

## بررسی پیش تیمار بذری نانوذره مس اکسید بر جوانه زنی، برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی و شاخص کاروتنوئید گیاهچه دو رقم گندم

وجیهه گنجعلی<sup>۱</sup>، منیره چنیانی<sup>۲\*</sup>، پرینا طاهری<sup>۳</sup>، مریم مظاهری تیرانی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استادیار، فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار، گیاه پزشکی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- استادیار، علوم پایه، فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه چمر قم

E-mail: Cheniany@um.ac.ir\*

۰۵۱۳۸۸۵۵۵۲۲

### چکیده

در تحقیق حاضر و در قالب طرح کاملاً تصادفی، تاثیر پیش تیمار بذری نانوذره مس اکسید بر جوانه زنی، برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی و شاخص کاروتنوئید گیاهچه های دو رقم گندم 'روشن' و 'سیوند' بررسی شد. ۱۰ روز پس از پیش تیمار بذرها، گیاهچه های تیمار شده جمع آوری و تغییرات طول و وزن خشک اندام هوایی و ریشه، محتوای انواع کلروفیل و کاروتنوئید و شاخص پایداری غشاء گیاهچه ها بررسی شدند. نتایج بیانگر افزایش درصد جوانه زنی هر دو رقم گندم در غلظت های ۱۰، ۱۰۰، ۲۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذره مس اکسید و کاهش این شاخص در غلظت های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر آن بود. هر چند تیمار با نانوذره مس اکسید در تمامی غلظت ها، باعث کاهش ارتفاع بخش هوایی گیاهچه های رقم 'روشن' شد ولیکن تیمارهای ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذره به بعد، اثر مثبت بر ارتفاع بخش هوایی گیاهچه های رقم 'سیوند' (نسبت به شاهد) داشت. افزایش محتوا کلروفیل کل دو رقم گندم، حاکی از تاثیر مثبت همه غلظت‌های نانوذره مس اکسید (نسبت به شاهد) بود. غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذره مس اکسید نیز موجب بیشینه محتوا کاروتنوئید رقم 'روشن' و 'سیوند' گردید که به جهت اثرات درمانی این ترکیبات می تواند قابل توجه باشد. کاهش ضریب پایداری غشاء هر دو رقم گندم مورد مطالعه نیز مهرز شد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر می توان بیان داشت که غلظت‌های کم ذرات نانو مس اکسید موجب ترغیب رشد و صفات مورفوفیزیولوژیکی گندم نان می گردند.

**کلمات کلیدی:** گندم نان، نانوذره، درصد جوانه زنی، کاروتنوئید، ضریب پایداری غشاء

### ۱. مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) اولین غله و مهم‌ترین گیاه زراعی در دنیا است و غذای اصلی حدود یک سوم جمعیت جهان را تأمین می‌کند. کاروتنوئیدها به عنوان ترکیبات تتراترپنوئید حاضر در بافت‌های مختلف گیاهی، اثرات مهمی بر سلامتی انسان نظیر فعالیت ضد سرطان و تقویت سیستم ایمنی بدن در برابر بیماری‌های مختلف دارند (Noviendri et al., 2011). فناوری نانو همراه با سایر فناوری‌های زیستی در بخش‌های زیست‌شناسی گیاهی، کشاورزی و پزشکی موج ویژه‌ای از انقلاب صنعتی در جهان را رقم زده است (Hatami et al., 2018). امروزه بررسی اثرات نانوذرات مختلف بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان در حال گسترش است نتایج تحقیقات

مختلف نشان داده است که واکنش گونه‌های مختلف گیاهان نسبت به نانو ذرات متفاوت است. مس به عنوان عنصری کم مصرف، نقش مهم و اساسی در برخی عملکردهای سلولی مانند ساخت پروتئین‌ها، لیپید و هورمون‌ها، بیان ژن، استحکام ساختاری و عملکردی غشاهای زیستی، فتوسنتز و سوخت و ساز اکسیژن دارد (Khatami *et al.*, 2019). از سوی دیگر، نانوذرات مس (CuO-NP) هم کاربردهای بسیاری در صنایع مختلف از جمله پزشکی و دارویی، زیست شناسی، صنایع غذایی و کشاورزی دارند (Chalandar *et al.*, 2017). هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر CuO-NP بر جوانه زنی، برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی و شاخص کاروتنوئید دوره گیاهچه‌ای دو رقم گندم 'روشن' و 'سیوند' می‌باشد.

## ۲. مواد و روش‌ها

به منظور انجام این آزمایش پس از تهیه بذرهای دو رقم گندم 'روشن' و 'سیوند' از سایت بوجاری اتحادیه تعاونی تولید یزد، واقع در شهرستان خاتم یزد تهیه شد. بذرهای خیس داده شده گندم (یک ساعت در آب مقطر)، با ذرات CuO-NP (در محدوده غلظتی ۰، ۱۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به مدت یک ساعت پیش تیمار شدند. تعداد ۱۰ عدد بذر پیش تیمار شده در داخل پتری دیش‌های دارای کاغذ صافی قرار داده شد و به مدت ۱۰ روز در اتاق فیتوترون ( $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. پس از پایان ۱۰ روز، سرعت جوانه‌زنی (Bhagirath *et al.*, 2008)، طول اندام‌هوایی و ریشه‌های گیاهچه‌ها، محتوای رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید (Arnon, 1967)، و در نهایت ضریب پایداری غشاء نمونه‌ها (Azizpour *et al.*, 2010) اندازه‌گیری شد. داده‌ها با نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۲۶) آنالیز شد و مقایسه بین تیمارهای مختلف بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای  $P < 0.05$  صورت گرفت.

## ۳. نتایج و بحث

نتایج آزمایشات بیانگر تاثیر معنی‌دار رقم، غلظت تیمار اعمال شده و برهم‌کنش رقم و نوع غلظت تیمار بر صفات مطالعه شده ( $p \leq 0.05$ ) می‌باشد (جدول ۱).

**جدول ۱-** نتایج تجزیه واریانس اثر CuO-NP بر جوانه‌زنی و برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی دو رقم گندم 'روشن' و 'سیوند'. ns و \* به ترتیب بیانگر عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال خطای پنج درصد می‌باشد.

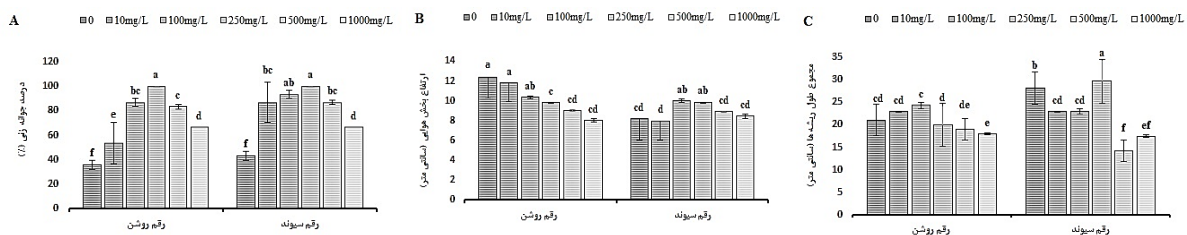
منبع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه زنی	ارتفاع بخش هوایی	مجموع طول ریشه‌ها	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل کل	محتوای کاروتنوئید	ضریب پایداری غشاء
رقم گیاهی	۱	۲۲/۵۰۰*	۱۹۳/۵۳۵*	۴۱/۳۳۲*	۳۰/۰۱۰*	۷/۶۴۱*	۱۸/۹۱۸*	۰/۱۰۷ <sup>ns</sup>	۴/۹۳۸*
غلظت تیمار	۱۰	۹۸/۰۲۰*	۷/۸۳۲*	۵۶/۲۵۸*	۱۷/۱۳۳*	۲/۷۴۴*	۸/۵۶۳*	۰/۴۱۶ <sup>ns</sup>	۲۲/۹۴۵*
رقم گیاهی × تیمار	۱۰	۸/۵۸۰*	۵/۶۵۴*	۴۰/۷۳۹*	۵/۷۲۱*	۱/۳۶۰*	۲/۸۴۲*	۲/۰۵۳*	۳۳/۵۱۴*
خطا	۴۴								

### ۳-۱. درصد جوانه زنی

نتایج پژوهش نشان داد که در غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر CuO-NP، درصد جوانه زنی هر دو رقم گندم افزایش می‌یابد، در حالی که در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر آن، کاهش در صد جوانه زنی رقم‌های بررسی شده مشاهده شد (شکل ۱A). نتایج پژوهشی حاکی از افزایش سرعت جوانه زنی در ذرت بود (Lin *et al.*, 2007). حضور عنصر مس به شکل نانوذره فلزی و متناسب با غلظت‌های بهینه، موجب فعال‌سازی آنزیم‌های دخیل در فرایند جوانه زنی بذر شده که پیامد آن افزایش درصد جوانه زنی خواهد بود. این در حالی است که غلظت‌های زیاد نانوذرات موجب افزایش محتوای درونی آبسزیزیک اسید در بذر گیاهان می‌گردد و این می‌تواند دلیلی برای کاهش جوانه زنی در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره بررسی شده در پژوهش حاضر باشد (Mumzurglu *et al.*, 2008).

### ۳-۲. طول اندام‌هوایی و مجموع طول ریشه‌ها

هر چند تیمار با CuO-NP در تمام غلظت‌ها باعث کاهش ارتفاع بخش هوایی گیاهچه‌های رقم 'روشن' شد ولیکن تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره به بعد، اثر مثبت بر ارتقاء بخش هوایی گیاهچه‌های رقم 'سیوند' (نسبت به شاهد) داشت (شکل ۱B). کنش مجموع طول ریشه‌های دو رقم گندم در زمان تیمار با CuO-NP از تنوع رفتاری بالایی برخوردار بود، با این وجود می‌توان بیان داشت که غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر CuO-NP، به ترتیب، بهترین اثر را بر مجموع طول ریشه‌های دو رقم 'روشن' و 'سیوند' داشتند (شکل ۱C). هرچند در پژوهش یوسفزایی و همکاران (۱۳۹۶)، تیمار با CuO-NP موجب کاهش رشد بخش هوایی و ریشه‌های ریحان شد اما این تاثیر در گندم بالعکس بود (Lee *et al.*, 2008). بیان شده است که علت تاثیر منفی مس بر فرایند رشد می‌تواند به اتصال مس به پکتین دیواره سلولی و کاهش قابلیت ارتجاعی آن نسبت داده شود (Prasad *et al.*, 1995). همچنین افزایش اتیلن و کاهش سیتوکنین و پلی‌آمین‌ها در غلظت‌های بالای مس نیز گزارش شده است (Peralta *et al.*, 2000).



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف CuO-NP بر درصد جوانه زنی (A)، ارتفاع بخش هوایی (B)، مجموع طول ریشه‌ها (C) دو رقم گندم 'روشن' و 'سیوند'. حرف یا حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای پنج درصد می‌باشد.

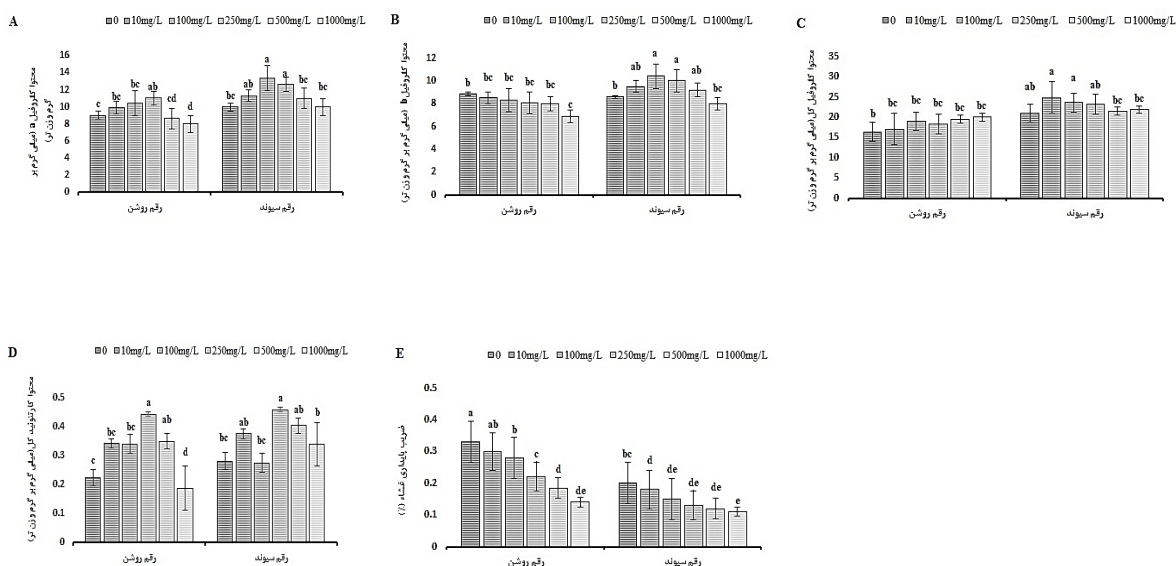
### ۳-۳. محتوا رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید

تاثیر پیش تیمار CuO-NP بر محتوای کلروفیل a دو رقم گندم بررسی شده، با روند افزایشی-کاهشی همراه بود به طوری که غلظت ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر CuO-NP موجب بیشینه محتوای این رنگدانه، به ترتیب، در رقم 'روشن' و 'سیوند' شد (شکل ۲A). هرچند محتوا کلروفیل b رقم 'روشن' در تمام غلظت‌های تیماری CuO-NP کاهش یافت ولیکن ما شاهد افزایش محتوا رنگدانه کلروفیل b رقم 'سیوند' (نسبت به شاهد) بودیم (شکل ۲B).

بررسی محتوا کلروفیل کل دو رقم گندم، حاکی از تاثیر مثبت تیمار CuO-NP (نسبت به شاهد) بود (شکل ۲C). غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر نیز موجب بیشینه محتوای کاروتنوئید رقم 'روشن' و 'سیوند' گردید (شکل ۲D). کاهش غلظت رنگدانه های فتوسنتزی در گیاهان، به خصوص در غلظت های بالا می تواند نشان دهنده شدت آسیب های اکسیداتیو باشد. این کاهش می تواند به دلیل بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل و رنگدانه های دیگر باشد (Tzvetkova *et al.*, 1996). افزایش تشکیل کلروفیل و سرعت فتوسنتز در اسفناج در اثر تیمار با نانو ذرات TiO<sub>2</sub> و ZnO (Hajra *et al.*, 2017)، و همچنین اثر تیمار با نانوذره ZnO در نخود گزارش شد (Prasad *et al.*, 2012). مشخص شده است که فلزات سنگین در یک محدوده غلظتی مشخص، به عنوان عوامل تنش زای محیطی سبب القای تنش اکسیداتیو و سنتز بیشتر کاروتنوئیدها در گیاهان می شوند. درحالی که در غلظت های بیشتر از حد بهینه، از طریق تخریب و بهم ریختگی ساختار کاروتنوئیدها، مقدار آن در گیاه را کاهش می دهند. این دسته از ترکیبات به جهت نقش اصلی آن ها در فعالیت های آنتی اکسیدان، محافظت نوری و به عنوان پیش ساز هورمون ها در خود گیاهان از یک سو (Candan and Tarhan, 2003) و نیز اثرات مهم آن ها بر سلامتی انسان از سوی دیگر (Noviendri *et al.*, 2011)، می توانند حائز اهمیت باشند.

### ۳-۴. ضریب پایداری غشاء

با توجه به شکل E ۲، ضریب پایداری غشاء دو رقم گندم در شرایط تیماری با CuO-NP به شدت کاهش یافت. در پژوهشی تایید شده است که نانوذرات می توانند موجب کاهش ضریب پایداری غشاء در گیاه کلزا، گل کلم و گوجه فرنگی شوند (Jahani *et al.*, 2019). تنش اکسایشی و تولید بیش از اندازه گونه های کنشگر اکسیژن (ROS) در شرایط مواجهه با نانوذرات رخ می دهد. افزایش سطح ROS به یک پارچگی غشای سلولی و ضریب پایداری غشاء آسیب می رساند که نتیجه آن، نشت یون و اختلال در متابولیسم سلولی و در نهایت مرگ گیاه خواهد بود (Singh *et al.*, 2017).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف CuO-NP بر محتوا کلروفیل a (A)، محتوا کلروفیل b (B)، محتوا کلروفیل کل (C)، محتوا کارتنوئید (D) و ضریب پایداری غشاء (E) دو رقم گندم 'روشن' و 'سیوند'. حرف یا حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای پنج درصد می‌باشد.

#### ۴. نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان بیان داشت که ذرات نانو مس اکسید در غلظت‌های کم موجب تاثیرات مثبت بر رشد و صفات مورفوفیزیولوژیکی گندم می‌گردد.

#### تشکر و قدردانی

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد بابت تأمین هزینه‌های پژوهش حاضر از محل اعتبارات متمرکز این معاونت (با کد طرح به شماره ۳/۵۳۰۰۶) سپاس‌گزاری می‌کنند.

#### منابع

- یوسف‌زایی، ف.، پوراکبر، ل و فرهادی، خ. (۱۳۹۶). بررسی تاثیر نانوذرات مس و محلول کلرید مس بر جوانه‌زنی و برخی فاکتورهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۳۰(۱): ۲۲۱-۲۳۱.
- Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Journal Agronomy*, 23(1), 112-121.
- Azizpour, K., Shakiba, M.R., Khosh Kholgh Sima, N., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E. & Pesarakli, M. (2010). Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *Journal of Plant Nutrition*, 33(2), 859-873.
- Bhagirath, S., Chauhan, B.S. David, E. & Johnson, M.A.K. (2008). Seed germination and seedling emergence of giant sensitive plant (*Mimosa invisa L.*). *Weed Science*, 56(2), 244-248.
- Candan, N., & Tarhan, L. (2003). Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed *Mentha pulegium*. *Turkish Journal of Chemistry*, 27(1), 21-30.
- Chalandar, H. E., Ghorbani, H. R., Attar, H., & Alavi, S. A. (2017). Antifungal effect of copper and copper oxide nanoparticles against *Penicillium* on orange fruit. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 14(1), 279-284.
- Hajra, A. & Mondal, N. K. (2017). Effects of ZnO and TiO<sub>2</sub> nanoparticles on germination, biochemical and morphoanatomical attributes of *Cicer arietinum L.* *Journal Energy, Ecology and Environment*, 2(4), 277-288.
- Hatami, S., Emamjomeh, A. A., Farshadfar, M., Safari, H., & Fakheri, B. (2018). Evaluation the Effects of Different Levels of Silver Nanoparticles on Germination Characteristics of Wheat Cultivars. *Journal of Biotechnology*, 9(2), 293-299.
- Jahani, M., Khavari-Nejad, R. A., Mahmoodzadeh, H. & Saadatmand, S. (2019). Effects of foliar application of cobalt oxide nanoparticles on growth, photosynthetic pigments, oxidative indicators, non-enzymatic antioxidants and compatible osmolytes in canola (*Brassica napus L.*). *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 61, 29-42.
- Khatami, M., Varma, R. S., Heydari, M., Peydayesh, M., Sedighi, A., Agha Askari, H. & Khatami, S. (2019). Copper oxide nanoparticles greener synthesis using Tea and its antifungal efficiency on *Fusarium solani*. *Journal Geomicrobiology*, 36(9), 777-781.
- Lee, S., Kim, S., Kim, S. & Lee, I (2013). Assessment of phytotoxicity of ZnO NPs on a medicinal plant, *Fagopyrum esculentum*. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(1), 848-854.
- Lin, B. Xing (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150, 243 – 250
- Mumzurglu, O., Zengin, F. K. & Yahyayagil, Y (2008). The abscisic acid levels of wheat (*Triticum aestivum L.*). *Journal of Science*, 21, 1-7.
- Noviendri, D., Hasrini, R. F. & Octavianti, F. (2011). Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(33), 7119-7131.

- Peralta, J. R., Gardea-Torresdey, J. K., Tiemann, K. J., Gomez, E., Arteaga, S., Rascon, E. & Parsons, J. G. (2000). Study of the effect of heavy metals on seed In: germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*) grown in solid media. *Journal Agronomy*, 23(2), 86-98.
- Prasad, M. N. V. (1995). The inhibition of maize Leaf chorophylls, carotenoids and gas exchange functions by cadmium. *Photosynthetica* 31, 635-640.
- Prasad, T.N.V.K.V., Sudhakar., P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja Reddy, K., Sreeprasad, T.S., Sajanlal, P.R. & pradeep, T. (2012). Effect of nanoscales zinc oxide on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of plant nutrition*, 35(1), 905-927.
- Singh A, Singh N. B., Hussain I. & Singh H. (2017). Effect of biologically synthesized copper oxide nanoparticles on metabolism and antioxidant activity to the crop plants *Solanum lycopersicum* and *Brassica oleracea* var. *botrytis*. *Journal of Biotechnology*, 262, 11–27.
- Tzvetkova N. & Kolarov, D. (1996). Effect of air pollution on carbohydrate and nutrients concentrations in some deciduous tree species, Bulg. *Journal of Plant Physiology*, 22(1), 45.

## Evaluation of seed pretreatment of Copper oxide nanoparticles on germination, some morphophysiological characteristics and carotenoid index of two wheat cultivars seedling

**Vajiheh Ganjeali<sup>1</sup>, Monireh Cheniany<sup>\*2</sup>, Parisa Taheri<sup>3</sup>, Maryam Mazaheri-Tirani<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad

<sup>2</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad

<sup>3</sup> Department of Plant protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad

<sup>4</sup> Department of Biology, Faculty of Science, University of Jiroft, Jiroft

\* Corresponding author: [Cheniany@um.ac.ir](mailto:Cheniany@um.ac.ir)

### Abstract

In the present study, the effect of seed pretreatment with Copper oxide nanoparticles (CuO-NP) on germination, some morphophysiological characteristics and carotenoid index of seedling of two wheat cultivars -'Roshan' and 'Sivand'- were investigated. 10 days after pretreatment of seeds, the samples were collected and the changes of shoot length, shoot dry weight, root length, root dry weight, chlorophylls and carotenoid content and membrane stability index investigated. The results showed an increase in germination percentage of both wheat cultivars at concentrations of 10, 100, 250 mg L<sup>-1</sup> CuO-NP and a decrease of ones at concentrations of 500 and 1000 mg L<sup>-1</sup> CuO-NP. Although all concentrations of CuO-NP reduced the height of seedling aerial part of 'Roshan' cultivar, the concentrations more than 100 mg L<sup>-1</sup> CuO-NP had a positive effect on the aerial part height of 'Sivand' cultivar (in comparison to control). Besides, continuous treatment with all concentrations of CuO-NP increased the total chlorophyll content of studied cultivars, but 250 mg L<sup>-1</sup> CuO-NP caused the maximum carotenoid content of both wheat cultivars, which can be important due to the medicinal effects of these compounds. Reduction of membrane stability index was also observed in both cases. According to the results of present study, it can be stated that the low concentrations of Copper oxide nanoparticles could improve the growth and morphophysiological characteristics of wheat.

**Keywords:** Wheat, Nanoparticles, Germination percentage, Carotenoid, Membrane stability index