سعید شکیب‌منش
کارشناس‌ارشد علوم و تکنولوژی بذر
حوزه مدیریت بذرتحقیقات آموزش، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

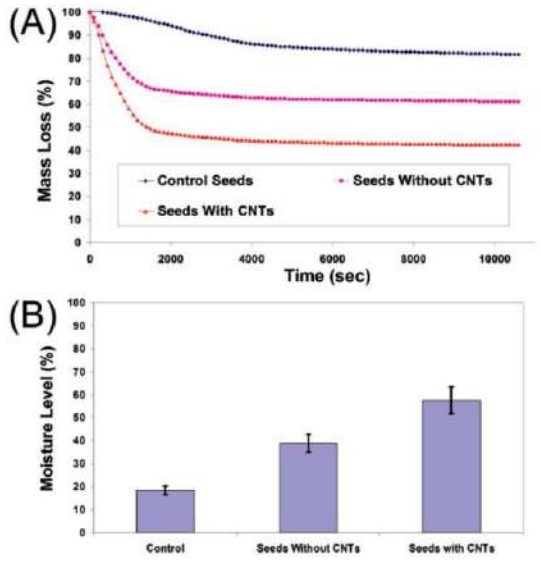
تأثیر نانو لوله‌های کربنی بر جوانه‌زنی و رشد بذور گوجه‌فرنگی (قسمت دوم)

Carbon Nanotubes Impacts the Growth and Expression of Water Channel Protein in Tomato Plants (Part two)

نانولوله‌های کربنی عامل ارتقاء جذب آب در داخل بذر :

آب عامل اصلی مورد نیاز بذر برای جوانه‌زنی است. بذر بالغ نسبتا خشک بوده و نیاز به جذب مقدار قابل توجهی آب قبل از متابولیسم سلولی و رشد دارد. نرخ جذب آب وابسته به نفوذ پذیری پوسته بذر و مقدار آب موجود در منطقه جوانه‌زنی می‌باشد. فرضیه ما این است که فعال سازی کانال‌های ورود و خروج آب، توسط نانو لوله‌های کربنی CNTs در جوانه‌زنی انجام می‌گیرد و نقش نانولوله‌ها در روند جذب آب در داخل جنین بذر مهم می‌باشد.

برای درک بهتر مکانیسم فعال شدن جوانه‌زنی بذر گیاه گوجه‌فرنگی با استفاده از نانولوله‌های کربنی، ابتدا اندازه‌گیری میزان رطوبت بذر گوجه‌فرنگی با آزمایش تجزیه و تحلیل حرارتی (TGA) صورت می‌گیرد و میزان درصد رطوبت موجود در بذر گوجه‌فرنگی با اندازه‌گیری میزان رطوبت از دست داده آن مشخص می‌شود(شکل ۶)، بدین‌منظور بذور در دمای اتاق تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ دقیقه حرارت داده شد، و سطح رطوبت در بذر گوجه‌فرنگی خشک قبل از هر گونه تیماری اندازه‌گیری می‌شود، و نهایتاً این داده-ها به عنوان مرجع (شاهد) مورد استفاده قرار خواهد گرفت. سپس، بذر خشک در محیط کشت MS با و بدون نانو لوله-های کربنی CNTs برای ۲ روز در این محیط‌ها قرار داده شدند، و رطوبت بذور (هر دو در معرض و به بدون CNTها) اندازه‌گیری شد. بذرهایی که در معرض نانولوله‌ها قرار گرفتند در مقایسه با بذرهایی که در معرض نانو لوله‌های کربنی قرار نداشتند، از میزان رطوبت بیشتری برخوردار بودند. نتایج داده نشان داد، تیمار مرجع (شاهد) ۱۸/۴٪ و بذور در معرض نانو لوله‌های کربنی ۵۷/۶٪، و بذرها بدون مواجهه با نانو لوله‌ها CNT تنها ۳۸/۹٪ رطوبت جذب کرده بودند. این نتایج نشان می‌دهد که نانولوله‌های کربنی به طور معنی‌داری می‌تواند باعث افزایش جذب آب در داخل بذر گوجه فرنگی شوند(شکل ۶).

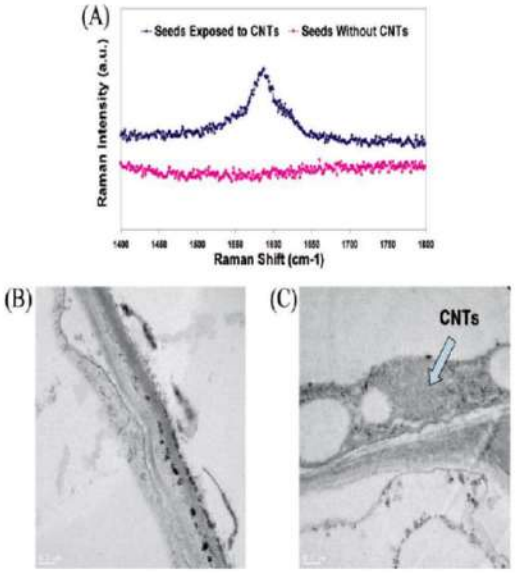


شکل ۶

یک توضیح احتمالی این اثر را می توان در این فرض که نانولوله‌ها قادر به نفوذ در پوسته بذر هستند و باعث فعال شدن کانال‌های ورود و خروج آب نیز شده و جذب آب را در داخل بذر افزایش می‌دهند مرتبط دانست. برای آزمایش چنین احتمالی، طیف سنجی رامان برای تشخیص حضور CNTs در داخل جنین بذر در معرض و بدون مواجهه به CNT ها مورد

استفاده قرار می‌گیرد. طیف سنجی رامان یک تکنیک است که به کمک آن می توان اطلاعات دقیق برای حضور مواد گرافیت، مانند نانو لوله‌های کربنی، در داخل سیستم‌های بیولوژیکی را استخراج نمود. برای این آزمایش، بذر گوجه فرنگی در محیط کشت MS (شاهد) و محیط کشت MS حاوی نانولوله‌های کربنی (۴۰ گرم / میلی لیتر) قرار داده شد. دو روز پس آن، بذر در هر دو شرایط انکوبه شدند، آنها را از محیط حذف کردند، با آب شست شو و برش طولی داده و سطوح بذر در معرض طیف سنجی رامان مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌دهند. طیف سنجی رامان توانایی نظارت و شناسایی نانو لوله‌های کربنی از پوسته تا جنین را دارند. همانطور که در شکل ۷، یک سیگنال رامان از گروه G (نقطه پیک مشاهده شده در شکل ۷) که در نانو لوله‌ها CNT نشان داده شده است (۱۵۶۹یک به روی سانتی‌متر)، در داخل بذر در معرض نانو لوله‌های کربنی تشخیص داده شد، در حالی که هیچ سیگنال در بذرهای کنترل که در محیط بدون نانوذرات در انکوباتور قرار گرفتند مشاهده نشدند. حتی برای بار نسبتا طولانی بیش از ۸۰ طیف رامان از بافت بیولوژیکی هیچ اوجی (۱۵۶۸ یک به روی سانتی‌متر) نشان داده نشد. لذا، گروه G را می‌توان به عنوان یک شاخص برای حضور نانولوله استفاده کرد و شدت آن می‌تواند مقدار نانولوله‌ها در حجم کانونی لیزر را منعکس کند. گروه G متناظر با نانو لوله‌ها CNT در بخش‌هایی از گیاهان رشد کرده (ریشه، ساقه، برگ) مشاهده نشدند. در بررسی‌های بیشتر، مشکلی که در نانولوله وجود ندارد رویت نشد، علت این است که احتمالاً، مقدار مدنظر در زیر سطح تشخیص طیف سنج رامان نبودند. نتایج بیشتری را با بزرگنمایی و عکس برداری الکترونی TEM ریشه گیاهان بدون قرار گرفتن در معرض نانو لوله‌های کربنی می‌توان بدست آورد (شکل۷ Bو C) در شکل ۷ C مورفولوژی واضحی از چند نانو لوله کربنی CNTs، که در تصاویر نمونه شاهد به طور کامل از دست رفته است قابل رویت است. این مطالعات نشان می‌دهد که نانو لوله‌های کربنی CNTs قادر به نفوذ در بذر و همچنین سیستم ریشه گیاهان توسعه یافته بودند.

شکل ۷



این نتایج به وضوح نشان می‌دهد که نانو مواد می‌تواند باعث افزایش جوانه‌زنی بذر گوجه‌فرنگی شوند و به طور قابل توجهی فعالیت بیولوژیکی را تحت تاثیر قرار دهد و احتمالا این به دلیل افزایش مقدار آب در داخل بذر در طول دوره جوانه‌زنی اتفاق می‌افتد.

مکانیسمی که به وسیله آن نانوذرات می‌تواند جذب آب را در داخل بذر حمایت کنند، مشخص نشده است. ممکن است که نانوذرات بتواند منافذ جدید برای نفوذ آب از پوسته بذر ایجاد کند. توضیح دیگر می‌تواند بر این فرض باشد که نانولوله‌های کربنی می‌توانند در تنظیم مسیرهایی، مانند کانال‌های آب موجود (aquaporins) در پوشش بذرهای گیاهی موثر باشد. بررسی سیستماتیک مکانیسم انتقال و کانال‌های آب در سلول‌های گیاهی وجود ندارد. با این حال، فعالیت‌های کانال-های آب، می‌تواند توسط استرس‌های مختلف از قبیل فشار

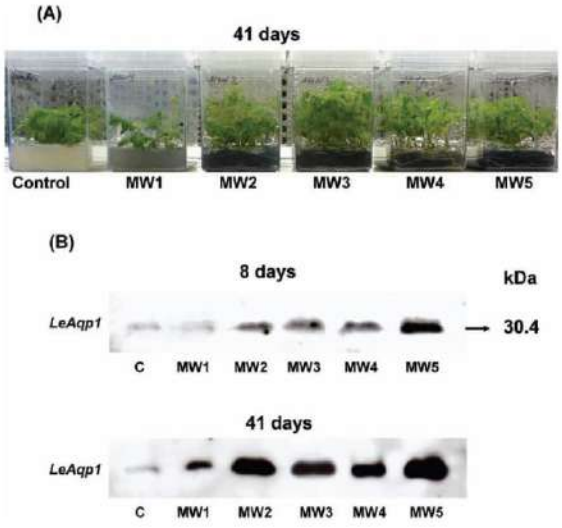
بالای اسمزی، فقدان اکسیژن، فلزات سنگین و pH، شوری، و... تنظیم شود.

به طور خاص، استفاده از نانو مواد برای افزایش سرعت رشد گیاه می‌تواند جهت تحقیقات جدید برای مناطقی که فصل رشد کوتاه دارند و زیست توده برای عملکرد تولید نهایی بسیار مهم است، استفاده شود.

به تازگی، نشان داده شده است که قرار گرفتن گیاهان گوجه فرنگی در معرض نانولوله‌های کربنی چند دیواره می‌تواند بیان ژن که در انتقال سیگنال استرس و انتقال آب ضروری هستند را تحت تاثیر قرار دهد(Khodakovskaya at el, 2011). به طور خاص، فرض می‌کنیم که نانولوله می‌تواند بیان ژن کد کننده پروتئین کانال آب (LeAqp1) را فعال کند. براساس این داده‌ها، یک فرضیه در مورد فعال سازی رشد گیاهان از طریق نانو لوله‌های کربنی MWCNT، توسط تولید پروتئین کانال آب (aquaporin) در حضور نانولوله‌ها مطرح شده است. پروتئین کانال آب یکی از پروتئین‌های کلیدی برای رشد گیاه است و درگیر فرایند جوانه‌زنی و جذب آب است. آهارون و همکاران 2003 نشان دادند که بیان بیش از حد ژن پروتئین کانال آب Arabidopsis در گیاهان توتون و تنباکو منجر به فعال‌سازی قابل توجهی از رشد و عملکرد فتوسنتز می‌شود (Aharon at el, 2003). در اینجا، فرض اثر نانولوله با سطوح مختلف شیمیایی (نمونه MW1-MW5) در بیان پروتئین LeAqp1 بررسی شده است (شکل ۸).

نتایج یک رابطه جالب بین نوع نانولوله و فنوتیپ گیاه گوجه فرنگی در معرض نانولوله و تولید پروتئین aquaporin (LeAqp1) در گیاهان تیمار شده را نشان داد. تولید قابل توجهی از پروتئین LeAqp1 در گیاهان رشد کرده در محیط کشت همراه با نانولوله که به خوبی در محیط MS پراکنده شده بودند (نمونه MW2) و یا با نانولوله تزئین شده با گروه های مختلف عملکردی (MW3-MW5) در مقایسه با گیاهان بدون نانولوله (شاهد) و گیاهان در معرض نانولوله ضعیف پراکنده (شکل8B) تشخیص داده شدند. این رابطه در دو مرحله زمانی (۸ و ۴۱ روز پس از جوانه‌زنی گیاهان گوجه فرنگی) ارزیابی شدند. اثرانواع مختلف نانولوله در پروتئین کانال آب ارتباط خوبی با شدت رشد گیاهان گوجه فرنگی در معرض نانولوله‌های کربنی MW1-MW5 داشت (شکل ۸). گیاهان رشد کرده در محیط کشت حاوی نانولوله‌های کربنی MW2-MW5 به نمایش گذاشته رشد بالاتری از گیاهان کنترل و یا گیاهان در معرض نانولوله ضعیف پراکنده داشتند. این داده‌ها از فرضیه‌ی نشان‌دهنده دخالت نانولوله در فعال-سازی تولید پروتئین‌های کانال آب می‌باشد.

بر اساس همه این مشاهدات بیولوژیکی، می‌توان آن را به



شکل۸

وضوح دید که خانواده نانولوله‌ها اما با سطوح شیمیایی مختلف می‌تواند پاسخ‌های فیزیولوژیک متفاوتی در مدل‌های گیاهی (بذر و گیاهچه) داشته باشد. این کار نقش برجسته گروه‌های عملکردی سطح نانولوله در اثر رشد و نمو آنها در مدل گوجه فرنگی را نشان می‌دهد. جذب نانولوله‌ها و توزیع زیستی آنها هنوز هم یک فرایند چالش برانگیز، به علت

محدودیت در توانایی تشخیص کمی و کیفی، نانولوله‌ها در بافت‌های مختلف است. میکروسکوپ الکترونی انتقالی، طیف سنجی رامان و تجزیه و تحلیل فتوترمال (photoacoustic) برای این منظور ارائه شده است، اما همه مزایا و محدودیت‌ها را دارند.

نانولوله‌ها بسیار پراکنده که دارای خلوص کمی (MW1) هستند تاثیر کمتری بر روی فیزیولوژی گیاه داشتند. جالب توجه است که، به نظر می‌رسد نانولوله PEG پوشش داده شده (MW5) یک اثر قوی بر روی جوانه‌زنی بذر اولیه دارد اما در رشد گیاه بسیار پایین‌تر از تیمارهای دیگر بود. مطالعات بیشتری مورد نیاز است که به طور کامل درک شود که چرا نانولوله‌ها بار منفی چنین اثر شدیدی بر فیزیولوژی گیاهی دارند و چگونه این یافته‌ها می‌تواند با جذب / توزیع نانولوله‌ها در سیستم گیاه در ارتباط باشد.

نتیجه‌گیری :

فناوری نانو دارای فواید و موارد استفاده‌ی گسترده‌ای در بخش کشاورزی است. کاربردهای فناوری نانو در کشاورزی شامل ارتقاء بهره‌وری عملیات‌های مختلف زراعی به واسطه‌ی استفاده از زئولیت‌های نانومتخلخل جهت رهاسازی آرام و موثر عناصر غذایی کودهای شیمیایی و قطرات آب، استفاده از نانوکپسول‌ها به منظور آزادسازی کنترل شده آفت‌کش‌ها و مدیریت کارآمد آفات و ناقلین عوامل بیماری‌زا، بکارگیری نانوحسگرها جهت ردیابی آفات و موارد بیشمار دیگر است. بدون شک با بهره‌گیری از مزایای فناوری نانو به عنوان یک فناوری پیشرفته‌ی نوظهور در بخش کشاورزی، می‌توان به نتایج مطلوبی از جمله تضمین امنیت غذایی و توسعه‌ی کشاورزی پایدار و سازگار با محیط زیست در کشورها و نواحی در حال توسعه‌ی جهان دست یافت.

ویژگی‌های خاص از نانولوله‌های کربنی، مانند سطح خود و تراکم در محیط و ویژگی‌های سطح آنها (نوعی از گروه‌های عملکردی) می‌تواند یکی از پاسخ‌های فیزیولوژیک در گیاهان در استفاده از نانولوله‌های کربنی حیاتی باشد. به خصوص، ارتباط بین سطح دانه‌بندی، نوع گروه عاملی بر روی سطح نانولوله‌های کربنی و عملکرد رشد گیاهان گوجه‌فرنگی ثبت شد. بیشترین افزایش در رشد برای گیاهان در معرض نانولوله پراکنده مشاهده شد و نانولوله با گروه‌های عملکردی منفی موثرتر بودند. تولید پروتئین کانال آب در گیاهچه گوجه-فرنگی در معرض نانولوله فعال شده با گروه‌های عملکردی مختلف در مقایسه با گیاهان بدون مواجهه و یا گیاهان در معرض نانولوله با پراکندگی پایین، تفاوت معنی‌داری داشتند. این مشاهدات از این فرضیه حمایت می‌کند که تیمارهای نانو لوله‌های کربنی از طریق تنظیم پروتئین‌های کانال‌های انتقال آب که باعث فعال شدن جوانه‌زنی و رشد گیاهان می‌شود را توجیه می‌کند.

منابع :

Aharon. R,.Y. Shahak, S. Wininger, R. Bendov, Y. Kapulnik and G. Galili. (2003). Planet Cell 2003, 15, 439 – 447 .

Canas, J. E., M. Long, S. Nations, R. Vadan, L. Dai, M. Luo, R. Ambikapathi, E. H. Lee and D. Olszyk.(2008). Effects of Functionalized and Nonfunctionalized Single-Walled Carbon Nanotubes on Root Elongation of Select Crop Species. Environ. Toxicol. Chem, 27, 1922–1931.

Chinnamuthu, C. R. and P. Murugesa Boopathi. (2009). Nanotechnology and Agroecosystem. Madras Agricultural Journal, 96, 17-31.

Joe, E. K., X. Wei, R. Anderson and C. P. Lin. (2003). Selective Cell Targeting with Light-Absorbing Microparticles and Nanoparticles. Biophys. J., 84, 4023–4032.

Zharov, V. P., E. N. Galitovskaya, C. Jonson and T. Kelly. (2005). Synergistic Enhancement of elective

Nanophotothermolysis with Gold Nanoclusters: Potential for Cancer Therapy. Laser Surg. Med, 37, 219–226.

Khodakovskaya, M., E. Dervishi, M. Mahmood, X. Yang, Z. Li, W. Fumiya and A. S. Biris. (2009). Carbon Nanotubes Are Able To Penetrate Plant Seed Coat and Dramatically Affect Seed Germination and Plant Growth. ACS Nano, 3, 3221 – 3227.

Villagarcia, H., E. Dervishi, K. Silva and A. Biris. (2012). Khodakovskaya, M. Surface Chemistry of Carbon Nanotubes Impacts the Growth and Expression of Water Channel Protein in Tomato Plants.8, 15, 2328–2334.