

## اثر سطوح مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در خاک بر شاخص‌های رشد گیاه سورگوم

علی دریابیگی زند\*<sup>۱</sup> و آذر واعظی هیر

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۲۴)

### چکیده

تولید نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ( $\text{TiO}_2$  NPs) و کاربرد آن‌ها به‌طور گسترده‌ای در جنبه‌های مختلف علوم گیاهی و پالایش محیط زیست در حال افزایش است. پاک‌سازی خاک به کمک  $\text{TiO}_2$  NPs با هدف به حداقل رساندن میزان سمیت آن‌ها در گیاهان نیازمند داشتن دانش کافی در رابطه با وضعیت حضور این نانوذرات در خاک است. مقادیر زیاد نانوذرات ممکن است اثر بازدارنده بر رشد گیاهان کشت شده در خاک‌های تحت تأثیر این نانوذرات داشته باشد. هدف اصلی این پژوهش بررسی اثر سطوح مختلف  $\text{TiO}_2$  NPs بر رشد سورگوم (*Sorghum bicolor*) در خاک و سرنوشت این نانوذرات در گیاه بود. بذرهاي سورگوم در گلدان‌های پلاستیکی حاوی غلظت‌های مختلف این نانوذرات کاشته شد. سورگوم دارای توان تحمل حضور نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در خاک بود، درحالی‌که افزودن غلظت‌های بیش‌تر آن (۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه اثر منفی داشت. نتایج نشان داد که غلظت تیتانیوم در اندام‌های سورگوم تحت تیمار با نانوذرات در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است. تجمع قابل توجهی از تیتانیوم در ریشه نسبت به اندام هوایی در همه تیمارها یافت شد. بیش‌ترین گنجایش انباشت زیستی کل تیتانیوم در سورگوم برابر با ۲۱/۳۲ میلی‌گرم در گلدان بود که در تیمارهای ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات به‌دست آمد. در این پژوهش سمیت مقادیر بیش‌تر  $\text{TiO}_2$  NPs در گیاهان مشاهده شد. نتایج نشان داد گیاه سورگوم از مقاومت قابل قبولی در حضور غلظت‌های کم تا متوسط این نانوذرات و نیز توان جذب زیاد این مواد برخوردار است، ولی کاربرد غلظت‌های زیاد  $\text{TiO}_2$  NPs به خاک آثار منفی بر شاخص‌های رشد سورگوم دارد. انتخاب و کاربرد مقادیر مناسب نانوذرات سبب افزایش توانایی استخراج گیاهی شده و هم از آثار منفی آن بر گیاهان آسیب‌دیده جلوگیری می‌کند.

واژه‌های کلیدی: استخراج گیاهی، پالایش محیط زیست، رشد گیاه، سمیت، نانوذرات.

### مقدمه

افزایش استفاده از نانوذرات موجب رهاسازی این مواد در محیط زیست و برهمکنش آن‌ها با جانداران شده است که این مسئله می‌تواند برای محیط زیست و سلامت انسان تهدیدی جدی محسوب شود (۲۸). نانوذرات سنتز شده یا به‌صورت مستقیم همچون پالایش خاک و یا به‌صورت غیرمستقیم از طریق جریان پسماند جامد، پساب فاضلاب و فرونش‌های

فناوری نانو با داشتن طیف گسترده‌ای از کاربردها در زمینه‌های مختلفی همچون انرژی، صنایع غذایی و صنایع کشاورزی به یک صنعت پویا و در حال توسعه تبدیل شده است. در سال‌های اخیر کاربرد نانوذرات در پالایش محیط زیست مورد توجه قرار گرفته است (۲۹). از طرف دیگر،

۱- گروه برنامه‌ریزی، مدیریت و آموزش محیط زیست، دانشکده محیط زیست، دانشگاه تهران، تهران، ایران

\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: adzand@ut.ac.ir

به بیش از ۸۲٪ افزایش یافت. با این حال، نانوذرات آهن صفر نمی‌تواند بر تثبیت کادمیوم (Cd) در خاک به طور قابل توجهی (تنها ۱۳٪ تا ۴۲٪) اثر بگذارد (۱۲). استفاده از ۲/۵٪ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب جوانه‌زنی بذرها، اسفناج و کاربرد ۲۵٪ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم موجب تقویت فتوسنتز در اسفناج شد. کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم موجب بهبود عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز<sup>۲</sup>، کاتالاز<sup>۳</sup> و پراکسیداز<sup>۴</sup> شد (۲۳، ۱۱ و ۴۲). در واقع استفاده از مقادیر بیش‌تر برخی از نانومواد با هدف پالایش، به دلیل سرنوشت مبهم آن‌ها در محیط زیست و آثار سمی احتمالی آن بر جانداران، به‌ویژه گیاهان، نگرانی‌هایی در این زمینه ایجاد کرده است. با این حال نتایج متناقضی در این زمینه گزارش شده است. اثر بازدارنده نانوذرات آهن صفر با غلظت بیش از ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر جوانه‌زنی برنج گزارش شده است (۳۶)، در حالی که استفاده از نانوذرات آهن صفر با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب رشد ریشه در شاهی گوش موشی (*Arabidopsis thaliana*) شد (۱۸). همچنین کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ممکن است عملکرد نیترات ردوکتاز<sup>۵</sup> را در تبدیل نیتروژن معدنی به آلی بهبود بخشد (۳۹). با توجه به افزایش کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در پژوهش‌های پالایش خاک (به‌ویژه در زیست پالایی گیاهی) از یکسو و نبود دانسته‌های کافی در مورد آثار این نانوذرات در دوزهای مختلف بر گیاه سورگوم، این پژوهش طرح‌ریزی و اجرا شد. همچنین پژوهش‌ها در زمینه اثر سطوح (غلظت‌های) مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر گیاه سورگوم محدود است. هدف اصلی این پژوهش بررسی اثر سطوح مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر رشد سورگوم و سرنوشت این نانوذرات در گیاه بود. در این پژوهش (الف) اثر تیمارهای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی گیاه سورگوم، (ب) رشد گیاه سورگوم در تیمارهای مختلف این نانوذرات، (ج) جذب و انتقال تیتانیوم

جوی بر منابع خاک اثر می‌گذارند (۲۷). برهمکنش بین نانوذرات و گیاهان ممکن است منجر به اصلاح بیان ژن گیاه و مسیرهای زیستی مربوطه شده و همچنین سبب تغییر در استقرار و رشد گیاه در خاک‌های دارای نانوذرات می‌شود (۱۰). واکنش گیاهان به حضور نانوذرات در خاک می‌تواند بسته به عوامل مختلفی از جمله گونه گیاهی و نوع نانوذرات، ویژگی‌های نانوذرات و غلظت و مدت زمان در معرض قرار گرفتن، متفاوت باشد (۱۷). آثار نامطلوب ناشی از مقادیر بیش از حد نانوذرات فلزی بر رشد گیاهان در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است. به‌عنوان مثال، استفاده از نانوذرات نقره (Ag) اثر بازدارنده بر رشد گیاه عدسک آبی (*Lemna minor L. clone St*) حتی در غلظت‌های کم نانوذرات (۵ میلی‌گرم بر لیتر) در محیط آبی نشان می‌دهد (۳۲). در ابتدا تعداد بی‌شماری از نانوذرات برای افزایش بهره‌وری گیاهان خوراکی مورد استفاده قرار گرفتند (۱۱ و ۱۳). در سال‌های اخیر، استفاده از نانوذرات مهندسی شده با هدف پالایش، مورد توجه قرار گرفته است. دی‌اکسید تیتانیوم به‌طور گسترده‌ای در محصولات مختلفی از جمله: منسوجات، رنگ‌ها، پلاستیک‌ها، کودها، ترکیب‌های دندانپزشکی، مواد ضدباکتری و مواد آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). پیش‌بینی می‌شود تولید سالانه دی‌اکسید تیتانیوم در جهان به ۲/۵ میلیون تن در سال ۲۰۲۵ برسد (۲۰). اکثر پژوهش‌ها در زمینه استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ( $\text{TiO}_2$  NPs) در محیط‌های آبی متمرکز شده‌اند، و تنها تعداد محدودی از آن‌ها در محیط خاک انجام شده است. جذب و تثبیت فلزات سنگین در خاک با استفاده از نانوذرات به‌عنوان مکانیسم مهمی شناخته شده است که به کمک آن می‌توان به پالایش در مکان‌های آلوده دست یافت. به‌عنوان مثال، در پژوهشی تثبیت موفقیت‌آمیز برخی از فلزات سنگین در خاک با اصلاح‌کننده‌های آهن مانند آهن صفر ظرفیتی ( $\text{Fe}^0$ ) گزارش شده است (۲۱ و ۲۴). تثبیت سرب (Pb)، آرسنیک (As) و کروم (Cr) نیز با استفاده از ۱۰٪ نانوذرات آهن صفر<sup>۱</sup> (nZVI)

2. Superoxide dismutase  
3. Catalase  
4. Peroxidase  
5. Nitrate reductase

1. Nano zero-valent iron

جدول ۱. نتایج آزمون خاک

Table 1. The results of soil analysis

پتاسیم	فسفر	نیتروژن کل	تیتانیوم	رسانایی الکتریکی	بی اچ خاک	کربن آلی	ماسه	سیلت	رس
Potassium	Phosphorous	Total nitrogen	Ti	EC	pH	Organic carbon	Sand	Silt	Clay
میلی گرم بر کیلوگرم (mg kg <sup>-1</sup> )		درصد (%)	دسی زیمنس بر متر (dS m <sup>-1</sup> )			درصد (%)			
۴۰۲/۸	۹/۱	۰/۴۵	۰/۴۲	۲/۱۲	۷/۷	۰/۹۸	۳۸	۳۵	۲۷

فسفر قابل جذب خاک با روش اولسن (۰/۵ میلی گرم بی کربنات سدیم، pH ۸/۵)، مقدار نیتروژن کل با روش کج‌دال<sup>۱</sup> (VELP Scientifica, UDK 142, Italy)، و مقدار کربن آلی (OC) با روش والکلی-بلک<sup>۲</sup> (۳۴) اندازه‌گیری شد. بافت خاک به روش هیدرومتر بایکاس<sup>۳</sup>، تعیین شد. غلظت کل تیتانیوم در نمونه‌های خاک با روش هضم اسیدی با مخلوطی از ۶ میلی لیتر اسید نیتریک و ۲ میلی لیتر کلریدریک اسید در یک سیستم واکنش میکروویو تعیین شد (۱۲). سپس غلظت تیتانیوم در عصاره با استفاده از طیف‌سنجی جذب اتمی اندازه‌گیری شد. ویژگی‌های خاک مورد استفاده در جدول (۱) نشان داده شده است. تمام تجزیه تحلیل‌ها با سه تکرار انجام شده و میانگین مقادیر گزارش شده است.

#### سنتر ذرات دی اکسید تیتانیوم در مقیاس نانو

برای تهیه نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، ۵۰ میلی لیتر تتراکلرید تیتانیوم (TiCl<sub>4</sub>) به آرامی به ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر (DW) در حمام یخ افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه با استفاده از یک همزن مغناطیسی برای به دست آوردن یک محلول همگن همزده شد. سپس دمای حمام تا نقطه جوش افزایش یافت تا روند شکل‌گیری نانوذرات کامل شود. مقدار ۱۵۰ میلی لیتر محلول اوره (۱۰۴ میلی گرم بر میلی لیتر) به درون همزن با سرعت ثابت افزوده شد تا اینکه محلول به کلئوئید سفید بدون ته‌نشینی تبدیل

توسط سورگوم و (د) گنجایش ذخیره‌سازی تیتانیوم در سورگوم، مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

##### آماده‌سازی و اندازه‌گیری ویژگی‌های خاک

خاک مورد نیاز از زمین‌های بدون آلودگی تهیه شده و به منظور جداسازی شن و ذرات درشت آن با استفاده از یک الک ۲ میلی متری غربال شد. سپس نمونه‌های خاک به مدت یک هفته در هوا خشک شد. پیش از افزودن نانوذرات، خاک الک شده کاملاً به صورت دستی مخلوط و همگن شد. سطوح غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم سنتز شده شامل ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و سپس سوسپانسیون آماده شده در حمام آب به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و همزده شد. سپس گلدان‌ها (با قطر دهانه ۱۷ سانتی متر و ارتفاع حدود ۱۳ سانتی متر) هر یک با ۱ کیلوگرم خاک پر شد، و سوسپانسیون آماده شده به هر یک افزوده شد. به گلدان شاهد نیز تنها ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده شد (۲۶). گلدان‌ها به مدت سه هفته در یک اتاق تاریک (با دمای ۲۴-۲۰ درجه سلسیوس) پیش از کاشت بذر نگهداری شدند. رطوبت گلدان‌ها در طول این سه هفته با آب مقطر در ۷۰٪ گنجایش مزرعه نگهداری شد (روش وزنی). اندازه‌گیری ویژگی‌های خاک پیش از کاشت بذر به روش‌های استاندارد انجام شد. pH و رسانایی الکتریکی (EC) در نسبت وزنی خاک به آب ۱ : ۲/۵ اندازه‌گیری شدند. مقدار

1. Kjeldahl

2. Walkley-Black

3. Bouyoucos hydrometer

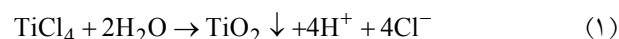
میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) بررسی شد.

### آزمایش گلخانه‌ای

این پژوهش در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. بذرهاى گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor*) در گلدان‌های پلاستیکی حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم کاشته شدند. در ابتدا ۷ بذر در هر گلدان کاشته شد، پس از جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهان به تدریج به منظور جلوگیری از ایجاد رقابت بین گیاهان در نهایت سه گیاه قوی‌تر نگهداری شد. نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مقادیر ۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به خاک افزوده شدند. گیاهان در طی یک دوره ۶۰ روزه در گلخانه کشت شدند. بذرها در عمق ۲-۱/۵ سانتی‌متر از خاک سطح، در هر گلدان کاشته شدند. برای ایجاد شرایط طبیعی، گلدان‌ها در زیر نور آفتاب در گلخانه (۱۰ تا ۱۲ ساعت دریافت نور طبیعی) نگهداری می‌شدند و به منظور حفظ رطوبت خاک در محدوده ۶۰ تا ۷۵ درصد گنجایش مزرعه<sup>۳</sup>، آبیاری سه مرتبه مرتبه در طول هفته انجام شد. گلدان‌ها برای ارزیابی میزان ظهور جوانه‌ها در تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفته و گیاهان رشد یافته پس از ۶۰ روز برداشت شدند، و سپس زیست‌توده و طول ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری شد. برای به‌دست آوردن وزن خشک زیست‌توده، گیاهان در دمای ۷۰ °C به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند.

پس از برداشت، ریشه و اندام هوایی گیاه با آب مقطر کاملاً شستشو شده، در دمای اتاق (۲۵-۲۲ درجه سلسیوس) خشک شده و سپس به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس در آون خشک شد. نمونه‌های گیاهی (۵/۰ گرم) در لوله هضم در دمای ۲۳۰-۱۰۰ درجه سلسیوس با ۴ میلی‌لیتر اسید نیتریک (HNO<sub>3</sub>) و ۱ میلی‌لیتر پرکلریک اسید (HClO<sub>4</sub>) گرما داده شد تا نمونه شفاف شود. سپس نمونه برای خوانش تیتانیوم با دستگاه جذب اتمی مدل (AAAnalyst 600) آماده شد (۹ و ۳۸).

شود. سپس به محلول به‌دست آمده به مدت یک شب فرصت داده شد تا لخته شود و کلویید لخته شده ۵ مرتبه با آب مقطر شسته شد (۵). هنگامی که تتراکلرید تیتانیوم هیدرولیز می‌شود، ذرات دی‌اکسید تیتانیوم به همراه یون‌های هیدروژن (H<sup>+</sup>) و کلرید (Cl<sup>-</sup>) تولید می‌شوند که با رابطه زیر بیان می‌شود:



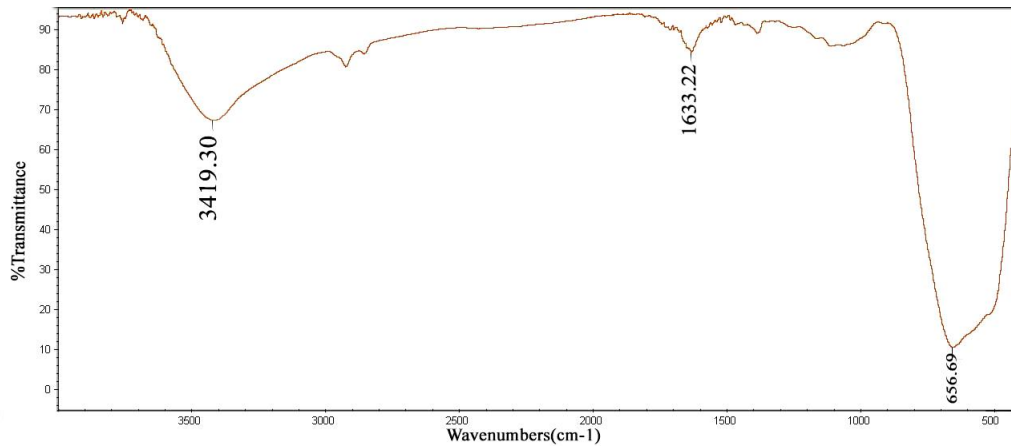
سپس حجم سوسپانسیون با آب دی‌یونیزه شده به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید تا غلظت مورد نظر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تامین شود. اندازه نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی<sup>۱</sup> (FE-SEM) برند Tescan و مدل Mira3 تعیین شد. اندازه نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در دامنه ۴۵ تا ۸۵ نانومتر بود. انتخاب غلظت نانوذرات بر اساس آزمایش‌های اولیه انجام شد، که نشان داد غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثر ناچیزی بر رشد گیاه و جذب عنصر داشت. استفاده از این نانوذرات با غلظت بیش‌تر از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک اثر بازدارنده شدید بر رشد گیاه نشان داد. بنابراین، غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در محدوده ۱۰۰-۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انتخاب شد. سطوح مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سنتز شده با مقادیر ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌طور جداگانه هر یک در ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شده و سپس سوسپانسیون آماده شده در حمام آب به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و به‌صورت پیوسته همزده شد و سپس در سطوح مورد نظر به خاک‌های گلدان‌ها افزوده شد.

### ویژگی‌های نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

از آنالیز مادون قرمز تبدیل فوریه<sup>۲</sup> (FTIR) برای بررسی پودر خشک شده نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم استفاده شد. طیف FTIR نمونه توسط طیف‌سنج مدل Avatar 370 (ThermoNicolet) در محدوده طول موج ۴۰۰-۴۰۰۰ cm<sup>-1</sup> ثبت شد. علاوه بر این، مورفولوژی نانوذرات سنتز شده توسط

1. Field Emission Scanning Electron Microscopy
2. Fourier Transform Infrared Spectroscopy

3. Field capacity



شکل ۱. الگوی طیف‌سنجی (FTIR) تهیه شده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سنتز شده

Fig. 1. Fourier transformed infrared (FTIR) spectrum of the synthesized TiO<sub>2</sub> nanoparticles

## نتایج و بحث

آنالیز مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سنتز شده

طیف FTIR نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سنتز شده پیک‌های مشخص مختلفی را نشان می‌دهد (شکل ۱). قله‌های این طیف، در  $3419/30 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به کشش و در  $1633/22 \text{ cm}^{-1}$  به دلیل ارتعاش خمشی گروه (-OH) است. پیک شدید در  $656/69 \text{ cm}^{-1}$  به پیوندهای ارتعاشی خمشی (Ti-O-Ti) در شبکه دی‌اکسید تیتانیوم اختصاص داده می‌شود.

بررسی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سنتز شده توسط

### میکروسکوپ الکترونی

مورفولوژی سطح نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سنتز شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی FE-SEM بررسی شد و تصاویر مربوطه با بزرگنمایی‌های مختلف در (شکل ۲) نشان داده شده است. با توجه به (شکل ۲)، میانگین اندازه ذرات تقریباً برابر ۶۰ نانومتر بود. همچنین با توجه به تصاویر، نانوذرات سنتز شده کروی شکل، صاف و اندازه نانوذرات همسان است. نمونه دارای توزیع یکنواخت و ساختار همگن بوده و ساختار غیرعادی روی سطح مشاهده نشد.

## ضرب تغلیظ زیستی<sup>۱</sup> و ضرب انتقال<sup>۲</sup>

ضرب تغلیظ زیستی (BCF) برای محاسبه توان جذب از خاک در بافت گیاهان استفاده می‌شود که می‌توان برای هر قسمت از گیاه مانند ریشه و اندام هوایی استفاده کرد. ضرب انتقال (TF) نیز یک شاخص مهم برای ارزیابی پتانسیل گیاهان معین برای مقاصد گیاه‌پالایی است که برابر نسبت غلظت عنصر در اندام هوایی به ریشه است. ضرب تغلیظ زیستی و ضرب انتقال با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند (۸):

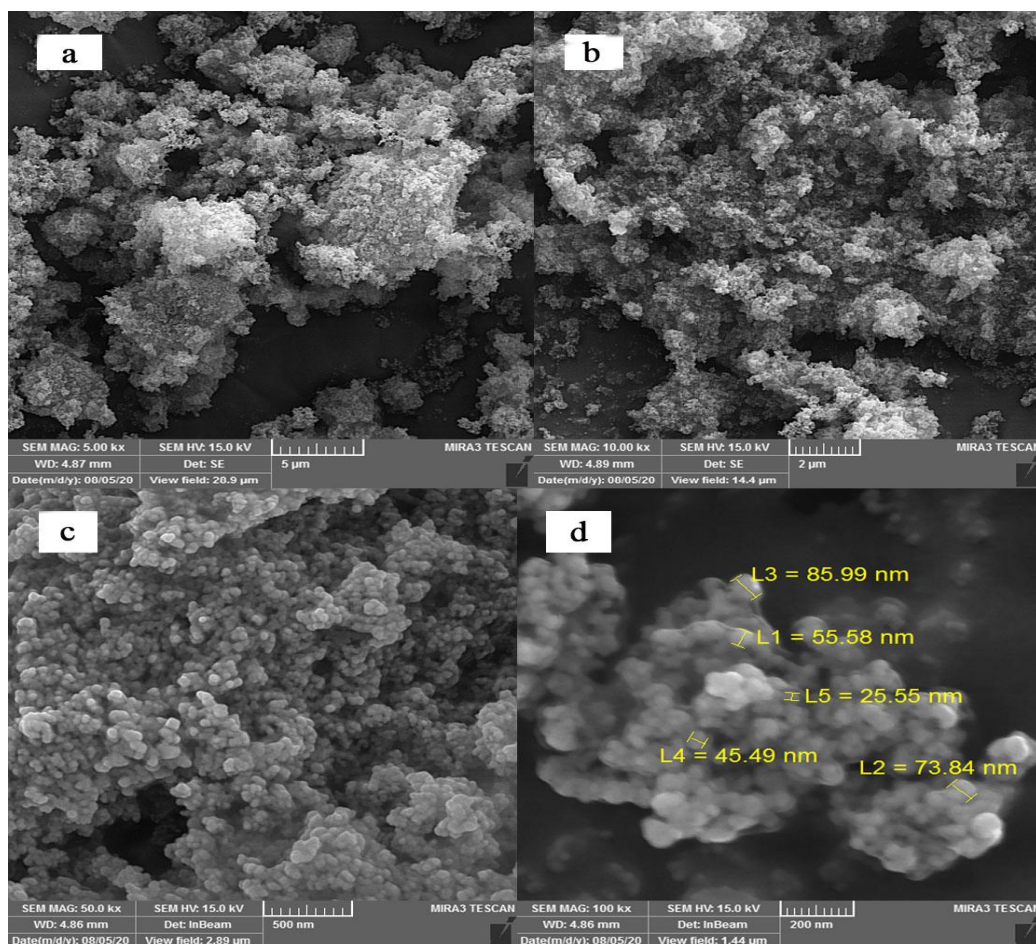
$$BCF = \frac{\text{Concentration of metal in roots}}{\text{Concentration of metal in test soil}} \quad (2)$$

$$TF = \frac{\text{Concentration of metal in shoots}}{\text{Concentration of metal in roots}} \quad (3)$$

## تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری براساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 24 انجام شد. کلیه نتایج به صورت میانگین همراه با انحراف معیار = (۳n) ارائه شده است. میانگین‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه<sup>۳</sup> (ANOVA) و پس از آن با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار<sup>۴</sup> (LSD) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مقایسه شدند.

1. Bioconcentration factor
2. Translocation factor
3. One-way analysis of variance
4. Least significant difference



شکل ۲. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM) از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم سنتز شده با بزرگ‌نمایی‌های

(a) ۵ μm، (b) ۲ μm، (c) ۵۰۰ nm و (d) ۲۰۰ nm

**Fig. 2.** Field Emission Scanning Electron Microscopy (FE-SEM) images of synthesized TiO<sub>2</sub> nanoparticles in (a) 5 μm field, (b) 2 μm field, (c) 500 nm field, and (d) 200 nm field.

## رشد گیاه

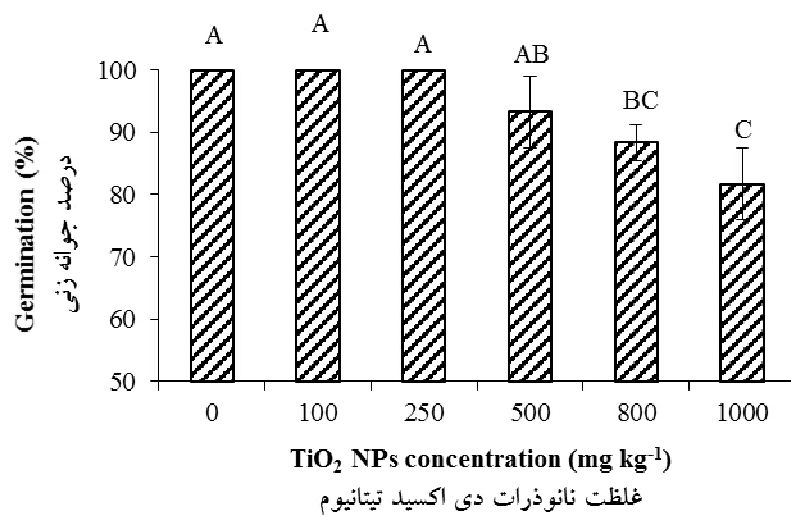
### جوانه‌زنی سورگوم

ظهور جوانه سورگوم در تیمارهای مختلف در طول آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حداکثر تا ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در خاک باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد نشد، اما غلظت-های بیشتر آن (۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش جوانه‌زنی سورگوم شدند (شکل ۳).

کاربرد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۱۰۰۰-۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌داری در جوانه‌زنی شد ( $p < 0.05$ ). رشد و جوانه‌زنی کلم و ذرت با حضور غلظت کم

از تیتانیوم در خاک گزارش شده است (۲۲). استفاده از غلظت-های ۱۰۰-۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم همچنین بر جوانه‌زنی بذر سویا اثر مثبت نشان داد (۲۹).

در این پژوهش، تأخیر در جوانه‌زنی نیز به دلیل افزودن ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم مشاهده شد. با این حال، سورگوم تحمل زیادی به حضور سطوح بیش‌تر این نانوذرات نشان داد، به طوری که کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی تنها در حضور ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم این نانوذرات کاهش ( $8/5 \pm 1/7$ ) یافت.



شکل ۳. درصد جوانه‌زنی نهایی سورگوم در خاک تیمار شده با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO<sub>2</sub> NPs)؛ میله‌های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار بوده و حروف مختلف بیانگر تفاوت معنی‌داری بین تیمارها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

**Fig. 3.** Final seedling emergence percent of sorghum in soil treated with TiO<sub>2</sub> nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs); Error bars represent standard deviation and different letters represent significant differences between the treatments (LSD,  $p < 0.05$ ).

نانوذرات موجود در خاک به نوع گیاه و همچنین نوع و غلظت نانوذرات بستگی دارد (۴۰).

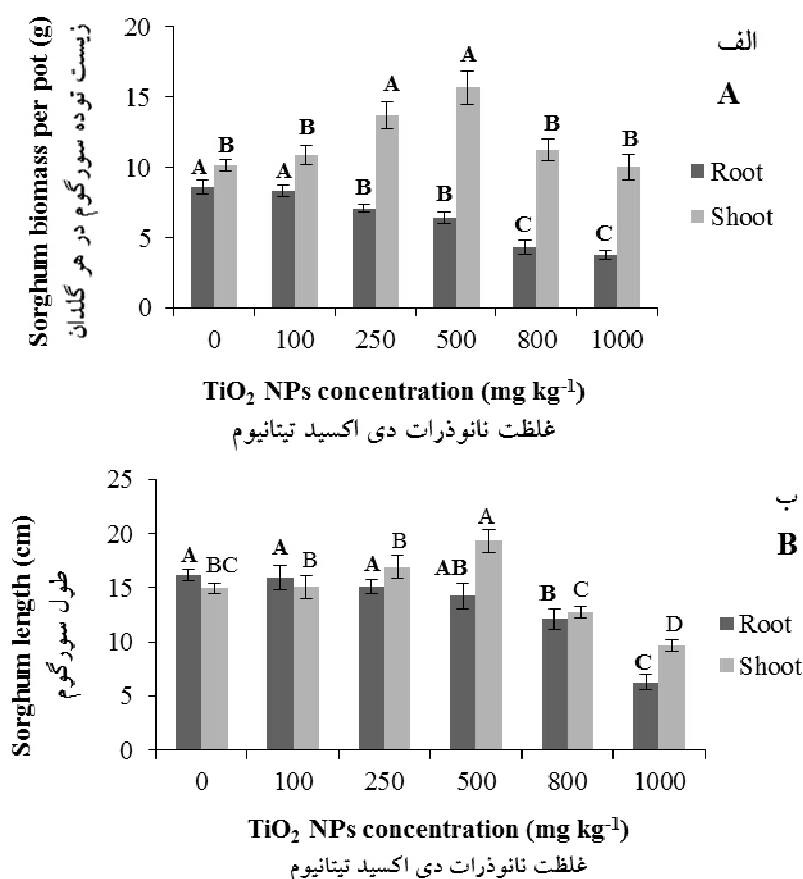
#### استخراج تیتانیوم توسط گیاه از خاک

غلظت کل تیتانیوم در گیاهان برداشت شده در این پژوهش برای ارزیابی اثر تیمارهای مختلف بر جذب تیتانیوم تعیین شد. در جدول (۲) توزیع غلظت تیتانیوم در ریشه و اندام هوایی گیاه در تیمارهای مختلف نانوذرات ارائه شده است.

نتایج متناقض در پژوهش‌های انجام شده در ارتباط با توزیع غلظت تیتانیوم و زیست‌توده گزارش شده است. به‌عنوان مثال، کاهش زیست‌توده گندم در غلظت ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده شده است (۷)، درحالی‌که کاربرد ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این نانوذرات باعث افزایش زیست‌توده سویا در خاک می‌شود (۲۹). طول ریشه در پاسخ به افزودن نانوذرات به خاک، روندی مشابه زیست‌توده ریشه را دنبال کرده و با افزایش غلظت نانوذرات کاهش یافته است (شکل ۴-ب). رشد سورگوم در خاک دارای ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات با طول ریشه  $0.7 \pm 6.3$  سانتی‌متر و طول

#### زیست‌توده و طول ریشه و اندام هوایی سورگوم

زیست‌توده و طول ریشه و اندام هوایی پس از برداشت برای ارزیابی آثار تیمارهای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر رشد گیاه بررسی شد. شکل (۴-الف) نشان می‌دهد که استفاده از این نانوذرات باعث کاهش زیست‌توده ریشه سورگوم به‌ویژه در غلظت‌های بیش‌تر آن می‌شود، درحالی‌که سبب افزایش زیست‌توده اندام هوایی گیاهان در کلیه تیمارها (به استثناء غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با شاهد می‌شود. استفاده از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات زیست‌توده اندام هوایی را در مقایسه با تیمار شاهد به میزان ۱/۳۸٪ کاهش داد ( $p < 0.05$ ). کاهش زیست‌توده ریشه با افزایش غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده شد. بیش‌ترین افزایش قابل توجه در زیست‌توده اندام هوایی (۵۴/۲۳٪) در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این نانوذرات نسبت به شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). کل زیست‌توده گیاهی با کاربرد ۱۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات افزایش یافت، درحالی‌که روند کاهش در خاک‌های تیمار شده با غلظت بیش‌تر نانوذرات به‌دست آمد (شکل ۴-الف). افزایش یا مهار رشد گیاهان در حضور



شکل ۴. زیست توده (الف) و طول (ب) ریشه و اندام هوایی سورگوم در غلظت‌های مختلف نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO<sub>2</sub> NPs) که ۶۰ روز رشد کرده است؛ میله‌های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار بوده و حروف مختلف برای هر صفت بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

**Fig. 4.** Biomass (A) and length (B) of root and shoot of sorghum grown for 60 days in different TiO<sub>2</sub> nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) concentrations; Error bars represent standard deviation and different letters for each trait represent significant differences between the treatments (LSD,  $p < 0.05$ ).

جدول ۲. اثر غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO<sub>2</sub> NPs) بر غلظت تیتانیوم (Ti) در ریشه و اندام هوایی، ضریب تغلیظ زیستی (BCF) و ضریب انتقال (TF) تیتانیوم در گیاه سورگوم که ۶۰ روز در خاک رشد کرده است (± انحراف استاندارد نشان داده شده است).

**Table 2.** Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) concentration on titanium (Ti) concentration in root and shoot, bioconcentration factor (BCF) and translocation factor (TF) of Ti in sorghum plant grown in soil for 60 days (± standard deviations are presented).

TiO <sub>2</sub> NPs concentration غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (mg kg <sup>-1</sup> )	Ti concentration (mg kg <sup>-1</sup> ) غلظت تیتانیوم		BCF ضریب تغلیظ زیستی	TF ضریب انتقال
	Root ریشه	Shoot اندام هوایی		
0	460.65±58.57	336.27±63.43	2.05±0.06	0.75±0.22
100	667.5±51.25	513.98±34.86	2.18±0.12	0.77±0.07
250	755.35±82.77	679.82±93.74	2.68±0.07	0.90±0.12
500	951.44±104.21	970.47±88.29	3.08±0.23	1.03±0.20
800	1175.67±158.23	822.92±76.69	2.43±0.09	0.71±0.14
1000	1331.80±117.29	865.63±60.23	2.31±0.10	0.65±0.08



اندام هوایی  $0/5 \pm 12/8$  سانتی متر به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت ( $p < 0/05$ ).

بر اساس پژوهش‌های انجام شده، سمیت آلاینده‌ها با افزودن نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به خاک تقویت می‌شود (۱۵). تشدید حساسیت زیست‌توده و طول ریشه سورگوم به حضور غلظت‌های بالای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (عمدتاً بیش از ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در این پژوهش مشاهده شد، درحالی‌که کاربرد غلظت‌های کم‌تر آن (۵۰۰-۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) موجب افزایش زیست‌توده و طول ریشه گیاه شد. کاربرد ۰/۱٪ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در خاک، طول اندام هوایی حیوانات را اندکی افزایش داد (۱). افزایش توانایی گیاهان خوراکی مانند گوجه‌فرنگی در جذب عناصر مغذی (Ca, P, N, Mg) از خاک، و همچنین افزایش رشد گیاهان در خاک‌های تیمار شده با نانوذرات نیز گزارش شده است (۱۹). سورگوم گونه‌ای با رشد سریع است که سبب می‌شود برای گیاه‌پالایی، گیاه مناسبی باشد زیرا تولید مقدار قابل توجه زیست‌توده معیار مهمی برای پتانسیل گیاه‌پالایی است (۲۵). علاوه بر این، زیست‌توده گیاهی و افزایش تحمل در خاک‌های آلوده نقش اساسی در پالایش موفق دارند. استخراج گیاهی فلزات سنگین در مقایسه با روش‌های مرسوم در پالایش ده برابر اقتصادی‌تر است (۳۵). گیاهان منتخب برای استخراج گیاهی باید دارای رشد سریع، سیستم ریشه‌ای گسترده و تولید زیست‌توده زیاد باشند (۲). به‌طور خلاصه، غلظت‌های کم تا متوسط نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از رشد گیاه پشتیبانی می‌کند، درحالی‌که غلظت‌های بیش‌تر این نانوذرات (یعنی ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک) اثر بازدارنده بر رشد سورگوم دارد. نمی‌توان مقدار ثابتی از غلظت تیتانیوم برای میزان سمیت پیشنهاد کرد، زیرا در هر گیاه سمیت در غلظت متفاوتی رخ می‌دهد. به‌عنوان مثال حد آستانه برای کلم قرمز ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و در گونه‌ای از درخت بلوط ۱۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم است (۳).

مانند اکثر عناصر انتقالی، تیتانیوم به‌طور عمده در ریشه‌های

گیاه انباشته می‌شود که بخش کوچکی از آن توسط آوندهای چوبی گیاه به قسمت‌های هوایی منتقل می‌شود (۱۶)، همان‌طور که در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد. آثار منفی غلظت‌های زیاد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر توانایی جذب تیتانیوم توسط سورگوم مشاهده شد، که با رشد کند گیاهان در غلظت‌های زیاد این نانوذرات همخوانی دارد. انباشتگی در گیاهان ممکن است به دلیل تولید و انباشت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث ایجاد تنش اکسیداتیو شود. غلظت کم نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب کاهش اندک تنش اکسیداتیو در گیاهان کشت شده در خاک‌های آلوده می‌شود، درحالی‌که تنش اکسیداتیو به دلیل افزودن غلظت‌های زیاد این نانوذرات تشدید می‌شود (۴) و (۱۴). بنابراین، انباشت زیاد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ممکن است هم تنش اکسیداتیو قابل توجهی و هم آسیب به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان ایجاد کند، که باید مورد بررسی بیش‌تری قرار گیرد.

مکانیسم‌های حذف آلودگی در گیاه‌پالایی پیچیده بوده و تنها به متابولیسم مستقیم آلاینده‌های گیاهان محدود نمی‌شوند (۳۱). برخی از مکانیسم‌های کاهش غیرمستقیم در گیاه‌پالایی، نیز مانند متابولیسم آلاینده‌های میکروبی مرتبط با گیاه در ریزوسفر و/یا دگرگونی‌های ناشی از گیاه در محیط آلوده نقش دارند. در گونه‌های خشکی، انتقال آلاینده‌ها به سمت ریشه گیاه تحت تأثیر جذب آب توسط ریشه قرار دارد و توزیع در گیاه به‌طور عمده به چگونگی انتقال در بافت آوند چوبی و/یا آوند آبکش وابسته است (۴۱). گیاهان می‌توانند آلاینده‌هایی مانند فلزات سنگین را از خاک جذب کرده و از طریق فرآیندی فرعی به نام استخراج گیاهی، آن‌ها را به قسمت‌های قابل برداشت منتقل کنند. این فرایند اغلب با فلزات، رادیونوکلیدها (هسته‌های پرتوزا) و برخی ترکیبات آلی که در برابر متابولیسم گیاهان مقاوم هستند رخ می‌دهد. جدول (۲) نشان می‌دهد که غلظت کل تیتانیوم در ریشه به‌طور قابل توجهی بیش‌تر از اندام هوایی است که ممکن است به علت قرار گرفتن ریشه‌های سورگوم در معرض مستقیم نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باشد.

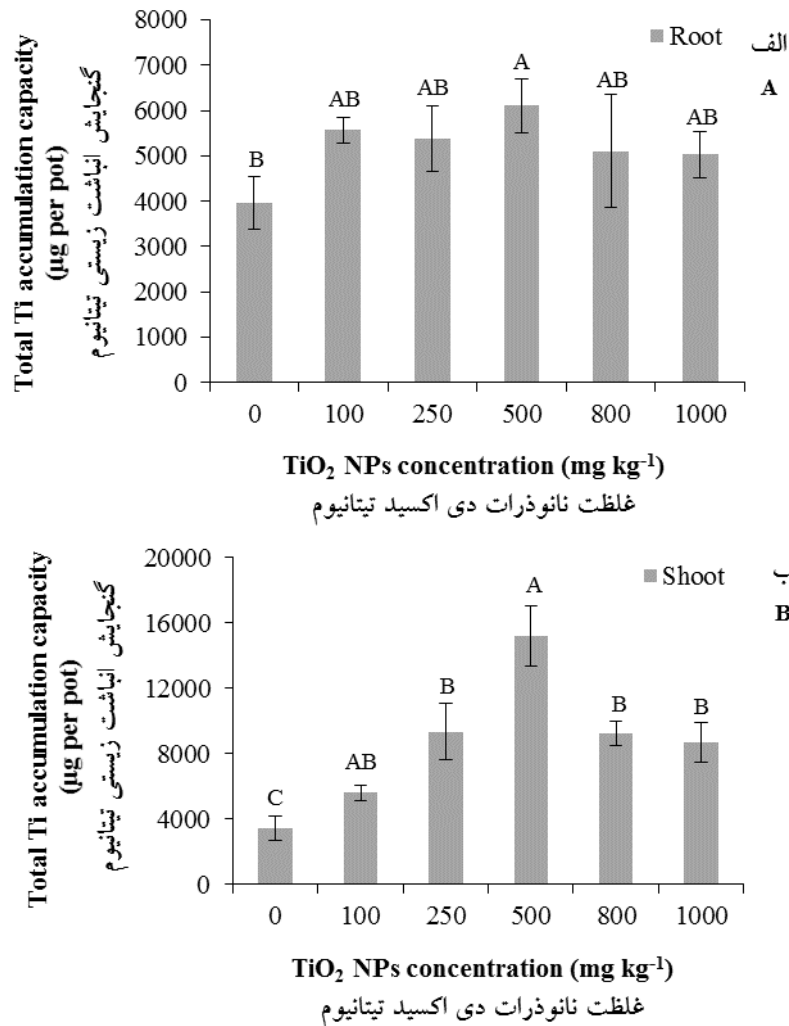
گسترش حذف آلودگی‌هایی مانند فلزات سنگین از خاک با استفاده از گیاهان و نانوذرات انجام شده است (۶ و ۳۰) هنگامی که مسیر آلاینده‌ها از ریشه تا اندام هوایی به واسطه مقادیر بیش از حد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مسدود شود، آلاینده‌های موردنظر نمی‌توانند از ریشه به اندام هوایی منتقل شوند؛ بنابراین انباشت در اندام هوایی می‌تواند کاهش یابد، که این مسئله در زمینه استخراج گیاهی مطلوب نیست.

نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم پس از جذب توسط گیاهان، می‌توانند در طول مسیر ساقه گیاه حرکت کرده و ممکن است متابولیسم گیاه را مختل کنند (۱۵). بر اساس شکل (۵)، بیش‌ترین گنجایش انباشت زیستی کل تیتانیوم در سورگوم برابر با ۲۱/۳۲ میلی‌گرم در گلدان بود که در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این نانوذرات به‌دست آمد. شکل‌های (۵-الف) و (۵-ب) نشان می‌دهد که گنجایش انباشت زیستیتیتانیوم در ریشه و اندام هوایی سورگوم در کلیه تیمارهای نانوذرات در مقایسه با شاهد افزایش یافته است. با این حال، گنجایش انباشت ریشه و اندام هوایی در غلظت‌های کاربردی بیش‌تر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم کاهش یافته است.

### نتیجه‌گیری

این بررسی با هدف ارزیابی تأثیر سطوح مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر میزان رشد گیاه سورگوم در خاک و سرنوشت این نانوذرات در گیاه انجام شد. گونه گیاهی سورگوم از مقاومت قابل قبولی در حضور غلظت‌های کم تا متوسط این نانوذرات و همچنین دارای قابلیت جذب زیاد این مواد است، درحالی‌که کاربرد غلظت‌های زیاد این نانوذرات به خاک می‌تواند آثار منفی بر شاخص‌های رشد سورگوم داشته باشد. یافته‌ها نشان داد سورگوم به‌عنوان یک گونه گیاهی دارای توان تحمل حضور نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در خاک است. اگرچه، جوانه‌زنی در سورگوم با افزودن ۱۰۰۰-۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این نانوذرات به خاک به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. از طرفی افزودن ۵۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

در خاک دارای ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این نانوذرات، غلظت Ti در ریشه افزایش یافت تا به سطح ۱۳۳۱/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم رسید که این مقدار، ۳ برابر بیش‌تر از مقدار مربوطه در تیمار شاهد بود. در تیمارهای ۵۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، غلظت تیتانیوم در اندام هوایی و همچنین مقادیر ضریب انتقال با افزایش نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم افزایش یافت، که نشان می‌دهد غلظت‌های کم تا متوسط این نانوذرات می‌تواند انتقال تیتانیوم در سورگوم را افزایش دهد. مقادیر ضریب تغلیظ زیستی و ضریب انتقال تیتانیوم در تیمارهای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در بازه ۲/۱۸ تا ۳/۰۸ و ۰/۶۵ تا ۱/۰۳ به ترتیب مربوط به بیش‌ترین مقادیر به‌دست آمده در سطوح ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این نانوذرات بود. با وجود افزایش غلظت تیتانیوم در ریشه سورگوم، مقادیر ضریب تغلیظ زیستی با افزودن ۱۰۰۰-۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات کاهش یافت. علاوه بر این، ضریب انتقال در تیتانیوم در تیمارهای ۱۰۰۰-۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات کاهش یافته که حاکی از آن است که استفاده از غلظت‌های بیش‌تر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم دارای اثر بازدارنده بر جذب تیتانیوم توسط گیاه و انتقال تیتانیوم در گیاه است. دلیل این یافته ممکن است مسدود شدن انتقال تیتانیوم از ریشه به ساقه توسط نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باشد (۳۶). نتایج نشان داد که مقادیر ضریب انتقال کم‌تر از یک بود و در غلظت‌های بیش‌تر این نانوذرات (یعنی ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کاهش بیشتری می‌یابد. همچنین توانایی محدود گیاهان برای انتقال برخی فلزات به اندام‌های هوایی گیاهان به دلیل مسدود شدن تارهای کشنده ریشه گیاهان ناشی از قرار گرفتن در معرض فلزات گزارش شده است (۳۷) در گیاهانی که تحت تنش فلزات سنگین رشد کرده‌اند، کاهش انتقال فلزات از ریشه به اندام هوایی مشاهده شده است (۳۳). همچنین این پدیده می‌تواند به علت حضور مقادیر زیاد نانوذرات در خاک، اثر منفی بر گیاه‌پالایی آلاینده‌ها داشته باشد. به‌تازگی، برخی از پژوهش‌ها در زمینه گیاه‌پالایی به کمک فناوری نانو برای



شکل ۵. گنجایش انباشت زیستی تیتانیوم در ریشه (الف) و اندام هوایی (ب) سورگوم در غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO<sub>2</sub> NPs) که ۶۰ روز رشد کرده است؛ میله‌های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار بوده و حروف مختلف بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

**Fig. 5.** Titanium (Ti) accumulation capacity in root (A) and shoot (B) of sorghum grown for 60 days in different TiO<sub>2</sub> nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) concentrations; Error bars represent standard deviation and different letters represent significant differences between the treatments (LSD,  $p < 0.05$ ).

از اندام هوایی در همه تیمارها مؤید این مطلب بود که ریشه سورگوم اندام ذخیره‌سازی تیتانیوم است. غلظت‌های کم و متوسط نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌طور مؤثر سبب افزایش گنجایش انباشت سورگوم برای تیتانیوم با پیشرفت رشد گیاه شد. نتایج نشان داد که این نانوذرات در غلظت‌های کم می‌توانند با آثار نامطلوب اندکی بر گیاه سورگوم مورد استفاده قرار گیرند. به‌طور کلی، استفاده از غلظت‌های کم تا متوسط نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم آثار سمی بر گیاه نشان نمی‌دهد،

نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به خاک باعث افزایش زیست‌توده سورگوم شد، درحالی‌که افزودن مقادیر بیش‌تر آن به خاک آثار بازدارنده بر عملکرد زیست‌توده گیاه نشان داد. غلظت کل تیتانیوم در سورگوم تحت تیمار با نانوذرات بیش‌تر از مواردی بود که تحت تیمار با این نانوذرات نبود. مقدار تیتانیوم در ریشه و اندام هوایی در سورگوم در حضور ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات به‌ترتیب ۲/۰۶ و ۲/۸۸ برابر در مقایسه با شاهد افزایش یافت. انباشت قابل توجهی از تیتانیوم در ریشه بیش‌تر

باشد. استفاده تلفیقی از نانومواد و گیاه‌پالایی می‌تواند چشم‌انداز کاربردی روشنی در زمینه اصلاح خاک داشته باشد.

### سیاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از حمایت دانشگاه تهران برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی کنند.

درحالی‌که با استفاده از غلظت‌های ۱۰۰۰-۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این نانوذرات آثار بازدارنده بر رشد سورگوم داشت. به‌طور خلاصه، توانایی استخراج گیاهی سورگوم برای تیتانیوم (Ti) در حضور غلظت‌های کم تا متوسط نانوذرات  $\text{TiO}_2$  افزایش یافت. گیاه‌پالایی به کمک نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند یک رویکرد امیدوارکننده برای اصلاح خاک‌های آلوده

### منابع مورد استفاده

1. Abdel Latef, A.A.H., Srivastava, A.K., El-sadek, M.S.A., Kordrostami, M., Tran, L.S.P., 2018. Titanium dioxide nanoparticles improve growth and enhance tolerance of broad bean plants under saline soil conditions. *Land Degradation & Development* 29(4): 1065–1073.
2. Ashraf, S., Ali, Q., Zahir, Z.A., Ashraf, S., Asghar, H.N., 2019. Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 174: 714–727.
3. Dumon, J.C., Ernst, W.H.O., 1988. Titanium in plants. *Journal of Plant Physiology* 133(2): 203–209.
4. Bhargava, A., Carmona, F.F., Bhargava, M., Srivastava, S., 2012. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Journal of Environmental Management* 105: 103–120.
5. Chavan, S., Sarangdhar, V., Nadanathangam, V., 2020. Toxicological effects of  $\text{TiO}_2$  nanoparticles on plant growth promoting soil bacteria. *Emerging Contaminants* 6: 87–92.
6. Din, B.U., Rafique, M., Javed, M.T., Kamran, M.A., Mehmood, S., Khan, M., 2020. Assisted phytoremediation of chromium spiked soils by *Sesbania sesban* in association with *Bacillus xiamenensis* PM14: A biochemical analysis. *Plant Physiology and Biochemistry* 146: 249–258.
7. Du, W., Sun, Y., Ji, R., Zhu, J., Wu, J., Guo, H., 2011.  $\text{TiO}_2$  and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil. *Journal of Environmental Monitoring* 13(4): 822–828.
8. Embrandiri, A., Rupani, P., Shahadat, M., Singh, R., Ismail, S., Ibrahim, M., Abd Kadir, M.O., 2017. The phytoextraction potential of selected vegetable plants from soil amended with oil palm decanter cake. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture* 6(1): 37–45.
9. Fang, R., 1991. Application of Atomic Absorption Spectroscopy in Sanitary Test. Beijing University Press, Beijing.
10. Feizi, H., Amirmoradi, S., Abdollahi, F., Pour, S.J., 2013. Comparative effects of nanosized and bulk titanium dioxide concentrations on medicinal plant *Salvia officinalis* L. *Annual Research & Review in Biology* 2: 814–824.
11. Gao, J., Xu, G., Qian, H., Liu, P., Zhao, P., Hu, Y., 2013. Effects of nano- $\text{TiO}_2$  on photosynthetic characteristics of *Ulmus elongata* seedlings. *Environmental Pollution* 176: 63–70.
12. Gil-Díaz, M., Pinilla, P., Alonso, J., Lobo, M., 2017. Viability of a nanoremediation process in single or multi-metal (loid) contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials* 321: 812–819.
13. Hawthorne, J., De la Torre Roche, R., Xing, B., Newman, L. A., Ma, X., Majumdar, S., 2014. Particle-size dependent accumulation and trophic transfer of cerium oxide through a terrestrial food chain. *Environmental Science & Technology* 48(22): 13102–13109.
14. Huang, D., Qin, X., Peng, Z., Liu, Y., Gong, X., Zeng, G., 2018. Nanoscale zero-valent iron assisted phytoremediation of Pb in sediment: Impacts on metal accumulation and antioxidative system of *Lolium perenne*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 153: 229–237.
15. Huang, R., Dong, M., Mao, P., Zhuang, P., Paz-Ferreiro, J., Li, Y., 2020. Evaluation of phytoremediation potential of five Cd (hyper) accumulators in two Cd contaminated soils. *Science of The Total Environment* 721: 137581.
16. Kelemen, G., Keresztes, A., Bacsy, E., Feher, M., Fodor, P., Pais, I., 1993. Distribution and intracellular localization of titanium in plants after titanium treatment. *Food Structure* 12(1): 8.
17. Khiew, P., Chiu, W., Tan, T., Radiman, S., Abd-Shukor, R. and Chia, C.H., 2011. Capping effect of palm-oil based organometallic ligand towards the production of highly monodispersed nanostructured material. In: Maria, L. (Ed.), Palmetti Palm Oil: Nutrition, Uses and Impacts. Nova Science Publishers, Hauppauge, New York, pp. 189–219.
18. Kim, J.-H., Lee, Y., Kim, E.-J., Gu, S., Sohn, E. J., Seo, Y.S., 2014. Exposure of iron nanoparticles to *Arabidopsis thaliana* enhances root elongation by triggering cell wall loosening. *Environmental Science & Technology* 48(6): 3477–3485.
19. Kleiber, T., Markiewicz, B., 2013. Application of “Tytanit” in greenhouse tomato growing. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus* 12(3): 117–126.

20. Kuang, X., Shao, J., Peng, L., Song, H., Wei, X., Luo, S., 2020. Nano-TiO<sub>2</sub> enhances the adsorption of Cd (II) on biological soil crusts under mildly acidic conditions. *Journal of Contaminant Hydrology* 229: 103583.
21. Kumpiene, J., Ore, S., Renella, G., Mench, M., Lagerkvist, A., Maurice, C., 2006. Assessment of zerovalent iron for stabilization of chromium, copper, and arsenic in soil. *Environmental Pollution* 144(1): 62–69.
22. Lyu, S., Wei, X., Chen, J., Wang, C., Wang, X., Pan, D., 2017. Titanium as a beneficial element for crop production. *Frontiers in Plant Science* 8: 597.
23. Ma, X., Gurung, A., Deng, Y., 2013. Phytotoxicity and uptake of nanoscale zero-valent iron (nZVI) by two plant species. *Science of The Total Environment* 443: 844–849.
24. Okkenhaug, G., Gebhardt, K.-A. G., Amstaetter, K., Bue, H. L., Herzel, H., Mariussen, E., 2016. Antimony (Sb) and lead (Pb) in contaminated shooting range soils: Sb and Pb mobility and immobilization by iron based sorbents, a field study. *Journal of Hazardous Materials* 307: 336–343.
25. Pan, X., Zhang, D., Chen, X., Bao, A., Li, L., 2011. Antimony accumulation, growth performance, antioxidant defense system and photosynthesis of *Zea mays* in response to antimony pollution in soil. *Water, Air, and Soil Pollution* 215(1-4): 517–523.
26. Papazoglou, E.G., Fernando, A.L., 2017. Preliminary studies on the growth, tolerance and phytoremediation ability of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) grown on heavy metal contaminated soil. *Industrial Crops and Products* 107: 463–471.
27. Rede, D., Santos, L.H., Ramos, S., Oliva-Teles, F., Antão, C., Sousa, S.R., 2016. Ecotoxicological impact of two soil remediation treatments in *Lactuca sativa* seeds. *Chemosphere* 159: 193–198.
28. Rizzello, L., Pompa, P.P., 2014. Nanosilver-based antibacterial drugs and devices: mechanisms, methodological drawbacks, and guidelines. *Chemical Society Reviews* 43(5): 1501–1518.
29. Singh, J., Lee, B.-K., 2016. Influence of nano-TiO<sub>2</sub> particles on the bioaccumulation of Cd in soybean plants (*Glycine max*): A possible mechanism for the removal of Cd from the contaminated soil. *Journal of Environmental Management* 170: 88–96.
30. Singh, J., Lee, B.-K., 2018. Effects of nano-TiO<sub>2</sub> particles on bioaccumulation of <sup>133</sup>Cs from the contaminated soil by soybean (*Glycine max*). *Process Safety and Environmental Protection* 116: 301–311.
31. Singh, O., Jain, R., 2003. Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63(2): 128–135.
32. Unrine, J.M., Colman, B.P., Bone, A.J., Gondikas, A.P., Matson, C.W., 2012. Biotic and abiotic interactions in aquatic microcosms determine fate and toxicity of Ag nanoparticles. Part 1. Aggregation and dissolution. *Environmental Science & Technology* 46(13): 6915–6924.
33. Vatehová, Z., Kollárová, K., Zelko, I., Richterová-Kučerová, D., Bujdoš, M., Lišková, D., 2012. Interaction of silicon and cadmium in *Brassica juncea* and *Brassica napus*. *Biologia* 67(3): 498–504.
34. Walkley, A., Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37(1): 29–38.
35. Wan, X., Lei, M., Chen, T., 2016. Cost-benefit calculation of phytoremediation technology for heavy-metal-contaminated soil. *Science of The Total Environment* 563: 796–802.
36. Wang, J., Fang, Z., Cheng, W., Yan, X., Tsang, P.E., Zhao, D., 2016. Higher concentrations of nanoscale zero-valent iron (nZVI) in soil induced rice chlorosis due to inhibited active iron transportation. *Environmental Pollution* 210: 338–345.
37. Wang, S., Shi, X., Sun, H., Chen, Y., Pan, H., Yang, X., 2014. Variations in metal tolerance and accumulation in three hydroponically cultivated varieties of *Salix integra* treated with lead. *PloS One* 9(9): 1–11.
38. Wannaz, E.D., Carreras, H.A., Abril, G.A. and Pignata, M.L., 2011. Maximum values of Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> in the biomonitor *Tillandsia capillaris* (*Bromeliaceae*): Relationship with cell membrane damage. *Environmental and Experimental Botany* 74: 296–301.
39. Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C., 2006. Influence of nano-anatase TiO<sub>2</sub> on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research* 110(2): 179–190.
40. Yoon, H., Kang, Y.-G., Chang, Y.-S., Kim, J.-H., 2019. Effects of zerovalent iron nanoparticles on photosynthesis and biochemical adaptation of soil-grown *Arabidopsis thaliana*. *Nanomaterials* 9(11): 1543.
41. Zand, A.D., Nabibidhendi, G., Mehrdadi, N., Shirdam, R., Tabrizi, A.M., 2010. Total petroleum hydrocarbon (TPHs) dissipation through rhizoremediation by plant species. *Polish Journal of Environmental Studies* 19(1): 115–122.
42. Zheng, L., Hong, F., Lu, S., Liu, C., 2005. Effect of nano-TiO<sub>2</sub> on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. *Biological Trace Element Research* 104(1): 83–91.



## The Effect of Different Levels of Titanium Dioxide Nanoparticles in Soil on Sorghum Growth Characteristics

A. Daryabeigi Zand<sup>1\*</sup> and A. Vaezi Heir

(Received: 22 June 2022; Accepted: 16 October 2022)

### Abstract

Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) are being used widely for different purposes such as plant science and environmental remediation. Soil remediation using TiO<sub>2</sub> NPs with the aim of minimizing their toxicity in plants requires sufficient knowledge about the fate of these nanoparticles in the soil. Excessive amounts of nanomaterials may pose inhibitory effects on the growth of plants cultivated in TiO<sub>2</sub> NPs-affected soils. The main aim of this study was to investigate the effect of different levels of TiO<sub>2</sub> NPs in soil on sorghum (*Sorghum bicolor*) growth and the fate of these nanoparticles in plants. Sorghum seeds were sown in plastic pots containing different concentrations of TiO<sub>2</sub> NPs. Sorghum was found to be a tolerant plant species in the presence of TiO<sub>2</sub> NPs in soil; however, addition of higher doses of TiO<sub>2</sub> NPs (i.e., 800 and 1000 mg kg<sup>-1</sup> soil) adversely affected seed germination and plant growth. Results indicated that the total titanium (Ti) contents in sorghum treated with nanoparticles increased compared to the control. Significantly higher accumulation of Ti in the root compared to the shoot of sorghum was observed in all of the treatments. Results indicated that the total Ti contents in the plants treated with TiO<sub>2</sub> NPs were higher than those in control, with the highest Ti accumulation capacity of 21.32 mg per pot obtained in the soil treated with 500 mg kg<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub> NPs. Toxicity of higher doses of TiO<sub>2</sub> NPs to the plants was observed in this study. The results showed that sorghum has an acceptable tolerance in the low to moderate concentrations of TiO<sub>2</sub> NPs, whereas the high concentrations of these nanoparticles have inhibitory effects on the sorghum growth. Selection and application of proper doses of nanomaterials may prevent their negative effects on affected plants, while promoting the plant phytoextraction ability.

**Keywords:** Environmental remediation, Phytoextraction, Plant growth, Nanoparticles, Toxicity.

**Background and Objective:** The use of nanomaterials in environmental remediation has attracted considerable attention. Some plants are able to take up synthesized nanomaterials from soil and accumulate them in their tissues. Nanomaterials may interact with plants by altering gene expression and corresponding biological pathways, altering plant establishment and growth behavior in nanomaterials-affected soils. Many of these nanomaterials were originally developed in order to increase the productivity of edible plants. Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) have a wide range of applications, including environmental remediation. Concerns over the adverse impacts of nanomaterials on the environment and human health have been increased as the use of nanomaterials has increased significantly (1). This study examined the effect of

1- Department of Environmental Planning, Management & Education, Faculty of Environment, University of Tehran, Tehran, Iran.

\*: Corresponding author, Email: adzand@ut.ac.ir

excessive amounts of nanomaterials on the growth of sorghum plants cultivated in soils containing TiO<sub>2</sub> NPs. Additionally, the fate of TiO<sub>2</sub> NPs in the plant was studied.

**Methods:** Seeds of sorghum (*Sorghum bicolor*) were sown in plastic pots containing varying concentrations of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. Sorghum plants were cultivated over a 60-day period in a greenhouse. Each pot was planted with seeds at a depth of 1.5–2.0 cm below the surface soil. To simulate the natural conditions, pots were kept under natural sunlight (10–12 hours of light) and watered twice or three times a week. The experiments were carried out in three replicates. As a result of monitoring the emergence rate of seedlings in pots in different treatments, the biomass and length of root and shoot of the plants were measured 60 days after seeding. In order to determine the dry weight of the biomass, the plants were dried in an oven at 70 °C for 48 h (2). The SPSS Statistics v. 24 was used for all statistical analyses. Significance of differences was determined using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by least significant difference (LSD) test at  $p=0.05$ .

**Results:** The results indicated that sorghum is a tolerant plant species to TiO<sub>2</sub> NPs; however, the rate of seed germination was significantly reduced when the soil contained 800–100 mg kg<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub> NPs. Plant biomass yield was increased by applying 100 to 500 mg kg<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub> NPs to the soil, while plant biomass yield was inhibited by higher TiO<sub>2</sub> NPs levels. The plants treated with TiO<sub>2</sub> NPs had greater Ti contents than those not treated with TiO<sub>2</sub> NPs. The Ti contents of root and shoot of plants grown in the presence of TiO<sub>2</sub> NPs increased by 2.06 and 2.88 times, respectively, in comparison with the control. In all treatments, the root accumulated significantly more Ti than shoot, suggesting that root is the preferred organ for storing Ti. With the addition of TiO<sub>2</sub> NPs at low to moderate concentrations, the accumulation capacity of sorghum for Ti was effectively increased. The total Ti contents in the plants treated with TiO<sub>2</sub> NPs were higher than those in the control. The soil treated with 500 mg kg<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub> NPs showed the highest capacity for Ti accumulation (i.e., 21.32 mg per pot). Low to moderate concentrations of TiO<sub>2</sub> NPs did not have toxic effects on the plant, whereas the concentrations of 800 and 1000 mg kg<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub> NPs had inhibitory effects on the sorghum growth. It seems that low to moderate concentrations of TiO<sub>2</sub> NPs enhanced the phytoextraction ability of sorghum for Ti as confirmed by literature (3).

**Conclusions:** This study aimed to assess the effect of TiO<sub>2</sub> NPs on the sorghum growth and the fate of the nanomaterials in the plant. It was found that sorghum tolerated low to moderate concentrations of TiO<sub>2</sub> NPs, however, toxicity of higher doses of TiO<sub>2</sub> NPs to the plants was observed. Selection and application of proper doses of nanomaterials may prevent their negative effects on the plants, while promoting the plant phytoextraction ability.

#### References:

1. Papazoglou, E. G., Fernando, A. L., 2017. Preliminary studies on the growth, tolerance and phytoremediation ability of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) grown on heavy metal contaminated soil. *Industrial Crops and Products* 107: 463–471.
2. Zheng, L., Hong, F., Lu, S., Liu, C., 2005. Effect of nano-TiO<sub>2</sub> on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. *Biological Trace Element Research* 104(1): 83–91.
3. Singh, J., Lee, B.-K., 2016. Influence of nano-TiO<sub>2</sub> particles on the bioaccumulation of Cd in soybean plants (*Glycine max*): A possible mechanism for the removal of Cd from the contaminated soil. *Journal of Environmental Management* 170: 88–96.