Effect of Cold Atmospheric Plasma and Zinc Oxide Nanoparticles on Seedling of Wheat(Triticun aestivum L.), Cultivar Tajan

Atefe Niazi[1] ·Alireza Iranbakhsh[2] ·Mohsen Esmaeel Zadeh[3] ·Mostafa Ebadi[4] ·Zahra Oraghi Ardebili[5]

1.Department of Biology, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2.Department of Plant Biology-Physiology, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3.Institute of Seedling and Seed Improvement, Ministry of Agricultural Jihad, Karaj, Iran
4.Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
5.Department of Biology, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran.

Abstract

Aim and Background: This study was conducted to investigate the effect of zinc nanoparticles and atmospheric cold plasma on the physiological characteristics of wheat during the germination stages. According to previous studies, seed treatment with atmospheric cold plasma affects the germination rate and the morphology of plants, while the use of zinc in nano dimensions leads to increased growth rates.

Materials and Methods: In this study, the effects of different concentrations of zinc oxide nanoparticles and zinc oxide (control without treatment, 10 ppm, 25 ppm, and 50 ppm) were examined every three days, along with atmospheric cold plasma at three time points (0 seconds as control, 60 seconds, and 90 seconds) on 14-day-old wheat seedlings.

Results: According to the results obtained, plasma treatment for 90 seconds significantly increased germination-related indices but resulted in reduced root and shoot length. Additionally, treatment with zinc oxide nanoparticles at a concentration of 25 ppm showed the greatest increase in fresh and dry weight of the seedlings compared to the control.

Conclusion: Plasma treatments elevated germination indices, but the addition of zinc oxide nanoparticle solution to the plants limited this increase. Conversely, nanoparticles at the studied concentrations led to increased dry weight of the seedlings and the length of their roots and aerial parts.Considering that increased wheat seedling growth means more energy is available for root, stem, and seed development, the use of atmospheric cold plasma on wheat seeds and the treatment with zinc nanoparticles at optimal concentrations can enhance plant growth and ultimately improve crop yield.

Keywords: Wheat, Germination, Zinc Oxide Nanoparticles, Atmospheric Cold Plasma.

*Corresponding Author's:

Department of Plant Biology-Physiology, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

E-mail: iranbakhsh@iau.ac.ir

بررسی اثر تیمار پلاسمای سرد اتمسفری هوا و نانوذرهٔ اکسید روی بر دانه رُست‌های گندم (*Triticum aestivum*) رقم تجن

عاطفه نیازی[۱]، علیرضا ایرانبخش[۲*]، محسن اسماعیل‌زاده مقدم[۳]، مصطفی عبادی[۴]، زهرا اوراقی اردبیلی[۵]

۱. گروه زیست‌شناسی واحد علوم‌وتحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲. گروه زیست‌شناسی-فیزیولوژی گیاهی واحد علوم‌وتحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳. مؤسسهٔ اصلاح نهال و بذر، وزارت جهاد کشاورزی، کرج، ایران.
۴.گروه زیست‌شناسی واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.
۵. گروه زیست‌شناسی واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر نانوذرهٔ روی و پلاسمای سرد اتمسفری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکِ گندم در مراحل جوانه‌زنی انجام شد. طبق مطالعه‌های پیشین تیمارِ بذر توسط پلاسمای سردِ اتمسفری بر نرخ جوانه‌زنی و همچنین مورفولوژی گیاهان تأثیرگذار بوده و استفاده از عنصر روی در ابعاد نانو، منجر به افزایش سرعت رشد می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تأثیر غلظت‌های متفاوت نانوذرهٔ اُکسید روی و فلز اُکسید روی (شاهد بدون تیمار، ۱۰ ppm، ۲۵ ppm و ۵۰ ppm) هر سه روز یک‌بار و پلاسمای سرد اتمسفری در سه زمانِ صفر (شاهد)، ۶۰ و ۹۰ ثانیه بر دانهٔ رُست‌های گندم ۱۴ روزه بررسی شدند.

یافته‌ها: طبق نتایج به‌دست‌آمده تیمار پلاسما به‌مدت ۹۰ ثانیه شاخص‌های مربوط به جوانه‌زنی را در سطح معناداری افزایش داد اما منجر به کاهشِ طولِ ریشه و ساقه شد. همچنین تیمار نانوذرهٔ اُکسید روی با غلظت ۲۵ ppm بیشترین افزایش را نسبت به شاهد بر وزن تَر و خشک دانه‌رُست‌ها نشان داد.

نتیجه‌گیری: تیمارهای پلاسما شاخص‌های جوانه‌زنی را بالاتر برده امّا اضافه کردنِ محلول نانوذرهٔ زینک اُکسید به گیاهان، این افزایش را محدود می‌نماید و در مقابل نانوذرات در غلظت‌های موردمطالعه منجر به افزایش وزن خشک دانه‌رُست‌ها و طول ریشه و اندام هوایی آن‌ها می‌شود. با توجه به اینکه افزایش رشد جوانهٔ گندم به معنی فراهم شدن انرژی بیشتر برای رشد ریشه، ساقه و دانه است، بنابراین استفاده از پلاسمای سرد اتمسفری بر روی بذرهای گندم و همچنین تیمار نانوذرهٔ روی در غلظت‌های بهینه می‌تواند منجر به افزایش رشد گیاه و در نهایت ارتقای بازدهی محصول گردد.

واژگان کلیدی: گندم آسیابانی، جوانه‌زنی، نانوذرات اُکسید روی، پلاسمای سرد اتمسفری.

نویسنده مسئول: گروه زیست‌شناسی- فیزیولوژی گیاهی
واحد علوم‌وتحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- پست الکترونیکی:
iranbakhsh@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹

۱- مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) گیاهی است که در محیط‌های مختلف در سراسر جهان کِشت می‌شود و تقریباً ۲۰ درصد انرژی و ۲۵ درصد نیازهای پروتئینی جمعیت جهان را تأمین می‌نماید (۲۰). کشور ما از نظر شرایط اقلیمی و آب‌وهوایی در چهار اقلیم گرم‌ومرطوب سواحل خزر، گرم و خشک جنوب، معتدل و سرد تقسیم‌بندی می‌شود که در هریک از این مناطق، ارقام مختلف گندم که بیشترین سازگاری را با محیط دارند کشت می‌شوند. گندم گیاهی است که از خانوادهٔ *Poaceae*و از جنس *Tiriticum* گل‌آذینِ آن سنبله‌ای و از هر گره آن معمولاً یک سنبلچه متشکل از دو گلوم و سه گلچه به‌وجود می‌آید. با توجه به اهمیت گندم به‌عنوان یک منبع غذاییِ اساسی، هرگونه افزایش عملکرد آن می‌تواند تأثیر مستقیمی روی تأمین غذایی جامعه داشته باشد؛ بنابراین توسعهٔ روش‌هایی برای بهبود عملکرد و افزایش برداشت گندم در سطح جهانی می‌تواند تأثیر چشمگیری داشته باشد. به همین منظور تحقیق‌های زیادی برای بهبود عملکرد گندم انجام شده است. از جمله این روش‌ها می‌توان به استفاده از نوعی بذر بهتر اصلاح‌شده، بهبود روش‌های آبیاری، استفاده از مواد آلی برای بهبود خاک، استفاده از کودهای اُرگانیک و ... اشاره نمود. افزایش عملکرد گندم می‌تواند باعث کاهش هزینه‌های تولید شود. با افزایش عملکرد گندم می‌توان از پیشرفت و توسعهٔ صنعت کشاورزی حمایت کرد. کودِ رویْ از جمله استراتژی‌های موفقیت‌آمیز برای بهبود غلظت رویْ در دانهٔ گندم بوده است (۷). یون‌های Zn دارای تأثیرهای گوناگون مفید و مضر در سلول‌های گیاهی هستند. این تأثیرها در فرایندهای متابولیکِ بسیار مانند فعالیت آنزیمی نظیر RNA پلیمرازها، سوپراُکسید دیسموتازها، الکل دِهیدروژناز، سنتز پروتئین و متابولیسم کربوهیدرات، چربی و نوکلئیک‌اسید دخیل هستند. همچنین یون‌های رویْ بخش‌های اصلیِ خانوادهٔ Zn finger فاکتورهای کنترل‌کنندهٔ تکثیر و تمایز سلولی هستند (۸). عنصر رویْ به‌عنوان فعال‌کننده و کوفاکتور برخی آنزیم‌های حیاتی گیاه از جمله کربونیک‌آنیدرازها، دِهیدروژنازها، فسفاتازها، پلیمرازها در متابولیسم پروتئین ها، قندها، RNA فسفولیپازها و اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها، فتوسنتز گیاه و بیوسنتز اُکسین به‌عنوان یک هورمون محرّک رشد ایفای نقش می‌کند (۲۱).

جوانه‌زنی به‌عنوان اولین مرحلهٔ نموی گیاه، یکی از مراحل مهم و حسّاس در چرخهٔ زیستیِ گیاهان و یک فرایند کلیدی در سبز شدن گیاهچه است. رشد قوی جوانه به‌معنی فراهم شدن انرژی بیشتر برای رشد ریشه، ساقه و دانه است. همچنین اغلب با توسعهٔ یک سیستم ریشهٔ قوی‌تر همراه بوده و این ریشهٔ قوی‌تر، جذب آب و مواد مغذی را بهبود می‌بخشد، رشد رویشی و زایشیِ گیاه را تقویت می‌کند که در نتیجه به سازگاری گیاه در شرایط سخت مانند خشک‌سالی یا شوری کمک می‌کند. یکی از راه‌های افزایش جوانه‌زنی استفاده از روش پِرایمینگ بذر است. اخیراً، پلاسمای سرد فشارِ اتمسفر (APCP) توجه گستردهٔ دانشمندان را به‌خود جلب کرده است. به‌دنبال توسعهٔ شدید پزشکی پلاسما، شاخهٔ کشاورزیِ پلاسما از جمله استریل کردن بذر، کنترل بیماری‌های گیاهی، بهبود جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه و افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های مختلف نیز به‌سرعت درحال ظهور است (۲۳).

علم نانو مطالعهٔ مواد، در مقیاس تقریباً ۱ تا ۱۰۰ نانومتر و همین‌طور تولید و کاربرد ابزارها و سیستم‌های کنترل در مقیاس نانو است (۱۳). در این مقیاس خصوصیات قابل‌توجه مواد از جمله واکنش‌پذیری و هوشمندی مشاهده می‌شود که دلیل اصلی آن سطح ویژهٔ بالا در این مقیاس می‌باشد (۱۹). تحقیق ها اثرهای مثبت و منفی این ذرات را روی رشدونمو گیاهی گزارش می‌کنند که حاکی از فشردگی یا پیچیدگی طرح و ساخت نانوذرات است (ENPs). علی‌رغم مطالعه‌های فراوانی که در مورد سمیّت نانوذرات در سلول‌های گیاهی انجام شده، مطالعه‌های کمّی در مورد مکانیسم‌هایی که نانوذرات اثرهای خود را در رشدونمو گیاهان از آن طریق اعمال می‌کنند صورت گرفته است.

با توجه به نقش عمدهٔ گندم به‌عنوان یک گیاه استراتژیک و نیاز به افزایش تولید و افزایش کیفیت ریزمغذی‌ها در دانهٔ این گیاه، اصلاح روش‌های کِشت و یافتن راه‌کارهایی برای مقابله با خشکیِ خاک و از بین رفتن محصولات در معرض این تنش ضروری می‌نماید. پس در این تحقیق به‌منظور ارتقای میزان رشد دانه‌رُست‌های گندم از تکنولوژی پلاسمای سرد اتمسفری و فناوری نانو (به‌شکل عنصر رویْ که موجب افزایش تحمّل گیاهان به شرایط تنش بوده و قابل‌انتقال به دانه نیز می‌باشد) استفاده شده است.

۲- مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه گندم نان، رقم تجن متعلق به تیرهٔ *Gramineae* از مؤسسهٔ اصلاح نهال و بذر کرج تهیه شده است. دستگاه DBD (مدل: ps ۲۰۰، شرکت نیک فن‌آوردان پلاسما، ایران) و پلاسما در فشار اتمسفری بین دو صفحهٔ شیشه‌ای به‌عنوان عایقی که دو الکترودِ مس صفحهٔ مدوّر قوی (شعاع cm ۵/۵) ایجاد می‌شود، شکاف بین عایق‌ها mm ۴ است، هوای اتاق به‌عنوان یک گاز کاربردی بین عایق‌ها یا جریان ۲ لیتر در هر دقیقه و ولتاژ ۱۰ کیلوولت و فرکانس ۱۰ کیلوهرتز در دو سطح ۶۰ ثانیه و ۹۰ ثانیه به‌کار گرفته شد.

۲-۱- پرایمینگ بذرها با استفاده از پلاسما و استفاده از نانوذرات اُکسید رویْ

در این مطالعه، از نانوذرهٔ اُکسید رویْ به ابعاد ۱۰-۳۰ نانومتر، با درنظر گرفتن ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات، میکروسکوپ الکترونیِ انتشار میدانی (FE-SEM)، پتانسیل زتا، طیف اسپکتروفتومتری UV-Vis، اِنکسار اشعهٔ X و طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) استفاده شده است.

بذرها به‌مدت ۴۸ ساعت از پیش خیسانده شده، سپس با پلاسما تیمار شدند. پس از تیمار پلاسما به محیط‌کشت منتقل شدند. نانوذرهٔ اُکسید رویْ در دو سطح ۰، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر و فلز اُکسید رویْ بالک به‌عنوان کنترل مثبت در دو سطح ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد و بذر بدون تیمار به‌عنوان کنترل منفی درنظر گرفته شد. تیمار هم‌زمان پلاسمای سرد (در دو گروه زمانی) اتمسفری و نانوذرهٔ اُکسید رویْ در سطوح ۰، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر به‌کار برده شد. بذر بدون تیمار به‌عنوان کنترل منفی درنظر گرفته شد. بذرها پس از استریل به کاغذ صافی‌های خیس‌شده توسط آب‌مقطر منتقل می‌شوند. سپس در دمای اتاق، بذرها با ۱۵ میلی‌لیتر محلول نانواُکسید رویْ و هوگلند تیمار شدند که این تیمارها هر سه روز یک‌بار تکرار شدند. پتری‌دیش‌ها در دمای ۲+۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و دورهٔ نوری ۸/۱۶ به‌ترتیب نور/ تاریکی که برای انجام بسیاری از واکنش‌های متابولیسمی مناسب است قرار گرفتند. بررسی‌ها در پتری‌دیش‌ها و با کاغذ صافی واتمن صورت گرفت و آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد و تیمارها در سه مرتبه تکرار گردید.

۲-۲- سنجش شاخص‌های جوانه‌زنی

بذرهای جوانه‌زده (هنگامی که ریشه‌های قابل‌مشاهده از پوستهٔ بذر خارج‌شده) و تا آخرین روز جوانه‌زنی موردبررسی قرار گرفته شد.

- برای محاسبهٔ درصد جوانه‌زنی از رابطهٔ زیر استفاده شد: (۶)

$$\frac{\text{تعداد بذرهای جوانه‌زده}}{\text{تعداد کل بذرها}} \times ۱۰۰$$

- برای تعیین سرعت جوانه‌زنی نیز از رابطهٔ زیر استفاده شد:

$$\frac{\text{تعداد بذرهای جوانه‌زده طی روزهای سوم تا هشتم کشت در هر تیمار}}{\text{(تعداد روزهای شمارش) ۶}}$$

(۱۷)

- همچنین برای تعیین شاخص ویگور از رابطهٔ زیر استفاده شد:

درصد جوانه‌زنی × طول گیاهچه

(۱)

۲-۳- سنجش وزن تر و خشک

دانه‌رُست‌های ۱۴ روزه از پتری خارج شده و پس از خشک کردن با کاغذ صافی، وزن ترِ آن‌ها به کمک ترازوی حسّاس kern اندازه‌گیری شد. دانه‌رُست‌ها به‌صورت جداگانه، برای تعیین وزن خشک نمونه‌ها در پاکت‌های کاغذی در آون Memmert مدل SLE611 با دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد تا پایان خشک شدنِ کامل نمونه‌ها (به‌مدت ۲۴ ساعت به‌علت محتوای رطوبتی پایین آن‌ها) قرار گرفته است و بعد مجدداً توزین شدند.

۲-۴- مقایسهٔ طول ساقه‌چه و ریشه‌چهٔ جوانه‌ها در گروه‌های تیماری

طول ریشه‌چه و طول اندام هوایی، ۱۴ روز پس از تیمار موردمطالعه و بررسی قرار گرفت. به این صورت که دانه‌رُست‌ها از پتری خارج شده و پس از خشک کردن با کاغذ صافی روی مقوای رنگی قرار داده و تصاویر آن‌ها را با دوربین گرفته و سپس با استفاده از برنامهٔ Digimizer اندازه‌گیری شدند.

۲-۵- آنالیزهای آماری

طراحی آزمایش تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی می‌باشد. تمام اطلاعات به‌وسیلهٔ آنالیز واریانس (ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism (V 10) موردبررسی آماری قرار گرفت. همچنین قبل از هرگونه تحلیل آماری، در ابتدا وضعیت نرمال بودن تمامی

داده‌ها توسط آزمون نرمالیتی بررسی شده و در صورت نیاز تغییر و تبدیل مناسب داده‌ها انجام شد.

برای مقایسهٔ تفاوت‌های آماری میان گروه‌های تیماری، میانگین سه تکرار مستقل، براساس تست محدودهٔ Tukey موردارزیابی قرار گرفت.

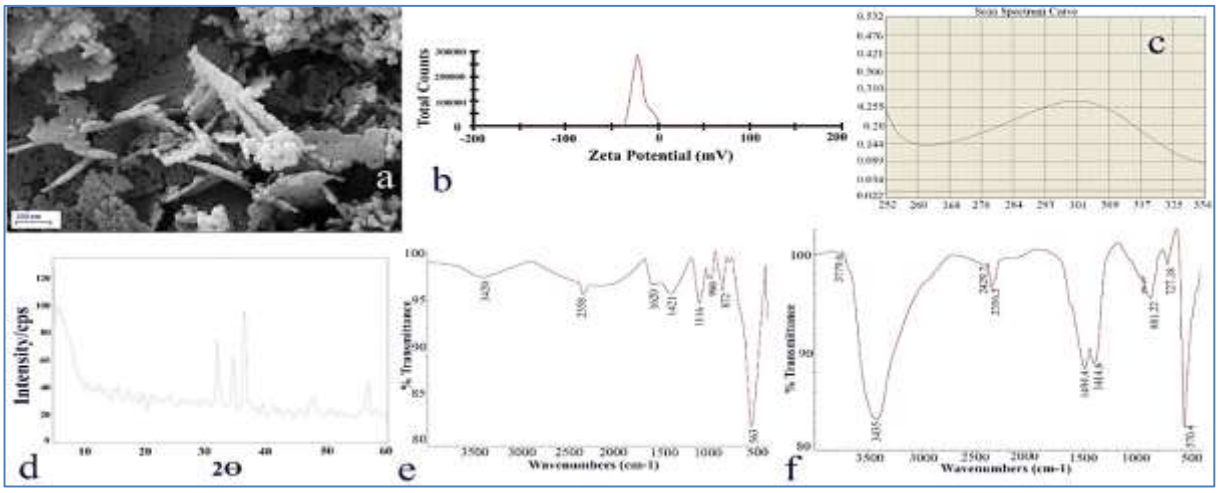
۳- نتایج

شکل ۱ تصاویر مربوط به نمودار پتانسیل زتا، طیف اسپکتروفتومتری UV-Vis (c)، اِنکسار اشعهٔ X و طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) را نشان می‌دهد. همچنین ابعاد نانوذرات رویْ با تصویربرداری توسط میکروسکوپ الکترونی انتشار میدانی (FE-SEM) ۳۰-۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

تأثیر پیش‌تیمار پلاسمای سرد (DBD) بر مورفولوژی و رشد اولیهٔ گیاهان در شرایط پتری‌دیش حاوی محلولِ غذایی هوگلند و غلظت‌های مختلف ZnO (NPs) در شکل ۲ نشان داده شده است.

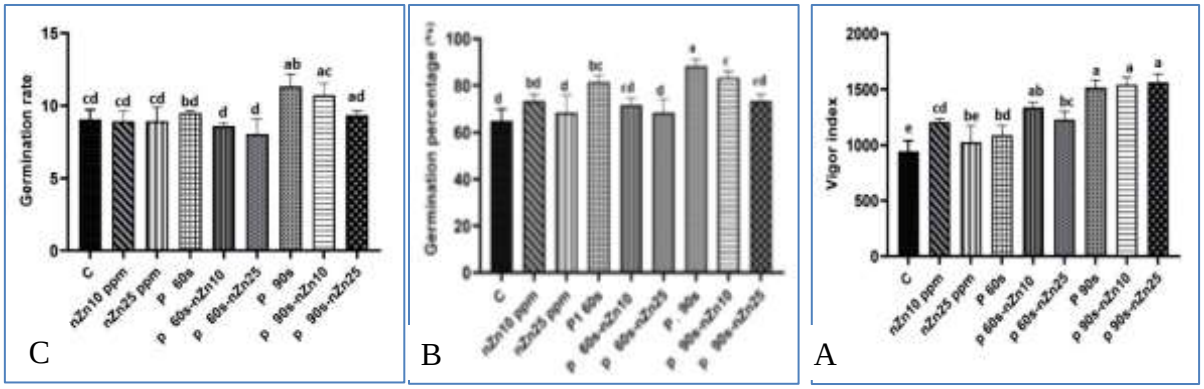
۳-۱- بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی

نمودار ۱-A نشان می‌دهد که درصد جوانه‌زنی درتمام تیمارها نسبت به گروه شاهد افزایش یافته و گروه تیماری P90s نسبت به گروه شاهد بالاترین درصد جوانه‌زنی (۸۸/۳۳ درصد) را نشان داده است (شکل ۱-C). بااین‌حال تنها تیمارهای P90s، P60s و تیمار هم‌زمان(10ppm) P90-ZnO(NPs)به‌ترتیب با ۲۷/۷، ۲۵/۶ و ۲۸/۲ درصد افزایش در مقایسه با شاهد دارای اختلاف معناداری در سطح خطای ۰/۰۱ درصد بوده‌اند (به‌ترتیب شکل 2-C، 2-B و 2-H) سرعت جوانه‌زنی تنها در گروه P90s با ۲۵/۱ درصد افزایش نسبت به گروه شاهد، تفاوت معنادار در سطح خطای ۰/۰۱ درصد داشته است. اگرچه تیمار P60s و تیمارهای ترکیبی P90s با هر دو غلظت ۲۵ ppm و۱۰ نیز افزایش سرعت جوانه‌زنی را نسبت به گروه شاهد نشان دادند اما این اختلاف در سطح معناداری نبوده است. (نمودار ۱-B) همچنین میزان شاخص ویگور در کلیهٔ تیمارهای ترکیبیِ پلاسما و نانوذره افزایش معناداری در سطح خطای ۰/۰۱ درصد نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. همچنین تیمار ۱۰ ppm نانوذرهٔ اُکسید رویْ و تیمار 90s پلاسما نیز نسبت به شاهد افزایش معناداری را نشان دادند (نمودار ۱-C).



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی انتشار میدانی (FE-SEM) نانوذرات روی به ابعاد ۳۰-۱۰ نانومتر (a)، نمودار پتانسیل زتا (b)، طیف اسپکتروفتومتری UV-Vis (c)، اِنکسار اشعهٔ X (d) و طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) (e و f).

شکل ۲- مقایسهٔ طول گیاهچه در روز ۱۴ بین دانه‌رُست‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف نانوذرات اُکسید رویْ و پرایمینگ پلاسمای سرد اتمسفری بعد از ۴۸ ساعت خیساندن بذرها در ۲ زمان متفاوت؛ نمونهٔ شاهد (A)، گیاه تیمارشده با پلاسمای سرد اتمسفری به‌مدت 60s (B)، گیاه تیمارشده با تیمار پلاسمای سرد اتمسفری به‌مدت 90s (C)، گیاه تیمارشده با نانوذرهٔ اُکسید رویْ ۱۰ ppm (D)، گیاه تیمارشده با نانوذرهٔ اُکسید رویْ با غلظتppm ۲۵ (E)، گیاه تحت‌تیمار همزمان پلاسمای سرد اتمسفری به‌مدت 60s و نانوذرهٔ اُکسید رویْ با غلظت ppm ۱۰ (F)، گیاه تحت‌تیمار همزمان پلاسمای سرد اتمسفری به‌مدت 60s و نانوذرهٔ اُکسید رویْ با غلظت ppm ۲۵ (G)، گیاه تحت‌تیمار همزمان پلاسمای سرد اتمسفری به‌مدت 90s و نانوذرهٔ اُکسید رویْ با غلظت ppm ۱۰ (H)، گیاه تحت‌تیمار همزمان پلاسمای سرد اتمسفری به‌مدت 90s و نانوذرهٔ اُکسید رویْ با غلظت ppm ۲۵ (I).

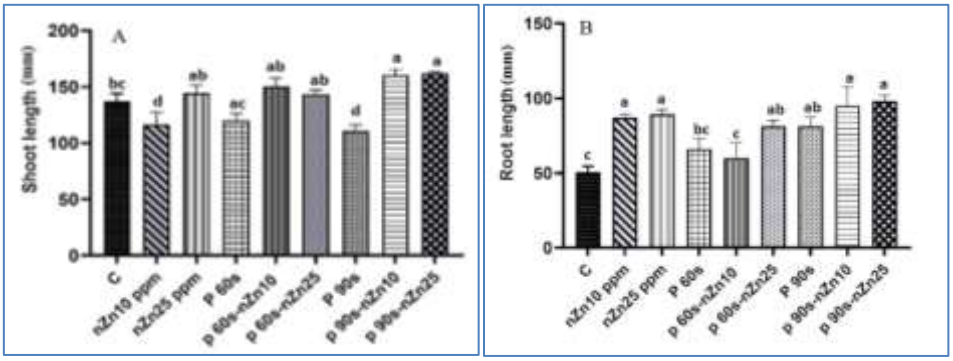


نمودار ۱- مقایسهٔ سرعت جوانه‌زنی (A)، جوانه‌زنی (B) و شاخص ویگور (C) گیاه در بین گروه‌های مختلف تیماریافته با غلظت‌های مختلف نانوذرات اُکسید رویْ و پرایمینگ درصد پلاسمای سرد اتمسفری در ۲ زمان متفاوت.

۲-۳- مقایسه طول اندام هوایی و ریشهٔ جوانه‌ها در گروه‌های تیماری

چنانچه در نمودار A-۲ مشاهده می‌شود طول اندام هوایی در دانه‌رُست‌های تیمارشده با نانوذرهٔ رویْ با غلظت ppm ۱۰ و همچنین تیمار پلاسما به‌مدت ۹۰ ثانیه به‌ترتیب به‌میزان ۱۵/۱ و ۱۹ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش یافته که این اختلاف در سطح خطای ۰/۰۱ درصد معنادار می‌باشد (به‌ترتیب شکل D-2 و C-2). همچنین طول اندام هوایی در گیاهان با تیمار ترکیبی P90s و هر دو غلظت ppm ۱۰ و ppm ۲۵ نسبت به گروه شاهد به‌میزان ۱۷/۲ و ۱۸/۲ درصد افزایش یافته که این اختلاف نیز در سطح خطای ۰/۰۱ درصد معنادار می‌باشد (به‌ترتیب شکل H-2 و I-2).

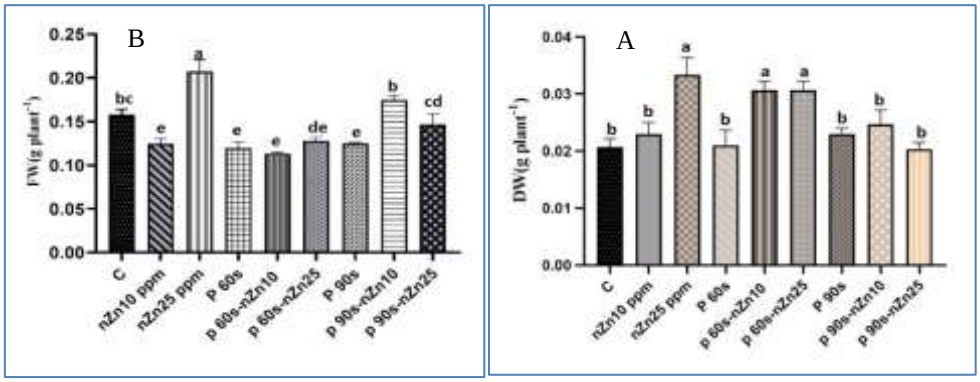
همچنین با توجه به نمودار B-۲، طول ریشه در کلیهٔ گیاهان تحت‌تیمار نسبت به گروه شاهد یا تغییر قابل‌ملاحظه‌ای نداشته و یا افزایش یافته است. گیاهان تیمارشده با نانوذرهٔ اُکسید رویْ با غلظت ppm ۱۰ و ۲۵ ppm، تیمار ترکیبی p60s و نانوذرهٔ اُکسید رویْ با غلظت ppm ۲۵، تیمار p90s و تیمارهای ترکیبی p90s با ppm ۱۰ و ppm ۲۵ نانوذرهٔ اُکسید رویْ به‌ترتیب به‌میزان ۷۲/۳، ۷۶/۸، ۱۹، ۶۱، ۶۱/۲، ۸۸ و ۹۴/۶ درصد افزایش یافته که این اختلاف در سطح خطای ۰/۰۱ درصد معنادار می‌باشد (شکل D-2، E-2، G-2، H-2 و I-2).



نمودار ۲- مقایسه طول اندام هوایی (A) و طول ریشه (B) در بین گروه‌های مختلف تیمار یافته با غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید روی و پرایمینگ پلاسمای سرد اتمسفری در ۲ زمان متفاوت.

۳-۳- مقایسهٔ وزن تَر و خشک گیاهچه‌ها در گروه‌های تیماری

وزن تَر تنها در گیاهان تیمارشده با نانوذرهٔ اُکسید رویْ با غلظت ppm ۲۵ به‌میزان ۳۱ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش یافته که این اختلاف در سطح خطای ۰/۰۱ درصد معنادار می‌باشد. اما وزن تَر در گروه‌های تیماری نانوذرهٔ اُکسید رویْ با غلظت ppm ۱۰، گروه‌های تیماری P60s و P90s، همچنین تیمارهای ترکیبی P60s و نانوذرهٔ اُکسید روی در هر دو غلظت ppm ۱۰ و ppm ۲۵ نسبت به گروه شاهد کاهش یافته که این اختلاف در سطح خطای ۰/۰۱ درصد معنادار می‌باشد (نمودار ۳-A). وزن خشک در همهٔ تیمارها به‌غیر از گروه تیمار ترکیبی P90s و نانواُکسید رویْ ppm ۲۵، نسبت به گروه شاهد افزایش داشته اما این اختلاف تنها در تیمارهای نانواُکسید رویْ ppm ۲۵ (۶۱ درصد افزایش) و همچنین تیمارهای ترکیبی P60s با هر دو غلظت ppm ۱۰ و ppm ۲۵ نانواُکسید رویْ (هر دو با ۴۸ درصد افزایش) در سطح خطای ۰/۰۱ درصد معنادار است (نمودار ۳-B).



نمودار ۳- مقایسهٔ وزن تَر (A) و وزن خشک (B) در بین گروه‌های مختلف تیماریافته با غلظت‌های مختلف نانوذرات اُکسید رویْ و پرایمینگ پلاسمای سرد اتمسفری در ۲ زمان متفاوت.

۴- بحث

برخی پژوهش‌های اخیر شواهدی ارائه کرده‌اند مبنی‌بر اینکه ترکیبات نانو در بذر بعضی گیاهان افزایش جوانه‌زنی، رشد بذر و فعالیت‌های فیزیولوژیک از جمله فعالیت‌های فتوسنتزی، افزایش سطح آنزیم‌های کلیدی در مسیرهای متابولیک را نشان می‌دهند. همچنین این ترکیبات باعث تغییرهای مثبتی در بیان‌ژن‌ها می‌شوند که برای تقسیم سلولی و رشد گیاه ضروری است و نشان‌دهندهٔ پتانسیل آن‌ها در بهبود محصول می‌باشد (۱۰، ۱۲،۲۴). به‌عنوان مثال نانوذرات اُکسید رویْ، موجب بازدهی محصول دانه‌های سویا می‌گردد و بر فاکتورهای رونویسیِ گوناگون (ERF, bHLH, R2R3MYB, WRKY1 and HSF-34) و ژن *MAPK1* در سطوح رونویسی تأثیرگذار هستند (۱۵) . همچنین در گوجه‌فرنگی ژن‌های *WRKY1*, *bHLH*, *HsfA1a*, *ERF* و *MKK2* نسبت به افزودن نانوذرات اُکسید رویْ به‌صورت محلول‌پاشی بر روی برگ‌ها واکنش نشان دادند (۱۸).

از طرفی به‌نظر می‌رسد که تأثیر نانوذرات بر رویْ میزان رشد ارقام مختلف گندم نیز متفاوت باشد. چنانچه در یک مطالعه مخلوطی از هیومیک‌اسید و نانوذرات عصارهٔ گیاهی بر روی سه رقم گندم نان (V1, V2, V3) اسپری و سپس میزان رشد و بازدهی آن‌ها مقایسه شده است. نتایج نشان داده که ارتفاع گیاه، طول خوشه‌ها،

تعداد دانه در خوشه و میزان عملکرد دانه در رقم V3 نسبت به دو رقم دیگر افزایش یافت (۱۶).

تجمع، انتقال و جذب نانوذرات تا حد زیادی به عواملی مانند گونهٔ گیاهی، اندازه و نوع نانوذرات، پایداریِ نانوذرات و برهمکُنش نانوذرات با ریشه، خاک و میکروارگانیسم‌ها بستگی دارد. به‌عنوان مثال، تأیید شده است که تجمع نانوذرات اُکسید فلزات در ریشه به‌طور قابل‌توجهی تحت‌تأثیر خواص شیمیایی نانوذرات و شرایط محیطی گیاه است (۴).

در یک مطالعه روی گندم (رقم ارگ) که از نانوذرهٔ اُکسید رویْ با اندازه‌های ۲۵ و۵۰ نانومتری استفاده شد، مشخص شد که این ذرات در ابعاد ۲۵ نانومتری اثر بهتری بر میزان رشد گندم داشتند (۵).

نتایج این پژوهش نشان داده است که قدرت جوانه‌زنی بذرهای تیماریافته با نانوذرات اُکسید رویْ، تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای بین گیاهان تحت‌تیمار با نمونه‌های شاهد دیده نشد به‌جز میزان شاخص ویگور که گیاهان تیمارشده با ppm ۱۰ نانوذره چه به‌تنهایی و چه به‌صورت ترکیبی با تیمار پلاسما افزایش معناداری داشتند. اما در تیمارهای ترکیبی با پلاسما نتایج متفاوتی ایجاد می‌شود. چنانچه در نمودار A-1 مشاهده می‌شود میانگین درصد جوانه‌زنی در گیاهان تیمارشده با ppm ۱۰ نانوذره و۹۰ ثانیه پلاسما به‌صورت ترکیبی در مقایسه با گروه تیماریِ نانوذره با غلظت ppm ۱۰ بالاتر بوده اما میانگین درصد جوانه‌زنی و همچنین سرعت جوانه‌زنی در گروه‌های تیماریِ ترکیبی با هر دو غلظت ppm ۱۰ و ppm ۲۵ نانوذرهٔ اُکسید رویْ با پلاسما در هر دو زمان ۶۰ و ۹۰ ثانیه، در مقایسه با تیمارهای پلاسما با زمان مشابه کاهش یافته است. به این مفهوم که تیمارهای پلاسما میزان شاخص‌های جوانه‌زنی را بالاتر برده اما اضافه کردن محلول نانوذرهٔ زینک‌اُکسید به گیاهان این افزایش را محدود می‌نماید.

با توجه به نتایج بررسیِ پارامترهای مربوط به طول اندام هوایی تنها در تیمارهای ترکیبی با تیمار پلاسما به‌مدت ۹۰ ثانیه افزایش یافت. اما میانگین طول ریشه هم در گیاهان تیمارشده با دو غلظت ppm ۱۰ و ppm ۲۵ نسبت به گروه شاهد افزایش یافته و هم در تیمارهای ترکیبی با p90s و تیمار ترکیبیِ نانوذره به غلظت ppm ۲۵ با p60s در مقایسه با گیاهانی که فقط تیمار پلاسما دریافت کردند افزایش داشت.

۵- نتیجه‌گیری

یافته‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه و در مورد سنجشِ فاکتورهای جوانه‌زنیِ گیاهان تحت‌تیمارهای مختلف و ترکیبی نیز به‌طور کلی بیانگر نقش تیمارهای استفاده‌شده می‌باشد. به این صورت که در بیشتر مواردِ سنجش‌شده، پرایمینگ پلاسمای سرد اتمسفری به‌ویژه در زمان ۹۰ ثانیه، پارامترهای جوانه‌زنی را بالا برده اما با ترکیب شدن تیمارهای نانوذرهٔ اُکسید رویْ کاهش یافته‌اند و تیمار ترکیبی نانوذره با پرایمینگ پلاسمای ۹۰ ثانیه‌ای عملکرد بهینه را در میان تیمارها بروز داد. اما در مقابل، نانوذرات باعث افزایش طول ریشه، طول اندام هوایی و وزن خشک دانه‌رُست‌ها شده‌اند که در راستای نتایج

Adhikari و همکاران (۲۰۲۰) بذرهای گوجه‌فرنگی را به‌مدت ۱، ۵ و ۱۰ دقیقه در معرض تابش پلاسمای سرد اتمسفری قرار داده و مطالعه‌های گوناگونی را روی آن‌ها انجام دادند. آن‌ها دریافتند که پرایمینگ دانه‌ها، راندمان جوانه‌زنی را بهبود بخشیده، همچنین باعث افزایش آنتی‌اُکسیدان‌ها، فیتوهورمون‌ها، بیان‌ژن‌های دفاعی و پتانسیل تحمل تنشِ خشکی در گیاه می‌شود. این بذرها گونه‌های واکنش‌پذیر (فعال) را در سطح مولکولی افزایش دادند و با القای آبشارهای مختلفِ پیام‌دهیِ سلولی پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند (۳).

استفاده از عنصر رویْ در زمان جوانه‌زنیِ گیاهانِ زراعی (ذرت، سویا و ...) تولید اُکسین ایندول‌استیک‌اسید (IAA) را در ریشهٔ گیاهان افزایش می‌دهد که در نتیجه منجر به ارتقای رشد کلی گیاه و افزایش محصول می‌شود. مهم‌ترین اثر استفاده از اُکسید رویْ در زمان جوانه‌زنی این است که پتانسیل اُسمزی ایجاد نمی‌کند و بنابراین نیاز کلی محصولات به رویْ می‌تواند از طریق ذرات اُکسید رویْ در مقیاس نانو بارگیری شود (۲) .

از طرفی تحقیق‌های Fateling و همکاران (۲۰۲۴) بر روی علف تِف (*Eragrostis tef*) در اتیوپی نشان داد که پرایمینگ بذرهای این گیاه با آب فعال‌شده با پلاسمای گازی، منجر به افزایش تحمل و مقاومت گیاه در مرحلهٔ پیری و در نتیجه افزایش محصول آن شده است(۹) . همچنین در پژوهشی که با هدف بررسی اثر پلاسمای سرد اتمسفری به بیان فاکتور شوک حرارتی A4A (HFFA4A) رشد و مقاومت گندم در برابر تنش شوری انجام شد، القای بیان *HSFA4A* را پس از گذشت ۳ و ۶ ساعت از اثر پلاسمای سرد اتمسفری در ریشهٔ گیاه نشان داد، مشخص شد که پلاسما نه‌تنها باعث افزایش طول ساقه، افزایش وزن خشک و سطح برگ می‌شود بلکه اثرهای مضر تنش شوری در گیاه را کاهش می‌دهد (۱۱).

مطالعه‌های Adhikari و همکاران (۲۰۱۶) بوده و تأییدکنندهٔ افزایش رشد ریشهٔ گیاهان و در نتیجه ارتقای رشد کلی گیاه و افزایش محصول به‌واسطهٔ استفاده از عنصر رویْ و تولید اُکسین ایندول‌استیک‌اسید (IAA) در ریشه‌ها می‌باشد.

همچنین وزن تَر و خشک در تیمار ppm ۲۵ نانوذره بالاترین میزان را نسبت به همهٔ گروه‌های تیماری داشتند، اگرچه میانگین وزن خشک دانه‌رُست‌ها در کلیهٔ تیمارهای انجام‌شده در این پژوهش یا تغییری نداشتند و یا افزایش یافتند. به‌این‌ترتیب پِرایمینگ پلاسمای سرد اتمسفری به‌ویژه در زمان ۹۰ ثانیه، عموماً منجر به افزایش پارامترهای جوانه‌زنی شده و بالاترین میزان وزن خشک و تَر دانه‌رُست‌ها با استفاده از محلول نانوذرهٔ اُکسید رویْ با غلظت ppm ۲۵ در مقایسه با سایر گروه‌های موردمطالعه مشاهده شد.

در راستای این پژوهش پیشنهاد می‌گردد که اثر نانوذرات اُکسید رویْ در فاز زایشیِ گیاه و همچنین اثر متقابل اُکسید رویْ و نانوذرات فلزیِ دیگر بر روی گندم نیز موردمطالعه قرار گیرد.

۶- ملاحظات اخلاقی

ندارد

۷- تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم‌وتحقیقات جهت فراهم آوردن امکانات پژوهشی برای انجام این تحقیق ابراز می‌داریم.

۸- تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند تعارض منافعی وجود ندارد.

۹- منابع

1. Abdul-Baki A A, J. D .A. J. D.Vigor Determination in Soybean Seed by Multiple Criteria. Crop Science 1973; 13 (6): 630-633.
2. Adhikari T, Kundu S, & Rao A S. . Zinc delivery to plants through seed coating with nano-zinc oxide particles. Journal of Plant Nutrition, 2016; 39(1), 136–146. https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1087562
3. Adhikari B, Adhikari M , Ghimire B , Adhikari B , Park G, Choi E. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (Solanum lycopersicum), Free Radical Biology and Medicine,Volume. 2020; 156, 57-69, ISSN08915849,https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.06.003.
4. Ali EF, El-Shehawi AM, Ibrahim OH, AbdulHafeez EY, Moussa MM, Hassan FA. A vital role of chitosan nanoparticles in improvisation the drought stress tolerance in Catharanthus roseus (L.) through biochemical and gene expression modulation. Plant Physiol. Biochem 2021; 161: 166-175.
5. Amiri, F. A., Mozafari, H., oloumi, H., Salari, H. Interaction effect of size and type of zinc oxide nanoparticles with iron nanoparticles on increasing the growth of wheat plants under drought stress. Journal of Ethno-Pharmaceutical Products, 2024; 4(1): 10-31. doi: 10.48306/epp.2024.2033185.1066 [In Persian]
6. Bajji M, JM Kinet, S Lutts. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth and ion content of Atriplex halimus (Chenopodiaceae). 2002; 80: 297-304.
7. Cakmak I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification.Plant Soil .2008; 302: 1-17.
8. Cakmak I, Pfeiffer WH, Mc Clafferty B. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. Cereal Chemistry. 2010; 87(1): 10-20.
9. Fatelnig L M M, Chanyalew S, Tadesse M. et al. Seed priming with gas plasma-activated water in Ethiopia's "orphan" crop tef (Eragrostis tef). 2024; Planta 259, 75 https://doi.org/10.1007/s00425-024-04359-5
10. Husen A, and Muhammad I, .Nanomaterials and plant potential: an overview. Springer International Publishing.2019
11. Iranbakhsh A, Oraghi Ardebili, Z, Oraghi Ardebili, N, Ghoranneviss, M, & Safari, N. Cold plasma relieved toxicity signs of nano zinc oxide in Capsicum annuum cayenne via modifying growth, differentiation, and physiology. 2018; (40), 1-11.
12. Joshi N, Hayasaka T, Liu Y et al .A review on chemiresistive room temperature gas sensors based on metal oxide nanostructures, graphene and 2D transition metal dichalcogenides, Microchim Acta.2018b; 185:213. https://doi.org/10.1007/s00604-018-2750-5
13. Lin D, Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environmental pollution. 2007 Nov 1;150(2):243-50.
14. Manzer HS, Mohamed HAW, Mohammad F, Mutahhar YAK Role of nanoparticles in plants. Nanotechnol Plant, 2015; 19–35
15. Mirakhorli T, Ardebili ZO, Ladan-Moghadam A, Danaee E. Nitric oxide improved growth and yield in soybean (Glycine max) by mediating physiological, anatomical, and transcriptional modifications. J Plant Growth Regul. 2021; https:// doi. org/ 10. 1007/ s00344- 021- 10389-0
16. Noaema, A H, AlKafaji, M H, & Alhasany, A R. Effect of nano-fertilization on growth and yield of three varieties of wheat bread (Triticum aestivum L.). International Journal of Agricultural & Statistical Sciences, 2020; 16.
17. Pagter, M, Bragato, C, and Brix, H . Tolerance and physiological responses of Phragmites australis to water deficit. Aquatic Botany, 2005; 81(4): 285–299.
18. Pejam F, Ardebili ZO, Ladan-Moghadam A, Danaee E .Zinc oxide nanoparticles mediated substantial physiological and molecular changes in tomato. 2021;16(3):e0248778. https:// doi. org/ 10. 1371/ journ al. pone. 02487 78
19. Raskar, Shilpa & Shankar, Lawre. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. International journal of current Microbiology and applied scineces. 2014; 3. 467-473.
20. Reddy, K R, & Hodges, H. Climate Change and Global Crop Productivity. Wallingford: CABI. 2000; https://doi.org/10.1079/9780851994390.0007
21. Rion, B & Alloway, J Fundamental aspects of zinc in soils and plants. International Zinc Association, 2004; (23), 1-128.
22. Sinha R., Karan R, Sinha A, & Khare S K. Interaction and nanotoxic effect of ZnO and Ag nanoparticles on mesophilic and halophilic bacterial cells. Bioresource technology, 2011; 102(2), 1516-1520.
23. Wang Y, Li B, Shang H, Ma R, Zhu Y, Yang X, Ju S, Zhao W, Sun H, Zhuang J, Hen Jiao, Z. Effective inhibition of fungal growth, deoxynivalenol biosynthesis and pathogenicity in cereal pathogen Fusarium spp. by cold atmospheric plasma. Chemical Engineering Journal, 2022; (437), ,135307,
24. Yan Jun, et al. A multicenter study of using carbon nanoparticles to show sentinel lymph nodes in early gastric cancer. Surgical endoscopy , 2016; (30): 1294-1300.