



مطالعات فراساختاری و بافت‌شناسی برگ و ریشه گیاه کرچک (*Ricinus communis* L.) تحت تیمار نانولوله‌های کربن چند دیواره

زهرا فتحی^۱، رمضانعلی خاوری نژاد^{۱*}، هما محمودزاده آخرت^۲، طاهر نژاد ستاری^۱

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران

* Email: ra.khavarinejad@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۱

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۲۱

چکیده

گیاه *Ricinus communis* L. متعلق به خانواده Euphorbiaceae، یک گیاه دارویی بسیار مهم می‌باشد. نانولوله‌های کربنی به عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه بوده و می‌توانند مورفولوژی و فیزیولوژی سلول گیاهی را تغییر دهند. نفوذ نانولوله‌های کربنی در سیستم گیاهی می‌تواند تغییراتی را در عملکرد متابولیکی بوجود آورد که منجر به افزایش در بیومس و تولید دانه و میوه می‌شود. نتایج آزمایشات XRD و نانوپارتیکل سایزر نشان داد که فاز اصلی نانوپارتیکل، کربن است و اندازه آن حدود ۳۵-۳۰۰ نانومتر است. هدف از این پژوهش بررسی اثر تیمار نانولوله کربنی (۰ و ۵۰۰ $\mu\text{g ml}^{-1}$) روی ویژگی‌های بافت‌شناسی و فراساختار گیاه کرچک می‌باشد. بدین منظور، مراحل رشد رویشی گیاه کرچک در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. سپس نمونه‌برداری از ریشه و برگ گیاه شاهد و تیمار در هنگام برداشت، انجام گردید. مراحل آماده‌سازی بافت انجام شد و نمونه‌ها جهت مطالعه با میکروسکپ الکترونی (TEM) روی گرید منتقل شدند. نتایج مطالعه فراساختار سلول‌ها، تجمع زیادی از نانولوله‌های کربنی چند جداره با طول‌های مختلف درون واکوئل و سیتوپلاسم را نشان داد که در سلول‌های برگ تجمع واکوئل‌ها، افزایش پلاستوگلوبولی‌ها در استرومای کلروپلاست و تغییر شکل کلروپلاست‌ها از کروی به بیضی شکل مشاهده شد و در سلول‌های ریشه منجر به تخریب کریستال‌های میتوکندری‌ها، تخریب غشاهای واکوئل و هسته و تا حدی کروماتین‌ها، تجمع واکوئل‌ها، ضخامت زیاد دیواره‌های سلول‌های اسکلرید و آوند چوبی و بافت مقاوم بالغ و کاملاً نمو یافته نسبت به شاهد شدند.

کلیدواژه‌ها: فراساختار ریشه و برگ، گیاه کرچک، نانولوله‌های کربن چند جداره، TEM.

مقدمه

بوده و از لحاظ اقتصادی از گیاهان گلدار مهم می‌باشد که به صورت همیشه سبز، درختچه یا درخت بلند، بدون کرک، دارای برگ‌های بزرگ به قطر ۳۰-۶۰

گیاه *Ricinus communis* L. متعلق به خانواده فرفیون (Euphorbiaceae) است که یک خانواده متنوع

نانوذرات روی گونه‌های گیاهی مختلف تا حد زیادی می‌تواند، متفاوت باشد و وابسته به مرحله رویش گیاه، روش و مدت زمان قرارگرفتن در معرض نانوذرات و نیز اندازه، غلظت، ترکیب شیمیایی، ساختار سطحی، حلالیت، شکل و تجمع نانوذرات دارد و با توجه به خواص شیمیایی و فیزیکی، اندازه، ترکیب آنها و نیز تعامل نانوذرات با گونه گیاهی، در مراحل مختلف نمو متفاوت است [۱۲]. در میان همه نانو مواد، نانو لوله‌های کربنی (CNT) بدلیل ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مانند طول، قطر، پیکربندی اتمی و ناخالصی‌ها، دارای خواص شیمیایی، انعطاف پذیری، حرارتی، مکانیکی و الکتریکی منحصر به فرد شده که بسیار مورد توجه قرار گرفتند [۲۲]. نانومواد کربنی به عنوان روشی جهت افزایش تولید چند برابری میوه و محصول می‌باشد [۱۶]. جذب نانولوله‌های کربنی توسط گیاهان، زمینه جدیدی در نانو کشاورزی می‌باشد. نانولوله‌های کربنی می‌توانند ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی سلول‌های گیاهی را تغییر دهند [۱۱ و ۱۷] و به‌عنوان تنظیم کننده رشد گیاه و جوانه‌زنی دانه می‌باشند [۱۰]. نانولوله‌های کربنی چند جداره نوعی از نانومواد می‌باشند که بدلیل نانساختارهای منحصر به فرد و خواص فوق العاده مانند هدایت الکتریکی بالا، سطح خاص و بزرگ، پایداری حرارتی قابل توجه، در تحقیقات بنیادی و توسعه فناوری بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱۵]. نانولوله‌های کربنی چند جداره (MWCNT) سنتزی، در غلظت‌های کم، موجب افزایش رشد جوانه‌زنی گیاهچه‌های ذرت و در غلظت‌های بالا، آن را کاهش می‌دهند. افزایش رشد عمدتاً از طریق بهبود انتقال آب توسط MWCNT انجام می‌شود. MWCNTها می‌توانند در بهبود جریان آب، بیومس گیاهی و

ساختی‌متر، به صورت پنجه‌ای و دولوبه می‌باشد که در سراسر مناطق گرمسیری جهان عمدتاً به صورت وحشی یا با کشت دانه‌های روغنی آن، گسترش یافته است [۱۳ و ۱۹]. پوست ریشه و برگ گیاه خواص ملین دارد. جوشانده آن برای روماتیسم، التهاب و اختلالات عصبی استفاده می‌شود. همچنین در طب سنتی در درمان زگیل، تومورهای سر و غده پستانی، میخچه و مول‌ها استفاده می‌شود. دارای فعالیت ضد التهابی و مهار رادیکال آزاد می‌باشد. این گیاه دارای اثرات مفیدی به عنوان آنتی‌اکسیدان، آنتی هیستامین، ضد درد، ضد آسم، ضد زخم، سیستم ایمنی، ضد دیابت، حفاظت کبد، ضد باروری، ضد التهاب، ضد میکروب، محرک سیستم اعصاب مرکزی، لیپولیتیک، بهبود زخم، حشره کش، لارو کش و بسیاری از خواص دارویی دیگر می‌باشد. فعالیت های گیاه بدلیل وجود ترکیبات شیمیایی مهم مانند فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، گلیکوزیدها، آلکالوئیدها و استروئیدها می‌باشد [۱۹]. *Ricinus communis* یک گیاه دارویی بسیار مهم می‌باشد [۸].

فناوری نانو، یک حوزه در حال توسعه در تمام زمینه‌های زندگی انسان می‌باشد. تحقیقات متفاوتی نیز جهت استفاده از نانومواد در زمینه‌های مختلف انجام می‌شود [۲۰]. طی دهه گذشته پیشرفت‌های قابل توجهی در مطالعه ویژگی‌های نانو مواد و استفاده از آنها در بسیاری از برنامه‌های کاربردی، پزشکی، بیولوژی و کشاورزی گزارش شده است. نانوبیوتکنولوژی برای پیشرفت کشاورزی و علوم گیاهی مفید می‌باشد [۱۶]. گیاهان دارای بسیاری از ترکیبات حیاتی برای اکوسیستم‌های خشکی بوده و مسیر مهمی برای انتقال نانومواد به محیط و نیز جهت تجمع نانو مواد در زنجیره غذایی می‌باشند [۲۲]. تاثیر

۲- مطالعات بافت شناسی

جهت مطالعه اثر نانولوله‌های کربنی چند جداره بر ویژگی‌های بافت شناسی و آناتومی گیاه کرچک، در شرایط گلخانه‌ای به صورت طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار و تیمار (۰ و $500 \mu\text{g ml}^{-1}$) انجام شد. هر تیمار شامل ۴ گلدان و هر گلدان حاوی ۱۰ عدد بذر کرچک بود، یک هفته پس از کاشت بذر، اسپری برگی تیمارهای فوق انجام شد. طول دوره آزمایش ۴۵ روز بود. جهت بررسی فراساختاری ریشه و برگ با استفاده از میکروسکپ الکترونی، نمونه برداری از بافت‌های برگ و ریشه در هنگام برداشت گیاهان با دقت انجام شد. برای این منظور، نمونه‌های ریشه به طول ۲ میلی‌متر از حدود یک سانتی‌متری نوک ریشه با دقت برش داده شدند. جهت نمونه‌برداری از برگ، قطعات مستطیلی (2×1 میلی‌متر) از برگ بالغ، از ناحیه بین رگبرگ‌های فرعی و به فاصله ۵ میلی‌متری از رگبرگ اصلی، برش داده شد. نمونه‌برداری از گیاهان شاهد و تیمار ۵۰۰ انجام شد. به منظور آماده‌سازی نمونه‌ها جهت بررسی فراساختاری، ۱- نمونه‌های برش داده شده ریشه و برگ بلافاصله به محلول تثبیت کننده اولیه گلو تار آلدئید ۲/۵٪ در بافر کاکودیلات سدیم ۰/۱ مولار به مدت ۴ ساعت منتقل شدند. ۲- شستشو با بافر کاکودیلات سدیم ۰/۱ مولار انجام شد. ۳- نمونه‌ها به فیکساتور ثانویه تتراکسید اسمیم ۱ درصد در بافر کاکودیلات سدیم ۰/۱ مولار با $7/6 - 7/4$ در $\text{PH} =$ به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند. ۴- شستشو با بافر کاکودیلات سدیم ۰/۱ مولار انجام شد. ۵- آبگیری با درجات صعودی الکل ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰ و ۳ بار ۱۰۰ هر کدام ۱۵ دقیقه انجام شد. ۶- نفوذ با حلال رزین، پروپیلن اکساید به مدت نیم تا ۲ ساعت. ۷- نفوذ با رزین به مدت ۲۴ ساعت. ۸- قالبگیری با رزین

غلظت‌های ضروری کلسیم و آهن، مفید باشند [۲۲]. نفوذ نانولوله‌های کربنی در سیستم گیاهی می‌تواند تغییراتی را در عملکرد متابولیکی بوجود آورد که منجر به افزایش در بیومس و تولید دانه و میوه می‌شود [۹ و ۲۲]. به دلیل اهمیت گیاهان برای حیات و تولید اکسیژن و مواد غذایی، بنابراین بر همکنش CNT-گیاه، کاملاً نیاز به بررسی از سطح سلولی تا ارگانیسمی دارد تا پیچیدگی آن درک شود [۲۲ و ۲۱]. لذا در مقاله حاضر، بررسی بافت شناسی و مطالعه فراساختاری برگ و ریشه گیاه کرچک تحت تیمار نانولوله کربن چند دیواره انجام شد.

مواد و روش

۱- آزمایش نانوپارتيكل سايزر- زتا سايزر و مطالعات پراش اشعه ایکس (XRD)

اندازه نانولوله کربنی چندجداره و اندازه هیدرودینامیکی آن توسط نانوپارتيكل سايزر با ۴ تکرار انجام شد و پایداری کلئیدهای تشکیل شده نانولوله‌های کربنی با استفاده از زتا سايزر در دو غلظت ۱۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با ۳ تکرار انجام شد که غلظت ۱۰ در دمای $23/2$ درجه سانتی-گراد و $\text{PH} = 7/02$ و غلظت ۵۰۰ در دمای $22/8$ درجه سانتی‌گراد و $\text{PH} = 6/98$ صورت گرفت. مراحل این دو آزمایش در پژوهشکده هوا خورشید، آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. فاز نانولوله کربنی و درجه خلوص آن توسط دستگاه XRD (X-ray diffraction). در آزمایشگاه تجزیه کنندگان کانسارهای بلورین آمیتس شرق واقع در مشهد انجام شد.

Crystallite size $D_p = K \lambda / (B \cos \theta)$
 D_p^1 میانگین اندازه بلور بر حسب نانومتر،
 $K = 0.94$ ، شبکه بلوری ثابت^۲ $\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$
 0.154 nm $(FWHM)B^4$ ، عرض قله اندازه گیری
 شده در نصف ماکزیمم بر حسب درجه - θ^5 ، زاویه
 براگ قله^۶ بر حسب درجه.

شکل ۲، اندازه نانولوله های کربنی چند دیواره را
 برای غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر نشان می دهد
 که بیشترین تعداد نانولوله ها در محدوده ۳۵ تا ۳۰۰
 نانومتر وجود داشتند. میانگین قطر ذرات^۷ $91/3 =$ ، قطر
 هیدرودینامیکی ذرات^۸ $245/7 =$ ، شاخص پراکندگی
 ذرات^۹ $0/3 =$ می باشد. تصویر ۵ تا ۸ حرکت ذرات^{۱۰}
 و پتانسیل زتا نانولوله های کربنی چند دیواره را نشان
 می دهد. شکل ۳ برای غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر
 می باشد که ثابت دی الکتریک $79/18 =$ ، میانگین
 حرکت ذرات^{۱۱} $-2.24 \mu\text{m s}^{-1} \text{ V}^{-1} \text{ cm}^{-1} =$ ، میانگین
 زتا^{۱۲} $-29.85 \text{ mV} =$ می باشد. بدلیل اینکه اعداد بدست
 آمده خارج از بازه $+30$ تا -30 می باشد، نشان دهنده
 پایداری سیستم های کلوئیدی می باشد. شکل ۴ برای
 غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد که ثابت
 دی الکتریک $79/24 =$ ، میانگین حرکت ذرات $-1.96 =$

سخت و خالص. ۹- پخت رزین به مدت ۴۸ ساعت
 در آون ۶۰ درجه. ۱۰- تریم کردن قالب ها. ۱۱- برش
 زدن با اولترامیکروتوم (LEICA ULTRACUT R).
 ۱۲- برش نازک ۸۰ نانومتر و انتقال روی گرید جهت
 مطالعه با میکروسکپ الکترونی. ۱۳- رنگ آمیزی با ۲
 نمک، اورانیل استات ۱ درصد به مدت ۲۰ دقیقه و
 سیترات سرب به مدت ۵-۱۰ دقیقه [۳۱]. گرید های
 آماده جهت مطالعه، به دستگام میکروسکپ الکترونی
 TEM (LEO Q-912AB) منتقل شدند. کلیه مراحل
 آماده سازی نمونه ها و عکس برداری با TEM، در
 پژوهشکده هواخورشید، آزمایشگاه مرکزی دانشگاه
 فردوسی مشهد انجام شد.

نتایج

۱- نتایج نانوپارتیکل سائزر- زتا سائزر و مطالعات پراش اشعه ایکس (XRD)

شکل ۱، الگوی XRD نانولوله کربنی چند دیواره
 را نشان می دهد. عناصر موجود در نانولوله، کربن
 بوده و دارای یک فاز که همان کربن است می باشد.
 در این آزمایش فاز مشخص در نمونه دیده می شود که
 دارای پیک خاصی در شکل باشد. نانولوله کربن مورد
 نظر با توجه به نمودار قله ندارد و این خود سندی بر
 نانو بودن ماده است. یعنی بلوری که اندازه درشتی
 دارد و قادر به عبور نور می باشد در آن مشاهده نشد.
 این الگو دو قله مشخص در موقعیت های ۲۵ و ۴۳
 درجه، یک قله بزرگ در $2\theta = 25/78$ با FWHM
 $0/63 = [^{\circ}2\theta]$ و یک قله کوچک در $2\theta = 42/62$
 درجه با $0/96 = \text{FWHM} [^{\circ}2\theta]$ نشان داد. داده های
 XRD جهت محاسبه اندازه بلوری نانوذرات توسط
 فرمول شر (Scherrer's Formula) از طریق معادله زیر
 استفاده می شود [۷].

¹ Average crystallite size (nm)

² Scherrer constant. **K** varies from 0.68 to 2.08. **K** = 0.94 for spherical crystallites with cubic symmetry

³ X-ray wavelength. For Mini XRD, Cu K α average = 1.54178 \AA

⁴ FWHM (Full Width at Half Maximum) of XRD peak. The observed XRD peak broadening could come from the crystallite size (Scherrer's formula), the instrument, and the strain effect (Williamson-Hall method). $B_{\text{obs}} = B_{\text{size}} + B_{\text{inst}} + B_{\text{strain}}$.

⁵ XRD peak position, one half of 2θ

⁶ Bragg's angle of the peak

⁷ Dmean

⁸ Zaverage

⁹ PDI

¹⁰ Mobility

¹¹ Mobility Mean

¹² Zeta Mean

افزایش تعداد پلاستوگلوبولی‌ها در استرومای کلروپلاست و نیز تجمع واکوئل‌ها در محل استقرار نانولوله‌ها اشاره کرد.

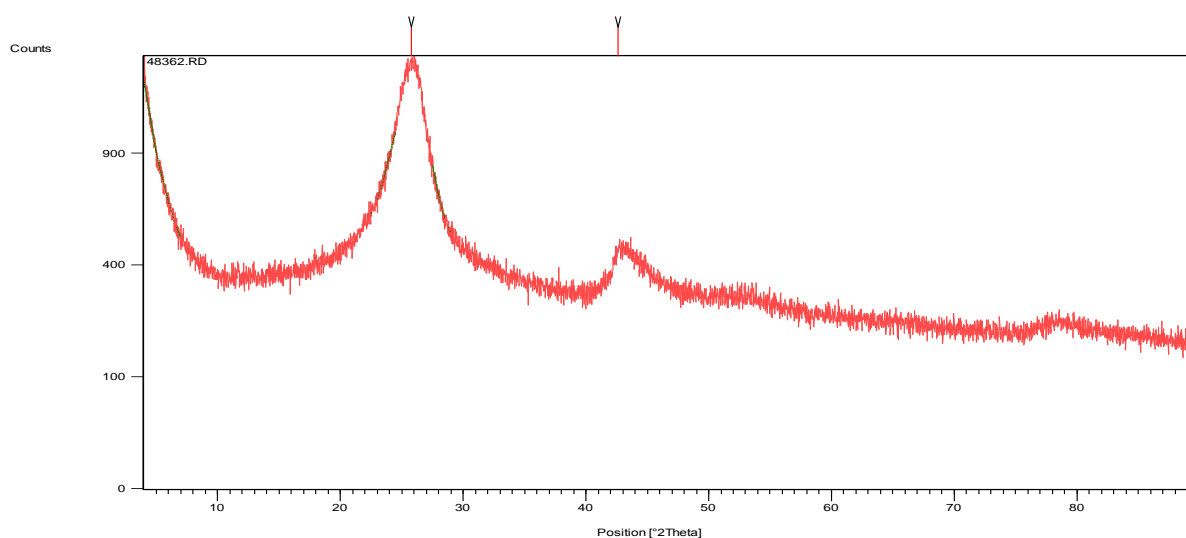
۳- نتایج اثر نانولوله کربنی چند جداره بر ویژگی‌های فراساختار ریشه گیاه کرچک

با اسپری نانولوله‌های کربنی روی برگ‌های گیاه کرچک، نفوذ تعدادی از نانولوله‌ها به سلول‌های ریشه در واکوئل و سیتوپلاسم مشاهده شد. با توجه به شکل ۵، فلش‌های قرمز، حضور MWCNT را در مکان‌های هدف تعیین شده درون ریشه نشان می‌دهد. اثرات غیر مستقیم MWCNTs روی اندام‌ها قابل تشخیص است. با مقایسه سلول‌های ریشه شاهد و تیمار، می‌توان به تخریب کریستال‌های میتوکندری‌ها، تخریب غشاهای واکوئل، تجمع واکوئل‌ها، تخریب غشای هسته و تا حدی کروماتین‌ها اشاره کرد. همچنین ضخامت زیاد دیواره‌های سلول‌های اسکلیروم تیمار نسبت به شاهد مشخص‌تر می‌باشد. آوند چوبی و بافت مقاوم بالغ و کاملاً نمو یافته نسبت به شاهد، نیز مشاهده شد.

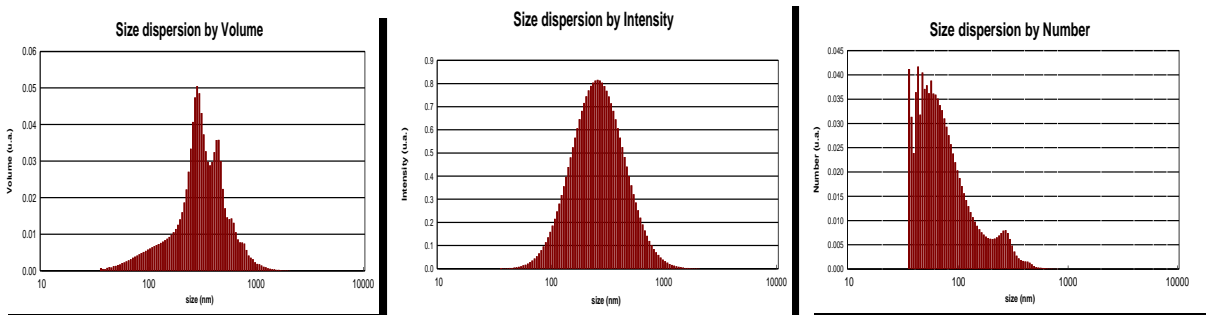
$\mu\text{m s}^{-1} \text{V}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ، میانگین زتا = -26.26 mV می‌باشد. این غلظت نیز پایدار می‌باشد. با مقایسه دو غلظت، غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر پایدارتر است.

۲- نتایج اثر نانولوله کربنی چند جداره بر ویژگی‌های فراساختار برگ گیاه کرچک

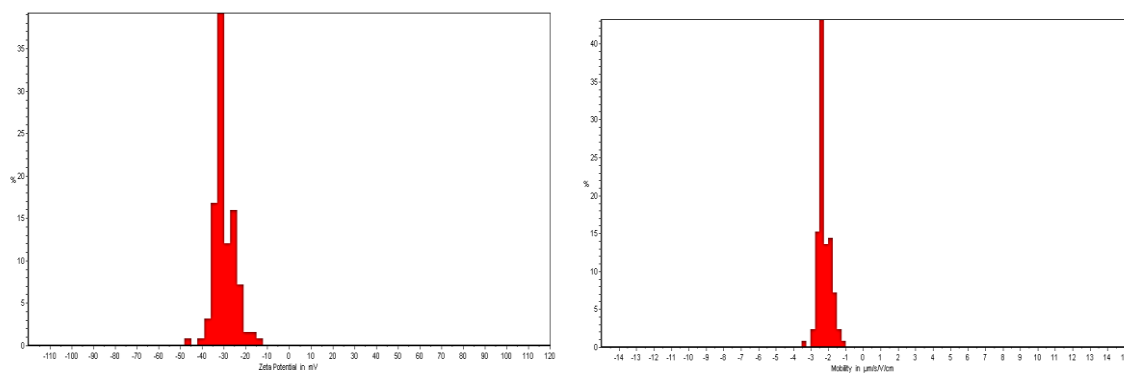
آنالیز بافت‌شناسی انجام شده از طریق TEM، تفاوت‌های فراساختاری را بین بافت‌های گیاهان شاهد و تیمار ۵۰۰ نشان داد. با اسپری نانولوله‌های کربنی چند جداره با غلظت $500 \mu\text{g ml}^{-1}$ روی برگ‌های گیاه کرچک، جذب سلول‌های برگ شده و با گذر از غشا، به درون اندام‌ها نفوذ کرده و باعث تخریب اندامک یا عملکرد آن می‌شود. با توجه به شکل ۴، فلش‌های قرمز، حضور MWCNT را در مکان‌های هدف تعیین شده درون برگ نشان می‌دهد. با مقایسه برگ شاهد و تیمار، تجمع زیادی از نانولوله‌های کربنی چند جداره با طول‌های مختلف درون واکوئل و سیتوپلاسم مشاهده شد. از اثرات MWCNTs می‌توان به تغییر شکل کلروپلاست‌ها از کروی به بیضی شکل و



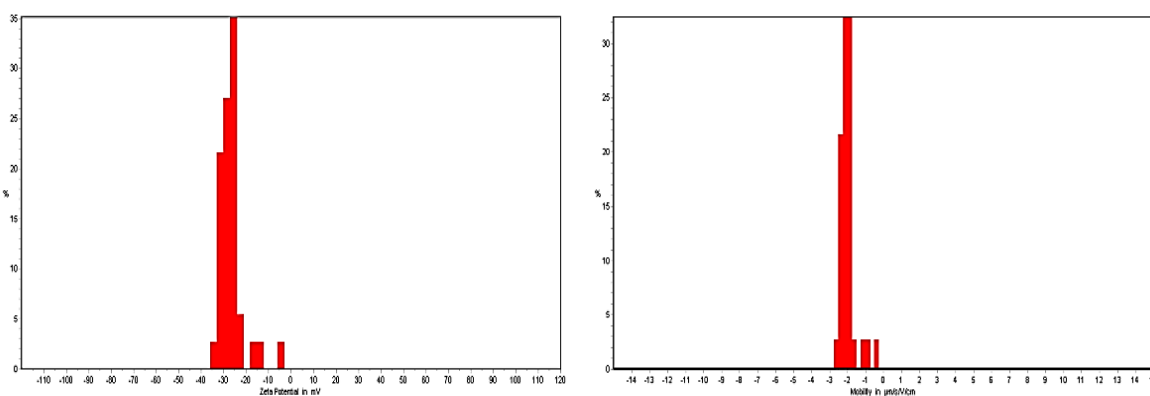
شکل ۱- نمودار XRD نانولوله کربنی چند جداره



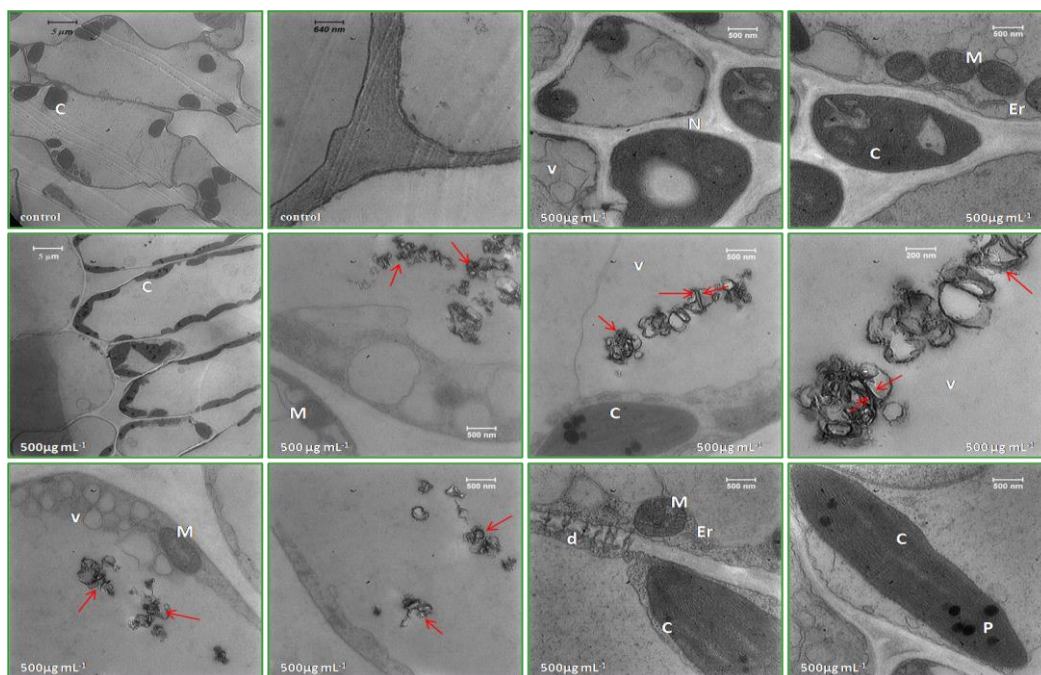
شکل ۲- اندازه نانولوله کربنی چند دیواره اندازه گیری توسط دستگاه نانوپارتیکل سائزر. الف) با تعداد پراکنده شده. ب) با شدت پراکنده شده. ج) با حجم پراکنده شده.



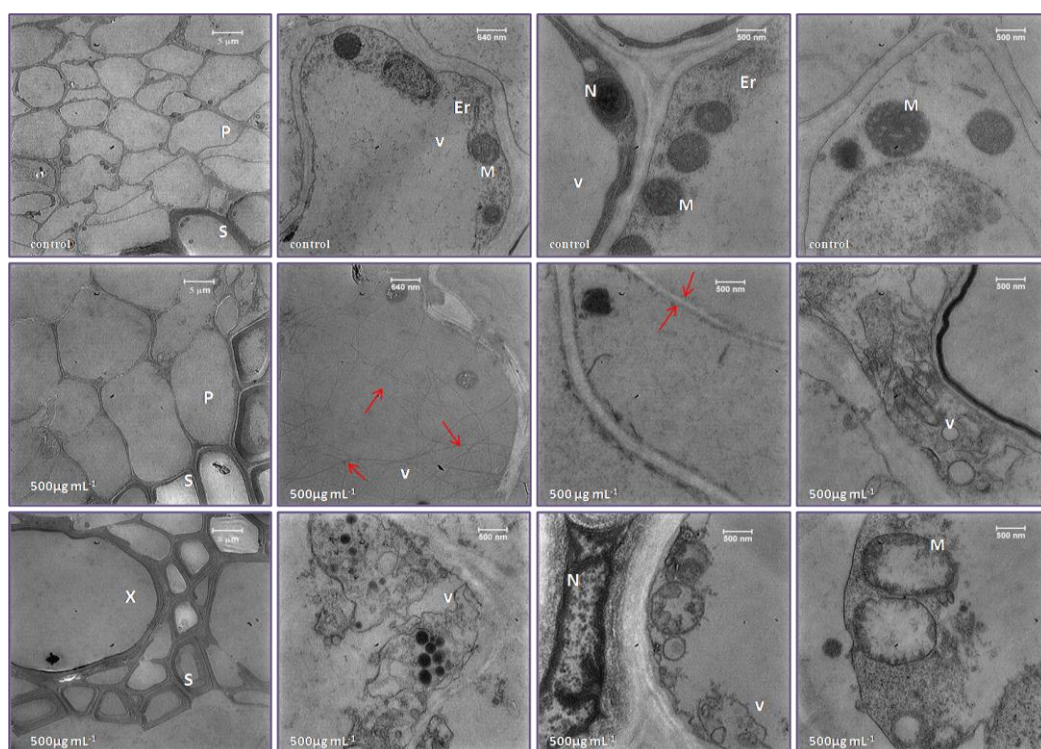
شکل ۳- الف) حرکت ذرات و ب) پتانسیل زتا نانولوله های کربنی چند دیواره توسط دستگاه زتا سائزر برای غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر



شکل ۴- الف) حرکت ذرات و ب) پتانسیل زتا نانولوله های کربنی چنددیواره توسط دستگاه زتا سائزر برای غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر



شکل ۵- تصاویر میکروسکپ الکترونی TEM در جذب MWCNTs به برگ گیاه کرچک تحت غلظت 500 $\mu\text{g/ml}$ در مقایسه با برگ شاهد. فلش‌های قرمز رنگ، نفوذ MWCNTs را در مکان‌های مختلف سلول‌های برگ نشان می‌دهد. MWCNTs با طول‌های مختلف درون واکوئل و سیتوپلاسم قرار گرفته‌اند. (V واکوئل، M میتوکندری، Er شبکه آندوپلاسمی، C کلروپلاست، P پلاستوگلوبولی، N هسته، d پلاسمودسم).



شکل ۶- تصاویر میکروسکپ الکترونی TEM در جذب MWCNTs به ریشه گیاه کرچک تحت غلظت 500 $\mu\text{g/ml}$ در مقایسه با ریشه شاهد. فلش‌های قرمز رنگ، نفوذ MWCNTs را در مکان‌های مختلف سلول‌های ریشه نشان می‌دهد. MWCNTs با طول‌های مختلف درون واکوئل و سیتوپلاسم قرار گرفته‌اند. (P پارانشیم، S اسکلرید، X آوند چوبی، V واکوئل، M میتوکندری، Er شبکه آندوپلاسمی، N هسته).

بحث و نتیجه گیری

مطالعات کمی درباره موقعیت بین سلولی نانولوله های کربنی در گیاهان انجام شده است. در این مطالعه، نفوذ MWCNT به درون سلول های ریشه و برگ تایید شد و MWCNT ها با طول های مختلف در واکوئل و سیتوپلاسم قرار گرفتند. MWCNTs در سلول های برگ باعث تجمع واکوئل ها، تغییر شکل کلروپلاست ها از کروی به بیضی شکل و افزایش تعداد پلاستوگلوبولی ها در استرومای کلروپلاست که محل تجمع چربی بوده و در نتیجه تخریب غشاهای تیلاکوئیدها بر اثر پیری که در اینجا بدلیل تنش نانولوله کربن ایجاد شدند. همچنین در سلول های ریشه منجر به تخریب کریستاهای میتوکندری ها، تخریب غشاهای واکوئل، تجمع واکوئل ها، تخریب غشای هسته و تا حدی کروماتین ها، ضخامت زیاد دیواره های سلول های اسکلرید و آوند چوبی و بافت مقاوم بالغ و کاملاً نمو یافته نسبت به شاهد شدند. تحلیل های میکروسکوپ الکترونی نشان می دهد که تجمع اتم های نقره درون بافت گیاه به تشکیل ذرات نانو این فلز منجر می شود [۴]. گزارشات متعدد نشان دهنده ورود نانولوله ها به اندامک های سلول گیاهی و تأثیر بر اعمال آنها می باشد. اختلال در مسیر متابولیسم انرژی میتوکندری، فتوسنتز و هسته، از اعمال نانولوله های کربن تک دیواره می باشد [۲۳]. نانولوله های عامل دار جهت انتقال به درون سلول ها با اجزای موجود در محیط کشت برهم کنش برقرار کرده که توسط کاسی و همکاران اثبات شد [۲]. نفوذ نانولوله های کربنی به دو لایه فسفولیپیدی غشا توسط محققین گوناگون گزارش شده است [۵ و ۱۸]. در پژوهشی نشان داده شد که MWCNT به سلول های کلم نفوذ کرده و رشد و جذب آب گیاهان در معرض شوری را افزایش

می دهند. گیاهان تیمار شده با شوری (NaCl)، تجمع بالایی از MWCNT را در واکوئل، فضای بین سلولی و سیتوپلاسم نسبت به گیاهان بدون شوری نشان دادند. در مطالعه حاضر نیز تجمع بالایی از MWCNT ها با طول های مختلف در واکوئل و سیتوپلاسم مشاهده گردید. تصاویر میکروسکپ الکترونی TEM ثابت کرد که MWCNT می تواند به سلول های گیاهان بالغ با تجمع بالای استرس شوری، نفوذ کنند [۱۴]. اثرات مثبت MWCNT روی رشد گیاهان تحت تیمار شوری، منجر به افزایش جذب آب شده و با نیروی های محرک فعال، این فرایند گسترش یافته و جذب CO₂ افزایش می یابد. مطالعات انتقال و جابجایی نانولوله ها نشان داد که هیچ برهم کنشی با مواد موجود در سطح ریشه جهت جذب نانولوله های کربن وجود ندارد [۶]. بنابراین نفوذ ممکن است از طریق مسیرهای آپوپلاستی توسط موئینگی صورت گیرد تا به مسیرهای کوچکتر از اندازه شان برسد که با رسیدن به موانع انتقال مواد، تجمع می یابند. MWCNT ها تغییرات اجزای لپیدی و نفوذپذیری غشای پلاسمایی ریشه مربوط به گیاهان تحت استرس شوری را تحریک می کنند. همچنین جابجایی آکوآپورین افزایش یافته و جذب و انتقال آب بهبود یافته و اثرات منفی استرس شوری کاهش می یابد. در گیاهان کلم، قطر و طول MWCNT و غلظت آنها، فاکتور محدود کننده ای جهت جذب مواد غذایی در گیاه نبود [۱۴]. برخی محققین، انباشته شدن نانولوله های کربنی چند دیواره در کلروپلاست گیاهان را به عنوان علل اختلال در فتوسنتز گزارش کردند [۲۳]. ولی در پژوهش حاضر، تجمع مای از نانولوله ها در تصاویر میکروسکپ الکترونی TEM در کلروپلاست مشاهده نگردید. در بررسی فراساختاری

- nanotubes in to cellular membranes, *Biomaterials*, 32: 7079- 7085.
- [6] Husen A. and Siddiqi K. 2014, Carbon and fullerene nanomaterials in plant system. *J Nanobiotechnol*;12:16.
- [7] Kamil Ahmed M., Hussein Falah H., Halbus Ahmed F. and Bahnemann Detlef W. 2014 Preparation, Characterization and Photocatalytic Applications of MWCNTs/TiO₂ Composite, *International Journal of Photoenergy*, Volum 2014, ID 475713, 8page.
- [8] Khan, A. and Sanwal, M. 2015, Medicinal Importance of *Ricinus communis* (Arandi), *International Journal of Current Trends in Pharmaceutical Research*, 3(3): 868-941.
- [9] Khodakovskaya, M.; Dervishi, E.; Mahmood, M.; Xu, Y.; Li, Z.; Watanabe, F. and Biris, A. S. 2009, Carbon Nanotubes Are Able To Penetrate Plant Seed Coat and Dramatically Affect Seed Germination and Plant Growth, *American Chemical Society, ARTICLE*, 3 (10): 3221–3227, review.
- [10] Khodakovskaya, M. V.; de Silva, K.; Biris, A. S.; Dervishi, E. and Villagarcia, H. 2012, Carbon Nanotubes Induce Growth Enhancement of Tobacco Cells, *ACS Nano*, 6 (3), pp 2128–2135.
- [11] Lahiani, M. H.; Dervishi, E.; Chen, J.; Nima, Z.; Gaume, A.; Biris, A. S. and Khodakovskaya, M. V. 2013, Impact of Carbon Nanotube Exposure to Seeds of Valuable Crops, *American Chemical Society*, 5 (16): 7965–7973.
- [12] Ma, X.; Geiser-Lee, J.; Deng, Y.; Kolmakov, A. 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Sci. Total Environ.*, 408: 3053–3061.
- [13] Mani, U. ; Dhanasingh, S.; Arunachalam, R.; Paul, E.; Shanmugam, P.; Rose, C.; Baran Mandal, A. 2013, A Simple and Green Method for the Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Ricinus Communis* Leaf Extract, *Progress in Nanotechnology and Nanomaterials*, 2 (1): 21-25.
- [14] Martínez-Ballest M C.; Zapata L.; Chalbi N. and Carvajal M. 2016, Multiwalled carbon nanotubes enter broccoli cells enhancing growth and water uptake of plants exposed to salinity, *Journal of Nanobiotechnology*, 14: 42.
- اثر نانولوله‌های کربن روی رشد و بافت شناسی توت فرنگی مشاهده شد که در گیاهان تیمار شده با SWCNT-COOH، بافت آوندی نسبت به شاهد بیشتر تمایز یافته است. در بافت‌های شاهد، آوند چوبی میزان قابل توجهی از محتوای سیتوپلاسمی را نشان می‌دهند که نوعی از سلول‌های چوبی نابالغ می‌باشند و در بافت‌های تیمار، آوند چوبی کاملاً نمو یافته و محتوای سیتوپلاسمی دیده نمی‌شود [۳]. در مطالعه حاضر نیز، نمو آوند چوبی و بافت مقاوم تحت تیمار نانولوله کربن مشاهده گردید.

منابع

- [1] Çaglayan, K., Serce, C., Barutcu, E., Kaya, K., Medina, V., Gazel, M., Soyly, S. and Caliskan, O. S.; Vadan R.; Dai L.; Luo M.; Ambikapathi R.; Lee E. H. And Olszyk D. 2008, Comparison by Sequence-Based and Electron Microscopic Analyses of Fig Mosaic Virus Isolates Obtained from Field and Experimentally Inoculated Fig Plants. *Plant Disease*, 94, 1448-1452.
- [2] Casey, A., Farrell, G.F., McNamara, M., Byrne, H.J. and Chambers, G. 2005, Interaction of Carbon Nanotubes with Sugar Complexes. *Synthetic Metals*, 153, 357-360.
- [3] Flores, D.; Chacón, R.; Alvarado, L.; Schmidt, A.; Alvarado, C. and Chaves, J. 2014, Effect of Using Two Different Types of Carbon Nanotubes for Blackberry (*Rubus adenotrichos*) in Vitro Plant Rooting, Growth and Histology, *American Journal of Plant Sciences*, 5, 3510-3518.
- [4] Gardea-Torresdey, J. L., Gomez, E., Peralta-Videa, J. R., Parsons, J. G., Troiani, H., and Jose-Yacaman, M. 2003, Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Langmuir*, 19(4), 1357-1361.
- [5] Hofinger H.; Melle-Franco M.; Gallo T.; Cantelli A.; Calvaresi M., Gomes J. A. N. F. And Zerbetto F. 2011, A Computational analysis of the insertion of carbon

- [15] Milne, W.I.; Teo, K.B.K.; Amaratunga, G.A.J.; Legagneux, P.; Gangloff, L.; Schnell, J.P.; Semet, V.; Binh, V.T.; Groening, O. 2004. Carbon nanotubes as field emission sources. *J. Mater. Chem*, 14, 933–943.
- [16] Nel, A.; Xia, T.; Meng, H.; Wang, X.; Lin, S.; Ji, Z.; Zhang, H. 2013, Nanomaterial toxicity testing in the 21st century: Use of a predictive toxicological approach and high-throughput screening. *Acc.Chem. Res.*, 46: 607–621.
- [17] Pourkhaloee, A.; Haghghi, M.; Saharkhiz, M. J.; Jouzi, H. and Doroodmand, M. M. 2011, Carbon nanotubes can promote seed germination via seed coat penetration. *Journal of Seed Technology*. 33 (2): 155-169.
- [18] Pogodin S. And Baulin V. A. 2010, Can a carbon nanotube pierce through a phospholipid bilayer? , 1010-1462.
- [19] Prakash, E. and Gupta, D.K. 2014, In Vitro Study of Extracts of *Ricinus communis* Linn on Human Cancer Cell lines, *Journal of Medical Sciences and Public Health*, 2 (1): 15-20.
- [20] Ray, M. 2010, The Effects of Single-Walled Carbon Nanotubes on Plant Growth, *Electronic Theses and Dissertations*. Paper 90.
- [21] Srinivasan, C.; Saraswathi, R. 2010, Nanoagriculture—carbon nanotubes enhance tomato seed germination and plant growth. *Curr Sci* 99:274–275.
- [22] Tiwari, D. K.; Dasgupta-Schubert, N.; Villasenor Cendejas, L. M.; Villegas, J.; Carreto Montoya, L.; Borjas García, S. E. 2014, Interfacing carbon nanotubes (CNT) with plants: enhancement of growth, water and ionic nutrient uptake in maize (*Zea mays*) and implications for nanoagriculture, *Appl Nanosci*, 4:577–591.
- [23] Yuan H.; Hu S. H.; Huang P.; Song H.; Wang K.; Ruan J.; He R. And Cui D. 2011, Single walled carbon nanotubes exhibit dual-phase regulation to exposed *Arabidopsis mesophyll* cells. *Nanoscale Research Letters*, 6: 44-52.

