

## بررسی تغییر در میزان رنگدانه، جذب فلزات و ویژگی‌های رشد پریش (*Catharanthus roseus*) توسط نانو اکسید روی

محمد رضا امیرجانی\*، مه‌ری عسکری و فاطمه عسکری

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، کد پستی ۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۲۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۱۲/۱۳)

### چکیده:

پریش یکی از گیاهان دارویی مهم و از تیره خرزهره می‌باشد. در این تحقیق اثر نانوکود اکسیدروی بر شاخص رشدی وزن تر و خشک اندام هوایی، سطح برگ، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ، مقدار کربوهیدرات‌ها و میزان عناصر در گیاه بررسی شد. آزمایش در شرایط کشت گلخانه، به صورت کاملاً تصادفی با ۳ تکرار طراحی شد. غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدروی (۲، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار) در مقایسه با سولفات روی به عنوان کنترل به گیاه پریش به مدت ۷۰ روز داده شد. همچنین به منظور بررسی علائم کمبود روی، از غلظت صفر میکرومولار استفاده شد. نتایج نشان می‌دهد که تیمار گیاه با نانواکسیدروی در غلظت‌های بالاتر از ۲ میکرومولار به طور معنی‌داری وزن تر و خشک اندام هوایی، مقدار رنگیزه‌ها و مقدار کربوهیدرات‌ها را کاهش می‌دهد. همچنین نتایج نشان می‌دهد که جذب روی در مقیاس نانو بیشتر صورت گرفته است. همزمان با افزایش غلظت روی در گیاه مقدار پتاسیم نیز در گیاه افزایش می‌یابد به عبارتی این دو عنصر برهمکنش مثبتی را با هم نشان داده‌اند و این درحالی است که رابطه روی با عناصر آهن و فسفر آنتاگونیستی است یعنی با افزایش غلظت روی در گیاه میزان جذب این عناصر کاهش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: رنگیزه‌های فتوسنتزی، سطح برگ، سمیت روی، عناصر تغذیه‌ای، کربوهیدرات، نانواکسیدروی

### مقدمه:

حاصل از واکنش‌های احیایی درون سلولی سبب حفظ تمامیت غشای سلول‌ها می‌شود، بعلاوه این فلز به همراه مس بخش اصلی آنزیم سوپراکسیددیسموتاز را به عنوان خورنده رادیکال‌های آزاد تشکیل می‌دهد (Rion and Alloway, 2004). همچون سایر فلزات سنگین هنگامی که فلز روی در خاک و در نهایت در بافت‌های گیاهی تجمع می‌یابد بسته به گونه گیاهی موجب تغییر در برخی فرآیندهای متابولیکی گیاه شده و از این طریق در رشد و نمو گیاهان اختلال ایجاد می‌کند. عناصر غذایی در جذب، انتقال و متابولیسم با یکدیگر برهمکنش دارند. به طوری که اگر غلظت برخی از عناصر در محیط زیاد باشد از

فلز روی یک عنصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان بوده، در بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاه نقش دارد. این فلز بعنوان فعال‌کننده و کوفاکتور برخی آنزیم‌های حیاتی گیاه از جمله کربونیک‌انیدرازها، دهیدروژنازها، آلکالین فسفاتازها، فسفولپیازها و RNA پلیمرازها در متابولیسم پروتئین‌ها، قندها، اسیدهای نوکلئیک، چربی‌ها، فتوسنتز گیاه و بیوسنتز اکسین بعنوان یک هورمون محرک رشد ایفای نقش می‌کند. برخی از محققان معتقدند که فلز روی از طریق محافظت پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی در برابر رادیکال‌های آزاد و سایر محصولات

\*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: m-amirjani@araku.ac.ir

جذب برخی از عناصر دیگر جلوگیری می‌کنند. این پدیده، بازدارندگی یا آنتاگونیسم نام دارد (ملکوتی و طباطبایی، ۱۳۸۴). فلزات سنگین هم‌چنین می‌توانند با رقابت با سایر عناصر دیگر مورد نیاز گیاه در جذب آن‌ها و تغذیه معدنی گیاه ایجاد اختلال نمایند و از طرف دیگر فلزات جذب شده با اتصال به بخش‌های حساس ملکول‌های زیستی و با مهار آنها متابولیسم طبیعی سلول را مختل می‌نمایند. فلز روی نیز در غلظت‌های فزاینده همانند بسیاری از فلزات سنگین با ایجاد اختلال در متابولیسم سلولی، موجبات کاهش رشد و عملکرد گیاهی را فراهم می‌آورد. به عنوان مثال بعلت خواص شیمیایی مشابه کادمیم و روی، جذب و انتقال این دو عنصر در داخل گیاه ممکن است از مسیرهای مشابهی صورت گیرد (Grant *et al.*, 1997). این فرضیه وجود دارد که عناصری که دارای خواص شیمیایی و فیزیکی مشابهی هستند به طور آنتاگونیستی عمل می‌کنند. برخی از محققین نشان داده‌اند که اضافه کردن روی به خاک، غلظت کادمیم را در محصولات کاهش می‌دهد. به طور کلی فناوری نانو در زمره فناوری‌های جدیدی است که هنوز در مرحله آغازین رشد خود قرار دارد. تفاوت اصلی فناوری نانو با فناوری‌های دیگر در مقیاس مواد و ساختارهایی است که در این فناوری مورد استفاده قرار می‌گیرند. منظور از مقیاس نانو ابعادی بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشد. که در این مقیاس خصوصیات فیزیکی، بیولوژیکی و شیمیایی مواد تفاوت اساسی با یکدیگر دارند. از جمله خواص منحصر به فرد نانوذرات افزایش سطح ویژه، سرعت واکنش بالا و خواص کوانتومی را می‌توان نام برد که خواص این ذرات به اندازه، ترکیب شیمیایی و شکل ذرات بستگی دارد (Ma *et al.*, 2010). با استفاده از نانوکودها به عنوان جایگزینی برای کودهای مرسوم، عناصر غذایی کود به تدریج و به صورت کنترل شده در خاک آزاد می‌شوند. در حقیقت با بهره‌گیری از فناوری نانو در طراحی و ساخت نانوکودها، فرصت‌های جدیدی به منظور افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی و به حداقل رساندن هزینه‌های حفاظت از محیط زیست، پیش روی انسان گشوده شده است. نانوکودها، به دلیل

رهاسازی تدریجی و آرام عناصر غذایی خود بهترین جایگزین برای کودهای محلول مرسوم هستند. با بهره‌گیری از نانوکودها، عناصر غذایی به آرامی و با سرعتی مناسب در تمام طول فصل رشد گیاه آزاد می‌شوند و بنابراین به دلیل کاهش شدید آبیاری عناصر، گیاهان قادر به جذب بیشترین مقدار مواد غذایی خواهند بود (Chinnamuthu and Boopathi, 2009). گیاه پرپوش (*Catharanthus roseus*) یکی از گیاهان دارویی مهم و از تیره خرزهره (Apocynaceae) می‌باشد. این گیاه به صورت بوته‌ای و چندساله زندگی می‌کند. ارتفاع آن ۹۰ سانتیمتر ساقه گیاه مستقیم و برگ‌های ساده و متقابل و گل‌آذین آن خوشه‌ای می‌باشد. این گیاه اغلب در مناطق معتدل و گرمسیری رشد می‌کند و به طور وسیع برای اهداف تجاری در شمال هند، آفریقا و استرالیا کشت داده می‌شود. از میان ۱۳۰ نوع آکالوئید ایندولی‌ترپنوئیدی که در گیاه پرپوش شناسایی شده است، آکالوئیدهای وین‌بلاستین و وین‌کریستین از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند: این دو آکالوئید از طریق اتصال به میکروتوبول‌ها و توقف تقسیم سلولی در طی متافاز میتوز، خاصیت ضد توموری داشته و بیش از ۴۰ سال است که در شیمی درمانی بسیاری از سرطان‌ها کاربرد دارند (Aslam *et al.*, 2009). آهکی بودن خاک‌ها (pH بالا) در شرایط خشک و نیمه‌خشک ایران که دارای بارندگی کم است، موجب کاهش شدید در حلالیت عناصر ریزمغذی به ویژه روی می‌گردد و در نتیجه غلظت این عنصر در گیاهان کاهش می‌یابد. در این خاک‌ها کودهای روی مشکل کمبود روی را حل نمی‌کند علت آن به تبدیل سریع روی محلول به روی بی‌کربناتی کم‌محلول نسبت داده شده است (رفیعی و همکاران، ۱۳۸۳). از طرفی با توجه به نوظهور بودن فناوری نانو و روند رو به رشد تحقیقات در زمینه نانوکودها، گزارش‌های کمی درباره اثر این نانوکودها در افزایش کمی و کیفی رشد گیاهان موجود می‌باشد. بنابر این پژوهش حاضر به منظور بررسی مقایسه پاسخ‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه پرپوش به دو فرم روی (سولفات روی موجود در محیط هوگلند و نانوسولفات روی) طراحی و اجرا شد.

## مواد و روش‌ها:

**تهیه و آماده‌سازی بذر:** بذر گیاه پرپوش از شرکت پاکان بذر اصفهان در مهر ماه سال ۱۳۹۱ تهیه شد. این بذرهای ابتدا توسط هیپوکلریت سدیم ۲٪ به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی سطحی و سپس ۲ بار با آب مقطر شستشو داده شدند. بذرهای ضدعفونی شده در بین دو کاغذ صافی مرطوب و استریل قرار گرفتند. گیاهک‌های ۳ روزه حاصل از جوانه‌زنی بذرهای ضدعفونی شده (Wang and Oyaizu, 2009) پرپوش به ۲۱ گلدان محتوی خاک و پرلیت (۱:۱) منتقل شدند. خاک استفاده شده، لومی-رسی با  $pH=7/3$ ، میزان نیتروژن  $0/03\%$ ، میزان فسفر قابل جذب  $4\text{ppm}$ ، میزان پتاسیم قابل جذب  $100\text{ppm}$  و ریزمغذی‌های قابل دسترس آهن  $7/6\text{ppm}$ ، روی  $1\text{ppm}$ ، مس  $0/2\text{ppm}$  و منگنز  $0/6\text{ppm}$  اندازه‌گیری شد.

## تهیه و آماده‌سازی نانوذرات اکسیدروی: نانوذرات

اکسیدروی از شرکت پیشگامان نانو مواد مشهد خریداری شدند. برای ساخت غلظت‌های مورد نیاز (۲، ۴، ۵، ۱۰، ۱۵ میکرومولار) ابتدا  $0/016$  گرم ماده وزن شد و در  $100\text{cc}$  آب مقطر دو بار تقطیر حل شد و محلول ۲ میلی‌مولار نانو اکسیدروی بدست آمد. سپس در دستگاه اولتراسونیک ( $100\text{ W}, 40\text{ KHz}$ ) به مدت نیم ساعت به منظور پراکنده شدن ذرات قرار گرفتند، سپس یک مگنت مغناطیسی درون محلول قرار داده شد و به مدت یک ساعت بر روی دستگاه همزن قرار گرفت تا مانع آگلومره شدن نانوذرات شود. از این محلول برای ساخت مقادیر مورد نیاز استفاده شد. برای ساخت غلظت ۲ میکرومولار  $1\text{cc}$  از سوسپانسیون تهیه شده را در  $1000\text{cc}$  محلول هوگلند بدون روی حل شد و به همین ترتیب برای ساخت غلظت ۴ میکرومولار  $2\text{cc}$ ، ۵ میکرومولار  $2/5\text{cc}$ ، ۱۰ میکرومولار  $5\text{cc}$  و ۱۵ میکرومولار  $7/5\text{cc}$  از سوسپانسیون آماده شده به  $1000\text{cc}$  محلول هوگلند بدون روی منتقل شدند. در تیمار صفر از محلول هوگلند فاقد روی استفاده شد و از محلول هوگلند کامل که حاوی  $0/22$  میلی گرم بر لیتر سولفات روی است بعنوان شاهد استفاده شد.

## کاشت گیاه و اعمال تیمارها: ابتدا گلدان‌هایی به ارتفاع ۲۰

سانتی‌متر خریداری شد، گلدان‌های موجود با نسبت مساوی خاک و پرلیت پر شدند سپس بذرهایی که در لای کاغذ صافی جوانه زده بودند، به گلدان منتقل شدند. کلیه گیاهان در شرایط آزمایشگاهی با دمای  $25\pm 3$  درجه سانتی‌گراد در روز و  $20\pm 2$  درجه سانتی‌گراد در شب و دوره روشنایی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی رشد داده شدند. اعمال تیمارها به صورت یک روز در هفته و به مدت ۱۰ هفته ادامه یافت. برای کم کردن اثرات محیطی، جابجایی تصادفی گلدان‌ها در طول دوره رشد انجام گرفت. این طرح به صورت کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در نهایت گیاهان بعد از ۷۰ روز برای بررسی تأثیر نانو اکسیدروی برداشت شدند. تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار spss v.16 انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و برای رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده گردید.

## اندازه‌گیری مقدار کلروفیل و کاروتنوئید: محاسبه غلظت

کلروفیل‌ها و کاروتنوئید بر اساس روش آرنون (۱۹۴۹) (Lichtenthaler and Wellbum, 1983) انجام شد. بر اساس این روش  $0/1$  گرم از بافت تر برگ شده و رنگیزه‌ها با استون ۸۰ درصد استخراج شد، پس از صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره ۲، جذب در طول موج‌های  $663/2$ ،  $646/8$  و  $470$  نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده و مقدار کلروفیل‌های  $a$  و  $b$  و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گزانتوفیل) با استفاده از معادلات مربوطه بر حسب گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

## اندازه‌گیری مقدار کربوهیدرات کل: به منظور اندازه‌گیری

کربوهیدرات کل از روش فنل سولفوریک اسید استفاده شد. در این روش ماده گیاهی خشک مورد استفاده قرار گرفت، از این رو بخش هوایی گیاهان به مدت ۴۸ ساعت در دمای  $80-70$  درجه سانتی‌گراد در آون خشک شده و  $1$  گرم از هر نمونه در  $10\text{ml}$  آب قرار داده شد.  $2$  میلی‌لیتر از محلول گیاهی مورد نظر با  $50$  میکرولیتر فنل  $80\%$  مخلوط و  $5$  میلی‌لیتر سولفوریک اسید به صورت عمود بر سطح مایع به آن افزوده شد. مخلوط به مدت  $10$  دقیقه در محیط به حالت سکون قرار گرفت. سپس

محلول اسیدی خاکستر درون بالن ژوژه اضافه شد. محلول حاصله با آمونیاک ۱:۱ خنثی شد. سپس ۵ml نیتریک اسید ۱:۲ و ۱۵ml معرف وانادات مولیبدات اضافه گردید و حجم نهایی را با آب مقطر به ۱۰۰ml رسانده شد. جذب محلول‌ها و نمونه‌های استاندارد را در طول موج ۴۵۰nm خوانده و با رسم منحنی استاندارد در نهایت مقدار فسفر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ محاسبه شد (Creus et al., 2004; Kohler et al., 2007).

### نتایج:

**تغییرات وزن تر و خشک اندام هوایی و سطح برگ:** بیشترین میزان وزن تر و خشک اندام هوایی و سطح برگ در تیمار ۲ میکرومولار نانوآکسیدروی مشاهده گردید. اما این افزایش نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار نبود. وزن تر بخش هوایی در تیمارهای ۰، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار نانوآکسیدروی در مقایسه با شاهد به ترتیب ۶۴، ۶۲، ۵۴، ۵۴ و ۷۴ درصد و همچنین وزن خشک بخش هوایی در تیمارهای ۰، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار نانوآکسیدروی به ترتیب ۶۶، ۶۶، ۶۶، ۷۸ و ۷۸ درصد کاهش را نشان داد (جدول ۱).

**تغییرات ترکیب رنگی‌های برگ‌ها:** بیشترین محتوای کلروفیل  $a$ ،  $(a+b)$  و کارتنوئیدها در غلظت ۲ میکرومولار نانوآکسیدروی مشاهده شد. با افزایش غلظت نانوآکسیدروی، محتوای کلروفیل  $a$ ، کلروفیل کل  $(a+b)$  و کارتنوئیدها نسبت به شاهد کاهش یافت و این کاهش در میزان کلروفیل  $a$  در تیمارهای ۰، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ به ترتیب ۱۰، ۱۳، ۱۷، ۲۴ و ۵۴ درصد نسبت به شاهد بوده است و میزان کلروفیل کل در تیمارهای ۰، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ به ترتیب ۱۶، ۲۳، ۲۷، ۳۸ و ۶۰ درصد کاهش را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. میزان کارتنوئید در غلظت‌های ۲، ۴ و ۵ میکرومولار نانوآکسیدروی به ترتیب ۹۲، ۲۵ و ۴ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. اما غلظت‌های ۰، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار نانوآکسیدروی به ترتیب ۱۱، ۱۱ و ۲۲ درصد کاهش را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. تغییرات محتوای کلروفیل  $b$  نسبت به شاهد معنی‌دار

به مدت ۱۰ الی ۲۰ دقیقه در آن در درجه حرارت ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در پایان جذب محلول در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. جهت محاسبه میزان کربوهیدرات کل باید منحنی استاندارد رسم شود (Dubois et al., 1956).

**اندازه‌گیری عناصر روی و آهن:** جهت سنجش عناصر روی و آهن ۰/۲ گرم از ماده خشک گیاهی (برگ) توزین و به هر کدام ۴ ml اسیدنیتریک ۶۵٪ اضافه شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند، سپس به مدت ۶-۵ ساعت در آن ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته تا  $\text{NO}_2$  تبخیر شود. بعد از خنک شدن، نمونه‌ها با کاغذ صافی، صاف شده و با آب مقطر به حجم ۱۰ml رسانده شدند و سپس جذب عناصر روی و آهن در طول موج‌های ۲۱۳/۹ و ۲۴۸/۳ نانومتر توسط دستگاه جذب اتمی مدل Shimadzu AA680 خوانده شد.

**اندازه‌گیری یون‌های پتاسیم:** جهت اندازه‌گیری یون‌های پتاسیم بخش هوایی نمونه‌ها از کمی بالاتر از ریشه جدا شده و به مدت سه روز در آن  $75^\circ\text{C}$  قرار داده شد ۰/۲ گرم پودر نمونه خشک بخش هوایی درون بوته‌چینی و در کوره الکتریکی به مدت ۸ ساعت در حرارت  $550^\circ\text{C}$  قرار گرفت تا خاکستر بدست آمد. خاکستر حاصل ابتدا با یک میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۲/۵ نرمال سائیده سپس محلول در یک بالن ژوژه ۲۵۰ میلی‌لیتر صاف گردید. کروزه و کاغذ صافی با کمی آب مقطر شسته و محلول با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل حاوی یون‌های پتاسیم بود که غلظت آن با دستگاه فلیم‌فوتومتر (مدل JEANWAYPDP7) اندازه‌گیری گردید. سپس با استفاده از محلول استاندارد پتاسیم، غلظت‌های شاخص یون پتاسیم ثبت گردید.

**اندازه‌گیری یون‌های فسفر:** ابتدا بر روی خاکستر از یک گرم ماده خشک گیاهی درون کروزه چینی چند قطره آب مقطر ریخته شد. سپس به منظور حل کردن خاکستر گیاهی ۲ml نیتریک اسید ۱:۲ به آن افزوده و با یک میله شیشه‌ای خوب ساییده شد. محلول حاصله با کمک کاغذ صافی درون یک بالن ژوژه ۱۰۰ml صاف شد. داخل کروزه را با چند میلی‌لیتر آب مقطر شسته و محلول حاصل را روی کاغذ صافی ریخته و به

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف نانوآکسیدروی بر وزن تر و خشک بخش هوایی (مجموع ساقه و برگ) و سطح برگ گیاه پرپوش ۷۰ روزه.

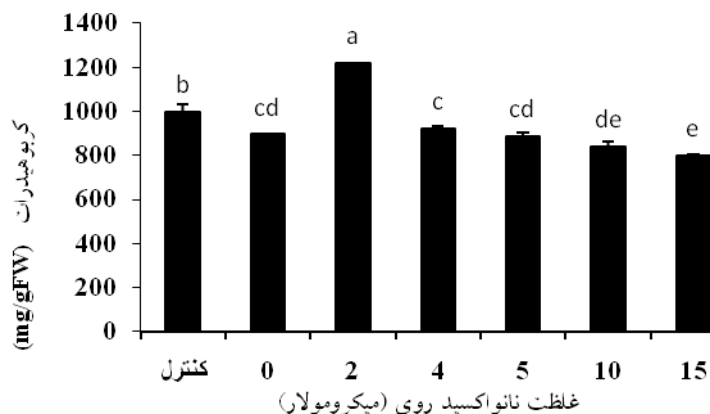
غلظت‌های مختلف نانوآکسید روی (μM)	وزن تر (g)	وزن خشک (g)	سطح برگ cm <sup>2</sup>
کنترل	۰/۵ <sup>a</sup> ± ۰/۰۳	۰/۰۵ <sup>a</sup> ± ۰/۰۱	۱۰/۹۳ <sup>a</sup> ± ۱/۰۵۹
۰	۰/۱۷۷ <sup>bc</sup> ± ۰/۰۸	۰/۰۱۹ <sup>b</sup> ± ۰/۰۰۴	۵/۱۰ <sup>b</sup> ± ۰/۰۴۹
۲	۰/۵۶ <sup>a</sup> ± ۰/۱۵	۰/۰۵۲ <sup>a</sup> ± ۰/۰۱	۱۲/۶۷ <sup>a</sup> ± ۱/۰۴۵
۴	۰/۲۹ <sup>b</sup> ± ۰/۰۴	۰/۰۲۴ <sup>b</sup> ± ۰/۰۰۴	۶/۶۷ <sup>b</sup> ± ۱/۰۲۴
۵	۰/۲۳ <sup>bc</sup> ± ۰/۰۲	۰/۰۱۷ <sup>b</sup> ± ۰/۰۰۷	۵/۲۷ <sup>b</sup> ± ۰/۰۶۴
۱۰	۰/۲۳ <sup>bc</sup> ± ۰/۰۷	۰/۰۱۷ <sup>b</sup> ± ۰/۰۰۹	۵/۱۰ <sup>b</sup> ± ۰/۰۴۶
۱۵	۰/۱۳ <sup>c</sup> ± ۰/۰۴	۰/۰۱۱ <sup>c</sup> ± ۰/۰۰۶	۴/۳۳ <sup>b</sup> ± ۰/۰۳۳

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار ± SE است. مقایسه برای هر ستون جداگانه انجام شده است.

جدول ۲-مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف نانوآکسیدروی بر مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید (mg/g وزن تر برگ) گیاه پرپوش ۷۰ روزه.

غلظت‌های مختلف نانوآکسید روی (μM)	رنگیزه (mg/gFW)			
	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید
کنترل	۳/۲۳ <sup>b</sup> ± ۰/۴۳	۱/۷۶ <sup>a</sup> ± ۰/۸۸	۴/۹۹ <sup>ab</sup> ± ۱/۲۵	۰/۲۷ <sup>bc</sup> ± ۰/۰۳
۰	۲/۹ <sup>bc</sup> ± ۰/۲	۱/۲۹ <sup>a</sup> ± ۰/۱	۴/۱۹ <sup>bc</sup> ± ۰/۱۱	۰/۲۴ <sup>b</sup> ± ۰/۰۲
۲	۵/۲۸ <sup>a</sup> ± ۰/۲۶	۱/۵۱ <sup>a</sup> ± ۰/۰۹	۶/۷۹ <sup>a</sup> ± ۰/۲۶	۰/۵۲ <sup>a</sup> ± ۰/۰۲
۴	۲/۷۸ <sup>bc</sup> ± ۰/۸۴	۱/۰۵ <sup>a</sup> ± ۰/۰۹	۳/۸۲ <sup>b</sup> ± ۰/۱۳	۰/۳۴ <sup>b</sup> ± ۰/۰۲
۵	۲/۶۶ <sup>bc</sup> ± ۰/۵۲	۱ <sup>a</sup> ± ۰/۰۰۹	۳/۶۶ <sup>bc</sup> ± ۰/۵۱	۰/۲۸ <sup>bc</sup> ± ۰/۰۲
۱۰	۲/۴۴ <sup>bc</sup> ± ۰/۲۵	۰/۶۷ <sup>a</sup> ± ۰/۱۷	۳/۱۱ <sup>bc</sup> ± ۰/۰۴	۰/۲۴ <sup>c</sup> ± ۰/۰۴
۱۵	۱/۴۷ <sup>c</sup> ± ۰/۲۴	۰/۵۲ <sup>a</sup> ± ۰/۰۸	۱/۹۹ <sup>c</sup> ± ۰/۱۸	۰/۲۱ <sup>c</sup> ± ۰/۰۳

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار ± SE است. مقایسه برای هر ستون جداگانه انجام شده است.



شکل ۱- اثرات غلظت‌های مختلف نانوآکسیدروی (۰، ۲، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار) بر میزان کربوهیدرات‌های کل گیاهان پرپوش ۷۰ روزه. خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد (SE) است.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های تاثیر غلظت‌های مختلف نانوآکسیدروی بر مقدار عناصر پتاسیم، فسفر، روی و آهن (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ) گیاهان ۷۰ روزه.

شاخص	غلظت‌های مختلف			
	آهن (mg/g DW)	روی (mg/g DW)	فسفر (mg/g DW)	پتاسیم (mg/g DW)
کنترل	۱/۵ <sup>bc</sup> ±/۱۵	۰/۰۸ <sup>d</sup> ±/۰۰۶	۰/۰۴ <sup>a</sup> ±/۰۰۱۴	۰/۵۳ <sup>b</sup> ±/۰۳۲
۰	۱/۴۵ <sup>ab</sup> ±/۱۲	۰/۰۵۷ <sup>d</sup> ±/۰۰۶	۰/۰۲۳ <sup>b</sup> ±/۰۰۴۹	۰/۲۵۵ <sup>c</sup> ±/۰۰۳
۲	۱/۶ <sup>a</sup> ±/۱۶	۰/۰۸۴ <sup>d</sup> ±/۰۰۸	۰/۰۳۳ <sup>ab</sup> ±/۰۰۴	۰/۵۹۵ <sup>b</sup> ±/۰۰۲
۴	۱/۲ <sup>abc</sup> ±/۱۸	۰/۱۱ <sup>d</sup> ±/۰۱۷	۰/۰۳ <sup>b</sup> ±/۰۰۷	۰/۷ <sup>b</sup> ±/۰۳۸
۵	۱/۰۸ <sup>bcd</sup> ±/۱۹	۰/۲۱ <sup>c</sup> ±/۰۲۲	۰/۰۳ <sup>b</sup> ±/۰۰۳	۱/۰۴ <sup>a</sup> ±/۰۹۵
۱۰	۱/۹ <sup>cd</sup> ±/۱۱	۰/۲۸ <sup>b</sup> ±/۰۲۱	۰/۰۳ <sup>b</sup> ±/۰۰۳	۱/۰۸ <sup>a</sup> ±/۱۳
۱۵	۱/۰ <sup>d</sup> ±/۰۸۳	۰/۳۶ <sup>a</sup> ±/۰۳۰۵	۰/۰۲ <sup>b</sup> ±/۰۰۲	۱/۰۲۵ <sup>a</sup> ±/۱۴

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها مطابق با آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار ±SE و مقایسه برای هر ردیف جداگانه انجام شده است.

نبود (جدول ۲).

نانوآکسیدروی کاهش یافت. تیمارهای ۰، ۲، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار روی به ترتیب ۴۵، ۲۵، ۱۷، ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد نسبت به شاهد در جذب فسفر کاهش داشته است. کاهش در جذب عنصر آهن در غلظت‌های ۲، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار نانوآکسیدروی به ترتیب ۷، ۲۰، ۲۸، ۴۰ و ۵۳ درصد نسبت به نمونه شاهد بوده است.

#### بحث:

**تاثیر تیمارهای مختلف نانوآکسیدروی بر وزن (تر و خشک) اندام هوایی:** بررسی‌ها نشان می‌دهد، هر چه اندازه نانوذرات کوچکتر باشد خصوصیات و فعالیت‌های جدید و متفاوت‌تری از خود نشان می‌دهند (Sosa et al., 2003). نتایج این پژوهش نشان داد که روی در غلظت‌های پایین نانوآکسیدروی (۲ میکرومولار) باعث افزایش میزان وزن تر و خشک بخش هوایی (ساقه و برگ) نسبت به نمونه شاهد می‌شود، اما این افزایش نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار نبود. این در حالی است که با افزایش غلظت نانوآکسیدروی (۲ میکرومولار به بالا) وزن تر و خشک این اندام‌ها نسبت به نمونه شاهد کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند. علاوه بر این در غلظت صفر میکرومولار که فاقد روی بوده است نیز وزن تر و خشک بخش‌هایی کاهش یافته است و این کاهش نسبت به شاهد

**تغییرات میزان کربوهیدرات کل:** با توجه به شکل ۱ بیشترین مقدار کربوهیدرات کل در غلظت ۲ میکرومولار نانوآکسیدروی با ۲۲٪ افزایش نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد. اما به تدریج با افزایش شدت تنش از مقدار کربوهیدرات‌های کل در بخش هوایی کاسته شد. میزان کربوهیدرات‌ها در غلظت‌های ۰، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار نانوآکسیدروی به ترتیب ۱۰، ۸، ۱۱ و ۱۵ درصد کاهش را نسبت به نمونه شاهد نشان داد.

**تغییر میزان جذب عناصر:** با توجه به نتایج بدست آمده (جدول ۳) متناسب با افزایش غلظت‌های نانوآکسیدروی مقدار جذب و غلظت روی در گیاه افزایش یافت. غلظت‌های ۲، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ میکرومولار نانوآکسیدروی به ترتیب ۵، ۳۷/۵، ۱۶۲/۵، ۲۵۰ و ۳۵۰ درصد نسبت به شاهد افزایش را در جذب روی نشان داده است. همچنین مشاهده شد که به همراه افزایش جذب روی در گیاه مقدار پتاسیم نیز افزایش می‌یابد و این افزایش جذب پتاسیم در گیاهان تحت تیمارهای ۲، ۴، ۵، ۱۰ و ۱۵ به ترتیب ۱۲، ۳۲، ۹۶، ۱۰۴ و ۱۳۶ درصد نسبت به گیاه شاهد بوده است. در حالی که غلظت صفر میکرومولار نانوآکسیدروی ۵۲ درصد نسبت به نمونه شاهد کاهش را نشان داد. مقدار دو عنصر آهن و فسفر با افزایش غلظت‌های

آراییدوپسیس همخوانی دارد (Luderid *et al.*, 1992). همچنین بکار بردن غلظت‌های بالای نانوذرات اکسیدروی در گندم، توقف رشد، کاهش بیوماس را به همراه داشته است (Lin and Xing, 2008). طی تحقیقاتی کمبود روی کاهش در وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه را نشان داد. کمبود روی به ویژه منجر به کاهش رشد گردیده، زیست توده کمتری تولید شده و در نهایت عملکرد گیاه کاهش می‌یابد (Fournier *et al.*, 2005). نتایج مشابهی نیز توسط ویسانی و همکاران (۲۰۱۴) بدست آمده است.

تاثیر تیمارهای مختلف نانوآکسیدروی بر سطح برگ: مطابق با گزارش‌هایی که وجود دارد یون‌های فلزی سنگین پس از ورود به گیاه تا زمان القای تشکیل فیتوکلاتین‌ها در اثر فیتوکلاتین سنتتاز در سیتوزول سلول‌ها باقی می‌مانند و این تجمع بالای فلز در سیتوزول باعث مهار رشد برگ‌ها می‌شود (علومی ۱۳۸۲). کاهش میزان سطح برگ در گیاهان تیمار شده با غلظت‌های بالاتر از  $2\mu\text{M}$  در این تحقیق نیز ممکن است به دلیل تجمع فلز در برگ باشد علاوه بر این گزارش شده است گیاهانی که در معرض غلظت‌های بالای فلز روی قرار می‌گیرند ساختار میتوکندریایی در آنها تخریب شده و در نتیجه فرایندهای انرژی‌خواه مرتبط با رشد سلول در آنها دچار اختلال می‌شود (Rosen *et al.*, 1977). همانطور که مشاهده شد شاخص‌های رشدی گیاه پرپوش در غلظت‌های پایین نانوآکسیدروی ( $2\mu\text{M}$ ) نسبت به غلظت‌های بالا افزایش یافته است. بنابراین افزایش روی در حد مناسب سبب افزایش اکسین در گیاه و در نتیجه تحریک رشد گیاه می‌شود. نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز موید این مطلب است بدین صورت که سطح برگ در غلظت  $2\mu\text{M}$  افزایش یافته است. از سوی دیگر گزارش شده است که، Zn در غلظت‌های کم از طریق فعال‌سازی آنزیم‌های مربوط به فرآیند تکثیر و طولیل شدگی سلول‌ها نیز می‌تواند سبب تحریک رشد در گیاه شود (Rion and Allaway, 2004). این فلز همچنین از طریق دخالت در متابولیسم نیتروژن، نشاسته و چربی‌ها در گیاه و تأمین بیشتر نیتروژن به عنوان یک عنصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان

معنی‌دار بوده است. کاهش وزن تر بخش هوایی در غلظت‌های بالای نانوآکسیدروی ( $2\mu\text{M}$ ) در این پژوهش می‌تواند به این علت باشد که روی در غلظت‌های بالا، باعث کاهش کلروفیل و آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز، مهار چرخه کالوین و کاهش تثبیت کربن و سنتز کربوهیدرات و در نهایت کاهش ماده‌سازی می‌شود. کاهش میزان وزن تر و خشک در دو بخش هوایی و ریشه در غلظت‌های بالای نانوآکسیدروی به تنهایی حاکی از عدم ورود آب به درون بافت‌های گیاهی است. یافته‌های اخیر حاکی از آن است که عناصر سنگین از جمله روی در تنظیم کانال‌های آب نقش دارند (Zelazny and Vert, 2014). از طریق بلوکه کردن کانال‌های آبی به واسطه برهمکنش با گروه‌های سولفیدریل کانال‌های آبی سبب بسته شدن کانال‌های آبی و عدم نفوذ آب به درون بافت‌های گیاهی می‌شوند، عناصر سنگین با اثر سریع با ارتباطات آبی سلول‌های گیاهی به علت کاهش سریع قابلیت هدایت آبی سلول‌ها سمیت خود را آشکار می‌نمایند و تاثیر بر کاهش قابلیت انتقال آبی غالباً سریع‌تر و بیشتر از تاثیر سمیت عناصر سنگین بر غشای پلاسمایی در گیاهان آشکار می‌گردد (Barcelo and Poschenrider, 1990). نتایج حاصل از کاهش وزن تر دو اندام زیرزمینی و هوایی با نتایج مورد مطالعه بر روی گیاه آراییدوپسیس همخوانی دارد (Luderid *et al.*, 1992). در این آزمایش در غلظت صفر میکرومولار وزن تر و خشک اندام هوایی کاهش یافته است. در شرایط کمبود روی (غلظت صفر میکرومولار) نفوذ پذیری و خروج عناصری مانند فسفر زیاد می‌شود. در این بررسی به نظر می‌رسد کمبود عنصر روی از طریق تاثیر بر میزان جذب و جابجایی عناصر ضروری و نیز اثر بر میزان فعالیت برخی از آنزیم‌ها در جایگاه عملکردشان موجب اختلال در متابولیسم گیاه می‌شود (McBeath and McLaughli, 2014). روی همچنین در متابولیسم تریپتوفان، پیش‌ساز سنتز اکسین، شرکت می‌کند. بنابراین کمبود روی باعث کاهش سنتز اکسین می‌شود و بدنبال آن علائمی مثل متوقف شدن رشد گیاه مشاهده می‌شود (Aziz *et al.*, 2010). نتایج حاصل از کاهش وزن تر دو اندام زیرزمینی و هوایی با نتایج مورد مطالعه بر روی گیاه

فرایند رشد را در آن‌ها تسریع می‌نماید (Khan et al., 2002). در این پژوهش در غلظت صفر میکرومولار سطح برگ کاهش یافته است و این کاهش نسبت به شاهد معنی‌دار بوده است. دلیل این که کمبود روی باعث کمبود اکسین و در نهایت کاهش سطح برگ می‌شود (Suge et al., 1986; Hong and Ji-yun, 2007).

#### اثر غلظت‌های مختلف نانو اکسیدروی بر مقدار رنگیزه‌ها:

بر طبق نتایج بدست آمده در این تحقیق غلظت  $2\mu\text{M}$  نانو اکسیدروی موجب افزایش در میزان کلروفیل و کارتنوئید می‌شود این افزایش می‌تواند حاکی از نقش عملکردی این فلز در فعال‌سازی پروتئین سنتتازهای مسیر بیوسنتز کلروفیل و نیز برخی از آنزیم‌های پاداکساینده مانند آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز در مسیر حفاظت از تخریب کلروفیل توسط رادیکال‌های فعال اکسیژن باشد برخی مطالعات نیز پیشنهاد کرده‌اند که، فلز روی در راه‌اندازی برخی از آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل نقش اساسی دارد (قربانلی و بابالار، ۱۳۸۲). با افزایش غلظت نانو اکسیدروی میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش یافت این یافته‌ها با این نتایج مطابقت دارد. کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a, b و رنگدانه‌های فرعی مانند کاروتنوئیدها در اثر اعمال فلزات سنگین مانند مس، روی و سرب در بسیاری از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (Vanassche and Clijsters, 1990). ایشان با بررسی روی گیاه چچم (*Lolium perenne* L.) بیان کرده‌اند که زیادی روی باعث کاهش سنتز کلروفیل می‌شود (Bonnet et al., 2000). مطابق با نتایج بدست آمده جذب روی در مقیاس نانو افزایش یافته است و این افزایش جذب باعث بروز سمیت در گیاه پیروش شده است. این اثر سمیتی به دو صورت تفسیر می‌شود اول این که نانوذرات از غشا سلولی عبور می‌کنند در سلول به مواد درون سلولی متصل می‌شوند یا اینکه خود نانوذرات به هم متصل می‌شوند و تجمع می‌یابند در نتیجه تأثیرات سمیتی نانوذرات رخ می‌دهد. مشاهده شده است که تیمار گیاه *Cucumis sativus* با نانوذرات اکسیدروی در غلظت‌های بالا برای این گیاه سمیت ایجاد کرده است. دومین

تفسیر این است که ریشه گیاهان موادی را برای تغییر خصوصیات و رفتار نانوذرات اکسیدروی از خود ترشح می‌کند که نانوذرات را در خاک حل می‌کند و جذب  $\text{Zn}^{2+}$  را افزایش می‌دهد (Masarovicovc and Katarina, 2013). تأثیر سمیتی روی بر محتوی کلروفیل به این صورت است که: عناصر سنگین از جمله روی از طریق بازدارندگی ۲ آنزیم آمینو لولینیک اسید دهیدروژناز و پروتو کلرو فیلید ردوکتاز سبب کاهش بیوسنتز کلروفیل در گیاهان می‌شوند. جالب توجه است که برهمکنش عنصر سنگین با گروه سولفیدریل موجود در ساختار آنزیم‌های فوق به عنوان مکانیسم پیشنهادی در بازدارندگی عمل عناصر سنگین مطرح است. عنصر روی ساخت آمینولولینیک اسید و تشکیل کمپلکس فعال نوری پروتوکلروفیلید ردوکتاز را با دخالت خود باز می‌دارد. روی به طور اختصاصی با واکنش با گروه سولفیدریل موجود در پروتئین ردوکتاز، ساختار فعال آنزیم پروتوکلروفیلید ردوکتاز را بر هم می‌زند. برخی نیز معتقدند که کاهش محتوی کلروفیلی تحت تنش عناصر سنگین صرفاً به دلیل بازدارندگی از بیوسنتز کلروفیل تحت اثر سمی عناصر سنگین نیست و دریافتند که عنصر مرکزی Mg موجود در ساختار کلروفیل توسط عناصری چون جیوه، کادمیوم، مس، روی و نیکل قابل جابجایی است و این جابجایی عمده‌ترین تخریب انجام شده توسط عناصر سنگین در ساختارهای کلروفیلی به شمار می‌آید (Kupper et al., 1996). از طرفی آلودگی روی علاوه بر جلوگیری از جذب عناصر اساسی در بیوسنتز کلروفیل مثل Mg و Fe، موجب تحریک آنزیم کلروفیل‌لاز شده و از این طریق میزان کلروفیل را کاهش می‌دهد (Drazkiewicz, 1994). محققین معتقدند که روی بیشترین اثر خود را در غشا تیلاکوئیدی کلروپلاست‌های برگ‌های بالغ می‌گذارد و برگ‌های اولیه غالباً از این اثر سمیت روی مصون هستند. برخی معتقدند اگر چه عناصر سنگین سبب کاهش مقدار کلروفیل‌ها در گیاهان می‌شوند، ولی غالباً رنگیزه‌های اصلی بیش از رنگیزه‌های فرعی تحت تأثیر اثرات سنگین قرار می‌گیرند. میزان کارتنوئیدها در طی تنش فلزات سنگین کاهش می‌یابد (Barcelo and Poschenrieder, 2004).



در این تحقیق با افزایش شدت تنش از میزان رنگدانه کارتنوئید کاسته شده است به این دلیل که غلظت‌های بالای فلزات سنگین از طریق تخریب و بهم‌ریختگی ساختار کارتنوئیدها مقدار آن را در گیاه کاهش می‌دهند (Candan and Tarhan, 2003). میزان کلروفیل‌ها در غلظت صفر میکرومولار نیز کاهش یافت و این کاهش نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار نبوده است.

**اثر غلظت‌های مختلف نانوآکسیدروی بر میزان کربوهیدرات‌های کل:** اگر چه محلول غذایی حاوی مقادیر میکرومولار نانوآکسیدروی است، اما این مقدار در مقیاس نانو جذب بیشتری داشته است و به تدریج با افزایش غلظت نانوآکسیدروی محیط، میزان کربوهیدرات‌های کل کاهش معنی‌دار را نسبت به شاهد نشان می‌دهد علت این امر را می‌توان این گونه تفسیر کرد که آلودگی روی فرایندهای فتوسنتزی را کاهش می‌دهد که این کاهش از دو جهت کلی قابل توجه است: ۱- اثر بر فعالیت فیزیولوژیکی و آنزیماتیکی فتوسنتزی و ۲- اثر بر سطح برگ. تنش روی به دلایل مختلف موجب کاهش فتوسنتز می‌شود که از جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: تخریب فراساختار کلروپلاست، جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل، مسدود کردن مسیر انتقال الکترون فتوسنتزی و بازدارندگی فعالیت آنزیم‌های اساسی فتوسنتز همچنین آلودگی روی به طور رقابتی با یون کلسیم از ورود این یون به سلول جلوگیری کرده و کاهش یون کلسیم نیز در جلوگیری از تقسیمات سلولی موثر است. به این ترتیب با کاهش تقسیمات سلولی اندام‌ها از جمله برگ‌ها از رشد باز می‌مانند. با کاهش سطح پهنک برگ هم سطح فتوسنتز کننده کاهش می‌یابد و هم شدت تعرق کمتر شده و لذا ترکیبات لازم جهت انجام عمل فتوسنتز به میزان کمتری به برگ‌ها می‌رسد (Sharma and Dubey, 2004). مجموع این رویدادها منجر به کاهش شدت فتوسنتز می‌گردد که پیامد آن کاهش میزان قندها در اندام‌های گیاهی است. از دیگر دلایل کاهش قندها، مهار واکنش‌های مختلف چرخه کالوین و کاهش تثبیت CO<sub>2</sub> در گیاهان تحت تیمار با عنصر روی و همچنین اختلال در آنزیم‌های چرخه احیای کربن فتوسنتزی به وسیله فلزات

سنگین را می‌توان نام برد به ویژه رویسکو که کاتیون‌های دوظرفیتی نقش مهمی در فعالیت آن دارند. گزارش شده است که روی، تشکیل غشاهای تیلاکوئیدی در پروپلاستیدها را مختل می‌کند به طوری که مانع تمایز پروپلاستیدها به کلروپلاست‌های طبیعی می‌شود. این اثر که ممکن است اثری غیرمستقیم و به علت فقدان عناصر غذایی معدنی لازم برای بیوسنتز کلروپلاست باشد، می‌تواند به علت تداخل روی با متابولیسم پروتئین و یا اسیدهای نوکلئیک طی تمایز سلولی توجیه شود. به طور کلی فلزات سنگین اعم از روی با القای بسته شدن روزه‌ها آسیب به ساختمان کلروپلاست، کاهش غلظت رنگیزه‌ها، اختلالات آنزیمی و عدم تعادل در روابط آبی آسیب شدیدی به دستگاه فتوسنتزی گیاهان وارد می‌نمایند. این فرایند خود تولید کربوهیدرات‌ها را به طور مستقیم یا غیرمستقیم تحت تاثیر قرار می‌دهد. در این پژوهش در غلظت صفر میکرومولار نانوآکسیدروی مقدار کربوهیدرات کل کاهش یافته است و این کاهش نسبت به شاهد معنی‌دار است. روی نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها دارد. اکثر آنزیم‌هایی که در متابولیسم کربوهیدرات نقش دارند توسط روی فعال می‌شوند. آنزیم‌های کربنیک‌انیدراز، فروکتوز ۱-۶ بیس فسفاتاز و آلدولاز در کلروپلاست و سیتوپلاسم توسط عنصر روی فعال می‌شوند در نتیجه میزان فتوسنتز افزایش می‌یابد که پیامد آن افزایش میزان قندها در اندام‌های گیاهی است (Mousavi, 2011). در این پژوهش در غلظت صفر میکرومولار نانوآکسیدروی مقدار کربوهیدرات کل کاهش یافته است. پوروفوبیلینوژن پیش‌ماده پروتوکلروفیلید می‌باشد که برای تشکیل این ماده Mg و Zn مورد نیاز است (Beale, 1999). در حضور روی نهایتاً تشکیل و تکمیل کلروفیل تسهیل می‌گردد بنابراین کمبود روی باعث کاهش کلروفیل و فتوسنتز و در نهایت کاهش میزان قندها می‌شود (Lebedev and Timco, 1998).

**اثر غلظت‌های مختلف نانوآکسیدروی بر میزان جذب عنصر روی:** با توجه به نتایج بدست آمده مصرف نانوآکسیدروی با افزایش غلظت و جذب کل روی در گیاه همراه بود که نشانگر برهمکنش مثبت غلظت روی و

پتاسیم در مقابل تولید رادیکالهای فعال اکسیژن در طی فتوسنتز و اکسیده شدن NADPH نسبت داده‌اند (سعادتی و همکاران ۱۳۸۵). اثر مطلوب کاربرد روی بر غلظت پتاسیم در برنج گزارش شده است. برهمکنش مثبت و معنی‌داری بین روی و پتاسیم در گندم نیز مشاهده شده است (Verma and Neue, 1984). در مطالعه دیگری نیز کاربرد روی باعث افزایش عناصر بور و پتاسیم در بافت گیاهی برنج گردید (Gupta and Raj, 1983). در این آزمایش مشاهده شد که جذب پتاسیم در غلظت صفر میکرومولار نسبت به شاهد کاهش یافته است. در آزمایشات انجام شده توسط محققین مشاهده شده است که نفوذپذیری غشاء پلاسمایی در گیاهان مبتلا به کمبود روی زیادی شده و در نتیجه نشت سلولی پتاسیم، آمونیم و ترکیبات آلی از ریشه افزایش می‌یابد (نصرآزادانی، و کبیری نژاد، ۱۳۸۶).

#### اثر غلظت‌های مختلف نانوآکسیدروی بر میزان جذب

**فسفر:** در این مطالعه با افزایش غلظت‌های نانوآکسیدروی از میزان جذب فسفر کاسته شد یکی از علائم سمیت روی در گیاهان اختلال در جذب فسفر، منیزیوم و منگنز می‌باشد (Chaney, 1993). هنگامی که روی و فسفر در حد توازن در گیاه وجود دارند سبب افزایش عملکرد می‌شوند ولی وقتی بین فسفر و روی توازنی وجود نداشته باشد این دو عنصر دارای اثرات متقابل می‌شوند. اثر متقابل عنصر روی و فسفر در داخل سیستم گیاهی به این صورت است با افزایش مقدار یکی، دیگری در اندام‌های گیاهی کم می‌شود یعنی رابطه روی و فسفر یک رابطه ضدیتی است. برهمکنش روی-فسفر در خاک ممکن است به دلیل اختلال در انتقال از خاک به سطح ریشه، افزایش جذب سطحی روی در خاک‌های حاوی اکسیدهای آهن و آلومینیم و کاهش پخشیدگی این عناصر به سمت ریشه نیز باشد. امروزه پذیرفته شده است که برهمکنش روی و فسفر در گیاهات اتفاق می‌افتد. روی این قابلیت را دارد که احتمالاً با انجام وظایفی در غشاء سلولی آهنگ جذب فسفر بوسیله ریشه را کنترل کند (Safaya, 1976). اثر بازدارندگی روی بر تغذیه فسفری گیاهان بطور گسترده توسط محققان گزارش شده است (Gupta and Raj, 1983). محققان با کاربرد (EDTA-Zn)

نانوآکسیدروی مصرفی می‌باشد به عبارت دیگر با افزایش مصرف نانوآکسیدروی میزان روی نیز در گیاه افزایش می‌یابد. احتمالاً نانوذرات قادر به افزایش نفوذپذیری دیواره سلول گیاهی بوده و با ایجاد منافذ در دیواره به سلول‌ها نفوذ می‌کنند بعد از ورود به سلول نانوذرات ممکن است از بین سلول‌ها از طریق پلاسمودسماتا عبور کنند و از طریق آوندها به بخش‌های هوایی گیاه منتقل شوند (بهبودی و همکاران، ۱۳۹۲). مکانیسم دیگری که مطرح شده این است که نانوذرات اکسیدروی در سطح ریشه تغییر شکل می‌دهند و به صورت  $Zn^{2+}$  جذب گیاه می‌شوند (Hernandez-Viezcas et al., 2011). افزایش غلظت روی در ذرت با کاربرد سولفات روی گزارش شده است (Yilmaz et al., 1997). آزمایشات مختلف نشان داده‌اند که با افزایش کاربرد روی، غلظت روی در ریشه، ساقه و برگ ذرت افزایش می‌یابد به طوری که مقدار آن در اندام‌های هوایی بیشتر از ریشه می‌باشد (Hong and Ji-Yun, 2007). غلظت صفر میکرومولار نانوآکسیدروی که محلول غذایی بدون روی را دریافت کرده است ۲۹ درصد کاهش را در جذب روی نسبت به شاهد نشان داده است. کاهش انتقال روی به اندام هوایی و اختصاص بخش بیشتری از آن به ریشه در شرایط کمبود می‌تواند به عنوان سازوکاری برای جلوگیری از کاهش رشد ریشه که عمل تأمین آب و عناصر غذایی را بر عهده دارد، محسوب گردد به عنوان مثال در گیاه گندم مشابه کلم، در شرایط کمبود روی سهم بیشتری از روی به ریشه‌ها اختصاص می‌یابد و همین عامل افزایش حساسیت بیشتر برگ‌ها به کمبود در مقایسه با ریشه است.

#### اثر غلظت‌های مختلف نانوآکسیدروی بر مقدار پتاسیم: در

این مطالعه مشاهده شد که با افزایش غلظت‌های نانوآکسیدروی میزان جذب پتاسیم افزایش یافت. پتاسیم نقش ویژه‌ای در حیات و بقای گیاهان تحت شرایط تنش محیطی بازی می‌کند و در شرایط کمبود پتاسیم حساسیت گیاهان به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد. به طوری که در شرایط تنش، تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن در گیاهان به شدت تحریک می‌گردد. محققان نیاز به پتاسیم بالا را به نقش بازدارندگی

موجب اختلال در متابولیسم گیاه می‌شود. واکنش متقابل میان فلز روی و آهن در بسیاری از مطالعات گزارش شده است (Rosen *et al.*, 1977). طبق نتایج بدست آمده در این پژوهش، افزایش نانوآکسیدروی در محلول غذایی منجر به کاهش سطح آهن در اندام‌های هوایی گیاه پرپوش شده است. محققین نشان داده‌اند که مصرف روی غلظت آهن را کاهش می‌دهد (Ming and Yin, 1992). تاثیر منفی افزایش فلز روی بر کاهش جذب آهن در گیاه *Mentha arvensis* مورد مطالعه قرار گرفته است و گزارش شده است که سمیت روی سبب القای علائم کمبود آهن در گیاه نعنای می‌شود (Misra and Ramani, 1991). محققین در تحقیقات خود در خصوص برهمکنش عناصر ریزمغذی در گندم دریافته‌اند افزایش روی موجب کاهش غلظت آهن در این گیاه می‌شود (Zhang *et al.*, 1993). همچنین گزارش شده است هنگامی که مقدار آهن قابل جذب خاک کم است این امکان وجود دارد که کاربرد روی، کمبود آهن را تشدید کند. مقدار آهن در غلظت صفر میکرومولار نانوآکسیدروی، ۴ درصد نسبت به نمونه شاهد کاهش را نشان داد اما این کاهش نسبت به شاهد معنی‌دار نبوده است. سه مکانیسم برای برهم‌کنش منفی بین این دو عنصر مطرح شده است اول: روی و آهن در طی جذب با هم رقابت می‌کنند دوم: این برهم‌کنش منفی ممکن است به دلیل تداخل در فرایند کی‌لیت شدن در طی جذب و انتقال آهن باشد و سوم اینکه بازدارندگی رقابتی بین روی و آهن در جریان تخلیه در چوب رخ دهد (Ai-Qing *et al.*, 2011).

رفیعی، م.، نادیان، ح.، نورمحمدی، ق. و کریمی، م. (۱۳۸۳) اثرات تنش خشکی و مقادیر روی و فسفر بر غلظت و کل جذب عناصر در ذرت. مجله علوم کشاورزی ایران ۳۵: ۲۳۵-۲۴۳.

قربانلی، م. و بابالار، م. (۱۳۸۲) تغذیه معدنی گیاهان. انتشارات دانشگاه تربیت معلم تهران.

ملکوتی، م. و طباطبایی، س. (۱۳۸۴) تهیه بستر کشت- تغذیه و آبیاری در محصولات گلخانه ای. وزارت جهاد

مشاهده کردند که جذب فسفر توسط گیاه برنج کاهش یافت و نتیجه گرفتند که این کاهش به خاطر رسوب فسفات روی در خاک نیست زیرا این منبع روی سبب ایجاد رسوب با فسفر نمی‌گردد و کاهش جذب ممکن است به دلیل برخی ضدیت‌های فیزیولوژیکی در سطح ریشه باشد (Singh and Singh, 1980). برهمکنش روی-فسفر ممکن است در سطح ریشه، داخل ریشه (Prasad *et al.*, 1971)، غشاء سلولی، انتقال از آندودرم به آوند چوبی ریشه، همچنین بر اثر کاهش آهنگ جذب از طریق سلول‌های اپیدرمی یا لایه سطحی ریشه اتفاق بیفتد (Safaya, 1976). در شرایط کمبود روی (غلظت صفر میکرومولار) فسفر از ریشه‌ها به قسمت‌های هوایی گیاه منتقل می‌شود، و علت را آسیب‌دیدگی سیستم کنترل آزاد شدن فسفر از سلول‌های ریشه به آوندهای چوبی ذکر می‌کنند بنابراین با افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی ریشه، غلظت فسفر افزایش می‌یابد اما افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی همان‌گونه که می‌تواند جذب عناصر را زیاد کند، خروج آن‌ها از ریشه را نیز بایستی افزایش دهند. بنابراین در این بررسی در شرایط صفر میکرومولار احتمالاً خروج فسفر از سلول‌های ریشه صورت گرفته است و مقدار فسفر کاهش یافته است.

#### اثر غلظت‌های مختلف نانوآکسید روی بر میزان جذب

آهن: در مطالعه حاضر مشاهده شد با افزایش غلظت‌های نانوآکسیدروی از میزان جذب آهن کاسته می‌شود و این کاهش نسبت به نمونه شاهد در سطح ۱٪ معنی‌دار است. عنصر روی از طریق تاثیر بر میزان جذب و جابجایی عناصر ضروری و نیز اثر بر میزان فعالیت برخی از آنزیم‌ها در جایگاه عملکردشان

#### منابع:

بهبودی، ف.، دادی، ف. و محمدی، ا. (۱۳۹۲) اثر ورمی کمپوست حاوی نانو ذرات اکسید مس و اکسید روی بر برخی ویژگی‌های زراعی لوبیا چیتی. نشریه تولید گیاهان زراعی ۶: ۳۳-۴۹.

رفیعی، ح. (۱۳۸۲) بررسی اثر کادمیم بر برخی از شاخص‌های رشد و القاء تنش اکسیداتیو در گیاه کلزا. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد. دانشگاه کرمان.

- L. (2011) Spectroscopic verification of zinc absorption and distribution in the desert plant *Prosopis juliflora-velutina* (*Velvet mesquite*) treated with ZnO nanoparticles. *Chemical Engineering Journal* 170: 346-352.
- Hong, W. and Ji-Yun, J. (2007) Effects of zinc deficiency and drought on plant growth and metabolism of reactive oxygen species in maize (*Zea mays L.*). *Agricultural Sciences in China* 6: 988-995.
- Khan, M., Qasim, M. and Jamil, M. (2002) Effect of content of soil and chemical composition of rice. *Asian Journal of Plant Science* 1: 20-21.
- Kupper, H., Kupper, F. and Spiller, M. (1996) Environmental relevance of heavy metal substituted chlorophylls using the example of water plants. *Experimental Botany* 47: 259-266.
- Lebedev, N. and Timco, P. M. (1998) Protochlorophyllide photoreduction. *Photosynthesis Research* 58:5-23.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591 – 592.
- Lin, D. and Xing, B. (2008) Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environmental Science Technology* 42: 5580–5585.
- Luderid, D., Hofte, H., Himelblau, E., Chrispeels, M. (1992) The expression pattern of the tonoplast intrinsic protein Y-TLP in *Arabidopsis thaliana* is correlated with cell enlargement. *Plant Physiology* 100: 1633-1639.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y. and Kolmakov, A. (2010) Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment* 408: 3053-3061.
- McBeath T. M and McLaughlin M. J. (2014) Efficacy of zinc oxides as fertilisers: *Plant Soil* (2014) 374:843–855.
- Masarovicovc, E. and Katarína, K. (2013) Metal nanoparticles and plants. *Ecological Chemistry and Engineering* 20:9-22.
- Ming, C. and Yin, C. R. (1992) Effect of Mn and Zn-fertilizers on nutrient balance and deficiency diagnosis of winter wheat crop in pot experiment. *International Symposium on the Role of Sulphur, Magnesium, and Micronutrients in Balance. Plant Nutrition* 369-379.
- Misra, A. and Ramani, S. (1991) Inhibition of iron-absorption by zinc induced Fe-deficiency in Japanese mint. *Plant Physiology* 13: 37–42.
- Mousavi, S. R. (2011) Zinc in crop production and interaction with phosphorus. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5: 1503-1509.
- Prasad, K. G., Shukla, U. C. and Safaya, N. M. (1971) Effect of zinc application on phosphorus concentration and uptake in maize (*Zea mays L.*). *Indian Journal of Agricultural Sciences* 41: 1068-1073.
- Ai-Qing, Z., Qiong-Li, B., Xiao-Hong, T., Xin-Chun, L. and Jeff Gale, W. (2011) Combined effect of iron and zinc on micronutrient levels in wheat (*Triticum aestivum L.*). *Journal of Environmental Biology* 32: 235-239.
- Aslam, J., Muji, A., Nasim, S. A. and Sharma, M. P. (2009) Screening of Vincristine yield in *ex vitro* and *in vitro* somatic embryos derived plantlets of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Scientia Horticulturae* 119: 325-329.
- Aziz, E. E., El-Din, A. A. and Omer, E. A. (2010) Influence of zinc and iron on plant growth and chemical constituents of *Cymbopogon citratus* L. grown in newly reclaimed land. *International Journal of Academic Research* 2: 278-283.
- Barcelo, J. and Poschenrieder, C. (2004) Structural and ultrastructural changes in heavy metal exposed plants. *Majeti Narasimha Vara Prasad of Environmental Biology* 223–248.
- Bonnet, M., Camares, O. and Veisserie, P. (2000) Effect of zinc and influence of *Acremonium Lolii* on growth parameters, chlorophyll fluorescence and antioxidant enzyme activities ryegrass (*Lolium perenne L. CV Apollo*). *Journal of Experimental Botany* 51: 945-530.
- Chinnamuthu, R. and Boopathi, P. M. (2009) Nanotechnology and Agroecosystem. *Madras Agricultural Journal* 96: 17-31.
- Chaney, R. L. (1993) Zinc phytotoxicity. In: Robson AD, ed. *Zinc in soil and plants*. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers 135–150.
- Creus, C. M., Sueldo, R. J. and Barassi, C. A. (2004) Water relations in Azospirillum inoculated wheat seedlings under osmotic stress. *Canadian Journal of Botany* 76: 238- 244.
- Drazkiewicz, M. (1994) Chlorophyll occurrence , function, mechanisms of action effects of internal and external factors. *Photosynthetica* 30: 321-331.
- Dubois, M. and Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 3:350-354.
- Fournier, J. M. A., Rolda N. M., Sanchez, C., Ghinas, A. and Benlloch, M. (2005) K<sup>+</sup> starvation increases water uptake in whole sunflower plants. *Plant Science* 168: 823–829
- Grant, C. A. and Bailey, L. D. (1998) Nitrogen, phosphorous and zinc management effects on grain yield and cadmium concentration in two cultivars of durum wheat. *Canadian Journal of Plant Science* 78:63-70.
- Gupta, V. K. and Dabas, D. S. (1983) Efficiency of sparingly soluble and chelated zinc sources on yield, nutrient composition and nutrient ratio in berseem. *Tropical Agricultural Science* 1:73-80.
- Hernandez-Viezcas, J. A., Castillo-Michelb, H., Servin, A. D., Peralta-Videa, J. R. and Gardea-Torresdey, J.

- Verma, T. S. and Neue, H. U. (1984) Effect of soil salinity and zinc application on electrochemical and chemical kinetics and growth and yield of rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 15: 553-571.
- Wang, Y. X. and Oyaizu, H. (2009) Evaluation of the phytoremediation potential of four plant species for dibenzofuran-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* 168: 760-764.
- Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G., Siosemardeh, A., Badakhshan, H. (2014) Effects of Zinc Application on Growth, Absorption and Distribution of Mineral Nutrients Under Salinity Stress in Soybean (*Glycine max* L.). *Journal of Plant Nutrition*, 37:2255–2269.
- Yilmaz, A., Ekis, H. and Cakmak, I. (1997) Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat. *Plant Nutrition* 20:461-471.
- Zelazny, E. and Vert, G. (2014) Plant Nutrition: Root Transporters on the Move. *Plant Physiology* DOI:10.1104/pp.114.244475
- Zhang, F. S. (1993) Effect of Fe deficiency on Zn uptake rate of wheat plants. *Acta- Pedologica Sinica* 129-134.
- Rion, B. and Alloway, J. (2004) Fundamental aspects of Zinc in soils and plants. *International Zinc Association* 23: 1-128.
- Rosen, J. A., Pike, C. S. and Golden, M. L. (1977) Zinc, iron and chlorophyll metabolism in zinc toxic corn. *Plant Physiology* 59: 1085–1087.
- Safaya, N. M. (1976) Phosphorus-zinc interaction in relation to absorption rates of phosphorus, zinc, copper, manganese, and iron in corn. *Soil Science Society of America* 40: 719-722.
- Sharma, P. and Dubey, R. (2004) Ascorbat peroxidase from rice seedling. *Plant Science* 167: 541 550.
- Singh, M. and Singh, S. P. (1980) Yield of submerged paddy and uptake of Zn, P, and N as affected by liming and Zn fertilizers. *Plant Soil* 56:81-82.
- Sosa, I. O., Noguez, C. and Barrera, R. G. (2003) Optical properties of metal nanoparticles with arbitrary shapes. *Journal of Physical Chemistry* 107: 6269-6275.
- Suge, H., Takahashi, H., Artia, S. and Takaki, H. (1986) Gibberlin relationships in zinc deficiency plants. *Plant Cell Physiology* 27:1005-1012
- Vanassche, F. V. and Clijsters, H. (1990) Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environment* 13: 195-206.