

جوانه زنی دانه و تغییرات تشریحی گیاه کنجد تحت تاثیر نانوذرات نقره

صدیقه کلیج* و مینا کاظمیان‌روحو

بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۲۴

چکیده

گیاه کنجد یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی، صنعتی و دارویی جهان است که از زمان‌های دور در بیشتر نقاط ایران کشت می‌شده است. با توجه به اهمیت ترویج و توسعه کشت نباتات روغن‌دار از جمله گیاه کنجد و با توجه به اینکه پرسش‌های زیادی در مورد اثرات نانوذرات بر محیط زیست و کشاورزی وجود دارد و از آنجایی که بکارگیری نانو ذرات نقره در صنعت بیشتر از دیگر نانوذرات مشخص شده است، غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر عوامل جوانه زنی دانه گیاه کنجد و ساختار تشریحی آن در مراحل اولیه تکوین گیاه بررسی شد. نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات نقره صفاتی چون درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و به طور کلی ویژگی‌های مرتبط با رشد گیاهچه کاهش یافت. غلظت‌های بالای تیمار نانو ذرات نقره موجب برخی تغییرات تشریحی از جمله افزایش قطر ساقه، ریشه و رگبرگ اصلی در منطقه پوست، تغییر شکل سلول‌های پارانشیمی پوست ساقه و آوندهای چوبی ریشه، کاهش تمایز سلول‌های کلانشیمی و برعکس افزایش تمایز فیبر در ساقه شد. همچنین مشخص شد که تحت تاثیر غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره اندازه مریستم رأس ریشه و شدت رنگ پذیری سلول‌ها و در نتیجه میزان تقسیمات سلولی در آن کاهش یافت. با توجه به یافته‌های این پژوهش می‌توان گفت که نانوذرات نقره به عنوان یک عامل تنش‌زا، احتمالاً با تاثیر بر متابولیسم گیاه موجب کاهش فاکتورهای جوانه زنی و رشد گیاهچه می‌گردد و گیاه جوان کنجد با تغییرات تشریحی به حضور نانوذرات نقره در محیط پاسخ می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: "جوانه زنی؛ تغییرات آناتومی؛ کنجد؛ نانوذرات نقره"

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۲۱۱۱۶۸۷، پست الکترونیکی: s.kelij@umz.ac.ir

مقدمه

مختلف چون خاک و آب‌های آلوده جذب کنند (۳۰). در میان نانوذرات، بیشترین میزان استفاده به نانو نقره و نانو اکسیدروی (ZnO) مربوط می‌شود زیرا اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی دارند. این مسئله نگرانی انسان‌ها را در زمینه تاثیر این ذرات بر محیط و سلامت برانگیخته است (۲۲).

سمیت نانوذرات بر گیاهان با توجه به نحوه انتشار، سطح تماس، تراکم، میزان حلالیت و اندازه آنها مطرح می‌شود (۲۸). تحقیقاتی در زمینه اثر مثبت و منفی نانوذرات بر گیاهان عالی گزارش شده است. به گونه‌ای که ترکیب نانوذرات SiO_2 و TiO_2 باهم موجب افزایش نیترات

امروزه با گسترش علم نانو تکنولوژی و تولید نانوذرات در زمینه‌های مختلف و کاربرد بیشتر از این نوع نانوذرات در صنعت، داروسازی و تولید انرژی موجب شده تا خطرات ناشی از آنها به محیط زیست و سلامت آسیب رساننده و توجه بسیاری از کارشناسان محیط زیست را به خود جلب نماید (۱۱). مطالعات در مورد سرنوشت نانوذرات در محیط محدود است و ممکن است این ذرات با ورودشان به زنجیره غذایی، در نهایت به انسان‌ها سرایت کنند. گیاهان مهم‌ترین عضو در سیستم اکولوژی هستند که امکان انتقال نانوذرات به دیگر موجودات از طریق آنها وجود دارد (۳۲). گیاهان ممکن است این مواد را از راه های

دوره رویشی کوتاه و ارزش غذایی و دارویی می‌تواند برای ارزیابی تاثیر نانوذرات بر محصول زراعی و پرمصرف مناسب باشد. بنابراین این تحقیق به تاثیر غلظت‌های متفاوتی از نانوذرات نقره بر جوانه زنی دانه، رشد ریشه، مرستم رأس ریشه، ساختار تشریحی اندام‌های رویشی در مراحل اولیه تکوین گیاه می‌پردازد.

مواد و روشها

آزمون جوانه زنی: محلول نانوذرات نقره (با اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتر از شرکت NANOSAV) با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه کرده و سپس به مدت ۲ ساعت بر روی شیکر قرار داده تا به خوبی حل شود (۲۴:۲۱).

بذر گیاه کنجد (رقم ناز چند شاخه) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. پس از استریل کردن بذرها با آب ژاول تجاری که ۱۰٪ رقیق شده و شستشوی آنها با آب مقطر، ۵ میلی‌لیتر از محلول نانوذرات نقره به هر پتری دیش اضافه شد. انتقال پتری دیش‌ها به تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت و هر دو روز یک بار، فاکتورها مورد بررسی قرار گرفتند. سرعت جوانه زنی (۱) و درصد جوانه زنی (۲) و سرعت رشد نسبی (۳) نیز از طریق معادله‌های زیر محاسبه گردید و سنجش صفات ریخت‌شناسی با خط کش میلی‌متری انجام شد (۲۲).

$$\text{درصد جوانه زنی (۲)} = \frac{\sum ni}{N} \times 100$$

$$\text{سرعت جوانه زنی (۱)} = \frac{\sum Gi}{\sum NiGi}$$

$$\text{سرعت رشد نسبی (۳)} = \frac{\text{طول اولیه} - \text{طول نهایی}}{\text{تعداد روز}}$$

Ni = تعداد بذرهای جوانه زده در روز i ام، N = شماره روز، N = تعداد کل بذرهای کشت شده می‌باشد.

آزمایشات گلدانی: بذر ها در گلدان های حاوی مخلوطی از کوکوپیت و خاک باغچه ای کاشته شده و در اتاق رشد

رودکتاز در سویا و تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانی و در نهایت تسریع جوانه زنی شد (۱۸). با توجه به اظهارات Hong و همکاران (۲۰۰۵)، TiO_2 موجب افزایش فتوسنتز و متابولیسم نیتروژن شده و در نتیجه در غلظت‌های مناسب بر بهبود رشد گیاه اسفناج اثر گذاشته است. این در حالی است که مطالعات Kumari و همکاران (۲۰۰۹)، نشان داده که نانوذرات نقره بر سلول و تقسیمات نوک ریشه پیاز اثر منفی داشته است. همچنین در غلظت‌های پایین موجب کاهش ۴۱ تا ۵۷ درصد مقدار بیوماس شد. از طرفی اثر نانوذرات نقره بر جوانه زنی و رشد ریشه نشان داد که این ذرات موجب تاخیر در جوانه زنی می‌شوند و همچنین موجب کاهش شاخص‌های رشد ریشه به ویژه در مراحل اولیه نمو شده اند (۱۶). طبق یافته‌های Murashov در سال ۲۰۰۶، نانوذرات Al_2O_3 موجب محدودیت رشد و طول شدن ریشه گیاهان ذرت، خیار، سویا، کلم و هویج شده است.

کنجد با نام علمی *Sesamum indicum* L. از تیره Pedaliaceae (تیره کنجدیان) است. کنجد گیاهی یک ساله و علفی و به ارتفاع تقریبی یک متر است. برگ‌ها در ساقه دارای دو وضع متناوب و متقابل هستند (۱۷). همچنین گیاه کنجد دارای ریشه بلند و مقاوم است. میوه آن کپسول می‌باشد و محتوی دانه‌ها کوچک و بیضوی شکل هستند. قسمت مورد استفاده‌ی کنجد دانه‌های آن است که از آن استخراج روغن به عمل می‌آید (۲۱). همچنین کنجد از معروف‌ترین گیاهان مورد استفاده خوراکی و دارویی می‌باشد. ایران از جمله کشورهایی است که قدمتی طولانی در کشت و زراعت دانه‌های روغنی و به خصوص کنجد دارد (۱).

از آنجایی که امروزه اثرات ناشی از نانوذرات یکی از مهمترین پرسش‌ها در محیط زیست و کشاورزی می‌باشد، در نتیجه مطالعه دقیق اثر این ذرات بر گیاهان می‌تواند به فهم بیشتر در این زمینه کمک کند. گیاه کنجد به علت طول

غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذرات نقره بر درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه، وزن خشک و تر گیاهیچه و سرعت رشد نسبی ریشه چه و ساقه‌چه در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱). این درحالی است که نانوذرات نقره در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر اثر معنی‌داری بر سرعت جوانه زنی، وزن خشک و تر گیاهیچه و سرعت رشد نسبی ریشه چه و ساقه چه نسبت به گیاهان شاهد نداشت (شکل ۱).



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های نانوذرات نقره (میلی‌گرم بر لیتر) بر جوانه زنی دانه کنجد.

مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن نشان داد که گیاهان شاهد دارای بیشترین درصد بذر جوانه زده بودند. در بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره مشخص گردید که میزان درصد جوانه زنی و همچنین سرعت جوانه زنی دانه با افزایش غلظت نانو ذرات نقره کاهش می‌یابد (جدول ۱). در واقع درصد جوانه زنی در گیاهان شاهد از ۹۰ درصد به ۵۰ درصد در بذرهای تحت تنش نانونقره با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر رسید. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن مشخص کرد که از نظر تاثیر غلظت‌های نانو ذرات نقره بر سرعت جوانه زنی، کمترین مقدار مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و بیشترین مقدار آن در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانونقره مشاهده شد (جدول ۱).

گیاهی در دانشگاه مازندران با رطوبت نسبی ۶۵-۸۰٪، دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و دمای حداقل ۲۵ و حداکثر ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. برای هر تیمار ۳ گلدان و درون هر گلدان ۲۰ بذر کاشته و روزی یکبار با آب مقطر آبیاری شدند. هنگامی که گیاهان به مرحله ۴ برگگی رسیدند اولین تیماردهی آغاز گردید. به این صورت که هر ۵ روز یکبار بر مقدار حجم تیمار با غلظت‌های مذکور افزوده و به گلدان‌ها اعمال شد. در مجموع ۲۰۰ میلی‌لیتر از هر غلظت به هر کدام از گلدان‌ها اعمال گردید (۲۵).

همچنین از قسمت‌های برگ، ساقه و ریشه به منظور تهیه برش‌های دستی و میکروتومی در مرحله‌ی ۸ برگگی نمونه برداری شد. برای برش‌گیری از اندام‌های رویشی، ابتدا نمونه‌ها در الکل-گلیسرین (۵۰:۵۰) تثبیت شده و سپس برش‌گیری دستی و رنگ آمیزی به روش مضاعف با رنگ‌های آبی متیل و کارمن زاجی انجام شد. برای برش میکروتومی مریستم رأس ریشه، نمونه‌ها به مدت ۸ ساعت در فیکساتور فرمالدئید، اتانول، اسید استیک (FAA) تثبیت شدند. پس از آب‌گیری با درجات رو به افزایش الکل، شفاف‌سازی با تولوئن و سپس قالب‌گیری در پارافین، با میکروتوم برش‌هایی با ضخامت ۱۰ میکرومتر تهیه گردید. پس از طی مراحل پارافین زدایی و آب‌دهی، رنگ آمیزی با هماتوکسیلین و اتوزین صورت گرفت (۲۴).

در این پژوهش صفات تشریحی اندام رویشی با نرم افزار micro measurement نسخه ۱۰,۰,۰ اندازه‌گیری شد و تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ صورت پذیرفت. همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

آزمون جوانه زنی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. داده‌های حاصل نشان داد که

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر نانو ذرات نقره بر صفات جوانه زنی.

غلظت (میلی گرم بر لیتر نانو نقره)	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	طول ریشه چه (میلی متر)	طول ساقه چه (میلی متر)	وزن خشک گیاهچه (گرم)	وزن تر گیاه چه (گرم)	سرعت رشد نسبی ریشه چه	سرعت رشد نسبی ساقه چه
۰	۹۰a	۳۰a	۳۵a	۴۸a	۰/۰۵a	۰/۲۴a	۰/۹a	۰/۹۸a
۵۰	۸۰a	۲۸a	۳۱b	۴۵a	۰/۰۴a	۰/۲۱a	۰/۶b	۰/۹۴a
۱۰۰	۶۰b	۲۷b	۲۵c	۳۸b	۰/۰۴a	۰/۲۰a	۰/۴b	۰/۷۵b
۵۰۰	۶۰b	۲۵b	۱۸d	۳۰c	۰/۰۲b	۰/۱۵b	۰/۳c	۰/۶۸c
۱۰۰۰	۵۰b	۲۴c	۱۲e	۲۶e	۰/۰۱b	۰/۱۱b	۰/۲c	۰/۵۵e

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف.

میانگین‌های تنش غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره نشان داد که در گیاهان تحت تیمار نانو ذرات نقره کمترین وزن خشک و تر مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر بود، این در حالی است که وزن خشک و تر گیاه چه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

تاثیر نانو ذرات نقره بر ساختار تشریحی اندام‌های رویشی ساختار تشریحی ساقه: نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره بر روی قطر ساقه افزایش معنی‌داری دارد. طوری که با افزایش مقدار تیمار قطر ساقه افزایش یافت. بیشترین قطر ساقه در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات نقره و کمترین در شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

با توجه به جدول ۱، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری داشته و در گیاهان تحت تنش غلظت‌های بالای نانو ذرات نقره نسبت به گیاهان شاهد کاهش قابل توجهی نشان داد. در حقیقت بیشترین طول ریشه در غلظت‌های مختلف نانو نقره مربوط به غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر (۳۵ میلی متر) بوده و کمترین میزان طول ریشه در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر (۱۲ میلی متر) مشاهده شد. همچنین کمترین میزان طول ساقه (۲۶ میلی متر) نیز مربوط به غلظت‌های بالا نانو نقره بوده است. علاوه بر این میزان سرعت رشد نسبی ریشه‌چه و ساقه‌چه با افزایش غلظت نانو ذرات نقره کاهش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرد (شکل ۱). همان‌طور که در جدول ۱ مشخص است، بیشترین وزن خشک و تر گیاهچه با میزان میانگین به ترتیب ۰/۰۵ و ۰/۲۴ گرم مربوط به بذر گیاهان شاهد می‌باشد. بررسی

جدول ۲- جدول مقایسه میانگین صفات مورد بررسی ساختار تشریحی ساقه.

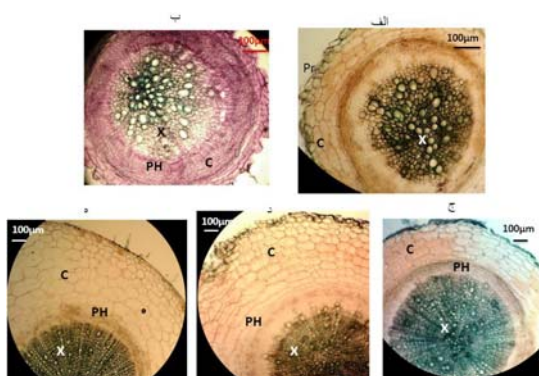
غلظت نانو نقره (میلی گرم بر لیتر)	قطر ساقه (میکرومتر)	ضخامت بافت پارانشیم (میکرومتر)	ضخامت منطقه آوندی (میکرومتر)	قطر آوند چوب (میکرومتر)
۰	۲۷۰۰ b	۲۷۸ b	۱۶۶ b	۳۰ b
۵۰	۲۷۹۰ b	۲۸۶ b	۱۸۰ b	۳۴ b
۱۰۰	۲۹۶۳ a	۳۳۳a	۲۰۸ a	۴۰ b
۵۰۰	۲۹۸۳ a	۴۵۳a	۲۲۸ a	۴۸a
۱۰۰۰	۳۰۱۵a	۴۸۵a	۲۴۴ a	۵۲ a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف.

در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانونقره مشاهده شد.

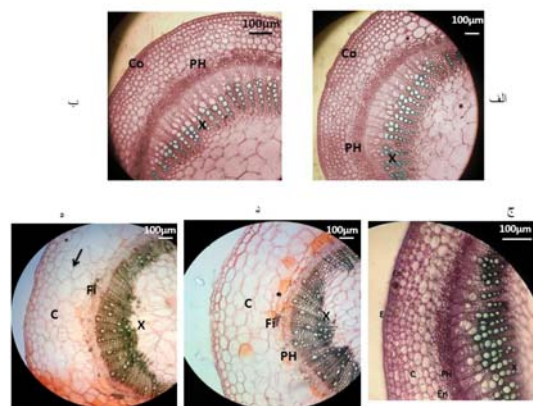
ساختار تشریحی ریشه: با توجه به بررسی آماری داده‌ها، تیمارهای مختلف نانوذرات نقره در غلظت‌های پایین اثر معنی‌دار را بر قطر ریشه نسبت به شاهد نشان نداد. همچنین جدول ۳ نشان می‌دهد که کمترین قطر آوند چوب ریشه در گیاه شاهد و بیشترین قطر آوند چوب را در ریشه‌ی تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانونقره نشان می‌دهد.

اثر نانو ذرات نقره بر روی ضخامت پوست ریشه در سطح احتمال ۵٪ افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد. در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات نقره بیشترین ضخامت پاراننشیم پوست و نمونه‌های شاهد کمترین ضخامت پوست ریشه مشاهده شد (شکل ۳). همچنین تیمارهای مختلف بر ضخامت منطقه آوندی ریشه اثر افزایشی معنی‌دار و متغیّر نسبت به شاهد دارد (جدول ۳). با توجه به شکل ۴، برخی از آوندهای چوب ریشه تحت تاثیر نانوذرات نقره با تغییر شکل دیده شده و شکل طبیعی خود را از دست دادند.



شکل ۳- برش عرضی ریشه کنجد با بزرگنمایی ۱۰ و رنگ آمیزی سبز متیل- کارمن زاجی. الف) نمونه شاهد. ب) تیمار ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانونقره. ج) تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانونقره. د) تیمار ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانونقره. ه) تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانونقره. Pr: پریدرم، C: پوست (کرتکس)، PH: بافت آبکش پسین، X: بافت گزیلم پسین.

نتیجه بررسی تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر نانوذرات نقره بر روی ضخامت منطقه آوندی ساقه در سطح ۱٪ معنی‌دار است (جدول ۲). با بررسی مقایسه میانگین داده‌ها در جدول ۲ مشخص شد که تیمارهای مختلف نانونقره اثر افزایشی بر روی ضخامت منطقه آوندی ساقه نسبت به شاهد داشته است. تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر نانونقره اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند. نانو-ذرات نقره بر روی ضخامت پوست ساقه اثر افزایشی داشته به گونه‌ای که با افزایش غلظت تیمار، بر ضخامت بافت پاراننشیم پوست افزوده شد (جدول ۲). نانوذرات نقره بر شکل برخی سلول‌های پاراننشیم پوست اثر نامطلوبی گذاشته و موجب تغییر شکل آنها گردید از طرفی تمایز سلول‌های کلانشیمی در مقایسه با شاهد بسیار کاهش یافته است (شکل ۲).



شکل ۲- برش عرضی ساقه جوان با بزرگنمایی ۱۰ و رنگ آمیزی سبز متیل- کارمن زاجی. الف) نمونه شاهد. ب) تیمار ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذرات نقره. ج) تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانونقره. د) تیمار ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانونقره. ه) تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانونقره. E: اپیدرم، C: پاراننشیم پوست (کرتکس)، PH: بافت آبکش پسین، X: بافت چوب پسین، Co: کلانشیم، P: مغز. Fi: فیبر. فلش نشانه‌ی تغییر شکل برخی سلول‌های پاراننشیمی است.

با توجه به جدول ۲، قطر آوند چوب ساقه تحت تاثیر نانو-ذرات نقره در سطح احتمال ۵٪ افزایش معنی‌دار پیدا کرد اما غلظت‌های پایین نانونقره اثر معنی‌داری را در این صفت نشان ندادند. همچنین افزایش تمایز فیبر در بافت گزیلمی

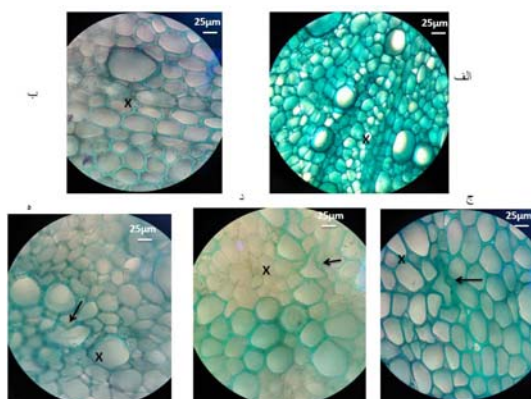
جدول ۳- جدول مقایسه میانگین صفات مورد بررسی ساختار تشریحی ریشه.

غلظت نانوقره (میلی گرم بر لیتر)	قطر ریشه (میکرومتر)	ضخامت منطقه آوندی (میکرومتر)	ضخامت منطقه پوست (میکرومتر)	قطر آوند چوب (میکرومتر)
۰	۳۲۰۹ b	۲۶۰۵b	۱۲۴ b	۴۶,۳ b
۵۰	۳۲۱۳ b	۲۶۱۷b	۱۳۱ b	۴۷,۲ b
۱۰۰	۳۲۱۸ b	۲۸۱۳a	۱۴۸a	۵۵,۴a
۵۰۰	۳۳۲۱a	۲۸۲۴a	۱۵۲a	۵۷,۶a
۱۰۰۰	۳۳۲۸a	۲۸۳۱ a	۱۶۰a	۶۸,۲a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف.

برگ اثر افزایشی نسبت به شاهد نشان می‌دهند. همچنین ضخامت منطقه آوندی رگبرگ اصلی با افزایش غلظت تیمارها، افزایش یافت (جدول ۴). با توجه به شکل ۵، برخی سلول‌های پارانشیم پوست شکل خود را از دست داده و نافرمان شدند.

ساختار مریستم رأس ریشه: در برش طولی مریستم رأس ریشه حاصل از جوانه زدن دانه گیاهان شاهد و تحت تیمار، ناحیه کلاهک ریشه (RC) در انتها مشاهده می‌شود (شکل ۶). در بالای کلاهک، ناحیه کالیپتروژن (C) قرار گرفته است. منطقه فعال و مریستم زمینه (Gm) با تقسیمات خود، لایه‌های پارانشیم پوست و بخش‌های مختلف استوانه آوندی را می‌سازد.



شکل ۴- آوند چوب پسین ریشه کنجد با بزرگنمایی ۱۰۰ و رنگ آمیزی آبی متیل- کارمن زاجی. الف) گیاه شاهد. ب) تیمار ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانوقره. ج) تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانوقره. د) تیمار ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانوقره. ه) تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو-قره. X: چوب پسین. فلش نشانه‌ی نافرمان شدن برخی سلول‌های بافت گزیلم است.

ساختار تشریحی برگ: با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها در جدول ۴، نانوذرات نقره بر روی قطر رگبرگ اصلی

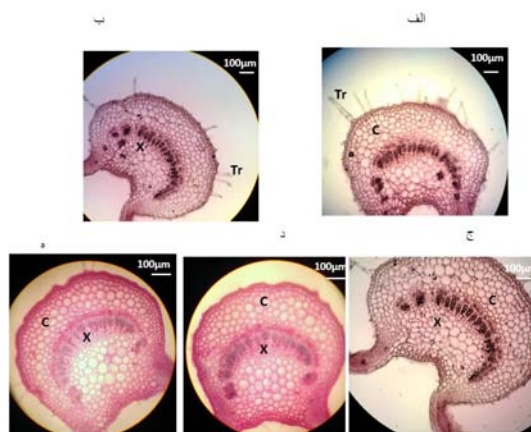
جدول ۴- جدول مقایسه میانگین صفات مورد بررسی ساختار تشریحی برگ.

غلظت نانوقره (میلی گرم بر لیتر)	قطر رگبرگ اصلی (میکرومتر)	ضخامت منطقه آوندی رگبرگ اصلی (میکرومتر)	ضخامت آوند چوب رگبرگ اصلی (میکرومتر)
۰	۶۱۰ b	۱۰۳ b	۵۲ b
۵۰	۶۲۲ b	۱۱۵ b	۵۶ b
۱۰۰	۷۴۲ a	۱۳۴ a	۷۶a
۵۰۰	۷۵۲ a	۱۴۲ a	۸۰a
۱۰۰۰	۷۶۱ a	۱۵۳a	۸۴a

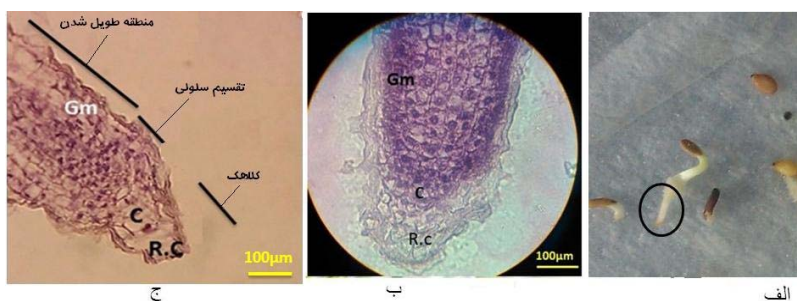
میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف.

لیتر نانو نقره. C: پارانشیم پوست (کرتکس)، PH: بافت آبکش پسین، X: بافت چوب پسین، Tr: کرک.

گیاهان شاهد و تحت تیمار نانوذرات نقره تفاوت قابل ملاحظه‌ای در شدت رنگ پذیری نشان دادند و با توجه به شکل ۶ در گیاهان تحت تاثیر تیمار با غلظت بالای نانو-ذرات نقره در مقایسه با شاهد رنگ پذیری سلول‌ها کمتر شده که این امر نشان دهنده کاهش تقسیم سلولی در این ناحیه بوده و با نتایج حاصل از جوانه زنی مطابقت دارد. تحت تاثیر تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر، اندازه RAM (مریستم رأس ریشه) بطور مشخصی کاهش یافته است.



شکل ۵- برش عرضی برگ در محل رگبرگ اصلی با بزرگنمایی ۱۰ و رنگ آمیزی سبز متیل- کارمن زاجی. الف) نمونه شاهد. ب) تیمار ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو نقره. ج) تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو نقره. د) تیمار ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو نقره. ه) تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر



شکل ۶- برش طولی مریستم رأس ریشه، بزرگ‌نمایی ۱۰۰ اشکال ب و ج، رنگ آمیزی اتوزین- همتوکسیلین. الف) بذرهای جوانه زده، منطقه تهیه برش ب) برش طولی مریستم رأس ریشه شاهد. ج) برش طولی مریستم رأس ریشه تحت تاثیر ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانو نقره. RC: کلاهک ریشه، C: کالیپتروژن، Gm: مریستم زمینه‌ای.

موجب تغییر در صفات جوانه زنی می‌شود (۱۴). همچنین بازدارندگی جوانه زنی از جمله اثرات شناخته شده فلزات سنگین به شمار می‌رود. سمیت نانوذرات بستگی به محتوی شیمیایی، اندازه ذرات، ساختار و سطح تماس آنها دارد (۱۱). اثرات سمی نانوذرات ممکن است به دو طریق رخ دهد: ۱. سمیت شیمیایی ۲. تنش که ناشی از سطح تماس گیاهان با این ذرات حاصل می‌شود (۶). Ahmad و همکاران (۲۰۱۲) اظهار داشتند که تنش فلزات سنگین موجب مهار رشد ریشه و ساقه گندم شده و همچنین اثرات این تنش بر ریشه بیشتر از اندام‌های هوایی بوده است. این نتایج نشان می‌دهد که طول ریشه و ساقه یکی از

بحث

یکی از اثرات تنش‌های محیطی و غیر محیطی، اختلال در چرخه حیات و فعال شدن تعدادی از واکنش‌های بیوشیمیایی می‌باشد (۳). پاسخ گیاهان به نانوذرات به نوع گیاه، مراحل رشد و غلظت این ذرات بستگی دارد (۷). طبق نتایج این مطالعه تمامی ویژگی‌های جوانه زنی و رشد گیاهچه تحت تاثیر غلظت بالای نانوذرات نقره کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان داد. اثرات سمی فلزات سنگین بر فاکتور-های رشد در گیاه گوجه فرنگی نیز گزارش شده است که براساس این نتایج، افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک

گرفت، در غلظت بالای نانوذرات اکسید روی آشفستگی در بافت‌های ریشه لوبیا مشاهده شد. همچنین منجر به گسترش سیستم واکوئلی در سلول‌های پارانشیم پوست و فشرده شدن استوانه آوندی شد. از طرفی نانو ذرات نقره در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر، بر تعداد لایه‌های پارانشیم برگ تاثیر گذاشته و ضمن افزایش تعداد آنها، موجب تغییر شکل برخی از سلول‌ها شد (۲۷) که نتایج فوق با یافته‌های حاصل از این پژوهش هم‌سویی دارد.

نتایج نشان می‌دهد تاثیر نانوذرات در مسیر مکانیسم ژنتیکی هورمون‌های رشد می‌تواند در شکل‌گیری آوند-های آبکش و چوب تاثیرگذار باشد. بنابراین تغییر شکل برخی سلول‌های بافت آوند چوب ریشه قابل توجه خواهد بود (۹). همچنین به گفته برخی محققان تاثیر نانو - ذرات بر دیواره سلولی موجب تغییر شکل سلول شده است (۲۲).

تحت تاثیر بالاترین غلظت نانوذرات نقره، تغییراتی در مریستم رأس ریشه چون کاهش اندازه‌ی آن و کاهش رنگ پذیری سلول‌ها در این منطقه مشاهده شد. کاهش رنگ پذیری نشان دهنده‌ی کاهش تقسیمات سلولی است. در واقع کاهش اندازه RAM می‌تواند هم ناشی از کاهش تقسیمات سلولی و هم ناشی از کاهش رشد سلول‌ها در این منطقه باشد. تجمع نانوذرات در رأس ریشه بسیار مهم است چون رأس ریشه حاوی سلول‌های بنیادی پوست، آوندی و کلاهدک و همچنین سلول‌های مریستمی است که برای رشد و تشکیل بافت‌های مختلف ریشه نیاز است. سلول‌های بنیادی کلاهدک یا همان کالپتروژن برای تشکیل کلوملا یا ستون مرکزی کلاهدک بسیار حائز اهمیت هستند. گزارش شده است نانو ذرات نقره به سرعت در رأس ریشه تجمع یافته و از سلولی به سلول دیگر تا کلوملا و کلاهدک ریشه انتقال می‌یابند. در ۱ تا ۲ میلیمتری ابتدای ریشه نانوذرات از طریق فضاهای بین سلولی منتقل شده و بعد از آن از طریق پلاسمودسماتا که قطر آنها تقریباً ۵۰ تا

شاخص‌های مناسب جهت تعیین سمیت فلزات می‌باشد. احتمالاً رشد گیاهچه تحت تنش فلزات و برهمکنش آنها با واکنش‌های بیوشیمیایی درون گیاه موجب تخریب متابولیسم گیاه می‌شوند (۴).

پاسخ گیاهان نسبت به توزیع نقره در گونه‌های مختلف، متفاوت است. در اکثر گیاهان با تنش نانونقره، طول ریشه-ها کاهش یافت (۵). از طرفی فلزات سنگین تمایز زودرس و چوبی شدن دیواره سلول‌های واقع در منطقه رشد طولی ریشه را تحریک نموده و از رشد آن ممانعت مینماید (۲). نتایج نشان داد که رشد ریشه و ساقه نسبت به نانونقره حساس بوده اما در برخی گیاهان ممکن است اثر منفی بر رشد ریشه بیشتر از ساقه باشد (۲۶) که نتایج این تحقیق با یافته‌های گذشته هم‌سویی دارد. به نظر می‌رسد اثر متقابل نانونقره و گیاهان موجب آزاد شدن نقره از این ذرات می‌شود یا به عبارتی نانونقره‌ی دریافتی توسط گیاه، منبعی را فراهم می‌کند که نقره و سلول‌های گیاهی برهمکنش داشته باشند و موجب افزایش سمیت نانونقره شود (۲۹). نانو-ذرات با عبور از دیواره سلولی و لایه اپیدرم ریشه به درون گیاه نفوذ کرده و به ساقه و برگ راه پیدا می‌کنند (۱۰).

بررسی‌ها نشان داد که با افزایش غلظت فلزات سنگین، وزن تر گیاهچه به تدریج رو به کاهش رفته که پژوهشگران این علت را احتمالاً کاهش تقسیم سلولی و کاهش رشد گیاه مطرح کردند (۳۱).

مطالعات نشان داده که تغییرات محیطی می‌تواند منجر به تغییرات تشریحی در سلول و بافت‌های گیاهی شود (۱۵). در گزارشی مشخص شد که غلظت‌های سمی فلزات سنگین مانند نیکل سبب افزایش قطر سیستم آوندی ساقه شده که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (۲۳). تغییرات در شکل و اندازه سلول‌ها و تمایز آنها در مراحل اولیه رشد و تکوین گیاه جوان نسبت به گیاه بالغ می‌تواند به فهم بهتر تاثیر نانوذرات بر گیاه کمک کند (۹). در پژوهشی که توسط Mahajan و همکاران (۲۰۱۱) صورت

کنجد در نظر گرفت. در کل بر اساس نتایج حاصل می‌توان گفت که گیاهچه کنجد به حضور نانوذرات نقره در محیط حساس بوده و نانوذرات نقره به عنوان یک عامل تنش زا موجب تغییرات تشریحی در گیاه جوان کنجد، به شمار می‌رود. به منظور درک بهتر تاثیر نانوذرات نقره بر روی رشد و نمو گیاه کنجد استفاده از تیمارهای بیشتر با غلظت-های متعدد و مطالعات گسترده تر بر روی مناطق حساس چون مریستم راس ساقه و مریستم زایشی پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات کلیه افرادی که در انجام پژوهش حاضر در گروه زیست‌شناسی دانشگاه مازندران نقش داشتند بویژه خانم حسین زاده کارشناس آزمایشگاه‌های علوم گیاهی تشکر و قدردانی می‌نمایم.

۶۰ نانومتر است انتقال می‌یابند (۱۲). در این مطالعه تنها غلظت بالای نانوذرات نقره اثر کاملاً مشهودی در مریستم رأس ریشه نشان داد این مطلب را می‌توان اینگونه توجیه کرد که برخی نانوذرات در اندازه‌های بزرگتر از این منافذ بوده و قابلیت نفوذ به این منافذ را ندارند، در نتیجه اثر معنی‌داری بر سلول‌های گیاهی نمی‌گذارند (۸).

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج نشان داد که حضور نانو ذرات نقره موجب کاهش درصد جوانه زنی بذر، سرعت جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه و همچنین غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات نقره موجب تغییرات قابل ملاحظه‌ای در آناتومی ساقه، ریشه، برگ و نیز مریستم رأس ریشه گردید. اما غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات نقره را می‌توان تا حدودی بی‌ضرر برای رشد گیاه

منابع

- ۱- رضوانی مقدم، پ.، محمدآبادی، ع.ا. و مرادی، ر. ۱۳۸۹. بررسی تاثیر کودهای شیمیایی و آلی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه کنجد *Sesamum indicum L.* در تراکم‌های مختلف کاشت. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی، جلد ۲ شماره ۲، ۲۵۶-۲۶۵.
- ۲- صارمی راد، ب.، اسفندیاری، ع.، شکرپور، م.، سفالیان، ا.، آوانس، ا. و موسوی، ب. ۱۳۹۳. اثر کادمیوم روی برخی از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک گندم در مرحله گیاهچه‌ای. مجله
- 4- Ahmad, I., Akhtar, M.J., Zahir, Z.A. and Jamir, A. 2012. Effect of cadmium on seed germination and seedling growth for wheat (*Triticum aestivum L.*) cultivars. Pak, J. Bot., 44(5), 1569-1574.
- 5- Bailey-Serres, J. and Voesenek L. 2010. Life in the balance: a signaling network controlling survival of flooding. Current Opinion in Plant Biology, 13(2), 489-494.
- 6- Brunner, T.J., Wick, P., Manser, P., Spohn, P., Grass, R.N., Limbach, L.K., Bruinink, A. and Stark, W.J. 2006. In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticle: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. Environ.Sci.Technol., 40, 4374-4381.
- 7- Calabrese, E. and Baldwin, L. 2002. Defining hormesis. Hum. Exp. Toxicol., 21, 91-97.
- 8- Carpita, N., Sabulase, D., Montezinos, D. and Delmer, DP.1979. Determination of the pore size of cell walls of living plant cells. Science, 205: 4.
- 9- Delmail, D., Pascal, L., Philippe, H., Laure, L., Christian, M. and Michel, B. 2011. Physiological, anatomical and phenotypical effects of a cadmium stress in different-aged chlorophyllian organs of *Myriophyllum alterniflorum DC* (Haloragaceae). Environ Exp Bot, 72, 174-81.
- 10- Dietz, KJ. and Herth, S. 2011. Plant nanotoxicology. Trends in Plant Science, 16, 582-589.

- 11- Franklin, N.M., Rogers, N.J., Apte, S.C., Batley, G.E., Gadd, G.E. and Casey, P.S. 2007. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a fresh water microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle. *Environ Sci Technol.*, 41(24), 8484-90.
- 12- Geisler-Lee, J., Brooks, M., Gerfen, J.R., Wang, Q., Fotis, Ch., Sparer, A., Ma, X., Berg, R.H. and Geisler, M., 2014. Reproductive Toxicity and Life History Study of Silver Nanoparticle Effect, Uptake and Transport in *Arabidopsis thaliana*. *Nanomaterials*, 4, 301-318.
- 13- Hong, F.S., Yang, F., Liu, C., Gao, Q., Wan, Z.G., Gu, F.G., Wu, C., Ma, Z.N., Zhou, J. and Yang, P. 2005. Influences of nano-TiO₂ on the chloroplast aging of spinach under light. *Biol. Trace Elem. Res.*, 104, 249-260.
- 14- Houshmandfar, A. and Moraghebi, F. 2011. Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc on seed germination and seedling growth of safflower. *African Journal of Agricultural Research*, 6(5), 1182-1187.
- 15- Islam, E., Yang, X.E.T., Li, Q., Liu, D., Jin, X.F. and Meng, F. 2007. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *Journal of Hazardous Materials*, 147, 806-816.
- 16- Kumari, M., Mukherjee, A. and Chandrasekaran, N. 2009. Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Sci. Total Environ*, 407, 5243-5246.
- 17- Langham, D.R. 2007. Phenology of sesame, reprinted from: *Issues in new crops and new uses*. J. Janick and A. Whipkey (eds.), ASHS Press, Alexandria, 144-182.
- 18- Lu, C.M., Zhang, C.Y., Wen, J.Q., Wu, G.R. and Tao, M.X. 2002. Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of Glycine max and its mechanism. *Soybean Sci*, 21, 168-172 (in Chinese).
- 19- Mahajan, P., Dhoke, SK. and Khanna, AS. 2011. Effect of nano-ZnO on growth of mung bean (*Vigna radiata*) and chickpea (*Cicer arietinum*) seedlings using plant agar method. *Applied Biological Research*, 13 (2), 54-61.
- 20- Murashov, V. 2006. Comments on "Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles" by Yang, L, Watts, D.J, *Toxicology Letters*, 2005, 158, 122-132. *Toxicol. Lett.* 164, 185-187.
- 21- Nimmakayala, P., Perumal, R., Mulpuri, S. and Reddy, p. 2011. In *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Oilseeds*, Edited by Kole C. Berlin Heidelberg: Springer, 261-273.
- 22- Pokhrel, LR., Silva, T., Dubey, B., El Badawy, AM., Tolaymat, TM. and Scheuerman, PR. 2012. Rapid screening of aquatic toxicity of several metal-based nanoparticles using the MetPLATE™ bioassay. *Sci. Total Environ*, 426, 414-22.
- 23- Rabiera, J., Laffont-Schwoba, R., Notonierb, B., Foglianic, S. and Bouraïma-Madjèbic. 2008. Anatomical element localization by EDXS in *Grevillea exul* var. *exul* under nickel stress. *Environmental Pollution*, 156, 1156-1163.
- 24- Sanderson, J.B. 1994. *Biological Microtechniques*, 1th Ed, London, Oxford press.
- 25- Song, U., Jun, H., Waldman, B., Roh, J., Kim, Y., Yi, J. and Lee, E.J. 2013. Functional analyses of nanoparticle toxicity: A comparative study of the effects of TiO₂ and Ag on tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 93:60-67.
- 26- Sresty, T.V.S. and Rao, K.V.M. 1999. Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cells of pigeonpea. *Environmental and Experimental Botany*, 41, 3-13.
- 27- Thuesombat, P., Hannongbua, S., Akasit, S. and Chadchawan, S. 2014. Effect of silver nanoparticles on rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105) seed germination and seedling growth. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 104, 302-309.
- 28- Warheit, D.B. 2008. How meaningful are the results of nanotoxicity studies in the absence of adequate material characterization?. *Toxicol.Sci*, 101, 183-185.
- 29- Yin, L., Colman, B.P., McGil, B.M., Wright, J.P. and Bernhardt, E.S. 2012. Effects of Silver Nanoparticle Exposure on Germination and Early Growth of Eleven Wetland Plants. *PLoS ONE*, 7(10), 47674.
- 30- Yu, KO., Braydich-Stolle, LK., Mattie, DM., Schlager, JJ. and Hussain, SM. 2009. In vitro and in vivo models for nanotoxicity testing. In: Sahu SC, Casciano DA, editors. *Nanotoxicity: From In Vivo and In Vitro Models to Health Risks*. West Sussex, UK: John Wiley & Sons, 335-48.
- 31- Zheng, G., Lv., H.P, Gao., S. and Wang, S.R. 2010. Effects of cadmium on growth and

- antioxidant responses in *Glycyrrhiza uralensis* seedlings. *plant soil, Environ*, 56, 508-515.
- 32- Zhu, H., Han, J., Xiao, J. and Jin, Y. 2008. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin. *Plants J. Environ. Monit*, 10, 713-717.

Sesame seed germination and anatomical changes influenced to silver nanoparticles

Kelij S. and Kazemian Ruhi M.

Biology Dept., Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. of Iran

Abstract

Sesame is one of the oldest, industrial and Pharmaceutical crops in the world that has been being cultivated in most parts of Iran from very long time ago. Since the importance of the promotion and development of oilseed crops like Sesame and given there are a lot of unanswered questions about the effects of nanoparticles on the environment and agriculture and since the use of Nano silver in industry has been identified more than the other nanoparticles, the impact of different concentrations of silver nanoparticles on the Sesame seed germination factors and its anatomical structure was studied at primary stages of plant development. The results of data analysis showed that according to increase of silver nanoparticles concentration, seed germination percent, germination speed and all of the factors related to seedling growth, decreased. High concentrations of silver nanoparticles caused some anatomical changes including: diameter increasing of stem, root and midrib, deforming of cortex paranchymic cells of stem and root vessels, reduction of collenchyma cells differentiation and increasing of fiber differentiation in the stem. Also it was found that due to reduction of root apical meristem size and cells staining intensity, cell division rate reduced under 1000 mg.ml⁻¹ concentrations of silver nanoparticles. According to the findings, it can be said that silver nanoparticles, as a stressor cause germination and seedling growth reduction and young Sesame reply to presence of silver nanoparticles in the environment with anatomical changes.

Key words: "Germination; anatomical changes; Sesame; silver nanoparticles"