

مقایسه برخی خصوصیات فیزیولوژیکی دو گونه اکالیپتوس و لیلکی تحت تنش نانوذرات سولفید کادمیم

سیما عبدی^۱، بهمن کیانی^{۲*}، اصغر مصلح آرانی^۳، علی بمان جبالی^۴

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد
 ۲. استادیار گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد
 ۳. دانشیار گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد
 ۴. استادیار گروه نانوفناوری پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یزد
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۰۶؛ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۰۸/۰۳)

چکیده

در این پژوهش پاسخ فیزیولوژیک دو گونه درختی لیلکی و اکالیپتوس تحت تأثیر نانوذرات سولفید کادمیم مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا نهال‌های یک‌ساله از دو گونه در شرایط یکسان تولید شد. طرحی در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه اجرا و نانوذرات سولفید کادمیم با دو غلظت ۲۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کنار تیمار شاهد مورد استفاده قرار گرفت. پس از ۳۰ روز نمونه‌های لازم از هر دو گیاه برای انجام آزمایشات برداشت و به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه مقدار پرولین، قندهای محلول، کلروفیل و مالون دی-آلدهید و همچنین مقدار کادمیم جذب شده در ریشه و اندام هوایی برای تمام نهال‌ها مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای بررسی اختلافات از آزمون تجزیه واریانس و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. نتایج نشان داد که تجمع نانوذرات در ریشه‌ها به طور کلی بیشتر از اندام هوایی است. همچنین گونه اکالیپتوس مقادیر بیشتری از نانوذرات را جذب نمود. با افزایش مقدار نانوذرات سولفید کادمیم، در مقدار پرولین و قند هر دو گیاه تغییرات معنی‌داری دیده شد اما افزایش مقدار نانوذره اثر معنی‌داری در مقدار مالون دی‌آلدهید نداشت. مقدار کلروفیل با افزایش غلظت نانوذره در گونه لیلکی افزایش و در گونه اکالیپتوس کاهش نشان داد. به‌طور کلی نانوذره سولفید کادمیم در غلظت‌های مورد مطالعه و تحت شرایط آزمایش حاضر، تأثیر منفی زیادی بر گیاه لیلکی نداشته و کاهش مقدار قند و پرولین نیز در این گونه، به احتمال زیاد به دلیل اثر نانوذره در ایجاد تنش خشکی بوده است. در واقع نانوذرات به طور غیرمستقیم باعث کاهش قند و پرولین گیاه شده‌اند. این درحالی است که در گیاه اکالیپتوس افزایش تولید قند و پرولین توسط گیاه به منظور تنظیم اسمزی بوده اگرچه ممکن است در حفاظت گیاه و میزان آنتی‌اکسیدان نیز نقش داشته باشد.

کلید واژگان: اکالیپتوس، پرولین، قندهای محلول، لیلکی، نانوذرات سولفید کادمیم

۱. مقدمه

تخریب و آلودگی محیط زیست توسط جوامع صنعتی یکی از ره‌آوردهای صنعتی شدن اجتماعات بشری است. به طور کلی هر نوع تغییر در ویژگی‌های اجزای تشکیل دهنده محیط به طوری که عملکرد طبیعی و تعادل زیستی آن مختل گردد و به طور مستقیم یا غیرمستقیم منافع و حیات موجودات زنده را به مخاطره بیندازد آلودگی محیط زیست نام دارد (Dabiri, 1996). فعالیت‌های انسانی از قبیل استخراج، خالص‌سازی فلزات، دفع زباله‌های شهری و صنعتی، مهم‌ترین منابع آلودگی فلزات سنگین در محیط زیست هستند (Bacon & Dinev, 2005). در طی این فرایندها، آلاینده‌ها به طور مداوم آلوده‌کننده‌ها را به آب و خاک وارد می‌کنند و به سلامت موجودات زنده آسیب می‌رسانند (Reiwerts & Farago, 1996).

نانوتکنولوژی فناوری نوظهوری است که هم‌زمان با افزایش سهم آن در زندگی و اقتصاد، احتمال دارد مانند هر تکنولوژی دیگری خطراتی را برای محیط زیست و انسان با خود به ارمغان بیاورد. آلودگی نانو یا نانوآلودگی^۱، نامی کلی برای تمامی ضایعات ناشی از نانوآبزار و یا فرایندهای ناشی از نانو مواد است. این نوع ضایعات به خاطر اندازه‌شان بسیار خطرناک هستند. آن‌ها می‌توانند وارد هوا شده، به راحتی جذب بدن جانوران و سلول‌های گیاهان شوند و اثرات نامعلومی را به جا گذارند (Moor, 2006). اصولاً به ترکیبی نانو گفته می‌شود که حداقل یک بعد کمتر از ۱۰۰ نانومتر داشته باشد. مواد نانو خواصی مانند هدایت، پایداری و فعالیت فوق‌العاده زیاد دارند که آن‌ها را برای کاربردهای بسیاری مفید می‌سازد. به طور کلی دو عاملی که نانوذرات را مفید می‌سازد عبارت‌اند از اندازه بسیار ریز که به آن‌ها توانایی عبور از غشاء پوستی و تحرک را می‌دهد و دیگری سطح بسیار بالا که می‌تواند سایر ترکیبات سمی را بر روی خود جذب کند (Rachel's environment health News, 2003).

سولفید کادمیم یک ترکیب شیمیایی با فرمول CdS با فاصله باند $2/4 \text{ eV}^2$ یکی از بیشترین نانوذرات مورد استفاده در صنایع است. این ماده زردرنگ بوده و یک نیمه رسانای برق محسوب می‌شود. سولفید کادمیم از دو پلی‌مورف گرینوکیت^۳ شش ضلعی و هاوولیت^۴ مکعب تشکیل شده است. این ماده در درجه اول در مقیاس نانو، در ساخت سلول‌های خورشیدی به عنوان یک لایه بافر در ساخت CIGS (مس-ایندیم-گالیم-سلنید) سلول‌های خورشیدی و انواع دستگاه‌های الکترونیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Kardigan, 2008). نانو سولفید کادمیم در دیگر برنامه‌های کاربردی مانند تجزیه فتوشیمیایی، نور ساطع دیوده‌ها، مقاومت عکس و اخیراً در حسگرهای زیستی به منظور افزایش حساسیت برای تشخیص DNA هیبریداسیون مورد استفاده قرار می‌گیرد (Majid, 2012).

با توجه به کاربردهای این عنصر در تکنولوژی‌های جدید باید جوانب زیست‌محیطی و خطرات این ماده نیز در نظر گرفته شود؛ زیرا به طور بالقوه یکی از آلاینده‌های مهم زیست‌محیطی بوده که بر تمامی اکوسیستم‌ها اعم از آب، هوا، غذا و گیاهان اثر می‌گذارد. سولفید کادمیم دارای توانایی‌هایی است که باعث ایجاد اثرات سمی فراوانی به صورت آشکار می‌شود. با این وجود روشن است که نانو سولفید کادمیم اثرات بهداشتی جدی را در ایجاد سرطان به دنبال دارد. از عوارض جانبی آن بر انسان می‌توان به تأثیر روی بافت‌هایی مانند کلیه و استخوان اشاره کرد (ECHA, 2015). از اثرات کادمیم و ترکیبات آن بر گیاهان می‌توان به اختلال در تقسیم و رشد سلول‌ها، رشد کلی گیاه، تقسیم سلولی منطقه مریستمی و اختلال در رشد و نمو آن‌ها اشاره کرد (Das et al., 1997).

لیلیکی (*Gleditsia caspica* Desf.) که از گونه‌های

¹ Nano Pollution

² Electronvolt

³ Greenockite

⁴ Hawleyite

نانو ذره نقره را روی گونه کاج جنگلی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که نانوذرات نقره باعث ایجاد آثار منفی حتی در غلظت‌های پایین بر روی کیفیت جوانه زنی بذور کاج جنگلی در دو محیط آبی و خاکی می‌شود. همچنین در پژوهشی توسط Takallo و همکاران (۲۰۱۳) اثرات نانوذره دی اکسید تیتانیوم بر صفات جوانه‌زنی و شاخص‌های سیتوژنتیکی سلول‌های در حال تقسیم گونه جو رقم والفجر بررسی شد و مشخص گردید که غلظت‌های مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم به نسبت شاهد سبب افزایش شاخص انحرافات کروموزومی جو شد. تحقیقات متعدد دیگری نیز در این زمینه انجام شده که از جمله می‌توان به تحقیق Gao و همکاران (۲۰۱۳) در رابطه با تأثیر دی اکسید تیتانیوم در گیاه نارون و Wang و همکاران (۲۰۱۰) در مورد اثر نانولوله‌ها بر رشد ذرت اشاره نمود.

هدف اصلی این تحقیق، بررسی تأثیر نانوذرات سولفید کادمیم بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی در دو گونه لیلیکی و اکالیپتوس به منظور تعیین مکانیسم جذب یا پالایش نانوذره در آن‌ها و همچنین تعیین گونه مقاوم برای کشت در مناطق آلوده به این آلودگی بوده است.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. تهیه نهال و آماده‌سازی شرایط آزمایش

پس از تهیه بذور دو گونه لیلیکی و اکالیپتوس، خاک یکنواخت با بافت یکسان (یک چهارم قسمت رس، یک چهارم قسمت خاک برگ، یک چهارم کود و یک چهارم ماسه) تهیه و در گلدان‌ها ریخته شد. بذرها کاشته شده و جهت سبز شدن و تولید نهال در محیط گلخانه دانشگاه یزد قرار گرفتند. لازم به ذکر است که بذور لیلیکی قبل از کاشت به مدت دو دقیقه توسط اسیدسولفوریک تیمار شدند.

مورد مطالعه در این تحقیق است، درختی از تیره Leguminosae بوده و از مشخصات اکولوژیکی و جنگل‌شناسی آن می‌توان به نورپسند بودن، رطوبت‌پسند بودن، طالب خاک‌های سبک و قابل نفوذ، رشد به صورت انفرادی یا اجتماعی، تولید پاجوش زیاد، تکثیر از طریق بذر و پاجوش و دیرزیستی متوسط آن، اشاره کرد. از این گونه برای حفاظت خاک و ایجاد بادشکن در اراضی ساحلی، ارزش علوفه‌ای سرشاخه‌های برگ‌دار، گیاه میوه و همچنین حصارکشی به دلیل مقاومت در برابر رطوبت استفاده می‌شود. پراکنش جهانی این گونه در ایران و ترکمنستان بوده و در ایران نیز به نواحی دشتی و دامنه‌ای سواحل دریای خزر از گیلان تا گرگان محدود می‌شود (Mozaffarian, 2005).

گونه *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh نیز یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس اکالیپتوس است که در شرایط آب و هوایی مختلف و در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری رشد می‌کند (Assareh & Sardabi, 2008). گسترده‌ترین جایگاه طبیعی این گونه در طول سواحل و جلگه‌های سیلابی گسترش یافته رودخانه Murray darling در جنوب غربی استرالیا است و در اغلب نقاط ایران به جز مناطق سردسیر کاشته شده است. این گونه یکی از پرگستره‌ترین گونه‌های درختی است که برای کشت و کار در زمین‌های بیابانی و نیمه‌بیابانی استفاده می‌شود. کشت موفقیت‌آمیز این گونه به عنوان یک گونه وارداتی و به منظور تولید چوب در زمین‌های خشک غیر حاصلخیز، به خاطر تحمل به خشکی و دمای بالا همراه با رشد سریع در هنگام دسترسی به آب، ریشه‌های جذب‌کننده عمیق، مقاومت به شرایط غرقابی دوره‌ای و شوری خاک و نیز توانایی تولید شاخه‌های جوانه‌زاد و چوب مناسب است (Assareh & Sardabi, 2008).

از جمله تحقیقات انجام شده در خصوص اثر نانوذرات بر رشد و فیزیولوژی گونه‌های چوبی می‌توان به تحقیق Ghadiri و همکاران (۲۰۱۴) اشاره کرد که تأثیر

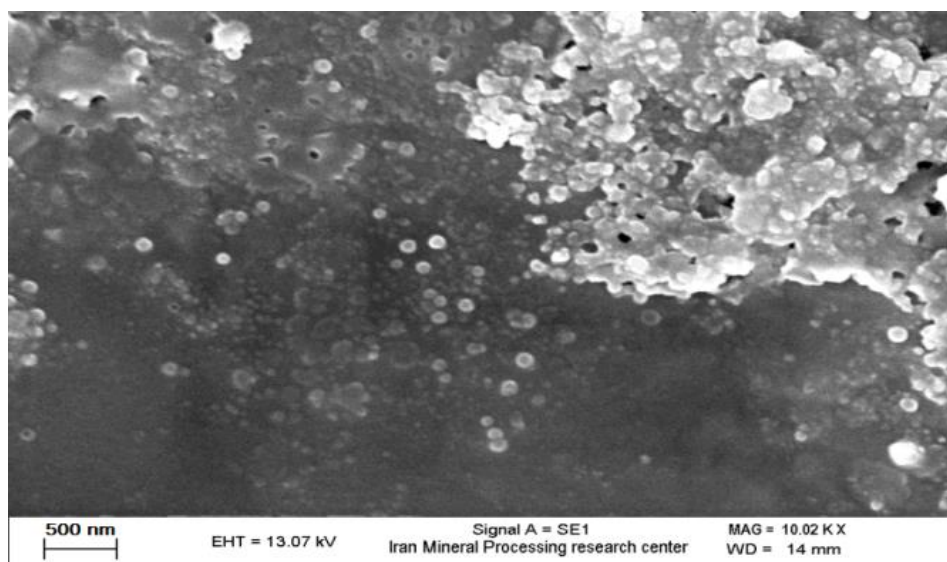
۲.۲. سنتز نانو ذرات سولفید کادمیوم

برای سنتز نانو ذرات سولفید کادمیوم، ابتدا نیترات کادمیوم و سولفید سدیم در آب دیونیزه حل گردید و محلول شفاف به دست آمد که با استفاده از قیف محلول به درون بالون انتقال یافت. در ادامه محلول نیترات کادمیم به صورت قطره قطره با فاصله زمانی مشخص به آرامی بر روی محلول سولفید سدیم اضافه شد. رسوب‌های به دست آمده دو مرتبه با آب دیونیزه شستشو داده شد. در نهایت رسوب به دست آمده به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس به مدت ۴ ساعت در کوره در دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. بعد از سنتز نانوذرات، ۱ گرم از آن درون ۱۰ میلی‌لیتر محلول سیترات سدیم یک مولار قرار گرفته و به مدت نیم ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. بعد از انکوباسیون، نانوذرات با کمک سانتریفوژ جدا و سپس با آب مقطر شستشو داده شد (Oughton *et al.*, 2008).

۳.۲. آماده‌سازی محلول نانوذرات سولفید

کادمیوم

به منظور جلوگیری از کلوخه شدن نانوذرات و ایجاد پایداری آن‌ها روش‌های مختلفی وجود دارد که از جمله آن‌ها استفاده از سورفاکتانت‌ها و قرار دادن محلول در دستگاه اولتراسونیک قابل ذکر است. در این تحقیق از سیترات به عنوان سورفاکتانت استفاده شد. بعد از اعمال سورفاکتانت محلول به مدت بیش از نیم ساعت در دستگاه اولتراسونیک برای تثبیت پایداری و جلوگیری از کلوخه شدن قرار گرفت. جهت اطمینان از تولی نانوذره از تصاویر میکروسکوپ الکترونی استفاده شد. شکل ۱ تصویری از نانوذرات سولفید کادمیوم که با میکروسکوپ الکترونی رویی‌گری گرفته شده را نشان می‌دهد. همان‌طور که دیده می‌شود شکل این نانوذرات بیشتر کروی بوده و سایز آن‌ها حدوداً بین ۵۰ تا ۱۰۰ نانومتر است.



شکل ۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی از نانوذرات سولفید کادمیم

۴.۲. اعمال تیمار

پس از تهیه تعداد کافی نهال از دو گونه، تعداد ۳۶ اصله نهال همگن از نظر ابعاد برای هر گونه انتخاب و به

صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار کاشته شدند. در این پژوهش غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانو سولفید کادمیم از

تشکیل شد. از لایه فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود به منظور اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده گردید. برای این منظور از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ استفاده و مقدار آن محاسبه شد (Bates et al., 1973).

۲.۷ اندازه‌گیری قندهای محلول

به منظور بررسی قندهای محلول، ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد به ۰/۱ گرم ماده خشک برگ هر دو گونه اضافه و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد. پس از گذشت این مدت، یک میلی لیتر از محلول روپین برداشته و یک میلی لیتر فنل ۵٪ اضافه کرده و کاملاً به هم زده شد. سپس پنج میلی لیتر سولفوریک اسید غلیظ اضافه شد. محلول فوق تا ۱۰ برابر رقیق گردید. پس از گذشت مدت زمان اندک و بازگشت محلول به دمای اتاق، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر غلظت قندهای محلول در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شده و سپس با کمک منحنی استاندارد گلوکز، میزان تغییرات قندها ارزیابی گردید (Kochert, 1975).

۲.۸ اندازه‌گیری مالون دی آلدید

برای اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدید ابتدا ۵۰ سی سی آب مقطر به ۰/۵ گرم بلور تری کلرواستیک اسید اضافه شد. سپس پنج میلی لیتر از ماده فوق با ۰/۲۵ گرم برگ گیاه ساییده شده مخلوط گردید. مخلوط فوق به مدت پنج دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰ قرار داده شد. در این مرحله ۲۰ میلی لیتر آب مقطر به چهار گرم بلور تری کلرواستیک اسید اضافه و با ۰/۱ گرم تیوباریوتیک اسید کاملاً حل شد. در مرحله بعد ۲ میلی لیتر از محلول فوق با یک میلی لیتر از محلول حاوی عصاره برگ سانتریفیوژ شده مخلوط و ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده و پس از گذشت ۱۵ دقیقه بلافاصله به حمام یخ منتقل گردید. پس از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ مجدد، مقدار مالون در دو طول ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (Heath & Packer, 1968).

طریق آبیاری سه روز یک بار به مدت یک ماه اعمال گردید. پس از گذشت این مدت نمونه‌های برگ، اندام هوایی و ریشه هر دو گونه در تیمارهای مختلف برداشت و جهت انجام اندازه‌گیری مشخصات فیزیولوژیکی به آزمایشگاه منتقل شدند.

۲.۵ اندازه‌گیری مقدار جذب کادمیم توسط

گیاهان

با توجه به تیمارهای مورد نظر، نمونه‌های از دو گیاه مورد مطالعه به آزمایشگاه منتقل گردید و پس از شستشوی آن‌ها توسط آب مقطر نمونه‌ها خشک گردیدند. سپس نمونه‌های خشک شده توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل شد. از هر نمونه مورد مطالعه به مقدار یک گرم برداشت شد و در بالن‌های ۱۰۰ میلی لیتری ریخته شد. سپس با اضافه کردن اسید نیتریک، به منظور حذف بخارات اسیدی نمونه‌ها تحت حرارت قرار داده شدند. سپس محلول حاصل را از کاغذ صافی عبور داده و محلول را به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. در پایان مقدار کادمیم با استفاده از دستگاه جذب اتمی مورد بررسی قرار گرفت.

۲.۶ اندازه‌گیری پرولین

به منظور اندازه‌گیری مقدار پرولین، ۰/۵ گرم بافت تر برگ هر یک از گونه‌ها در ۱۰ میلی لیتر اسیدسولفوریک ۳٪ ساییده و مخلوط یکنواختی به دست آمد. پس از عبور دادن عصاره از کاغذ صافی، دو میلی لیتر از محلول حاصله با دو میلی لیتر معرف نین هیدرین و دو میلی لیتر اسید استیک مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای ۹۷ درجه سانتی گراد داخل دستگاه بن ماری قرار داده شد. پس از این مدت، به منظور اتمام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی محلول به مدت نیم ساعت در حمام یخ قرار داده شدند. پس از بازگشت دمای لوله‌ها به دمای اتاق، چهار میلی لیتر تولوئن اضافه و لوله‌ها به خوبی تکان داده شد. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها پس از مدتی دو لایه کاملاً مجزا

۹.۲. اندازه‌گیری کلروفیل

به منظور اندازه‌گیری غلظت کلروفیل و کارتنوئید برگ گونه‌های مورد نظر از روش (lichtenthaler (1987) استفاده شد. با تبعیت از این روش، ۰/۲ گرم از بافت تر برگ از هر گونه وزن و رنگیزه‌های آن توسط استون ۸۰ درصد استخراج گردید. سپس مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در سانتیفریژ دور ۳۵۰۰ قرار داده شد. سپس در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ مقدار کارتنوئید، کلروفیل b و کلروفیل a (برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به ترتیب قرائت و مقدار کلروفیل کل محاسبه شد.

۱۰.۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها

ابتدا به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده و در صورت لزوم تبدیل‌های لازم انجام شد. همچنین همگنی واریانس‌ها با آزمون لیون بررسی گردید. برای بررسی معنی‌دار بودن اختلافات از آزمون تجزیه واریانس استفاده شد. جهت مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون‌های دانکن (برای دسته‌بندی) و دانت (برای مقایسه با شاهد) استفاده شد. آنالیزهای آماری با نرم‌افزار SPSS 21 انجام شد. لازم به ذکر است که نهال‌های دو گونه مورد بررسی در تیمارهای شاهد

اختلاف زیادی از نظر صفات مورد مطالعه داشتند. به همین خاطر و برای این که امکان مقایسه دو گونه به صورت صحیح فراهم شود، برای هر صفت مقادیر به دست آمده در تیمارهای ۲۰ و ۸۰ میلی‌گرم به مقدار تیمار شاهد در همان تکرار تقسیم شده و این کار برای هر گونه جداگانه انجام شد. به این ترتیب اختلافات اولیه خنثی و اعداد به مبنای یکسان برای تجزیه و تحلیل بکار برده شد. در واقع در این تحقیق نسبت مقادیر صفات در تیمارها به شاهد همان گونه مورد آنالیز قرار گرفته و تفسیر نتایج نیز بر همین اساس انجام شده است.

۳. نتایج

در بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داده شد که مقدار جذب کادمیم در گونه‌های اکالیپتوس (۱۵۲/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) دارای اختلاف معنی‌داری با لیلکی (۵۰/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) است. همچنین بخش‌های ریشه و اندام هوایی نیز در این بررسی دارای اختلاف معنی‌داری بودند. مقایسه میانگین مقدار جذب در تیمارهای مختلف نشان داد که تیمارهای ۲۰ و ۸۰ میلی‌گرم دارای اختلاف معنی‌داری با شاهد هستند (جدول ۱).

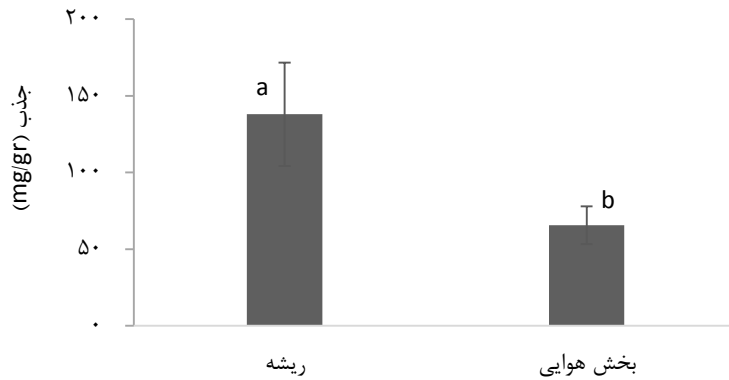
جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس صفات جذب نانوذره

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
گونه	۱	۹۳۳۱۵/۴۸۵ ^{**}
نانوذره	۲	۶۵۴۴۰/۳۵۶ ^{**}
بخش	۱	۴۷۱۷۹/۸۲۲ ^{**}
گونه×نانوذره	۲	۶۸۸۰/۲۳۰ ^{Ns}
بخش×نانوذره	۲	۱۸۳۲۴/۱۷۸ [*]
بخش×گونه	۱	۱۳۹۶۱/۹۸۳ ^{Ns}
بخش×گونه×نانوذره	۲	۳۷۱۰/۴۷۷ ^{Ns}
خطا	۲۴	۴۱۱۳/۴۷۷

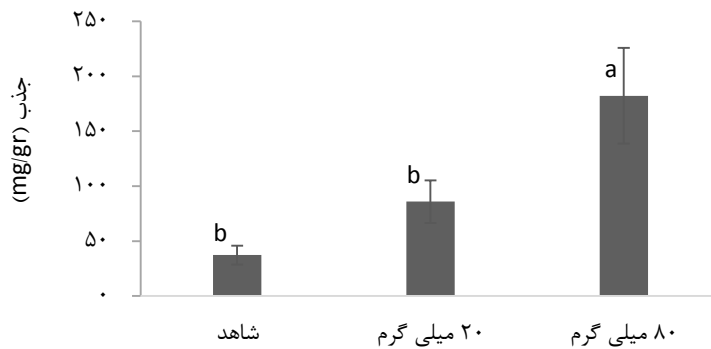
** و ***: به ترتیب معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد Ns: غیر معنی‌دار

تیمار ۸۰ میلی گرم و کمترین آن در گروه شاهد دیده شد. همچنین اکالیپتوس در مجموع مقادیر بیشتری از نانوذرات را نسبت به لیلکی جذب کرد.

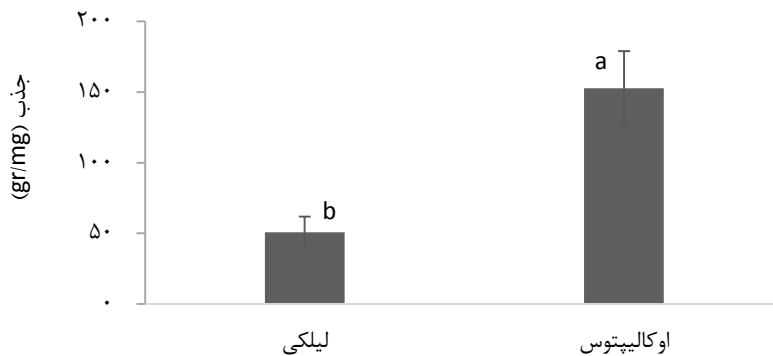
نتایج مقایسه میانگین‌ها برای مقدار جذب نانوذره در شکل‌های ۲ الی ۴ ارائه شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، تجمع نانوذرات در ریشه بیش از بخش هوایی (ساقه و برگ) بوده است. بیشترین جذب مطابق انتظار در



شکل ۲. مقایسه میانگین مقدار جذب کادمیم در ریشه و بخش هوایی



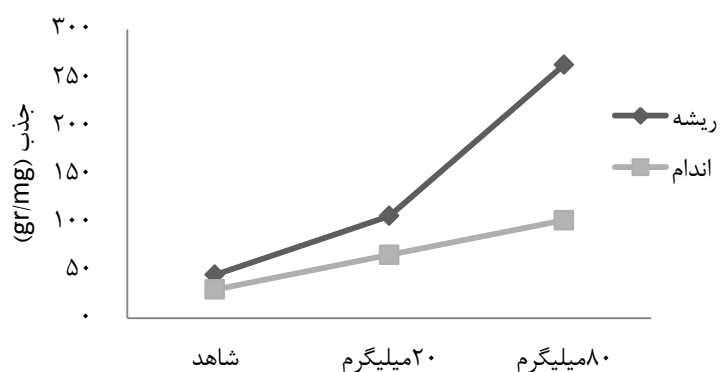
شکل ۳. مقایسه میانگین مقدار جذب کادمیم در تیمارهای اعمال شده



شکل ۴. مقایسه میانگین مقدار جذب کادمیم در گونه‌های مورد مطالعه

به طوری که با وجود روند مشابه افزایش جذب، واکنش ریشه در غلظت ۸۰ شدیدتر بوده است.

نمودار اثرات متقابل اندام و تیمار (شکل ۵) نشان می‌دهد که اختلاف در واکنش دو بخش وجود داشته



شکل ۵. نمودار اثر متقابل بخش و تیمار در مقدار جذب

بود که نشان می‌دهد دو گونه به نحو متفاوتی در تولید پرولین تحت تنش نانوذره عمل می‌کنند. از نظر میزان قندهای محلول اختلاف معنی‌داری بین دو گونه لیلکی و اکالیپتوس و غلظت‌های مختلف نانوذره وجود داشته و اثر متقابل نیز معنی‌دار بود. اما از نظر تولید مالون‌دی‌آلدئید اختلاف معنی‌داری بین دو گونه وجود نداشت. همچنین اثر نانوذره و اثر متقابل گونه و نانوذره در سطح پنج درصد معنی‌دار نبود (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس همچنین نشان داد که از نظر کلروفیل کل دو گونه مورد مطالعه دارای اختلاف معنی‌داری هستند اما تیمارهای اعمال شده نانوذره دارای اختلاف معنی‌داری با شاهد نیستند. اثر متقابل نیز دارای اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۲).

نتایج نشان داد که از نظر مقدار پرولین، اختلاف معنی‌داری بین دو گونه اکالیپتوس و لیلکی وجود دارد. همچنین بین تیمارهای نانوذره و شاهد اختلافات معنی‌دار بوده است. اثر متقابل گونه و تیمار نیز معنی‌دار

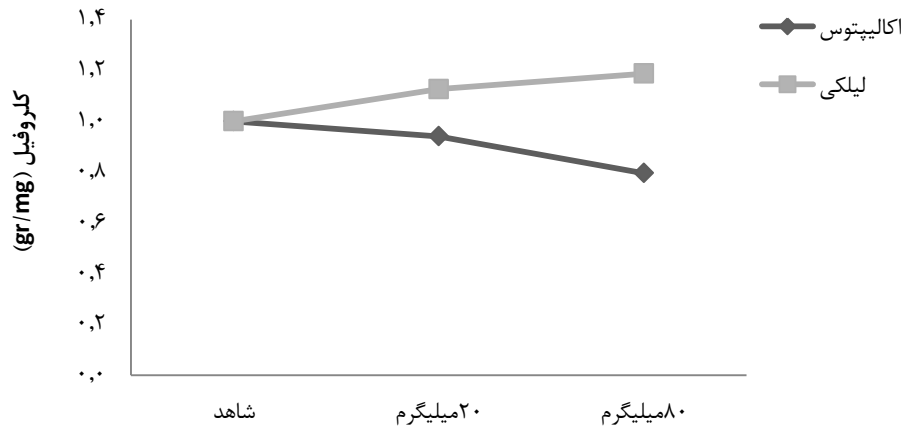
جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس صفات پرولین، قند محلول و مالون-دی‌آلدئید

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کلروفیل	پرولین	قند محلول
بلوک	۲	۰/۰۱۹*	۰/۰۳۱	۰/۰۲۵
گونه	۱	۰/۱۶۷***	۱/۳۷۳**	۰/۰۰۱ns
نانوذره	۲	۰/۰۰۳ ^{ns}	۲/۴۱۶**	۰/۱۶۱*
گونه×نانوذره	۲	۰/۰۵۸***	۰/۵۷۵*	۰/۱۹۸**
خطا	۱۰	۰/۰۰۳	۰/۰۸۵	۰/۰۲۵
مالون دی-آلدئید				۰/۷۲۵

و*: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد ns: عدم وجود اثر معنی‌دار

مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت نانوذره در گیاه لیلکی میزان کلروفیل کل افزایش می‌یابد در صورتی که این روند در گیاه اکالیپتوس متفاوت است. به گونه‌ای که میزان کلروفیل کل در غلظت‌های ۲۰ و ۸۰ میلی‌گرم روند کاهشی را دنبال می‌کند.

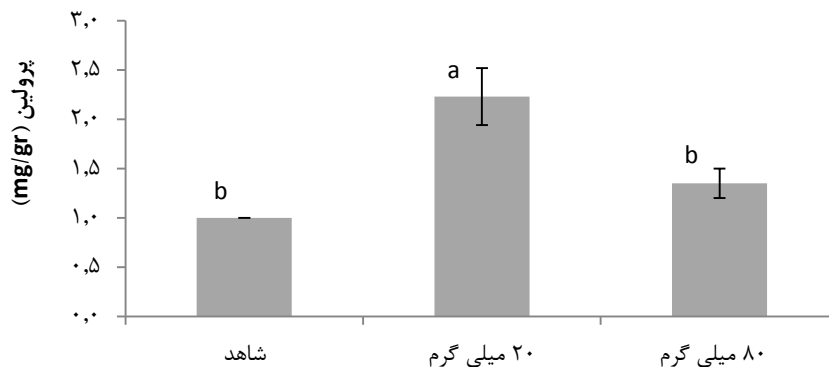
مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کلروفیل کل گونه لیلکی دارای اختلاف معنی‌داری با اکالیپتوس است و لیلکی از اکالیپتوس بالاتر بود. در مقایسه تیمارهای مورد مطالعه با شاهد هیچ یک از تیمارها از نظر کلروفیل کل دارای اختلاف معنی‌داری با شاهد نبودند. در شکل ۶



شکل ۶. اثر متقابل نانوذره و گونه در کلروفیل کل

با شاهد دارد در حالی که اختلاف تیمار ۸۰ میلی‌گرم با شاهد معنی‌دار نبود. همچنین تیمارهای ۲۰ و ۸۰ اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (شکل ۷).

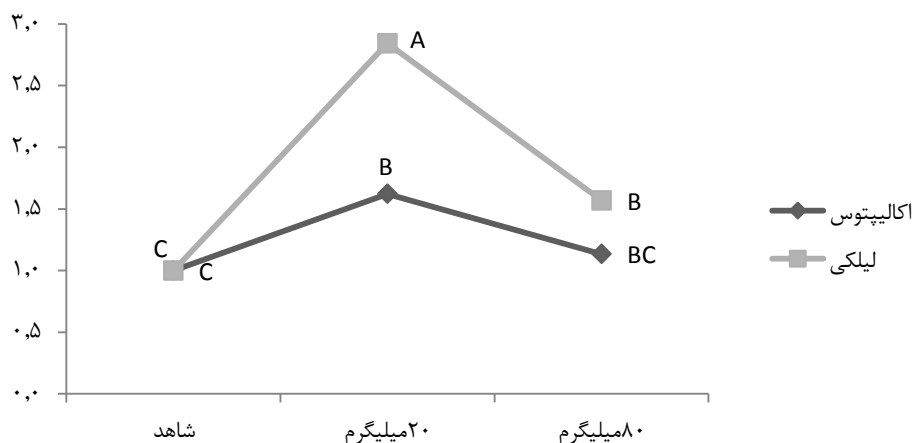
مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان پروتئین در گونه لیلکی اختلاف معنی‌داری با اکالیپتوس داشته و از آن بالاتر است. مقایسه تیمارهای نانوذره با شاهد نشان داد که تیمار ۲۰ میلی‌گرم از نظر پروتئین اختلاف معنی‌داری



شکل ۷. مقایسه میانگین پروتئین تیمارهای مورد مطالعه

کادمیم، پرولین را افزایش داده اما در غلظت بالا این افزایش کمتر بوده است. اکالیپتوس در غلظت ۲۰ میلی گرم پرولین خیلی کمتری تولید کرده است.

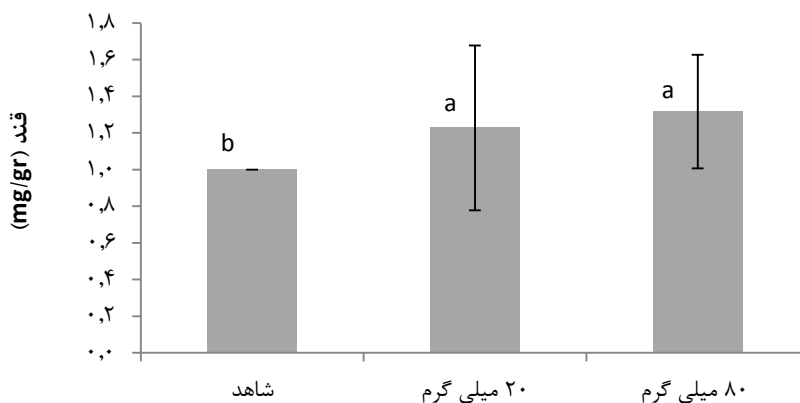
نمودار اثرات متقابل گونه و نانوذره برای میزان پرولین در شکل ۸ مشاهده می شود. آن چنان که مشخص است عملکرد دو گونه نسبت به تنش در سطوح مختلف غلظت نانوسولفید کادمیم متفاوت است. لیلکی با افزایش غلظت



شکل ۸. نمودار اثرات متقابل گونه و نانوذره در تولید پرولین

۸۰ میلی گرم نیز در مقایسه با شاهد دارای اختلاف معنی داری بوده اما دو تیمار ۲۰ و ۸۰ میلی گرم اختلافی نداشتند (شکل ۹).

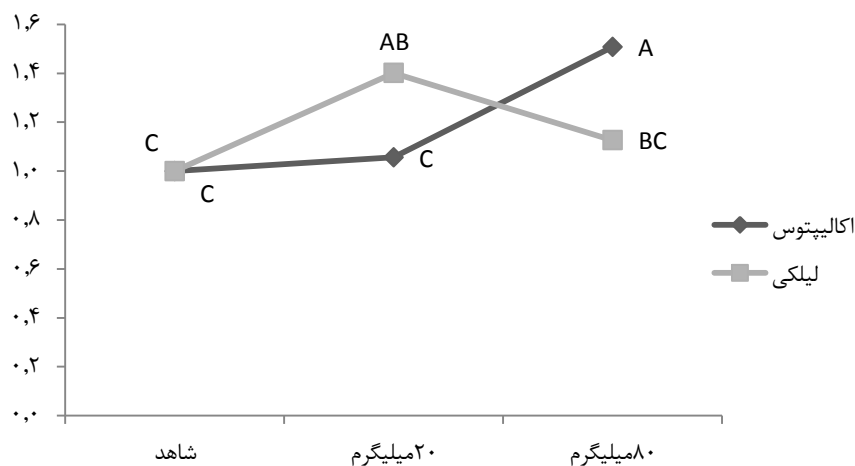
نتایج نشان داد که میزان قند در گونه اکالیپتوس اختلاف معنی داری با لیلکی داشته و کمتر از آن است. در مقایسه تیمارهای نانوذره مشخص شد که تیمار ۲۰ میلی گرم اختلاف معنی داری با تیمار شاهد دارد. تیمار



شکل ۹. نمودار مقایسه میانگین قند بین تیمارهای نانوذره

میلی گرم گونه لیلکی افزایش زیادی نسبت به شاهد داشته در حالی که در اکالیپتوس این افزایش خیلی محسوس نبوده است.

همان گونه که در شکل ۱۰ ملاحظه می شود واکنش دو گونه در سطح ۸۰ میلی گرم کاملاً متفاوت بوده و گونه لیلکی روند کاهشی داشته در صورتی که اکالیپتوس روند افزایشی را دنبال کرده است. همچنین در غلظت ۲۰



شکل ۱۰. نمودار اثر متقابل گونه و نانوذره در تولید قند محلول (میلی گرم بر گرم ماده خشک)

گیاه اکالیپتوس گیاه مناسبی برای جمع کنندگی کادمیم تا مقیاس حداقل ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر است. در این پژوهش مقدار کلروفیل کل در گیاه اکالیپتوس در غلظت‌های مختلف نانو سولفید کادمیم کاهش یافت. در پژوهشی مشابه که توسط سلطانی و همکاران (۱۳۸۵) بر روی اثر کادمیم در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی انجام شد، غلظت ۲۰۰ میکرومولار کادمیم اثر چندانی در کلروفیل دیده نشد، اما با افزایش غلظت مقدار کلروفیل نیز کاهش چشم‌گیری را نشان دادند. در پژوهش John و همکاران (۲۰۰۹) نیز در شرایط تحت تنش کادمیم و سرب مقدار کلروفیل به نسبت کاهش یافت که این کاهش کلروفیل به مهار برخی آنزیم‌ها از جمله دهیدراتاز ربط داده شد. ایجاد اختلال در مراحل مختلف سنتز کلروفیل به وسیله فلزات سنگین از دلایل اصلی کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان تحت تیمار عناصر سنگین است (Manio et al., 2003).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان مالون دی-آلدئید در گونه لیلکی اختلاف معنی‌داری با اکالیپتوس ندارد اگرچه مقدار آن در اکالیپتوس بیشتر بود. مقایسه تیمارهای نانوذره با شاهد نشان داد که هیچ یک از تیمارهای ۲۰ و ۸۰ میلی گرم از نظر مالون دی آلدئید دارای اختلاف معنی‌داری نیستند.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت مقدار نانوذرات مقدار انباشتگی این ماده در بخش‌های مختلف هردو گیاه به طور معنی‌داری افزایش یافت. در این بررسی مقدار جذب ریشه در هر دو گونه با وجود تفاوت در روند تغییرات، بیشتر از اندام هوایی بود. همچنین میزان جذب در گونه اکالیپتوس بیشتر از لیلکی بوده است. در تحقیق دیگر که توسط شریعت و همکاران (۱۳۸۹) انجام شد مشخص شد که

اکالیپتوس افزایش یافت. در گونه لیلکی تفاوت معنی داری بین غلظت ۲۰ میلی گرم و شاهد دیده شد اما در غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر با وجود افزایش قندهای محلول به نسبت شاهد، تفاوت معنی داری دیده نشد. در پژوهش John و همکاران (۲۰۰۹) که تیمارهای مختلف کادمیم مورد بررسی قرار گرفتند نیز مشخص شد که در غلظت‌های زیر ۳۰ میلی گرم بر لیتر، میزان قندهای محلول ابتدا افزایش یافته ولی در غلظت‌های بالاتر مقدار آن کاهش پیدا می‌کند. علت کاهش در غلظت‌های بالاتر احتمالاً کاهش فتوسنتز و یا تحریک سرعت تنفس باشد (Ahmad et al., 2006). همچنین در گیاه اکالیپتوس با افزایش مقدار غلظت به میزان ۲۰ میلی گرم بر لیتر افزایش معنی داری دیده نشد اما با افزایش به غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر افزایش معنی داری در مقدار قندهای محلول دیده شد.

وجود یون کادمیم در سیتوسول سلول‌های برگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده قندهای غیرمحلول و اسید اینورتاز و سوکروز می‌شود (Sanita & Gabbrielli., 1999). گیاه با افزایش قندهای محلول در شرایط تنش علاوه بر حفظ پتانسیل اسمزی قادر خواهد بود تا ذخیره کربوهیدراتی خود را برای متابولیسم پایه سلولی در حد مطلوب نگه دارد (Dubey & Singh, 1999). افزایش کربوهیدرات به عنوان یک پیام متابولیکی عمل می‌کند و موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به دفاع و کاهش فتوسنتز می‌شود. به عنوان مثال قند هگزوز در خاموش کردن ژن‌های فتوسنتز نقش دارد.

در این پژوهش دو گونه اکالیپتوس و لیلکی اختلاف معنی داری از نظر تولید مالون دی-آلدئید نداشتند و هر دو روند یکسانی را در سطوح مختلف نانوذره دنبال کردند. البته نانوذره سولفید کادمیم با دو غلظت ۲۰ و ۸۰ میلی گرم باعث افزایش مقدار مالون دی-آلدئید گردید اما اختلافات از نظر آماری معنی دار نبودند. در اغلب تحقیقات با افزایش غلظت فلز، میزان مالون زیاده‌تر شده

در این پژوهش میزان کلروفیل در گیاه لیلکی نسبت به شاهد افزایش یافت. نتایج آزمایش Nikolic و همکاران (۲۰۰۸) بر روی هیبریدهای تبریزی نیز نشان داد که افزایش کادمیم موجب افزایش کلروفیل b می‌شود. محققین علت این امر را اثر تحریک جذب آهن توسط کادمیم می‌دانند. کادمیم در برخی گونه‌ها و بسته به غلظتی که دارد، ممکن است باعث افزایش میزان جذب آهن در گیاه شده و به سنتز کلروفیل کمک کند.

نتایج تحقیق حاضر بیانگر این بود که در هر دو گونه اکالیپتوس و لیلکی، غلظت‌های ۲۰ و ۸۰ میلی گرم نانوذره سولفید کادمیم باعث افزایش تجمع پرولین نسبت به شاهد می‌شوند. البته در غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر تفاوت با شاهد معنی دار نبود. ممکن است دلیل این رفتار را به این صورت توضیح داد که نانوذره سولفید کادمیم به طور غیر مستقیم تنش خشکی در گیاه ایجاد کرده و گیاه برای تنظیم اسمزی اقدام به تولید پرولین نموده اگرچه ممکن است این ماده در حفاظت گیاه و میزان آنتی اکسیدان نیز نقش داشته باشد. در پژوهشی که توسط John و همکاران (۲۰۰۹) بر روی *Brassica juncea* و به منظور بررسی اثرات کادمیم انجام شد، مقدار پرولین ابتدا افزایش و سپس در غلظت‌های بالا کاهش یافت که با نتایج تحقیق حاضر شباهت دارد. در تحقیق (Nedjimi and Daud, 2009) نیز مشخص شد که کادمیم باعث افزایش میزان پرولین در گیاه *Atriplex halimus* می‌شود. میزان پرولین در ریشه و ساقه این گیاه با افزایش میزان کادمیم در مواد غذایی به طور معنی داری افزایش نشان داد. به طور کلی چهار دلیل برای افزایش تجمع پرولین در حین تنش پیشنهاد شده است که عبارتند از تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک، کاهش صادرات آن از طریق آوند آبکش، جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش و تخریب و اختلاف در فرایند پروتئین (Shariat et al., 2010).

در این تحقیق با افزایش غلظت نانوذره سولفید کادمیم، میزان قندهای محلول در دو گونه لیلکی و

مرگ سلولی می‌گردد (Poorakbar, 2012). به‌طور کلی با افزایش میزان نانوذرات سولفید کادمیم تا ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، مقدار پرولین و قندهای محلول در هر دو گونه لیلکی و اکالیپتوس به طور معنی‌داری افزایش یافت. نظر به اهمیت آلودگی‌های نانوتکنولوژی و عوارض آن بر روی انسان و محیط زیست بررسی گونه‌های مقاوم به آلودگی‌های ناشی از این تکنولوژی ضروری است. طبق شرایط این آزمایش، گیاه لیلکی در مناطق آلوده به نانوذره سولفید کادمیم برای فضای سبز مناسب‌تر است اما تحقیقات بیشتر بر روی گیاهان بالغ از این گونه لازم است. از طرفی گیاه اکالیپتوس مناسب کاشت در خاک‌های آلوده به نانوذره سولفید کادمیم نیست. بنابراین پیشنهاد می‌شود از این گونه برای ایجاد فضای سبز در این مناطق استفاده نشود. همچنین بررسی سایر فاکتورها از جمله نشاسته و آنزیم‌ها می‌تواند به تکمیل نتایج این پژوهش کمک کند.

که از جمله می‌توان به تحقیق Gosh و همکاران (۲۰۱۰) در مورد *Nicotiana tabacum* و *Alilium capa* با اعمال دراکسید تیتانیوم و همچنین تحقیق Qinghua و Zhujum (۲۰۰۸) روی گیاه چای با استفاده از منگنز اشاره کرد. مالون دی-آلدهید یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی است که به عنوان شاخص آسیب‌های اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود (Monni et al., 2000). پراکسیداسیون لیپیدها تأثیرات مخربی بر روی غشاء سلول و ساختار غشاء دارد. اکسیژن‌های فعال می‌توانند با اسیدهای چرب غیر اشباع واکنش نشان دهند که باعث پراکسیداسیون لیپیدهای ضروری در غشاء سلول و اندامک‌ها می‌گردند. پراکسیداسیون لیپیدی با استرس‌های اکسیداتیو مرتبط بوده و شامل شکسته شدن تمامیت غشاهای بیولوژیکی، عملکردی و ساختاری است که باعث افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی می‌شود که نشت یون K^+ و سایر محلول‌ها مثل قندهای محلول را در پی داشته و نهایتاً منجر به

References

- Ahmad, P., Sharma, S., Srivastava, P.S., 2006. Differential physio-biochemical responses of high yielding varieties of Mulberry (*Morus alba*) under alkalinity (Na_2CO_3) stress in vitro. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 12, 59–66.
- Assareh, M.H., Sardabi, H., 2008. River red gum. Research Institute of Forests and Rangelands Press, 704 p (In Persian).
- Bacon, J.R., Dinev, N.S., 2005. Isotopic characterization of lead in contaminated soils from the vicinity of a non-ferrous metal smelter near Plovdiv, Bulgaria. *Environmental Pollution* 134, 247-255.
- Dabiri, M., 1996. Environmental pollution. Etihad Press, 399 p (In Persian).
- Das, P., Samantaray, S., Rout, G.R., 1997. Studies on Cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution* 98, 29-36.
- Dubey, R.S., Singh, A.k., 1999. Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolizing enzyme in rice plants. *Plant Biology* 42, 233-239.
- European Chemicals Agency (ECHA), 2015. Assessment weather the use of cadmium and its compounds in plastic materials not covered by entry 23 of reach annex XVII should be restricted, Report number: XV, 93 p.
- Gao, J., Xo, G., Qian, H., Liu, P., Zhao, P., Hu, Y., 2013. Effects of nano-TiO₂ on photosynthetic characteristics of *Ulmus elongata* seedlings. *Environmental Pollution* 176, 63-70.
- Ghadirie kharzoghi, M. Bayramzadeh, B., Davoudi, M.H., 2014. The Effect of Argent nanoparticles on seed germination of *Pinus sylvestris* in soil and aqueous suspension. *Forest and wood products* 4, 375-367 (In Persian).

- Ghosh, M., Bandyopadhyay, M., Mukherjee, A., 2010. Genotoxicity of Titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles at two trophic levels: Plant and human lymphocytes. *Chemosphere* 81, 1253-1262.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S., 2009. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production* 3, 1735-8043.
- Kardigan, F., 2008. Synthesis & characterization of CdO and CdS NPs. *Indian Journal of Pure and applied physics*. 46, 561-564.
- Majid, A., Ahmad, R., Nabi, A., Shakoor, A., Hassan, N., 2012. A Density Functional Theory Study of Raman Modes of Hydrogenated Cadmium Sulphide Nanoparticles. *Nanomaterials and Nanotechnology* 2(7), 1-8.
- Manio, T., Stentiford, E.I., Millner, P.A., 2003. The effect of heavy metals accumulation on the chlorophyll concentration of *Typha latifolia* plants, growing in substrate containing sewage sludge compost and watered with metalliferous water. *Ecological Engineering* 20, 65-74.
- Monni, S., Salemaa, M., Millar, N., 2000. The tolerance of *Empetrum nigrum* to Copper and Nickel. *Environmental Pollution* 109, 221-229.
- Moor, M.N., 2006. Do nanoparticles present eco-toxicological risk for the health of the aquatic environment? *Environment International* 32, 967-976.
- Mozaffarian, V., 2005. Trees and shrubs of Iran. Farhang Moaser Press, Tehran, 990 p (In Persian).
- Nedjimi, B., Daoud, Y., 2009. Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. *Schweinfurthii* and its influence on growth, Proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. *Flora* 204, 316-324.
- Nikolic, N., Kojic, D., Pilipovic, A., Pajevic, S., Krstic, B., Borisev, M., Orlovic, S., 2008. Responses of hybrid poplar cadmium stress: Photosynthetic characteristics, cadmium and proline accumulation, and antioxidant enzyme activity, *Acta Biologica Cracoviensia Series. Botanica* 50(2), 95-103.
- Qinghua, S.H., Zhujun, Z., 2008. Effect of exogenous Salicylic acid on Manganese toxicity, element contents and anti-oxidative system in Cucumber. *Environmental and Experimental Botany* 63, 317-326.
- Oughton, D.H., Hertel-Aas, T., Pellicer, E., Mondoza, E., Joner, E.J., 2008. Neutron activation of engineered nanoparticles as a tool for tracing their environmental fate and uptake in organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 1883-1887.
- Poorakbar, L., Ebrahimzadeh, N., 2012. Growth and physiological responses of *Zea mays* L. to Cu and Ni stress. *Pajouhesh and Sazandegi* 103, 147-159 (In Persian).
- Rachel's environment health news. 2003. The revolution. Report number: 772(1), 15 p.
- Reiwerts, J., Farago, M., 1996. Heavy metal pollution in the vicinity of a secondary lead smelter in the Czech Republic. *Applied Geochemistry* 11, 17-23.
- Sanita di Toppi, L., Gabbrielli, R., 1999. Response to Cadmium in higher plants- review. *Environmental and Experimental Botany* 41, 105-130.
- Shariat, A., Assareh, M.H., Ghamari-Zare, A., 2010. Effects of Cadmium on some physiological characteristics of *Eucalyptus occidentalis*. *Journal of water and Soil Sciences* 14 (53), 145-154 (In Persian).
- Soltani, F., Ghorbanli, M., Manoucheri-Kalantari, K.H., 2006. Effect of cadmium on photosynthetic pigments, sugars and malonaldehyde content in (*Brassica napus*L.). *Iranian Journal of Biology* 19(2), 136-145 (In Persian).
- Takallo, S., Davodi, D., Omid, M., Ebrahimi, M.A., Ruzbeh, F., Rasoulnia, A.R., 2013. The effect of titanium dioxide nanoparticles on barley cytogenetical index. *Journal of Biotechnology of Agriculture* 5(1), 13-26 (In Persian).
- Wang, Z.Y., Yu, X.L., Gao, D.M., Feng, W.Q., Xing, B.S., Li, F.M., 2010. Effect of Nano- rutile TiO₂ and multi-walled carbon nanotubes on the growth of Maize (*Zea mays* L.) seedlings and the relevant antioxidant response. *Environmental Science* 31, 480-487.