

مطالعه رشد و برخی پاسخ های فیزیولوژیکی گیاه آفتابگردان به فلز سنگین

نیکل و اثر نانو جاذب مغناطیسی Fe_3O_4

ساسان محسن زاده*^۱، لقمان آقایی^۱

^۱*-نویسنده مسئول، گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه شیراز

*ایمیل نویسنده مسئول: mohsenz@shirazu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۳

چکیده

آزمایش با چهار غلظت نیکل کلرید (۰، ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم در لیتر) و غلظت ۴ گرم در لیتر نانوجاذب Fe_3O_4 به علاوه شاهد انجام شد. تیمارها بصورت محلول به گیاه به عنوان جایگزین با آب آبیاری داده شدند. آزمایش بصورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بود. کمترین میزان رشد مربوط به گیاهان با تیمار ۲۲۰ میلی گرم در لیتر نیکل بود. پرولین در اندام هوایی بیشتر از ریشه افزایش معنی داری نسبت به شاهد نشان داد. اندازه گیری فلز سنگین نیکل توسط دستگاه جذب اتمی پلاسمایی اسپکترومتری نشان داد که با افزایش غلظت فلز نیکل در آب (تیمار نیکل)، میزان آن در گیاه افزایش می یابد ولی تیمار نانو ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 کاهش معنی داری را در غلظت های نیکل نشان دادند که بیانگر موفقیت آمیز بودن نانوجاذب در حذف فلز نیکل بود. تنش فلز سنگین موجب افزایش توان آنتی اکسیدانی شد و تیمار نیکل با نانوذره در هر سه غلظت موجب کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی گردید. نیکل در غلظت های بالا برای گیاه آفتابگردان سمی بوده و نانو جاذب مغناطیسی Fe_3O_4 با موفقیت ۹۹ درصدی فلز سنگین را جذب کرده و اثرات سمی آن را کاهش می دهد.

کلمات کلیدی

"آنتی اکسیدان"، "تنش، جذب"، "سمیت"، "نانو ذره"

۱- مقدمه

گیاه، سوخت و ساز و تولید دارد و مانع جوانه زنی می گردد (Nedhi et al., 1990). نانوجاذب ها ذراتی نانومتری از مواد آلی یا غیرآلی هستند که تمایل بالایی به جذب مواد دارند. نانوجاذب ها کاربرد هایی در پاک سازی آب دارند و می توانند در خالص سازی آب های زیرزمینی یا فرایند های تصفیه فاضلاب استفاده شوند. کربن فعال نمونه ای از بهترین جاذب های معمول در کاربردهای زیست محیطی است. جاذب هایی که به نانو ساختار تبدیل شده اند، فرصتی را در اختیار قرار داده اند که بتوان حتی به سطح بالاتری از میزان جذب مواد معمول رسید، این نانوجاذب ها ممکن است بتوانند برای هدف قرار دادن آلاینده های خاص طراحی شوند. مواد مختلفی که از پایه کربنی و اکسید فلزی هستند تحت بررسی قرار گرفته اند تا گروه های گسترده تری از آلاینده ها را تحت تأثیر قرار دهند (Daus et al., 2001). اما باید مطمئن شد که نانوجاذب خود هیچ آسیبی برای سلامت انسان یا محیط زیست ندارد و این ماده با قیمت قابل قبولی در دسترس خواهد بود که اگر کم هزینه تر از سیستم های تصفیه آب فعلی باشد ایده آل است (Qu et al., 2013). در بین نانو ذرات فلزی، نانو ذرات آهن به دلیل فراوانی، ارزانی، غیر سمی بودن، واکنش سریع و توانایی و بازده بالا در جذب آلاینده ها و همچنین حذف فلزات سنگین از آب های آلوده بیشتر مورد توجه بوده است (Kanel et al.,

آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*) گیاهی یک ساله از خانواده کاسنی یا Compositae است. سازگار با شرایط مختلف آب و هوایی و متحمل به خشکی است و قابلیت کشت تحت شرایط دیم و رژیم های مختلف آبیاری را دارد (Aiken, 2005). فلزات سنگین از جمله سرب، آلومینیوم، جیوه، مس، کادمیوم، منگنز و آرسنیک از طریق مصرف محصولات کشت شده در خاک های آلوده، به زنجیره غذایی مصرف کنندگان وارد شده و سلامت انسان ها و حیوانات را به خطر می اندازند (Yang et al., 2004; Sadat Taghavirad et al., 2014). فلزات سنگین می توانند با گروه های سولفو هیدریدیل پروتئین ها ترکیب شوند و باعث کاهش فعالیت آنزیمی گردند. حضور فلزات سنگین در اکوسیستم، تهدیدی برای سلامت جوامع بشری می باشد (Guo et al., 2010; Vardhan et al., 2019). فلزات سنگین بر جوانه زنی بذر گیاهان اثر منفی دارد (Seneviratne et al., 2019; Valkó et al., 2021). نیکل یکی از فلزات سنگین است که موجب نگرانی برای محیط زیست و سلامت انسانی می باشد (Jarup, 2003). نیکل در محیط از صنایع ساطع شده است (Ensink et al., 2007) و اغلب باعث مسمومیت در گیاهان و حیوانات می شود (Hedfi et al., 2007). این فلز سنگین می تواند به راحتی توسط گیاهان در اندام های مختلف تجمع یابد (Liphadzi and Kirkham, 2006). نیکل در غلظت های پایین، به عنوان یک عنصر ضروری برای رشد گیاهان محسوب می شود و در غلظت بالا اثرات سوء بر رشد

مغناطیسی Fe_3O_4 جداگانه آماده شدند. بدین منظور محلول های فلز سنگین در داخل ظروف پلاستیکی سربسته ریخته و سپس به ازای هر لیتر، مقدار ۴ گرم نانو ذره مغناطیسی Fe_3O_4 (تهیه شده از شرکت پیشگامان نانو مشهد با درجه خلوص ۹۸ درصد و اندازه ۳۰-۲۰ نانومتر) اضافه و به مدت ۴۸ ساعت با کمپرسور هوا با قدرت زیاد هم زده شدند و نانوذرات بطور کامل پراکنده شدند. از درب ظروف پلاستیکی شلنگ های پمپ هوا درون محلول قرار گرفتند و درب ظروف بسته شدند. سپس با رعایت نکات ایمنی محلول داخل آن را در بشر ریخته و با آهنربای قوی مخصوص، نانو ذرات را از کناره بیرونی ظروف جذب کرده و محلول حاصل را از صافی (پارچه لمل) عبور داده تا صاف شدند. برای بازیافت نانو ذره آن را با استون شستشو داده و قابل استفاده مجدد می باشد. بذره های آفتابگردان در گلدان های ۲ کیلویی دارای مخلوط خاک رس، ماسه و کود برگ به نسبت مساوی، کشت شدند و بعد از حدود دوماه آبیاری گلدان های آفتابگردان با آب معمولی و رشد گیاهچه ها در گلخانه تحقیقاتی با نور خورشید و دمای حداقل ۱۵ و حداکثر ۳۰ درجه سانتیگراد تیمار دهی انجام شد. تنش فلز سنگین با غلظت های فوق بصورت آبیاری گیاه با محلول تهیه شده به مدت دو هفته و یک روز درمیان انجام شد. تمامی تیمار ها و شاهد با سه تکرار انجام شدند و در مجموع ۲۱ گلدان ۵ کیلویی و در هر گلدان ۹ گیاهچه وجود داشت. پس از دوهفته اعمال تیمار ها، نمونه ها جمع آوری شدند. ابتدا ریشه و اندام هوایی نمونه های گیاهی از هم جدا و وزن تر هر کدام اندازه گیری شد. سپس نمونه ها در فویل های آلومینیومی قرار گرفت و به آزمایشگاه منتقل و با نیتروژن مایع فریز و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری و روز بعد برای اندازه گیری استفاده شدند.

• اندازه گیری فلز سنگین و طیف نانو جاذب

مغناطیسی

مقداری از بافت گیاه را جدا کرده و پس از خشک نمودن در آون، با آسیاب برقی پودر و از الک مش عبور داده شدند. ۲۰۰ میلی گرم پودر الک شده با ترازویی به دقت یک هزارم گرم اندازه گیری و درون لوله آزمایش ریخته و سپس ۵ میلی لیتر تیزاب سلطانی (مخلوط ۳:۱ $HCl:HNO_3$) اضافه گردید. سپس نمونه ها به مدت چهار ساعت در آون در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از خارج کردن نمونه از آون به مدت ۱۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده و محتوای لوله به کمک قیف شیشه ای و کاغذ واتمن شماره ۱ صاف گردید (Mohsenzadeh et al., 2016). اندازه گیری میزان فلز

سنگین با دستگاه ساخت ژاپن به نام

Plasma Atomic Emission Spectrometer Inductively Coupled (ICP-AES) موجود در بخش شیمی دانشگاه شیراز با ۵ میلی لیتر از محلول های مورد نظر انجام شد. نحوه ی محاسبه درصد حذف فلز سنگین در آب تیمار شده با رابطه زیر محاسبه شد (Labidi, 2008).

(2005; Gupta et al., 2021). در فرایند جذب مس، کادمیم و سرب با استفاده از نانو ذرات مغناطیسی اکسید آهن با افزایش درصد جرمی نانو ذرات، غلظت اولیه یون های فلزی و زمان تماس و میزان جذب کاتیون های فلزی افزایش می یابد (Yadavi, 2007). نانو ذرات مغناطیسی دارای مزایای بسیاری از جمله غیر سمی بودن، زیست سازگاری، زمان استخراج بسیار کوتاه، عدم مصرف حلال های آلی، هزینه پایین، سهولت کاربرد، دقت و بازیابی بالا و نهایتاً ظرفیت جذب بالا به علت ساختار نانو و داشتن نسبت سطح به حجم زیاد می باشند. این نوع جدید نانو ذرات سنتز شده به علت اصلاح شدن سطح ذرات با پلیمر، مساحت سطح، مکان های فعال و گروه های عملکردی آن افزایش یافته و همچنین قادر به پیوند با یون های فلزات سنگین هستند. فناوری نانو به بررسی و دستکاری مواد و ساختارهای آن در ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می پردازد تا بتواند مواد جدید با کارایی بالا و ویژگی های متفاوت بسازد. زمانی که اندازه مواد به زیر ۱۰۰ نانومتر کاهش می یابد، خواص غیرمعمولی از خود نشان می دهند (Yang, 2003). جذب سطحی به وسیله نانو ذرات فلزی یک تکنولوژی سازگار با محیط است که در سال های اخیر به عنوان عامل مؤثری برای از بین بردن آلودگی های آلی و یون های فلزات سنگین از آب و فاضلاب مورد بررسی قرار گرفته است (Chen et al., 2010). گونات و همکاران در سال ۲۰۱۷ تاثیر نانو ذرات مغناطیسی (Fe_3O_4) در جذب فلزات سنگین و کاهش سمیت آن ها در گیاه گندم را مورد بررسی قرار دادند. در سال ۲۰۱۶، راجپوت و همکاران، پژوهشی در مورد سنتز نانو ذرات مغناطیسی (Fe_3O_4) و کاربرد آن برای حذف سرب (Pb^{+2}) و کروم (Cr^{+6}) از آب انجام دادند. در سال ۲۰۱۵، گائوتام و همکاران، در مورد حذف فلز سنگین نیکل توسط نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 تحقیق کردند. نانوذرات Fe_3O_4 در آب حل نمی شوند و با توجه به ماهیت فوق العاده پارامغناطیسی می توان آن را با یک آهنربای دستی جدا کرد. بنابراین، آن را می توان به عنوان یک جاذب جایگزین مواد پر هزینه مانند کربن فعال، فیلتراسیون غشاء و تبادل یونی استفاده کرد. رشد و برخی پاسخ های فیزیولوژیکی گیاه آفتابگردان به فلز سنگین نیکل و اثر نانو جاذب مغناطیسی Fe_3O_4 به منظور امکان استفاده از نانو جاذب مغناطیسی در حذف فلز سنگین نیکل در زراعت گیاهانی مانند آفتابگردان مطالعه شده است و بدین منظور رشد ریشه و بخش هوایی و پرولین در اندام هوایی و ریشه و مقدار فلز سنگین نیکل و فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده است.

۲- مواد و روش ها

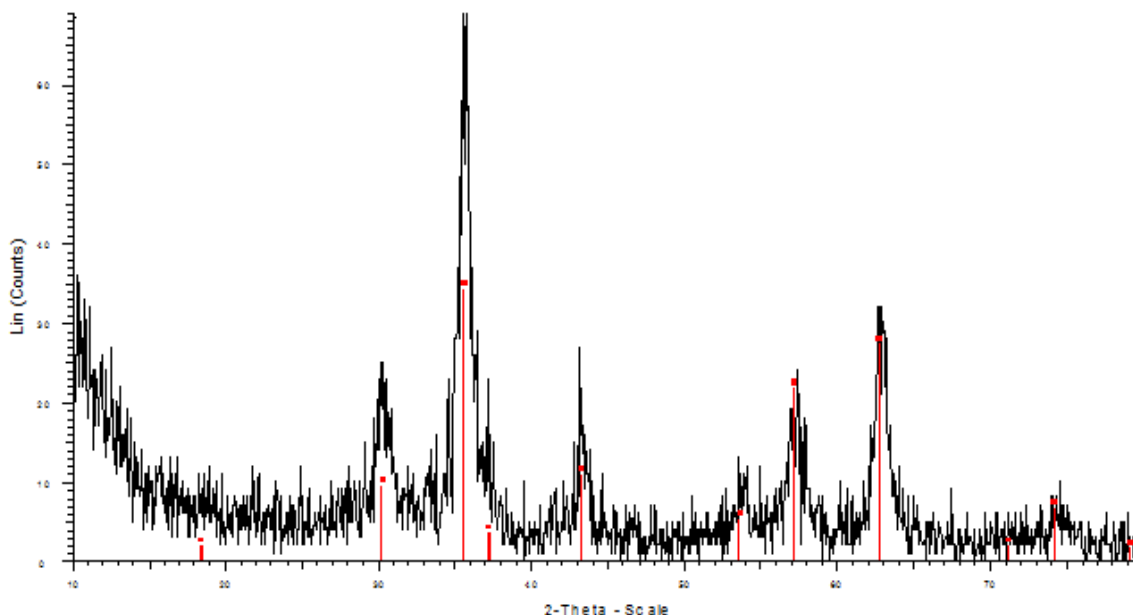
• آماده سازی محلول ها و اعمال تیمار ها به گیاهچه

های آفتابگردان

محلول فلز سنگین نیکل به صورت نیکل کلرید ($NiCl_2 \cdot 6H_2O$) با غلظت های انتخابی ۰، ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم در لیتر بدون نانو ذرات و دارای نانو ذرات

طیف الگوی XRD نانو جاذب مغناطیسی Fe_3O_4 استفاده شده در این پژوهش توسط بخش فیزیک دانشگاه شیراز و به منظور تایید اصالت نانو جاذب مغناطیسی انجام شد.

$$\% \text{Removal} = \frac{\text{غلظت پابانی} - \text{غلظت اولیه}}{\text{غلظت اولیه فلز سنگین}} \times 100$$



شکل 1 - طیف XRD نانوذرات Fe_3O_4 استفاده شده، تطابق قله طیف XRD گرفته شده با قله استاندارد نانو ذره Fe_3O_4 که بصورت خطوط عمودی در اندازه های (2-Theta-scale) $18/5$ ، 30 ، $35/5$ ، $37/2$ ، $43/2$ ، $53/5$ و 57 دیده می‌شوند در شکل ارایه شده است که تایید کننده اصالت نانوذره Fe_3O_4 هستند.

صاف شدند. در داخل استوانه مدرج حجم عصاره را با افزودن متانول به حجم ۱۰ میلی لیتر رساندیم. برای بررسی پتانسیل آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف این عصاره استفاده گردید. در آزمون FRAP، احیاء کننده های (آنتی اکسیدان ها) نمونه، ترکیب اکسید شده Fe^{3+} Feritripyridyltriazinc بی رنگ را به همراه یک افزایش جذب در ۵۹۳ نانومتر، به شکل آبی رنگ فرس (Fe^{2+}) احیا می کنند (Jukic and Milos, 2005). در این روش معرفی ساخته می‌شود که حاوی Tripyridyl-S-Triazine (TPTZ) و $FeCl_3$ و بافر استات می‌باشد. آنتی اکسیدان هایی که توانایی احیای Fe^{3+} به Fe^{2+} را دارند، باعث تبدیل کمپلکس TPTZ- Fe^{3+} بی رنگ به کمپلکس TPTZ- Fe^{2+} می‌شود که به رنگ آبی بوده و در طول موج ۵۹۳ نانومتر شدت آن قابل اندازه گیری است. برای این کار غلظت ۱۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره های مختلف گیاهی برداشته و به حجم نهایی ۲ میلی لیتر محلول FRAP که حاوی ۱۰ میلی مولار TPTZ در ۴۰ میلی مولار HCl، ۲۰ میلی مولار کلرید آهن، ۳۰۰ میلی مولار بافر استات با PH برابر با ۳/۶ است، به آن اضافه شد. نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده و شدت رنگ حاصل در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه گیری و بر مبنای میکرومولار بیان شد (Benzie and Strain, 1996; Iris et al., 1999).

• اندازه گیری پرولین

۰/۵ گرم نمونه ی تر گیاهی برای اندازه گیری پرولین به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. در این روش کروماتوفور حاوی تولوئن از فاز آبی بیرون کشیده شده و محلول دوفازی تشکیل می‌شود که جذب فاز رنگی بالایی با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Spekol شرکت Analytic Jena آلمان در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. از تولوئن به عنوان بلانک استفاده شد.

• تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه های گیاهی با روش FRAP

تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی با استفاده از رادیکال پایدار DPPH مطابق با روش های بیان شده توسط Shimada و همکاران نیز صورت گرفت (Shimada et al., 1992) اما چون نتایج روش FRAP بهتر بود این روش توضیح داده می شود. تعیین قدرت آنتی اکسیدانی کاهش آهن (Ferric Reducing Antioxidant Potential)، یک آزمون مستقیم ساده برای توانایی آنتی اکسیدانی می‌باشد و می‌تواند برای عصاره های گیاهی مورد استفاده قرار گیرد. بدین منظور یک گرم از اندام های هوایی خشک شده نمونه های گیاهی را در هاون چینی ریخته شده و کاملاً پودر گردیدند. سپس به ارلن های آلومینیوم فویل پیچی شده محتوی ۱۰ میلی لیتر متانول ۱۰۰ درصد اضافه شدند و به مدت ۲۴ ساعت در اتاق بر روی شیکر قرار گرفتند و سپس عصاره ها توسط سانتریفیوژ

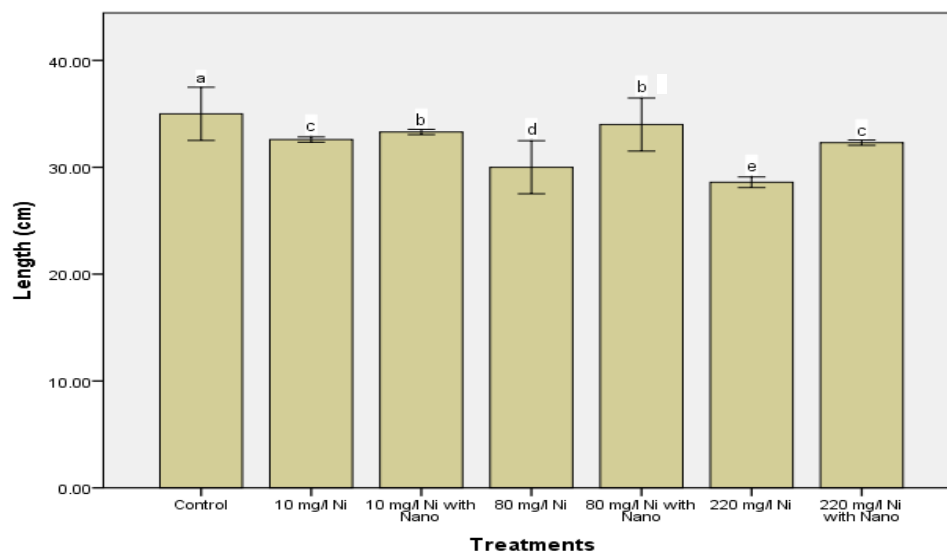
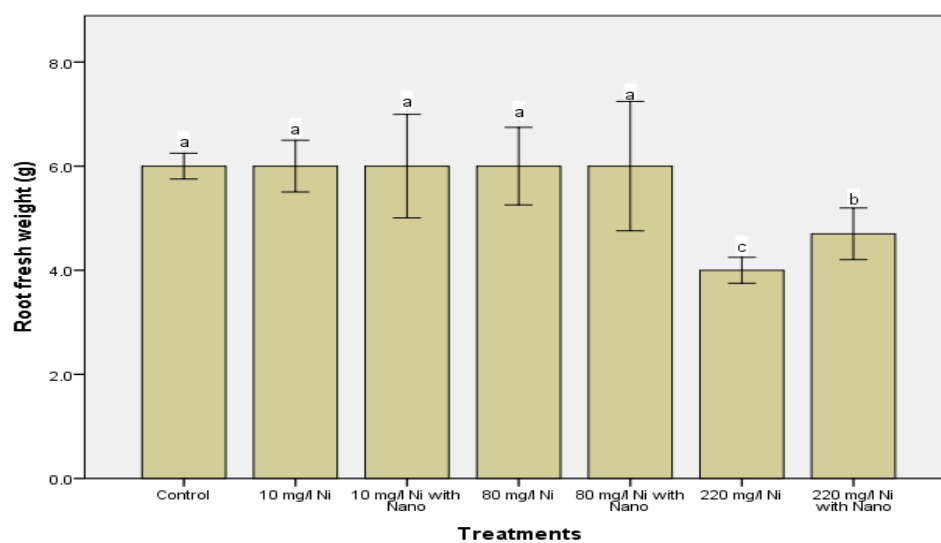
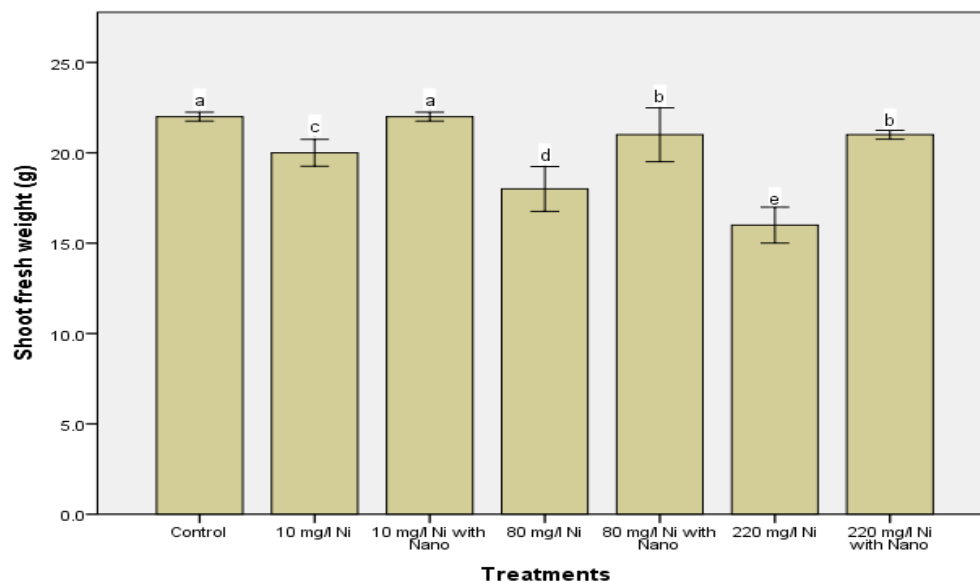
• تجزیه و تحلیل آماری

داده های بدست آمده، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 22 و آزمون چند دامنه‌ای Duncan در سطح ۵ درصد صورت گرفت. جهت رسم نمودار از برنامه Excel 2016 استفاده گردید.

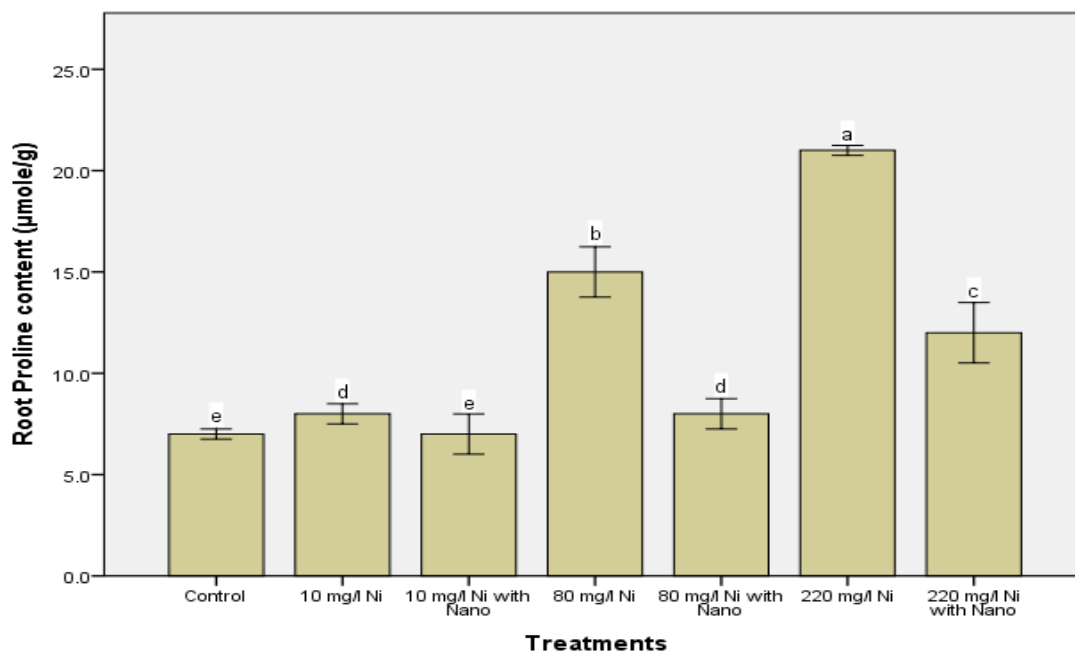
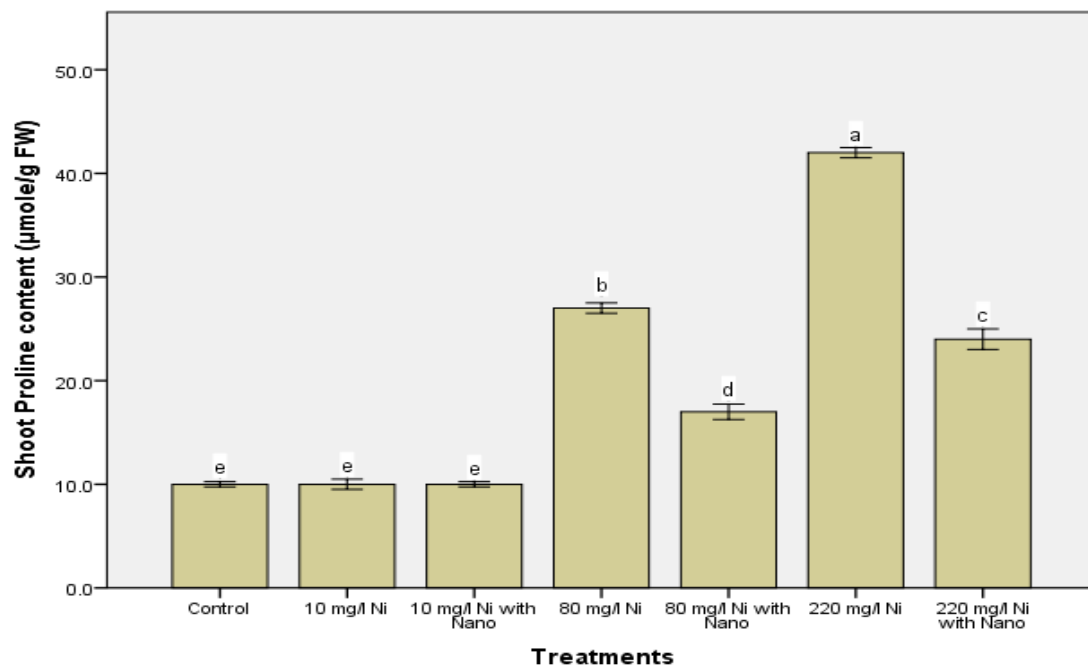
نتایج

اثر غلظت های مختلف فلز سنگین نیکل و نیکل تیمار شده با نانو ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 بر وزن تر اندام هوایی گیاه آفتابگردان در شکل ۲ الف ارائه گردیده است. همانگونه که ملاحظه می‌گردد، وزن تر اندام هوایی گیاه در مقدار ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل نسبت به شاهد کاهش معنی دار در سطح ۵ درصد داشته است و غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تیمار شده با نانو ذره مغناطیسی نیز تغییراتی مشابه شاهد نشان داده است. تیمار ۸۰ میلی گرم بر لیتر نیکل نسبت به غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل و شاهد موجب کاهش معنی داری در وزن تر بخش هوایی شد. غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تیمار شده با نانو ذره مغناطیسی از شاهد کمتر بود ولی نسبت به ۸۰ میلی گرم بر لیتر نیکل افزایش معنی داری داشت. تیمار ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر فلز سنگین نیکل نسبت به تیمار شاهد، ۱۰ و ۸۰ میلی گرم بر لیتر فلز سنگین کاهش معنی دار داشته است. وزن تر بخش هوایی در تیمار ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تیمار شده با نانو ذره مغناطیسی نسبت به شاهد، کمتر بود ولی نسبت به ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل افزایش معنی دار داشت. همانطور که در شکل ۲ ب مشاهده می‌گردد در غلظت ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر وزن تر ریشه گیاه آفتابگردان کاهش معنی داری نسبت به شاهد را نشان می‌دهد و در تیمار با نانو ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 وزن تر ریشه به طور معنی داری افزایش یافته ولی به حد شاهد نرسیده است. در شکل ۲ ج ملاحظه می‌گردد که طول بخش هوایی گیاه آفتابگردان در مقدار ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل نسبت به شاهد کاهش معنی داری داشته ولی غلظت ۱۰ میلی گرم نیکل تیمار شده با نانو ذره نسبت به ۱۰ میلی گرم نیکل افزایش معنی دار داشته است هر چند به سطح شاهد نرسیده است. مقدار ۸۰ میلی گرم بر لیتر نیکل نیز نسبت به شاهد و نسبت به ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل کاهش معنی داری را در سطح ۰/۰۵ نشان می‌دهد

ولی غلظت ۸۰ میلی گرم نیکل تیمار شده با نانو نسبت به غلظت ۸۰ نیکل تنها افزایش معنی داری داشت. تیمار ۲۲۰ میلی گرم نیکل نسبت به شاهد و بقیه غلظت های موجود کاهش معنی داری در سطح ۰/۰۵ داشت. غلظت ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تیمار شده با نانو ذره نیز نسبت به شاهد کاهش، ولی نسبت به غلظت ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل افزایش معنی داری نشان داد. همانگونه که در شکل ۳ الف مشاهده می‌شود، پرولین اندام هوایی در تیمار های ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل و نیکل تیمار شده با نانو ذره مغناطیسی، نسبت به شاهد تغییر معنی داری را نشان ندادند. غلظت ۸۰ میلی گرم نیکل نسبت به شاهد و نسبت به ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل افزایش معنی نشان می‌دهد. تیمار ۸۰ میلی گرم نیکل تیمار شده با نانو ذره نسبت به شاهد و غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل افزایش معنی داری داشت ولی نسبت به غلظت ۸۰ میلی گرم نیکل کاهش معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان داد. در غلظت ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل نسبت به شاهد و بقیه تیمار ها افزایش معنی داری را در سطح ۵ درصد مشاهده شد. غلظت ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تیمار شده با نانو ذره نسبت به شاهد و غلظت های ۱۰ و ۸۰ میلی گرم نیکل تیمار شده با نانو ذره افزایش معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان داد ولی نسبت به غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نیکل کاهش معنی داری را مشاهده نمودیم. همانگونه که در شکل ۲ ب مشاهده می‌گردد، در غلظت ۸۰ میلی گرم نیکل نسبت به شاهد و ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل افزایش معنی داری در محتوای پرولین ریشه نسبت به شاهد مشاهده شد. تیمار ۸۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تیمار شده با نانو ذره نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشت ولی نسبت به غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر اختلاف معنی داری دیده نشد. غلظت ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل نسبت به شاهد و بقیه تیمار ها افزایش معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان داد. غلظت ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تیمار شده با نانو ذره نسبت به شاهد و غلظت های ۱۰ و ۸۰ میلی گرم نیکل تیمار شده با نانو ذره افزایش معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان داد و نسبت به غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نیکل کاهش معنی داری مشاهده شد.



شکل ۲ - اثر غلظت های مختلف فلز سنگین نیکل و نیکل تیمار شده با نانو ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 بر وزن تر اندام هوایی (الف)، وزن تر ریشه (ب) و طول بخش هوایی (ج) گیاه آفتابگردان. مقادیر، میانگین \pm SE تکرار ۳ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است. Ni و Nano، به ترتیب نشان دهنده ی تیمارهای فلز سنگین نیکل و نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 با غلظت های ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل می باشند.



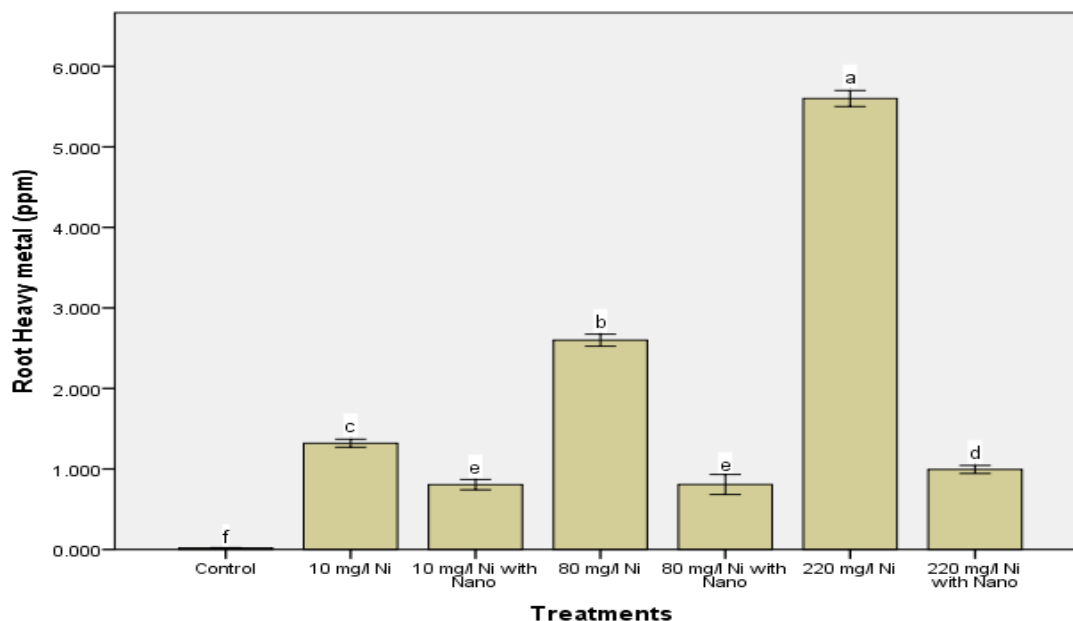
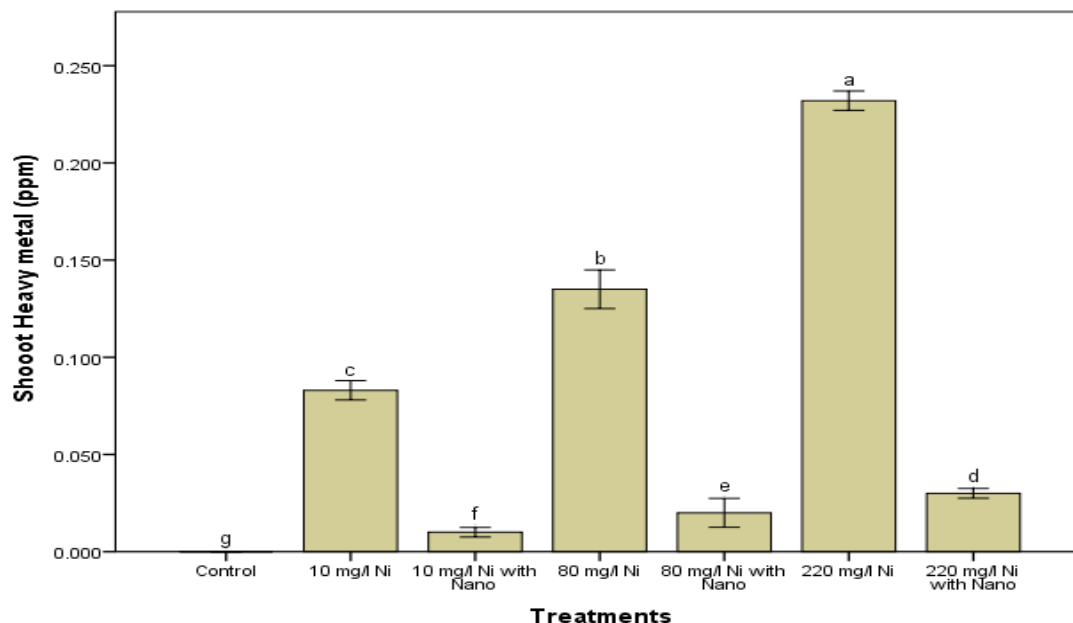
شکل ۳- اثر غلظت های مختلف فلز سنگین نیکل و غلظت های مختلف نیکل تیمار شده با نانو ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 بر محتوای پرولین اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) گیاه آفتابگردان. مقادیر، میانگین \pm SE تکرار ۳ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است. Ni و Nano، به ترتیب نشان دهنده ی تیمارهای فلز سنگین نیکل و نانو ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 با غلظت های ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر می باشند.

معنی دار و غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نیکل نسبت به ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل افزایش معنی داری داشت. تیمارهای ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ با نانو ذره همگی باعث کاهش معنی دار نسبت به غلظت های ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل شد. غلظت ۲۲۰ تیمار با نانو نسبت به ۸۰ تیمار با نانو افزایش معنی دار و تیمار ۸۰ با نانو نسبت به تیمار ۱۰ با نانو افزایش معنی داری داشت.

میزان فلز سنگین نیکل اندام هوایی گیاه آفتابگردان اندازه گیری شده توسط دستگاه ICP در شکل ۴ ارائه گردیده است. همانطور که ملاحظه می گردد، فلز سنگین نیکل اندام هوایی در شاهد صفر گزارش شده است. غلظت های ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل نسبت به شاهد افزایش معنی دار در سطح ۵ درصد داشتند و غلظت ۲۲۰ نسبت به ۸۰ و ۱۰ میلی گرم نیکل افزایش

۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تیمار شده با نانو ذره نسبت به غلظت ۱۰ و ۸۰ میلی گرم بر لیتر افزایش معنی داری داشت. درصد حذف فلز سنگین نیکل با نانو جاذب مغناطیسی Fe_3O_4 در غلظت های مختلف ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل حدود ۹۹/۸ بود.

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می شود، فلز سنگین نیکل در ریشه نمونه شاهد تعیین نشد. غلظت ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان داد. تیمار های ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تیمار شده با نانو ذره نسبت به غلظت های ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل کاهش معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان می دهد. غلظت



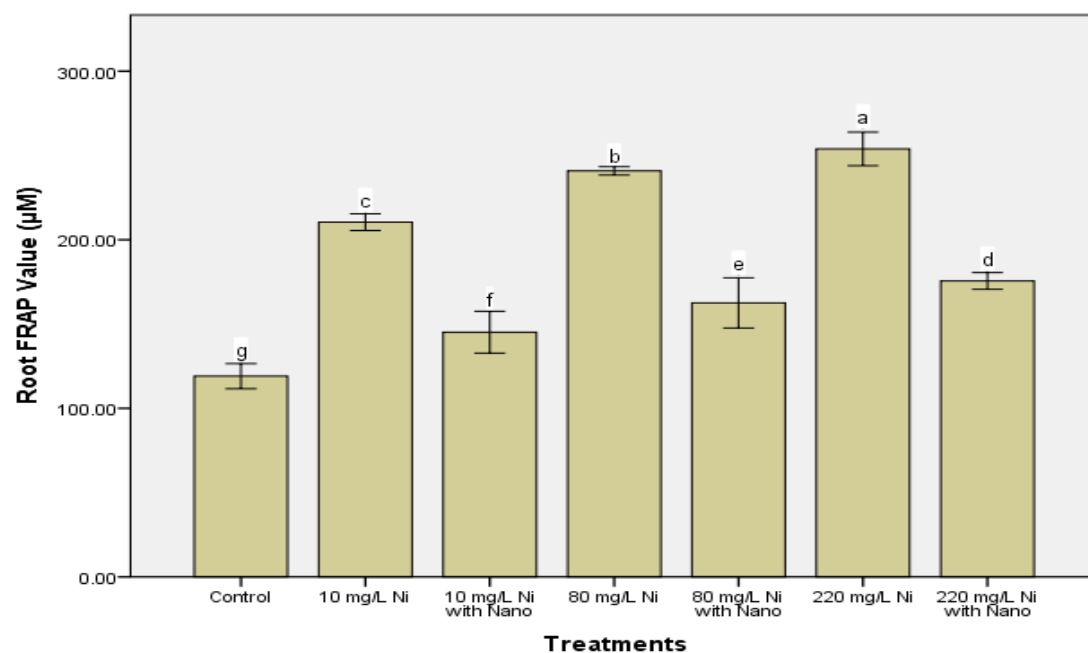
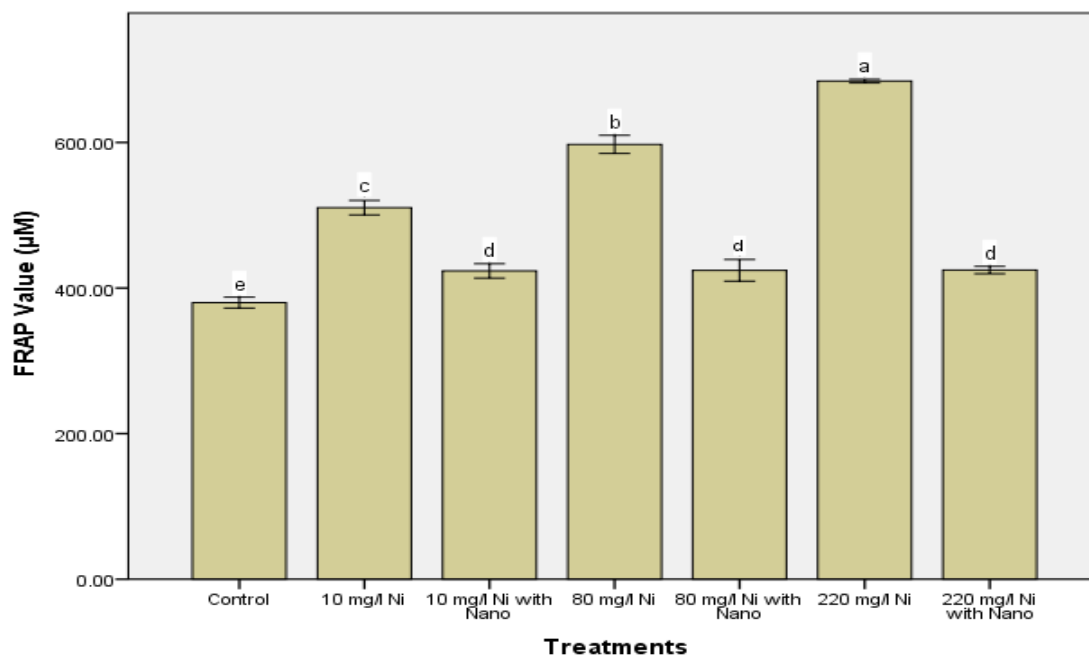
شکل ۴ - میزان فلز سنگین نیکل اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) گیاه آفتابگردان. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است. Ni و Nano، به ترتیب نشان دهنده ی تیمارهای فلز سنگین نیکل و نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 با غلظت های ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر می باشند.

گرم بر لیتر نیکل به ترتیب افزایش معنی داری یافت و تیمار نیکل با نانو ذره در هر سه غلظت موجب کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی معنی داری در سطح ۵ درصد نسبت به غلظت های نیکل بدون نانو شد ولی به حد شاهد نرسیده است. ظرفیت آنتی

با توجه به شکل ۵، ظرفیت آنتی اکسیدانی اندام هوایی در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل به عنوان تنش فلز سنگین موجب افزایش آنتی اکسیدان نسبت به شاهد شده است. بطوری که با افزایش غلظت فلز سنگین در غلظت های ۸۰ و ۲۲۰ میلی

معنی داری یافت و تیمار نیکل با نانو ذره در هر سه غلظت موجب کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی معنی داری در سطح ۵ درصد نسبت به غلظت های نیکل بدون نانو شد.

اکسیدانی ریشه در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر نیکل به عنوان تنش فلز سنگین موجب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی نسبت به شاهد شده است. بطوری که با افزایش غلظت فلز سنگین در غلظت های ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل به ترتیب افزایش



شکل ۵- اثر غلظت های مختلف فلز سنگین نیکل و غلظت های مختلف تیمار شده با نانو ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 بر ظرفیت آنتی اکسیدانی اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) با روش FRAP در گیاه آفتابگردان. مقادیر، میانگین ۳ تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است. Ni و Nano، به ترتیب نشان دهنده ی تیمارهای فلز سنگین نیکل و نانو ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 با غلظت های ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر می باشند.

۳- بحث

محافظت آنزیمی در مقابل دنا توره شدن و پایداری سنتز پروتئین افزایش می دهد. بعلاوه پرولین می تواند در کلات کردن فلزات در سیتوپلاسم نقش ایفا نماید (Kuznetsov and Shevyakova, 1997). پرولین پرولین یک آمینو اسید با قابلیت حل شدن زیاد در آب می باشد که آنگیری سلول های گیاهی و بافت ها را بهبود می بخشد و مانع از دست دادن آب برگ ها تحت شرایط تنش فلزات سنگین می شود (Lexmond and Vandervorm, 1981). نتایج نشان داد که میزان پرولین بخش هوایی بیشتر از پرولین ریشه بوده است. همانطور که در شکل ۴ ملاحظه می گردد، فلز سنگین نیکل در اندام هوایی گیاه شاهد وجود نداشت. تیمار های ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تیمار شده با نانو ذره نسبت به غلظت های ۱۰، ۸۰ و ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل کاهش معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان دادند. در پژوهش حاضر، با افزایش غلظت فلز نیکل میزان تجمع آن در اندام هوایی و ریشه گیاه با توجه به نتایج دستگاه ICP افزایش یافت ولی نتایج نشان دادند که نانو جاذب Fe_3O_4 میزان زیادی از فلز سنگین نیکل را به خود جذب کرده و مانع تجمع آنها در گیاه آفتابگردان شده است. از میان نانو ذرات مغناطیسی، نانو ذرات اکسید آهن به علت سهولت ساخت، امکان عامل دار کردن و پوشش دار کردن این نانو ذرات و نیز در مواردی دارا بودن خواص ابرمغناطیس نسبت به حالت توده، مسیری مناسب را برای فناوری جداسازی مغناطیس آلاینده ها فراهم می آورد نانو ذرات اکسید آهن موقعیت و اهمیت بالایی دارند. به دلیل این که به راحتی از محلول در یک میدان مغناطیسی برای بازیابی و استفاده مجدد جدا می شوند و در کاهش هزینه ها مؤثر هستند. نتایج نشان داده اند که نانو ذرات اکسید آهن جاذبی بسیار مناسب برای حذف فلزات سنگین هستند. در همین راستا مطالعه های زیادی صورت گرفت که از جمله آن می توان به مطالعه ای که توسط Karimi (2014) و همکاران بر روی ارزیابی فرآیند جذب سطحی یون های کادمیوم از فاضلاب سنتتیک با نانو ذرات آهن مغناطیسی سنتز شده صورت گرفت و مطالعه ای که توسط Bahrami (2013) و همکاران نیز بر روی حذف کادمیوم از محلول های آبی با استفاده از نانو ذرات اصلاح شده مگنتیت صورت گرفت اشاره کرد. لذا هدف از انجام این مطالعه تعیین امکان استفاده از نانو ذره اکسید آهن به عنوان جاذب در حذف فلز کادمیوم از محیط آبی طی فرآیند جذب سطحی بود. همانگونه که الگوی XRD در شکل ۱ نشان می دهد تطابق پیک ها برای ماده مجهول با ماده معلوم بررسی می شود و اگر این دو بر یکدیگر منطبق باشند، نتیجه میگیریم که ماده ی مجهول همان Fe_3O_4 است گاهی تفاوت کوچکی در زوایای پیک ها در مطابقت با الگو مشاهده می شود که به دلیل خطای دستگاهی آزمایشگاهی است و قابل صرف نظر کردن است. در نتیجه در این پژوهش، با نتایجی که از تطبیق نمونه با الگو بدست آمد ماده استفاده شده همان نانو ذره Fe_3O_4 بوده است. همانگونه که در شکل ۵ مشاهده می گردد، آنتی اکسیدان اندام هوایی در غلظت های فلز سنگین موجب افزایش آنتی اکسیدان نسبت به شاهد شده است. در پژوهش های انجام شده در این زمینه نتایج مشابهی بدست آمده است (Tepe et al., 2006; Ara and Nur, 2009).

وزن تر اندام هوایی گیاه آفتابگردان تحت تیمار های مختلف نیکل نشان داد که با افزایش غلظت نیکل، وزن تر اندام هوایی کاهش یافت. ولی در غلظت های نیکل تیمار شده با نانو جاذب افزایش وزن تر مشاهده شد که نشان می دهد نانو ذره مغناطیسی به میزان زیادی فلز نیکل را جذب خود کرده تا سمیت را کاهش دهد. نیکل یکی از فلزات سنگینی است که در صنعت به عنوان فلز سمی گروه بندی می شود. در تحقیقات انجام شده بر روی گیاهان مختلف، سمیت این فلز کاهش وزن تر و خشک و رشد اندام هوایی و ریشه را نشان داد (Vijayarengan and Dhanavel, 2005; Chen et al., 2009). همانطور که در شکل ۲ مشاهده می گردد غلظت های ۱۰ و ۸۰ میلی گرم بر لیتر نیکل و همچنین نیکل تیمار شده با نانو ذره مغناطیسی نسبت به شاهد تغییرات معنی داری را در ریشه نشان ندادند که بیانگر مقاومت ریشه آفتابگردان به فلز سنگین نیکل است. ولی در غلظت ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر نیکل تغییرات در سطح ۰/۰۵ کاهش معنی داری را نسبت به شاهد نشان داده است. گیاه پالایی دربرگیرنده ی استفاده از گیاهان برای پاکسازی محیط های مختلف آبی است. این روش شامل استفاده از ریشه ی گیاهان و یا گیاهچه ها به منظور جذب درونی یا سطحی آلاینده های فلزی موجود در منابع آبی و فاضلاب ها و انتقال آنها به اندام هوایی گیاه می باشد. گیاهان خاکزی به دلیل برخورداری از سیستم ریشه های وسیع تر، از کارایی بالاتری نسبت به گیاهان آبی جهت استفاده در تکنیک تصفیه ی گیاهی برخوردار هستند. به عنوان مثال بوته های آفتابگردان به طور موفقیت آمیزی موجب زدودن آلاینده های رادیواکتیو از حوضچه های دفع فاضلاب نیروگاه اتمی چرنوبیل اکراین گردیدند. فرآیند تصفیه ی گیاهی مستلزم پرورش گیاهان خاکزی به صورت هیدروپونیک (آبکشت) و سپس انتقال نشاها به منبع آب آلوده به منظور جذب فلزات سنگین و انباشت آنها در ریشه و اندام هوایی گیاه است (Prasad and Freitas, 2003). بنظر می رسد ریشه آفتابگردان در انتقال فلز نیکل به اندام هوایی موفق بوده است و تاثیر فلز سنگین نیکل بر وزن تر ریشه نسبت به اندام هوایی در گیاه آفتابگردان کمتر بوده است. در پژوهش حاضر تنش فلز سنگین، باعث کاهش در طول گیاه شد که با افزایش غلظت نیکل سمیت در گیاه افزایش پیدا کرده و مانع رشد اندام هوایی گردیده است. کاهش رشد اندام هوایی دلیل این است که فلزات سنگین رشد را بوسیله مهار تقسیم سلولی یا رشد ابعادی سلول و یا بوسیله ترکیبی از هر دو مهار می کنند (Wang et al., 2010). همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می شود تیمار نیکل موجب افزایش معنی داری در مقدار اسید آمینه آزاد پرولین شده است. از آنجا که گیاهان نمی توانند از تنش های محیطی مختلف فرار کنند، به مکانیسم هایی نیاز دارند که تنش ها را شناسایی کرده و به آنها پاسخ دهند (Sadiqov, 2002). تحقیقات Saradhi و Alia (1991) در مورد پرولین در تنش فلز سنگین با نتایج سایر پژوهشگران نیز هم سویی نشان می دهد (Kirbag Zengin and Kirbag, 2007). پرولین در تیمار فلزات سنگین در گیاه تجمع می یابد و در تحمل به تنش ها نقش دارد. پرولین تحمل استرسی گیاهان را از طریق عملکردهایی از قبیل تنظیم اسمزی،

اکسید آهن به خوبی می‌توانند در کاهش فلز سنگین موجود در آب عمل کنند. این روش برای حذف فلزات سنگین سریع، ارزان و ایمن است و بیش از ۹۹ درصد فلز سنگین را حذف می‌نماید. مطالعه برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک و رشد گیاه آفتابگردان به فلز سنگین نیکل و اثر نانو جاذب مغناطیسی Fe_3O_4 بر آنها تایید کننده این روش است. چون نانو ذرات مغناطیسی اکسید آهن ظرفیت و کارایی بالایی برای جذب نیکل از آب های آلوده را دارند می توان از آنها بعنوان جاذب های با کارایی بالا در مقیاس های بزرگ استفاده کرد و در نهایت به آسانی آنها را از آب جدا کرده و مجددا مورد استفاده قرار داد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر با حمایت مالی دانشگاه شیراز انجام شده است که بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز سپاسگزاری می گردد.

تغییرات آنتی اکسیدان ها با وزن مولکولی کم نظیر آلفا توکوفرول، آسکوربیک اسید و گلوتاتیون و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی آنزیمی نظیر گلوتاتیون ردوکتاز، کاتالاز و سوپر اکسید دسموتاز پیشنهاد می گردد. امروزه بسیاری از فن آوری ها برای تصفیه مؤثر آب وجود دارند که اغلب پر هزینه می باشند. روش پژوهش حاضر برای حذف آلاینده ها کاهش قابل توجهی در هزینه، زمان و نیروی انسانی و همچنین دوستی با محیط زیست است. گیاه پالایی برای پاک کردن محیط زیست از آلاینده های محلول، روشی بسیار مناسب و بصره است. روشی سازگار با محیط زیست و دارای مزایای اقتصادی و همچنین ارزش زیبا شناختی دارد. مهمترین ترکیبات معدنی آلاینده، فلزات سنگین بوده وموجودات زنده قادر به تجزیه آلایندههای آلی هستند. برای تجزیه میکروبی فلزات، گیاهان آنها را به ترکیبات آلی تغییر داده و قابل استفاده می کنند.

۴- نتیجه گیری

اطلاعات به دست آمده نشان می‌دهد که فلز سنگین نیکل باعث کاهش رشد گیاه آفتابگردان و تنش در گیاه می‌شود و نانو جاذب‌های

منابع

- Aiken, R. M. 2005. Apply thermal time scales to sunflower development. *Agron J*, Vol. 97(3), P. 746-754.
- Alia, P., Saradhi, P. 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. *J Plant Physiol*, Vol. 138, P. 554-558.
- Ara, N., Nur, H. 2009. In vitro antioxidant activity of methanolic leaves and flowers extracts of *Lippia alba*. *Res J Med Med Sci*, Vol. 4(1), P. 107-110.
- Bahrami, M., Boroumand Nasab, S., Kashkoli, H., Farrokhan Firouzi, A., Babae, A. 2013. Cadmium removal from aqueous solutions using modified magnetite nanoparticles. *J. Health Environ*, Vol. 6 (2), 221-232.
- Bates, L. S., et al. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, Vol. 39, P. 205-207.
- Benzie, I. F. F., Strain, J. I. 1996. The ferric reducing ability of plasma as a measure of antioxidant power, the FRAP assay. *Annu Biochem*, Vol. 239, P. 70-76.
- Chen, C., et al. 2009. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. *Clean Soil Air Water*, Vol. 37, P. 304-313.
- Chen, J.H., Wang, Y.J., Cui, Y.X., Wang, S.Q. and Chen, Y.C. 2010. Adsorption and desorption of Cu (II), Zn (II), Pb (II), and Cd (II) on the soils amended with nanoscale hydroxyapatite. *J Environ Prog and Sustain Energy*, Vol. 29(2), P. 233-241.
- Crooks, R.M., Zhao, M.Q., Sun, L., Chechik, V. and Yeung, L.K. 2001. Dendrimer-encapsulated metal nanoparticles: synthesis, characterization, and applications to catalysis. *J Am Chem Soc*, Vol. 34(3), P. 181-190.
- Daus, B., Wennrich, R. and Weiss, H. 2004. Sorption materials for arsenic removal from water: a comparative study. *Water Res*, Vol. 38(12), P. 2948-2954.
- Ensink, J.H.J., Vander Hoek, W., Matsuno, Y., Munir, S. and Aslam, M.R. 2007. The use of untreated wastewater in peri-urban agriculture in Pakistan: risks and opportunities. *Research Report of International Water Management Institute, Sri Lanka*.
- Gautam, R.K., Gautam, P.K., Banerjee, S., Soni, S., Singh, S.K. and Chattopadhyaya, M.C. 2015. Removal of Ni (II) by magnetic nanoparticles. *J Mol Liq*, Vol. 2(4), P. 60-69.
- Guo, H., Luo, S., Chen, L., Xiao, X., Xi, Q., Wei, W., Zeng, G., Liu, C., Wan, Y., Chen, J. and He, Y. 2010. Bioremediation of heavy metals by growing hyperaccumulaor entophytic bacterium *Bacillus sp. L*. *Bioresour Technol*, Vol. 101(22), P. 8599-8605.
- Gupta, A., Sharma, V. and Sharma K. 2021. A review of adsorbents for heavy metal decontamination: growing approach to wastewater treatment. *Materials (Basel)*, Vol. 14(16), P. 4702.

- Hedfi, A., Mahmoudi, A.E., Boufahja, F., Beyrem, H. and Aissa, P. 2007. Effects of increasing levels of nickel contamination on structure of offshore nematode communities in experimental microcosms. *Bull Environ Contam Toxicol*, Vol. 79(3), P. 345-349.
- Iris, F., Benzi, F. and Strain, S. 1999. Ferric reducing antioxidant Assay. *Meth Enzymol*, Vol. 292, P. 15-27.
- Jarup, L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. *Braz Med Bull*, Vol. 68, P. 167-182.
- Jukić, M. and Miloš, M. 2005. Catalytic oxidation and antioxidant properties of thyme essential oils (*Thymus vulgaris* L.). *Croat Chem Acta*, Vol. 78, P. 105-110.
- Kanel, S.R., Manning, B., Charlet, L. and Choi, H. 2005. Removal of arsenic (III) from groundwater by nanoscale zero-valent iron. *J Environ Sci Technol*, Vol. 39, P. 1291-1298.
- Karimi, L., Farzad Kia, M., Ovidi, A., Esraflia, A., Golshan, M. 2014. Evaluation of the process of adsorption of cadmium ions from synthesized sewage with magnetic nanoparticles synthesized. *J. Health Environ*, Vol. 7(2), P. 171-184.
- Kirbag Zengin, F. and Kirbag, S. 2007. Effects of copper on chlorophyll, proline, protein and abscisic acid level of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings. *Environ Biol*, Vol. 28, P. 561-566.
- Konate, A., He, X., Zhang, Z., Ma, Y., Zhang, P. and Alugongo, G.M. 2017. Magnetic (Fe₃O₄) nanoparticles reduce heavy metals uptake and mitigate their toxicity in wheat seedling. *Sustainability*, Vol. 9(5), P. 1-16.
- Kuznetsov, V.V. and Shevyakova, N. I. 1997. Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity. Proline accumulation and phosphorylation of polypeptides. *Physiol Plant*, Vol. 100, P. 320-326.
- Lexmond, T. M. and Vandervorm, P. D. J. 1981. The effect of pH on copper toxicity to hydroponically grown maize. *Neth J Agri Sci*, Vol. 29, P. 209-230.
- Liphadzi, M.S. and Kirkham, M.B. 2006. Chelate-assisted heavy metal removal by sunflower to improve soil with sludge. *J Crop Improv*, Vol. 16, P. 153-172.
- Mohsenzadeh, S., Naderi, N. and Nazari, M. 2016. Physiological responses of vetiver zizanioides to leachate. *Iran J Plant Biol*, Vol. 28, P. 79-96.
- Nedhi, A., Singh, L.J. and Singh, S.I. 1990. Effect of cadmium and nickel on germination, early seedling growth and photosynthesis of wheat and pigeon pea. *Indian J Trop Agric*, Vol. 8, P. 141-147.
- Prasad, M.N.V. and Freitas, H. 2003. Metal hyperaccumulation in plants biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electron J Biotechnol*, Vol. 6, P. 275- 321.
- Qu, X.L., Brame, J., Li, Q. and Alvarez, J.J.P. 2013. Nanotechnology for a safe and sustainable water supply, enabling integrated water treatment and reuse. *Chem Res*, Vol. 46(3), P. 834-843.
- Rajput, S., Pittman, C.U. and Mohan, D. 2016. Magnetic magnetite (Fe₃O₄) nanoparticle synthesis and applications for lead (Pb²⁺) and chromium (Cr⁶⁺) removal from water. *J colloid interface sci*, Vol. 468, P. 334-346.
- Sadat Taghavi, S., Davar, H. and Mohammadi, M.J. 2014. The a study on concentration of BETX vapors during winter in the department of ports and shipping located in one of the southern cities of Iran. *Int J Curr Life Sci*, Vol. 4(9), P. 5416-5420.
- Sadiqov, S.T., Akbulut, M. and Ehmedov, V. 2002. Role of Ca²⁺ in drought stress signaling in wheat seedlings. *Biochemistry*, Vol. 67, P. 491-497.
- Seneviratne, M., Rajakaruna, N., Rizwan, N., Madawala, H.M.S. P., Ok, Y.S. and Vithanage, M. 2019. Heavy metal-induced oxidative stress on seed germination and seedling development: A critical review. *Environ. Geochem. Health*, Vol. 41, P. 1813-1831.
- Sheth, Y., Dharaskar S., Khalid M. and Sonawane S. 2021. An environment friendly approach for heavy metal removal from industrial wastewater using chitosan based biosorbent: A review. *Sustain. Energy Technol. Assess*, Vol. 43, P. 100951.
- Shimada, K. Fujikawa, K. Yahara, K. Nakamura, T. 1992. Antioxidative. properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J Agri Food Chem*, Vol. 40, P. 945-948.
- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., & Sokmen, A. 2006. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem*, Vol. 95(2), P. 200-204.
- Valkó, O., Liu, W. and Cambrollé, J. 2021. Accumulation and effect of heavy metals on the germination and growth of *Salsola vermiculata* L. seedlings. *Diversity*, Vol. 13(11), P. 539.
- Vardhan, K. H., Kumar, P. S. and Panda, R. C. 2019. A review on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends and future perspectives. *J. Mol. Liq*, Vol. 40, P. 290.

- Vinocur, B. and Altman, A. 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Curr Opin Biotechnol*, Vol. 16, P. 123-132.
- Wang, S. T., He, X.J. and An, R. D. 2010. Responses of growth and antioxidant metabolism to nickel toxicity in *Luffa cylindrical* seedlings. *Anim Plant Sci*, Vol. 7(2), P. 810- 821.
- Yadavi, R. 2007. Investigation of methods of heavy metals removal from sewages using nanotechnology. M.Sc. Thesis, Isfahan University of Technology, Iran.
- Yang, T.R. (2003) *Adsorbents: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, Inc.
- Yang, X.E., Long, X.X., Ye, H.B., He, Z.L., Calvert, D.V. and Stoffella, P.J. 2004. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hence). *J Plant Soil*, Vol. 259, P. 181-189.

Study of growth and some physiological responses of sunflower to nickel heavy metal and effect of magnetic nanoabsorbent Fe_3O_4

Sasan Mohsenzadeh^{1*} and Loghman Aghaei¹

*1- Biology Department, Faculty of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

*Email Address: mohsenz@shirazu.ac.ir

Abstract

Experiments were carried out with four concentrations of nickel chloride (0, 10, 80 and 220 mg/l) and a constant concentration of nano-adsorbent Fe_3O_4 (4 g/l), plus control. The treatments were soluble in plants as alternatives to normal water. The results were statistically analyzed by analysis of variance. The results showed that the least growth by weight was observed for plants with 220 mg Ni treatment. Proline in shoot increased significantly relative to root compared to control. Measurement of nickel heavy metal content by ICP-AES atomic absorption spectrophotometer showed that the concentration of nickel metal increased in the plant as it increase in the water. Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy is a method of emission spectroscopy that excites atoms and ions with a plasma, causing it to emit electromagnetic radiation at wavelengths characteristic of a particular element. Magnetic nanoparticles treatment Fe_3O_4 showed a significant reduction in nickel concentrations in the plant, indicating that they were successful in removing nickel metal. The results of antioxidant potential showed that concentrations of nickel as heavy metal stress increased the antioxidant and the treatment of nickel with nanoparticles in all three concentrations reduced the antioxidant. The nickel heavy metal in high concentrations is toxic for sunflower plant and the magnetic nanoparticle successfully absorbs the nickel metal up to 99 percent and reduces its toxic effects in the water.

Introduction

Heavy metals are metallic elements with an atomic density of more than six grams per cubic centimeters. Currently, heavy metal contamination represents a growing environmental concern across the world. Heavy metals are ubiquitous, highly persistent, non-biodegradable compounds, which tend to bioaccumulate in the food chain. Phytoremediation is the process through which green plants extract, sequester, and detoxify pollutants. This cost-efficient technique has attracted the attention of researchers over the years. Phytoremediation could be accomplished in-situ, while it is also an environmentally friendly approach for the removal of heavy metals from the soil by the use of appropriate plants for this purpose. Nickel is considered an essential element for many living systems that is necessary for plant metabolic activities. But high concentrations of this element are toxic to the plant and may interfere with many of the biochemical and physiological processes of the plants. Sunflower (*Helianthus annuus*) is a proper option for phytoremediation. Sunflower grows in tropical and mid-tropical areas depending on the type of the hybrid. It is cultivatable in a wide range of climatic conditions. The sustainability of sunflower is caused by its various morphological and physiological features, including the rapid growth (90-150 days depending on the level of environmental factors), having developed roots, resistance to soil salinity, passiveness to the length of the day, and no need for highly fertilized soil to provide satisfactory products. The magnetic nanoadsorbent are a base adsorbent embedded with magnetic particles, which are oxides of metals such as Fe, Co, Ni, and Cu, and can be easily separated from water under a magnetic field. In recent years, the problem of non-compliance of surface water quality has become more frequent. In addition, groundwater pollution in most areas of the country is relatively serious and poses a major threat to the safety of domestic production and water use. Through the statistical analysis of the total national wastewater discharge in recent years, it has been found that the total discharge of sewage shows an increasing trend. Among the many problems of water pollution, the problem of heavy metal pollution is particularly prominent, and groundwater quality and safety are not optimistic. For the treatment of wastewater containing heavy metals, a variety of treatment methods have been derived, such as adsorption and electrolysis. However, traditional adsorbents have many disadvantages, such as poor adsorption effect, high use cost, and difficulty in achieving separation between solid and liquid. Therefore, it is urgent to prepare a new type of adsorbent with high efficiency and low cost. In this study, special groups of magnetic

nanomaterials were modified to achieve rapid and efficient removal of heavy metal ions in wastewater and the reuse and recycling of adsorbents. Pure water will become a golden resource in the context of the rising pollution, climate change and the recycling economy, calling for advanced purification methods such as the use of nanostructured adsorbents. However, coming up with an ideal nanoadsorbent for micropollutant removal is a real challenge because nanoadsorbents, which demonstrate very good performances at laboratory scale, do not necessarily have suitable properties in full-scale water purification and wastewater treatment systems. Here, magnetic nanoadsorbents appear promising because they can be easily separated from the slurry phase into a denser sludge phase by applying a magnetic field. Water is needed for umpteen day-to-day domestic, commercial and industrial activities. Yet, over the years, pollution of water has kept increasing to such an extent where matters have worsened into water stress and water scarcity conditions in many regions of the world. The release of untreated wastewater poses two major global ecological problems. One which encompasses the entire set of the potential damaging and irreversible impacts on the different components of the food web and ecosystems. Accumulation of proline in higher plants is an indication of disturbed physiological condition, triggered by biotic or abiotic stress condition. Determination of free proline levels is a useful assay to monitor physiological status and to assess stress tolerance of higher plants.

Methodology

This experiment was carried out in a factorial arrangement in a completely randomized design in three replications. The Duncan test was performed for comparison of mean. Determination of ferric reducing antioxidant power (FRAP) analysis was performed. This assay involves the reduction of ferric into ferrous. For this purpose, acetate buffer, ferric chloride and TPTZ (2,4,6-Tri (2-pyridyl)-s-triazine) in 40 mM HCl were initially admixed together to prepare the FRAP reagent. A volume of 2850 μ l of the reagent, which was incubated at 37 °C (15 min) was added to either the plant extract or control solution (150 μ L). In the following stage and after being incubated in the dark for a half-hour, the absorbance of the sample was read at 593 nm. Trolox at a concentration range of 25–800 μ M was used, and antioxidant capacity (FRAP) was determined as μ M Trolox equivalent (TE)/g DW. Measurement of nickel heavy metal content by ICP-AES atomic absorption spectrophotometer was done. It is used for its ability to detect heavy metals in liquid samples at very low concentrations. The aerial and underground parts of the plant were separated by special shear and measured with a sensitivity scale of 0.001 g.

Conclusion

The results of the measurements indicated that the highest fresh weight (22 g), 80 mg Nickel treated with magnetic nanoparticles, and the lowest fresh weight of the aerial and root (18 g) was related to 220 mg Ni treatment. The nickel heavy metal in high concentrations is toxic for sunflower plant and the magnetic nanoparticle successfully absorbs the nickel metal up to 99 percent and reduces its toxic effects in the water.

Keywords

Antioxidant, Stress, Absorbance, Toxicity, Nanoparticles