

تاثیر نانو ذرات آهن بر خصوصیات جوانه زنی بذر کاج جنگلی (*Pinus sylvestris*) در محیط خاکی و آبی

روناک اکبری حامد^۱، ویلما بایرامزاده^{۲*}، محمد حسین داودی^۳، قاسم توحیدلو^۱، مریم قدیری^۱، کتابون حقوردی^۴، حسین اکبری^۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۵/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱

چکیده:

هدف تحقیق حاضر بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات آهن (۵۰nm) در محیط آبی با غلظت‌های ۰، ۷۵۰، ۱۵۰۰، ۳۰۰۰، ۶۰۰۰، ۱۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر و در محیط خاکی با غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بر روی خصوصیات جوانه زنی بذر کاج جنگلی (*Pinus sylvestris*) می باشد. در این تحقیق سرعت جوانه زنی، درصد جوانه زنی و پایداری غشای سلولی (در مرحله گیاهچه) بررسی گردید. نتایج نشان داد که نانو ذره آهن صفات مورد مطالعه را تحت تاثیر قرار داده بطوری که افزایش غلظت در محیط آبی درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی را کاهش داده است و در مقابل محیط خاکی با افزایش غلظت پارامترهای یاد شده افزایش یافته است. تخریب غشای سلولی در هر دو محیط افزایش نشان داده است. به نظر می رسد که در محیط‌های آبی مسمومیت سریع تر و شدید تر از محیط خاکی اتفاق می افتد که البته تحقیقات آینده برای اثبات این فرضیه الزامی است.

واژه‌های کلیدی: کاج جنگلی، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، نانوذرات آهن، سمیت.

^۱ - دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی آزاد اسلامی واحد کرج، گروه خاکشناسی، کرج، ایران
^۲ - دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی آزاد اسلامی واحد کرج، گروه خاکشناسی، کرج، ایران
* نویسنده مسئول: v.bayramzadeh@kia.ac.ir
^۳ - عضو هیئت علمی موسسه آب و خاک
^۴ - دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سوادکوه، سوادکوه، ایران.

مقدمه

علم نانو مطالعه مواد در مقیاس تقریباً ۱ تا ۱۰۰ نانومتر و همینطور، تولید و کاربرد ابزارها و سیستم های کنترل در مقیاس نانو است (۱۹). این فناوری نوظهور با توسعه فراوان تاثیرات اساسی بر روی اقتصاد، جامعه و محیط زیست گذاشته است و در نتیجه واکنش های مثبت و منفی دولت ها، دانشمندان و جامعه پزشکی را در سراسر جهان به دنبال داشته است. اثرات نانو تکنولوژی خیلی بیشتر از انقلاب صنعتی تخمین زده شده است و پیش بینی می شود که تا سال ۲۰۱۵ حدود ۱ تریلیون دلار ارزش تجاری را به خود اختصاص دهد (۱۳). منافع این ذرات به طور بالقوه زیاد است و هنوز هم در حال کشف شدن است. ولی اغلب فنون جدید بدون بررسی کامل اثرات طولانی مدتشان در محیط زیست ایجاد شده اند. فناوری نانو هم یکی از علوم جدیدی است که ممکن است خطرات بالقوه خاصی به همراه داشته باشد (۱۵). افزایش تولید این ذرات در مقیاس زیاد و گسترش تنوع کاربری این ذرات ناگزیر منجر به رهاسازی و انتشار عمومی تصادفی این مواد از طریق پسماندها و فضلابهای شهری و کشاورزی صنعتی به محیط زیست شده است که ممکن است خطرات بسیار وسیعی در محیط زیست داشته باشد (۷) (۲). یکی از این ذرات نانو ذره آهن است که امروزه به وفور در نانو کودها و در پالایش آب جهت حذف عناصر سنگین (نقره، نیترات) استفاده شده و وارد محیط زیست بشر می شود. بنابراین انجام تحقیقی که اثرات این نانو ذره را بر روی موجودات زنده (گیاهان، جانوران و

میکروارگانیسم ها) بررسی کند ضرورت می یابد (۹). در همین رابطه تحقیقاتی چندی صورت گرفته است. به عنوان مثال: در سال ۲۰۱۱ بر روی اثرات نانو ذرات آهن و نانو کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مرزه و ریحان تحقیقی انجام دادند و گزارش کردند که در تیمارهای نانو کلات آهن رشد گیاهچه مرزه کاهش یافته و نانو ذرات آهن در غلظت بالا موجب کاهش میزان پروتئین شد. در گیاهچه ریحان جایگزینی کود آهن تهیه شده با فناوری نانو در مقایسه با کودهای آهن رایج در غلظت مناسب یا کمتر نسبت به کود آهن می تواند سبب افزایش رشد کمی و کیفی گیاه ریحان شود. همچنین نتایج تحقیقات انجام شده بر اثر روشهای مصرف نانو کلات آهن بر خصوصیات کمی و کیفی آفتابگردان رقم سیرنا نشان داده است که مصرف خاکی نانو کلات آهن تراکم گیاه را در سطح کم کرده و به طور کلی باعث کاهش عملکرد در هکتار می شود (۱۷) (۱۶). مرور منابع نشان می دهد که تحقیقاتی که اثر نانو ذرات آهن را بر روی گونه های چوبی و جنگلی بسیار محدود است. لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی تعیین اثرات نانو ذره آهن در محیط آبی و خاکی بر روی خصوصیات جوانه زنی بذور کاج جنگلی (*Pinus sylvestris*) می باشد. لازم به ذکر است که از این گونه در کشور برای جنگلکاری استفاده می شود.

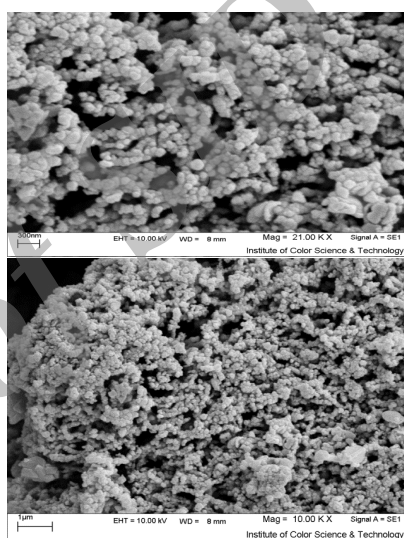
مواد و روشها

به منظور بررسی تاثیر نانو ذره آهن بر روی خصوصیات جوانه زنی بذر کاج، آزمایشات لازم در آبان ماه سال ۲۰۱۱ در آزمایشگاه

خاکشناسی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام به شرح
زیر انجام پذیرفت:

ساختن نانوذرات آهن:

در ابتدا ذرات نانو آهن به روش بور هیدرید با
مساحت سطحی معین و متوسط اندازه ۵۰
نانومتر ساخته شد (۶). (شکل ۱).



شکل ۱. عکس گرفته شده از ذرات نانو آهن باروش (SEM). الف: نانو ذره آهن با بزرگنمایی ۳۰۰ نانومتر. ب: نانو ذره آهن با بزرگنمایی ۱ میکرومتر

تیمارهای خاکی با غلظت های ۰، ۱۰۰، ۲۵۰،
۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی گرم نانو ذره در کیلوگرم و
همچنین با غلظت های ۰، ۷۵۰، ۱۵۰۰، ۳۰۰۰،
۶۰۰۰ میلی لیتر در لیتر آب تهیه شد (۶).

۶ تیمار در ۵ تکرار (۵۰ تایی) در محیط آبی و
۵ تیمار در ۳ تکرار (۵۰ تایی) در محیط خاکی
در نظر گرفته و این تحقیق با روش بلوکهای
کامل تصادفی انجام شد.

آماده کردن بذرها:

بذر کاج مورد نظر پس از تهیه به مدت ۳ هفته
در کاغذ کشت مرطوب در یخچال نگه داری
شد تا زمان لازم برای سرما دهی بذر طی شود،
بعد از ۳ هفته بذر ها سه مرتبه با آب مقطر
شسته و به مدت ۲۰ دقیقه با ماده قارچ کش
ویتاواکس ((۷۵٪ Carboxin + tiran)) با
غلظت ۱ در هزار ضد عفونی شدند (۱).

سبز کردن بذرها در محیط آبی:

بذور کاج جنگلی (*Pinus sylvestris*) به
وسیله آب مقطر شستشو داده شد و به مدت ۸
ساعت در محلول هایی با غلظت های متفاوت
نانو ذرات آهن خیسانده شد. سپس برای محیط
های آبی برای هر تیمار ۵۰ بذر از گونه گیاهی
در کاغذ کشت به روش ساندویچی پیچیده شد (۳).
در آخر ۵ میلی لیتر آب به همراه ذرات نانو
آهن با غلظت های ذکر شده بر روی بذر ها
اضافه شده، و در اتاقک رشد با دمای ۲۳ درجه
سانتی گراد در دمای یکسان شب و روز قرار
داده می شود.

کاشت در محیط خاکی و آماده سازی خاک:

خاک مورد استفاده در آزمایشگاه خشک و
آنالیز شد، جدول (۱).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

بافت خاک (رسی)	OM (%)	pH	EC (ds/m)	FC (%)
	۰,۱	۵	۰,۸	۲۹,۹

معادله میانگین سرعت جوانه زنی:

$$= \left[\frac{1}{D} \bar{R} \right]$$

در این فرمول D تعداد روزها پس از شروع آزمون جوانه زنی و n تعداد بذره‌های جوانه زده در روز D می باشد.

۳-نشت الکتروولیت (پایداری غشاء سلولی):

برای اندازه گیری این صفت پس از سپری شدن دو هفته بعد از کشت برگ میانی هر گیاه سبز شده را داخل لوله آزمایشی که حاوی ۱۰ سی سی محلول مانیتول با پتانسیل اسمز ۲- بار منتقل شد و بعد از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی هر لوله به وسیله دستگاه هدایت الکتریکی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس اندازه گیری شد (۲۱).

نتایج

اثر نانو ذره آهن بر درصد جوانه زنی بذر کاج

الف. محیط آبی

همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده درصد جوانه زنی با افزایش غلظت نانو آهن در محیط آبی کاهش پیدا کرده به طوری که درصد جوانه زنی در تیمارهای مختلف در سطح ۵٪ تفاوت معنی داری دارد و با افزایش غلظت نانو ذره آهن در محیط آبی کمترین درصد جوانه زنی در غلظت ۱۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره آهن مشاهده می شود. روند کاهشی معنی دار از غلظت ۳۰۰۰ شروع شده است که این کاهش با نتایج حاصله از مطالعه انجام شده در مورد گیاهان جو، چاودار و بوته کتان، آفتابگردان رقم سیرنا و مرزه مطابقت ولی با

اسیدیته درگل اشباع و هدایت الکتریکی در عصاره اشباع (۲۰) به کمک دستگاه pH متر و هدایت سنج الکتریکی بافت به روش هیدرومتری (۵) و درصد ازت کل به روش کجدال (۱۴) ، فسفر قابل جذب به روش بیکربنات سدیم (۱۸) و اسپکتروفتومتری، پتاسیم قابل جذب به روش فلیم فتومتری (۱۰) و مواد آلی به روش والکی بلاک اندازه گیری شد. ظرفیت زراعی خاک (FC) ثابت نگه داشته شد که با این عمل اثر عامل رطوبت بر رشد و جوانه زنی بذور حذف شود. همچنین در این آزمایش گلدان های حاوی بذر و خاک را در اتاقک کشت شیشه ای با دمای شب و روز یکسان ۲۲ درجه سانتی گراد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت در دمای شب قرار داده شد. بعد از گذشت زمان لازم برای جوانه زنی بذور صفات زیر مورد اندازه گیری قرار گرفت:

صفات مورد مطالعه:

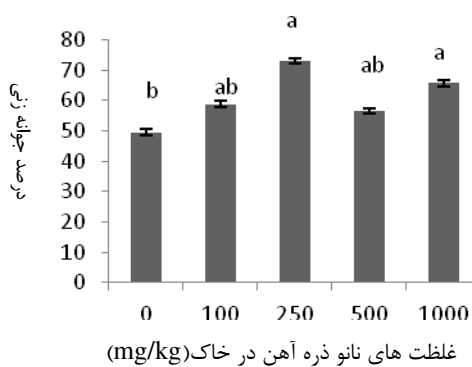
بعد از گذشت زمان لازم برای جوانه زنی بذور صفات زیر مورد اندازه گیری قرار گرفت:

۱-درصد جوانه زنی نهایی (فراوانی بذر جوانه زده).

۲- سرعت جوانه زنی (عکس میانگین مدت زمان جوانه زنی) که با استفاده از فرمول ایس و رابرتز محاسبه می گردد(۴).

معادله میانگین مدت جوانه زنی:

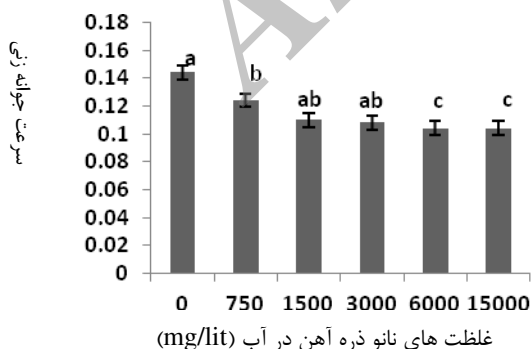
$$\bar{D} = \frac{\sum Dn}{\sum n}$$



شکل ۳- تاثیر نانو ذره آهن بر روی درصد جوانه زنی بذر کاج

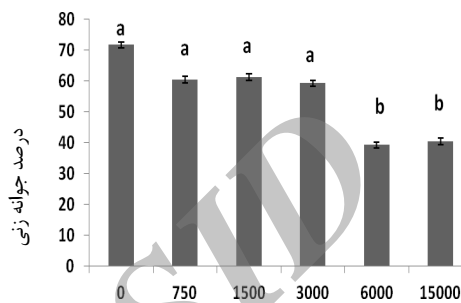
نتایج حاصل از اثر نانو ذره آهن بر سرعت جوانه زنی بذر کاج الف. محیط آبی

همان طور که در شکل ۴ نشان داده شده است تیمارهای مورد مطالعه تفاوت معنی داری با تیمار شاهد نشان می دهند. در سرعت جوانه زنی روند کاهشی از غلظت ۷۵۰ با افزایش غلظت آهن در خاک را شاهد هستیم. از آنجا که سرعت جوانه زنی با عوامل داخل بذر مرتبط می باشد لذا محتمل است که ذرات نانو با تاثیری منفی که بر روی آنزیم های مربوطه گذاشته اند باعث کاهش سرعت جوانه زنی شده اند.



شکل ۴- تاثیر نانو ذره آهن بر روی سرعت جوانه زنی بذر کاج

نتایج حاصله از تحقیقات منجم شده در سال (۲۰۱۱) بر روی گیاه ریحان مطابقت ندارد (۱۱) (۱۷) (۱۶). در مطالعه مذکور، با افزایش غلظت نانو آهن کاهش درصد جوانه زنی و رشد از غلظت ۱۵۰۰ میلی گرم گزارش شده است (۳).



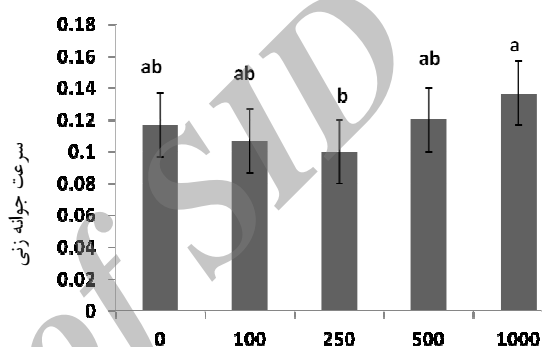
شکل ۵- تاثیر نانو ذره آهن بر روی درصد جوانه زنی بذر کاج

ب. محیط خاکی

همان طور که در شکل ۳ نشان داده شده است که درصد جوانه زنی در تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ نشان می دهند و با افزایش غلظت نانو ذره آهن تا غلظت ۱۰۰۰ روند افزایشی در محیط خاکی مشاهده شد. با توجه به این که وجود برخی فلزات سنگین از جمله آهن در خاک برای رشد طبیعی گیاهان ضروری است، این ذرات نانو آهن کمبود احتمالی خاک مورد آزمایش را جبران و باعث افزایش درصد جوانه زنی شده است اما قابل ذکر است که غلظتهای زیاد این عناصر از طریق افزایش رادیکال های آزاد سمی و القا تنش اکسیداتیو می تواند عاملی برای بازدارندگی رشد و ایجاد علائم سمیت گردد (۱۷).

ب. محیط خاکی

همان طور که در شکل ۵ نشان داده شده است که سرعت جوانه زنی در تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری در سطح ۰.۵٪ با شاهد مشاهده است و با افزایش غلظت نانو ذره آهن در غلظت ۱۰۰۰ روند افزایشی در محیط خاکی مشاهده شد.

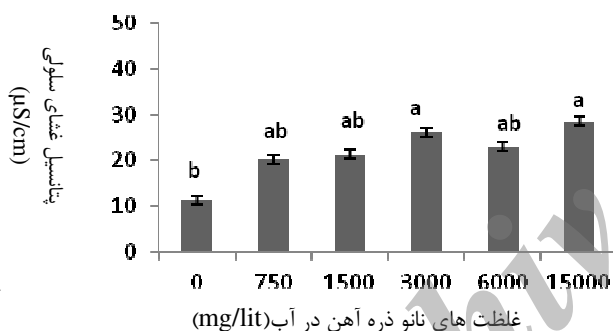


شکل ۵-تاثیر نانو ذره آهن بر روی سرعت جوانه زنی بذر کاج

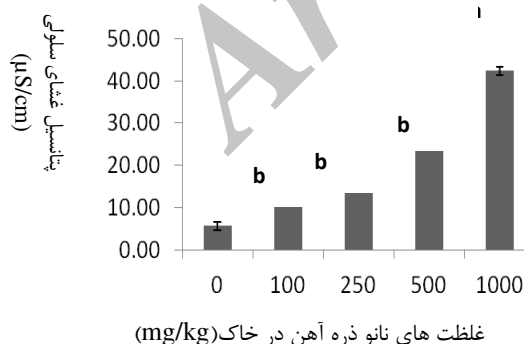
اثر نانو ذره آهن بر پتانسیل غشای سلولی محیط آبی و خاکی

همانطور که در شکل ۶ و ۷ نشان داده شده در گیاهانی که در معرض غلظتهای بالای نانو ذره آهن به مدت دو هفته قرار داشته‌اند. بررسی این صفت نشان داده است که افزایش نانو ذره آهن تاثیر معنی‌داری بر روی نشت الکترولیت داشته است. مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد بیشترین پایداری سیتوپلاسمی یعنی کمترین EC در محیط آبی و خاکی در غلظت ۰ یا تیمار شاهد و بیشترین EC در محیط آبی در غلظت ۱۵۰۰۰ با متوسط ۲۸,۴ بود و در محیط خاکی در غلظت ۱۰۰۰ با متوسط ۲۵ مشاهده شد. با توجه به مطالعات انجام شده گیاهانی که در معرض غلظت های بالای نانو ذره آهن قرار

گرفته اند در مقایسه با گیاهان شرایط معمول از EC بالاتری برخوردار هستند و این بالاتر بودن EC نشان دهنده پایین بودن پایداری غشای سیتوپلاسمی می باشد این بدان معنی است که سلولهای گیاهی دارای دیواره سلولی نیمه نفوذ پذیرند، بنابراین مولکول های با اندازه کمتر از چند نانومتر می توانند از دیواره سلولی عبور کنند، و این اتفاق برای نانو ذره آهن نیز اتفاق افتاده است یعنی از غشاء سیتوپلاسمی عبور کرده است ولی هنوز مقدار آن به حدی نبوده است که باعث آسیب به گیاه شود (۶) (۱۲).



شکل ۶- تاثیر نانو ذره آهن بر روی پتانسیل غشای سلولی بذر کاج



شکل ۷- تاثیر نانو ذره آهن بر روی پتانسیل غشای سلولی کاج

با توجه به نتایج مشاهده می‌شود که اثر نانو ذره آهن بر سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه

آهن در محیط آبی تأثیر بازدارندگی برجسته تری بر خصوصیات جوانه زنی داشته است. و این نتیجه می تواند ناشی از این باشد که قابلیت تحرک زیستی ذرات نانو آهن در خاک به علت وجود عواملی چون ذرات خاک به ویژه ذرات رس، مواد آلی و همچنین عناصر غذایی کم میشود. لذا حضور نانو ذرات آهن در محیط های آبی مسمومیت بیشتری نسبت به محیط خاکی دارد و لذا باید خطرات زیست محیطی آن مورد توجه صنایع مربوطه قرار بگیرد.

زنی کاج در محیط آبی بیشتر مشاهده شد و ما با افزایش نانو ذره آهن به محیط در غلظت های بالا مسمومیت را داشته ایم. اما در محیط خاکی نتایج نشان داد که در غلظت های بسیار بالا مسمومیت بوجود می آید. در مورد پارامتر پتانسیل غشای سلولی نیز باید گفت که نانو ذره در هر دو محیط از دیواره سلولی عبور کرده است ولی باید گفت که در محیط خاکی با در نظر گرفتن پارامترهای خاکی مسمومیت ایجاد نکرده است. بنابر نتایج حاصله، تأثیر نانو ذره

References:

- ۱-Association of official seed Analysts (۱۹۸۱).
- ۲-Daughton, C . G ,۲۰۰۴.Non-regulated water contaminant: emerging research, Environ Impact Assess Rev;۲۴:۷۱۱-۳۲۰.
- ۳-El-temsah, Y., J.joner,۲۰۱۰. Impact of Fe and Ag Nanoparticles on seed Germination and Differences in Bioavailability During Exposure in Aqueous Suspension and Soil. Environmental Toxicology.
- ۴-Ellis, R.H., hory, T. P., and Roberts, E. H. ۱۹۸۰b. Towards a rational basis for testin seed quality .In Hebblethwaite.P.O/(ed). Seed Production .Butter worthe Landen; pp.۶۰۵-۶۳۵.
- ۵-Gee .G.W.,and Bauder, J.W.۱۹۸۶ .Particle –size analysis ,In:Klute,A.(Ed). Methods of soil Analysis .Part ۱-۲ nd ed.,vol . ۹. Agron Monogr, ASS and SSSA , Madison, pp.۳۸۳-۴۱۱.
- ۶-Huang, K.C.& S.H. Ehrman, ۲۰۰۷. Synthesis of iron nanoparticles via chemical reduction with palladium ion seeds. Langmuir ۲۳:۱۴۱۹-۱۴۲۶.
- ۷-Howard,C.V.,۲۰۰۴. Small particles-big problems. Int Lab News ۳۴(۲):۲۸-۹.
- ۸-Huang K-C, Ehrman SH. ۲۰۰۷. Synthesis of iron nanoparticles via chemical reduction with palladium ion seeds. Langmuir ۲۳:۱۴۱۹-۱۴۲۶
- ۹-Knudsen, D., G. A. Peterson . & P.F. Pratt, ۱۹۸۲. Lithium, sodium and potassium, in: Page, A.L., et al. (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part ۲. Chemical and Microbiological Properties, ASA Monograph Number ۹, ۲۲۵-۲۴۶ pp.
- ۱۰-Lam,C.W.,J.T. James,R.H. McCluskey & R.L. unter, ۲۰۰۴. Pulmonary toxicity of singlewall carbon nanotubes in mice ۷ and ۹۰ days after intra tracheal in stillation.Toxicol Sci ۷۷:۱۲۶-۱۳۴۸.
- ۱۱-Moradi M, H solar Mahmoud Abadi, A. Morovvati Sharafabad, ۱۳۹۰. Effect of Chelated iron nano-consuming methods of quantitative and qualitative characteristics of sunflower (*Syrna*) the first national conference on nanotechnology safety standards.
- ۱۲-Nel,A.,T. Xia, L .Madler & N.Li ,۲۰۰۶.Toxic potential of materials at the nanolevel Science ۳۱۱: ۶۲۲-۶۲۷.
- ۱۳-Nelson, D.W.,& L.E. Sommers, ۱۹۷۳. Determination of total nitrogen in plant material. Agron J ۶۵: ۱۰۹-۱۱۲.

- ۱۴-Oberdorster,E., & J. Oberdorster,۲۰۰۵. Nanotoxicology:an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environ Healthperspect ۱۱۳ : ۸۲۳ - ۸۳۹..
- ۱۵-Olsen, S.R.& L.E. Sommers, ۱۹۸۲. Phosphorus. In: Page AL, Miller RH, Keeney DR (eds) Methods of soil analysis part ۲. ASASSSA, Madison, WI, ۴۰۳-۴۲۷ pp.
- ۱۶-Peyvandi,M. H. Parande,M. Mirza,۲۰۱۱.Comparison of nano Iron chelate with Iron Chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum basilicum*. New cell mol biotech, j/۱, ۴.
- ۱۷-Peyvandi,M. Z.Kamali jamkani, M. Mirza,۲۰۱۱. Effect of nano iron Chelate with iron Chelate on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Satureja hortensis*. New cell mol biotech.
- ۱۸-Rosi,N.L., C.A . Mirkin , ۲۰۰۵. Nanostructures in biodiagnostics .Chem Rev;۱۰۵: ۱۵۴۷-۶۲.
- ۱۹-Richards, L.A,۱۹۵۴. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. U.S.D.A. Handbook ۶۰.
- ۲۰-Stoimenov,P.K., R.L .Kligge , G.L .Marchin, ,K.J. Klabunde,۲۰۰۲.Metal oxide nano particles as bactericidal agents .Langmuir ۱۸:۶۶۷۹-۶۶۸۶.
- ۲۱-Sheikh M, M N Sajedi, and Jyryany ۱۳۸۸. Effect of water stress on characteristics of different corn hybrids Agrofzyyulogik; findings of modern agriculture, ۲ (۱) : ۱۲-۲۶.

Archive of SID