فنآوری زیستی در کشاورزی/ جلد هفدهم/ شمارهٔ دوم/ پاییز و زمستان ۹۷
DOI: 10.22084/ab.2018.10261.1292

اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2)، نور و ساکارز بر جوانه‌زنی و رشد دانهال توت سیاه (*Morus nigra* L.) در شرایط درون‌شیشه‌ای

The Effect of Titanium Dioxide (TiO_2) Nanoparticles, Light and Sucrose on Germination and Seedlings Growth of Mulberry (*Morus nigra* L.) *In Vitro* Conditions

سمیرا هدایت‌پور[۱]، موسی موسوی[۲]* و فریده صدیقی دهکردی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۴/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۷/۱۷

چکیده

توت سیاه بومی ایران بوده به لحاظ تغذیه‌ای و فضای سبز دارای اهمیت فراوانی می‌باشد. با هدف بهینه سازی تکثیر توت سیاه توسط بذر در شرایط کنترل شده، سه آزمایش مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار در آزمایشگاه کشت بافت گروه باغبانی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد. آزمایش اول شامل دو تیمار تاریکی مطلق و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، آزمایش دوم شامل بررسی اثر غلظت‌های مختلف ساکارز (۰ (صفر)، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ گرم بر لیتر) و آزمایش سوم شامل کاشت بذور بر روی محیط‌کشت MS کامل محتوی ۱۵ گرم بر لیتر ساکارز و غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید تیتانیوم (۰ (صفر)، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی بود. نتایج آزمایش اول نشان داد که ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تأثیر بهتری بر شاخص‌های جوانه‌زنی توت سیاه دارد. نتایج آزمایش دوم نشان داد که غلظت ۱۵ گرم بر لیتر ساکارز نسبت به سایر غلظت‌ها بر روی شاخص‌های سرعت و درصد جوانه‌زنی، وزن‌تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه و طول ساقه اثر بهتری داشته است. در آزمایش سوم معلوم گردید که تیمار ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نسبت به سایر تیمارها موثرتر بود. براساس نتایج حاصل از این آزمایش، پیشنهاد می‌گردد برای جوانه‌زنی بهینه بذور توت سیاه، از محیط‌کشت محتوی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به غلظت ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و هم‌چنین ساکارز به غلظت ۱۵ گرم بر لیتر استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: شاخص‌های جوانه‌زنی، کشت بافت، موراشیگ و اسکوگ، نانوتکنولوژی

۱، ۲ و ۳. به‌ترتیب کارشناس ارشد و استادیاران، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
*: نویسنده مسوول Email: m.mousavi@scu.ac.ir

مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد به راهنمایی موسی موسوی و مشاورت فریده صدیقی دهکردی می‌باشد.

مقدمه

توت سیاه با نام علمی *Morus nigra* L. متعلق به خانواده *Moraceae* می‌باشد. منشاء توت سیاه کشور ایران است. به همین دلیل توت سیاه را توت ایرانی (Persian mulberry) نیز می‌نامند. جنس توت دارای ۱۲ گونه درختی و درختچه‌ای است که بیش‌تر بومی آسیا می‌باشند *گائو* و همکاران (Gao *et al.*, 2006). از میوه توت برای تازه‌خوری، تهیه ژله، مربا و انواع نوشیدنی استفاده می‌شود. میوه و سایر اندام‌های توت دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و در درمان بیماری‌های اسهال و استفراغ کاربرد داشته و به‌عنوان ملین استفاده می‌شود. برگ‌های آن در کاهش قند و فشارخون مؤثرند *رامش* و همکاران (Ramesh *et al.*, 2014). از دیگر مصارف درخت توت، استفاده از برگ‌های آن برای تغذیه کرم ابریشم در صنعت تولید ابریشم می‌باشد. پرورش توت بین عرض‌های جغرافیایی ۵۰ درجه شمالی تا ۱۰ درجه جنوبی امکان‌پذیر است. میوه توت گوشتی و مرکب و حاصل تجمع میوه‌های منفرد به نام فندقه (Achens) است *یانگ* و *هونگ* (Yang and Hong, 2007). بذر توت سیاه زرد روشن یا قهوه‌ای‌رنگ، با سطحی صاف و بیضی‌شکل است. پوسته بذر شامل دولایه است. لایه بیرونی سخت و شکننده (Testa) و لایه داخلی نازک و قهوه‌ای‌رنگ و زیرپوشه (Tegmen) نام دارد (*گائو* و همکاران، 2006). جوانه‌زنی توت سیاه به‌دلیل جنین خفته و پوسته سخت بذر و عمر کوتاه بذرها یکنواخت و استاندارد نیست. در حالت عادی بذر را درخزانه می‌کارند که به دلیل غیریکنواختی شرایط محیطی تنها تعداد اندکی گیاهچه حاصل می‌گردد. مدت‌زمان جوانه‌زنی تا به‌دست آمدن یک گیاهچه مطلوب حدود هشت ماه طول می‌انجامد. نقش بیولوژیکی تیتانیوم در رشد برگ، نمو و متابولیسم گیاه از سال‌ها پیش موردمطالعه قرارگرفته است. ازجمله قدیمی‌ترین پژوهش‌های انجام‌گرفته می‌توان به گزارش *نمک و کاس* (Nemec and Kas, 1923) اشاره کرد که بیان کردند تیتانیوم قادر به افزایش رشد گیاه می‌باشد. درحال حاضر گزارشات متعددی مبنی بر اثر نانوذرات تیتانیوم بر روی جوانه‌زنی بذر گیاهان ارائه شده است. ازجمله این گیاهان می‌توان به جعفری *موسوی* و دهکردی (Dehkourdi and Mousavi, 2013)، *Agropyron desertorum* *عظیمی* و همکاران (Azimi *et al.*, 2013) و *Prunus mahaleb* *گودرزی* و همکاران (Goodarzi *et al.*, 2017) اشاره کرد. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر نور، ساکارز و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی و رشد بهینه دانهال‌های توت سیاه به‌عنوان یک گیاه ارزشمند و بومی ایران در شرایط درون‌شیشه‌ای به‌منظور حفظ ژرم‌پلاسم و تسهیل انجام کارهای اصلاحی با استفاده از بذر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای تهیه بذور توت سیاه، یک درخت سالم و بالغ از گونه *Morus nigra* L. موجود در دانشگاه شهید چمران اهواز انتخاب و بعد از رسیدن میوه‌ها در اوایل بهار اقدام به چیدن آن‌ها شد. برای بذرگیری ابتدا میوه‌ها با دست به‌طور کامل له شده و سپس میوه‌های له شده از صافی عبور داده شدند و بذرها به‌وسیله‌ی شستشو با آب جاری از بقیه بخش‌های له شده‌ی میوه جدا گردیدند. برای جداسازی بذرهای سالم از بذرهای پوک، از روش غوطه‌ورسازی در آب استفاده شد. بذرهای سالم تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۱. آزمایش تأثیر نور بر جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای و رشد دانهال توت سیاه

این آزمایش با ۲ تیمار شامل تاریکی مطلق و دوره نوری ۱۶ ساعت نور (۲۵۰۰ الی ۳۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی هرکدام در ۵ تکرار اجرا گردید. هر تکرار شامل یک ظرف کشت شیشه‌ای حاوی محیط‌کشت پایه MS کامل می‌باشد، در هر ظرف کشت ۲۰ بذر کشت شدند. درمجموع برای هر تیمار ۱۰۰ بذر استفاده شد.

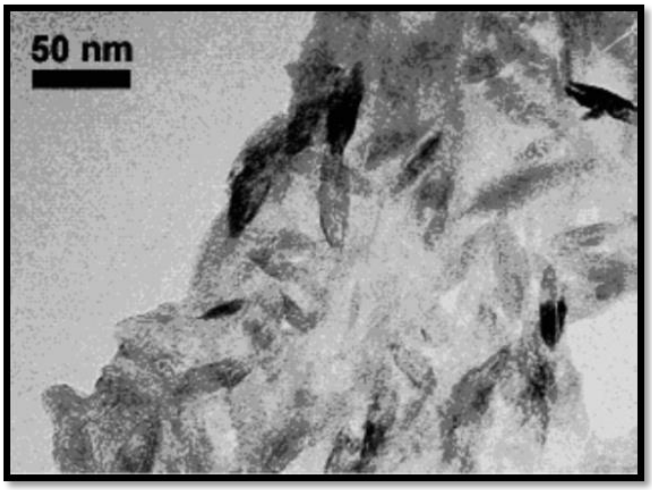
۲. آزمایش تأثیر ساکارز بر جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای و رشد دانهال توت سیاه

این آزمایش نیز در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار شامل غلظت‌های مختلف ساکارز (صفر، ۱۵، ۲۰ و۳۰ گرم بر لیتر) و پنج تکرار مشابه آزمایش اول انجام گردید.

۳. آزمایش تأثیر نانوذرات اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی و رشد دانهال توت سیاه

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار شامل غلظت‌های مختلف دی‌اکسید تیتانیوم (۰ (صفر)، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و هر تیمار در ۵ تکرار انجام گردید. هر تکرار شامل یک ظرف کشت شیشه‌ای حاوی محیط پایه MS کامل به‌اضافه ۱۵ گرم بر لیتر ساکارز می‌باشد، در هر ظرف کشت ۲۰ بذر کشت شد. درمجموع برای هر تیمار ۱۰۰ بذر استفاده شد. بعد از آماده‌سازی محیط‌کشت پایه، مقادیر معین از محلول مادری نانوذرات اکسید تیتانیوم اندازه‌گیری و به محیط‌ها اضافه شد. نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در دانشگاه

صنعتی شریف و بر اساس دستورالعمل حسینی و همکاران (Hosseini *et al.*, 2008) سنتز شده‌اند. متوسط اندازه ذرات حدود ۳۰ نانومتر بوده (تصویر TEM با استفاده از TEM فیلیپس CM200 در شکل ۱ ملاحظه می‌گردد) پتانسیل زتا توسط Zetasizer Malvern ZS اندازه‌گیری گردید. رسانایی یون سنتز دی‌اکسید تیتانیوم به روش سل ۲۰۰ میکروثانیه/سانتی‌متر بود. پتانسیل زتا ذرات ۵۰ میلی‌ولت اندازه‌گیری شد.



شکل ۱: تصویر TEM نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم
Fig. 1: TEM image of TiO_2 NPs

بذور در زیر هود استریل با هیپوکلریت سدیم (۲/۵ درصد) و چند قطره توئین ۲۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. بذور بعد از ضدعفونی شدن بر روی سطح آگار کشت گردیدند. سپس کشت‌ها در آزمایش اول در شرایط نوری ذکر شده با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در آزمایش دوم و سوم کشت‌ها در فیتوترون با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. شاخص‌های موردارزیابی در آزمایش اول شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی نهایی است. در آزمایش سوم شاخص‌های: درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی نهایی (معیار ظهور ۲ میلی‌متر ریشه‌چه است)، میانگین طول ریشه‌چه، میانگین طول ساقه‌چه و تعداد برگ (سه هفته پس از شروع جوانه‌زنی) وزن‌تر و وزن خشک ساقه و ریشه و سطح برگ اندازه‌گیری شدند. طول ساقه‌چه و ریشه‌چه بر حسب میلی‌متری و با خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شدند. درصد جوانه‌زنی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\%GP = \frac{\sum G}{N} \times 100$$ رابطه (۱)

که در آن N تعداد کل بذور، مجموع تعداد بذور جوانه‌زده $\sum G$ و درصد جوانه‌زنی GP می‌باشد. سرعت جوانه‌زنی نیز از رابطه زیر محاسبه شد.

$$GR = \sum_{i=1}^{n} \frac{Si}{Di}$$ رابطه (۲)

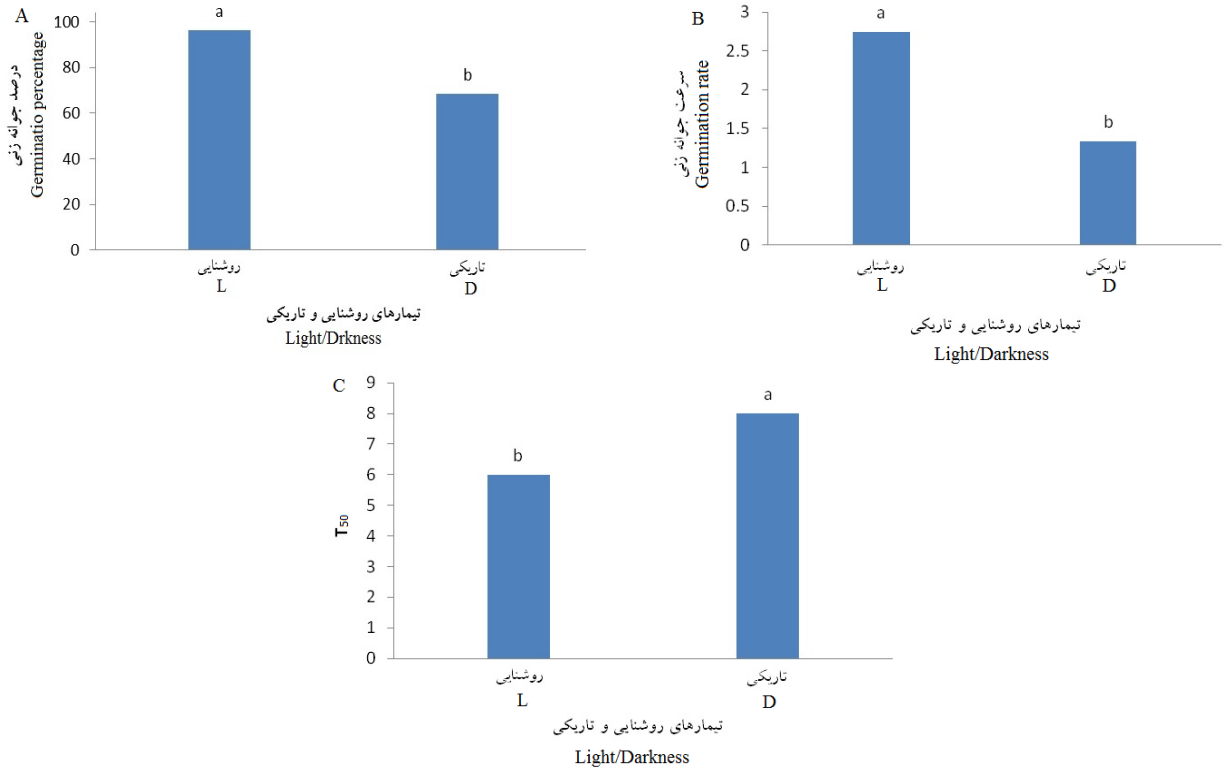
که دراین رابطه: GR سرعت جوانه‌زنی، Si تعداد بذور جوانه‌زده در هر شمارش، Di تعداد روز تا شمارش iام، n دفعات شمارش می‌باشند. به‌منظور تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای آماری SAS (نسخه 9.1) و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

۱. اثر نور بر جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که بین تیمار روشنایی و تاریکی از لحاظ آماری در همه صفات اندازه‌گیری شده شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری وجود دارد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بهترین نتایج در هر سه شاخص اندازه‌گیری شده (سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و حداقل زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی کل بذور (T_{50})) مربوط به تیمار ۱۶ ساعت روشنایی همراه با ۸ ساعت تاریکی است (شکل‌های ۲، ۳ و۴). *سرانوبرناردو* و همکاران (Serrano-Bernardo *et al.*, 2007) گزارش دادند که بیش‌ترین جوانه‌زنی بذور دو گیاه بومی کوهستان‌های اسپانیا شامل *Reseda complicata* Bory و *Thymus serpylloides* Bory پس از قرار گرفتن در معرض دوره‌های متناوب نوری ۱۲ و ۲۴ ساعته حاصل گردید. هم‌چنین *فلورس* و همکاران (Flores *et al.*,

2016) دریافتند که نور باعث افزایش جوانه‌زنی بذور ۹ گیاه از مجموع ۱۴ گونه یا رقم از گیاهان گوشتی مکزیک گردید. *پریرا دی‌پایوا* و همکاران (Pereira de Paiva *et al.*, 2014) نیز بیش‌ترین درصد جوان‌زنی بذور گیاه *Salvia hispanica* L. را در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رژیم متناوب نور- تاریکی به‌دست آوردند. در پوسته بذرهای نیازمند نور، پروتئینی به‌نام فیتوکروم وجود دارد که مسئول جوانه‌زنی در این بذرها می‌باشد. فیتوکروم‌ها به دو فرم P_r و P_{fr} وجود دارند. P_{fr} سبب سنتز و فعالیت آنزیم‌های هیدرولتیک و هورمون جیبرلیک اسید شده و باعث شروع جوانه‌زنی می‌شود *قادری* و *سلطانی* (Ghaderi and Soltani, 2013). لذا نور به‌عنوان عامل کنترل‌کننده جوانه‌زنی شناخته شده است.



شکل ۲: مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای روشنایی و تاریکی بر شاخص‌های درصد جوانه‌زنی (A)، سرعت جوانه‌زنی (B) و شاخص T_{50} (C) بذور توت سیاه در شرایط درون‌شیشه‌ای

Fig. 2: Comparison means of the effect of light and darkness on Germination percentage (A), Germination rate (B) and T50 indice (C) of Mulberry seeds *in vitro*

جدول ۱: تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثر تاریکی و روشنایی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه بذری توت سیاه در شرایط درون‌شیشه‌ای

Table 1: Analysis of variance the data of the effect of light/darkness on seed germination and seedling growth indices of Mulberry *in vitro*

منبع تغییرات Source of Variations	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	T_{50}
رژیم نوری Light/darkness	1	1932.1**	48**	10**
خطا Error	8	2.8	0.02	0.25
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	2.02	7.43	7.14

**: معنی‌دار در سطح ۱٪

**: Significant at 0.01 probably level

جدول ۲: تجزیه واریانس داده‌های مربوط به غلظت‌های ساکارز بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه بذری توت سیاه در شرایط درون‌شیشه‌ای

Table 2: Analysis of variance the data of the effect of sucrose concentrations on seed germination and seedling growth indices of Mulberry *in vitro*

منبع تغییرات Source of Variations	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination %	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	T_{50}	طول ساقه Shoot length	طول ریشه Root length	وزن‌تر ساقه Shoot fresh weight	وزن‌تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ساقه Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight
ساکارز Sucrose	3	145.9**	1.63**	3.3**	195.9**	163.7**	54.2**	81.9**	14.9**	7.9**
خطا Error	16	3.1	0.17	0.37	1.18	1.3	1.1	4.8	1.8	1.03
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	1.92	22.09	9.7	2.74	3.4	3.9	10.03	7.5	8.9

**: معنی‌دار در سطح ۱٪

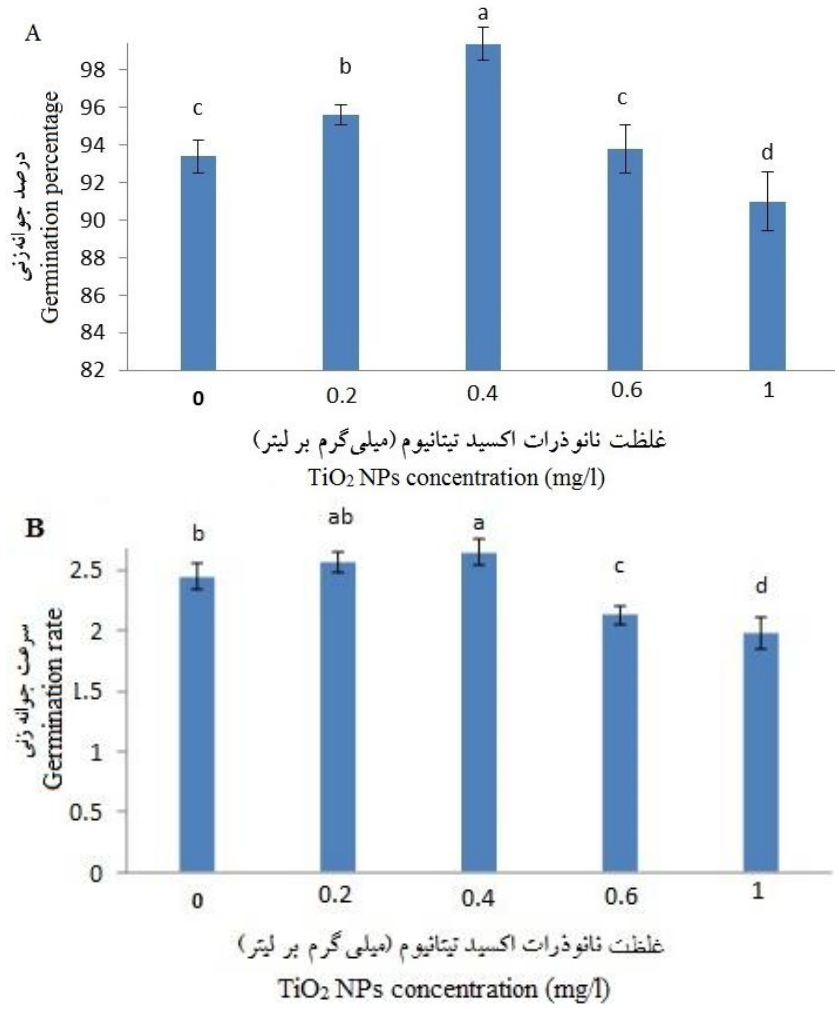
**: Significant at 0.01 probably level

۲. اثر ساکارز بر جوانه‌زنی

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) تمامی شاخص‌ها در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار گشتند. تیمار ۱۵ گرم بر لیتر ساکارز در شاخص‌های درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه و ریشه، وزن‌تر ساقه و ریشه و وزن خشک ساقه و ریشه بهترین نتایج را نسبت به سایر تیمارها نشان داد. تیمار شاهد و ۱۵ گرم ساکارز از لحاظ شاخص حداقل زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۳). *برایان* و همکاران (Braun *et al.*, 2010) دریافتند که بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی بذر چغندر لبویی در حضور ساکارز به میزان ۱۵ گرم بر لیتر به‌دست آمد. هم‌چنین *هوا* و همکاران (Huh *et al.*, 2016) در بررسی جوانه‌زنی بذور گیاه ارکیده *Cypripedium macranthos* در شرایط درون‌شیشه‌ای نتیجه گرفتند که بیش‌ترین جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهـچه‌ها در محـیط‌کشت ۱/۴MS محتوی ۱۰ گرم بر لیتر ساکارز حاصل گردید. در مقایسه ساکارز، گالاکتوز و فروکتوز گزارش شده که ساکارز با غلظت ۱۵٪ بهترین تأثیر را در کشت بافت انگور دارد *پرز* و همکاران (Perez *et al.*, 2000). ساکارز در شرایط درون‌شیشه‌ای علاوه‌بر این‌که برای رشد و اندام‌زایی ضروری می‌باشد نقش مهمی نیز در تعیین فشار اسمزی محیط ایفا می‌نماید *پینتو* و همکاران (Pinto *et al.*, 2015). از طرف دیگر کاهش پتانسیل اسمزی در اثر وجود غلظت‌های زیاد ساکارز در محیط باعث ممانعت از جذب عناصر غذایی می‌گردد *شیم* و همکاران (Shim *et al.*, 2003).

۳. اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که غلظت‌های نانوذرات اکسید تیتانیوم در مقایسه با تیمار شاهد بر همه شاخص‌های اندازه‌گیری شده به‌جز زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی نهایی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محیط‌کشت حاوی ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، بهترین نتایج را از لحاظ شاخص‌های درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن‌تر ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه و سطح و تعداد برگ به خود اختصاص داده است (شکل‌های ۵، ۶ و۷). هم‌چنین تیمارهای ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشابه با هم بر روی سرعت جوانه‌زنی بهترین اثر را داشتند (شکل ۵).



شکل ۵: مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای نانوذرات تیتانیوم بر شاخص‌های درصد جوانه‌زنی (A)، سرعت جوانه‌زنی (B) بذور توت سیاه در شرایط درون‌شیشه‌ای

Fig. 5: Comparison means of the effect of TiO_2 NPs on Germination percentage (A), Germination rate (B) of Mulberry seeds *in vitro*

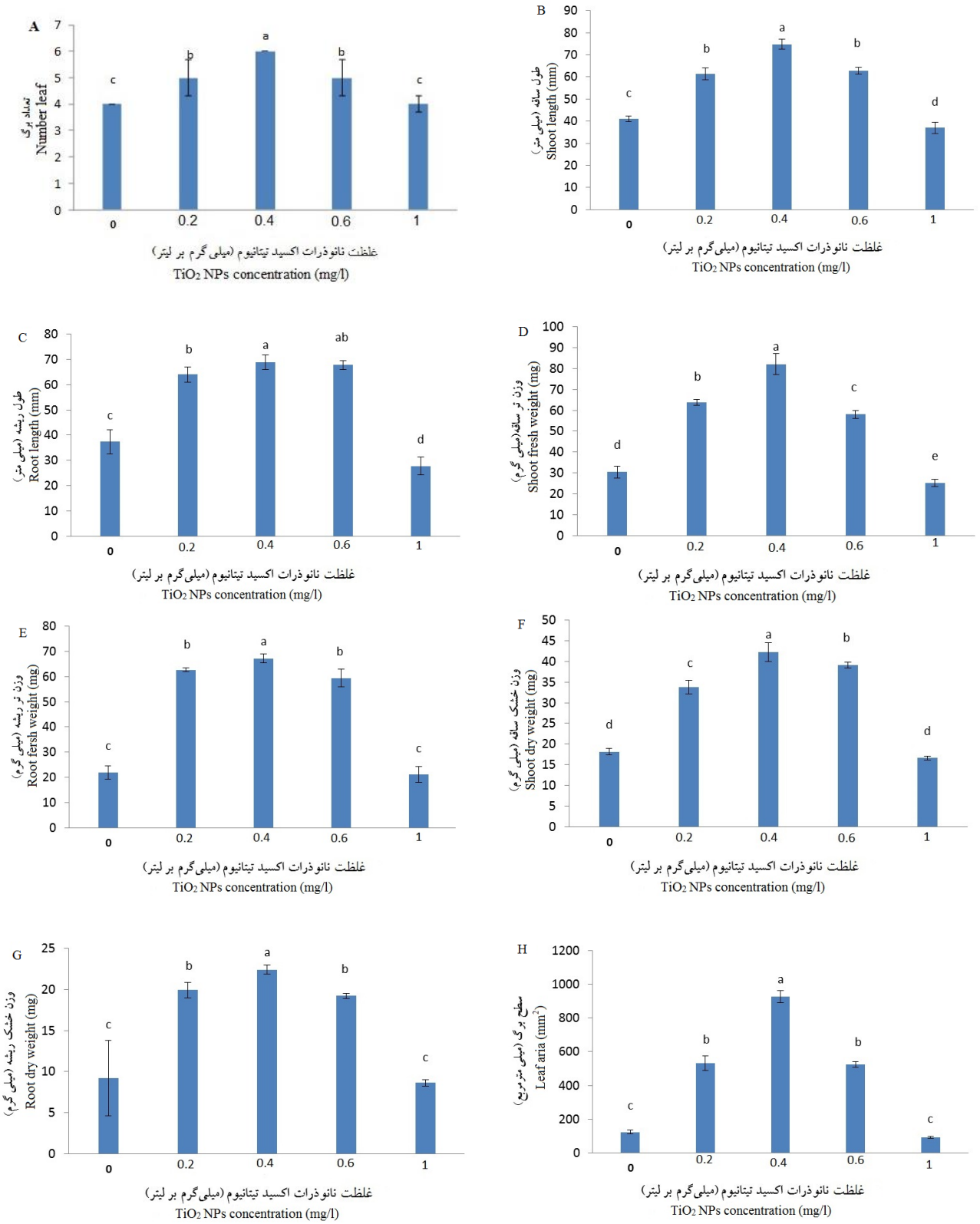
جدول ۳: مقایسه میانگین‌های تأثیر غلظت ساکارز بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه توت سیاه در شرایط درون‌شیشه‌ای

Table 3: Comparison means of the effect of sucrose concentrations on seed germination and seedling growth indices of Mulberry *in vitro*

منبع تغییرات Source of Variations	درصد جوانه‌زنی Germination %	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	T_{50}	طول ساقه (میلی‌متر) Shoot length (mm)	طول ریشه (میلی‌متر) Root length (mm)	وزن‌تر ساقه (میلی‌گرم) Shoot fresh weight (mg)	وزن‌تر ریشه (میلی‌گرم) Root fresh weight (mg)	وزن خشک ساقه (میلی‌گرم) Shoot dry weight (mg)	وزن خشک ریشه (میلی‌گرم) Root dry weight (mg)
Control	2.16^{ab}	94^{b}	5.8^{b}	34.02^{c}	28.9^{b}	23.6^{d}	19.48^{b}	15.94^{b}	9.68^{c}
15 g/L	2.52^{a}	98.4^{a}	5.4^{b}	46.7^{a}	38.5^{a}	31.02^{a}	28^{a}	20.06^{a}	12.72^{a}
20 g/L	1.64^{cb}	89^{c}	7^{a}	42.92^{b}	37.9^{a}	29.26^{b}	20.72^{b}	17.16^{b}	11.65^{ab}
30 g/L	1.22^{c}	86.2^{d}	7^{a}	34.6^{c}	27.7^{b}	26.13^{c}	19.72^{b}	17.63^{b}	11.27^{b}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف یکسانی هستند از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند

Each mean in each columns shown by the same letters are not significantly different ($P<0.01$)



شکل ۶: مقایسه میانگین‌های اثر نانوذرات تیتانیوم بر تعداد برگ (A)، طول ساقه (B)، طول ریشه (C)، وزن‌تر ساقه (D)، وزن‌تر ریشه (E)، وزن خشک ساقه (F)، وزن خشک ریشه (G) و سطح برگ (H) گیاهچه‌های بذری توت سیاه در شرایط درون‌شیشه‌ای

Fig. 6: Comparison means of the effect of TiO_2 NPs on Number leaf (A), Shoot length (B), Root length (C), Shoot fresh weight (D), Root fresh weight (E), Shoot dry eight (F), Root dry weight (G) and Leaf aria (H) of Mulberry seedling *in vitro*

جدول ۴: تجزیه واریانس داده‌های مربوط به غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه بذری توت سیاه در شرایط درون‌شیشه‌ای

Table 4: Analysis of variance the data of the effect of TiO_2 NPs concentrations on seed germination and seedling growth indices of Mulberry *in vitro*

منبع تغییرات Source of Variation	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination %	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	T_{50}	تعداد برگ Number leaf	طول ساقه‌چه Shoot length	طول ریشه‌چه Root length	وزن‌تر ساقه‌چه Shoot fresh weight	وزن‌تر ریشه‌چه Root fresh weight	وزن خشک ساقه‌چه Shoot dry weight	وزن خشک ریشه‌چه Root dry weight	سطح برگ Leaf area
TiO_2 NPs	4	48.84**	0.41**	0.03ns	3.14**	1332.6**	1842.8**	2838.7**	2633.95**	708.1**	209.1**	594947.3**
خطا Error	20	1.22	0.01	0.04	0.24	4.5	54.11	8.7	6.6	1.9	4.5	706
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	1.16	4.49	1.08	10.12	3.84	6.38	5.7	5.5	4.6	13.4	6.06

ns و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱٪

ns and **: Non- significant and significant at 0.01 probably level, respectively

شکل ۷: گیاهچه بذری توت سیاه حاصل از تیمار با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در شرایط درون‌شیشه‌ای به‌ترتیب با غلظت‌های A: شاهد (صفر)، B: ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، C: ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، D: ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و E: ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

Fig. 7: Seedling of Mulberry grown *in vitro* under different concentrations of TiO_2 NPs; Control (A), 0.2 mg/L (B), 0.4 mg/L (C), 0.6 mg/L (D) and 1 mg/L (E)

علی‌آبادی و همکاران (Aliabadi *et al.*, 2012) اثر تیتانیوم را بر روی جوانه‌زنی گیاه دارویی اسفرزه (بارهنگ) بررسی کردند. نتایج نشان داد که نانوتیتانیوم در غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود. *روفینی* و همکاران (Ruffini *et al.*, 2011) در بررسی اثر ذرات تیتانیوم بر روی جوانه‌زنی ذرت از غلظت ۰/۲، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوذره استفاده کردند و به‌مدت ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت در محلول نانو خیساندند. نتایج نشان داد که در بین غلظت و زمان تیمارها غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۷۲ ساعت از سایر تیمارها نتیجه‌ی بهتری را نشان داد. *یانگ* و *هونگ* (2007) اعلام کردند که نانوذرات تیتانیوم باعث افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز، گلوتامین دهیدروژناز وگلوتامین سنتتاز در اسفناج می‌شود. آن‌ها گزارش داده‌اند که نانوذرات تیتانیوم باعث افزایش جذب آب توسط ریشه می‌شود. لذا با افزایش جذب آب توسط ریشه‌ها افزایش عملکرد در گیاه را خواهیم داشت. نتایج نشان داد که نانوذرات باعث افزایش میزان کلروفیل، فتوسنتز و فعالیت آنزیم روبیسکو شد و در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی لیتر رشد دانهال بذری اسفناج را بالا برد. *ژنگ* و همکاران (Zheng *et al.*, 2005) گزارش دادند که استفاده از نانوذرات تیتانیوم با افزایش جذب موادی مثل نیتروژن و منیزیم، میزان تشکیل کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های کلیدی را بالا برده، سطح برگ و نهایتاً فتوسنتز را افزایش می‌دهد. *گائو* و همکاران (2006) گزارش دادند که نانوذرات تیتانیوم با جذب نور و تبدیل انرژی نورانی، از کلروپلاست در برابر پیری محافظت کرده و مدت زمان فتوسنتز را افزایش می‌دهند (*گائو* و همکاران، 2006). آنچه در مورد مکانیسم اثر نانوذرات تیتانوم گزارش شده نشان می‌دهد که این نانوذرات با افزایش توانایی گیاه در جذب آب، قدرت سیستم ریشه را در جذب آب و مواد غذایی بالا برده و تشکیل اسیدهای آمینه ضروری را افزایش می‌دهند (*منگو* و همکاران، 2007). تیتانیوم دی‌اکسید یک نیمه‌هادی دارای دو باند ظرفیت (پر از انرژی) و هدایت (خالی از الکترون) است. بین دو باند فاصله خاصی به نام گاف انرژی قرار دارد که در اثر تابش نور با طول‌موج مشخصی امکان انتقال الکترون از باند ظرفیت به باند هدایت میسر می‌شود. در پی وقوع این عمل لایه ظرفیت، الکترون از دست داده و لایه هدایت الکترون خواهد داشت. این کار در زمان بسیار کوتاهی صورت می‌گیرد و دو مرتبه از باند هدایت (تراز بالا) به باند ظرفیت (تراز پایین) بر می‌گردد بنابراین تیتانیوم دی‌اکسید امکان اکسید یا احیا کردن ترکیباتی که در مجاورش قرار می‌گیرند در هنگامی که نور با طول‌موج مشخص به آن تابیده شود را خواهد داشت. تیتانیوم دی‌اکسید (همانند کلروپلاست) می‌تواند آب را توسط تابش امواج ماورا بنفش و بدون اعمال ولتاژ خارجی به اکسیژن و هیدروژن تجزیه کند (*بهپور* و *خلیلیان*؛ *بهپور و عطوف* (Behpour and Atouf, 2012; Behpour and Khalilian, 2013).

استفاده از محیط‌کشت پایه MS کامل محتوی نانوذرات اکسید تیتانیوم با غلظت ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۱۵ گرم ساکارز در شرایط محیطی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، باعث افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی در توت سیاه و به دنبال آن با تأثیر مثبت بر واکنش‌های درونی گیاه باعث افزایش رشد دانهال‌ها نسبت به تیمار شاهد می‌گردد.

منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۳-۴ متن انگلیسی مراجعه شود.