



## مقایسه اثرات نانوذرات و میکروذرات اکسید روی (ZnO) بر روی برخی از صفات رویشی کلزا

سید موسی موسوی کوهی\*<sup>۱</sup>؛ مهرداد لاهوتی<sup>۲</sup>؛ علی گنجعلی<sup>۲</sup>؛ محمد حسن انتظاری<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>هیئت علمی گروه زیست‌شناسی، دانشگاه بیرجند

<sup>۲</sup>هیئت علمی دانشگاه فردوسی مشهد

\*smmousavi@birjand.ac.ir

**کلیدواژه‌ها:** اکسید روی، صفات رویشی، کلزا (*Brassica napus L.*)، نانوذرات

### چکیده

در دهه اخیر کاربرد نانومواد به طور گسترده‌ای در جهان افزایش یافته است. اکثر مطالعات در زمینه اثرات نانوذرات بر روی گیاهان در مرحله جوانه زنی یا مراحل اولیه رشد گیاه (مرحله گیاهچه‌ای) انجام شده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر دراز مدت این نانوذرات بر روی گیاهان، تغییرات رشد گیاه کلزا (*Brassica napus L.*) را در پاسخ به نانوذرات و میکروذرات اکسید روی (ZnO) به طور مقایسه‌ای مورد بررسی قرار داده است. در این مطالعه برخی از معیارهای رشد شامل زیتوده گیاه، رشد ریشه، نسبت نوشاخه به ریشه، ارتفاع نوشاخه، تعداد برگ‌ها و سطح برگ مورد بررسی قرار گرفته است. در مجموع مطالعه حاضر نشان داد که اثرات منفی نانوذرات بر روی صفات مورد سنجش بیشتر از اثرات میکروذرات نبود. این نتایج نشان می‌دهند که اثرات بازدارندگی تیمارهای نانوذرات و میکروذرات ZnO بر روی رشد کلزا به واسطه جذب ذرات توسط ریشه و اثرات مابعد آنها بر روی متابولیسم گیاه نبوده است. در مقابل، ممکن است این اثرات بازدارندگی تا اندازه‌ای به واسطه آزادسازی یون‌های سمی  $Zn^{2+}$ ، احتمالاً با القاء تراوشات ریشه، و یا برهمکنش‌های فیزیکی ذرات ZnO در سطح ریشه ایجاد شده باشند.

**کلمات کلیدی:** اکسید روی، صفات رویشی، کلزا (*Brassica napus L.*)، نانوذرات

### مقدمه

نانوذرات، اجتماعات مولکولی هستند که حداقل در یک جهت بین ۱ و ۱۰۰ نانومتر قطر دارند. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی این مواد به طور موثری در مقایسه با مواد توده که شامل میکروذرات و ذرات بزرگتر است، تغییر می‌یابد (Castiglione-Monica and Cremonini, ۲۰۰۹). این خواص غیر معمول ممکن است منجر به سرنوشت و رفتارهای محیطی متفاوتی نسبت به هم‌تایان توده‌ای آنها شود (Biener et al., ۲۰۰۵). به دلیل استفاده گسترده از نانوذرات در سال‌های اخیر، نگرانی‌ها در مورد آزادسازی احتمالی آنها در محیط و اثرات بالقوه آنها بر موجودات زنده افزایش یافته است (De la Rosa et al., ۲۰۱۱).



نانوذرات اکسید روی (ZnO) یکی از پرکاربردترین و پرمصرفترین نانوذرات هستند (Pokhrel and Dubey, ۲۰۱۳). این حجم بالای استفاده از ZnO در بسیاری از صنایع مصرفی که منجر به آزادسازی آنها به بسیاری از اکوسیستم‌های محیطی مختلف خواهد شد موید لزوم تحقیق در مورد اثرات آنها بر روی موجودات زنده از جمله گیاهان است. نانوذرات ZnO در لیست نانوذرات پیشنهاد شده برای تحقیقات، که از طرف بخش محیط، بهداشت و ایمنی سازمان همکاری و توسعه اقتصادی (OECD) ارائه می‌شود نیز وجود دارد (Hernandez-Viezcas *et al.*, ۲۰۱۱).

کلزا با نام علمی *Brassica napus L.* و از تیره Brassicaceae گیاهی است علفی با دوره رشد یک‌ساله که به دو تیپ بهاره و پاییزه تقسیم می‌شود. گیاه کلزا به عنوان یکی از مهمترین گیاهان زراعی، سومین منبع روغن‌های گیاهی پس از سویا و پالم است (Burbulis *et al.*, ۲۰۰۸). کلزا یکی از گیاهان دارویی نیز به شمار می‌رود. روغن این گیاه به علت دارا بودن کلسترول پایین، داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اثرات زیستی مفید و ضدسرطان، برای سلامتی انسان مطلوب می‌باشد. در طب سنتی ایران، ریشه این گیاه به دلیل خواص درمانی به عنوان مدر، ضد شوره و ضد التهاب مثانه مورد استفاده قرار می‌گرفته است. (Saeidnia and Gohari, ۲۰۱۲). در مطالعه حاضر رقم هایولا ۴۰۱ که یکی از ارقام بهاره کلزا است و در حجم بالایی در کشور ایران کشت می‌گردد به عنوان گیاه هدف انتخاب گردید. با توجه به دارویی بودن ریشه گیاه کلزا و این حقیقت که ریشه گیاه مستقیماً در معرض نانوذرات موجود در محیط قرار دارد، تجمع نانوذره و Zn (به عنوان یک فلز سنگین مضر برای سلامتی انسان) در بافت‌های ریشه می‌تواند مصارف دارویی آن را تحت تاثیر قرار دهد. کلزا گیاهی است که توانایی انباشت فلزات سنگین را دارد و در زمره گیاهانی قرار دارد که برای گیاه پالایی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (Zaier *et al.*, ۲۰۱۰).

نظر به نوپا بودن نانو تکنولوژی، تحقیقات در زمینه اثرات نانوذرات در گیاهان اندک است. اغلب مطالعات انجام یافته در مرحله جوانه زنی و یا مراحل اولیه رشد گیاه بوده است. در مقابل، مطالعه حاضر اثرات دراز مدت نانوذرات را بر روی گیاه مورد توجه قرار داده است. از سوی دیگر در مطالعه حاضر اثرات نانوذرات به صورت مقایسه‌ای با اثرات ذرات توده‌ای و همچنین اثرات فلز مرتبط با نانوذرات مورد بررسی قرار گرفته است که امکان برآورد صحیح سمیت نانوذرات را فراهم می‌سازد.

## مواد و روش‌ها

### تهیه نانو و میکروذرات ZnO و بررسی شکل و اندازه آنها

پودر نانوذرات ZnO (ZnO NPs) با اندازه کمتر از ۵۰ نانومتر و خلوص ۹۷٪ و میکروذرات آن (ZnO MPs) با خلوص بیش از ۹۹٪ از شرکت Sigma-Aldrich تهیه گردید. اندازه و شکل ZnO NPs و ZnO MPs به ترتیب با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM, Model ۹۱۲AB, LEO,UK) و نگاره (SEM; Model ۱۴۵۰VP, LEO,UK) مورد بررسی قرار گرفت.

### کشت و تیمار گیاه



بذر های کلزا رقم هایولا ۴۰۱ از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی (مشهد) تهیه گردید. بذر ها پس از ضدعفونی در محلول هیپوکلرید سدیم ۱۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه به مدت دو ساعت در آب دیونیزه خیسانده شدند و سپس در گلدان های پلاستیکی در بستر کشت پرلیت کشت گردیدند. در دسته اول (گلدان های شاهد) گلدان ها تنها با محلول غذایی هوگلند تغذیه می شدند. در دسته دوم و سوم، گلدان ها به ترتیب با پنج غلظت (۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و  $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) از ZnO NPs یا ZnO - MPs تحت تیمار قرار گرفتند. برای تهیه سوسپانسیون ذرات ZnO (چه نانو و چه میکرو) از محلول هوگلند استفاده گردید و جهت جلوگیری از رسوب ذرات ZnO، سوسپانسیون ها به مدت ۴۵ دقیقه تحت امواج فراصوت ( Branson Ultrasonic Bath - Model ۸۵۱۰) قرار گرفتند. تیماردهی هر ۱۰ روز تکرار می شد. در فاصله بین تیماردهی، گلدان ها مرتب وزن می شد و کاهش وزن مشاهده شده با افزودن محلول هوگلند مورد جبران قرار می گرفت. گیاهان در فیتوترون آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتیگراد و دوره نوری ۸/۱۶ ساعت رشد کردند. پس از دو ماه، گیاهان برداشت شده و برخی از صفات رویشی آنها مورد سنجش قرار گرفت.

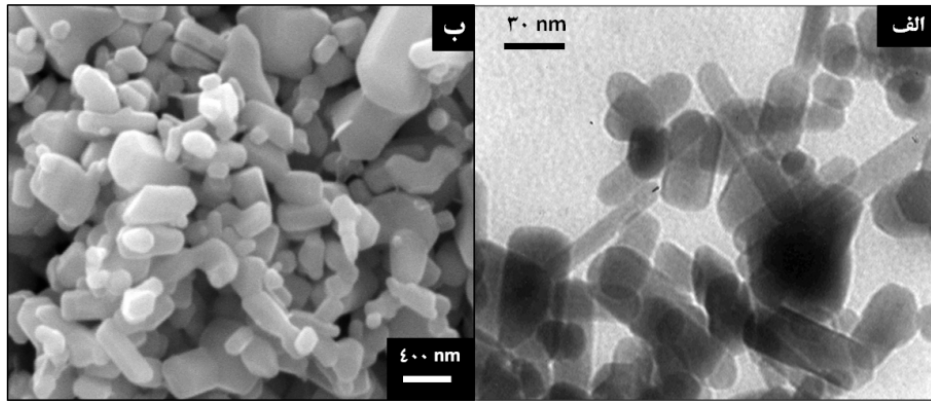
### بررسی های آماری

هر تیمار در سه تکرار انجام پذیرفت. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن و با استفاده از نرم افزار MSTAT-C مورد مقایسه قرار گرفتند. اختلاف معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  گزارش گردید.

### نتایج

#### شکل و اندازه ZnO NPs و ZnO MPs

بررسی های انجام شده با استفاده از TEM و SEM نشان داد که هم ZnO NPs و هم ZnO MPs دارای اشکال میله ای و مکعبی بودند (شکل ۱). تصاویر TEM از ZnO NPs، اندازه ذرات قید شده توسط شرکت سازنده (کمتر از ۵۰ نانومتر) را تأیید نمود (شکل ۱ الف و ب). تصاویر SEM نشان داد که اکثریت ZnO MPs اندازه های بیشتر از ۱۰۰ نانومتر داشتند و اندازه برخی از آنها نیز متجاوز از یک میکرومتر بود (شکل ۱ ج و د).



شکل ۱: الف: تصویر TEM از ZnO NPs. ب: تصویر SEM از ZnO MPs.

### زی توده خشک گیاه

همه غلظت‌های تیمارهای ZnO NPs و ZnO MPs موجب کاهش معنی‌دار ( $P \geq 0.05$ ) زی توده خشک گیاه شدند (شکل ۲ الف). این کاهش در هر سه نوع تیمار وابسته به غلظت بود. غلظت ایجاد کننده ۵۰٪ بازدارندگی (۵۰٪ inhibitory concentration: IC) تیمارهای ZnO NPs و ZnO MPs بر روی زی توده گیاه به ترتیب  $133/18$  و  $86/16 \text{ mg L}^{-1}$  بود.

### رشد عمومی و وزن خشک ریشه

رشد ریشه نسبت به رشد نوشاخه کمتر تحت تأثیر انواع تیمارها قرار داشت. گرچه هر دو نوع تیمار در تمامی غلظت‌های تیماری موجب کاهش معنی‌دار ( $P \geq 0.05$ ) وزن خشک ریشه شدند، اما مطابق مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن، شدت این کاهش در تیمارهای مختلف متفاوت بود (شکل ۲ ب). محاسبه  $IC_{50}$  تیمارها بر روی تولید زی توده ریشه نشان داد که  $IC_{50}$  تیمارهای ZnO NPs و ZnO MPs بر روی رشد ریشه به ترتیب  $117/8$  و  $137/2 \text{ mg L}^{-1}$  بود که نشان دهنده بازدارندگی شدیدتر تیمار ZnO MPs بر رشد ریشه نسبت به تیمار ZnO NPs است.

### نسبت نوشاخه به ریشه

نتایج نشان داد که غلظت‌های  $10$  و  $25 \text{ mg L}^{-1}$  تیمارهای ZnO NPs و ZnO MPs موجب افزایش معنی‌دار ( $P \geq 0.05$ ) نسبت نوشاخه به ریشه شدند (شکل ۲ ج). اثر افزایش دهنده ZnO NPs بر روی نسبت نوشاخه به ریشه از تیمار دیگر بیشتر بود. غلظت‌های  $100$  و  $250 \text{ mg L}^{-1}$  تیمار ZnO NPs نیز افزایش معنی‌دار ( $P \geq 0.05$ ) نسبت نوشاخه به ریشه را در پی داشتند. بیشترین افزایش نسبت نوشاخه به ریشه در گیاهان تیمار شده با  $25 \text{ mg L}^{-1}$  تیمار ZnO NPs مشاهده شد. هیچ‌کدام از تیمارها در هیچ‌یک از غلظت‌های تیماری موجب کاهش معنی‌دار ( $P \geq 0.05$ ) نسبت نوشاخه به ریشه نشدند.

### تعداد برگ‌های گیاه



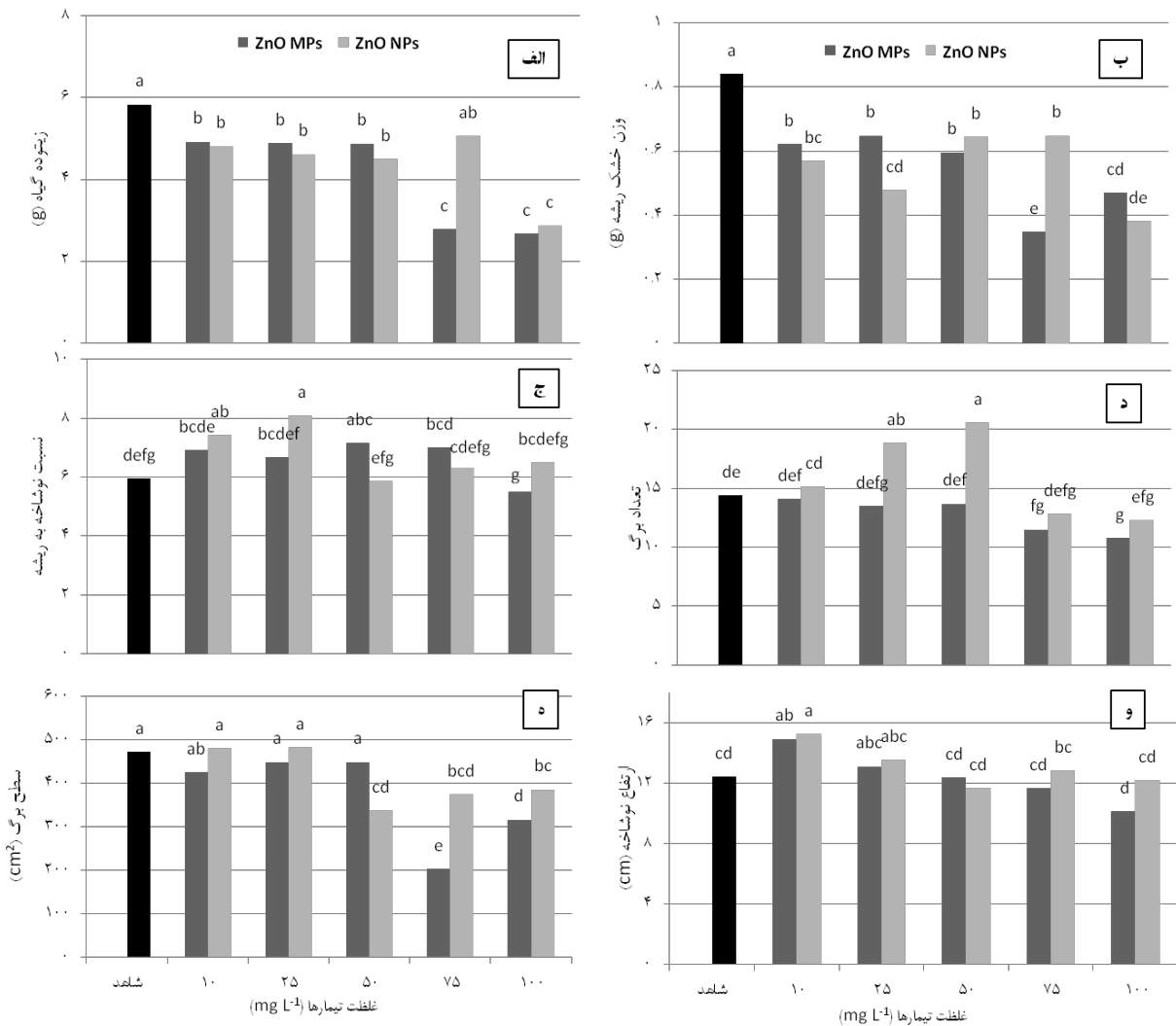
اثرات هر دو نوع تیمار بر روی تعداد برگ‌های گیاه نتیجه‌ای بحث‌برانگیز داشت (شکل ۲ د). تیمار ZnO MPs موجب کاهش تعداد برگ‌های گیاه شد که این کاهش در غلظت‌های ۷۵ و  $100 \text{ mg L}^{-1}$  معنی‌دار ( $P \geq 0.05$ ) بود. در مقابل، گرچه هیچ یک از غلظت‌های تیماری ZnO NPs کاهش معنی‌داری را در تعداد برگ‌های گیاه ایجاد نکردند، اما غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و  $250 \text{ mg L}^{-1}$  موجب افزایش معنی‌دار تعداد برگ‌های گیاه شدند.

### سطح برگ

نتایج نشان داد که تیمارهای ZnO NPs و ZnO MPs به ترتیب در غلظت‌های بالاتر از ۲۵ و بالاتر از  $50 \text{ mg L}^{-1}$  کاهش معنی‌داری ( $P \geq 0.05$ ) را در سطح برگ ایجاد نمودند (شکل ۲ ه). کاهش القاء‌شده در سطح برگ در اثر تیمار ZnO MPs بیشتر از کاهش القائی ناشی از تیمار ZnO NPs بود. به عنوان مثال غلظت  $250 \text{ mg L}^{-1}$  تیمار ZnO MPs موجب کاهش حدود ۴۷٪ در سطح برگ شد، اما غلظت معادلی از ZnO NPs کاهش حدود ۲۱٪ سطح برگ را در پی داشت.

### ارتفاع نوشاخه

نتایج نشان داد که به‌استثنا غلظت  $250 \text{ mg L}^{-1}$  تیمار ZnO MPs که موجب کاهش معنی‌دار ( $P \geq 0.05$ ) ارتفاع نوشاخه شد، هیچ یک از تیمارهای دوگانه در هیچ یک از غلظت‌های شش‌گانه تغییر معنی‌داری را در ارتفاع نوشاخه ایجاد نکردند. با این حال، غلظت  $10 \text{ mg L}^{-1}$  تیمارهای ZnO NPs و ZnO MPs موجب افزایش نسبی و غیرمعنی‌دار ارتفاع نوشاخه نسبت به گیاهان شاهد شدند (شکل ۲ و).



**شکل ۲-** اثر غلظت‌های مختلف تیمارهای ZnO NPs و ZnO MPs بر روی زیوده گیاه (الف)، وزن خشک ریشه (ب)، نسبت نوشاخه به ریشه (ج)، تعداد برگ (د)، سطح برگ (ه) و ارتفاع نوشاخه (و) کلزا پس از دو ماه کشت گلدانی در بستر پرلیت.

## بحث

سال‌هاست که مشخص شده است تنش Zn منجر به زردبریگی و توقف رشد می‌شود (Rosen *et al.*, ۱۹۷۷). پژوهش‌های زیادی وجود دارند که اثرات سمیت Zn بر روی صفات مرتبط با رشد را مورد بررسی قرار داده‌اند. به عنوان مثال گزارشات فراوانی در مورد کاهش وزن خشک ریشه و نوشاخه از طریق غلظت‌های سمی Zn وجود دارد (Cherif Michael and Krishnaswamy, ۲۰۱۱; *et al.*, ۲۰۱۰). در یک پژوهش گزارش شد که مجموعه‌ای از صفات مرتبط با رشد شامل وزن تر و خشک ریشه و نوشاخه، ارتفاع گیاه، تعداد انشعابات ثانویه، قطر انشعابات اولیه و ثانویه به‌طور معنی‌داری از طریق Zn مازاد کاهش یافتند (Marichali *et al.*, ۲۰۱۴). در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که تقسیم سلولی و طول‌شدن ریشه، با سطوح مازاد Zn بازداشته می‌شوند (Johnson *et al.*, ۲۰۱۱).



IC<sub>50</sub> یون‌های Zn بر روی زی‌توده در گونه‌های مختلف بین ۴۳ تا ۹۹۶ mg L<sup>-1</sup> گزارش شده است (Paschke *et al.*, ۲۰۰۶). به عنوان مثال گزارش شده است که Zn مازاد در غلظت‌های بیشتر از ۶۰ و ۸۱ mg L<sup>-1</sup> می‌تواند به ترتیب موجب کاهش محصول در گندم و ذرت شود (Takkar and Mann, ۱۹۷۸).

غلظت‌های سمی Zn به عنوان یک فلز سنگین می‌تواند با روش‌های متعددی موجب اختلالات متابولیسمی شود که سرانجام به بازدارندگی رشد و کاهش زی‌توده و یا در نهایت به مرگ کامل گیاه منتهی می‌گردد. میزان سمی فلزات سنگین می‌تواند بواسطه اثر مستقیم بر روی دستگاه فتوسنتزی، منجر به کاهش یا بازدارندگی فتوسنتز شود. گزارش شده است که فلزات سنگین ممکن است آزادسازی پروتئین‌ها، لیپیدها و اجزاء غشاء‌های تیلاکوئیدی را القاء نمایند و منجر به سوء عملکرد کمپلکس‌های برداشت کننده نور و فتوسیستم II شوند. یون‌های فلزی مازاد ممکن است به اهداف گوناگونی از جمله پروتئین و DNA متصل شوند و سبب سوء عملکرد آنها و تغییرات فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها شوند. به عنوان مثال این یون‌های مازاد می‌توانند آنزیم‌های دخیل در تثبیت CO<sub>2</sub> را مهار نمایند و بنابراین موجب کاهش آسیمیلایسیون کربن گردند (Hossain *et al.*, ۲۰۱۲).

پژوهش‌هایی که اثرات ZnO NPs را بر روی صفات مرتبط با رشد گیاهان مورد بررسی قرار داده‌اند اندک می‌باشند. در یک پژوهش بر روی یک گیاه دارویی با نام *Fagopyrum esculentum* مشخص شد که زی‌توده گیاه در غلظت‌های تیماری ۱۰ تا ۱<sup>-1</sup> mg L ZnO MPs و ZnO NPs به ترتیب به میزان ۷/۷ تا ۲۶/۴٪ و ۱۱/۴ تا ۲۳/۵٪ کاهش یافت. با این حال، زی‌توده این گیاه در غلظت‌های کم ZnO (۱ mg L<sup>-1</sup> تیمار NPs یا ۱ و ۵ mg L<sup>-1</sup> تیمار MPs) افزایش نشان داد که این افزایش به تغذیه مناسب عنصر ضروری Zn نسبت داده شد (Lee *et al.*, ۲۰۱۳b). همچنین گزارش شده است که رشد ساقه سویا به طور معنی‌داری تحت تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم ZnO NPs در کیلوگرم خاک کاهش یافت درحالی‌که در غلظت ۵۰ میلی‌گرم ZnO NPs در کیلوگرم خاک تغییر معنی‌داری ایجاد نشد. این پژوهش‌گران همچنین گزارش کردند که زی‌توده گیاه با افزایش غلظت ZnO NPs کاهش می‌یابد (Yoon *et al.*, ۲۰۱۴). در مطالعه‌ای دیگر، اثرات سمی ۲۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ mg L<sup>-1</sup> تیمار ZnO NPs را بر روی رشد و متابولیسم *Brassica juncea* گزارش کردند. این پژوهش‌گران کاهش معنی‌داری را در طول ریشه و نوشاخه تحت همه غلظت‌ها به غیر از غلظت ۲۰۰ mg L<sup>-1</sup> و همچنین کاهش وابسته به غلظت وزن تر و خشک را مشاهده کردند. مطابق تحلیل این پژوهش‌گران بازدارندگی رشد ریشه می‌تواند منجر به کاهش جذب آب و مواد معدنی شده و بنابراین رشد کل گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Rao and Shekhawat, ۲۰۱۴).

در مطالعه حاضر برخی از موارد غیرقابل انتظار از جمله عدم وابستگی کامل وزن خشک ریشه به غلظت تیمارهای ZnO NPs و تا حدودی ZnO MPs مشاهده شد. این نتیجه غیرقابل انتظار ممکن است به این دلیل باشد که NPs در غلظت‌های کمتر تمایل کمتری برای تشکیل توده دارند که این امر منجر به جذب نامتناسب آنها نسبت به غلظت‌های بیشتر شده، بنابراین ممکن است نسبت به غلظت‌های بیشتر NPs که تمایل بیشتری برای تشکیل توده دارند و از این رو رسوبدهی آنها افزایش می‌یابد، اثرات



بیشتری داشته باشند. از سوی دیگر افزایش غلظت NPs ممکن است منجر به افزایش تراکم سلولی، سایه‌اندازی و اثرات ممانعتی شود که در نهایت منتهی به پاسخ‌هایی می‌شود که مستقیماً از تأثیر NPs منشاء نمی‌گیرند (Navarro et al., ۲۰۰۸).

### تحلیل منشاء اثرگذاری ZnO NPs و ZnO MPs بر روی کلزا

دلایل زیر نشان می‌دهند که تغییرات ایجاد شده توسط تیمارهای ZnO NPs و ZnO MPs بر روی رشد کلزا ممکن است تا اندازه‌ای به واسطه آزادسازی یون‌های سمی  $Zn^{2+}$ ، احتمالاً با القاء تراوشات ریشه، و یا اثرات فیزیکی ZnO NPs و ZnO MPs بر سطح ریشه ایجاد شده باشند و نه به واسطه جذب ذرات و اثرات مابعد آنها. نخست آنکه قطر هیدرودینامیک ZnO و ZnO NPs به دلیل تشکیل توده در محیط آبی بیشتر از آن است که بتوانند توسط ریشه گیاه جذب گردند. دیواره سلولی که دارای منافذی با قطر ۵ تا ۲۰ نانومتر می‌باشد، نیمه‌تراوا بوده و به مولکول‌های کوچک اجازه عبور می‌دهد، اما عبور مولکول‌های بزرگ‌تر را محدود می‌نماید. بنابراین تنها ذراتی از ZnO و یا توده‌هایی از آنها که اندازه‌ای کوچک‌تر از بزرگ‌ترین منافذ دیواره سلولی داشته باشند قادر به عبور از آن و رسیدن به غشاء پلاسمایی هستند. علاوه بر آن، بر فرض عبور NPs از دیواره سلولی، با سدی به نام پلاسمودسما مواجه می‌شوند. پلاسمودسما تا گسترش‌های لوله‌ای شکل غشاء پلاسمایی به قطر ۴۰ تا ۵۰ نانومتر هستند که دیواره سلولی را قطع می‌کنند و سیتوپلاسم سلول‌های مجاور را به هم ارتباط می‌دهند. از آنجا که اکثر سلول‌های گیاهی از این طریق به یکدیگر مرتبط هستند، سیتوپلاسم پیوسته‌ای را ایجاد می‌کنند که به آن سیمپلاست گفته می‌شود. سیمپلاست اجازه می‌دهد تا آب و مواد محلول بدون عبور از غشاء بین سلول‌ها منتقل شوند، اما محدودیتی در اندازه مولکول‌هایی که می‌توانند از طریق سیمپلاست منتقل شوند وجود دارد. به نظر می‌رسد حد وزن مولکولی ماده برای انتقال از میان این سلول‌ها حدود ۷۰۰ تا ۱۰۰۰ دالتون باشد که معادل اندازه مولکولی حدود ۱/۵ تا ۲ نانومتر است. البته در پلاسمودسم‌ها پروتئین‌های حرکتی وجود دارند که ورود و خروج مواد را تنظیم می‌نمایند و ممکن است ورود ذرات بزرگ‌تر را نیز کنترل نمایند (Taiz and Zeiger, ۲۰۱۰)؛ اما به طور طبیعی ورود اغلب ZnO NPs که با تشکیل توده اندازه میانگین آنها به ۱۵۵ نانومتر می‌رسد غیرممکن به نظر می‌رسد.

دلیل دوم آن است که بر طبق نتایج به دست آمده، تأثیرات منفی تیمارهای ZnO MPs بر روی صفات رویشی کلزا بیشتر از تأثیرات ZnO NPs بود، حال آنکه در صورتی که تأثیرات منفی این تیمارها به واسطه جذب، انتقال و تأثیر مستقیم آنها بر روی متابولیسم باشد، تأثیرات ZnO NPs می‌بایست بیشتر از ZnO MPs باشند؛ زیرا ZnO NPs ذرات کوچک‌تری دارند و به طور طبیعی می‌بایست از طریق ریشه به میزان بیشتری نسبت به ZnO MPs جذب گردند.

### نتیجه‌گیری کلی

پژوهش حاضر نشان می‌دهد که اثرات منفی نانوذرات بر روی گیاه کلزا بیشتر از اثرات ذرات توده‌ای آن نیست. از نتایج به دست آمده اینگونه استنباط می‌شود که اثرات ZnO NPs و ZnO MPs بر روی رشد کلزا به واسطه اثرات یون‌های سمی آزاد شده  $Zn^{2+}$





Zn می باشد. همچنین، نتایج این پژوهش در کنار بررسی جامع سایر پژوهش‌های انجام‌شده نشان می‌دهد که اثرات سمی نانوذرات بر روی موجودات زنده و یا دست‌کم بر روی گیاهان ممکن است بزرگنمایی شده باشد.

## References

- Biener, J., Farfan-Arribas, E., Biener, M., Friend, C.M., and Madix, R.J. ۲۰۰۵ Synthesis of  $TiO_2$  nanoparticles on the Au (III) surface. *The Journal of Chemical Physics* ۱۲۳ (۹): ۰۹۴۷۰۵.
- Burbulis, N., Kuprienė, R., and Blinstrubienė, A. ۲۰۰۸ Callus induction and plant regeneration from somatic tissue in spring rapeseed (*Brassica napus* L.). *Biologija* ۵۴ (۴): ۲۵۸-۲۶۳.
- Castiglione-Monica, R., and Cremoniniimme, R. ۲۰۰۹ Nanoparticles and higher plants. *Cariologia* ۶۲ (۲): ۱۶۱-۱۶۵.
- Cherif, J., Derbel, N., Nakkach, M., von Bergmann, H., Jemal, F., and Ben Lakhdar, Z. ۲۰۱۰ Analysis of in vivo chlorophyll fluorescence spectra to monitor physiological state of tomato plants growing under zinc stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology* ۱۰۱: ۳۳۲-۳۳۹.
- De la Rosa, G., López-Moreno, M.L., Hernández-Viescaz, J., Montes, M.O., Peralta-Videa, J.R., and Gardea-Torresdey, J.L. ۲۰۱۱ Toxicity and biotransformation of ZnO nanoparticles in the desert plants *Prosopis juliflora-velutina*, *Salsola tragus* and *Parkinsonia florida*. *International Journal of Nanotechnology* ۸ (۶/۷): ۴۹۲-۵۰۶.
- Hernandez-Viezcas, J.A., Castillo-Michel, H., Servin, A.D., Peralta-Videa, J.R., and Gardea-Torresdey, J.L. ۲۰۱۱ Spectroscopic verification of zinc absorption and distribution in the desert plant *Prosopis juliflora-velutina* (velvet mesquite) treated with ZnO nanoparticles. *Chemical Engineering Journal* ۱۷۰: ۳۴۶-۳۵۲.



Hossain, M.A., Piyatida, P., da Silva, J.A.T., and Fujita, M. ۲۰۱۲ Molecular Mechanism of Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: Central Role of Glutathione in Detoxification of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal and in Heavy Metal Chelation. *Journal of Botany* ۲۰۱۲: ۱-۳۷.

Johnson, A., Singhal, N., and Hashmatt, M. ۲۰۱۱. Metal-Plant Interactions: Toxicity and Tolerance. PP ۲۹-۶۳ in M.S. Khan., A. Zaidi., R. Goel and J. Musarrat eds. *Biomangement of Metal-Contaminated Soils, Environmental Pollution* ۲۰. Springer., New York.

Lee S., Kim S., Kim S., and Lee I. ۲۰۱۳ Assessment of phytotoxicity of ZnO NPs on a medicinal plant, *Fagopyrum esculentum*. *Environmental Science and Pollution Research*, ۲۰: ۸۴۸-۸۵۴.

Marichali A., Dallali S., Ouerghemmi S., Sebei H., and Hosni K. ۲۰۱۴ Germination, morpho-physiological and biochemical responses of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to zinc excess. *Industrial Crops and Products*, ۵۵: ۲۴۸-۲۵۷.

Michael P.I., Krishnaswamy M. ۲۰۱۱ The effect of zinc stress combined with high irradiance stress on membrane damage and antioxidative response in bean seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, ۷۴: ۱۷۱-۱۷۷.

Navarro E., Baun A., Behra R., Hartmann N.B., Filser J., Miao A.J., Quigg A., Santschi P.H., and Sigg L. ۲۰۰۸ Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*, ۱۷: ۳۷۲-۳۸۶.

Paschke M.W., Perry L.G., and Redente E.F. ۲۰۰۶ Zinc toxicity thresholds for reclamation forb species. *Water, Air, & Soil Pollution*, ۱۷۰: ۳۱۷-۳۳۰.

Pokhrel L.R., and Dubey B. ۲۰۱۳ Evaluation of developmental responses of two crop plants exposed to silver and zinc oxide nanoparticles. *Science of the Total Environment*, ۴۵۲-۴۵۳: ۳۲۱-۳۳۲.



Rao S., and Shekhawat G.S. ۲۰۱۴ Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*. Journal of Environmental Chemical Engineering, ۲: ۱۰۵-۱۱۴.

Rosen J.A, Pike C.S., and Golden M.L. ۱۹۷۷ Zinc, Iron, and Chlorophyll Metabolism in Zinc-toxic Corn. Plant Physiology. ۵۹: ۱۰۸۵-۱۰۸۷.

Saeidnia S., and Gohari A.R. ۲۰۱۲ Importance of Brassica napus as a medicinal food. plant Journal of Medicinal Plants Research, ۶ (۱۴): ۲۷۰۰-۲۷۰۳.

Taiz L., and Zeiger E. ۲۰۱۰. Plant Physiology. Sinauer Associates. Sunderland.

Takkar P.N., Mann M.S. ۱۹۷۸ Toxic levels of soil and plant zinc for maize and wheat. Plant and Soil, ۱۴۹: ۶۶۷-۶۶۹.

Yoon S.J., Kwak J.I., Lee W.M., Holden P.A., and An Y.J. ۲۰۱۴ Zinc oxide nanoparticles delay soybean development: A standard soil microcosm study. Ecotoxicology and Environmental Safety, ۱۰۰: ۱۳۱-۱۳۷.

Zaier H., Ghnaya T., Rejeb K.B., Lakhdar A., Rejeb S., and Jemal F. ۲۰۱۰ Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with *Brassica napus*. Bioresource Technology, ۱۰۱: ۳۹۷۸-۳۹۸۳.



## Comparative Effects of Zinc oxide (ZnO) Nanoparticles and Microparticles on Some Vegetative Traits of Rapeseed

World usage of nanomaterial has widely increased in last decade. Most studies in field of the nanoparticles effects on plants have carried out in the germination stage or the early stages of plant growth. Present study with aim of investigating long-term effects of the NPs on plants has comparatively studied growth changes of rapeseed (*Brassica napus* L.) in response to Zinc oxide (ZnO) nanoparticles and microparticles. In present study, some growth traits including plant biomass, root growth, shoot height, number of leaves, and leaf area were investigated. Overall, the inhibitory effects of ZnO NPs on the growth of plant wasn't more than those of ZnO BPs. Inhibitory effects of ZnO NPs or BPs on growth of rapeseed may be due in part to the toxic effects of  $Zn^{2+}$  ions dissolution, probably induced by root exudates, or physical interaction of ZnO particles with roots, not due to their absorption by roots and subsequent effects on plant metabolism.

**Keywords:** nanoparticle, rapeseed (*Brassica napus* L.), vegetative traits, Zn stress