

مقایسه اثر نانوذرات سبز و سنتزی دی اکسید تیتانیوم بر بهبود مقاومت گیاه گوجه فرنگی رقم ارلی اوربانا (*Solanum lycopersicum* Var. Early Urbana) به تنش فلز سنگین نیکل

حسین مظفری^{۱*}، سید مظفر منصوری^۲ و حسن سالاری^۱

^۱ گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران
^۲ گروه تنوع زیستی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۶/۱۹)

چکیده

سمیت فلز سنگین نیکل در گیاهان، موجب القا تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های پرانرژی (ROS) مانند سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و هیدروکسیل ($OH^\cdot$) می‌شود. اگر میزان تجمع ROS از توانایی سیستم آنتی‌اکسیدانی بیشتر گردد، سلول دچار آسیب شده و گیاه حساس گوجه‌فرنگی دچار کاهش رشد می‌شود. کاربرد نانوذرات تیتانیوم از طریق افزایش توان آنتی‌اکسیدانی و بهبود رشد گیاه موجب افزایش مقاومت به تنش نیکل می‌شود. در این پژوهش اثر مقایسه‌ای و متقابل ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از دو نوع نانوذرات سبز (GNP) با استفاده از عصاره گیاهی پونه و سنتزی (SNP) دی‌اکسید تیتانیوم با اندازه ۱۰ تا ۳۰ نانومتر بر بهبود رشد و مقاومت گوجه‌فرنگی رقم ارلی اوربانا تحت تنش ۱۵۰ میکرومولار سولفات نیکل II در محیط گلخانه بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مطالعه گردید. نتایج نشان داد که کاربرد جداگانه دو نانوذره سبز (GNP) و سنتزی تیتانیوم (SNP)، اثر معنی‌دار بر بهبود وزن تر ساقه (۱۶/۳۸ گرم) و رشد طولی ریشه (۳۰/۰۴ سانتی‌متر)، نشت یونی (Ca^{2+} ، MDA ۰/۰۸۴ نانومولار)، تجمع پتاسیم ریشه (۱/۶۹٪) در شرایط تنش نیکل داشت. اما کاربرد متقابل نانوذرات سبز با نوع سنتزی موجب بهبود بیشتر صفات سنجش شده مانند تغذیه منیزی ساقه (۷/۳۴٪)، آهن ساقه (۲/۷۹٪)، تجمع نیکل ساقه (۰/۰۲۸٪)، فعالیت آنزیم کاتالاز (۸/۲۹ واحد آنزیمی) و سطح برگ (۱۱/۶ سانتی‌متر مربع) تحت تیمار سمیت ۱۵۰ میکرومولار نیکل گردید و توانست آثار سمی تنش نیکل را به خوبی تخفیف دهد. بنابراین در برخی صفات دیگر مانند بهبود تجمع H_2O_2 ساقه (۴/۶ میکرومولار)، کاربرد جداگانه نانوذرات سبز تحت تنش نیکل، اثر بهتری نسبت به نانوذرات سنتزی تیتانیوم داشت. بهر حال کاربرد نانوذرات سبز تیتانیوم بصورت جداگانه یا توأم موجب افزایش بیشتر مقاومت گیاهان تحت تنش نیکل گردید و یک روش پیشنهادی سازگار با محیط‌زیست است.

واژه‌های کلیدی: تنش نیکل، دی‌اکسید تیتانیوم، شاخص‌های اکسیداتیو، گوجه‌فرنگی، نانوذرات سبز

مقدمه

فلزات سنگین مانند نیکل در صورت تجمع و آزادشدن در غذایی وارد می‌شوند و اثرات نامطلوب فراوانی را در گیاهان و محیط رشد ریشه و جذب به درون ریشه گیاه، به زنجیره‌های

(Feizi et al., 2013) و تنش‌ها اهمیت قابل توجهی دارند. به‌طوری‌که نانوذرات با افزایش درصد جوانه‌زنی و رشد ریشه و ساقه، بهبود فتوسنتز، تجزیه مولکول‌های رادیکال باعث افزایش رشد گیاه شده و گیاه را در مقابل تنش‌ها مقاوم‌تر می‌کند. کاربرد نانوذرات تیتانیوم در گیاهان موجب بهبود تغذیه گیاه و جذب عناصر مهمی مانند نیتروژن، منیزیم و غیره می‌شود و همچنین بهبود محتوای آب گیاه می‌گردد (هاشمی دهکردی و همکاران، ۱۳۹۵). کاربرد نانوذرات تیتانیوم در گیاهان دیگر نیز بر بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های مربوطه اثر داشته است (Zheng et al., 2005). همچنین در جوانه‌زنی پیاز (*Allium sativum*) موجب مهار جوانه‌زنی بذر و رشد بهتر نهال، بهبود فعالیت آمیلاز، کاتالاز و سوپراکسیداز گردید (Zheng et al., 2007).

در تحقیقی دیگر، اثر نانو ذرات در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) باعث افزایش جوانه‌زنی بذر، افزایش طول ریشه و ساقه شد. در گیاه گندم (*Triticum sp.*) نیز باعث افزایش رشد گیاه (Larue et al., 2012) شد و بهبود فعالیت آنزیم نترات ردوکتاز و گلوتامات دهیدروژناز را افزایش داد (Berahmand et al., 2012). همچنین کاربرد نانوذرات باعث افزایش رشد دانه و افزایش سنتز کلروفیل شده و فعالیت آنزیم رویسکو را افزایش داد و فتوسنتز را بهبود بخشید و باعث افزایش رشد گیاه و دانه شد (Mohammadi et al., 2013). این نانوذرات مانع از پیری کلروپلاست شده و مدت زمان فتوسنتز را افزایش می‌دهد همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز و پراکسیدازها را بهبود می‌دهد (Singh et al., 2021).

ثابت شده که نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش نرخ فتوسنتز موجب بهبود رشد گیاه اسفناج می‌شود (Zheng et al., 2005). محققان ثابت کردند که کاربرد غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره TiO_2 ، منجر به افزایش طول ریشه و ساقه گیاهان می‌شود (Jonapa-Hernandez et al., 2020). کاربرد نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم در پژوهش‌های مختلف موجب افزایش جذب نور، بازده فتوسنتز و جذب نترات شده در نتیجه وزن

حتی انسان ایجاد می‌کند (Alam et al., 2007; Ahmad et al., 2007). نفوذ نیکل در خاک و جذب آنها توسط گیاهان، می‌تواند در بسیاری از واکنش‌های آنزیمی و متابولیکی گیاهان اختلال ایجاد کند (Brake et al., 2004). هر چند نیکل نقش مهمی در برخی فعالیت‌های متابولیکی گیاهان مانند رفع سمیت اوره دارد (Brown et al., 1990)، اما افزایش غلظت‌های سلولی نیکل، تنش‌زا است (Ali et al., 2009; Ashraf et al., 2015).

تنش فلزات سنگین از جمله نیکل در گیاهان موجب القا تولید رادیکال‌های پرانرژی مانند سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، هیدروکسیل ($\text{OH}^\cdot$) و اکسیژن یکتایی (O_2) شده و این موضوع منجر به بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان تحت تنش می‌شود (Alidadi et al., 2016). هنگامی که میزان ROS تولیدشده از توانایی سیستم آنتی‌اکسیدانی برای حذف شرایط تنش اکسیداتیو بیشتر شود، اجزا سلولی به ویژه غشاءها دچار آسیب شده و گیاهان حساسی مانند گوجه‌فرنگی دچار کاهش رشد، مقاومت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد می‌شوند (Chen et al., 2009; Azooz et al., 2011). سمیت نیکل ممکن است حاصل تغییر فرآیندهای متعدد فیزیولوژیکی در سطح سلولی و مولکولی و یا از طریق غیرفعال کردن آنزیم‌ها، غیر فعال کردن گروه‌های فعال پروتئین‌های مهم گیاه، اختلال در تغذیه عناصر ضروری گیاه و در فعالیت غشاءها به ویژه غشاهای کلروپلاستی نیز باشد. افزایش تجمع ROS و بروز تنش اکسیداتیو منجر به پراکسیداسیون لیپیدها، تجزیه ماکرومولکول‌ها، آسیب غشایی، نشت یونی و تخریب ملکول‌های DNA نیز می‌شود (Chen et al., 2009).

در سال‌های اخیر استفاده از نانوذرات مختلف، اهمیت زیادی جهت بهبود و افزایش مقاومت گیاهان تحت تنش‌های مختلف، پیدا نموده است (Hatami et al., 2014; Hezaveh et al., 2020). در تنش‌های مختلف کاربرد نانوذرات موجب تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی شده است (Rasheed et al., 2022). نانوذرات فلزی مانند تیتانیوم به شکل بلوری آناتاز به دلیل خواص فیزیکی، شیمیایی و فیزیولوژیکی منحصر به فردی که در گیاهان دارند و در کشاورزی، گیاهان دارویی

تر و خشک در گیاهان شاهد و تحت تنش بهبود یافته است (Nasir khan et al., 2023).

استفاده از نانوذره اکسید تیتانیوم، گیاه را به تنش‌های اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد مقاوم‌تر نموده است (Wu et al., 2017). همچنین در گیاهان تحت تنش شوری غلظت پروتئین نیز در حضور نانو ذرات افزایش می‌یابد (Laware and Raskar, 2014)، در پژوهش‌هایی اثر مفید نانوذرات دی اکسیدتیتانیوم بر رشد و نمو گیاه ثابت شده است. در بسیاری از گیاهان از جمله ذرت، گندم، چاودار، یونجه، سویا، کلزا، گوجه‌فرنگی، تربچه، کاهو، اسفناج، پیاز، کدوتنبل و خیار صفات مورفولوژیکی شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه و ساقه بهبود یافت (Moaveni et al., 2011). اثر نانوذرات بر بسیاری از صفات فیزیولوژیکی مربوط به رشد و نمو گیاه جو نیز گزارش شده است (Wu et al., 2011). گزارش شده ذرات تیتانیوم بر جوانه‌زنی و طول ریشه اثر گذاشته و همچنین باعث افزایش قطر ساقه و حجم ریشه در گیاهان تحت تیمار می‌شود. در تحقیق دیگر نانوذره تیتانیوم بر بهبود حجم ریشه، محتوای نسبی آب و وزن تر ریشه اثر مفید دارد (Moshirian Farahi et al., 2023). در پژوهشی، تنش خشکی قبل از گرده‌افشانی باعث کاهش رشد و نمو گیاهان، ارتفاع بوته‌ها، وزن سنبله‌های گندم شد و کاربرد نانوذرات تیتانیوم رشد گیاه گندم و محصولات آن را در شرایط تنش کم-آبی بهبود بخشید (Jacob et al., 2013).

تا کنون مطالعات زیادی در زمینه پاسخ گیاهان به تنش نیکل صورت گرفته است (Pandey et al., 2006). ثابت شده که میزان نیکل موجود در بافت‌های گیاهی ارتباط مستقیمی با غلظت نیکل موجود در محیط کشت گیاه دارد (Maheshwari and Dubey, 2009). یون‌های نیکل به آسانی توسط ریشه گیاهان حساس مانند گوجه‌فرنگی جذب شده و موجب بروز آثار سمی در گیاهان و تجمع در اندام‌های مختلف به ویژه برگ شوند و از این طریق می‌توانند به محیط‌زیست انسان نیز نفوذ نمایند (Sreekanth et al., 2013).

گیاهان به منظور سازگاری و تحمل بیشتر در مقابل تنش‌های

محیطی از جمله تنش نیکل، مکانیسم‌های فیزیولوژیکی متفاوتی را در خود گسترش داده‌اند (Gopal and Nautiyal, 2012). مقادیر سمی و بیش از نیاز نیکل در گیاهان حساس، موجب بروز اثرات منفی فیزیولوژیک مانند کاهش رشد و عملکرد گیاه، کاهش رشد ریشه و برگ، بازدارندگی فعالیت برخی آنزیم‌ها، کاهش سطح برگ و ماده خشک گیاه، القاء تنش اکسیداتیو، آسیب به دستگاه فتوسنتزی، تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی و اختلال تغذیه‌ای گیاه می‌گردد (Gajewska et al., 2012). سلول‌های گیاه برای حفاظت در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو، مجهز به یک سیستم حذف رادیکال‌های آزاد هستند. این سیستم شامل چرخه گلوکاتیون-آسکوربات، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و نیز مسیر آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی است. همچنین گیاهان از طریق روش‌های دیگری مانند کاهش جذب و انتقال نیکل در بافت‌های مختلف گیاه به ویژه بافت ریشه، افزایش عملکرد دیواره سلولی، کاهش جذب نیکل از طریق جذب کلسیم بیشتر، در مقابل تنش نیکل مقاومت می‌کنند (Fabiano et al., 2015). تأثیر این مکانیسم‌های مقاومت‌زای ذکرشده موجب تخفیف تنش ثانویه اکسیداتیو ناشی از تنش نیکل می‌شود (Gill and Tuteja, 2010).

گزارش شده که فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در لپه‌ها، هیپوکوتیل‌ها و ریشه‌چه‌های گیاه توری (Cylindrica luffa) به‌طور معنی‌داری با بروز غلظت نیکل افزایش یافت (Gad et al., 2007). حضور نیکل در محیط کشت اثر نامطلوب بر سرعت جوانه‌زنی، محتوای آب در گیاه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه، میزان فتوسنتز، تعادل تغذیه‌ای گیاه و فعالیت آنزیم‌ها دارد. در گیاهان برنج تحت تنش ۱ میلی‌مولار نیترات نیکل، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتیون ردوکتاز در ریشه و برگ‌ها بهبود یافت (de Queiroz Barcelos et al., 2017). میزان مقاومت گیاهان به تنش نیکل به توانایی آنها در کاهش تحرک نیکل در دیواره‌های سلولی، تولید اسمولیت‌های مفید و بازده بیشتر سیستم آنتی‌اکسیدانی

مواد و روش‌ها

طراحی پژوهش و گروه‌های تیماری: ترکیب تیمارهای این پژوهش با آزمایش فاکتوریل تعیین گردید (جدول ۱) و سپس در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار در محل گلخانه دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان در سال ۱۴۰۱-۱۴۰۰ اجرا گردید. بذر گوجه‌فرنگی رقم ارلی-اوربانا از شرکت بذر فلات ایران-تهران تهیه شد. گروه‌های تیماری این پژوهش شامل ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره سنتزی و سبز دی‌اکسید تیتانیوم بودند. لازم به ذکر است که نانوذرات سنتزی از شرکت پیشگامان نانو ایرانیان-مشهد تهیه شدند و نانوذره سبز نیز حاصل پژوهش‌های قبلی که تست xrd و اسپکتروفتومتری آنها انجام شده بود. همچنین تنش نیکل در دو غلظت (صفر و ۱۵۰ میکرومولار سولفات نیکل II، شرکت مرک) مورد استفاده قرار گرفت (شکل‌های ۱ و ۲) (Hatami et al., 2014; Hezaveh et al., 2020).

جوانه‌زنی دانه و آماده‌سازی بذرها: بذرهای گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اوربانا در مرحله اول با هیپوکلریت سدیم ۰/۳ درصد ضدعفونی شده و سپس جهت ایجاد گیاهک، بذرهای ژرمیناتور با دمای میانگین ۲۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰٪ قرار گرفتند. پس از حداکثر ۷۲ ساعت، از گیاهک‌های بوجود آمده در پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی، جهت کشت هیدروپونیک استفاده شد. سعی شد از بذرهای یکسان در این مرحله استفاده گردد (Hatami et al., 2014; Hezaveh et al., 2020).

تهیه نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم لازم جهت پژوهش: همان‌طوری که در هدف پژوهش بیان شد، برای این تحقیق از دو نوع نانوذره سنتزی و سبز دی‌اکسید تیتانیوم برای بهبود مقاومت گیاه به تنش نیکل استفاده شد که به صورت ذیل تهیه شدند؛

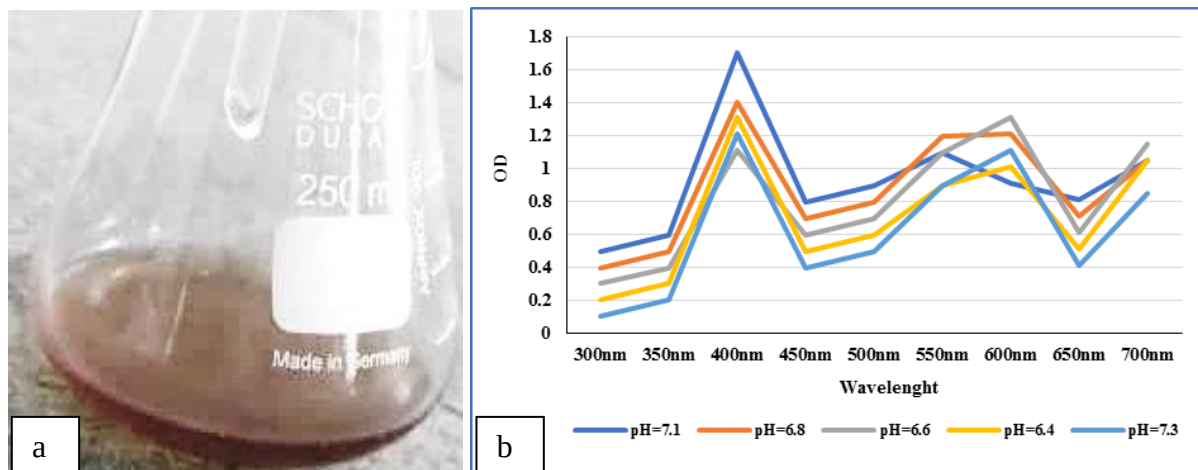
تهیه نانوذرات سنتزی TiO_2 : نانوذرات سنتزی TiO_2 به

مربوط است. با توجه به معایب روش‌های شیمیایی و فیزیکی تولید نانوذرات، توجه محققان به روشی کم هزینه و بی خطر برای محیط‌زیست جلب شده است که تحت عنوان روش بیولوژیک یا سبز معرفی می‌شود (شاهکوه محلی و همکاران، ۱۴۰۱). استفاده از عصاره برگ گیاهان مختلف مانند گیاه حرا و مرزه برای سنتز سبز نانوذرات تیتانیوم انجام شده است (شاهین لفته و همکاران، ۱۳۹۹؛ پرتوی و همکاران، ۱۴۰۰).

به هر حال اثرات متقابل نانوذرات مختلف سبز و سنتزی مانند تیتانیوم در جهت مقاومت گیاهان حساس به تنش نیکل، حائز اهمیت است. اثر هم‌زمان چنین عوامل مقاومت‌زایی می‌تواند موجب ممانعت از تجمع و اثرات تنش‌زا نیکل در گیاهان زراعی مهم تحت تنش شود و رشد این نوع گیاهان را بهبود بخشد و از انتشار بیشتر عناصر سنگین در محیط‌زیست جلوگیری بعمل آورد و پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاه را بهبود بخشد. بنابراین هدف کلی این پژوهش، مطالعه، مقایسه و بررسی میزان تأثیر غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز (سنتز شده با استفاده از عصاره گیاهی پونه) و سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم به شکل بلوری آناتاز بر کاهش اثرات سمی و اکسیداتیو تنش نیکل در رقم ارلی اوربانا گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط بهینه و کنترل شده می‌باشد. بنابراین جهت بررسی کاهش اثرات سمی نیکل، سنجش صفات آنزیمی مانند پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز و صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مانند پراکسیداسیون غشا، تجمع پرولین، رشد طولی ریشه و ساقه، تجمع عناصر در گیاه از جمله منیزیم، آهن، نیکل و پتاسیم صورت گرفت. به هر حال سمیت نیکل در گیاهان زراعی موجب کاهش محصول و عملکرد می‌گردد که مطالعه بهبود مقاومت با استفاده از نانوذرات سبز و سنتزی نانوذراتی مانند تیتانیوم در گیاهان تحت تنش نیکل توجیه انجام این پژوهش است. احتمال می‌رود نانوذرات سبز بصورت جداگانه یا توأم با نانوذره تیتانیوم سنتزی بتوانند اثر مطلوبی در بهبود مقاومت بیشتر گیاه داشته باشند و مقاومت آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تنش را بهبود بخشند و حتی میزان تجمع نیکل را در ریشه و ساقه کاهش داده و رشد گیاه افزایش دهند.

جدول ۱- مشخصات نانوذرات سنتزی و سبز به کار رفته در تهیه تیمارهای آزمایش جهت بررسی افزایش مقاومت به تنش نیکل در گیاهان گوجه‌فرنگی رقم ارلی اوربانا تحت تیمار. نانوذرات سنتزی از شرکت پیشگامان نانو ایرانیان تهیه شد.

مشخصات نانوذرات	نانوذرات سبز دی‌اکسید تیتانیوم (TiO ₂)	نانوذرات سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم (TiO ₂)
قطر نانوذره	۲۰-۴۰	۱۰-۳۰
خلوص	٪۶۸	٪۹۹
رنگ	محلول قهوه‌ای قرمز	پودر سفید
شکل	تقریباً کروی	تقریباً کروی
اسیدیته محلول حاوی نانوذرات	۷/۱	۶/۸
چگالی ظاهری	-	۱/۲۰ گرم بر سانتی‌متر مکعب
چگالی واقعی	-	۵/۲۴ گرم بر سانتی‌متر مکعب

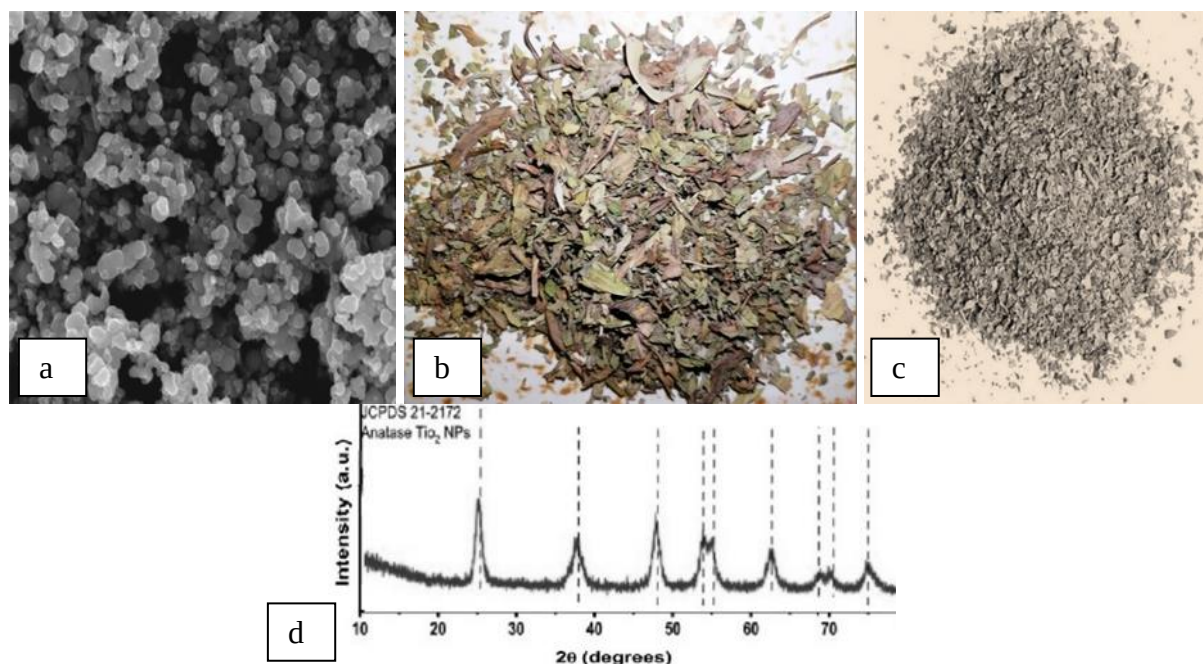


شکل ۱- محلول قهوه‌ای رنگ حاصل از سنتز سبز نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با استفاده از عصاره آبی برگ گیاه پونه (a)، نمودار حداکثر جذب و تغییرات جذب محلول قهوه‌ای رنگ در ۴۰۰ نانومتر با استفاده اسپکتروفتومتر در اسیدیته‌های (pH) مختلف. غلظت عصاره گیاه پونه ۱۰۰ میلی‌گرم پودر خشک بر هر لیتر حلال آبی و غلظت محلول نمک تیتانیوم ۱ میلی‌مولار بود که با نسبت بهینه ۱ به ۵ مخلوط گردید. اسیدیته بهینه ۷/۱ در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد.

گروه‌های هیدروکسیل فعال جهت احیا محلول‌های فلزی هستند (Hatami et al., 2014; Hezaveh et al., 2020). و همچنین در این روش، سنتز نانو ذرات تیتانیوم به روش زیست‌سازگار و بدون استفاده از هر گونه مواد شیمیایی رایج و مضر انجام گردید (شاهکوه محلی و همکاران، ۱۴۰۱). عصاره گیاه پونه (۱۰۰ میلی‌گرم پودر برگ بر هر لیتر حلال آبی) به عنوان عامل کاهنده برای تولید زیستی نانوذرات تیتانیوم عمل نمود (Mohammadi et al., 2013). واکنش نمک دی‌اکسید تیتانیوم در محلول پایه عصاره در غلظت ۱ میلی‌مولار، اسیدیته

شکل بلوری آناتاز از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان خریداری شد. قطر متوسط این نانوذرات در حدود ۲۵ نانومتر (۱۰ تا ۳۰ نانومتر) بود. مشخصات کامل این نانوذره در جدول ۱ آمده است.

تهیه نانوذرات سبز TiO₂: برای این منظور، از عصاره برگ خشک‌شده گیاه پونه (*Mentha pulegium*) جمع‌آوری شده در کوهستان جنوب شرقی شهر کرمان استفاده شد. انتخاب گیاه پونه به دلیل داشتن محتوای بالای فلاونوئیدها، ترکیبات ثانویه دیگر، پلی‌ساکاریدها، تانن‌ها بوده که این مواد آلی دارای



شکل ۲- (a) تصویر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با استفاده از میکروسکوپ SEM. (b) برگ خشک شده گیاه پونه جمع آوری شده از کوهستان جنوب شرقی کرمان. (c) پودر برگ خشک شده گیاه پونه جهت عصاره گیری و تهیه نانوذرات سبز دی اکسید تیتانیوم (d) طیف XRD نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به شکل بلوری آنا تاز.

اسیدیته مشخص (۵/۹-۶/۲) صورت گرفت. محلول غذایی پس از آماده شدن و تنظیم اسیدیته، در گلدان های استاندارد کاشته شدند. تیمارهای مورد استفاده در آزمایش نیز با استفاده از فرم محلول در آب نیترات نیکل (اضافه شده به محلول غذایی) تهیه شد (جدول ۲).

کشت هیدروپونیک گیاه و تیمار گیاه: گیاهک های همگن بدست آمده به تعداد دو عدد در هر گلدان کشت شدند. هر گلدان در ابتدا با محلول غذایی شاهد آبیاری شد و پس از گذشت هفت روز، از محلول های غذایی حاوی کد تیمارهای مورد نظر نیکل و نانوذرات تیتانیوم سنتزی و سبز با قطر تقریبی ۲۵ نانومتر استفاده شد. گیاهان به مدت ۱۴ روز در معرض تیمارهای آزمایش قرار گرفتند.

سنجش صفات رشدی، تعیین وزن تر و خشک: وزن تر ریشه ها و اندام هوایی در نمونه های تازه گوجه فرنگی، به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شد و برحسب گرم بر هر گیاه گزارش شد. وزن خشک گیاهان نیز پس از قراردادن نمونه های مربوطه در آون با دمای ۷۰ درجه

و دماهای متفاوت انجام و اثر آنها بر تشکیل نانوذرات بررسی شد (غلامی و آذربانی، ۱۳۹۵). آزمایشات XRD و اسپکتروفتومتری، تشکیل نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به شکل بلوری آنا تاز را در آزمایش اثبات نمود. نتایج حاصل از آنالیز XRD در ساختار نانوذره و تشکیل نانوذرات تیتانیوم بیانگر حضور ذرات نانومتری با میانگین قطر ۲۵ نانومتر و شکل کروی نشان داد (Wang et al., 2004). بهرحال برای سنتز نانوذرات تیتانیوم به کمک عصاره برگ پونه، بهترین غلظت عصاره آبی برگ و غلظت محلول دی اکسید تیتانیوم برای سنتز نانوذرات تیتانیوم، یک نسبت از محلول ۱ میلی مولار دی اکسید تیتانیوم در پایه ای از عصاره برگ گیاه پونه (نسبت ۱ سی سی محلول ۱ میلی مولار دی اکسید تیتانیوم به ۵ سی سی عصاره آبی برگ گیاه پونه)، بهترین دما ۳۰ درجه سانتی گراد، و بهترین اسیدیته در حدود ۷/۱ بدست آمد (شکل ۱b) (Hatami et al., 2014;) (Hezaveh et al., 2020).

تهیه محلول غذایی و انجام تیمارهای نانو ذرات: کشت گیاهان در محلول غذایی با ترکیب معلوم (هوگلند بهینه شده) و

جدول ۲- ترکیب کدهای تیماری مورد استفاده در پژوهش که حاوی نانوذرات تیتانیوم سنتزی و نانوذرات تیتانیوم سبز سولفات نیکل بودند و با استفاده از آزمایش فاکتوریل تعیین شدند.

کد تیمار	سولفات نیکل II (NiSO ₄) (میکرومولار)	نانوذره سنتزی تیتانیوم (SNP) (میلی گرم بر لیتر)	نانوذره سبز تیتانیوم (GNP) (میلی گرم بر لیتر)
۱	۰	۰	۰
۲	۰	۵۰	۰
۳	۱۵۰	۰	۰
۴	۱۵۰	۵۰	۰
۵	۰	۰	۵۰
۶	۰	۵۰	۵۰
۷	۱۵۰	۰	۵۰
۸	۱۵۰	۵۰	۵۰

سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت سنجش شد.

سانتی گراد) سنجش شد.

طول اندام هوایی و ریشه: برای اندازه گیری طول ریشه و اندام هوایی از خط کش با دقت ۱ میلی متر و پس از برش از منطقه یقه گیاه تازه و جداسازی ساقه و ریشه از یکدیگر انجام شد و مبنای اندازه گیری طول ریشه، محور اصلی ریشه بود.

تعیین سطح برگ: جهت سنجش سطح برگ، از کاغذ میلی متری با دقت ۱ میلی متر مربع استفاده شد. میانگین سطح پهنک برگ سوم گیاهان تحت تیمار تعیین و میانگین این پارامتر رشد برحسب سانتی متر مربع گزارش شد.

محتوای نسبی آب: جهت سنجش محتوای نسبی آب در برگ گیاهان تحت تیمار، از روش Ben Hamed (۲۰۰۷) استفاده شد. در این روش وزن تر، وزن خشک و وزن تورگر برگ سوم گیاه با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شد و با استفاده از معادله مربوطه، محتوای نسبی آب برگ بر حسب درصد محاسبه گردید.

سنجش صفات بیوشیمیایی و آنتی اکسیدانی، سنجش درصد نشت یونی: برای سنجش میزان آسیب غشای سلولی و نشت یونی از روش Sairam و همکاران (۲۰۰۰) بر اساس تعیین میزان تغییرات هدایت الکتریکی محلول حاوی دیسک های برگ گیاهان تحت تیمار در دو مرحله دمایی شامل آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی گراد) و دمای اتوکلاو (۱۲۰ درجه

سنجش میزان ترکیبات فنلی: سنجش محتویات فنل کل از طریق روش (1999) Laima و Solnad (۱۹۹۹) انجام گرفت. در این روش از معرف فولین و معادله استاندارد مربوطه استفاده شد. غلظت فنل کل بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

تعیین محتوی مالون دآلدئید (MDA) و سایر آلدئیدها: جهت سنجش میزان پراکسیداسیون غشا، سنجش مالون دآلدئید (MDA) و سایر آلدئیدها از روش Heath و Packer (۱۹۶۹) استفاده شد. در این روش از محلول حاوی تری کلرو استیک اسید و تیوباربتوریک اسید استفاده گردید و غلظت مواد محصول بر نانومول بر گرم وزن تر گزارش شد.

سنجش میزان پراکسید هیدروژن: سنجش پراکسید هیدروژن به روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از یدید پتاسیم ۱ مولار انجام شد. مقدار پراکسید هیدروژن نمونه با استفاده از ضریب خاموشی محاسبه شد و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید.

اندازه گیری مقدار پرولین: اندازه گیری پرولین با روش Bates و همکاران (۱۹۷۵) با استفاده از معرف نین هیدرین اسیدی انجام شد. غلظت پرولین بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

720ES شرکت Varian تزریق شد. غلظت عناصر محلول با استفاده منحنی استاندارد رسم شده توسط دستگاه، تعیین شد. در نهایت غلظت عناصر موجود در نمونه‌ها بر اساس هر کد تیماری به صورت درصد وزن خشک (%DW) گزارش گردید (Sagner, 1998).

آنالیز داده‌ها بین گروه‌های تیماری با سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS IBM نسخه ۲۲ صورت گرفت. پس از نرمال‌سازی داده‌ها، برای تجزیه و تحلیل آماری از روش تجزیه واریانس (ANOVA) استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام پذیرفت. نمودارهای پژوهش با نرم‌افزار Excel 2013 رسم شد.

نتایج و بحث

مقایسه اثر سه فاکتور آزمایش بر صفات سنجنش شده پژوهش: در این پژوهش، سه فاکتور مستقل آزمایش شامل غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات سبز دی‌اکسید تیتانیوم، نانوذرات سبز دی‌اکسید تیتانیوم و ۱۵۰ میکرومولار نمک سولفات نیکل بود که بصورت ۱۶ کد تیماری بدست آمده از آزمایش فاکتوریل، بر پایه‌ای از طرح کاملاً تصادفی بر گیاهان رقم ارلی اوربانا گوجه‌فرنگی تیمار داده شد. جهت تحلیل و بررسی داده‌ها، دسته‌بندی صفات سنجنش شده این پژوهش به صورت چهار گروه صفات رشدی، صفات آنتی‌اکسیدانی، صفات بیوشیمیایی و صفات تغذیه‌ای بیان می‌شوند. صفات رشد شامل وزن تر، وزن خشک، محتوای نسبی آب، طول اندام، EL و سطح برگ بود. صفات بیوشیمیایی شامل میزان پرولین، میزان FAA، فنل کل و پروتئین کل بود. صفات آنتی‌اکسیدانی شامل MDA، سایر آلدئیدها، تجمع H_2O_2 و فعالیت CAT و PPO بودند. صفات تغذیه‌ای یا شیمیایی هم شامل تجمع یون‌های آهن، پتاسیم، منیزیم و نیکل در بافت‌های ریشه و ساقه بود (جدول ۶).

به‌طورکلی نتایج مربوط به سنجنش هر چهار گروه صفات تحت فاکتورهای آزمایش نشان داد که؛ کاربرد دو نوع نانوذره سبز و سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم بصورت متقابل یا جداگانه اثرات معنی‌دار در سطح ۵٪ آماری داشته است. بنابراین اثر

اندازه‌گیری مقدار اسیدآمین‌های آزاد: اندازه‌گیری پرولین با روش Hwang و Ederer (۱۹۷۵) با استفاده از معرف نین‌هیدرین اتانولی انجام گردید. غلظت اسیدآمین آزاد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجنش مقدار پروتئین کل: برای سنجنش پروتئین کل از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. برای این هدف، پس از عصاره‌گیری نمونه‌ها در بافر فسفات حاوی EDTA، PMSF و PVP در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، مقدار پروتئین کل با استفاده معرف بیوره حاوی کوماسی‌بلو، اتانول و اسید ارتوفسفریک مشخص گردید. غلظت پروتئین کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

تعیین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجنش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Dhindsa (۱۹۸۱) با استفاده از عصاره پروتئینی و بر اساس کاهش جذب آب‌اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر بر حسب واحد آنزیمی (U) انجام گرفت. میزان فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین عصاره گزارش شد.

تعیین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز: سنجنش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز به روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) صورت گرفت. در حضور آنزیم، پیروگالول موجود در مخلوط واکنش، به پورپوروگالین تبدیل می‌شود. کاهش در جذب پیروگالول در ۴۲۰ نانومتر، پس از پنج دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به زمان شروع واکنش، محاسبه گردید. یک واحد آنزیمی پلی‌فنل اکسیداز شامل مقدار پیروگالولی است که در مدت یک دقیقه به پورپوروگالین تبدیل می‌شود. میزان فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین عصاره گزارش شد.

سنجنش میزان تجمع عناصر پتاسیم، منیزیم، نیکل، آهن: به منظور سنجنش تجمع عناصر یون‌های پتاسیم، نیکل، آهن در ساقه و ریشه گیاهان تحت تیمار در این پژوهش، از روش ICP-OES استفاده شد. جهت این کار پس از هضم اسیدی نمونه‌های گیاهی خشک، مراحل صاف‌کردن و رقیق‌شدن نمونه‌ها صورت گرفت و محلول حاصل به دستگاه ICP مدل

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل نانوذرات سبز و سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم تحت تنش نیکل بر صفات فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز برگ (PPO) و تجمع پتاسیم در ریشه و ساقه در گیاه گوجه‌فرنگی (رقم ارلی اوربانا) به روش آنالیز واریانس.

فعالیت پلی‌فنل اکسیداز (U/mg protein)	میزان پتاسیم ساقه (%DW)	میزان پتاسیم ریشه (%DW)	وزن خشک ساقه (gr/plant)	وزن خشک ریشه (gr/plant)	ترکیب تیمار Ni ³⁺ (μM) + SNP (mg/L) + GNP (mg/L)
۷/۳۵±۰/۲۱ ^c	۲/۳۵±۰/۱۱ ^{ab}	۱/۹۱±۰/۰۵ ^a	۰/۷۳±۰/۰۳ ^a	۰/۴۵±۰/۰۳ ^b	۰ + ۰ + ۰
۷/۲۵±۰/۲۱ ^c	۲/۲۵±۰/۱۱ ^{ab}	۱/۲۲±۰/۰۲ ^e	۰/۷۲±۰/۰۲ ^a	۰/۴۲±۰/۰۲ ^c	۰ + ۰ + ۵۰
۸/۱۶±۰/۳۵ ^{ab}	۱/۱۶±۰/۰۴ ^e	۱/۱۵±۰/۰۱ ^f	۰/۲۴±۰/۰۲ ^f	۰/۲۰±۰/۰۱ ^e	۱۵۰ + ۰ + ۰
۸/۱۷±۰/۲۱ ^b	۱/۱۷±۰/۰۷ ^e	۱/۹۹±۰/۵۱ ^a	۰/۲۸±۰/۰۲ ^e	۰/۲۱±۰/۰۱ ^e	۱۵۰ + ۰ + ۵۰
۶/۰۱±۰/۲۲ ^d	۲/۰۱±۰/۰۲ ^c	۱/۶۱±۰/۱۲ ^c	۰/۶۱±۰/۰۱ ^b	۰/۴۱±۰/۰۲ ^c	۰ + ۵۰ + ۰
۶/۰۵±۰/۲۷ ^d	۲/۰۵±۰/۰۷ ^c	۱/۶۲±۰/۰۲ ^c	۰/۵۲±۰/۰۲ ^c	۰/۴۲±۰/۰۲ ^c	۰ + ۵۰ + ۵۰
۸/۲۵±۰/۳۱ ^{ab}	۱/۲۵±۰/۰۷ ^d	۱/۷۹±۰/۱۳ ^b	۰/۴۹±۰/۰۳ ^d	۰/۳۲±۰/۰۳ ^d	۱۵۰ + ۵۰ + ۰
۸/۶۸±۰/۳۶ ^a	۲/۶۸±۰/۱۶ ^a	۱/۴۲±۰/۱۱ ^d	۰/۶۲±۰/۰۲ ^b	۰/۴۹±۰/۰۳ ^a	۱۵۰ + ۵۰ + ۵۰

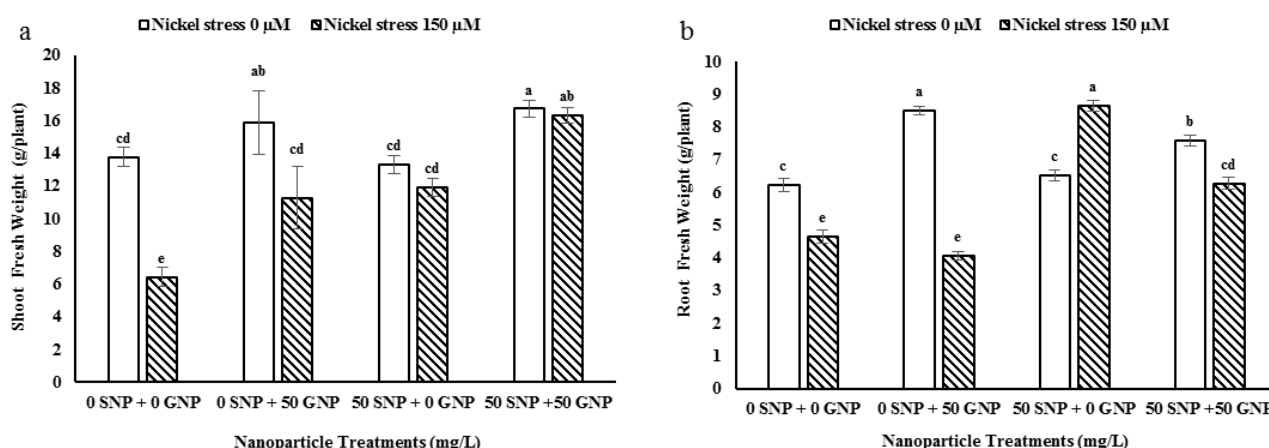
میانگین‌های با حروف لاتین مشابه در هر ستون در سطح معنی‌دار ۵٪ بر اساس آزمون دانکن معنی‌دار نمی‌باشند. (SNP؛ نانوذرات تیتانیوم سنتزی، GNP؛ نانوذرات سبز سنتزی، DW؛ وزن خشک).

کاهش ۵۳ و ۲۶ درصدی این پارامتر نسبت به گیاهان شاهد شده است و کاربرد توأم نانوذرات سنتزی یا سبز موجود بهبود وزن ترساقه و ریشه گردید. در صفات دیگر مانند رشد طولی ساقه نیز این موضوع مشاهده می‌شود و کاربرد مقادیر سمی نیکل موجب کاهش ۵۷ درصدی رشد طولی ساقه گردید. کاربرد تیمارها بر پارامتر رشد طولی ریشه چندان اثرگذار نبود. کاربرد نانوذرات توأم یا جداگانه موجب بهبود رشد طولی ساقه گردید و میزان رشد طولی ساقه در تیمار حاوی نانوذرات و تنش نیکل به ۳۲ سانتی‌متر (۹۰ درصد شاهد) بهبود داد (شکل ۳).

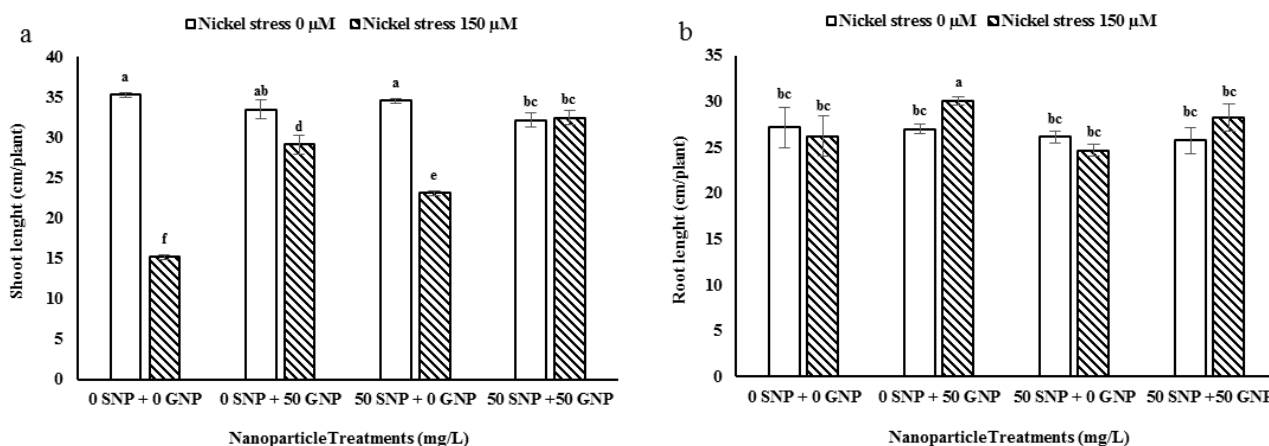
تغییرات محتوای آب نسبی و سطح برگ: نتایج این دو پارامتر برگی در شکل ۳ ارائه شده است. طبق آنالیزهای آماری انجام شده و جدول میانگین بدست آمده می‌توان بیان کرد که؛ تنش نیکل موجب کاهش ۴۴ درصدی محتوای آب برگی نسبت به شاهد گردید و کاربرد توأم هر دو نانوذره موجب حفظ نسبی محتوای آب برگ گردید که اهمیت خاصی در حفظ فعالیت برگ دارد. کاربرد جداگانه هر دو نانوذره نیز اثر قابل توجه و چشمگیر داشت. به‌طوری‌که کاربرد نانوذره سبز دی‌اکسید تیتانیوم میزان محتوای نسبی آب را در برگ به ۶۲

متقابل این دو نوع نانوذره سبز و سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم بر تخفیف تنش نیکل، تقویت مقاومت آنتی‌اکسیدانی و بهبود تغذیه و کاهش تجمع نیکل در گیاهان گوجه‌فرنگی رقم ارلی-اوربانا قابل توجه بوده است. بررسی جداول آماری تجزیه واریانس و اثر متقابل فاکتورهای آزمایش بر چهار گروه صفات سنجش شده نشان می‌دهد که فرضیه اصلی این پژوهش مورد قبول بوده و اختلاف بین میانگین‌ها در بین گروه‌های کدهای تیماری هر پارامتر سنجش شده، به‌دلیل اثر کد تیماری بوده و میزان اثر خطا کمتر از سطح آماری قابل قبول ۵ درصد بود. بنابراین با توجه به اینکه در هر پارامتر سنجش شده، اثر کلی تیمارها معنی‌دار بود، جداول و نمودارهای صفات سنجش شده رسم گردید و میانگین‌ها در هر کد تیماری بر اساس خطای استاندارد (Mean±SD) ارائه شد. با توجه به معنی‌دار بودن اثر ترکیب تیمارها (سه فاکتور آزمایش) بر صفات و متغیرها، میزان اثرگذاری و مقایسه اثر جداگانه یا متقابل نانوذرات سبز و سنتزی مورد تحلیل و ارزیابی قرار گرفت (جدول ۶).

بررسی اثر فاکتورها و تیمارهای آزمایش بر صفات رشدی، وزن تر و رشد طولی: سنجش وزن تر ساقه و ریشه در شکل ۱ نشان داد که تنش نیکل موجب به ترتیب موجب



شکل ۳- تغییر میزان وزن تر ساقه (a) و ریشه (b) در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای آزمایش حاوی نیکل، نانوذرات سبز یا سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم.

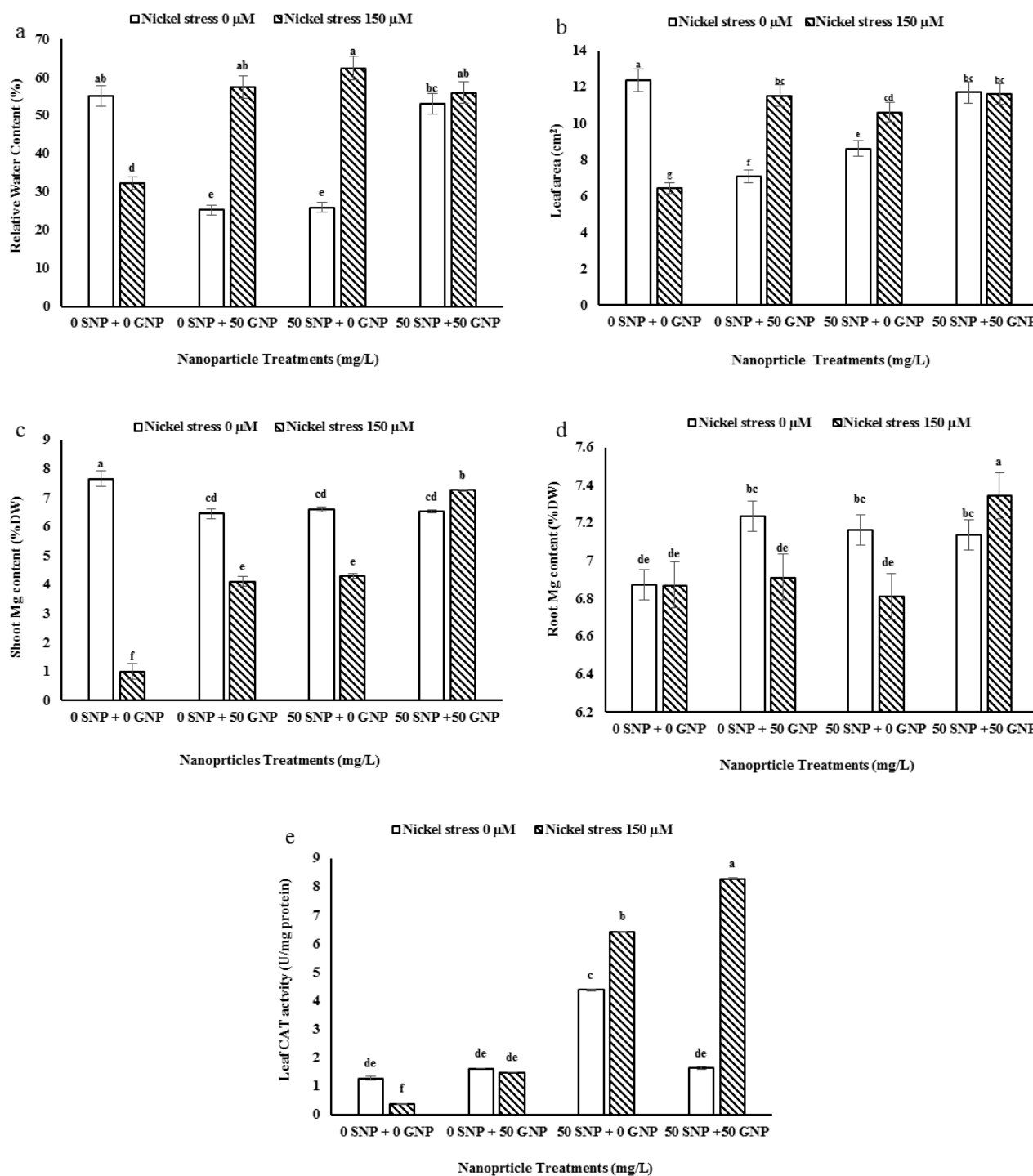


شکل ۴- تغییر میزان طول ساقه (b) و ریشه (a) در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای آزمایش حاوی نیکل، نانوذرات سبز یا سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم.

آزمایش موجب تنظیم و سم‌زدایی آب‌اکسیژنه در حد بهینه پس از شرایط تنش شدند. این اثر در ریشه گیاه به خوبی نمایان شد اما اثر تیمارها بر میزان آب‌اکسیژنه و تجمع آن در ساقه چندان چشمگیر نبود. به عبارت دیگر اثر مستقیم تنش نیکل بر افزایش تجمع آب‌اکسیژنه در بافت ریشه بسیار زیاد و در حدود افزایش ۸۵ درصدی بود که بسیار قابل توجه است. بنابراین اثر تنش نیکل بر بافت ریشه بسیار قابل توجه‌تر از ساقه بود و تیمارهای به کار رفته در آزمایش اثر قابل انتظار بر اساس فرضیه پژوهش نداشتند. اما به هر حال اثر تیمارهای تنش نیکل و تیمارهای حاوی نانوذرات سبز و سنتزی بر تجمع آب‌اکسیژنه کاهشی بود و میزان تجمع را کاهش داد. اما اثر

درصد رساند. کاربرد نانوذره سنتزی نیز میزان آب برگ را به ۵۷ درصد افزایش معنی‌دار داد و این دو میزان آب برگ بدست آمده بیشتر از مقدار شاهد بود. سطح برگ نیز به خوبی تحت اثر تیمارها قرار گرفت و تنش نیکل موجب کاهش ۴۸ درصدی میزان سطح برگ شد. اثر استفاده از نانوذره در این پارامتر نیز مشهود بود و اثر متقابل آن معنی‌دار بود. اما میزان بدست آمده این پارامتر در تیمارهای حاوی تنش و نانوذرات توأم یا جداگانه بیشتر از شاهد نبود اما به حدود ۹۴ درصد میزان سطح برگ شاهد ارتقا و بهبود یافت (شکل ۴).

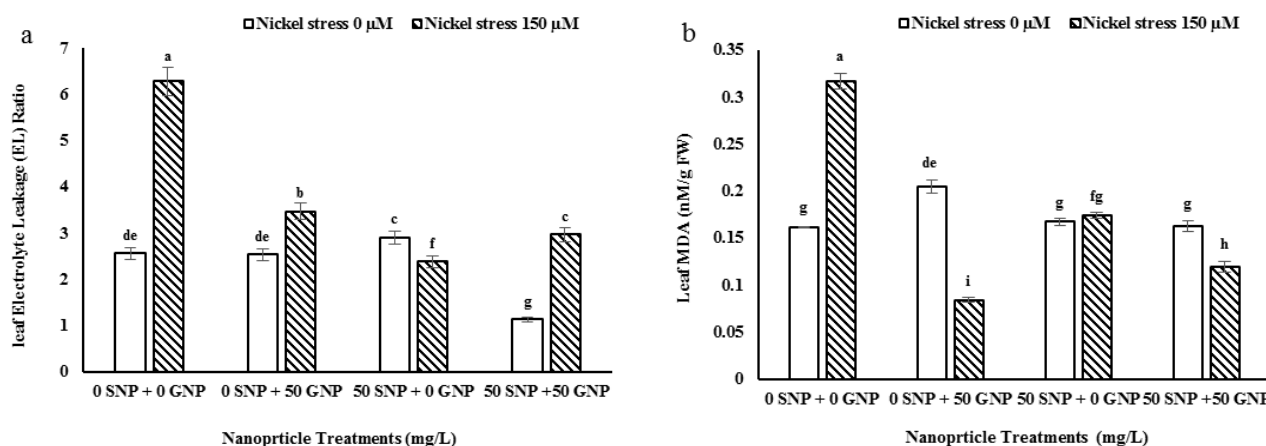
بررسی اثر تیمارهای پژوهش بر صفات آنتی‌اکسیدانی، تغییرات میزان نشت یونی و تجمع آب اکسیژنه: تیمارهای



شکل ۵- تغییر میزان محتوای آب برگ (RWC) (b)، سطح برگ (a)، منیزیم ساقه (d) و ریشه (c)، فعالیت آنزیم کاتالاز (e) در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای آزمایش حاوی نیکل، نانوذرات سبز یا سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم.

نانوذره سبز تیتانیوم موجب کاهش ۸/۹ برابری تجمع آب اکسیژنه نسبت به شرایط تنش نیکل بدون حضور نانوذرات در ریشه گیاهان تحت تیمار شد (شکل ۵).
تغییرات میزان MDA و تجمع سایر آلدئیدهای برگ: در

تنش‌زای نیکل بر تجمع آب‌اکسیژنه ساقه مشاهده نشد و اثر نانوذرات چندان قابل بحث نیست. اما در بافت ریشه کاربرد نانوذرات سنتزی و سبز به خوبی اثرات سمی تجمع آب اکسیژنه را کاهش داد (شکل ۳). به‌طوریکه کاربرد جداگانه



شکل ۶- تغییر میزان MDA برگ و نشت یونی برگ در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای آزمایش حاوی نیکل، نانوذرات سبز یا سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم.

نیز کاربرد ۱۵۰ میکرومولار سولفات نیکل موجب افزایش معنی‌دار ۹۳ درصدی پرولین بافت ریشه نسبت به شاهد در سطح معنی‌دار ۵ درصد گردید (شکل ۷). کاربرد نانوذرات سنتزی و سبز هر دو اثر معنی‌دار بر ریشه گیاه داشته و میزان پرولین ریشه گیاهان تحت تنش نیکل را به حد مقدار شاهد رساند که این تغییر نشان‌دهنده خروج بافت ریشه از شرایط تنش است. اثر تیمارهای آزمایش میزان پرولین و FAA ساقه چندان چشمگیر و قابل انتظار نبود و هر چند میزان تجمع پرولین ساقه را نسبت به شرایط تنش کاهش داد اما تنش نیکل نتوانست میزان پرولین ساقه را افزایش دهد (شکل ۶) اما به‌رحال اثر کاربرد نانوذرات سبز یا سنتزی تیتانیوم با هم نتوانست اثر کاهشی بر میزان پرولین ساقه داشته باشد (جدول ۵). کاربرد نانوذرات در مورد FAA ساقه گیاهان تحت تیمار افزایشی معنی‌دار بود. کاربرد توأم دو نوع نانوذره در مورد FAA ریشه اثر کاهشی داشت و اثر متقابل این دو نانوذره بر کاهش میزان FAA ریشه معنی‌دار بود و نتوانست میزان FAA ریشه را ۶۷ درصد نسبت به شرایط تنش نیکل بدون حضور نانوذرات کاهش معنی‌دار دهد (شکل ۷).

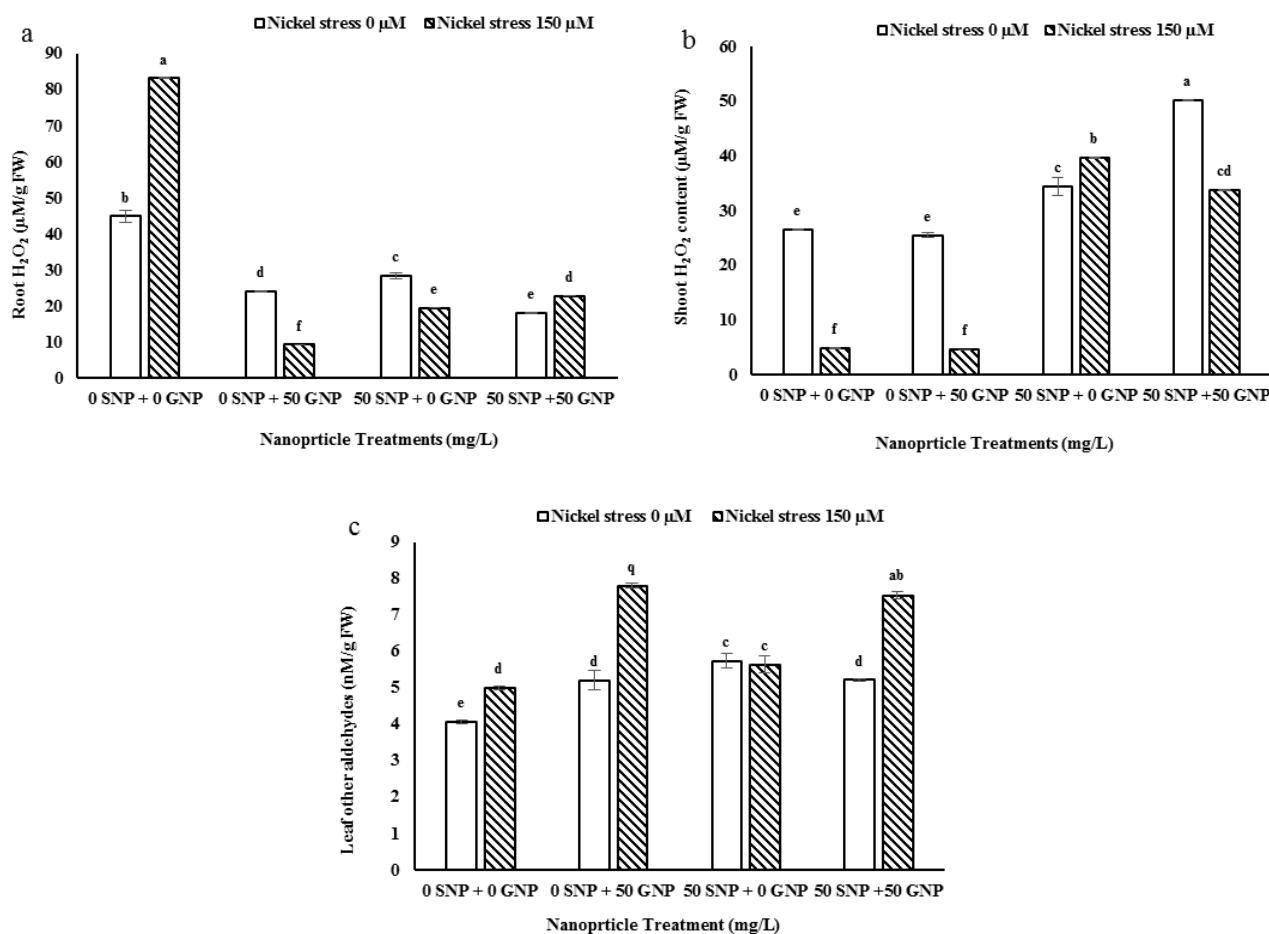
اثر نانوذرات سبز و سنتزی بر تغییر صفات بیوشیمیایی

فنل و پروتئین کل: سنجش میزان فنل کل در ریشه و ساقه گیاهان تحت تیمارهای این پژوهش نشان داد که اثر تیمارها بر این دو اندام گیاهان تحت تیمار متفاوت و مستقل بود. آنالیز

این پژوهش تنش نیکل به خوبی بر تغییر صفات غشایی و القاء پراکسیداسیون غشایی برگ گیاهان گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اوربانا اثر معنی‌دار گذاشت و شاخص‌های MDA و سایر آلدئیدهای حاصل القای تنش اکسیداتیو را نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. نتایج در شکل ۴ نشان می‌دهد که اثر تنش نیکل بدون حضور نانوذرات موجب افزایش تجمع ۹۸ درصدی MDA در برگ گیاه تحت تنش ۱۵۰ میکرومولار نسبت به گیاهان شاهد شد. این افزایش در مورد سایر آلدئیدها فقط در حدود ۲۶ درصد بود. کاربرد نانوذرات سبز تیتانیوم به‌خوبی نتوانست میزان MDA را در گیاهان تحت تنش به میزان ۷۴ درصد کاهش دهد و میزان MDA حتی از مقدار شاهد نیز کمتر باشد. هر چند کاربرد نانوذرات سنتزی و توأم نیز اثر معنی‌دار داشت (شکل ۴). کاربرد نانوذرات در مورد میزان سایر آلدئیدها چندان اثر چشمگیری نداشت. شاید دلیل آن این باشد که تنش نیکل چندان اثر افزایشی چشمگیری بر این شاخص اکسیدانی برگ نداشته است (شکل ۶).

اثر تیمارها بر تغییر صفات بیوشیمیایی پرولین و آمینواسیدهای آزاد (FAA):

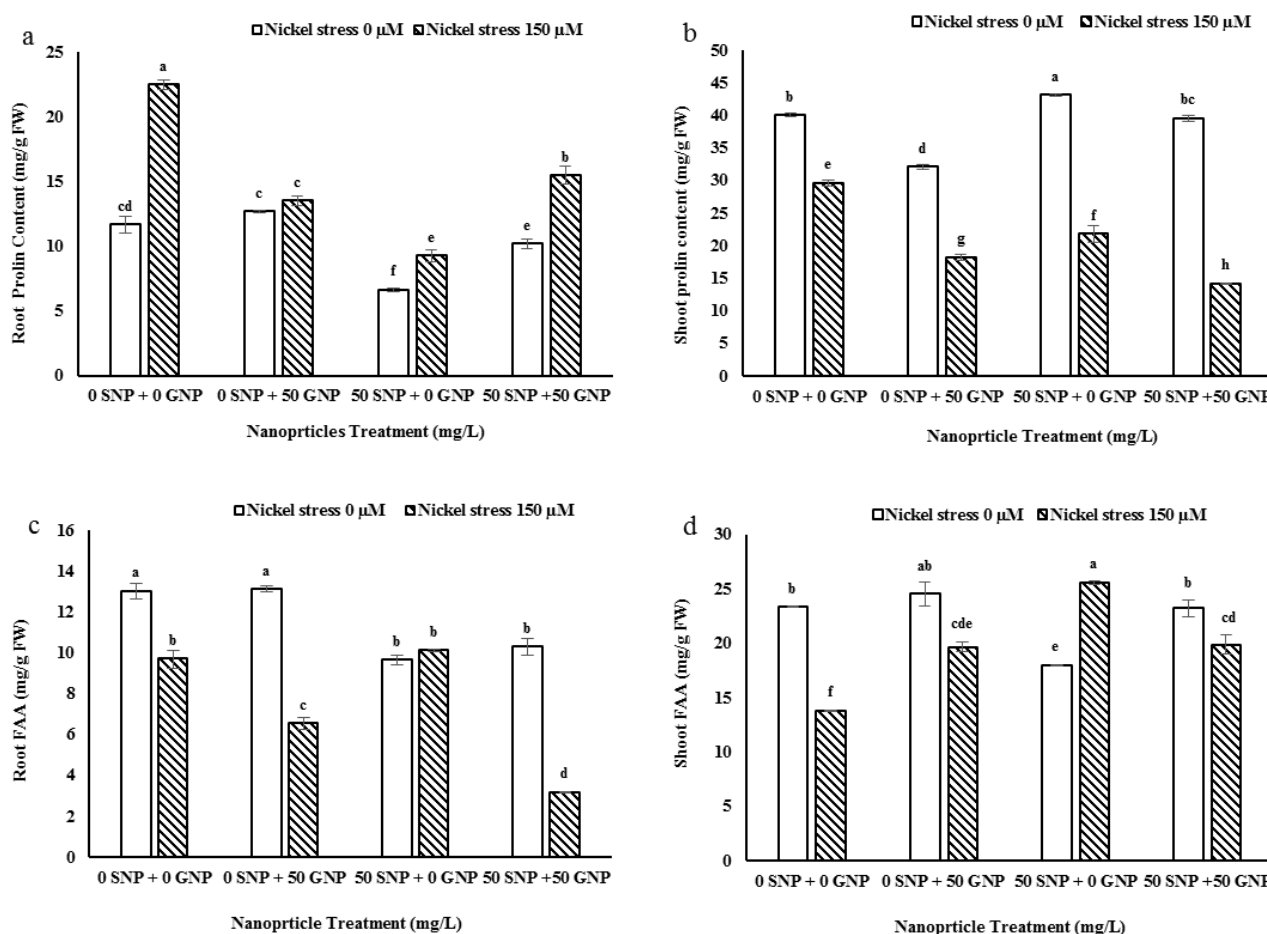
تجمع پرولین جز شاخص‌های حیاتی پاسخ و مقاومت به تنش‌هایی مانند نیکل است. در بیشتر تنش‌ها در همان ساعات اولیه تنش تجمع پرولین به عنوان کلید حیاتی مقاومت گیاه به تنشی مانند نیکل افزایش می‌یابد و موجب حفظ آب و حفاظت پروتئینی می‌شود. در این پژوهش



شکل ۷- آب اکسیژنه ساقه (b) و ریشه (a) و تغییر میزان سایر آلدئیدهای برگ (c) در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای آزمایش حاوی نیکل، نانوذرات سبز یا سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم.

موجب کاهش معنی‌دار پروتئین ساقه در حد ۶۷ درصد نسبت به شاهد شده است. کاربرد جداگانه نانوذرات سنتزی تیتانیوم بهترین اثر را بر بهبود میزان پروتئین کل در ساقه گیاهان گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اوربانا در حد ۵۵ درصد داشته است. در اینجا کاربرد توأم نانوذرات موجب کاهش بیشتر پروتئین کل ساقه گردید (شکل ۸). اما بررسی اثر تیمارها بر پروتئین کل ریشه نشان داد که در شرایط تنش کاربرد نانوذرات سبز سنتزی تیتانیوم موجب افزایش معنی‌دار بسیار قابل توجه در حدود ۱/۷۹ برابری گیاهان تحت تنش نیکل شد. هر چند که سایر کاربردهای نانوذرات سنتزی و توأم هم بر این پارامتر ریشه معنی‌دار بود اما اثر کاربرد نانوذره سبز تیتانیوم بیش از دیگر تیمارهای نانوذره در شرایط تنش نیکل بود و میزان پروتئین کل ریشه را به ۷/۳ میلی‌گرم در هر گرم بافت

آماری و شکل مربوطه نشان داد که میزان ۱۵۰ میکرومولار نیکل موجب افزایش ۱/۲ برابری میزان فنل اندام هوایی نسبت به شاهد شد. در اینجا بهترین اثر نانوذرات مربوط به کاربرد نانوذرات سنتزی تیتانیوم بود. اثر تیمارهای آزمایش و به ویژه تنش نیکل بر میزان فنل ریشه بالعکس بود و موجب کاهش ۳۷ درصدی فنل نسبت به شاهد شد (شکل ۷). کاربرد نانوذرات به تنهایی یا توأم موجب افزایش نسبی فنل‌های ریشه گردید. به‌طوریکه کاربرد توأم نانوذرات سبز و سنتزی مورد تحقیق، موجب افزایش نسبی فنل‌های ریشه نسبت به تنش محض نیکل گردید (جدول ۵). شکل ۷ در مورد پروتئین کل نیز نشان می‌دهد که تنش نیکل موجب کاهش محتوای پروتئین کل ساقه و افزایش نسبی پروتئین ریشه شده است. داده‌های حاصل از این سنجش نشان داد که تنش نیکل در غلظت ۱۵۰ میکرومولار

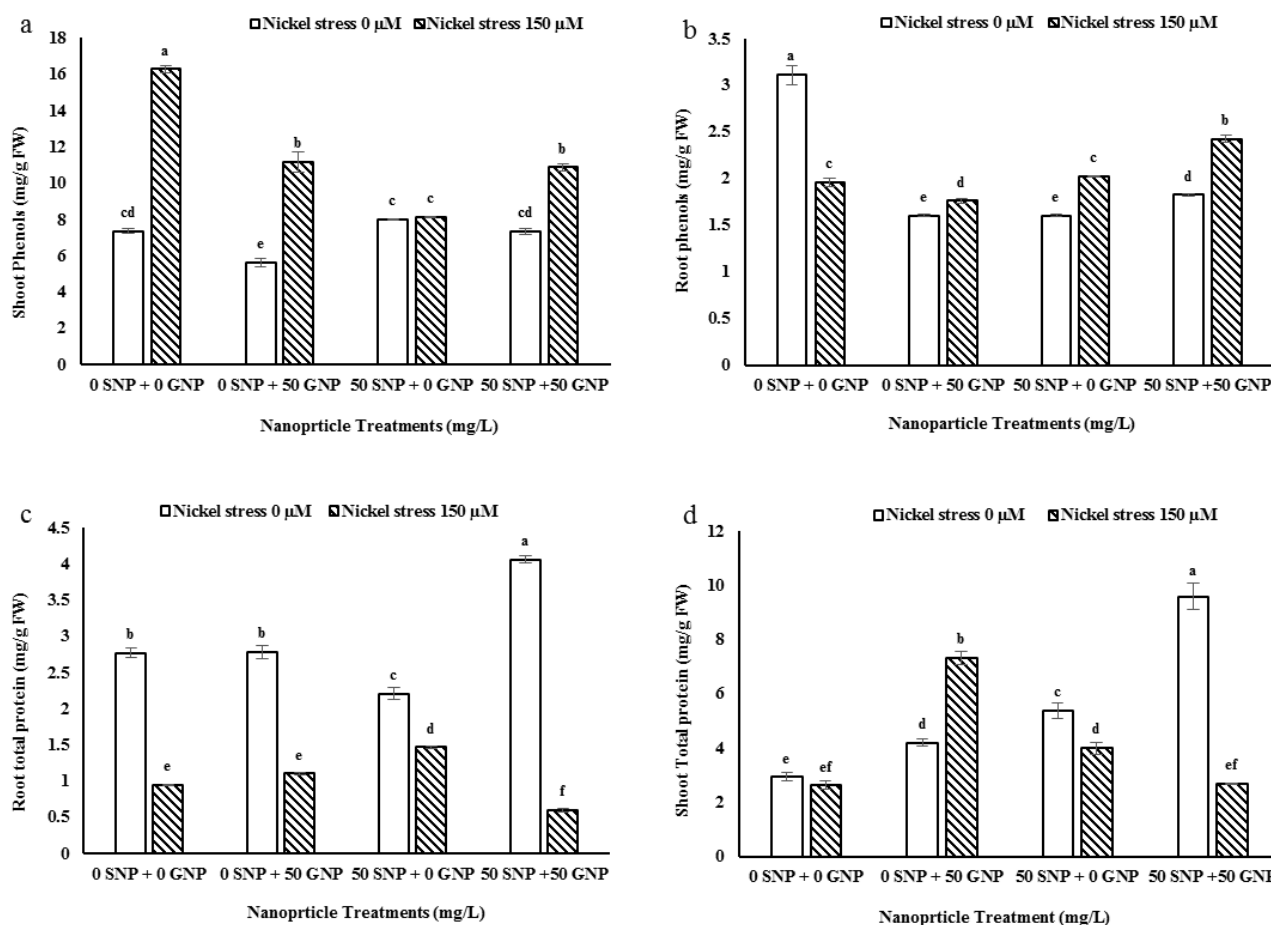


شکل ۸- تغییر میزان پرولین (a, b) و آمینو اسیدهای آزاد (FAA) (c, d) در ساقه و ریشه گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای آزمایش حاوی نیکل، نانوذرات سبز (GNP) یا سنتزی (SNP) دی‌اکسید تیتانیوم.

تیمارهای آزمایش قرار گرفته و کاربرد توأم یا جداگانه نانوذرات سبز و سنتزی اثر چشمگیر بر افزایش و مقاومت آنتی‌اکسیدانی فعالیت آنزیم کاتالاز داشته است (جدول ۵). بررسی فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز برگ نیز نشان داد که تیمارهای آزمایش چندان اثر قابل توجهی بر این پارامتر آنزیمی نداشتند (جدول ۳). اما به‌هرحال اثر تیمار با توجه به آنالیز و آزمون آماری انجام‌شده در سطح معنی‌دار ۵ درصد معنی‌دار بود. به‌طوریکه تنش نیکل فقط باعث افزایش ۱۱ درصدی فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز برگ نسبت به شاهد شد و کاربرد توأم دو نوع نانوذره پژوهش نیز باعث افزایش جزئی ۱۸ درصدی فعالیت این آنزیم مسیر فنل‌ها گردید (جدول ۳). به‌هرحال اثر تیمارها معنی‌دار بود اما میزان تغییر فعالیت آنزیم چندان قابل توجه و بحث نمی‌باشد.

تر رساند (شکل ۸).

اثر نانوذرات سبز و سنتزی بر تغییر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز برگ: تنش نیکل موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در حد ۷۱ درصد نسبت به شاهد گردید. اما کاربرد توأم دو نوع نانوذره آزمایش موجب افزایش زیاد ۲۲ برابری فعالیت این آنزیم آنتی‌اکسیدان نسبت به شرایط حضور ۱۵۰ میکرومولار تنش نیکل شد. حتی کاربرد جداگانه نانوذرات سبز و سنتزی به ترتیب موجب افزایش به ترتیب ۳ و ۱۶/۳۵ برابری فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح معنی‌دار ۵ درصد طبق آنالیز آماری ذکرشده گردید (شکل ۵ e). بنابراین با توجه به مشاهده القا تنش اکسیداتیو توسط تنش نیکل از طریق سنجش پراکسیداسیون غشا و تجمع آب‌اکسیژنه، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم کاتالاز به شدت تحت اثر



شکل ۹- تغییر میزان فنل‌ها (a, b) و پروتئین کل ساقه و ریشه (c, d) در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای آزمایش حاوی نیکل، نانوذرات سبز یا سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم.

نانوذرات این تحقیق قرار گرفت. به این صورت که در حضور توأم دو نوع نانوذره، در شرایط تنش میزان وزن خشک ساقه هم ۱/۵۸ برابر نسبت به شرایط تنش‌های نیکل افزایش یافت و مقدار وزن خشک حاصل در حدود ۸۵ درصد شاهد ارتقا یافت. هر چند کاربرد جداگانه نانوذرات به ویژه سنتزی اثر قابل توجه بر بهبود وزن خشک ریشه و ساقه داشت (جدول ۴).

بررسی اثر تیمارها بر تغییر تجمع عناصر پتاسیم، آهن، نیکل و منیزیم: نتایج حاصل سنجش میزان تجمع سه عنصر پتاسیم، آهن، نیکل در جدول ۴ و تجمع منیزیم در شکل‌های ۳b و ۳c ارائه شده است. به‌طورکلی اثر تیمارهای حاوی نیکل و دو نوع نانوذره بر تغییر تجمع نیکل و سه عنصر تغذیه‌ای مهم آهن، پتاسیم و منیزیم معنی‌دار و قابل توجه بود (جدول

بررسی اثر تیمارهای پژوهش بر تغییر وزن خشک ساقه و ریشه گیاهان تحت تیمار: نتایج حاصل سنجش وزن خشک ساقه و اندام هوایی گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تیمار در جدول ۴ ارائه شده است. بررسی نتایج وزن خشک و ریشه گیاهان گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اوربانا تحت تیمارهای این پژوهش نشان می‌دهد که تنش نیکل حاوی ۱۵۰ میکرومولار موجب کاهش معنی‌دار ۵۶ درصد و ۶۷ درصد به ترتیب برای ریشه و ساقه گردید. بهترین اثر در جبران وزن خشک از دست‌رفته گیاهان تحت تیمار مربوط به کاربرد توأم این دو نانوذره است (جدول ۵). به‌طوریکه کاربرد توأم دو نوع نانوذره موجب افزایش ۱/۴۵ برابری نسبت به تنش نیکل گردید و وزن خشک ریشه با استفاده از این دو نانوذره با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بسیار بهبود یافت. وزن خشک ساقه نیز تحت اثر کاربرد

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل نانوذرات سبز و سنتزی دی اکسید تیتانیوم تحت تنش نیکل بر صفات تجمع نیکل و آهن در ساقه و ریشه گیاهان گوجه فرنگی (رقم ارلی اوربانا) با روش آنالیز واریانس.

میزان نیکل ساقه (%DW)	میزان نیکل ریشه (%DW)	میزان آهن ساقه (%DW)	میزان آهن ریشه (%DW)	ترکیب تیمار Ni ³⁺ (μM) + SNP (mg/L) + GNP (mg/L)
• (nd) ^g	• (nd) ^e	۲/۹۱±۰/۱۳ ^a	۱/۲۵±۰/۰۲ ^e	• + • + •
• (nd) ^g	• (nd) ^e	۲/۲۲±۰/۱۲ ^d	۱/۵۲±۰/۰۱ ^b	• + • + ۵۰
•/۰۸۲±۰/۰۲ ^a	•/۰۱۱±۰/۰۵ ^a	۱/۱۵±۰/۱۱ ^f	۱/۴۵±۰/۰۵ ^c	۱۵۰ + • + •
•/۰۵۱±۰/۰۲ ^b	•/۰۸۳±۰/۰۳ ^{ab}	۱/۹۹±۰/۱۱ ^e	۱/۲۹±۰/۰۶ ^d	۱۵۰ + • + ۵۰
• (nd) ^g	• (nd) ^e	۲/۶۱±۰/۱۵ ^{bc}	۱/۱۵±۰/۰۹ ^f	• + ۵۰ + •
• (nd) ^g	• (nd) ^e	۲/۶۲±۰/۱۲ ^{bc}	۰/۹۵±۰/۰۳ ^g	• + ۵۰ + ۵۰
•/۰۴۲±۰/۰۲ ^c	•/۰۶۵±۰/۰۲ ^c	۲/۷۹±۰/۱۳ ^b	۱/۱۲±۰/۰۷ ^f	۱۵۰ + ۵۰ + •
•/۰۲۸±۰/۰۳ ^{de}	•/۰۲۵±۰/۰۶ ^d	۲/۴۲±۰/۱۱ ^c	۱/۶۸±۰/۰۶ ^a	۱۵۰ + ۵۰ + ۵۰

میانگین‌های با حروف لاتین مشابه در هر ستون جدول در سطح معنی‌دار ۵٪ بر اساس آزمون دانکن معنی‌دار نمی‌باشند. (nd: شناسایی نشد، SNP: نانوذرات تیتانیوم سنتزی، GNP: نانوذرات تیتانیوم سبز سنتزی، DW: وزن خشک).

جدول ۵- ضریب همبستگی خطی ۱۰ صفت سنجش شده در این پژوهش مربوط به ۱۶ کد تیماری که دارای اثر متقابل معنی‌دار در بین دو نوع نانوذره در شرایط تنش نیکل است.

رشد طولی ساقه	سطح برگ	FAA ساقه	FAA ریشه	پروتئین کل ساقه	منیزیم ساقه	آهن ساقه	نیکل ساقه	آنزیم CAT
رشد طولی ساقه	۱	۰/۴۸*	۰/۱۴*	۰/۲۶*	۰/۲۳*	۰/۱۱*	۰/۱۱*	۰/۰۷ ^{ns}
سطح برگ	۱	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۱۱*	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۱۹*	۰/۱۹*
FAA ساقه	۱	۰/۴۳*	۰/۳۸*	۰/۴۵*	۰/۱۸*	۰/۳۵*	۰/۲۸*	۰/۱۸*
FAA ریشه	۱	۰/۲۷*	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۲۸*	۰/۲۱*	۰/۱۸*	۰/۱۷*	۰/۱۷*
پروتئین کل ساقه	۱	۰/۱۰*	۰/۱۷*	۰/۲۰*	۰/۲۴*	۰/۱۷*	۰/۱۷*	۰/۱۷*
منیزیم ساقه	۱	۰/۲۵*	۰/۱۴*	۰/۱۴*	۰/۱۴*	۰/۱۴*	۰/۱۴*	۰/۱۴*
منیزیم ریشه	۱	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}
آهن ساقه	۱	۰/۶۲*	۰/۶۲*	۰/۶۲*	۰/۶۲*	۰/۶۲*	۰/۶۲*	۰/۶۲*
نیکل ساقه	۱	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۷۵*
آنزیم CAT	۱	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۷۵*	۰/۷۵*

ns: غیر معنی‌دار، *: همبستگی معنی‌دار سطح ۵ درصد.

۵). تنش نیکل موجب تجمع نیکل در بافت ریشه و انتقال بیشتر آن به ساقه و در نهایت تجمع در ساقه گردید و موجب القا تنش اکسیداتیو به ویژه در برگ و ساقه گردید. میزان تجمع نیکل در ساقه ۶۶ درصد و در ریشه ۷۷ درصد کاهش

نیکل در ریشه و ساقه به ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۰۸۲ درصد وزن خشک بافت مربوطه بود. کاربرد نانوذرات توأم توانست میزان تجمع نیکل را در ساقه ۶۶ درصد و در ریشه ۷۷ درصد کاهش

جدول ۶- جدول تجزیه واریانس کلیه صفات سنجش شده در پژوهش که تأثیر کلی ۱۶ گروه تیماری (درجه آزادی ۱۵) بر این صفات در سطح معنی دار ۵ درصد، با سه تکرار نشان می‌دهد.

صفات سنجش شده	سطح معنی دار	توزیع f	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات
رشد طولی ساقه **	۰/۰۴۱۳*	۱/۰۶۶	۱۱/۹۴۹	۱۵	۱۷۹/۲۳۷
رشد طولی ریشه	۰/۰۳۷۹*	۱/۱۰۷	۱۷/۴۷۹	۱۵	۲۶۲/۱۸۲
وزن تر ساقه	۰/۰۰۰*	۱۵/۰۳۸	۱۳/۴۲۷	۱۵	۲۰۱/۳۹۸
وزن تر ریشه	۰/۰۰۰*	۵۳/۲۶۳	۵/۱۳۸	۱۵	۷۷/۰۶۴
وزن خشک ساقه **	۰/۰۰۱*	۲۷/۳۳۷	۴/۰۸	۱۵	۶/۱۲۱
وزن خشک ریشه	۰/۰۰۰*	۲۲/۴۸۷	۰/۲۳	۱۵	۳/۴۸
سطح برگ **	۰/۰۰۲*	۳۲/۶۸۰	۱۱/۸۰۱	۱۵	۱۷۷/۰۰۹
RWC برگ	۰/۰۰۱*	۲۴۸/۵۰۵	۶۰۱/۹۷۷	۱۵	۹۰۲۹/۶۶۱
EL برگ	۰/۰۰۴*	۱۰۸/۳۷۶	۳/۸۲۹	۱۵	۵۷/۴۳۳
پرولین ساقه	۰/۰۰۲*	۵۰۵/۳۱۴	۳۸۰/۴۶۸	۱۵	۵۷۰۷/۰۱۶
پرولین ریشه	۰/۰۰۰*	۲۳۹/۳۷۴	۱۳۹/۰۴۵	۱۵	۲۰۸۵/۶۷۴
FAA ساقه **	۰/۰۰۰*	۲۹/۰۷۳	۳۲/۰۳۶	۱۵	۴۸۰/۵۴۶
FAA ریشه **	۰/۰۰۰*	۸۷/۱۱۰	۲۱/۱۹۵	۱۵	۳۱۷/۹۱۸
پروتئین کل ساقه **	۰/۰۰۰*	۱۳/۵۲۹	۲۸/۷۰۱	۱۵	۴۳۰/۵۰۹
پروتئین کل ریشه **	۰/۰۰۰*	۴/۳۷۳	۵/۰۴۳	۱۵	۷۵/۶۴۱
فنل کل ساقه	۰/۰۰۰*	۱۴۳/۶۷۳	۳۸/۲۷۹	۱۵	۵۷۴/۱۸۰
فنل کل ریشه	۰/۰۰۰*	۸۷/۸۷۱	۵/۱۷	۱۵	۷/۷۵۶
منیزیم ساقه **	۰/۰۱۵*	۱۴/۰۱۲	۱/۹۸۴	۱۵	۲۹/۷۶۳
منیزیم ریشه **	۰/۰۲۷۱*	۱/۲۴۸	۰/۴۷۶	۱۵	۷/۱۳۸
آهن ساقه **	۰/۰۰۰*	۶/۶۶۴	۰/۰۶۵	۱۵	۹/۷۵
آهن ریشه **	۰/۰۰۰*	۶۶/۱۹۳	۰/۱۷۳	۱۵	۲/۵۹۲
پتاسیم ساقه	۰/۰۰۰*	۱۳/۰۷۶	۰/۶۶۸	۱۵	۱۰/۰۱۴
پتاسیم ریشه	۰/۰۰۰*	۱۵/۵۱۳	۰/۳۰۰	۱۵	۴/۵۰۲
نیکل ساقه **	۰/۰۰۶۱۴*	۱۴۲۹/۹۱۷	۰/۱۷۴	۱۵	۲/۶۱۴
نیکل ریشه **	۰/۰۰۰*	۳۹/۷۵۷	۰/۲۴۰	۱۵	۳/۶۰۵
آنزیم PPO **	۰/۰۰۰*	۳۴/۸۷۶	۰/۵۶۹	۱۵	۸/۵۳۲
آنزیم CAT **	۰/۰۰۵*	۸/۳۵۲	۲۱/۳۷۶	۱۵	۳۲۰/۶۳۸
MDA برگ	۰/۰۲۲*	۱۲۴/۷۶۲	۰/۰۱۵	۱۵	۰/۲۲۵
سایر آلدئیدهای برگ	۰/۰۲۱*	۴۹/۷۶۸	۴/۱۰۹	۱۵	۶۱/۶۳۳
H ₂ O ₂ ساقه	۰/۰۱۱*	۴۱۱/۴۸۷	۵۵۱/۰۲۹	۱۵	۸۲۶۵/۴۳۱
H ₂ O ₂ ریشه	۰/۰۰۹*	۱۲۲۱/۰۴۴	۱۲۱۵/۴۵۶	۱۵	۱۸۲۳۱/۸۳۵

*: معنی دار بودن در سطح ۵ درصد، **: معنی دار بودن اثر متقابل بین سه فاکتور

معنی‌دار نسبت به شرایط تنش دهد. در تیمارهای جداگانه نیز کاهش نسبی تجمع نیکل در بخش ریشه و ساقه مشاهده شد (جدول ۴). در مورد تجمع عنصر تغذیه‌ای پتاسیم باید بیان نمود که کاربرد تیمارهای نانوذره در شرایط تنش به خوبی اثرگذار بود و به‌ویژه کاربرد توأم نانوذره سبز و سنتزی تیتانیوم موجب بهبود تجمع پتاسیم ساقه به میزان $2/68$ درصد وزن خشک شد. در مورد پتاسیم ریشه باید گفت که اثر جداگانه نانوذرات سبز در شرایط تنش نیکل موجب تجمع $1/99$ درصد وزن خشک شد که افزایش آن نسبت به شرایط تنش بدون حضور نانوذرات 73 درصد بود. در مورد دو عنصر دیگر (منیزیم و آهن) نیز باید گفت که اثر نانوذرات بر تجمع این دو عنصر مشابه پتاسیم بود. البته اثر نانوذره سنتزی بر بهبود تغذیه آهن اندام هوایی در شرایط تنش معنی‌دار و بسیار چشمگیر بود (جدول ۴). در مورد تجمع منیزیم در شرایط تنش نیکل هم باید بیان کرد که کاربرد توأم نانوذرات سبز و سنتزی به خوبی میزان منیزیم ریشه و ساقه را بهبود چند برابری در این شرایط بخشید (شکل ۴e).

بررسی همبستگی بین برخی صفات سنجش‌شده: بررسی

جدول همبستگی بین برخی صفات سنجش‌شده که اثر متقابل بین دو نوع نانوذره و تنش نیکل بین آنها معنی‌دار شده است، نشان می‌دهد که تجمع بیشتر نیکل در ساقه به خوبی صفات رشد را کاهش داده و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش داده است. همچنین بررسی جدول همبستگی نشان می‌دهد که تجمع نیکل در ساقه در تیمارهایی که تحت تنش نیکل هستند، تغذیه گیاه آسیب‌دیده و میزان آهن و منیزیم ساقه و یا ریشه کاهش یافته است (جدول ۵). کاربرد دو نوع نانوذره به ویژه نانوذره سبز تیتانیوم موجب بهبود نسبی کاهش تجمع نیکل و افزایش صفات رشد شده است (جدول ۵).

بحث

اثر آلودگی‌های زیست‌محیطی فلزات سنگین و سمی مانند نیکل بر گیاهان زراعی و دارویی یکی مهمترین مشکلات تولید محصولات غذایی و دارویی بر پایه گیاهان است که سلامت

انسان را تهدید کرده و احتمال بروز بیماری‌های مختلف جسمی و عصبی را افزایش می‌دهد (Adriano, 2001). بنابراین کاهش آلودگی فلزات سمی مانند نیکل و بهبود مقاومت گیاهان حساسی مانند گوجه‌فرنگی به این تنش دارای اهمیت زیادی است (Ahonen-Jonnarth et al., 2004). در این تحقیق سعی شد با استفاده از نانوذرات سبز تیتانیوم سازگار با محیط‌زیست و مقایسه یا اثر متقابل آن با نانوذرات سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم، مقاومت رقم ارلی‌اوربانای گوجه‌فرنگی به تنش نیکل بهبود بخشیده شود. این کار از طریق سنجش صفات مهم رشدی، آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌ها، عناصر تغذیه‌ای شامل آهن، منیزیم، پتاسیم و همچنین بررسی تجمع نیکل در دو بافت ریشه و ساقه صورت گرفت و تحلیل آماری داده جهت مقایسه اثر این دو نوع نانوذره بر کاهش اثرات تنش نیکل انجام پذیرفت.

تحقیقات گذشته ثابت نموده که نانوذرات تیتانیوم قابلیت اثر در واکنش‌های جذب نور و انتقال الکترون در فتوسنتز را داشته و این روند را بهبود می‌بخشند و در نهایت انرژی به‌دام افتاده شده در مولکول‌های پذیرنده در روند تثبیت کربن بکار گرفته می‌شود (هاشمی دهکردی و همکاران، ۱۳۹۵). به‌طورکلی دی‌اکسید تیتانیوم از لحاظ شیمیایی دارای خاصیت نیمه‌هادی بوده و دارای دو نوع باند ظرفیت پر انرژی و باند هدایت خالی از الکترون است. بنابراین در زمانی که انرژی زیاد در سیستم فتوسنتزی گیاه وجود دارد، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم که دارای نسبت جذب و سطح بالا هستند، انرژی زیاد رادیکال‌ها اکسیداتیو را جذب کرده و انرژی زیاد جذب شده در تیتانیوم، صرف احیا موادی مانند یون‌های هیدروژن و رادیکال‌های اکسیژن می‌شود و باعث تخفیف تنش اکسیداتیو می‌شود (Gao et al., 2006). در این تحقیق نیز بررسی صفات آنتی‌اکسیدانی مانند فعالیت آنزیم کاتالاز، تجمع آب‌اکسیژنه و MDA نشان داد که کاربرد نانوذرات در شرایط تنش القاشده توسط تنش نیکل موجب بهبود فعالیت آنزیم و کاهش میزان پراکسیداسیون غشا و تخفیف تنش اکسیداتیو شده است. اثر متقابل دو نانوذره سبز و سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم در مورد آنزیم کاتالاز به خوبی مشهود و چشمگیر بود (شکل‌های

۴e و ۵b).

ثابت شده است کاربرد نانوذرات تیتانیوم در شرایط افزایش انرژی نورانی موجب افزایش نرخ فتوسنتز، بهبود محتوا و هدایت آب و افزایش عملکرد فتوسنتزی می‌شود (Zheng et al., 2007). در این پژوهش نیز، کاربرد دی‌اکسید تیتانیوم در شرایط تنش نیکل موجب بهبود محتوای آب از دست رفته گیاه شد و نانوذرات سنتزی و سبز بطور جداگانه محتوای آب را بهبود بخشیدند و حتی سطح برگ نیز افزایش یافت (شکل‌های ۴a و ۴b).

تحقیقات دیگر نشان داده است که نانوذراتی مانند تیتانیوم و سلنیوم موجب مقاومت به تنش‌هایی مانند شوری می‌گردد و صفات رشد و آنتی‌اکسیدانی را بهبود می‌بخشد (امینی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۸). به‌طوریکه صفات مهم برگ، رشد طولی گیاه و وزن تر و خشک گیاه به خوبی بهبود یافته است. در این تحقیق نیز اثر نانوذرات سبز و سنتزی بر صفات رشد گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش نیکل به خوبی مشاهده شد (شکل‌های ۱ و ۲ و جدول ۳). در تحقیقات دیگر کاربرد دی‌اکسید تیتانیوم موجب تغییر صفات مورفولوژیک، رشدی، فتوسنتزی و تغذیه عناصر غذایی تحت تنش شوری در گیاه زنیان گردید (عموآقایی و همکاران، ۱۴۰۱).

کاتالاز آنزیم کلیدی و مهم در سیستم حفاظت آنتی‌اکسیدانی است (Gohari et al., 2020). نتایج نشان داد که اثرات غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر فعالیت کاتالاز و کاهش سمیت آب‌اکسیژنه معنی‌دار بود (شکل ۳). تحقیقات دیگر نیز اثر نانوذرات تیتانیوم را بر بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش سمیت آب‌اکسیژنه نشان می‌دهد (Moshirian Farahi et al., 2023). مقایسه میانگین اثر دو نوع نانوذره نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که با حضور نانوذرات تیتانیوم، فعالیت این آنزیم نیز افزایش یافت و میزان آب اکسیژنه و MDA کاهش یافت. بیشترین فعالیت آنزیمی با تیمار توأم نانوذرات و کمترین فعالیت پراکسیداز در گروه تنش نیکل به‌دست آمد (شکل ۹). به‌رحال اثرات مخرب ROS و پراکسیداسیون لیپیدی و

تولید MDA توسط بهبود و تقویت سیستم حفاظت آنتی‌اکسیدانی القاشده توسط نانوذرات ختشی می‌شود (Moshirian Farahi et al., 2023). نانوذرات تیتانیوم می‌توانند ساختار پروتئین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در گیاهان بهبود دهند. افزایش میزان پروتئین کل ساقه تحت حضور نانوذرات سبز مشاهده شد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توسط نانوذرات TiO_2 صورت گرفته است.

Laware و Raskar (۲۰۱۴) گزارش کردند که افزایش سطح پراکسیداز و کاتالاز در شرایط کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به غلظت نانوذرات بستگی دارد، درحالی‌که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به زمان استفاده نانوذره بستگی دارد. Jacob و همکاران (۲۰۱۳) اظهار داشتند که تیمارهای ۱۰ تا ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذرات تیتانیوم، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در لوبیا را افزایش داده و سیستم آنتی‌اکسیدانی این گیاه حساس را به خوبی فعالسازی کرده و تجمع برخی فلزات سنگین در آن موجب تنش کمتر شده و یون‌های این نوع فلزات بدون اثرات تنشی، در بافت گیاه تجمع می‌یابند (Wu et al., 2017).

علاوه بر این، در مطالعه‌ای دیگر با گیاه برنج تیمار شده با این نانوذرات، افزایش سنتز آنتی‌اکسیدان‌های مختلف مشاهده شد (Wu et al., 2017). افزایش فعالیت پراکسیداز را به دلیل کاربرد نانوذرات مس (NPs CuO) در سویا هم گزارش شده است (Jonapa-Hernandez et al., 2020). Ali و همکاران (۲۰۱۹) افزایش آنتی‌اکسیدان فعالیت آنزیمی به دلیل استفاده از نانوذرات نقره بر کالوس توپرکولات را گزارش کرد. افزایش فعالیت آنزیم PAL نیز در گیاه آنونا با محلول‌پاشی نانوذرات نقره و مس نیز گزارش شده است (Ali et al., 2019). ثابت شده است نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به یون پتاسیم و سولفید هیدروژن برای تنظیم متابولیسم نیتروژن و کربوهیدرات تحت تنش‌های خشکی و تنش نیکل در گیاهان خیار نیاز دارند (Nasir Khan et al., 2023). در این تحقیق هم نانوذرات تیتانیوم تغذیه پتاسیمی گیاهان تحت تنش را بهبود بخشیدند و موجب افزایش مقاومت گیاهان گوجه‌فرنگی شدند (جدول ۳).

بررسی همبستگی بین برخی صفات سنجش شده که اثر متقابل بین دو نوع نانوذره در آنها مشاهده شده است، نشان داد که تجمع بیشتر نیکل در ساقه به خوبی پارامترهای رشد را کاهش داده و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش داده است. همچنین بررسی جدول همبستگی نشان می‌دهد که تجمع نیکل در ساقه در تیمارهایی که تحت تنش نیکل هستند، تغذیه گیاه آسیب دیده و میزان آهن و منیزیم ساقه و یا ریشه کاهش یافته است (جدول ۵). همچنین هر چه میزان تجمع نیکل در ساقه افزایش یافته است، تجمع مواد بیوشیمیایی مانند اسیدآمینوهای آزاد و پروتئین‌ها نیز متأثر از حضور سمی نیکل در بخش‌های هوایی شده‌اند.

بنابراین با توجه به صفات رشد، اکسیدانی و تغذیه‌ای در این تحقیق می‌توان گفت کاربرد نانوذرات سبز و سنتزی به صورت جداگانه یا توأم، موجود بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش نیکل شده است. در برخی صفات مانند محتوای آب نسبی برگ، پروتئین کل ساقه و سطح برگ، کاربرد جداگانه نانوذرات سبز دی‌اکسید تیتانیوم موجب بهبود این شاخص‌ها در شرایط تنش نیکل شده است. اما در برخی صفات دیگر مانند تغذیه منیزیمی، تغذیه پتاسیمی، کاهش سمیت آب‌اکسیژنه و تجمع MDA در گیاهان تحت تنش، کاربرد نانوذرات سبز و سنتزی دی‌اکسید تیتانیوم موجب اثر مثبت و قابل توجه گردید. هر چند به‌طورکلی تیمارهای حاوی نانوذرات اثر آماری معنی‌داری بر گیاهان شاهد و تحت تنش در سطح معنی‌دار ۵ درصد داشتند.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج بدست آمده حاصل از این پژوهش از طریق سنجش صفات مختلف رشدی، بیوشیمیایی، اکسیدانی، آنزیمی و عناصر تغذیه‌ای نشان داد که کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سنتزی یا سبز بصورت جداگانه یا توأم، موجب بهبود رشد گیاهان گوجه‌فرنگی، افزایش عملکرد و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی تحت تنش ۱۵۰ میکرومولار نیکل گردید و

توانست آثار سمی تنش نیکل را در صفات مختلف تخفیف دهد. به‌رحال در صفاتی مانند محتوای آب نسبی برگ، پروتئین کل ساقه و سطح برگ کاربرد جداگانه نانوذرات سبز دی‌اکسید تیتانیوم موجب بهبود معنی‌دار این شاخص‌ها در شرایط تنش نیکل شده است. اما در برخی صفات دیگر مانند تغذیه منیزیمی و پتاسیمی، کاهش سمیت آب‌اکسیژنه و MDA در گیاهان تحت تنش، کاربرد توأم نانوذرات سبز و سنتزی ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر دی‌اکسید تیتانیوم بسیار اثرگذار، مثبت و قابل توجه بود. به عنوان نمونه کاربرد توأم این دو نوع نانوذره تیتانیوم موجب بهبود چند برابری تغذیه منیزیمی ریشه و ساقه در گیاهان تحت تیمار گردید. پیشنهاد می‌گردد این پژوهش در شرایط مزرعه اجرا گردد و سایر صفات مرتبط مزرعه‌ای و ژن‌های مرتبط نیز از لحاظ فعالیت ژنی مورد مطالعه قرار گیرد. فعالیت آنزیم‌ها نیز بیشتر شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان درگیر در مسیر حذف رادیکال‌ها مانند کاتالاز و پراکسیداز است که می‌تواند با تکنیک‌هایی مانند PCR مورد پژوهش قرار گیرد. استفاده از این نوع نانوذرات سبز می‌تواند از لحاظ اقتصادی و زیست‌محیطی بسیار حائز اهمیت باشد؛ چرا که مضرات ورود مواد شیمیایی اضافه و تحمل هزینه آنها را بسیار کاهش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از یک طرح پژوهشی تجربی بوده که قرارداد آن به شماره ۷/۰۰/۳۱۶۲/ص در پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته به ثبت رسیده است. نویسندگان مقاله از مسئولین محترم پژوهشگاه و دانشگاه، به جهت حمایت مادی و معنوی از این پژوهش، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

- امینی‌زاده، سعیده، مظفري، حسين، آروين، محمدجواد، و سالاری، حسن (۱۳۹۸). مطالعه اثر متقابل نانوذرات اکسید تیتانیوم و اکسید سلنیوم بر افزایش مقاومت گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری. *مجموعه مقالات ششمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران*، ۵-۱.
- پرتوی، راضیه، نارچین، فتانه، و عراقی، عاطفه (۱۴۰۰). سنتز نانوذرات تیتانیوم با استفاده از عصاره گیاه مرزه به روش فراصوت؛ اثرات ضد میکروبی بر ضدپاتوژن‌های غذازاد و سمیت سلولی بر سلول‌های نرمال و سرطانی. *نشریه تازه‌ها در میکروبیولوژی و ایمونولوژی*، ۴(۱)، ۶۹-۸۲. DOI: 20.1001.1.26454491.1400.4.1.6.8
- شاهکوه‌محلی، الناز، اسدپور، الهام، و شاهکوه‌محلی، الیا، (۱۴۰۱). مروری بر روش‌های بیولوژیک (سبز) سنتز نانوذرات و کاربردهای آن. *مجله شیمی سبز و فناوری‌های پایدار*، ۱۰، ۱-۱۰.
- شاهین‌لخته، مینا، سوری‌نژاد، ایمان، و قاسمی، زهرا (۱۳۹۹). سنتز زیستی نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید با استفاده از گیاه حرا (*marina Avicennia*) و بررسی فعالیت ضدباکتریایی آن. *مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران*، ۳۰(۱۸)، ۵-۲۷.
- عموآقایی، ریحانه، مجیدی، مینا، و فرهادیان، صادق (۱۴۰۱). اثر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر تحمل تنش شوری در گیاه زنیان (*Carum copticum L.*). *فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۱۱(۴۸)، ۱۹-۳۳. DOI:20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3
- غلامی، مریم، و آذربانی، فریده (۱۳۹۵). بررسی اثر دما، غلظت و اسیدیته بر سنتز نانوذرات نقره تولیدشده توسط گیاه پونه کوهی. *مجموعه مقالات دومین همایش بین‌المللی و پنجمین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار*، ۱-۱۰.
- هاشمی‌دهکردی، الهه، موسوی، موسی، معلمی، نوراله، و غفاریان مقرب، محمدهادی. (۱۳۹۵). بررسی اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (آناتاز) بر روی برخی خصوصیات فیزیولوژی و مورفولوژی توت‌فرنگی رقم کوئین الیزا (*Fragaria ananassa c.v.Queen*) (Elisa) در شرایط کشت هیدروپونیک. *مجله فرایند و کارکرد گیاهی*، ۵(۱۶)، ۸-۱. DOI: 20.1001.1.23222727.1395.5.16.1.6
- Adriano, D. C. (2001). Trace Elements in Terrestrial Environments. 2nd Ed. Springer, New York, 1-867.
- Ahmad, M. S. A., Hussain, M., Saddiq, R., & Alvi, A. K. (2007). Mungbean: A nickel indicator, accumulator or excluder? *Bull Environ Contamination Toxicology*, 78, 319-324. <https://doi.org/10.1007/s00128-007-9182-y>
- Ahonen-Jonnarh, U., Roitto, M., Markkola, A. M., Ranta, H., & Neuvonen, S. (2004). Effects of nickel and copper on growth and mycorrhiza of Scots pine seedlings inoculated with *Gremmeniella abietina*. *Forest Pathology*, 34, 337-348. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2004.00375.x>
- Alam, M. M., Hayat, S., Ali, B., & Ahmad, A. (2007). Effect of 28-homobrassinolide treatment on nickel toxicity in *Brassica juncea*. *Photosynthetica*, 45, 139-142. <https://doi.org/10.1007/s11099-007-0022-4>
- Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q., & Ahmad, A. (2009). Nickel: Essentiality, Toxicity and Tolerance in Plants; Nickel in Relation to Plants. Narosa Publishing House, New Delhi, India.
- Ali, A., Mohammad, S., Ali Khan, M., Raja N. I., Arif, M., Atif, K., & Mashwani, Z. (2019). Silver nanoparticles elicited in vitro callus cultures for accumulation of biomass and secondary metabolites in *Caralluma tuberculata*. *Artificial Cells, Nanomedicine, And Biotechnology*, 47(1), 715-724. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1577884>
- Alidadi Khaliliha, M., Dordipour, E., & Barani Motlagh, M. (2016). Interactive effect of iron and lead on growth and their uptake in Cress (*Lepidium sativum L.*). *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 5(4), 41-59.
- Ashraf, U., Kanu, A. S., Mo, Z., Hussain, S., Anjum, S. A., Khan, I., Abbas, R. N., & Tang, X. (2015). Lead toxicity in rice: Effects, mechanisms, and mitigation strategies, a mini reviews. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(23), 18318-18332. doi: 10.1007/s11356-015-5463-x
- Azooz, M. M., Youssef, M. M., & Al-Omair, M. A. (2011). Comparative evaluation of zinc and lead their synergistic effects on growth and some physiological responses of Hassawi okra (*Hibiscus esculentus*) seedling. *American Journal of Plant Physiology*, 6(6), 269-282. DOI: 10.3923/ajpp.2011.269.282
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Tears, I. D. (1975). Rapid determination of free Proline in water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060>
- Ben Hamed, K., Castagna, A., & Salem, E. (2007). Sea fennel (*Crithmum maritimum L.*) under salinity conditions: A comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant Growth Regulation*, 53, 185-194. DOI: 10.1007/s10725-

007-9217-8

- Berahmand, A. A., Ghafarian Panahi, A. H., Sahabi, H., Feizi, P., Rezvani Moghaddam, N., Shahtahmassebi Fotovat, A., Karimpour, H., & Gallehghir, O. (2012). Effects of silver nanoparticles and magnetic field on growth of fodder maize (*Zea mays* L.). *Biological Trace Element Research*, 149, 419-424. doi: 10.1007/s12011-012-9434-5
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Brake, S., Jensen, R., & Mattox, J. (2004). Effects of nickel amended soils on tomato plants. *Plant and Soil*, 54, 860-869.
- Brown, P. H., Welch, R. M., & Madison, J. T. (1990). Effect of nickel deficiency on soluble anion, amino acid, and nitrogen levels in barley. *Plant and Soil*, 125, 19-27.
- Chen, C., Huang, D., & Liu, J. (2009). Functions and toxicity of nickel in plants: Recent advances and future prospects. *Clean Soil Air Water*, 37, 304-313. <https://doi.org/10.1002/clen.200800199>
- de Queiroz Barcelos, J. P., de Souza Osorio, C. R. W., Leal, A. J. F., Alves, C. Z., Santos, E. F., Reis, H. P. G., & dos Reis, A. R. (2017). Effects of foliar nickel (Ni) application on mineral nutrition status, urease activity and physiological quality of soybean seeds. *Australian Journal of Crop Science*, 11(2), 184-192. doi: 10.21475/ajcs.17.11.02.p240
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P., & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32, 93-101. DOI: 10.1093/jxb/32.1.93
- Fabiano, C., Tezotto, T., Favarin, J. L., Polacco, J. C., & Mazzafera, P. (2015). Essentiality of nickel in plants: A role in plant stresses. *Frontiers in Plant Science*, 6, 754. Doi: 10.3389/fpls.2015.00754
- Feizi, H., Amirmoradi, S. H., Abdollahi, F., & Jahedipour, S. (2013). Comparative effects of nanosized and bulk Titanium dioxide concentrations on medicinal plant *Salvia officinalis*. *Annual Review and Research in Biology*, 3(4), 814-824.
- Gad, N., El-Sherif, M., & El-Gereedly, A. (2007). Influence of nickel on some physiological aspects of tomato plants. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1, 286-293.
- Gajewska, E., Bernat, P., Dlugonski, J., & Sklodowska, M. (2012). Effect of nickel on membrane integrity, lipid peroxidation and fatty acid composition in wheat seedlings. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 198(4), 286-294. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2012.00514.x>
- Gao, F., Chao, L., Zheng, L., Mingyu, S., Xiao, W., Yang, F., Cheng, W., & Ping, Y. (2006). Mechanism of nano anatase TiO₂ on promoting photosynthetic carbon reaction of spinach. *Biological Trace Element Research*, 111, 239-245. DOI:10.1385/BTER:111:1:239
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Gohari, G., Mohammadi, A., Akbari, A., Panahirad, S., Dadpour, M. R., Fotopoulos, V., & Kimura, S. (2020). Titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. *Scientific Reports*, 10(1), 1-14. doi: 10.1038/s41598-020-57794-1
- Gopal, R., & Nautiyal, N. (2012). Growth, antioxidant enzymes activities, and proline accumulation in mustard due to nickel. *International Journal Vegetable Science*, 18, 223-234. <https://doi.org/10.1080/19315260.2011.619641>
- Hatami, M., Ghorbanpour, M., & Salehiarjomand, H. (2014). Nano-anatase TiO₂ modulates the germination behavior and seedling vigority of some commercially important medicinal and aromatic plants. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 8(22), 53-59.
- Heath, R. L., & Packer, L. (1969). Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198. doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1
- Hezaveh, T. A., Rahmani, F., Alipour, H., & Pourakbar, L. (2020). Effects of foliar application of ZnO nanoparticles on secondary metabolite and micro-elements of camelina (*Camelina sativa* L.) under salinity stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 16(4), 54-69.
- Hwang, M., & Ederer, G. M. (1975). Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 1, 114-117. DOI: 10.1128/jcm.1.1.114-115.1975
- Jacob, D. L., Borchardt, J. D., Navaratnam, L., Otte, M. L., & Bezbaruah, A. N. (2013). Uptake and translocation of Ti from nanoparticles in crops and wetland plants. *International Journal of Phytoremediation*, 15(2), 142-153. <https://doi.org/10.1080/15226514.2012.683209>
- Jonapa-Hern, F., Gutierrez-Miceli, F., & Espinoza, A. S. (2020). Foliar application of green nanoparticles in *Annona muricata* L. plants and their effects in physiological and biochemical parameters. *Biocatalysis Agricultural Biotechnology*, 28, 101-121. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101751>
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, polyphenol oxidase activities during rice senescence. *Plant Physiology*, 57, 315-319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>

- Laima, S. K., & Soland, S. F. (1999). Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture*, 1, 1-5. doi: 10.1016/j.jff.2019.05.020
- Larue, C., Laurette, J., Herlin-Boime, N., Khodja, H., Fayad, B., Flank, A. M., Brisset, F., & Carriere, M. (2012). Accumulation, translocation and impact of TiO₂ nanoparticles in wheat (*Triticum aestivum* ssp.): Influence of diameter and crystal phase. *Science of the Total Environment*, 431, 197-208. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.073>
- Laware, S. L., & Raskar, S. (2014). Effect of titanium dioxide nanoparticles on hydrolytic and antioxidant enzymes during seed germination in onion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(7), 749-760.
- Maheshwari, R., & Dubey, R. (2009). Nickel-induced oxidative stress and the role of antioxidant defence in rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 59, 37-49. DOI: 10.1007/s10725-009-9386-8
- Moaveni, P., Talebi, A., Aliabadi Farahani, H., & Maroufi, K. (2011). Study of nano particles TiO₂ spraying on some yield components in barley (*Hordem vulgare* L.). *Advances in Environmental Biology*, 5(8), 2224-2227.
- 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. doi: 10.1007/s12011-013-9631-x
- Moshirian Farahi, S. M., Taghavizadeh Yazdi, M. E., Einafshar, E., & Akhondi, M. (2023). The effects of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on physiological, biochemical, and antioxidant properties of Vitex plant (*Vitex agnus - castus* L.). *Heliyon*, 9, e22144. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22144>
- Nasir Khan, M. N., Siddiqui, M. H., Alhussaen, K. M., El-Alosey, A. R., AlOmran M. A. M., & Kalaji, H. M. (2023). Titanium dioxide nanoparticles require K⁺ and hydrogen sulfide to regulate nitrogen and carbohydrate metabolism during adaptive response to drought and nickel stress in cucumber. *Environmental Pollution*, 8, 12-20. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122008>
- Pandey, N., & Pathak, G. (2006). Nickel alters antioxidative defense and water status in green gram. *Indian Journal of Plant Physiology*, 11, 113.
- Rasheed, A., Huijie Li, H., Tahir, M. M., & Mahmood, A. (2022). The role of nanoparticles in plant biochemical, physiological, and molecular responses under drought stress: A review. *Frontiers in Plant Science*, 5, 1-15. DOI 10.3389/fpls.2022.976179
- Sairam, R. K., Srivastava, G. C., & Saxena, D. C. (2000). Increased antioxidant activity under elevated temperature: A mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes. *Biological Plantarum*, 43, 245-251. DOI: 10.1023/A:1002756311146
- Sagner, S., Kneer, R., Wanner, G., Cosson, J. P., Deus-Neumann, B., & Zenk, M. H. (1998). Hyperaccumulation, complexation and distribution of nickel in *Sebertia acuminata*. *Phytochemistry*, 47, 339-347. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00593-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00593-1)
- Singh, D. K., Chatterjee, S., & purty, R. S. (2021). Titanium dioxide nanoparticles (nano-TiO₂) mitigate heavy metals stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) Seedlings. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 22(71), 131-140.
- Sreekanth, T., Nagajyothi, P., Lee, K., & Prasad, T. (2013). Occurrence, physiological responses and toxicity of nickel in plants. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10, 1129-1140. DOI:10.1007/s13762-013-0245-9
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. *Plant Science*, 151, 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- Wang, W., Gu, B., Liang, L., Hamilton, W. A., & Wesolowski, D. J. (2004). Synthesis of rutile (α-TiO₂) nanocrystals with controlled size and shape by low-temperature hydrolysis: Effects of solvent composition. *Journal of Physical Chemistry*, 108, 14789-92. <https://doi.org/10.1021/jp0470952>
- Wu, F., Li, X., Wang, Z., Guo, H., Wu, L., Xiong, X., & Wang, X. A. (2011). Novel method to synthesize anatase TiO₂ nanowires as an anode material for lithium-ion batteries. *Journal of Alloys and Compounds*, 509(8), 3711-3715. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2010.12.182>
- Wu, L., Zhu, X., & Le, C. (2017). Metabolomics analysis of TiO₂ nanoparticles induced toxicological effects on rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Pollution*, 230, 302-310. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.062>
- Zheng, L., Mingyu, S., Chao, L., Liang, C., Huang, H., Xiao, W., Xiaqing, L., Yang, F., Gao, F., & Hong, F. (2007). Effects of nanoanatase TiO₂ on photosynthesis of spinach chloroplasts under different light illumination. *Biological Trace Element Research*, 119, 68-76. DOI: 10.1007/s12011-007-0047-3
- Zheng, L., Mingyu, S., Xiao, W., Chao, L., Chunxiang, Q., Liang, C., Huang, H., Xiaqing, L., & Hong, F. (2005). Effect of nano anatase on spectral characteristics and distribution of LHCLL on the thylakoid membrane of spinach. *Biological Trace Element Research*, 120, 273-283. DOI: 10.1007/s12011-007-8025-3

Comparing the effect of green and synthetic titanium dioxide nanoparticles on improving resistance Early Urbana tomato plant (*Solanum lycopersicum* Var. Early Urbana) to heavy metal nickel stress

Hossein mozafari*¹, Seyed Mozaffar Mansouri², Hasan salari¹

¹ Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

² Department of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

(Received: 2024/06/27, Accepted: 2024/10/15)

Abstract

The toxicity of the heavy metal nickel in plants causes oxidative stress and the production of energetic radicals (ROS) such as superoxide (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl ($OH^\cdot$). If the amount of ROS accumulation exceeds the ability of the antioxidant system, the cell will be damaged and the sensitive tomato plant will suffer a reduction in growth. The application of titanium nanoparticles increases the resistance to nickel stress by increasing the antioxidant power and improving plant growth. In this research, the comparative and reciprocal effect of 50 mg/liter of two types of green nanoparticles (GNP; using oregano plant extract) and synthetic (SNP) titanium dioxide with a size of 10 to 30 nm on improving the growth and resistance of tomato. Early Urbana cultivar was studied under the stress of 150 μ M nickel-II sulfate in the greenhouse environment as a factorial experiment in the form of a completely randomized design. The results showed that the separate application of two green nanoparticles (GNP) and synthetic titanium (SNP) had a significant effect on the improvement of stem fresh weight (16.38 g/plant) and root length growth (30.04 cm), ion leakage (31.22%), MDA (0.084 nM), root potassium accumulation (1.69%) under nickel stress conditions. However, the cross-application of green nanoparticles with the synthetic type led to further improvement of measured traits such as stem magnesium nutrition (7.34%), stem iron (2.79%), stem nickel accumulation (0.028%), catalase enzyme activity (29.8 enzyme U) and leaf surface (11.6 cm^2) were treated with 150 μ M nickel toxicity and was able to reduce the toxic effects of nickel stress well. Therefore, in some other traits such as the improvement of stem H_2O_2 accumulation (4.6 μ M), the separate application of green nanoparticles under nickel stress had a better effect than synthetic titanium nanoparticles. However, the application of green titanium nanoparticles individually or together increased the resistance of plants under nickel stress and is a proposed method compatible with the environment.

Keywords: Nickel, Nanoparticles, Oxidative parameters, Tomato, Titanium

Corresponding author, Email: Mozafari.hossein@gmail.com