهان به انواع گیاهان، مرحله رشد آن‌ها و ویژگی‌های طبیعی نانوذرات بستگی دارد. جذب اتمسفری نانو فلزات ذرات توسط برگ‌ها به‌اثبات رسیده و توسط فاکتورهای ریخت‌شناسی همانند کرک‌ها، وجود و یا عدم وجود هیپودرم و تعداد و وضعیت روزنه‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۷) هم‌چنین تارهای کشنده نقش خود را در جذب ذرات از محیط‌های خاکی و آبی ایفا می‌کند (۸). اخیراً مطالعات زیادی در رابطه با سمیت شدید نانوذرات و اثرات منفی و مثبت آن‌ها گزارش شده است (۹). در مطالعه‌ی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم، جوانه‌زنی بذر و رشد پیاز را در غلظت‌های کم افزایش داد در حالی در غلظت‌های زیاد باعث کاهش جوانه‌زنی و رشد شد، هم‌چنین میزان آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در غلظت‌های زیاد افزایش یافت (۱۰). در مطالعه‌ی دیگر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر صفات زراعی و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی را در گیاه تحت تنش شوری باد رشبو (*Dracocephalum moldavica L*) افزایش داد (۱۱). اثرات فیزیولوژیکی محلول‌پاشی مگنیت در گیاه ذرت در نسل اول باعث افزایش بهبود فتوسنتز و مهار  $H_2O_2$  شد درحالی‌که نسل دوم دارای میزان کم پروتئین و کلروفیل و آهن کل زیادی در مقایسه با گیاه کنترل و نسل اول بودند (۱۲). تاثیر محلول‌پاشی نانو کود آهن و روی و همچنین نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر روی گیاه جو باعث افزایش طول سنبله و تعداد و عملکرد دانه و هم‌چنین افزایش کلروفیل شده است (۱۳). نانوذرات روی در گیاه گوجه‌فرنگی باعث کاهش رشد گیاه و خصوصیات فتوسنتزی و محتوای کلروفیل a و b به‌روشی وابسته به غلظت شد (۱۴).

گل‌نازخی به‌عنوان یکی از پرکاربردترین گیاهان در فضای سبز ایران است. با توجه به اهمیت نانو ذرات در دنیای امروز و تاثیر آن‌ها بر گیاهان، این تحقیق به‌مطالعه اثر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌عنوان نانوذره‌ای که گسترده‌ترین مصرف جهانی را در صنایع دارد، بر روی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و تشریحی در گیاه گل‌نازخی در شرایط محلول‌پاشی می‌پردازد. در این

پژوهش، توانایی رشد این گیاه زینتی با کشت گسترده و پتانسیل رشد در اقلیم‌های متفاوت در محیط‌های آلوده به دی‌اکسید تیتانیوم مورد بررسی قرار می‌گیرد.

### مواد و روش‌ها

**روش تهیه نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ( $TiO_2$ )**: میزان ۲۵ گرم نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم از شرکت بازرگانی نوترینو تهیه شد. به‌منظور بررسی مکانیسم واکنش، آنالیز FTIR در آزمایشگاه خدماتی دانشکده شیمی تبریز با استفاده از دستگاه FT-IR مدل TENSOR 27 ساخت کشور آلمان، (کمپانی Bruker) مورد استفاده قرار گرفت، همچنین مشخصات نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تعیین شد که در جدول ۱ آمده است (شکل ۱).



شکل ۱: الگوی FTIR تهیه‌شده از نانو ذرات  $TiO_2$

جدول ۱: مشخصات نانو ذرات  $TiO_2$  مورد استفاده.

متوسط اندازه (APS) (nm)	خلوص (Purity)	حجم تخلخل کل (g- $cm^3$ )	مساحت سطحی (g- $m^2$ )	ظاهر نانو ذرات $TiO_2$
۳۰	٪۹۹/۹	۰/۳۱۰۴	۲۰۰	پودر سفید

**کشت گیاهان و شیوه محلول پاشی**: دانه رسته‌های گیاه گل‌ناز یخی به‌گلدان‌ها پلاستیکی (در حالت استریل) با قطر دهانه ۹ سانتی‌متری و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر منتقل شدند. خاک گلدان‌ها مخلوطی از خاک زراعی، ماسه و خاک‌برگ بود. بعد از رسیدن گیاهان به مرحله ۴ برگی اعمال تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در یک طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و در چهار غلظت (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵ درصد) به‌صورت دومرتبه در هفته بر روی سطح زیرین و رویی برگ اسپری شد. به‌منظور حفظ رطوبت خاک، آبیاری در حد ظرفیت مزرعه‌ای هرروز یک‌بار انجام می‌شد.

**مطالعات فیزیولوژیکی:** در بررسی پارامترهای رشدی مولفه‌هایی از قبیل وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، ارتفاع گیاهان و سطح برگ اندازه‌گیری شد که از هر تیمار سه تکرار از برگ‌های سوم (دومین برگ از مریستم) و چهارم (اولین برگ از مریستم) انجام گرفت. طول ریشه از ناحیه‌ی یقه تا نوک ریشه و طول ساقه از ناحیه‌ی یقه تا نوک جوانه انتهایی اندازه‌گیری شد. هم‌چنین طول میان‌گره‌های سوم و چهارم مورد سنجش قرار گرفت. برای اندازه‌گیری سطح برگ، از روش ترسیم برگ بر روی کاغذ میلی‌متری و شمارش تعداد خانه‌ها استفاده شد. در این تحقیق رنگی‌های فتوسنتزی (کلروفیل a, b) و متابولیت‌های ثانویه از قبیل فنل کل و فلاونوئید کل تحت تاثیر تیمار نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم مورد سنجش قرار گرفت.

**اندازه‌گیری محتوای کلروفیل:** اندازه‌گیری محتوای کلروفیل به روش (۱۵) انجام شد. جذب محلول در طول موج‌های، ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر نسبت به شاهد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (METASH مدل UV-5100) اندازه‌گیری شد. غلظت کلروفیل طبق فرمول‌های زیر محاسبه شده و براساس میکروگرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

$$Ca=15.65 A664 - 7.340 A653$$

$$Cb=27.05 A653 - 11.21 A666$$

که در آن‌ها Ca: میزان کلروفیل a      Cb: میزان کلروفیل b      A666: جذب در طول موج ۶۶۶ نانومتر  
A653: جذب در طول موج ۶۵۳ نانومتر می‌باشد.

**اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید کل:** مقدار ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی در ۲ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد در یک هاون چینی سابیده شد. برای سنجش فنل کل جذب محلول‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. از گالیک‌اسید با عنوان استاندارد فنل کل استفاده شد و درنهایت، داده‌ها بر اساس معادل میکروگرم گالیک‌اسید بر گرم وزن تر گیاه بیان شد (۱۶). برای سنجش فلاونوئید کل از آلومینیم کلراید ۱۰ درصد و استات پتاسیم ۱ مولار استفاده شد. سپس، جذب محلول‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (METASH مدل UV-5100) اندازه‌گیری شد. از کوئرستین به عنوان استاندارد فلاونوئید کل استفاده شد؛ و درنهایت، داده‌ها بر اساس معادل میکروگرم بر گرم وزن تر گیاه بیان شد (۱۷).

**بررسی‌های تشریحی گیاه گل‌ناز یخی:** برش عرضی نمونه‌ها برای بررسی ساختار تشریحی اندام‌های رویشی نظیر ساقه و ریشه انجام شد. در این روش از بافت‌های تازه و زنده برای برش‌گیری استفاده شد که این کار شامل مراحل برش‌گیری دستی (ساقه از میان‌گره سوم و ریشه از فاصله یک سانتی‌متری از یقه)، رنگ‌آمیزی مرکب با کارمن زاجی و سبز متیل و تثبیت نمونه‌ها بر روی لام انجام شد و نمونه‌ها زیر میکروسکوپ بررسی و اندازه‌گیری قطر دستجات آوندی با سیستم عکس‌برداری و اسکنر لام میکروسکوپ True Chrome Metrics انجام شد. به‌منظور بررسی برگ‌ها شمارش روزنه‌های زیرین و روئین برگ با استفاده از لاک بی‌رنگ و شمارش روزنه‌ها زیر میکروسکوپ انجام گرفت (۱۸).

## آنالیز آماری

آنالیز داده‌های آماری براساس طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون دانکن در سطح احتمال آماری  $p < 0/05$  انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار EXCEL رسم شدند. از هر تیمار سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت.

## نتایج

**نتایج تاثیر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر پارامترهای رشد در گیاه گل‌ناز یخی**

نتایج آزمون اختلاف معنی‌داری را در میان گیاهان مورد بررسی، از لحاظ طول ریشه نشان داد به‌گونه‌ای که بیش‌ترین مقدار به‌گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با ۱۱ سانتی‌متر و کم‌ترین مقدار به‌گیاه شاهد با ۷/۹ سانتی‌متر مربوط بود؛ اما درمؤلفه طول اندام هوایی، تغییرات معنی‌دار نبود و در این مؤلفه بیش‌ترین میانگین از گیاه شاهد با ۱۳/۰۳ سانتی‌متر و کم‌ترین میانگین از تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با میانگین ۹/۳۳ سانتی‌متر حاصل شد. در مورد وزن تر و خشک ریشه و هم‌چنین وزن تر و خشک اندام هوایی بیش‌ترین مقدار به‌گیاه شاهد و کم‌ترین مقدار نیز به‌گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تعلق داشت اما تغییرات طبق نتایج آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین سطح برگ نیز، در گیاهان مورد بررسی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. هم در برگ سوم و هم در برگ چهارم بیش‌ترین مقدار به‌گیاه شاهد و کم‌ترین مقدار به‌گیاه تحت تیمار غلظت ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تعلق داشت و گیاهان تحت تیمار غلظت ۰/۰۱ و ۰/۰۳ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بین این گیاهان قرار داشتند. در مورد تاثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر میان‌گره‌ها، در میان گره بیش‌ترین مقدار به‌گیاه شاهد متعلق بود و سایر گیاهان متأثر از غلظت نانوذرات، میانگین خیلی نزدیک به‌هم داشتند و همه گیاهان دارای سطح معنی‌داری  $a$  طبق آزمون دانکن بودند، در میان گره چهارم نیز با این‌که تغییرات بین گیاهان معنی‌دار نبود بیش‌ترین مقدار به‌گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مربوط بود و گیاهان تحت تیمار ۰/۰۱ و ۰/۰۳ کوچک‌ترین میان‌گره را داشتند (شکل ۲ و جدول ۲،  $p < 0.05$ ).



شکل ۲: تغییرات ویژگی‌های رشدی و ریخت‌شناسی گیاه گل‌ناز یخی تحت تاثیر چهار غلظت (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵ درصد) نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

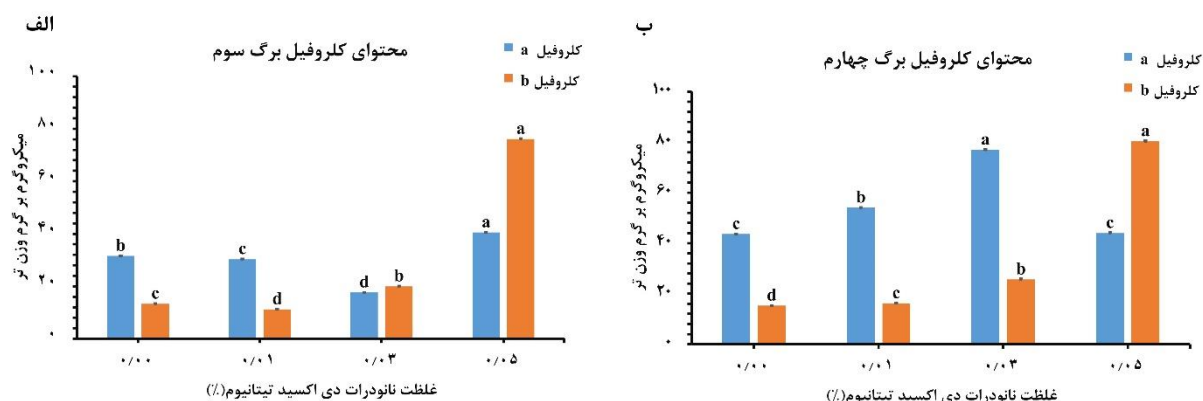
جدول ۲: پارامترهای رشدی گیاه گل ناز یخی تحت تاثیر چهار غلظت (۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵ درصد) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم  $p < 0/05$

پارامترها	دی اکسید تیتانیوم	دی اکسید تیتانیوم	کنترل	تیمار
	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۱	
طول گیاه (cm)	۲۰/۴۶±۱/۲۴a	۲۰/۵۳±۱/۳۶a	۲۰/۷±۱/۱۷a	۲۰/۷۶±۱/۶۱a
طول ساقه (cm)	۹/۳۳±۰/۶۶b	۱۰/۱۶±۰/۵۵ab	۱۱/۴±۱/۴۰ab	۱۳/۰۳۳±۱/۱۹a
طول ریشه (cm)	۱۱±۰/۵۷b	۱۰/۶±۰/۷۲ab	۹/۲±۰/۴۱a	۷/۹۳±۰/۹۵۲a
وزن تر گیاه (g)	۵/۶۳۶±۱/۱۵۷b	۶/۸۹۵±۰/۲۷۱ab	۷/۴۴۷±۱/۱۴۶ab	۸/۸۴±۰/۶۰a
وزن خشک گیاه (g)	۴/۳۲۱±۱/۱۱b	۶/۳۶±۰/۳۲۲ab	۶/۵۰۷±۰/۷۰۵ab	۷/۵۱۹±۰/۳۹a
وزن تر اندام هوایی (g)	۵/۴۸±۱/۰۲۸a	۶/۷۳±۰/۲۵a	۷/۲۷۵±۱/۱۰a	۸/۴۷±۰/۷۹۸a
وزن خشک اندام هوایی (g)	۴/۲۶۵±۱/۱۵۰b	۶/۲۶±۰/۲۲ab	۶/۳۶±۰/۸۴۷ab	۷/۱۷±۰/۰۸۵a
وزن تر ریشه (g)	۰/۱۵۶±۰/۰۰۶۳b	۰/۱۶۱±۰/۰۱۸b	۰/۱۸۴±۰/۰۲۹ab	۰/۲۴۳±۰/۰۲۵a
وزن خشک ریشه (g)	۰/۱۰۶±۰/۰۰۷۲b	۰/۱۱۱±۰/۰۱۴b	۰/۱۳۳±۰/۰۱۸۸ab	۰/۱۶۶±۰/۰۱۹a
سطح برگ سوم (mm <sup>2</sup> )	۴۳۰/۳۳±۳۸/۶۰a	۴۶۳/۳۳±۲۵/۳۵a	۵۰۲±۶۸/۹۸a	۵۵۹±۳۱/۱۳a
سطح برگ چهارم (mm <sup>2</sup> )	۵۵۶±۸۳/۲۱b	۶۵۶/۵±۶/۰۶ab	۷۴۹±۹۳/۰۲ab	۸۴۶/۶۳±۶۲/۲۸a
طول میان گره سوم (cm)	۱/۴±۰/۰۵۷a	۱/۴±۰/۰۱a	۱/۳۶±۰/۰۸۸a	۱/۶۶±۰/۱۶a
طول میان گره چهارم (cm)	۲/۳±۰/۲۸a	۱/۹۳±۰/۰۳۳a	۲/۰۳۳±۰/۰۸۸a	۲/۳۳±۰/۰۸۸a

### تاثیر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر محتوای کلروفیل در گیاه گل ناز یخی

نتایج مطالعه پارامترهای فیزیولوژیکی نشان داد تاثیر غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر محتوای کلروفیل در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی دار بود. در مورد کلروفیل a برگ، بیشترین مقدار از گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۴۰/۴۸ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار از گیاه تحت تیمار ۰/۰۳ درصد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۱۷/۶۲ میکروگرم بر گرم وزن تر) به دست آمد. در مورد کلروفیل b برگ سوم نیز، بیشترین مقدار به گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ نانوذره و کمترین مقدار به گیاه شاهد و گیاه تحت تیمار ۰/۰۱ درصد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم مربوط بود (شکل ۳ الف،  $p < 0/05$ ). در مورد کلروفیل a برگ چهارم، بیشترین مقدار کلروفیل را گیاه تحت تیمار ۰/۰۳ درصد نانوذره (۷۶/۹۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار را گیاه شاهد (۴۳/۶۲ میکروگرم بر گرم وزن تر) و گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۴۰/۰۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) داشتند که تفاوت این دو گیاه نسبت به هم معنی داری نبود. در

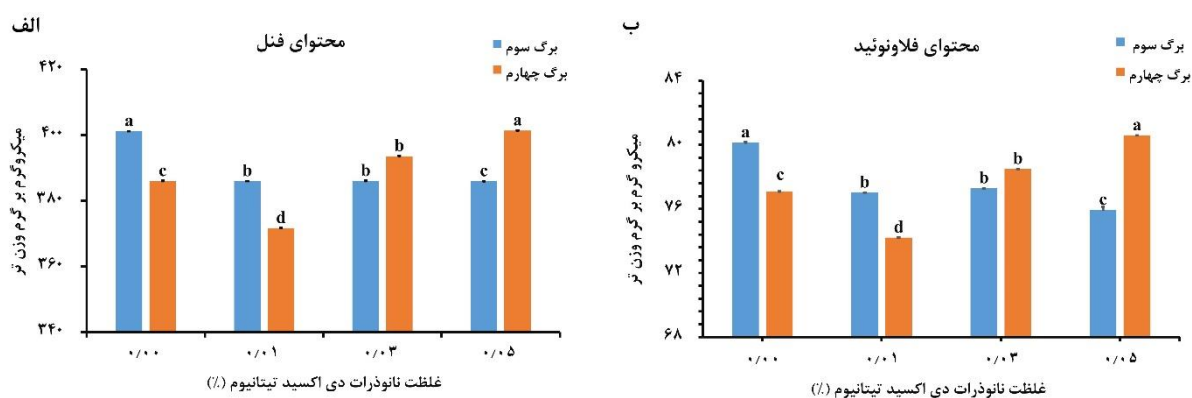
مورد کلروفیل b نیز در برگ چهارم، بیشترین مقدار به گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذره اختصاص داشت (شکل ۳ ب،  $p < 0.05$ ).



شکل ۳: تغییرات مقدار کلروفیل در الف برگ سوم و ب برگ چهارم گیاه گل‌ناز یخی تحت تاثیر چهار غلظت (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵ درصد) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم. مقادیر ذکر شده میانگین دوبر تکرار  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد.

### تاثیر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر محتوای فنل و فلاونوئید در گیاه گل‌ناز یخی

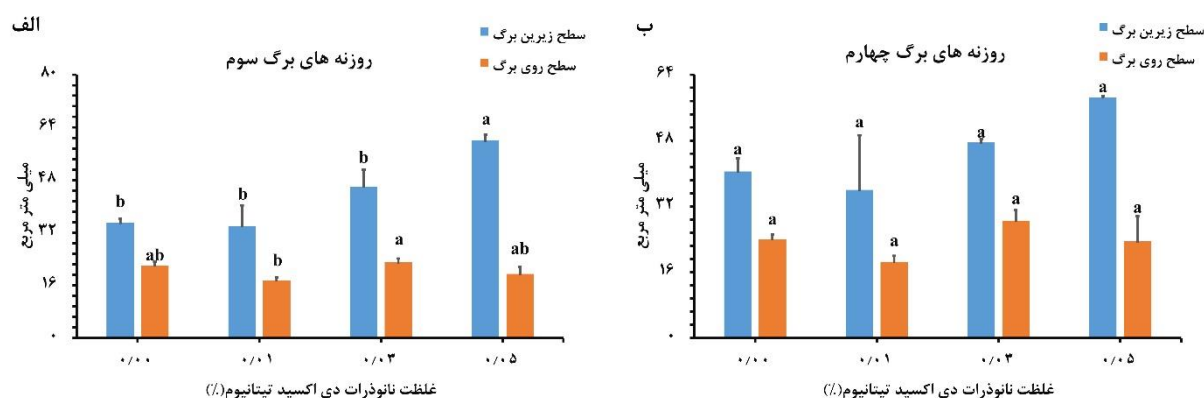
محتوای فنل و فلاونوئید مطابق با آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری را در میان گیاهان مورد بررسی نشان داد. بیشترین مقدار فنل در برگ سوم به گیاه شاهد (۴۰۱/۱۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار به گیاهان تحت تیمار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم مربوط بود و اما در برگ چهارم بیشترین مقدار فنل از تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذره (۴۰۱/۳۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار از گیاه تحت تیمار ۰/۰۱ درصد نانوذره (۳۷۱/۶۵ میکروگرم بر گرم وزن تر) به دست آمد (شکل ۴ الف،  $p < 0.05$ ). در مورد محتوای فلاونوئید در برگ سوم، بیشترین مقدار به گیاه شاهد و کمترین مقدار به گیاهان تحت تیمار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم تعلق داشت و در مورد محتوای فلاونوئید برگ چهارم نیز، بیشترین مقدار به گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذره (۸۰/۵۸ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار به گیاه تحت تیمار ۰/۰۱ درصد نانوذره (۷۴/۲۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) اختصاص داشت (شکل ۴ ب  $p < 0.05$ ).



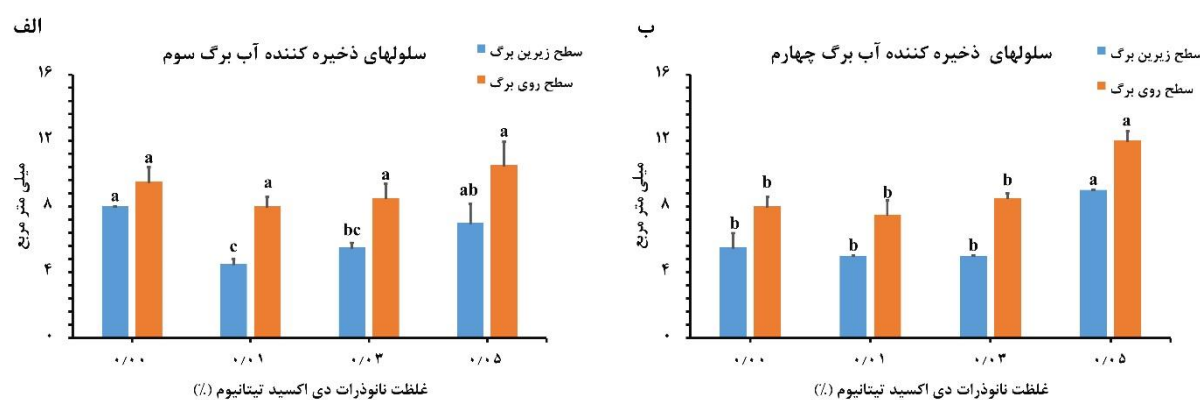
شکل ۴: تغییرات محتوای فنل و ب) فلاونوئید برگ سوم و چهارم گیاه گل‌ناز یخی تحت تاثیر چهار غلظت (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵ درصد) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم. مقادیر ذکر شده میانگین دو بار تکرار  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد.

### تاثیر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر ساختار تشریحی گیاه گل‌ناز یخی

اپی‌درم برگ گیاه گل‌ناز یخی از سلول‌های سنگ‌فرشی اپی‌درمی، روزنه و سلول‌های ذخیره‌کننده آب به‌صورت ایدوبلاست تشکیل شده است، روزنه‌های گیاه گل‌ناز یخی از نوع آنیزوساتیک (Anisocytic) بوده و تعداد روزنه‌ها در سطح زیرین برگ بیش‌تر است. در برگ سوم گیاهان مورد بررسی در این پژوهش، تعداد روزنه‌های سطح رویی با افزایش تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم افزایش قابل توجهی نشان نداد اما روزنه‌های سطح زیرین برگ روند روبه‌افزایشی داشت و بیش‌ترین مقدار نیز مربوط به تیمار ۰/۵۰ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با متوسط تعداد ۰۶ و کم‌ترین میانگین به‌گیاه شاهد با تعداد میانگین ۵۳ عدد مربوط بود (شکل ۵ الف  $p < 0/50$ ). در برگ چهارم نیز تعداد روزنه‌ها در تیمارهای مختلف مورد بررسی افزایش یا کاهش چندانی نداشت اما روزنه‌های سطح زیرین با این‌که تفاوت طبق آزمون دانکن معنی‌دار نبود اما یک روند افزایشی نسبت به‌هم نشان دادند (شکل ۵ ب  $p < 0/50$ ). تغییر در تعداد سلول‌های ذخیره‌کننده آب در بین گیاهان شاهد و گیاهان تحت تیمار معنی‌دار نبود. سلول‌های ذخیره‌کننده آب برگ سوم در سطح روی برگ در همه گیاهان مورد بررسی، چندان نسبت به‌هم تفاوت نداشتند و این سلول‌ها در سطح زیرین برگ بیش‌ترین مقدار را در گیاهان شاهد و گیاهان ۰/۵۰ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم داشتند (شکل ۶ الف  $p < 0/50$ ). در برگ چهارم، تعداد سلول‌های ذخیره‌کننده آب در گیاهان تحت تیمار ۰/۵۰ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نسبت به‌سایر گیاهان مورد بررسی هم در سطح روی و هم سطح زیرین برگ افزایش داشت (شکل ۶ ب  $p < 0/50$ ).

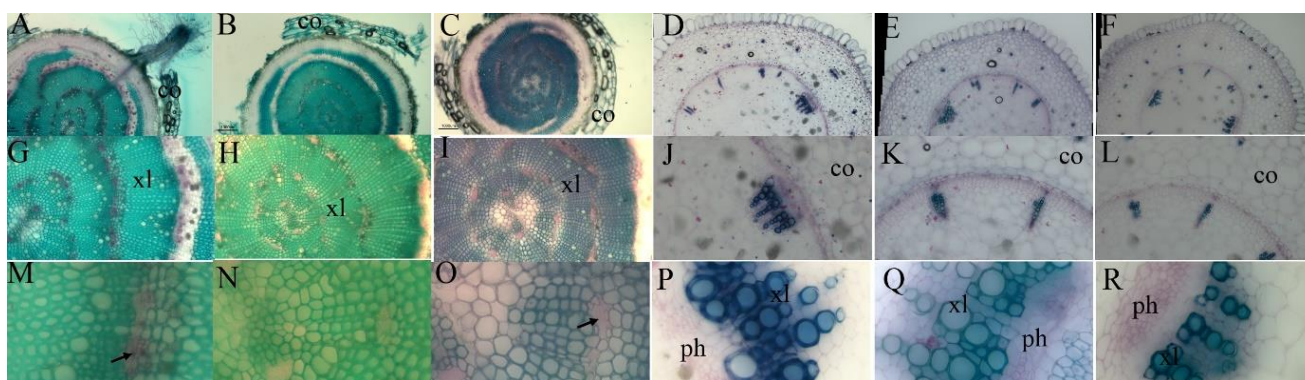


شکل ۵: تغییرات تعداد روزنه‌های الف) برگ سوم و ب) برگ چهارم گیاه گل‌نازیخی تحت تاثیر چهار غلظت (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵ درصد) نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم. مقادیر ذکر شده میانگین دوبرار تکرار  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد.



شکل ۶: تغییرات تعداد سلول‌های ذخیره‌کننده آب الف) برگ سوم و ب) برگ چهارم گیاه گل‌نازیخی تحت تاثیر چهار غلظت (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵ درصد) نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم. مقادیر ذکر شده میانگین دو بار تکرار  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد.

در بررسی‌های تشریخی برش عرضی ریشه، مطابق (شکل ۷ A-C) سلول‌های ناحیه‌ی پوست در گیاهان شاهد و تحت تنش دارای سلول‌های نامنظم است که به سمت مرکز بزرگ‌تر شده است. قطر دهانه آوندی در ریشه‌ی گیاهان تحت تیمار ۰/۰۵ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نسبت به گیاهان شاهد بیش‌تر بود (شکل ۷ O و جدول ۳). در برش عرضی ریشه‌ی گیاه گل‌ناز یخی وجود کامبیوم‌های متوالی مشاهده شد. نتایج حاصل از بررسی‌های تشریخی ساقه، نشان‌دهنده‌ی تغییرات تشریخی گیاه گل‌ناز یخی در گیاه شاهد و تحت تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌باشد. در گیاه شاهد قطر ناحیه استوانه آوندی نسبت به گیاهان تحت تیمار بیش‌تر بود (شکل ۷ D-F) و نیز قطر ناحیه استوانه آوندی در تیمار ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات تیتانیوم نسبت به سایر تیمارها کاهش یافت (شکل ۷ D-F). تعداد دستجات آوندی هم در گیاه شاهد و هم گیاه تحت تیمار به تعداد ۸ عدد بود؛ و تعداد دستجات آوندی پراکنده در ناحیه پوست در تیمار ۰/۰۵ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، ۱۷ و در تیمار ۰/۰۱ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، ۱۴ و در گیاه شاهد ۱۷ عدد بود. هم‌چنان که در شکل ۷ R دیده می‌شود، قطر دهانه آوندی در تیمار ۰/۰۵ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم کاهش پیدا کرده است و احتمالاً افزایش ضخامت دیواره به علت رسوب لیگنین می‌باشد (جدول ۳). از لحاظ وجود تغییر در شکل ساقه تقریباً تغییر خاصی مشاهده نشد.



شکل ۷: بررسی تغییرات تشریخی گیاه گل‌ناز یخی تحت تاثیر چهار غلظت (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵ درصد) نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم. A: برش عرضی ریشه گیاه شاهد B: برش عرضی ریشه گیاه تحت تیمار ۰/۰۱ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم C: برش عرضی ریشه گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم D: برش عرضی ساقه گیاه شاهد E: برش عرضی ساقه گیاه تحت تیمار ۰/۰۱ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم F: برش عرضی ساقه گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (اشکال A تا F با بزرگ‌نمایی 4X هستند) G: دستجات آوندی در ریشه گیاه شاهد H: دستجات آوندی در ریشه گیاه تحت تیمار ۰/۰۱ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم I: دستجات آوندی در ریشه گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم J: استوانه آوندی ساقه گیاه شاهد K: استوانه آوندی ساقه گیاه تحت تیمار ۰/۰۱ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم L: استوانه آوندی ساقه گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (اشکال G تا L با بزرگ‌نمایی 10X هستند) M: گزیلم و فلوئم ریشه گیاه شاهد N: گزیلم و فلوئم ریشه گیاه تحت تیمار ۰/۰۱ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم O: گزیلم و فلوئم ریشه گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم P: گزیلم و فلوئم در ساقه گیاه شاهد Q: گزیلم و فلوئم در ساقه گیاه تحت تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم R: گزیلم و فلوئم در ساقه گیاه تحت تیمار ۰/۰۱ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (اشکال M تا R با بزرگ‌نمایی 40X هستند) co: کورتکس xl: گزیلم ph: فلوئم رنگ‌آمیزی با کارمن زاجی و سبز متیل. علامت فلش در تصویر M و O نشان دهنده‌ی فلوئم می‌باشد.

جدول ۳: تاثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر شاخص‌های تشریخی گیاه گل‌ناز یخی در غلظت‌های (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۵ درصد)  $p < 0.05$

تیمار / پارامتر	کنترل	دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱	دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۵
قطر دهانه ی آوندی چوبی ریشه (um)	11±0.57c	15±1.52b	19±0.57a
قطر دهانه ی آوندی چوبی ساقه (um)	34±2.08b	41±1.73a	22/33±2/0.2c
ضخامت دیواره آوندی چوبی	2/6667± 0.33b	4/66± 0.33b	6/333± 0.33a

(um)ساقه

## بحث

امروزه استفاده وسیع از نانوذرات در تولید محصولات متعدد باعث ورود این مواد به محیط زیست و تجمع آن‌ها در آب، خاک و زمین شده و نگرانی‌هایی در این رابطه به وجود آورده است (۱۹). گیاهان جز اصلی اکوسیستم‌ها هستند و از طریق جذب و تجمع زیستی نقش مهمی در سرنوشت و انتقال نانوذرات در محیط دارند (۲۰). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم منجر به اثرات مختلفی بر خصوصیات ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه می‌شود. نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند به‌عنوان محرک گیاهان در نظر گرفته شود که مکانیسم‌های دفاعی مختلفی را در تحمل گیاهان در برابر عوامل مختلف تنش فعال می‌کند. اثرات منفی و سمی دی‌اکسید تیتانیوم بین بافت‌های گیاهی، مراحل رشد و گونه‌های گیاهی متفاوت براساس غلظت و خواص نانوذرات گزارش شده است. اثرات سمی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در جو، توتون، پیاز، گندم و spinach (۲۱) گیاهان گزارش شده است. به‌طور کلی، یافته‌های فعلی نشان می‌دهد بهره‌وری از گیاهان مقاوم به نانوذرات با اثر سمی یک رویکرد نویدبخش بسیار امیدوارکننده است که از پتانسیل بسیار خوبی برای استفاده گیاهان در پالایش آلودگی محیط می‌باشد، این مسئله در مورد گیاهان غیرخوراکی با قابلیت رشد وسیع در محیط‌های شهری بسیار اهمیت دارد که براساس نتایج این تحقیق گیاه گل‌ناز یخی *Aptenia cordifolia* با توان تحمل رشد در محیط حاوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم این امتیازات را دارد.

در محلول‌پاشی نانو ذرات بر گل‌ناز یخی بیش‌ترین مقدار طول ریشه مربوط به تیمار ۰/۰۵ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بود. پارامترهای ریخت‌شناسی نظیر وزن تر ریشه و اندام هوایی در گیاهان متاثر از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نسبت به گیاه شاهد کاهش نشان داد. مهار رشد ریشه در میان نانوذرات و گیاهان بسیار متفاوت است و به‌طور جزئی به غلظت نانوذرات بستگی دارد (۲۲). با تیمار نانوذرات نقره، نیکل، روی و روی-مس بر جوانه زنی گیاه یونجه، روند کاهش طول ریشه‌چه با افزایش غلظت در تمامی نانوذرات افزایش یافت، به‌طوری‌که نانوذره روی-مس بیش‌ترین کاهش و نانوذره نقره کم‌ترین کاهش در طول ریشه‌چه را نشان داد (۲۳). تاثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در سه گونه مختلف مورد بررسی قرار گرفته و اثرات مثبت و خنثی این نانوذره در طول ریشه مشاهده شده است، کاهو اثرات مثبت و منفی طول ریشه را پس از قرار گرفتن در معرض نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نشان داد. (۲۴). نتایج تحقیقی نشان داد که تیتانیوم و نانوتیتانیوم بر روی حجم ریشه، وزن تر و خشک ساقه، قطر ساقه و زمان تا اولین گل‌دهی تغییر معنی‌دار ایجاد نکرد اما در غلظت‌های بالاتر نانوتیتانیوم وزن تر و خشک، کاهش یافت و هم‌چنین تیتانیوم و نانوتیتانیوم بر ریشه موثرتر از ساقه یا قسمت هوایی بودند (۲۵). در آزمایشی مصرف نانوذرات اکسید روی از طریق افزایش سطح ایندول استیک اسید در ریشه نخود موجب افزایش رشد این گیاه شد (۲۶). کاربرد تیتانیوم در محلول غذایی و یا محلول‌پاشی روی برگ‌های گیاه باعث افزایش زیست توده و رشد گونه‌های مختلف گیاهی شده است (۲۷). غلظت مناسب نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم احتمالاً می‌تواند به‌عنوان محرک‌های خارجی برای بهبود رشد ساقه و محتوای اسانس در گیاهان استفاده شود (۲۸). مطالعات دیگر در مورد *Nicotiana tabacum* نشان داد که قرارگرفتن در معرض دی‌اکسید تیتانیوم اثر منفی بر طول ریشه پس از تیمار داشت (۲۹). در پژوهشی دیگر نانوذرات فلزی باعث افزایش نسبت اندام هوایی به ریشه در کاهو می‌شود (۳۰). گزارش شده است که طول ریشه گیاه پیاز، در طی تنش با نانوذرات نقره و در ذرت با نانو اکسید آلومینیوم کاهش یافت، دلیل این کاهش را می‌توان به کاهش جذب آب و اختلال در تقسیم سلولی نسبت داد (۳۱). نانوذرات ZnO اثر سمیت بر روی طول ریشه برنج نشان داده است (۳۲). کاهش رشد گندم و لوبیا در تیمار با نانوذرات مس مشاهده شده است (۳۳). نانولوله‌های کربنی (CNT) جوانه‌زنی و طویل شدن ریشه دانه

رست‌های گوجه‌فرنگی را بهبود می‌دهند (۳۴)؛ و نانوذرات آلومینیوم طولیل شدن ریشه تربچه و کلزا را تقویت می‌کند (۳۵). در بررسی پارامتر سطح برگ، کاهش سطح برگ در مورد برگ سوم و چهارم در تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات مشاهده شد. مهار سریع رشد برگ و ترشح در مورد گیاهان ذرت بعد از این که آن‌ها در معرض رسوب بنتونیت طبیعی یا تولید نانوذرات دی-اکسید تیتانیوم صنعتی قرار گرفتند، شناسایی شد (۳۶). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم، به‌وسیله پرکردن فضای بین میکروفیبریل‌های سلولزی در دیواره سلولی اثر منفی بر رشد برگ، فعالیت هیدروکسی ریشه و تعرق در گیاهچه ذرت دارد (۷۳). نتایج تحقیقات روی گیاه سویا نشان داده است که حرکت تیتانیوم کند است و در اندامی که تحت تیمار قرار می‌گیرد موثرتر است (۸۳). بی‌نظمی در مسیر انتقال آب و مواد معدنی یکی از راه‌های پیشنهادی برای این که نانوذرات چگونه موجب آسیب زدن به گیاه می‌شود را، بیان می‌کند (۹۳). تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم میزان کلروفیل را در گیاهان تحت تیمار نسبت به گیاه شاهد افزایش داد به طوری که بیش‌ترین میزان کلروفیل به گیاه تحت تیمار ۰/۵۰ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تعلق داشت. تیتانیوم از دو طریق باعث افزایش فتوسنتز می‌شود: اول از طریق تغییر در فعالیت پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز، از جمله فروکتوز ۶-۱ بی‌فسفاتاز که در چرخه کلون موثر است (۰۴) و آنزیم‌های لکوگونئوژناز و تغییر در چرخه پنتوز فسفات اکسیداز که در متابولیسم کربوهیدرات نقش دارد و دوم از طریق افزایش کلروفیل که باعث تحریک و افزایش فتوسنتز می‌شود (۱۴). نانو دی‌اکسید تیتانیوم به علت خواص ویژه الکتریکی، نوری و فوتوکاتالیستی خوبی که دارد کاربرد فراوانی در حوزه‌های مختلف از جمله کشاورزی دارد که این قدرت ناشی از شکل و اندازه ذرات این ماده است. تاثیر نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر روی کلروپلاست اسفناج زیر نور نشان داد که نانو دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند از پیری کلروپلاست در مدت زمان زیاد نور محافظت کند. همچنین دی‌اکسید تیتانیوم باعث فعال‌تر شدن روبیسکو و روبیسکو کریکسیلاز شده که خود باعث افزایش سرعت واکنش کربن فتوسنتزی می‌شود (۲۴). پس از کاربرد نانوذرات تیتانیوم، سرعت فتوسنتز، هدایت آب و سرعت تعرق در برگ‌های گوجه‌فرنگی افزایش پیدا کرد (۳۴). رشد گیاه فلفل ناشی از افزایش طول بوته‌ها بود که تیتانیوم با افزایش جذب نیتروژن منجر به افزایش فتوسنتز و در نتیجه افزایش طول بوته‌های فلفل شد (۴۴). با افزایش غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم محتوای کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در گیاه زیره سبز افزایش می‌یابد، در حالی که گیاه کنترل، کم‌ترین مقدار این صفات را داشت (۵۴).

در برگ سوم بیش‌ترین میزان فنل و فلاونوئید مربوط به گیاه شاهد و در برگ چهارم مربوط به تیمار ۰/۰۳ و ۰/۰۵ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بود. علت کاهش میزان فنل و فلاونوئید در برگ سوم در گیاهان تحت تیمار نسبت به شاهد می‌تواند به‌کارگیری یک مکانیسم دفاعی بهتر در این گیاه باشد. در نتایج تحقیقی نیز آنزیم کاتالاز در گیاهان تحت تیمار نسبت به گیاه شاهد در گیاه لوبیا کاهش داشت. عمل کرد فلاونوئیدها در برگ گیاهان به‌عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد منجر به حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های مختلف از جمله تنش اکسیداتیو می‌شود (۴۶). در نتایج پژوهش رضوی‌زاده و همکاران (۴۷) نیز افزایش فلاونوئید در تیمار بیست میلی‌گرم بر لیتر نقره در گیاه کلزا مشاهده شد. در تحقیقی بر روی گیاه سیاه‌دانه افزایش فلاونوئید در گیاهان تحت تیمار نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد. در نتایجی تحقیقی تاثیر سوسپانسیون‌های نانو ذرات اکسید روی بر روی دانه رست *Capsicum annuum* باعث مهار رشد دانه رست و تجمع ترکیبات فنولیک با تاثیر فیتوکسیکی در این اندام می‌شود (۴۸). در مطالعه‌ای دیگر تاثیر نانو ذرات  $\text{CuO}$  محتوای پلی‌فنولی را در ریشه و ساقه گیاهان *Ashwagandha* به‌طور چشمگیر افزایش داده است اما محتوای فلاونوئید در ریشه و ساقه گیاهان چشم‌گیر نبوده است (۴۹). در پژوهشی که تاثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر روی گیاه توتون در حالت طبیعی و تریخته پاش‌های متفاوتی داشتند و محتوای قند و فلاونوئید در عصاره برگ گیاهان تریخته افزایش داشت که گیاهان با افزایش میزان فلاونوئید آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش داده‌اند (۵۰).

بررسی تشریحی ریشه گیاه تحت تنش افزایش قطر دهانه‌ی آوندی ریشه نسبت به قطر دهانه‌ی آوندی در گیاه شاهد را نشان داد در ساقه گیاهان نیز بررسی‌های تشریحی کاهش قطر دهانه‌ی آوندی در گیاه تحت تیمار نسبت به شاهد مشاهده شد. باتوجه به این که محلول پاشی بر روی برگ‌ها و اندام هوایی گیاه انجام گرفته است. بنابراین این قسمت از گیاه بیش تر تحت تنش اکسیداتیو بوده و کاهش قطر دهانه آوندی در ساقه و لیگنینی شدن یکی از مکانیسم‌های سازشی گیاه در برابر استرس اکسیداتیو بوده و برای افزایش هدایت آب می‌باشد و نیز با توجه به نتایج تحقیق Tighe-Neira همکارانش (۵۱) که اثر دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش گذرای فتوسنتز و راندمان مصرف آب در گیاه ترب (*Raphanus sativus L.*) شده است چون در گیاه تحت تنش ما نیز میزان کلروفیل افزایش یافته است به همین دلیل افزایش قطر دستجات آوندی در ریشه ممکن است به افزایش آب درونی لازم و انتقال راحت تر آب از ریشه به اندام هوایی کمک کند. به نظر می‌رسد اثر متقابل نانوذرات عناصر و گیاهان موجب آزاد شدن عنصر مربوطه از این ذرات می‌شود یا به عبارتی نانوذره دریافتی توسط گیاه، منبعی را فراهم می‌کند که عنصر مربوطه و سلول‌های گیاهی برهم کنش داشته باشند و موجب افزایش سمیت نانوذره شود. نانوذرات با عبور از دیواره سلولی و لایه اپی‌درم ریشه به درون گیاه نفوذ کرده و به ساقه و برگ راه پیدا می‌کنند. مطالعات نشان داده که تغییرات محیطی می‌تواند منجر به تغییرات تشریحی در سلول و بافت‌های گیاهی شود. در پژوهشی، در غلظت بالای نانوذرات اکسید روی آشفستگی در بافت‌های ریشه لوبیا مشاهده شد، هم‌چنین منجر به گسترش سیستم واکوئلی در سلول‌های پارانشیم پوست و فشرده شدن استوانه آوندی شد (۲۵). نتایج نشان می‌دهد تاثیر نانوذرات در مسیر مکانیسم ژنتیکی هورمون‌های رشد می‌تواند در شکل‌گیری آوندهای آبکش و چوب تاثیرگذار باشد. بنابراین تغییر شکل برخی سلول‌های بافت آوند چوب ریشه قابل توجه خواهد بود (۳۵). هم‌چنین به گفته برخی محققان تاثیر نانوذرات بر دیواره سلولی موجب تغییر شکل سلول شده است. در پژوهشی در تیمار سیلیس و نانوذرات سیلیس بر روی گیاه شنبلیله افزایش قطر استوانه آوندی مرکزی ریشه را در ریشه‌های جوان بخش چوبی آندودرم را گزارش کردند. تغییرات در دیواره سلولی، مانند لیگنینی شدن، به سلول‌های گیاهی به‌عنوان یک مانع فیزیکی کمک می‌کند تا از ورود فلزات سنگین به سیتوپلاسم جلوگیری کند. در برخی مطالعات فلزات سنگین تمایز زودرس و چوبی شدن دیواره سلول‌های واقع در منطقه رشد طولی ریشه را تحریک نموده و از رشد آن ممانعت می‌نماید (۴۵).

### نتیجه‌گیری

نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم یکی از بیش‌ترین نانوذرات تولید شده در جهان است و طبق فهرست محصولات مصرفی نانو تکنولوژی رایج‌ترین نانوذره اکسیدهای فلزی در محصولات می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده‌اند که این نانوذرات مطمئناً در محیط زیست انتشار می‌یابند. تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب کاهش فاکتورهای رشدی اعم از ارتفاع، سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گل‌ناز یخی در گیاهان تحت تیمار نسبت به گیاه شاهد شد. تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a و b در گیاه گل‌ناز یخی شد. به نظر می‌رسد گونه‌ی *A. cordifolia* دارای تنوعی از مکانیزم‌ها در برخورد با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم است که قادر به حداقل رساندن اثرات نامطلوب در گیاه می‌شود. بیش‌ترین میزان فنل و فلاونوئید به گیاهان تحت تیمار ۰/۰۵ و ۰/۰۳ درصد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مربوط بود. ریشه به‌عنوان اندام تحت تنش بیش‌ترین تغییر را نشان داد. مشاهدات مقایسه‌ای میکروسکوپی نشان داد که تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در ریشه‌ی گیاه گل‌ناز یخی باعث افزایش قطر دهانه‌ی آوندها و کاهش ضخامت دیواره‌ی عرضی آوندها در ساقه‌ی تیمار ۰/۰۵ درصد شد. باتوجه به توانایی رشد گل‌ناز یخی در غلظت‌های مختلف نانوذره تیتانیوم به‌عنوان فراوان‌ترین نانوذره موجود در محیط حاصل از فعالیت‌های صنعتی و پاسخ‌های متفاوت ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی، رنگیزه‌های فتوسنتزی

و تشریحی که بیان‌گر پتانسیل و توان ژنتیکی این گیاه برای رشد در محیط آلوده به نانوذرات است، با توجه به سهولت رشد، عدم‌استفاده خوراکی و وجود ویژگی‌های جذاب زینتی، کشت این گیاه در محیط‌های آلوده و صنعتی توصیه می‌شد. البته سنجش میزان تجمع این نانوذره در گیاه و نحوه امحا بیومس خشک گیاه از مواردی است که باید مورد تحقیق قرار گیرد.

### قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه تبریز و دانشگاه شهید چمران اهواز به لحاظ تامین هزینه‌های این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### منابع

1. Yang L, Watts DJ. Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. *Toxicology letters*. 2005; 158(2), 122-132.
2. USEPA. Document Number EPA 100, B-07001 1 February 2007, [www.epa.gov/osa](http://www.epa.gov/osa).
3. Shi H, Magaye R, Castranova V, Zhao J. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Particle and Fibre Toxicology*. 2013;10(1): 1-33.
4. Macwan DP, Dave PN, Chaturvedi S. A review on nano-TiO<sub>2</sub> sol-gel type syntheses and its applications. *Journal of Materials Science*. 2011; 46(11): 3669-3686.
5. Manchikanti P, Bandopadhyay TK. Nanomaterials and effects on biological systems: development of effective regulatory norms. *NanoEthics*. 2010; 4: 77-83.
6. Cho KH, Park JE, Osaka T, Park SG. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. *Electrochimica Acta*. 2005; 51(5): 956-60.
7. Da Silva LC, Oliva MA, Azevedo AA, De Araujo JM. Responses of restinga plant species to pollution from an iron pelletization factory, *Water Air Soil Pollut*. 2006; 175(1-4): 241-256.
8. Ove ka M, Lang I, Baluska F, Ismail A, et al. Endocytosis and vesicle trafficking during tip growth of root hairs. *Protoplasma*. 2005; 226(1-2): 39-54.
9. Menard A, Drobne D, Jemec A. Ecotoxicity of nanosized TiO<sub>2</sub>. Review of in vivo data. *Environmental Pollution*. 2011; 159(3): 677-684.
10. Laware SL., Raskar S. Effect of titanium dioxide nanoparticles on hydrolytic and antioxidant enzymes during seed germination in onion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2014;3(7): 749-760.
11. Gohari G, Mohammadi A, Akbari A, Panahirad S. et al. Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. *Scientific reports*. 2020; 10(1): 1-14.
12. Jalali M, Ghanati F, Modarres-Sanavi AM, Khoshgoftarmanesh AH. Physiological effects of repeated foliar application of magnetite nanoparticles on maize plants. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2017;203(6): 593-602.
13. Wang XP, Li QQ, Pei ZM, Wang SC. Effects of zinc oxide nanoparticles on the growth, photosynthetic traits, and antioxidative enzymes in tomato plants. *Biologia plantarum*. . 2018; 62(4): 801-808.
14. Janmohammadi M, Amanzadeh T, Sabaghnia N, Dashti S. Impact of foliar application of nano micronutrient fertilizers and titanium dioxide nanoparticles on the growth and yield

- components of barley under supplemental irrigation. *Acta Agriculturae Slovenica*. 2016;107(2): 265-276.
15. Şükran DERE, GÜNEŞ T, Sivaci R. Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*. 1998; 22(1): 13-18.
  16. Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*. 2005; 91(3): 571-577.
  17. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*. 2002; 10(3): 178-182.
  18. Brien TP, Feder N, McCully ME. Polychromatic staining of plant cell walls. *Protoplasma*. 1964; 59:368–373
  19. Nel A, Xia T, Madler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*. 2006; 311(5761):622–627.
  20. Monica RC, Cremonini R. Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*. 2009; 62(2): 161-165.
  21. Gohari G, Mohammadi A, Akbari A, Panahirad S. et al. TiO<sub>2</sub> nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. *Scientific reports*. 2020; 10(1): 912.
  22. Lin D, Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution (Barking, Essex : 1987)*. 2007;150(2):243-250.
  23. Ramazani F, Shayanfar A, Tavakol Afshari R, Rezaei K. Effects of silver, nickel, zinc and zinc – copper nanoparticles on germination, seedling establishment and enzyme activity of alfalfa (*Medicago sativa*) seed. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 2015;45(1): 107-118.
  24. Song U, Shin M, Lee G, Roh J. et al. Functional analysis of TiO<sub>2</sub> nanoparticle toxicity in three plant species. *Biological Trace Element Research*. 2013; 155(1): 93-103.
  25. Haghghi M, Daneshmand B. Comparison of the effect of titanium and nanotitanium on growth and photosynthetic changes of tomatoes in the hydroponic system. *Science and technology of greenhouse cultivation*. 2012; 4(1): 73-80.
  26. Pandey AC, Sanjay SS, Yadav RS. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum* L. *Journal of Experimental Nanoscience*. 2010; 5: 488-497.
  27. Carvajal M, Alcaraz CF. Why titanium is a beneficial element for plants. *Journal of Plant Nutrition*. 1998; 21(4): 655-664.
  28. Mohammadi H, Esmailpour M, Gheranpaye A. Effects of TiO<sub>2</sub> nanoparticles and water-deficit stress on morpho-physiological characteristics of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) plants. *Acta agriculturae Slovenica*. 2016; 107(2): 385 – 396
  29. Frazier TP, Burklew CE, Zhang BH. TiO<sub>2</sub> nanoparticles affect the growth and microRNA expression of tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Functional & Integrative Genomics*. 2014; 14(1): 75-83.
  30. Shah V, Belozerova I. Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds. *Water, air, and soil pollution*. 2009; 197(1-4): 143-148.

31. Kumari M, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*, Science of the total environment. 2009;407(19): 5243–5246.
32. Zheng L, Hong F, Lu S, Liu C. Effect of nano-TiO<sub>2</sub> on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. Biological trace element research. 2005; 104(1): 83–92.
33. Lee W, An Y, Yoon H, Kweon H. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal. 2008; 27: 1915–1921.
34. Khodakovskaya M, Dervishi E, Mahmood M, Xu Y, et al. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. ACS nano. 2009; 3(10), 3221-3227.
35. Niemeyer, C. M., and Mirkin, C. A. Nanobiotechnology: concepts, applications and perspectives. John Wiley & Sons. 2004; (1):491.
36. Asli S, Neumann PM. Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. Plant, cell & environment. 2009; 32(5): 577-584
37. Asli S, Neumann PM. Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. Plant, cell & environment. 2009; 32(5), 577-584
38. Lu CM, Zhang CY, Wu JQ, Tao MX. Research of the effect of nanometer on germination and growth enhancement of Glycine max and its mechanism. Soybean Science. 2002; 21:168-172.
39. Lee J, Jong P, Kyeong SU. Effect of potassium silicate on growth, photosynthesis, and inorganic ion absorption in cucumber hydroponics. Journal of the Korean Society for Horticultural Science. 2000; 41(5): 480-484.
40. Daood HG, Biacs P, Feher M, Hajdu F, et al. Effect of titanium on the activity of lipoxygenase. Journal of plant nutrition. 1998; 11(5): 505-516.
41. Kiss F, Deak G, Feher M, Balogh A, et al. The effect of titanium and gallium in photosynthetic rate of algae. Journal of plant nutrition. 1985; 8(9): 825-832.
42. Gao F, Hong F. Effects of nanoanatase TiO<sub>2</sub> on photosynthesis of spinach chloroplasts under different light illumination. Biological Trace Element Research. 2007; 119(1):68–76.
43. Qi M, Liu Y, Li T. Nano-TiO<sub>2</sub> improves the photosynthesis of tomato leaves under mild heat stress. Biological Trace Element Research. 2013;156(1-3): 323-328.
44. Martínez-Sánchez F, Carvajal M, Frutos MJ, Giménez JL, et al. Titanium in the nutrition of *Capsicum annuum* L. plants. Ciencia Agronómica. 1991; 11: 73-78.
45. Khanjanzadeh H., Morteza T., Morteza E. Study the effects of nano titanium dioxide on non-enzymatic mechanisms of cumin. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science. 2017; 12(5):161-166.
46. Chehreghani Rad, Mohsenzadeh, Motabarnia & Shirkhani. Developmental and biochemical responses of *Phaseolus vulgaris* L. to Aluminum oxide nano-particles treatment. Journal of Cell & Tissue. 2016;7(1): 19-32.
47. Razavizadeh R, Tabatabaee pozveh Z, Rostami F. Effect of silver nanoparticles on vegetative growth indices and physiological parameters of rapeseed (*Brassica napus* L.) under in vitro condition. Scientific Journal of Plant Ecophysiology. 2014; 7(22):236-221.

48. García-López JI, Zavala-García F, Olivares-Sáenz E, Lira-Saldívar RH. et al. Zinc oxide nanoparticles boosts phenolic compounds and antioxidant activity of *Capsicum annuum* L. during germination. *Agronomy*. 2018;8(10), 215.
49. Singh OS, Pant NC, Laishram L, Tewari M. et al. Effect of CuO nanoparticles on polyphenols content and antioxidant activity in Ashwagandha (*Withania somnifera* L. Dunal). *J. Pharmacogn. Phytochem*. 2018; 7(2): 3433-3439.
50. Sompornpailin K, Chayaprasert W. Plant physiological impacts and flavonoid metabolic responses to uptake TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Australian Journal of Crop Science*. 2020; 14(4): 581-587.
51. Tighe-Neira R, Reyes-Díaz M, Nunes-Nesi A, Recio G. et al. Titanium dioxide nanoparticles provoke transient increase in photosynthetic performance and differential response in antioxidant system in *Raphanus sativus* L. *Scientia Horticulturae*. 2020; 269: 109418.
52. Mahajan P, Dhoke SK, Khanna AS. Effect of Nano-ZnO Particle Suspension on Growth of Mung (*Vigna radiata*) and Gram (*Cicer arietinum*) Seedlings Using Plant Agar Method. *Journal of Nanotechnology*. 2011; 2011: 696535.
53. Aslani F, Bagheri S, Muhd Julkapli N, Juraimi AS. et al. Effects of engineered nanomaterials on plants growth: an overview. *The Scientific World Journal*. 2014; 2014: 641759.
54. Tangahu BV, Sheikh Abdullah SR, Basri H, Idris M. et al. A Review on Heavy Metals (As, Pb, and Hg) Uptake by Plants through Phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*. 2011; 2011: 939161.

## Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on physiological and anatomical characteristics of Baby sun rose (*Aptenia cordifolia*)

Ahmadi L<sup>1</sup> M.Sc., Kolahi M<sup>2</sup> Ph.D., Mohajjel Shoja H<sup>1</sup> Ph.D., Mohajel Kazemi E<sup>1</sup> Ph.D.

1. Department of Plant Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Biology Department, Science Faculty, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

\* Email corresponding author: m.kolahi@scu.ac.ir

Received: 22 Jul. 2020

Accepted: 7 Dec. 2020

---

### Abstract

**Aim:** In this study, the effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles, as nanoparticles that are the most widely used in industry, on the morphological, and anatomical and biochemical properties of the baby sun rose *Aptenia cordifolia* was studied by method of spraying in four different concentrations.

**Material and Methods:** Titanium dioxide nanoparticles were sprayed on the baby sun rose plant twice a week. Growth parameters and chlorophyll content, phenol and flavonoids were measured. To study the anatomical structure of the plant; manual cutting, composite staining and Stomatal count were performed. Data analysis was performed using SPSS 16 software and the Duncan test.

**Results:** Treatment of titanium dioxide nanoparticles significantly increased photosynthetic pigments of chlorophyll a and b in the treated plants. The highest amount of phenol and flavonoids in the fourth leaf was related to the plant treated with 0.05% titanium dioxide nanoparticles. Also, the treatment of titanium dioxide nanoparticles increased the vascular diameter in the root and decreased the vascular diameter in the stem of some treatments.

**Conclusion:** The different morphological, biochemical, and anatomical responses of the baby sun rose to indicate the plant's genetic potential for growth in an environment contaminated with titanium dioxide nanoparticles.

**Keywords:** Titanium dioxide, *Aptenia cordifolia*, Physiological , Anatomical