مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره 5، شماره 1، بهار 1392)

اثر نانوذره TiO_2 برصفات جوانه زنی و شاخص های سیتوژنتیکی گیاه جو

سهیلا تکلو*[1]، داریوش داودی[2]، منصور امیدی[3]، محمدعلی ابراهیمی[4]، فرانک روزبه[5]، عبدالرحمن رسول نیا[6]

1- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، دانشگاه تهران،پردیس کشاورزی و منابع طبیعی،گروه زراعت و اصلاح نباتات
2- رئیس بخش نانو تکنولوژی و زیر کمیته استاندارد کمیته فناوری نانو وزارت جهاد کشاورزی
3- استاد گروه زراعت واصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
4- استادیار گروه بیوتکنولوژی دانشگاه پیام نور
5- عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند
6- کارشناس ارشد اصلاح نباتات،دانشگاه تهران،پردیس کشاورزی و منابع طبیعی،گروه زراعت و اصلاح نباتات

تاریخ دریافت: 1390/8/4، تاریخ پذیرش: 1391/3/24

چکیده

نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (Tio_2) مانند سایر نانو مواد مهندسی شده دارای ویژگی های غیر متداول بوده و درصورت آزادسازی در محیط ممکن است تبدیل به دسته جدیدی از آلوده کنندگان محیطی شده و تهدیدی درسلامت جامعه و اکوسیستم باشد. این تحقیق در بررسی اثر نانو ذره Tio_2 بر صفات جوانه زنی و شاخص های سیتوژنتیکی سلول های در حال تقسیم رقم والفجر گیاه جو در شرایط درون شیشه ای انجام شد. جوانه زنی بذور جو در غلظت های مختلف نانوذره Tio_2 (صفر،10، 25، 50 و 100 میلی گرم در لیتر) در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی انجام شد. صفات سرعت جوانه زنی، سرعت رشد ریشه چه و گیاهچه، طول و تعداد ریشه چه و ساقه چه همچنین شاخص میتوزی، متافازی و انحرافات کروموزومی مانند پل آنافاز، قطعات کروموزومی، تلوفاز چسبیده و ریز هسته اندازه گیری شد. مقایسه تیمارهای نانوذره Tio_2 با تیمار شاهد نشان داد که غلظت های مختلف نانوذره Tio_2 نسبت به شاهد سبب افزایش شاخص انحرافات کروموزومی جو شد در صورتی که بر سایر شاخص های سیتوژنتیکی و صفات جوانه زنی تاثیر معنی داری نداشت. به نظر می رسد نانو ذره Tio_2 پتانسیل ایجاد خسارت به مواد ژنتیکی یوکاریوتی را دارا بوده و توجه به جنبه های ایمنی زیست محیطی آن از اهمیت خاصی بر خوردار است.

کلمات کلیدی: *جو، شاخص سیتوژنتیکی، نانو ذره دی اکسید تیتانیوم.*

* نویسنده مسئول: سهیلا تکلو تلفن: 09124632668 Email: Stakallo@yahoo.com

مقدمه

نانو ذره Tio_2 به عنوان یکی از نانو بلورهای نیمه هادی اکسید فلزی، جایگاه ویژه ای در جهان صنعتی امروز یافته و توجه بسیاری از دانشمندان را به خود جلب کرده است. Tio_2 به سه شکل بلوری شامل آناتاز[1] (چهاروجهی با چگالی 3/894 گرم بر سانتیمتر مکعب)، روتایل[2] (چهاروجهی با چگالی 4/25 گرم بر سانتیمتر مکعب) و بروکیت[3] (بی شکل با چگالی 4/12 گرم بر سانتیمتر مکعب) موجود است (Salari *et al.*,2007; Ahmad *et al.*, 2007). نانو ذره Tio_2 کلیه خصوصیات Tio_2 را دارا بوده و همچنین به واسطه کوچکی اندازه ذرات، سطح تماس آن با مواد افزایش یافته و کارایی و اثر بخشی بیشتری دارد (Karimi *et al.*,2009) به طوری که این خواص غیر معمول، موجب ایجاد نگرانی در مورد اثرات بالقوه آنها روی محیط زیست شده است. بنابراین درک چگونگی مهاجرت و رفتار نانومواد آزاد شده در محیط و اثر متقابل آنها با موجودات زنده و اجزاء غیرزیستی محیط، که بتواند مبنای اقدامات پیشگیرانه در ساخت و مصرف مطمئن‌تر محصولات نانویی شود از اهمیت خاصی برخوردار است (Klaine *et al.*, 2008; Sighn *et al.*, 2009; Alvarez *et al.*, 2009). تحقیقات نشان می دهد که نانوذرات Tio_2 پس از جذب توسط سلول های گیاه ذرت منجر به کاهش شاخص میتوزی و افزایش انحرافات کروموزومی شده است (Ruffini Castiglione *et al.*, 2010).

نتایج مطالعه اثر نانوذره Tio_2 در سلول های گیاهی (پیاز و توتون) و لنفوسیت های انسان، ناهنجاری‌های ریزهسته‌ای و کروموزومی را نشان داد (Ghosh *et al.*, 2010). تحقیقات Huang *et al.* (2009) نشان داد که کاربرد طولانی مدت نانوذره Tio_2 در سلول های کشت شده موش صحرایی منجر به کاهش تقسیم سلولی، انحرافات چند قطبی، جفت شدن کروماتید و تفکیک پذیری کروموزوم ها شده در صورتی که کاربرد کوتاه مدت آن افزایش تعداد سلول های چند هسته ای، افزایش قدرت زنده ماندن سلول و رشد را به دنبال دارد (*Teng Ng et al.*, 2010). در مطالعه ااای مشابه، نانوذرات Tio_2 و فولرین[4] توسط سلول ها جذب شده و در موش تراریخت، منجر به جهش هایی در حد کمبودهای کیلوجفت بازی[5] در ژنوم می-شوند (Xue *et al.*, 2009; Ghosh *et al.*, 2010). تحقیقات حاکی از گزارشاتی در مورد اثرات مثبت، منفی و حساسیت های گیاهان به نانوذره Tio_2 دارد (Klancnik *et al.*, 2010). در بررسی اثر نانو مواد نقره، مس و Tio_2 بر موجودات آبزی ماهی زبرا، پلانکتون، و گونه های جلبکی مشخص شد که نانونقره و نانومس در تمام موجودات آبزی تحت آزمایش سمیت ایجاد کرده، در حالی که Tio_2 در هیچ کدام از آنها مسمومیت ایجاد نمی کند (Griffitt *et al.*,

[1] -Anatase
[2] - Rutile
[3]-Brukite

[4]- Fullerene(C60)
[5] - Kilo-Base Pair Deletion Mutations

2008). مطالعات اخیر، نشان می دهد که نانوذره Tio_2، به وسیله پر کردن فضای بین میکروفیبریل های سلولزی در دیواره سلولی، اثر منفی بر رشد برگ، فعالیت هیدروکسی ریشه و تعرق در گیاهچه ذرت دارد (Asli and Newmann, 2011) Feizi *et al* . 2009) در مقایسه غلظت های Tio_2 نانویی و غیر نانویی بر جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم، تاثیر مثبت Tio_2 نانویی را بر جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای غیر نانویی آن گزارش نمودند (Feizi *et al.*,2011). علاوه بر این مطالعات که موضوع اصلی آنها سلول در حال تقسیم گیاهی و جانوری و نانوذره Tio_2 بوده اثرات سمی سایر نانومواد در موجودات و سطوح متفاوت دیگری نیز بررسی شده است (Wang *et al.*, 2007; Stone *et al.*, 2009; Mrdanovic *et al.*,2009; Sharma *et a l.*, 2009).

با توجه به بازار داخلی و حجم بالای محصولات نانویی، این تحقیق اثر غلظت های مختلف نانوذره Tio_2 را بر جوانه زنی و برخی ویژگی های سلول های در حال تقسیم گیاه جو در شرایط درون شیشه ای نشان می دهد.

مواد و روش ها

در این مطالعه از رقم والفجر گیاه جو تهیه شده از بانک ژن گروه زراعت واصلاح نباتات پردیس کشاورزی ومنابع طبیعی دانشگاه تهران استفاده شد. جهت جوانه زنی بذور، 20 بذر جو در هر پتری دیش بر روی کاغذ صافی استریل قرار داده شد. آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد که محلول های نانوذره Tio_2 در غلظت های صفر، 10، 25، 50 و 100 میلی گرم در لیتر به عنوان تیمار و زمان نمونه برداری به عنوان بلوک در نظر گرفته شد. در تیمار صفر از آب مقطر استفاده شد. هر پتری محتوی 11 میلی لیتر از محلول مورد نظر بود. قبل از شروع آزمایش، پیش آزمایشی در بهینه سازی شرایط افزایش نرخ تقسیم سلول ها انجام شد که هدف آن بالا بردن تعداد سلول های در حال تقسیم بود. به این ترتیب که پتری دیش های حاوی بذور به مدت 40 ساعت در دمای اتاق قرار گرفته و پس از یک ساعت قرارگیری در یخچال 4 درجه سانتی گراد به ژرمیناتور با دمای 25 درجه سانتی گراد به مدت 7 ساعت منتقل شدند. سپس یک سانتی متر از انتهای ریشه ها برش داده شد و پس از شستشو با آب مقطر در محلول تثبیت کننده لویتسکی[1] در یخچال 4 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت قرار داده شد. ریشه ها از محلول تثبیت کننده خارج و پس از شستشو با آب به مدت دو ساعت، در الکل 70 درصد و در یخچال 4 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در تهیه اسلاید، ریشه ها از الکل 70 درصد خارج و پس از شستشو با آب مقطر به مدت 11 دقیقه در NaOH یک نرمال در دمای 60 درجه سانتی گراد هیدرولیز شدند. در نهایت ریشه ها به مدت 15 دقیقه با آب مقطر شسته شده و به مدت نیم ساعت در رنگ هماتوکسیلین در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس با استفاده از

[1] -Levitsky

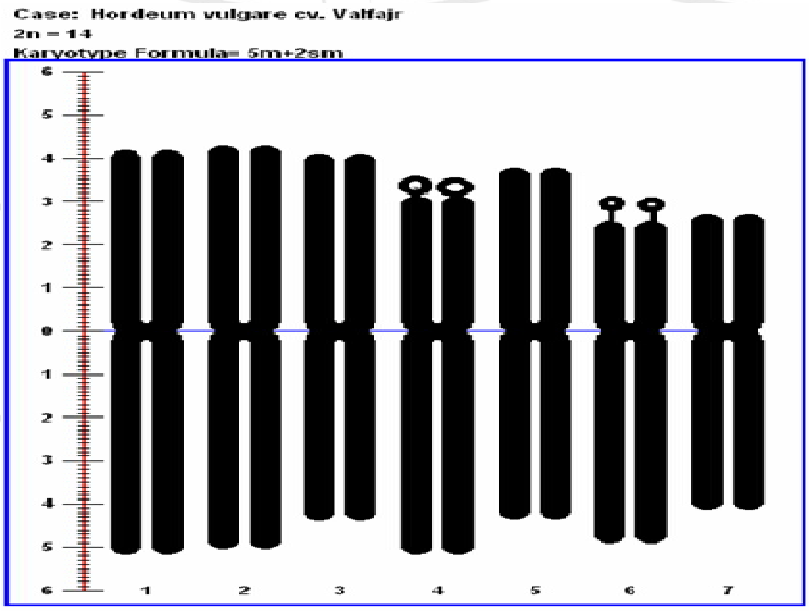
استریومیکروسکوپ و کاغذ میلیمتری، دو میلی متر از نوک ریشه جدا و بر روی لام قرارداده شد. یک قطره اسید استیک 45 درصد به نمونه اضافه شده و با حذف قسمت کلاهک، ریشه اسکواش شد. از هر تیمار شش اسلاید تهیه شد و در هر اسلاید به طور تصادفی 15 میدان دید عدسی 40 میکروسکوپ نوری مورد بررسی و شمارش قرار گرفت. در هر میدان دید، تعداد کل سلول ها، تعداد سلول های اینترفازی، تعداد سلول ها در هر کدام از مراحل مختلف تقسیم میتوز و سلول های با انحراف کروموزومی از قبیل سی- متافاز[1]، عقب ماندگی کروموزومی[2]، متافاز به هم ریخته[3]، پل آنافازی[4]، متافاز چسبیده[5]، آنافاز چسبیده[6]، تلوفاز چسبیده[7]، آنافاز بهم ریخته[8]، قطعات کروموزومی[9]، ریزهسته[10] و پس از آن شاخص میتوزی (تعداد سلول های در حال تقسیم بر تعداد کل سلول ها)، شاخص متافازی (تعداد سلول های متافازی برتعداد سلول های در حال تقسیم) و شاخص انحراف کروموزومی (تعداد سلول های دارای انحراف بر تعداد سلول های در حال تقسیم) محاسبه شد. داده ها با استفاده از نرم افزارهای MSTATC و EXCEL مورد آزمون آماری قرار گرفت. در اندازه گیری و بررسی صفات مربوط به جوانه زنی، عملیات کشت بذر و اعمال تیمار غلظت های متفاوت نانو ذره Tio_2 به صورت فوق و در 4 تکرار انجام شد. در هر تکرار، 20 بذر در هر پتری دیش کشت شد و در مجموع برای هر تیمار 80 بذر استفاده شد. صفات درصد جوانه زنی 52 ساعت پس از کشت، سرعت جوانه زنی بر حسب تعداد در ساعت، سرعت رشد طولی ریشه و ساقه بر حسب میلی متر بر ساعت، طول ریشه 52 ساعت پس از کشت و طول ساقه 88 ساعت پس از کشت مورد اندازه گیری قرار گرفتند. اندازه گیری ها به فواصل زمانی 4 ساعته در طول دوره انجام شدند.

نتایج و بحث

کاریوتیپ شاهد جو (بدون استفاده از نانو ذره Tio_2) جهت انجام مقایسات مورفولوژیکی مشخص شد (شکل 1). کروموزوم های پایه جو در کاریوتیپ گزارش شده از نوع متاسنتریک، ساب متاسنتریک بوده و دارای یک جفت انقباض ثانویه بود (Davodi *et al.*, 1995).

میانگین صفات شاخص های سیتوژنتیکی جو تحت تیمار غلظت های مختلف نانو ذره Tio_2 محاسبه شد (جدول1).

[1] -C-metaphase
[2] -Laggard chromosome
[3] -Disturbed metaphase
[4] -Anaphase bridge
[5] -Sticky metaphase
[6] -Sticky anaphase
[7] -Sticky telophase
[8] -Disturbed anaphase
[9] -Fragment chromosomal
[10] -Micronuclei



شکل 1- ایدیوگرام کروموزوم های جو والفجر با استفاده از نرم افزار PKAP.

Figure 1 – Valfajr barley chromosomal ideogram with use PKAP software.

جدول 1- داده ها، میانگین ها و انحراف معیار صفات سیتوژنتیکی تحت تیمار غلظت های TiO_2.

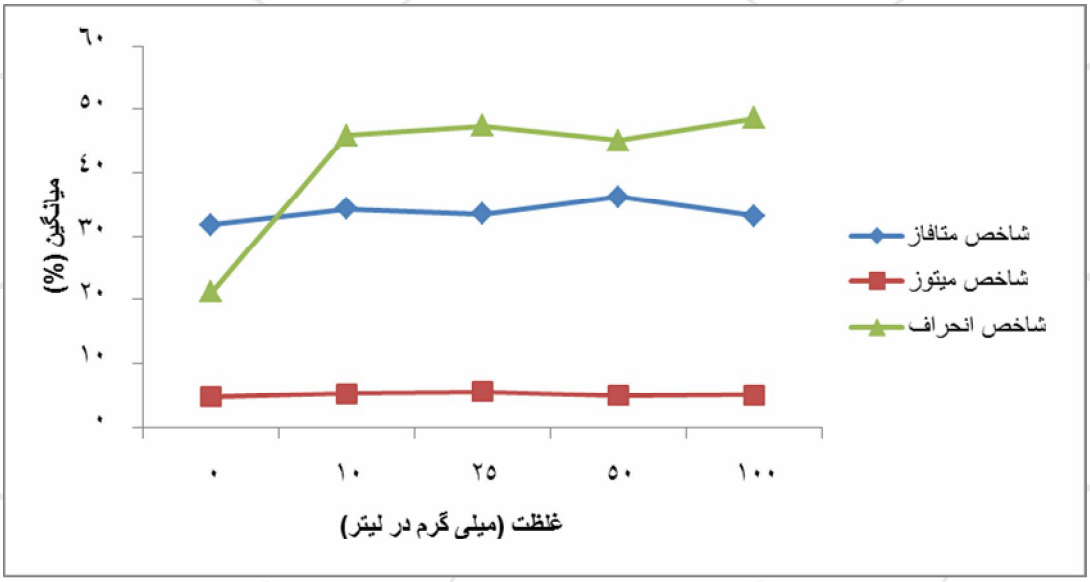
Table 1- Data, mean and standard deviation cytogenetically traits under concentrations of titanium dioxide treatments.

غلظت (پی پی ام) concentration (ppm)	تعداد کل سلول ها Total number of cells	شاخص میتوزی(%) Mitotic Index (%)	شاخص متافازی (%) Metaphase Index (%)	شاخص انحراف کروموزومی (%) Chromosomal aberration (%)
0	35438	4.69± 0.31	31.76± 8.73	21.26 ± 2.84
10	25470	5.25± 1.49	34.35± 11.02	45.94± 9.59
25	26453	5.46± 0.76	33.55± 4.19	47.39± 3.13
50	31861	4.94± 1.92	36.22± 12.46	45.08± 13.53
100	32824	4.99± 0.98	33.18± 6.59	48.67± 10.44

تعداد کل سلول های شمارش شده در هر تیمار که مجموع سلول های موجود در میدان دیدهای میکروسکوپی آن تیمار هستند نسبت به شاهد روند کاهشی داشت. در تحقیقات گذشته نیز کاربرد نانوذره Tio_2 در ذرت و *Vicia narbonensis* منجر به کاهش تعداد سلول های شمارش شده، گردید (Ruffini Castiglione *et al.*, 2010).

روند نزولی و صعودی شاخص ها در شکل 2 نشان داده شده به طوری که با افزایش غلظت نانوذره، شاخص های میتوزی، متافازی و انحرافات کروموزومی در تیمارهای نانوذره Tio_2 نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در اثر افزایش غلظت نانوذرهTio_2، تغییرات در نمودارهای شاخص میتوزی و متافازی ناچیز بود به طوری که اثر تیمار در صفت های شاخص میتوزی و متافازی در تجزیه واریانس (جدول 2) معنی دار نشد. این تغییرات در نمودار شاخص انحراف بین غلظت های صفر(شاهد) و 10 میلی گرم در لیتر نانو ذره مشهود است ولی با افزایش غلظت نانوذره Tio_2 تغییرات ناچیز شد. تعدیل روند تغییرات با افزایش غلظت نانوذره را می توان به خواص نانومواد ارتباط داد بدین معنی که با افزایش غلظت، نانومواد رسوب کرده و خواص توده ای را نشان می دهند. بنابراین اثر نانوذره Tio_2 در القای انحرافات کروموزومی به غلظت وابسته است (Ghosh *et al.*,2010). افزایش میانگین شاخص انحرافات کروموزومی در غلظت های پایین نانوذره Tio_2 و کاهش آنها در غلظت های بالاتر (شکل2) نیز نشان داد که رابطه خطی بین متغیر غلظت و میانگین صفت وجود ندارد. کاربرد نانوذرات نقره در پیاز نیز نشان داده که رابطه خطی بین مدت زمان اعمال تیمار و فراوانی پل های آنافازی وجود ندارد (Babu *et al.*, 2008).

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که افزایش شاخص های میتوزی و متافازی از لحاظ آماری معنی دار نبوده، اما افزایش میانگین های شاخص انحرافات کروموزومی در تیمارها نسبت به شاهد در سلول های در حال تقسیم، ناشی از اثر معنی دار نانوذره Tio_2 بر صفات می باشند (جدول2). با توجه به معنی دار نشدن اثر تیمار در صفات شاخص میتوزی و متافازی، گروه بندی داده ها در دو گروه شاهد و تیمار نانویی صورت گرفت و آزمون T-test برای فرض مساوی بودن میانگین ها در این دو گروه انجام شد (جدول3). نتایج آزمون T-test نشان داد که حضور نانوذره بر شاخص های میتوزی و متافازی در گیاه جو رقم والفجر اثر معنی داری نداشته که احتمالا بیانگر میتوز و متافاز نرمال است. در مطالعه Ghosh *et al* (2010) نیز تغییرات معنی داری در سلول های تیمار شده پیاز با نانوذره Tio_2 نسبت به شاهد وجود نداشت که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.



شکل2- تغییرات شاخص های میتوزی، متافازی و انحرافات کروموزوم در غلظت های نانوذره Tio_2.

Figure 2- Changes in mitotic and metaphase index and chromosome aberrations in concentrations of Tio_2 nanoparticle.

جدول 2- تجزیه واریانس صفات شاخص میتوزی، شاخص متافازی و شاخص انحرافات کروموزومی تحت تیمارهای متفاوت Tio_2

Table2-ANOVA Analysis of mitotic, metaphase and chromosomal aberrations index under different treatment of Tio_2

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی degrees of freedom	میانگین مربعات Mean of Square		
		شاخص میتوزی Mitotic Index	شاخص انحراف aberration chromosomal	شاخص متافازی Metaphase Index
بلوک Block	2	5.622*	215.584*	328.034*
تیمار treatment	4	0.264 ns	396.074*	8.079 ns
خطا error	8	0.489	46.632	21.492
C.V ضریب تغییرات		13.80	16.39	13.71

ns و* به ترتیب عدم تغییر معنی دار و تغییر معنی دار در سطح پنج درصد.

میانگین و انحراف معیار صفات مختلف جوانه زنی بذر تحت تیمار غلظت های مختلف نانوذره Tio_2 در جدول 4 آمده است. تجزیه واریانس و سپس آزمون T-test این صفات نشان

داد که اختلاف میانگین صفات سرعت جوانه زنی و سرعت رشد طولی ریشه چه و ساقه چه در تیمارهای مختلف نانو ذره Tio_2 و شاهد از نظر آماری معنی دار نیست. به بیان دیگر نانوذره Tio_2 بر این صفات تاثیر نداشت. تحقیقات نشان داده که نانوذره Tio_2 بر روی میانگین طول ریشه ها و تعداد ریشه در هر غده در گیاه پیاز تاثیر نداشته است (Klancnik, 2010) در حالی که وزن خشک و تر گیاهچه اسفناج را افزایش می دهد (Yang *et al.*, 2007; Mingyu *et al.*, 2007).

آنافاز چسبیده (Sticky Anaphase)

متافاز چسبیده (Sticky Metaphase)

متافاز به هم ریخته (Disturbed Metaphase)

ریز هسته (Micronucleuse)

متافاز (Metaphase)

آنافاز (Anaphase)

شکل 3– نمونه ای از تصاویر میکروسکوپی سلول های دارای انحرافات کروموزومی و شاهد در تقسیم میتوز گیاه جو والفجر.

Figure 3– Some of microscopic images of cells with chromosomal aberrations and control in mitotic division valfajr barley plant.

جدول 3- نتایج آزمون T-test برای فرض مساوی بودن میانگین صفات سیتوژنتیکی شاهد و Tio_2.

Table 3- T-test results of mean comparison for cytogenetical trait of control and dioxide titanium treated.

صفت Trait	درجه آزادی Degrees of freedom	مقدار t t-value	احتمال t t probability
شاخص میتوزی Mitotic Index	13	0.6660	0.5170
شاخص متافازی Metaphase Index	13	0.4933	0.6300
شاخص انحراف کروموزوم Chromosomal aberration Index	13	4.9554	0.0003

جدول 4- میانگین و انحراف معیار صفات جوانه زنی تحت تیمار غلظت های مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم

Table 4 - Mean and standard deviation germination traits under different concentrations of titanium dioxide treatments.

غلظت (میلی گرم در لیتر) Concentration (mg/l)	تعداد کل بذور Total seed	تعداد بذر جوانه زده Number of germination seed	سرعت جوانه زنی (تعداد در ساعت) Germination rate	سرعت رشد طولی ساقه چه (میلی متر بر ساعت) Stem growth rate	سرعت رشد طولی ریشه چه (میلی متر بر ساعت) Root growth rate	طول ریشه چه (میلی متر 52 ساعت پس از کشت) Root lenght	طول ساقه چه (میلی متر 88 ساعت پس از کشت) Stem lenght
0	80	17 ±1.4	0.3±0.05	0.06±0.02	0.13±0.02	8.38±1.1	9.58±1.3
10	80	16.5±1.3	0.28±0.03	0.08±0.02	0.13±0.02	7.65±1.3	11.8±3.4
25	80	18.75±1.2	0.35±0.07	0.06±0.03	0.15±0.02	8.69±0.9	7.57±4.2
50	80	16.75±2.1	0.29±0.04	0.07±0.02	0.14±0.03	8.54±1.5	11.6±2.9
100	80	17.5± 1.0	0.28±0.06	0.08±0.03	0.12±0.03	6.98±1.8	9.4±2.8

نتیجه گیری

اثرات سوء ژنتیکی نانوذره Tio_2، در گیاهان به صورت کامل مشخص نیست و این مطالعات در شرایط محیطی بسیار ناچیز است (Trouiller *et al.*,2009)، اما خطر کلی نانو مواد به پایداری آن ها در مواد زیستی و زمان واقعی اثر گذاری آن ها مربوط است. نانوذراتی که به راحتی به موادی با سمیت کم تجزیه می شوند نسبت به نانوذرات مقاوم در برابر تجزیه زیستی، از زیان آوری کمتری برخوردارند (Teng NG *et al.*, 2010). در این راستا ساختار سه بعدی، شکل و اندازه نانوذرات در زیان آور بودن آنها نقش بسزایی دارد (Salari *et al.*,2007)، برای مثال Gurr *et al* (2005) نشان دادند فرم آناتاز نانوذره Tio_2 با اندازه 20 نانومتر منجر به افزایش سلول های دارای ریزهسته شده در حالی که اندازه 200 نانومتر دو فرم آناتاز یا روتیل بر سلول تاثیر ندارند (Gurr *et al.*,2005). مطالعات Stone *et al* (2009) و Landsiedel *et al* و همکاران (2009) نشان داد که بر اساس دانش موجود هر نانوذره ای احتمالا اثر ژنوتوکسیسیتی محدودی را القاء کرده و منجر به شکست های رشته ای در مولکول DNA و در نتیجه آسیب به ماده ژنتیکی می شود (Skocaj *et al.*, 2011; Foltete *et al.*, 2011; Lindberg *et al.*, 2011; Saquib *et al.*, 2011; Shing *et al.*, 2009*; et al.*, Serpone *et al.*, *2001;* Virgilio *et al.*, 2010*)*

نتایج تحقیقات نانوذره Tio_2 بر ماده ژنتیکی موجودات زنده تقریبا مشابه بوده و اغلب انحرافات کروموزومی در مواد ژنتیکی دیده شده ولی در مورد اثر نانوذره Tio_2 بر صفات ماکروسکوپی نتایج متفاوتی گزارش شده است. برای مثال نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر جوانه زنی و رشد بذور اسفناج اثر مثبت داشته و رشد اسفناج را تسریع کرد (Mingyu *et al.*, 2007)، اما در گیاه جو و باقلا بی تاثیر بود (Takallu, 2011*;* Foltete *et al.*, 2011) و در گندم جوانه زنی بذور در غلظت های مناسب نانوذره Tio_2 نسبت به حالت توده ای افزایش داشت ولی در غلظت های بالا بازدارنده یا غیرموثر بود.

نتایج این تحقیق نشان داد که نانوذره Tio_2 مانند برخی نانو مواد دیگر پتانسیل ایجاد خسارت به مواد ژنتیکی یوکاریوتی را داشته و در استفاده از آن توجه به جنبه های ایمنی زیست محیطی آن اهمیت خاصی دارد. لذا با گسترش استفاده از ذرات نانو در زمینه های مختلف توجه به تاثیرات سوء این مواد مخصوصا در زمینه های ژنتیکی بیشتر می شود.

منابع

Ahmad A, Awan GH, Aziz S (2007). Synthesis and applications of TiO_2 nanoparticles.Pakistan engineering congress 676:405-407

Asli S, Neumann PM (2009). Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. Plant cell environ 32:577-584.

Alvarez PJJ, Colvin V, Lead J, Stone V (2009). Research priorities to advance ecoresponsiblenanotechnology. American Chemical Society Nano 3: 1616—1619.

Babu K, Deepa M.A, Gokul Shankar S(2008). Effect of nano – silver on cell division and mitotic chromosomes:A prefatory siren. The Internet journal of nanotechnology 2:1-19.

Cheng – Teng NG, Jasmine JL, Boon – Huat B, Lin–Yue LY (2010). Current studies into the Genotoxic effects of nanomaterials. Journal of Nucleic Acides 2010: 1-12.

Davoodi, D (1995). Cytological evaluation of chromosomal diversity of barley somatic clone in development callus structure. M.Sc Thesis. University of Tehran, Karaj,Iran.

Feizi H, Rezvani Moghadam P, Fotovat A, Shah Tahmasbi N (2011). Reaction of wheat seed to different concentrations of titanium dioxide nanoparticles in comparison with non-nano-particles. Proc. Of 2th congress on science and technology seed. Nov. 4-5, Mashhad,Iran. pp. 565-569.

Foltete AS, Masfaraud JF, Bigorgne E, Nahmani J, Chaurand P, Botta C, Labille J, Rose J, Ferard JF, Cotelle S (2011). Environmental impact of sunscreen nano materials: Ecotoxicity and genotoxicity of altered TiO_2 nanocomposites on Vicia faba .Environmental pollution 159: 2515-2522.

Ghosh M, Bandyopadhyay M, Mukherjee A (2010). Genotoxicity of titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles at two trophic levels: Plant and human lymphocytes. Chemosphere 81: 1253–1262.

Griffitt RJ, Luo J, Gao J, Bonzonqo JC, Barber DS (2008). Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. Environmental toxicological chemistry 27:1972-1978.

Gurr JR, Wang ASS, Chen CH, Jan KY (2005). Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. Toxicology.213:66-73.

Huang S,Chueh PJ, Lin YW, Shih TS, Chuang SM (2009). Disturbed mitotic progression and genome segregation are involved in cell transformation mediated by nano- TiO_2 long-term exposure. Toxicology and applied pharmacology 241: 182-194.

Karimi L, Mirjalili M (2009). Titanium dioxide. Journal of Nanotechnology 8: 23-25.

Klaine SJ, Alvarez PJJ, Batley GE, Fernandez TF, Handy RD, Lyon DY, Mahendra S, McLaughlin MJ, Lead JR (2008). Nanomaterials in the environment: Behaviou, fate, bioavailability, and effects. Environment Toxicol and Chemestry. 27 : 1825—1851.

Klancnik K, Drobne D, Valant J, Dolenc Koce J (2011). Use of a modified Allium test with nanoTio_2. Ecotoxicology and Environmental Safety.74:85-92.

Kumari M, Mukherjee A, Chandrasekaran N (2009). Genotoxicity of silvernanoparticles in Allium cepa. Science Total Environment 407: 5243-6.

Landsiedel R, Kapp MD, Schulz M, Wiench K, Oesch F (2008). Genotoxicity investigations on nanomaterials: Methods,preparation and characterization of test material , potential artifacts and limitations – Many questions,some answers. Mutation Research 681:241-258.

Lindberg HK, Falck GCM, Catalan J, J.Koivisto A, Suhonen S, Jarventaus H, M.Rossi E, Nykasenoja H, Peltonen Y, Moreno C, Alenius H, Tuomi T, M.Savolainen K, Norppa H (2011). Genotoxicity of inhaled nanosized TiO_2 in mice. Genotoxic Potential of Nanomaterials.745:58-64.

Mingyu S ,Hong F,Liu C,Wu X,Liu X,Chen L,Gao F,Yang F, Li Z (2007). Effects of nano-anatase TiO_2 on absorption,distribution of light and photo reduction activities of chloroplast membrane of Spinach. Biological Trace Element Research 118: 120-130.

Mrdanovi´c J, Solaji´c S, Bogdanovi´c V, Stankov K, Bogdanovi´c G, Djordjevic A (2009). Effects of fullerenolC60 (OH) 24 on the frequency of micronuclei and chromosome aberrations in CHO-K1 cells. Mutation Research 680: 25–30.

Nazari R, Tag Abadi Ebrahimi M (2005). Titanium dioxide (TiO2) nanoparticles and applications in the environment. Fourth Conference of Biotechnology, Kerman, Iran.

Ruffini Castiglione M, Giorgetti L, Geri C,Cremonini R (2010). The effects of nano TiO_2 on seed germination,development and mitosis of root tip cells of Vicia narbonensis L and Zea mays L. Journal of Nanoparticle Research. 6: 2443-2449.

Salari M, Rezae M, Mosavi Khuei SM, Marashi P, Moshefi Z (2007). Methods of synthesis of Titanium dioxide nanoparticles. Journal of Iranian ceramics 10: 36-44.

Saquib Q, Al-Khedhairy A, Siddiqui MA, Abou-Tarboush FM, Azam A, Musarrat J (2011). Titanium dioxide nanoparticles induced cytotoxcicity, oxidative stress and DNA damage in human amnion epithelial (WISH) cells. Toxicology in Vitro 26: 351-61.

Serpone N, Salinaro A, Emeline A (2001). Deleterious effects of sunscreen titanium dioxide nanoparticles on DNA efforts to limit DNA damage by particle surface modification. Biological applications 4258: 86-98.

Sharma V, Shukla RK, Saxena N, Parmar D, Das M, Dhawan A (2009). DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells. Toxicology Letters 185: 211–218.

Sheidai M, Rashid S (2007). Cytogenetic study of some Hordeum L. species in Iran. Acta Biologica Szegedieensis 51: 107-112.

Shing H, Chueh PJ, Yun-Wei L, Tung-Sheng S, Show-Mei C (2009). Disturbed mitotic progression and genome segregation are involved in cell transformation mediated by nano-TiO_2 long-term exposure. Toxicology and Applied Pharmacology 241:182-194.

Singh N, Mans Hian B, Jenkins G, Griffiths S, Williams P, Maffies T, Wright C, Doak S (2009). Nano Genotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials. Biomaterials Review 30: 3891-914.

Kang SJ,Lee YJ,Kim BM,Choi YJ,Chung HW (2011). Cytotoxcicity and Genotoxcicity of titanium dioxide nanoparticles in UVA-irradiated normal peripheral blood lymphocytes. Drug Chemestry Toxicology 34: 277-284.

Skocaj M, Filipic M, Petkovic J, Novak S (2011). Titanium dioxide in our every day life; is it safe. Radiological Oncology 45: 227-247.

Stone V, Johnston H, Schins R (2009). Development of in vitro systems for nanotoxicology: methodological considerationsin vitro methods for nanotoxicology. Critical Reviews in Toxicology 39: 613–626.

Trouiller B, Reliene R, Westbrook A, Solaimani P, H.Schiestl R (2009). Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability in vivo in mice. The Journal of Cancer Research 69: 1916-1930.

Virgilio ALD, Reigosa M, Arnal PM, Fernandez M, Mele LD (2010). Comparative study of the cytotoxic and genotoxic effects of titanium oxide nanoparticles in chinese hamster ovary (CHO-K_1) cells. Journal of Hazard Mater 177: 711-8.

Wang L, Mao J, Zhang G, Tu M (2007). Nano-cerium-element-dopedtitanium dioxide induces apoptosis of Bel 7402human hepatoma cells in the presence of visible light. World Journal of Gastroenterol 13: 4011-4014.

Xu A, Chai Y, Nohmi T, Hei TK (2009). Genotoxic responses to titanium dioxide nanoparticles andfullerene in gpt delta transgenic MEF cells. Particle and Fibre Toxicology 6: 1-13.

Yang F,Liu C,Gao F,Su M,Wu X,Zheng L,Hong F,Yang P (2007). The improvement of Spinach growth by nano anatase TiO_2 treatment is related to nitrogen photoreduction. Biological Trace Element Research 119: 77-88.

The effect of titanium dioxide nanoparticles on barley cytogenetical index

Takallu S.[*1], Davodi D.[2], Omidi M.[3], Ebrahimi M.A.[4], Ruzbeh F.[5], Raosulnia A.R.[6]

1-MSc of biotechnology, College of Agriculture and Natural Resources, Department of agronomy and plant breeding,university of tehran
2- Associate Professor, Head of Nanotechnology Department, Agricultural Biotechnology Research Institute (ABRII), Karaj, Iran
3-Professor, Department of agronomy and plant breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran
4- Associate Professor department of Biotechnology Payame Noor University.
5- Member of scientific board of Institute Research and preparation of modified sugar beet seed.
6- MSc of Plant breeding, Department of Agronomy and Plant breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran.

Abstract

Titanium dioxide such as the other engineered nanomaterials has uncommon properties and if the various form of them to be released in the environment tobecome a new class of pollutants and a threat to public health and ecosystem. This research carried out to investigation of titanium dioxide nanoparticles effect on germination and cytogenetical trait of under division cells of *Hordeum vulgar var valfajr* under in vitro condition. Germination of barley seeds in the presence of different concentrations of titanium dioxide (10, 25, 50, 100 milligram per liter) was carried out in presence of -control and in form of random complete blocks design. Trait of germination speed, speed growth of radicle and plumule, length and number of root and stem also the index of mitosis, metaphase and chromosomal abbrations such as anaphase bridge, chromosome fragment, sticky telophase and micronuclei was measured. Result showed that titanium nanoparticle has significant effect on chromosome abberration of barley and induced abberration index in treated cells in compared with control while does not affect on other cytogenetical index and germination trait.It seems titanium dioxide nanoparticles is competent to damage of eukaryotic genetical material and bring notice to the environmental safety facet is important.

Keywords: ***Barley, Cytogenetically properties, titanium dioxide Nanoparticles.***

[*] Corresponding Author: Takallu S. Tel: 09124632668 Email: stakallo@yahoo.com