

تغییرات جذب عناصر معدنی در گیاه کلزا تحت تیمار نانوذرات اکسید روی

سید موسی موسوی کوهی^{۱*}، مهرداد لاهوتی^۲ و علی گنجعلی^۲

^۱ ایران، بیرجند، دانشگاه بیرجند، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

^۲ ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۱۵

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۸



چکیده

در مطالعه حاضر، اثر غلظت‌های مختلف (۲۵، ۵۰، ۷۵ و 100 mg L^{-1}) نانوذرات اکسید روی (ZnONPs) بر روی جذب عناصر معدنی گیاه کلزا در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به‌صورت کشت گلدانی در بستر پرلیت مورد بررسی قرار گرفت. پس از دو ماه کشت تحت تیمار، گیاهان برداشت شده و سپس مقدار عنصر روی در برگ با استفاده از دستگاه طیف-سنجی جذب اتمی و مقدار عناصر فسفر، منیزیم، کلسیم، پتاسیم، مس، آهن، بُر و مولیبدن با استفاده از طیف‌سنجی نشری پلاسما جفت‌شده القائی (ICP-OES) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات ZnONPs، انباشت Zn در برگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. مقادیر آهن، مس، بُر و فسفر برگ به‌طور معنی‌داری با تیمار ZnONPs کاهش یافت. در مقابل، مقدار منیزیم برگ به‌طور معنی‌داری تحت این تیمار افزایش نشان داد. با این حال، تیمار نانوذرات ZnONPs تأثیر معنی‌داری بر روی مقدار کلسیم، پتاسیم و مولیبدن برگ نداشت. بدلیل آزاد شدن روی از ZnONPs در اطراف ریشه، اختلال در جذب عناصر معدنی مانند آهن و مس ممکن است به‌واسطه رقابت بر سر حامل‌های جذب فلزات باشد.

واژه‌های کلیدی: *Brassica napus*، نانوذرات اکسید روی، عناصر معدنی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۹۹۸۴۷۵۶، پست الکترونیکی: smmousavi@birjand.ac.ir

مقدمه

ممانعت از نور فرابنفش و شفافیت مرئی خود، کاربردهای گسترده‌ای در صنعت سلول‌های خورشیدی دارند (۱۸). از آنجا که نانوذرات با محیط زیست در ارتباط بوده و گیاهان نیز جزء مهمی در همه اکوسیستم‌ها می‌باشند، بنابراین نانوذرات به‌طور اجتناب‌ناپذیری با گیاهان برهمکنش خواهند کرد. این برهمکنش‌ها ممکن است منجر به جذب و تجمع نانوذرات در گیاه شود و به‌طور گسترده‌ای توزیع آنها در محیط را تحت تأثیر قرار دهد. نانوذرات قادر به اتصال به ریشه‌های گیاهان و ایجاد سمیت فیزیکی و شیمیایی هستند (۲۰). تعیین سمیت گیاهی نانوذرات فلزی و اکسیدهای آنها به دلیل آزاد شدن بالقوه یون‌های فلزی از این نانوذرات و سمیت و جذب

در دهه اخیر نانو مواد و نانوفناوری به‌طور گسترده در جهان کاربرد داشته‌اند. نانوذرات، ذراتی با مقیاس نانو هستند که اندازه آنها بین ۱ و ۱۰۰ نانومتر است. (۲۵). عملکرد نانوذرات به ترکیب شیمیایی و اندازه یا شکل ذرات بستگی دارد. نانوذرات مهندسی‌شده در بسیاری از جنبه‌های مختلف اقتصادی مانند دارویی، آرایشی، حمل‌ونقل، انرژی، کشاورزی و غیره مورد توجه قرار گرفته‌اند و به‌طور فزاینده‌ای در حال تولید هستند (۹). نانوذرات اکسید فلزی مانند اکسید روی (ZnO) در بهبود فعالیت کاتالیزی فلزات اهمیت فناوری زیادی دارند (۶). نانو ذرات اکسید فلزی همچنین به‌واسطه قابلیت در

Rapeseed شهرت دارد (۲). گیاه کلزا ۵۰ تا ۲۰۰ سانتی‌متر رشد نموده و از نظر زراعی به دو تیپ بهاره و پائیزه تقسیم می‌شود (۳). گیاه کلزا به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی، سومین منبع روغن‌های گیاهی پس از سویا و پالم است (۸) و استفاده از آن در استخراج روغن‌های بدون ضرر اهمیت ویژه‌ای دارد. روغن کلزا برای تغذیه انسان و کنجاله آن به‌عنوان منبع پروتئین برای تغذیه دام مناسب است. ترکیب شیوه‌های زیست‌فناوری و روش‌های سنتی به‌نژادی منجر به بهبود ترکیب روغن کلزا شده است (۳۳). کلزا گیاهی است که توانایی انباشت فلزات سنگین را دارد (۳۸). نظر به اینکه ZnONPs دارای فلز سنگین Zn می‌باشد، گیاه کلزا با قابلیت‌های ذکر شده در جذب فلزات سنگین جهت مطالعه انتخاب گردید. از سوی دیگر، اثر نانوذرات بر روی جذب عناصر معدنی توسط گیاهان کمتر مورد توجه قرار گرفته است. از معدود پژوهش‌ها در این زمینه بررسی اثر نانوذرات اکسید روی و اکسید سرب بر روی تغذیه معدنی در گیاه سویا است (۳۰). لذا، مطالعه حاضر به بررسی تغییرات جذب عناصر معدنی پس از تیمار گیاه کلزا با ZnONPs می‌پردازد.

مواد و روشها

تهیه و تأیید نانوذرات ZnO: پس از تهیه نانوذرات ZnO (ZnONPs) با اندازه کمتر از ۵۰ نانومتر و خلوص ۹۷ درصد از شرکت Sigma-Aldrich، جهت تأیید اندازه و تعیین شکل نانوذرات از میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM, Model 912AB, LEO, UK) استفاده شد.

کشت و تیمار گیاه: به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف ZnONPs بر روی جذب عناصر معدنی گیاه کلزا، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به‌صورت کشت گلدانی در بستر پرلیت انجام شد. بذرهاى گیاه کلزا رقم هایولا ۴۰۱ از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی (مشهد) تهیه شد. بذرها پس از ۱۰ دقیقه ضدعفونی در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰

بالقوه این یون‌های فلزی پیچیده است. در مجموع، براساس مطالعات گوناگون بر روی نانوذرات و گونه‌های مختلف، گزارش‌های متناقضی نشان داده شده است که اثرات مثبت یا منفی نانوذرات بر روی گیاهان نیز مانند هر ماده مؤثره دیگر به نوع نانوذره، غلظت نانوذره، مدت تیمار، روش تیمار، گیاه هدف و سایر عوامل بستگی دارد (۲۲). به‌عنوان مثال نانولوله‌های کربنی تک جداره قادرند جوانه‌زنی و رشد ریشه را در دانه رست‌های برنج افزایش دهند اما افزایش مدت تیمار موجب کاهش زی‌توده گیاه می‌شود (۲۷).

نانوذرات ZnO (ZnONPs) یکی از پرکاربردترین و پرمصرف‌ترین نانوذرات هستند (۳۱). در یک مطالعه بر روی غلظت‌های محیطی نانوذرات مهندسی شده مختلف با نمونه‌گیری و مدل‌سازی در نقاط مختلف اروپا و ایالات متحده از بخش‌های مختلف محیطی مانند خاک، آب‌های سطحی، فاضلاب‌ها و هوا مشخص شد که ZnO و TiO₂ بیشترین غلظت را در محیط دارند. این نتیجه، حجم تولید جهانی این نانوذرات را نشان می‌دهد (۱۳). این نانوذرات به دلیل ویژگی‌های نوری و الکتریکی در زمینه‌هایی گوناگونی مانند پوشش سلول‌های خورشیدی، حسگرهای گازی، جذب کننده‌های تابش فرابنفش کاربرد دارند. از این نانوذرات همچنین می‌توان به‌عنوان آنتی-بیوتیک استفاده نمود (۱۵). ZnONPs در لوازم آرایشی، منسوجات، لوسیون‌های پوست (۲۸)، سرامیک، پردازش لاستیک و تصفیه فاضلاب (۱۲) مورد استفاده قرار می‌گیرند. این نانوذرات 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 دارند (۱۵).

کلزا بانام علمی *Brassica napus* L. گیاهی یک‌ساله و علفی از تیره خردل (Brassicaceae) یا چلیپائیان (Cruciferea) است که در زبان انگلیسی به

نمودند. پس از دو ماه رشد رویشی، گیاهان برداشت شده و سنجش‌های لازم بر روی آنها انجام شد.

سنجش میزان انباشت عناصر در ریشه و برگ: برای سنجش میزان انباشت عناصر در ریشه و برگ نخست نمونه‌های خشک‌شده ریشه و برگ با آسیاب برقی پودر شدند. مقدار 0.5 گرم از پودر تهیه شده برگ با دقت توزین شده و به‌صورت جداگانه به هرکدام 5 میلی‌لیتر اسید نیتریک (HNO_3) غلیظ افزوده شد تا عمل هضم بافت در ارلن‌هایی که درب آنها مسدود شده بود به مدت یک شب ادامه یابد. پس از این مدت، ارلن‌ها به مدت یک ساعت در آون تحت دمای 90 درجه سانتی‌گراد قرارگرفتند تا به شدت هضم بافت‌ها افزوده شود. پس از سرد شدن نمونه‌های خارج‌شده از آون، جهت تسریع هضم بافت‌ها، یک میلی‌لیتر محلول پراکسید هیدروژن (H_2O_2) 30 درصد به مخلوط واکنش افزوده شد. در ادامه جهت هضم کامل بافت‌ها، ارلن‌ها بر روی اجاق برقی قرار داده شدند و حرارت‌دهی تا خشک شدن تقریبی (اما نه کامل) مخلوط واکنش ادامه یافت. در انتها، ارلن‌ها از روی اجاق برقی برداشته شده و پس از سرد شدن، با استفاده از آب دیونیزه حجم اندک محلول باقی‌مانده به 25 میلی‌لیتر رسانده شد تا در نهایت خاکستر تر گیاهی به‌دست آید. جهت حصول یک محلول همگن، عمل صاف کردن محلول حاصل با استفاده از کاغذ صافی انجام شد. در طی مراحل انجام هضم، کربن و نیتروژن در اثر حرارت زیاد به ترتیب به‌صورت گازهای دی‌اکسید کربن (CO_2) و نیتريت (NO_2) از محیط بافت خارج شده و عناصر معدنی باقی‌مانده (24 و 26). مقدار عنصر روی در محلول حاصل با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی جذب اتمی (AAS, AA-670, Shimadzu, Japan) و عناصر فسفر، منیزیم، کلسیم، پتاسیم، مس، آهن، بُر و مولیبدن با استفاده از طیف‌سنجی نشری پلاسما جفت‌شده القائی (ICP-OES, SPECTROARCOS, 76004555) اندازه‌گیری شد.

درصد، پنج بار با آب دیونیزه شستشو شدند. بذره‌های ضدعفونی شده به مدت دو ساعت در آب دیونیزه خیسانده شدند و سپس در گلدان‌های پلاستیکی با حجم یک و نیم لیتر در بستر پرلیت کشت شدند. پیش از کشت، پرلیت‌ها با آب مقطر شستشو داده شدند. گلدان‌ها برحسب نوع تیمار در دو گروه دسته‌بندی شدند. در دسته اول (گلدان‌های شاهد) پرلیت‌ها تنها با محلول غذایی هوگلند 10 درصد تیمار شدند. در دسته دوم، پرلیت‌ها با غلظت‌های مختلفی (25 ، 50 ، 75 و 100 mg L^{-1}) از سوسپانسیون ZnONPs تیمار شدند. غلظت‌های تیماری بر مبنای بررسی گسترده منابع (11 ، 12 ، 15 ، 30 ، 31 و 37) و همچنین مطالعه دیگری از پژوهش‌گران حاضر که در آن اثر دامنه گسترده-ای از غلظت‌های ZnONPs در مرحله جوانه‌زنی مورد بررسی قرارگرفت (21)، انتخاب گردید. برای تهیه سوسپانسیون ZnONPs از محلول هوگلند 10 درصد (35) استفاده شد تا ضمن تیمار نانوذره، مواد غذایی لازم جهت رشد گیاه نیز فراهم گردد. سوسپانسیون‌ها به مدت 45 دقیقه تحت امواج فراصوت قرارگرفتند (Branson Ultrasonic Bath – Model, 8510). اعمال تیمارها هر 10 روز تکرار شد. به این منظور، بستر کشت (پرلیت) ابتدا با آب مورد شستشو قرارگرفت و سپس به‌طور مجدد با نانوذره تیمار شد. هدف از تجدید تیمار، تثبیت غلظت نانوذره به دلیل تغییرات ایجاد شده در اثر رشد گیاه بود. بسته به مرحله رشد گیاه، قدرت محلول غذایی هوگلند افزایش یافت به‌طوری که در تیمار دوم قدرت محلول هوگلند به 25 درصد و در مراحل بعدی به 50 درصد افزایش یافت. براساس تجربیات قبل، محلول 50 درصد هوگلند برای رشد گیاه در تمام مراحل رویشی کافی بود. در فاصله بین تیمارها، به‌طور منظم توزین گلدان‌ها انجام شد و کاهش وزن موجود با افزودن محلول هوگلند جبران شد. گیاهان در اتاق رشد با دمای 1 ± 25 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی رشد

غلظت‌های مازاد آن می‌تواند منجر به سمیت و اختلالات عملکردی در گیاه شود (۲۳).

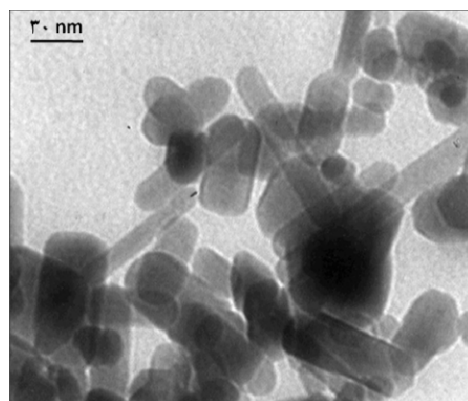
عنصر روی یکی از فلزات سنگین است که برای رشد گیاه ضروری می‌باشد (۱). برگ‌ها برای رشد بطور معمول به ۱۵ تا ۲۰ میلی‌گرم Zn در کیلوگرم وزن خشک نیاز دارند (۳۷). از سوی دیگر غلظت بحرانی سمیت Zn^{2+} در برگ-های گیاهان زراعی از ۱۰۰ تا بیش از 300 mg Kg^{-1} وزن خشک می‌باشد (۲۱). با این‌حال، در پژوهش حاضر مقدار انباشت Zn در برگ تا حدود 2400 mg Kg^{-1} نیز افزایش نشان داد. انباشت مقادیر زیاد Zn در برگ‌های کلزا تیمار شده با غلظت‌های زیاد Zn^{2+} توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است. در مطالعه‌ای بر روی کلزا، با افزایش غلظت Zn، غلظت Zn در برگ‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۳۶). غلظت Zn در برگ‌های گیاه نخود تحت تنش Zn نیز افزایش نشان داد (۳۴). به‌طور مشابهی افزایش Zn در برگ‌های *Phragmites australis* تیمار شده با غلظت‌های سمی Zn^{2+} نیز مشاهده شد (۱۶). در دانه-رست‌های جوانه‌زده *Salsola tragu* تحت تیمار غلظت‌های 500 ، 1000 ، 2000 و 4000 mg L^{-1} تیمار ZnO NPs نیز مقدار Zn تا تیمار 2000 mg L^{-1} افزایشی وابسته به غلظت نشان داد (۱۱).

آهن: ارزیابی مقدار آهن برگ با استفاده از ICP-OES نشان داد که هر چهار غلظت بکار رفته ZnONPs موجب کاهش معنی‌دار ($P < 0/05$) غلظت آهن شدند (شکل ۲ب). غلظت‌های ۷۵ و 100 mg L^{-1} ZnONPs موجب کاهش مقدار آهن برگ به ترتیب به مقدار ۴۶ و ۵۱ درصد شدند. غلظت بحرانی کمبود آهن در برگ‌ها در محدوده $150-50 \text{ mg Kg}^{-1}$ وزن خشک می‌باشد (۲۱). در مطالعه حاضر، مقدار آهن در گیاهان تیمار شده با ZnONPs، کمتر از ۶۰ میلی‌گرم بود. یکی از دلایل مهم سمیت مقدار زیاد Zn آن است که جایگزین سایر یون‌های فلزی از جمله آهن در جایگاه‌های اتصال آن می‌شود (۳۰).

تحلیل آماری: تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. پس از انجام تجزیه واریانس (ANOVA) مقایسه میانگین-ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P < 0/05$) و با استفاده از نرم‌افزار Mstat-C انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

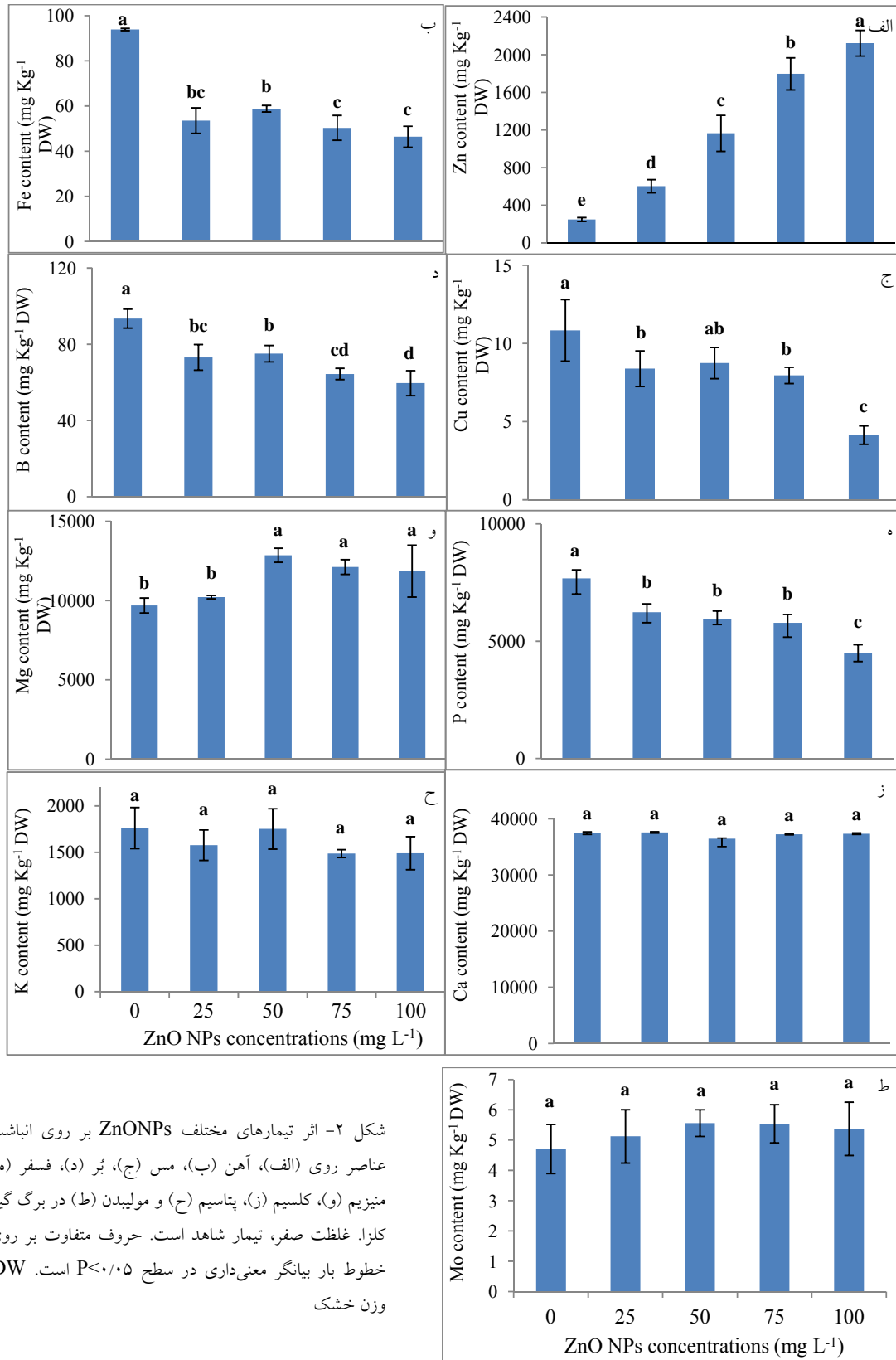
نتایج و بحث

تأیید اندازه و تعیین شکل ZnONPs: جهت تأیید اندازه ذرات که توسط شرکت سازنده کمتر از ۵۰ نانومتر ذکر شده بود از ZnONPs تصاویر TEM گرفته شد. بررسی‌های انجام شده با استفاده از TEM اندازه ذکر شده را تأیید نمود و نشان داد که ZnONPs دارای اشکال میله‌ای و مکعبی بودند (شکل ۱).



شکل ۱- تصویر TEM از ZnONPs

اثر ZnONPs بر روی جذب عناصر معدنی: روی: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت ZnONPs، انباشت Zn در برگ گیاه کلزا به‌طور معنی‌داری ($P < 0/05$) افزایش یافت (شکل ۲الف). این افزایش وابسته به غلظت بود به‌طوری‌که متناسب با افزایش غلظت، مقدار انباشت Zn در برگ بیشتر شد. در برگ‌های گیاهان تیمار شده با ZnONPs بیشترین انباشت Zn در تیمار 100 mg L^{-1} مشاهده شد که ۸/۵ برابر برگ‌های گیاهان شاهد بود. در غلظت‌های ۷۵ و 50 mg L^{-1} نیز مقدار Zn ۷/۲ و ۴/۷ برابر شاهد بود. گرچه روی یک عنصر ضروری برای رشد گیاهان است اما



شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف ZnONPs بر روی انباشت عناصر روی (الف)، آهن (ب)، مس (ج)، بُر (د)، فسفر (ه)، منیزیم (و)، کلسیم (ز)، پتاسیم (ح) و مولیبدن (ط) در برگ گیاه کلزا. غلظت صفر، تیمار شاهد است. حروف متفاوت بر روی خطوط بار بیانگر معنی‌داری در سطح $P < 0.05$ است. DW: وزن خشک

(۲۱). با این وجود در مطالعه حاضر به استثناء گیاهان تیمار شده با غلظت‌های 100 mg L^{-1} تیمار ZnONPs در سایر تیمارها مقدار مس بیش از 5 mg Kg^{-1} وزن خشک بود. در سایر پژوهش‌ها نیز گزارش شده است که غلظت‌های مختلف Zn^{2+} و ZnONPs در انباشت مس در گیاه مداخله نموده و مقدار آن را در برگ به طور معنی‌داری کاهش می‌دهند. در مطالعه‌ای بر روی کلزا نشان داده شد که غلظت‌های 0.07 تا $1/12$ میلی‌مولار Zn موجب کاهش مقدار مس در ریشه و برگ‌ها شد (۳۶). این نتیجه نیز نشان‌دهنده حساسیت زیاد مس به وجود غلظت‌های مازاد Zn است. این حساسیت در نتایج پژوهش‌های دیگر از جمله بر روی چچم نیز قابل استنباط است (۷). همچنین گزارش شده است که ZnONPs در غلظت ۵۰، ۱۰۰ و 500 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک موجب کاهش محتوای مس در ریشه سویا می‌شود، هرچند مقدار آن در برگ‌ها و ساقه تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهد (۳۰).

بُر: مطابق نتایج ICP-OES تحت هر چهار غلظت بکار رفته ZnONPs مقدار بُر در برگ کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) یافت. بیشترین کاهش بُر تحت تیمار 100 mg L^{-1} به میزان ۳۶ درصد بود (شکل ۲ د). گونه‌های گیاهی در صورت رشد در شرایط یکسان، به طور معمول از نظر ظرفیت جذب بُر تفاوت دارند که نشان‌دهنده تفاوت نیازهای آنها به این عنصر ضروری می‌باشد (۲۱). حد کفایت بُر در بافت‌های گیاهی $10-100 \text{ mg Kg}^{-1}$ است ولی آستانه کمبود آن $5-30 \text{ mg Kg}^{-1}$ می‌باشد (۱۷). در مطالعه حاضر اگرچه تیمارهای اعمال شده موجب کاهش معنی‌دار مقدار بُر گردید اما به نظر می‌رسد مقدار بُر در بافت‌ها به کمتر از حد آستانه کمبود نرسیده است.

فسفر: نتایج ICP-OES نشان داد که همه غلظت‌های ZnONPs موجب کاهش معنی‌دار ($P < 0.05$) فسفر برگ شدند (شکل ۲ ه). بیشترین کاهش فسفر نیز در گیاهان تیمار یافته با غلظت‌های 100 mg L^{-1} ZnONPs به میزان

نیاز زیاد به آهن برای یکپارچگی ساختاری و عملکردی غشاءهای تیلاکوئیدی و همچنین نیازهای دیگر به آهن برای فردوکسین و زیست‌ساخت کلروفیل بیانگر دلیل حساسیت زیاد کلروپلاست‌ها به طور معمول و تیلاکوئیدها به طور ویژه به کمبود آهن است (۲۱). این حساسیت زیاد ممکن است یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش رشد گیاهان تحت تیمار شدید Zn باشد. در سایر پژوهش‌ها نیز گزارش شده است که غلظت‌های مختلف Zn^{2+} و ZnONPs در انباشت آهن در گیاه مداخله نموده و مقدار آن را در برگ به طور معنی‌داری کاهش می‌دهند. مطالعه تأثیر غلظت‌های 0.07 تا $1/12$ میلی‌مولار Zn بر روی کلزا نشان داد که در برگ‌ها غلظت‌های 0.28 تا $1/12$ میلی‌مولار موجب کاهش مقدار آهن می‌شود (۳۶). در مطالعه‌ای دیگر بر روی سویا گزارش شده است که Zn در انتقال آهن از ریشه به اندام‌های هوایی مداخله می‌نماید (۵). گزارش شده است که ZnONPs در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و 500 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک موجب کاهش آهن در برگ‌ها می‌شود (۳۰).

مس: نتایج آنالیز ICP-OES نشان داد که همه غلظت‌های ZnONPs موجب کاهش معنی‌دار ($P < 0.05$) غلظت مس در برگ شدند (شکل ۲ ج). غلظت 100 mg L^{-1} ZnONPs موجب کاهش مقدار مس در برگ به مقدار ۶۵ درصد شد. سایر غلظت‌ها (۲۵، ۵۰ و ۷۵) نیز موجب کاهش حداقل ۲۰ درصدی غلظت مس برگ شدند. مس عنصری کم‌مصرف، اما ضروری برای همه گیاهان عالی است که از نظر برخی ویژگی‌های ردوکس و نیز تشکیل کمپلکس‌های بسیار پایدار به آهن شباهت دارد (۴). همانند آهن، مس نیز با پروتئین‌های دخیل در واکنش‌های ردوکس ارتباط دارد که در طی آن به طور برگشت‌پذیری از Cu^+ به Cu^{2+} اکسید می‌شود (۳۴). غلظت بحرانی کمبود مس در بخش‌های رویشی گیاه به طور معمول در محدوده $1-5 \text{ mg Kg}^{-1}$ وزن خشک می‌باشد که این مقدار به گونه گیاهی، نوع اندام، مرحله نموی و فراهمی نیتروژن بستگی دارد

حدود ۴۴ درصد بود. علاوه بر آن، غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و^{-۱} ۷۵ mg L نیز مقدار فسفر را به ترتیب به میزان ۱۸/۸، ۲۲/۸ و ۲۴/۷ درصد کاهش دادند. نیاز به فسفر برای رشد بهینه گیاه در مرحله رویشی در محدوده ۰/۵-۳ درصد وزن خشک گیاه می‌باشد (۲۱). در سایر پژوهش‌های انجام شده، مواردی در توافق یا تقابل با پژوهش حاضر وجود دارند. در مطالعه انجام شده بر روی کلزا غلظت فسفر در ریشه و برگ‌های گیاهان تیمار یافته با ۰/۲۸ تا ۱/۱۲ میلی-مولار Zn به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۳۶). کاهش مقدار فسفر تحت تنش Zn در سایر گیاهان از جمله *Pisum sativum* (۲۹) و *Brassica campestris* (۱۰) نیز گزارش گردیده است. مشخص شده است که کاربرد خارجی فسفر می‌تواند با تشکیل کمپلکس‌های P-Zn کلروپلاست‌ها را در برابر سمیت Zn محافظت نماید. بنابراین، القاء کاهش فسفر از طریق Zn ممکن است سمیت Zn را افزایش دهد (۳۶). مطالعات انجام‌شده بر روی سویا گزارش شده است که ZnONPs در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ mg Kg^{-۱} خاک تغییری در مقدار فسفر برگ، ریشه و ساقه ایجاد نمی‌کند (۳۰).

منیزیم: آنالیزهای AAS و ICP-OES نشان داد که در برگ‌های گیاهان تیمار شده با ZnONPs مقدار منیزیم (شکل ۲) افزایش یافته، که این افزایش در غلظت ۱ mg L^{-۱} و ۵۰ بیش از آن معنی‌دار (P < ۰/۰۵) بود. افزایش منیزیم در برگ‌های گیاهان تیمار شده با غلظت‌های زیاد ZnONPs ممکن است به دلیل عدم استفاده آنها در ساخت کلروفیل (ناشی از کاهش معنی‌دار آهن که در بخش‌های فوق به آن اشاره شد) و بنابراین تجمع آنها در برگ باشد. نیاز به منیزیم برای رشد بهینه گیاه در مرحله رویشی در محدوده ۰/۳۵-۰/۱۵ درصد وزن خشک گیاه می‌باشد (۲۱). در مطالعه حاضر، مقدار منیزیم ۱/۵-۱ درصد وزن خشک گیاه بود که نشان‌دهنده برآورده شدن نیاز کامل گیاه به منیزیم می‌باشد. برخلاف پژوهش حاضر، سایر پژوهش‌های انجام‌یافته بیشتر بیانگر تأثیر منفی غلظت‌های زیاد

تیمار Zn بر جذب Mg می‌باشند. مطالعه‌ای که بر روی کلزا انجام شد، تیمار در غلظت ۰/۱۴ تا ۱/۱۲ میلی‌مولار Zn موجب کاهش Mg در ریشه‌ها شد، اما در برگ‌ها تنها بالاترین غلظت Zn (۱/۱۲ میلی‌مولار) منجر به کاهش مقدار Mg گردید (۳۶). در پژوهش‌های دیگر نیز کاهش مقدار Mg تحت تیمار Zn مازاد گزارش شده است (۷) و همچنین برخلاف مطالعه حاضر گزارش شده است (۳۴). که ZnONPs در غلظت ۵۰۰ mg Kg^{-۱} خاک موجب کاهش محتوای منیزیم در ریشه‌ها شد، اما در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ mg Kg^{-۱} این تیمار تغییری در محتوای منیزیم ریشه‌ها ایجاد نشد. از سویی دیگر در هیچ‌یک از غلظت‌های تیماری این پژوهش، تغییری در مقدار منیزیم برگ مشاهده نشد (۳۰).

سایر عناصر: هیچ‌یک از غلظت‌های تیماری ZnONPs تأثیر معنی‌داری بر روی مقدار کلسیم (شکل ۲ ز)، پتاسیم (شکل ۲ ح) و مولیبدن (شکل ۲ ط) برگ نداشتند. محتوای کلسیم گیاهان بین ۰/۱ درصد و بیش از ۵ درصد وزن خشک متغیر است و به شرایط رشد، گونه و اندام گیاهی بستگی دارد (۲۱). در مطالعه حاضر مقدار کلسیم برگ در تمام گیاهان تیمار شده در حدود ۳/۷ درصد بود و در هیچ تیماری در مقدار آن تغییر معنی‌داری ایجاد نشد. در حالی که انتظار می‌رفت به دلیل مشابه بودن ظرفیت یونی Zn^{۲+} و Ca^{۲+}، تغییراتی در مقدار کلسیم در برگ ایجاد گردد. مشابه نتایج مطالعه حاضر، گزارش شده است که تیمار ZnONPs در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ mg Kg^{-۱} خاک تغییری در مقدار کلسیم برگ، ریشه و ساقه ایجاد نکرد (۳۰).

همانند مطالعه حاضر برخی پژوهش‌های دیگر نیز مؤید تأثیرپذیری اندک مقدار پتاسیم برگ در تنش Zn می‌باشند، هرچند این تأثیرپذیری در ریشه گزارش شده است. به‌عنوان مثال گزارش شده است که از میان غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ mg Kg^{-۱} ZnONPs خاک، هیچ‌یک قادر به

ایجاد تغییر در مقدار پتاسیم برگ نبودند و تنها بیشترین غلظت (500 mg Kg^{-1}) موجب کاهش معنی‌دار پتاسیم در ریشه شد (۳۰).

صرف‌نظر از نیکل، نیاز طبیعی گیاهان به مولیبدن نسبت به نیاز آنها به سایر عناصر ضروری، کمترین مقدار ممکن است. بسته به گونه گیاهی و منبع نیتروژن، غلظت بحرانی کمبود مولیبدن مابین ۰/۱ و 1 mg Kg^{-1} وزن خشک برگ متغیر است (۲۱). در مطالعه حاضر مقدار مولیبدن در برگ‌ها بسیار بیشتر از مقادیر ذکر شده بود. در سایر پژوهش‌ها نیز گزارش شده است که غلظت‌های مختلف ZnONPs انباشت مولیبدن در گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. به‌عنوان مثال، غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم ZnONPs در کیلوگرم خاک به ترتیب موجب افزایش ۱۳۴ درصد و ۱۶۴ درصد مقدار مولیبدن در گرهک‌های سویا شد، هرچند مقدار آن در ریشه، برگ و ساقه تغییری نکرد (۳۰).

مقادیر اندک برخی از فلزات سنگین از جمله آهن، روی، مس، منگنز، نیکل و مولیبدن برای متابولیسم گیاه ضروری است. برخی از این فلزات از جمله آهن و مس برای اغلب واکنش‌های ردوکس، که به‌نوبه خود برای عملکرد صحیح سلول حیاتی می‌باشند، ضروری هستند. برخی دیگر از جمله روی برای بسیاری از پروتئین‌ها و آنزیم‌ها نقش ساختاری و کاتالیزی دارند. با این وجود، غلظت‌های زیاد این فلزات برای گیاه سمی است (۱۴). مقدار زیاد فلزات ممکن است به‌طور غیرمستقیم از طریق ممانعت در جذب عناصر مورد نیاز برای گیاه، مانع رشد شوند. این ممانعت ممکن است به‌واسطه بازدارندگی رشد ریشه و تنفس یا به‌واسطه رقابت بر سر حامل‌های جذب فلزات انجام گیرد. کاهش در رشد ریشه از طریق غلظت‌های سمی فلزات می‌تواند جذب عناصر غذایی را محدود نماید که این محدودیت به‌واسطه کاهش سطح قابل جذب ریشه رخ می‌دهد (۲۱). مدت‌هاست که گزارش شده است مداخله Zn در متابولیسم آهن سبب زرد برگی می‌شود (۳۲). کمبود

آهن، ناشی از رقابت بین آهن و Zn و یا مداخله Zn در فرایندهای کلات شدن آهن در طی جذب توسط ریشه می‌باشد (۱۷).

غلظت فلزات در سلول‌ها می‌بایست تحت کنترل باشد که این عمل با مکانیسم‌های گوناگون از جمله فرایندهای انتقال غشایی میسر می‌شود (۱۴). خانواده‌های مختلفی از ناقل-های غشاء پلاسمایی در سلول گیاهی در جذب یون‌های فلزی نقش دارند. ناقل‌های فلزات شامل خانواده ناقلین مس، خانواده ZIP (ZRT-IRT-like protein)، خانواده NRAMP (natural resistance-associated macrophage protein)، ناقلین پروتئینی MATE (multidrug and toxic compound extrusion)، ناقلین HMA (heavy metal ABC ATPase)، ناقلین الیگوپپتیدی، خانواده ناقلین ABC (ATP-binding cassette) و خانواده ناقلین تسهیل‌کننده انتشار کاتیون می‌باشند این ناقل‌ها در انتقال انواع کاتیون-های فلزی نقش دارند و از این‌رو برای یون فلزی مشخصی اختصاصی نیستند. به‌عنوان مثال خانواده ZIP کاتیون‌های دو ظرفیتی از جمله روی، آهن، کادمیم و منگنز را از غشاهای سلولی منتقل می‌کنند (۱۹). بنابراین افزایش یک یون فلزی تا حد مازاد ممکن است در جذب سایر یون‌های مشابه آن که توسط یک ناقل مشترک منتقل می‌شوند، مداخله نماید. از این‌رو، گمان می‌رود کاهش برخی عناصر از جمله آهن و مس در بافت‌های کلزا در مطالعه حاضر، به‌واسطه آزادسازی یون روی از نانوذرات ZnONPs و افزایش آن در محیط ریشه و متعاقباً اثر ثانوی آن بر روی جذب عناصر نامبرده باشد. با این وجود انباشت روی در کلزا ممکن است با ناقل‌های اختصاصی نیز ایجاد شده باشد. در آراییدوپسیس دو پروتئین با نام‌های AtMTP1 و AtMTP3 شناسایی شده است که به ترتیب در انباشت Zn در برگ‌ها و تسهیم آن در هنگام مواجهه با غلظت‌های مازاد جذب شده آن توسط ریشه نقش دارند و به تحمل تنش Zn کمک می‌کنند. افزایش مقدار Zn در

معدنی مانند آهن، مس، بُر و فسفر دچار اختلال می‌گردد که منجر به کاهش محتوای این عناصر در بافت گیاه می‌شود. این اختلال ممکن است به‌واسطه بازدارندگی رشد ریشه و تنفس یا به‌واسطه رقابت بر سر حامل‌های جذب فلزات انجام گیرد. رقابت بین یون‌های که دارای ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (ظرفیت و شعاع یونی) مشابه مانند روی، آهن و مس رخ می‌دهد.

ریشه و برگ‌های کلزا نیز ممکن است با مکانیسم‌های جذب و انتقال مشابهی انجام شود (۳۶).

نتیجه‌گیری

نانوذرات فلزی مانند ZnONPs بسته به ویژگی‌های فلز قادر به مداخله در جذب برخی از عناصر معدنی توسط گیاه هستند. با توجه به وجود Zn در ساختار ZnONPs و احتمال آزادسازی آن در اطراف ریشه، جذب برخی عناصر

منابع

- ۱- رضانزاد، ف.، علومی، ح.، قلی‌پور، ز.، و منوچهری کلانتری، خ.، ۱۳۹۶. پاسخ دو گونه کاج (*Pinus nigra* و *P. eldarica*) اطراف کارخانه مس سرچشمه در جذب فلزات سنگین و برخی ویژگی‌های ساختاری برگ، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۳۰، صفحات ۳۷۶-۳۹۰.
- ۲- قهرمان، ا.، ۱۳۷۲. کروموفیت‌های ایران، سیستماتیک گیاهی، مرکز نشر دانشگاهی، تهران.
- ۳- موسوی انزابی، س. ح.، نوری قنبلانی، ق.، شجاعی، م.، عیوضی، ع.، و رنجی، ح.، ۱۳۸۸. مقایسه میزان آلودگی ۲۱ ژنوتیپ کلزا Communications in Soil Science and Plant Analysis, 38, PP: 751-761.
- ۴- یوسف زایی، ف.، پوراکبر، ل.، فرهادی، خ.، و مولایی، ر.، ۱۳۹۶. بررسی تأثیر نانوذرات مس و محلول کلرید مس بر جوانه‌زنی و برخی فاکتورهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه ریحان، (*Ocimum basilicum* L.) مجله پژوهش‌های گیاهی، ۳۰، صفحات ۱۸۶-۱۹۸.
- 5- Ambler, J. E., Brown, J. C., and Gauch, H. G., 1970. Effect of zinc on translocation of iron in soybean plants. *Plant Physiology*, 46, PP: 320-323.
- 6- Biener, J., Farfan-Arribas, E., Biener, M., Friend, C. M., and Madix, R. J., 2005. Synthesis of TiO₂ nanoparticles on the Au (111) surface. *The Journal of Chemical Physics*, 123, 094705 p.
- 7- Bonnet, M., Cameres, O., and Veisserire, P., 2000. Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (*Lolium perenne* L. cv. *Apollo*). *Journal of Experimental Botany*, 51, PP: 945-953.
- 8- Burbulis, N., Kuprienė, R., and Blinstrubienė, A., 2008. Callus induction and plant regeneration from somatic tissue in spring rapeseed (*Brassica napus* L.). *Biologija*, 54, PP: 258-263.
- 9- Castiglione-Monica, R., and Cremoniniimme, R., 2009. Nanoparticles and higher plants. *Cariologia*, 62, PP: 161-165.
- 10- Chatterjee, C., and Khurana, N., 2007. Zinc stress-induced changes in biochemical parameters and oil content of mustard.
- 11- De la Rosa, G., López-Moreno, M. L., Hernández-Viescaz, J., Montes, M. O., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey, J. L., 2011. Toxicity and biotransformation of ZnO nanoparticles in the desert plants *Prosopis juliflora-velutina*, *Salsola tragus* and *Parkinsonia florida*. *International Journal of Nanotechnology*, 8, PP: 492-506.
- 12- Ghodake, G., Seo, Y. D., and Lee, D. S., 2011. Hazardous phytotoxic nature of cobalt and zinc oxide nanoparticles assessed using *Allium cepa*. *Journal of Hazardous Materials*, 186, PP: 952-955.
- 13- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R. W., and Nowack, B., 2009. Modeled Environmental Concentrations of Engineered Nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for Different Regions. *Environmental Science & Technology* 43, PP: 9216-9222.
- 14- Hall, J. L., and Williams, L. E., 2003. Transition metal transporters in plants. *Journal of Experimental Botany* 54, PP: 2601-2613.

- 15- Hernandez-Viezcas, J. A., Castillo-Michel, H., Servin, A. D., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey, J. L., 2011. Spectroscopic verification of zinc absorption and distribution in the desert plant *Prosopis juliflora-velutina* (velvet mesquite) treated with ZnO nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, 170, PP: 346–352.
- 16- Jiang, X., and Wang, C., 2008. Zinc distribution and zinc-binding forms in *Phragmites australis* under zinc pollution. *Journal of Plant Physiology*, 165, PP: 697–704.
- 17- Kabata-Pendias, A., 2011. Trace elements in soils and plants. CRC press, USA.
- 18- Klaine, S. J., Alvarez, P. J. J., Batley, G. E., Fernandes, T. F., Handy, R. D., Lyon, D. Y., Mahendra, S., McLaughlin, M. J., and Lead, J. R., 2008. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, PP: 1825–51.
- 19- Komal, T., Mustafa, M., Ali, Z., and Kazi, A. G., 2015. Heavy Metal Uptake and Transport in Plants. In: Sherameti, I., Varma, A. (eds.), *Heavy Metal Contamination of Soils, Soil Biology*. Springer International Publishing, Switzerland.
- 20- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., and Kolmakov, A., 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment*, 408, PP: 3053–3061.
- 21- Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. *Academic Press*. London.
- 22- Mishra, V., Mishra, R. K., Dikshit, A., and Pandey, A. C., 2014. Interactions of Nanoparticles with Plants: An Emerging Prospective in the Agriculture Industry. In: Ahmad, P., Rasool, S. (eds.), *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance*. Elsevier USA: Academic Press, PP: 159–180.
- 23- Mousavi Kouhi, S. M., Lahouti, M., Ganjeali, A., and Entezari, M. H., 2014. Comparative phytotoxicity of ZnO nanoparticles, ZnO microparticles, and Zn²⁺ on rapeseed (*Brassica napus* L.): investigating a wide range of concentrations. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 96 (6), PP: 861–868.
- 24- Mousavi Kouhi, S. M., Lahouti, M., Ganjeali, A., and Entezari, M. H., 2015a. Comparative effects of ZnO nanoparticles, ZnO bulk particles, and Zn²⁺ on *Brassica napus* after long-term exposure: Changes in growth, biochemical compounds, antioxidant enzyme activities, and Zn bioaccumulation. *Water, Air, Soil, & Pollution*, 226, PP: 364–373.
- 25- Mousavi Kouhi, S. M., Lahouti, M., Ganjeali, A., and Entezari, M. H., 2015b. Long-term exposure of rapeseed (*Brassica napus* L.) to ZnO nanoparticles: anatomical and ultrastructural responses. *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (14), PP: 10733–10743.
- 26- Mousavi Kouhi, S. M., Lahouti, M., Ganjeali, A., and Entezari, M. H., 2016. Anatomical and ultrastructural responses of *Brassica napus* after long-term exposure to excess zinc. *Turkish Journal of Biology*, 40, PP: 652–660.
- 27- Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y., and Kumar, D. S., 2010. Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science* 179: 154–163.
- 28- Ng, C. T., Li, J. J., Bay, B. H., and Yung, L. Y. L., 2010. Current studies into the genotoxic effects of nanomaterials. *Journal of Nucleic Acids*, 2010, PP: 1–12.
- 29- Päivöke, A. E. A., 2003. Mineral elements and phytase activity in *Pisum sativum* grown at different Zn supply levels in the greenhouse. *Environmental and Experimental Botany*, 49, PP: 285–294.
- 30- Peralta-Videa, J. R., Hernandez-Viezcas, J. A., Zhao, L., Diaz, B. C., Ge, Y., Priester, J. H., Holden, P. A., and Gardea-Torresdey, J. L., 2014. Cerium dioxide and zinc oxide nanoparticles alter the nutritional value of soil cultivated soybean plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, PP: 128–135.
- 31- Pokhrel, L. R., and Dubey, B., 2013. Evaluation of developmental responses of two crop plants exposed to silver and zinc oxide nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 452–453, PP: 321–332.
- 32- Rosen, J. A., Pike, C. S., and Golden, M. L., 1977. Zinc, Iron, and Chlorophyll Metabolism in Zinc-toxic Corn. *Plant Physiology*, 59, PP: 1085-1087.
- 33- Saeidnia, S., and Gohari, A. R., 2012. Importance of *Brassica napus* as a medicinal food. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, PP: 2700–2703.
- 34- Stoyanova, Z., and Doncheva, S., 2002. The effect of zinc supply and succinate treatment on plant growth and mineral uptake in pea plant.

- Brazilian Journal of Plant Physiology, 14, PP: 111–116.
- 35- Taiz, L., and Zeiger, E., 2010. Plant Physiology. Sinauer Associates. Sunderland.
- 36- Wang, C., Zhang, S. H., Wang, P. F., Hou, J., Zhang, W. J., Li, W., and Lin, Z. P., 2009. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. Chemosphere 75, PP: 1468–1476.
- 37- Yoon, S. J., Kwak, J. I., Lee, W. M., Holden, P. A., and An, Y. J., 2014. Zinc oxide nanoparticles delay soybean development: A standard soil microcosm study. Ecotoxicology and Environmental Safety, 100, PP: 131–137.
- 38- Zaier, H., Ghnaya, T., Rejeb, K. B., Lakhdar, A., Rejeb, S., and Jemal, F., 2010. Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with *Brassica napus*. Bioresource Technology, 101, PP: 3978–3983.

Effect of ZnO Nanoparticles application on mineral absorption in rapeseed

Mousavi Kouhi S.M.,¹ Lahouti M.² and Ganjeali A.²

¹ Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Birjand, Birjand, I.R. of Iran

² Dept. of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of Iran

Abstract

In the present study, effects of different concentrations (25, 50, 75, and 100 mg L⁻¹) of zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) on the minerals absorption of rapeseed has been investigated in a completely randomized design with three replicates in the pots with perlite as a supporting material. After two months culturing, plants were harvested and then zinc content in leaf was determined using atomic absorption spectrometry. The content of phosphorus, magnesium, calcium, potassium, copper, iron, boron and molybdenum was measured using Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES). Results showed that Zn accumulation in leaves of treated plants was increased in a dose-dependent manner. Amounts of iron, copper, boron, and phosphorus were significantly decreased under ZnONPs treatment. In contrast, magnesium content of leaves was significantly increased under the treatment. However, the treatment did not have significant effect on the concentration of calcium, potassium and molybdenum. Due to the presence of Zn in the structure of ZnONPs and the probability of its release around the root, disruption of the absorption of mineral elements such as iron and copper may be due to the competition over metals adsorption carriers.

Key words: *Brassica napus*; Zinc oxide nanoparticle; minerals