

تأثیر نانو ذرات اکسید روی (ZnO) بر ویژگی‌های جوانه زنی، بیوشیمیایی و فراساختار سلولی گیاه کرچک (*Ricinus communis* L.)

الهام اسپرهم^۱ Ph.D.، سکینه سعیدی سار^۲ Ph.D.*، هما محمودزاده آخرت^۳ Ph.D.، محمدرضا هادی^۴ Ph.D.

- دانشجوی دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، دامغان، ایران، کدپستی: ۳۶۷۱۶۳۹۹۹۸
- دانشگاه فنی و حرفه ای، دانشکده فنی دکتر شریعتی، تهران، ایران، کدپستی ۱۸۹۱۸۱۶۸۵۱
- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، مشهد، ایران، کدپستی: ۴۱۳۹۱۷۳۵
- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، مرودشت، ایران، کدپستی: ۳۳۳۸۶۸۴۹

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: s_saeidisar@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۲۹

چکیده

هدف: این تحقیق به منظور مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی بر جوانه زنی، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای قند و بررسی فراساختار برگ گیاه کرچک بود

مواد و روش‌ها: آزمایش در شرایط کشت گلخانه به صورت کاملاً تصادفی با ۳ تکرار طراحی شد. گیاهان در معرض غلظت‌های مختلف (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۰۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) نانو ذرات اکسید روی قرار گرفتند. ویژگی‌های فراساختاری برگ توسط میکروسکوپ الکترونی TEM در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر مطالعه شد.

نتایج: تیمار گیاه با نانو اکسید روی در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر سبب افزایش و در غلظت بالاتر از ۱۰ میلی گرم بر لیتر به طور معنی داری سبب کاهش در سرعت و درصد جوانه زنی، طول ریشه چه، ساقه چه و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. میزان قندهای محلول در برگ با افزایش غلظت نانو ذرات افزایش معنی داری پیدا کرد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی TEM، تجمع نانو ذرات اکسید روی و از هم پاشیدگی دیواره و غشا سلولی و همچنین بد شکلی و کاهش تعداد کلروپلاست‌ها را در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر در مقایسه با شاهد نشان داد.

نتیجه گیری: با کاربرد غلظت‌های فزاینده نانو ذره اکسید روی یک تنش اکسیداتیو در گیاه کرچک بروز می‌کند که به دنبال آن پارامترهای جوانه زنی و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در آن کاهش یافته و آسیب‌های فراساختاری در سلول‌های برگ آن ایجاد می‌شود و گیاه در پاسخ به این تنش میزان قند خود را نیز افزایش می‌دهد.

واژگان کلیدی: گیاه کرچک، نانوذرات اکسید روی، جوانه زنی

مقدمه

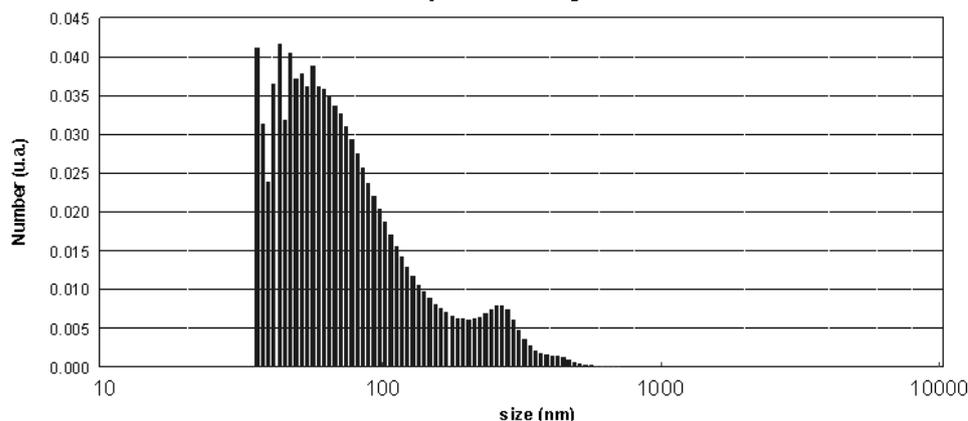
نانوتکنولوژی یکی از فناوری‌های نوین است که چند سالی است (نزدیک به ده سال) که وارد عرصه‌ی کشاورزی شده است. نانوذرات مجموعه‌های اتمی یا مولکولی با حداقل ابعاد بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که خواص فیزیکی شیمیایی متفاوتی در مقابله با مواد توده‌ای خود دارند (۱). جذب و جابه‌جایی و تجمع نانوذرات بسته به گونه گیاهی و نوع، اندازه، ترکیب شیمیایی، ساختمان و استحکام نانوذرات متفاوت می‌باشد (۲). عناصر معدنی ضروری که هر کدام دارای نقش‌های فیزیولوژیکی مشخصی هستند بر اساس غلظت نسبی آن‌ها در بافت‌های گیاهی به عناصر پر مصرف و کم مصرف تقسیم می‌شوند. از آنجایی که اغلب عناصر کم مصرف مانند روی (Zn)، مس (Cu) و کبالت (Co) جزء فلزات سنگین طبقه‌بندی می‌شوند از این رو زمانی که غلظت آن‌ها در خاک و بافت‌های گیاهی بالاتر از حد کفایت گیاه باشد به علت ایجاد مسمومیت، رشد و عملکرد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳). نانو ذرات عناصر کم مصرف نیز در غلظت‌های بالا برای سلول زیان‌آور می‌باشند و باعث تنش اکسیداتیو می‌شود و همانند سایر تنش‌های غیر زیستی تولید و تجمع انواع فعال اکسیژن را القا می‌کنند (۴ و ۵). تولید این ترکیبات مانند رادیکال سوپر اکسید (O_2)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) اخیراً مطالعات زیادی در رابطه با سمیت شدید نانوذرات و اثرات مثبت و منفی آن‌ها در گیاهان گزارش شده است (۶). از اثرات مثبت می‌توان به اثر دی اکسید تیتانیوم بر رشد گیاه اسفناج نام برد (۵) و از اثرات منفی می‌توان به سمیت نانوذره اکسید روی (ZnO) بر روی گیاه آرابیدوپسیس تالیانا اشاره کرد (۷). نانوذرات اکسید روی (ZnO) اکسید فلزی است که به‌طور متداول در صنعت کاربردهای زیادی دارد. از جمله در ترکیبات ضد آفتاب، در الکترودها و بیوحسگرها، فتوکاتالیز و سلول‌های خورشیدی را می‌توان نام برد. اثرات بالقوه و مضر این نانوذرات بر روی گیاهان وجود دارد (۸)، به‌طوری که جذب نانوذرات فلزی در اتمسفر پیرامون گیاه

توسط برگ‌ها به اثبات رسیده و نشان داده شده که ساختار کرک‌ها و روزنه‌ها تحت تاثیر این نانو ذرات قرار می‌گیرد (۹). همچنین تارهای کشنده ریشه در جذب نانو ذرات از محیط‌های خاکی و آبی نقش مهمی را ایفا می‌کنند (۱۰). در این رابطه لین و زینک (۱۱) سمیت گیاهی نانوذرات روی، اکسید روی، آلومینیوم و نانو لوله‌های کربنی چند جداره را در مرحله‌ی جوانه زنی شش گونه گیاه عالی (تریچه و کلزا، چچم، کاهو ذرت و کدو) بررسی کرده‌اند. نتایج آن‌ها نشان داد فقط نانوذرات روی در گیاه چچم و نانوذرات اکسید روی ذرت منجر به کاهش رشد شدند (۱۱). تحقیقات دیگر با اعمال نانوذره اکسید روی در گیاهان چاودار و ذرت مشخص کرد که رشد ریشه و جوانه‌زنی بذر در هر دو گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (۱۲). ماهاجان و همکاران در (۱۳) در تحقیقی غلظت‌های مختلف اکسید روی را به‌شکل معلق در آگار به برنج اضافه کردند و اثر آن را بر روی رشد دانه‌رست‌ها مورد بررسی قرار داده‌اند. نتایج آن‌ها نشان داده است که در بعضی از غلظت‌های نانوذره اکسید روی (ZnO) دانه‌رست‌ها رشد خوبی را نشان می‌دهند ولی غلظت‌های بالای آن باعث کاهش رشد در گیاه می‌شود. آن‌ها همچنین گزارش کردند که نانوذرات اکسید روی (ZnO) اثرات مضر را بر ریشه‌ی برنج در مراحل اولیه‌ی جوانه زنی داشته و باعث جلوگیری از طول شدن ریشه شده و تعداد آن را کاهش می‌دهد. شایمورات و همکاران (۱۴) نشان داده‌اند که نانوذرات اکسید روی در غلظت 50 میلی‌گرم بر لیتر باعث مهار طول شدن ریشه در گیاه سیر می‌شود. کومار و همکارانش (۱۵) نشان داده‌اند که تیمار نانو ذره اکسید روی (ZnO) بر روی ریشه گیاه سیر (*Allium cepa*) اثرات سیتوتوکسیک و ژئوتوکسیک را در پی دارد. کرچک با نام علمی *Ricinus Communis L.* متعلق به خانواده *Euphorbiaceae* می‌باشد. کرچک گیاهی یک ساله و دارای ساقه‌ای به ارتفاع ۲ متر است ولی در آب و هوای گرم و مساعد به صورت چند ساله با ظاهر درختچه

مواد و روش‌ها

روش تهیه نانو ذرات اکسید روی (ZnO): میزان ۵ گرم نانوذرات اکسید روی (ZnO) از شرکت بازرگانی نوترینو از تهران خریداری شد. برای تهیه‌ی غلظت‌های مختلف، مقدار ۰/۰۰۱ گرم نانو ذرات اکسید روی (ZnO) در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به حالت سوسپانسیون درآمدند و برای جلوگیری از ایجاد رسوب مواد در آب و تشکیل محلولی همگن، با استفاده از دستگاه اولتراسونیک (مدل 100 w, 40KHz ساخت شرکت Heilscher آلمان) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در محلول پراکنده شدند. سپس مقدار یک میلی لیتر از آن بر روی جایگاه (Cell) دستگاه تعیین اندازه ذرات VASCOPARTICLE SIZE ANALYZER,) (Company: CORDOUAN ساخت فرانسه قرار داده شد و اندازه نانوذره اکسید روی (ZnO) تعیین شد. که بر این اساس اندازه ذرات در طول موج ۶۵۷ نانو متر و دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به دست آمد به طوری که میانگین قطر ذرات یا Dmen number: 502/49 و شاخص پراکندگی ذرات PDI: 0/170 محاسبه شد (شکل ۱).

مانند و به ارتفاع ۶ متر یا حتی ۱۰ متر و گاهی بیشتر ممکن است دیده شود. مهم‌ترین اسید چرب روغن کرچک، اسید ریسینولیک است که یک اسید چرب هیدروکسی غیر اشباع می‌باشد. سایر اسیدهای چرب موجود در روغن کرچک شامل لینولنیک اسید، اسید پالمیتیک می‌باشد. روغن کرچک حاصل از آن به‌عنوان با ارزش‌ترین مواد مسهل و ملین و ضد گرفتگی در پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد و همچنین روغن این گیاه در صنایع داروسازی و آرایشی دارای کاربردهای فراوانی است (۱۶). با توجه به این‌که تنش‌های غیر زیستی از جمله تنش عناصر سنگین به‌صورت نانو ذرات بر روی گیاه می‌تواند میزان و نوع متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات اسیدهای چرب را تحت تاثیر قرار دهد (۱۷) و چون گیاه کرچک یک گیاه دارویی مهم و دارای اسیدهای چرب مهمی است این گیاه انتخاب شد به طوری که هدف از این تحقیق با توجه به نوظهوری نسبی فناوری نانو و مطالعات اندک در مورد اثرات مضر آن روی سیستم‌های زیستی به‌خصوص گیاهان موجب فراهم نمودن اطلاعاتی در زمینه سمیت نانوذرات فلزات سنگین با بررسی اثرات نانوذرات اکسید روی بر جوانه‌زنی و رشد گیاه کرچک می‌شود.

Size dispersion by Number

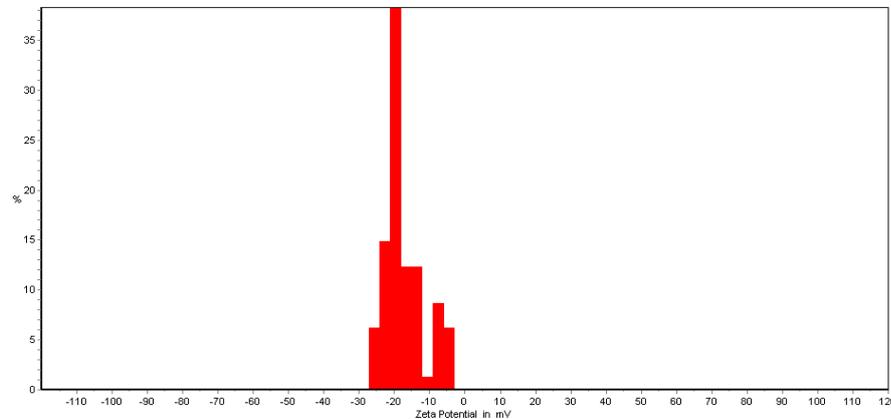
شکل ۱: اندازه نانوذره اکسید روی (ZnO)

(پراکنده) شد. سپس به مدت نیم ساعت در حمام اولتراسونیک (با دما ۳۰ سانتی‌گراد) قرار داده شد. سپس

آزمایش پتانسیل Zeta در ابتدا ۰/۰۰۱ گرم پودر اکسید روی (ZnO) در ۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه دیسپرس

که بر این اساس میانگین پتانسیل Zeta نانوذره اکسید روی، ۱۷/۱۷- میلی ولت، در دمای ۲۲/۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌دست آمد (شکل ۲).

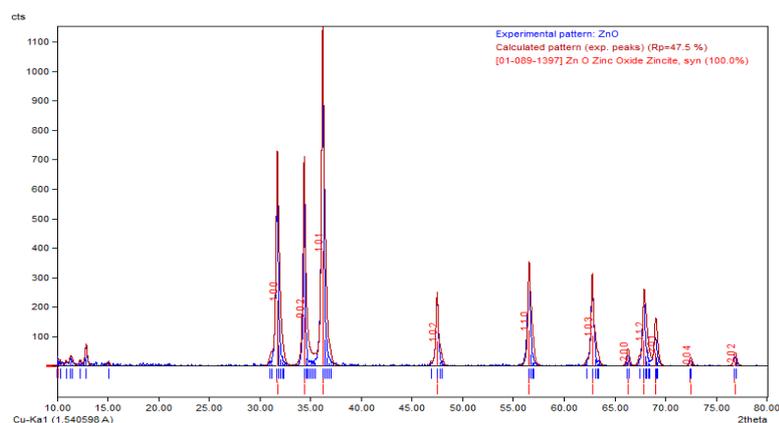
هشت میلی‌لیتر از آن بر روی جایگاه دستگاه پتانسیل Zeta (Zeta compact Company: CAD) فرانسه قرار داده شد و پتانسیل Zeta آن اندازه‌گیری شد



شکل ۲: پتانسیل zeta نانو ذره اکسید روی (ZnO)

دارای فازهای اصلی یا فرعی در ساختار خود باشد. در این تحقیق ساختار بلوری نانوذره اکسید روی توسط دستگاه XRD مدلسازی شد. بر این اساس، نانوذره اکسید روی تک فاز می‌باشد و منطبق با استاندارد pdf.4 است. فاز فرعی و جزئی در این نانوذره مشاهده نشد (شکل ۳).

مطالعه پراش اشعه (XRD): مطالعه پراش اشعه (X-Ray Diffraction = XRD) در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. در این روش با استفاده از پرتو X که در محدوده بین پرتو گاما و ناحیه طول فرابنفش قرار دارد، می‌توان اطلاعاتی در خصوص ساختار، جنس ماده و نیز تعیین مقادیر عناصر به‌دست آورد. به‌طور کلی دو یا سه شکل بلوری در یک نانوذره وجود دارد. اما درصد آن‌ها با هم متفاوت است. هر نانوذره ممکن است



شکل ۳: بررسی اشعه X نانوذره اکسید روی

نانوذرات اکسید روی بر میزان جوانه‌زنی، رنگیزه‌های

تیمار آزمایش: برای بررسی اثر غلظت‌های مختلف

(مقدار ۲ میلی‌لیتر آب مقطر هر روز به پتری‌دیش‌ها اضافه شد) استفاده گردید. روزانه تعداد بذره‌های جوانه زده بررسی و شمارش شدند و در نهایت درصد جوانه زنی و سرعت جوانه‌زنی در روز هفتم به ترتیب بر اساس رابطه‌های زیر محاسبه شدند و سایر صفات از جمله طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن تر و خشک دانه رست اندازه‌گیری شد.

درصد جوانه زنی:

$$\text{Germination Percentage} = 100 \times \text{GN/SN}$$

$$\text{SN} = \text{تعداد کل بذره‌های تحت تیمار}$$

$$\text{GN} = \text{تعداد کل بذره‌های جوانه زده}$$

سرعت جوانه زنی:

$$\text{Germination} = \sum Gi / \sum niGi$$

$$Gi = \text{تعداد بذره‌های جوانه زده در روز } i \text{ ام}$$

سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید برگ: با

استفاده از روش آرنون مقدار کلروفیل برگ گیاه کرچک اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۲۰۰ میلی‌گرم از قطعات برگ گیاه در بوته چینی ریخته شده و با استفاده از ۲ تا ۳ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد ساییده شد. سپس محلول به لوله سانتریفیوژ منتقل گردید و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول فوقانی در ارلن ریخته شده و با استن ۸۰ درصد به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و در مرحله بعد جذب محلول توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (شیماتزو - مدل UV/1100) در طول موج‌های ۶۴۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس با توجه به فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل a+b و کاروتنوئید محاسبه شد (۱۸).

$$\text{Chla}(\text{mg/gfw}) = (12/25 A(663) - 2/55 A(646)) \times v/w \times 1000$$

$$\text{Chlb}(\text{mg/gfw}) = (20/31 A(646) - 4/91 A(663)) \times v/w \times 1000$$

$$\text{Chla+b}(\text{mg/gfw}) = (17/76 A(646) + 7/34 A(663)) \times v/w \times 1000$$

$$\text{کاروتنوئید}(\text{mg/gfw}) = (4/69 A(440) - 0/267 (\text{Chla} + \text{b})) \times v/w \times 1000$$

$$A = \text{میزان جذب، } V = \text{حجم، } W = \text{وزن}$$

گیاهی و قند محلول گیاه کرچک این تحقیق در سال ۱۳۹۵ در گلخانه دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و در آن اثرات ۵ سطح غلظت (صفر، ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) میلی‌گرم بر لیتر از نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر روی مرحله جوانه‌زنی و گل‌دانی گیاه کرچک (ZnO) بررسی شد. ۵۰۰ گرم بذر گیاه دارویی کرچک از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. در کشت گلدانی، تعداد ۱۰ بذر در گلدان‌های دو کیلویی حاوی شن در عمق ۲ سانتی‌متری کاشته شد. اولین اسپری برگ‌گی نانوذرات اکسید روی در مرحله دو برگ‌گی گیاه انجام شد. اسپری‌های بعدی تا دوره ۳۵ روزه، هفته‌ای یک‌بار انجام شد و در انتهای این دوره نمونه‌برداری از برگ‌ها انجام شد و در نهایت میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و قند محلول (که شاخص مهمی در نشان دادن تاثیر عوامل تنش‌زا هستند) در برگ اندازه‌گیری شد. در آزمایش‌های جوانه‌زنی ابتدا بذره‌های گیاه کرچک با هیپوکلیت سدیم ۷ درصد به مدت ۱۰ دقیقه استریل شد و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. جهت بررسی جوانه زنی تعداد ده عدد بذر گیاه کرچک بر روی هر کاغذ صافی در هر پتری دیش به‌عنوان یک تیمار (مجموعاً ۱۵ پتری دیش) استفاده شد. تیمارهای صفر (شاهد یا کنترل)، ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذرات اکسیدروی به‌میزان ۵ میلی‌لیتر به پلیت‌ها اضافه شد. برای اعمال تیمار صفر از آب مقطر استفاده شد. به‌منظور جوانه‌زنی بذر گیاه کرچک، پتری‌دیش‌ها در دستگاه جوانه زنی بذر با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۳۰ درصد به مدت ۷ روز نگهداری شدند و برای جلوگیری از تبخیر از پارافیلیم

۶۰ نانومتر تهیه و بر روی صفحات مشبک (GRID) ۳۰۰ مش قرار گرفتند. سپس رنگ آمیزی نمونه ها با استات اورانیل ۱ درصد به مدت ۲۰ دقیقه و با سیترات سرب ۲ درصد به مدت شش دقیقه انجام گردید و در نهایت نمونه ها توسط میکروسکوپ گذاره مدل LF0912 مشاهده و عکس برداری صورت گرفت.

آنالیز آماری

داده های جمع آوری شده در همی آزمایش ها توسط نرم افزار MINITAB و با روش آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه ی میانگین ها با آزمون دانکن در سطح احتمال $p \leq 0.05$ انجام شد.

نتایج

اثر نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر پارامترهای

جوانه زنی

اثر غلظت های مختلف نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر درصد جوانه زنی دانه رست های کرچک مورد بررسی قرار گرفت از نظر آماری درصد جوانه زنی در سطح $p \leq 0.05$ معنی دار بود. بیشترین درصد جوانه زنی در تیمار ۱۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد که نسبت به شاهد، تیمار ۱۰۰، تیمار ۵۰۰ و تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۲۸/۵۶، ۴۶/۴۲، ۶۰/۷ درصد افزایش نشان می دهد (شکل ۴).

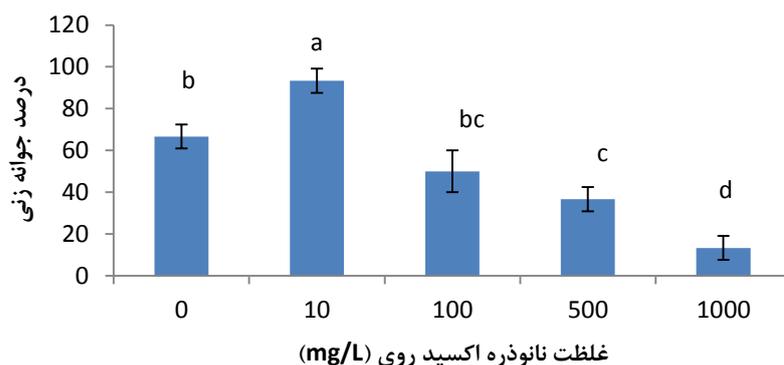
از طرف دیگر اثر غلظت های مختلف نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر سرعت جوانه زنی دانه رست های کرچک نشان می دهد که در بالاترین غلظت نانوذرات اکسید روی (ZnO) کمترین سرعت جوانه زنی کسب شد که نسبت به شاهد ۶۶/۶۸ درصد کاهش معنی دار نشان می دهد (شکل ۵) ولی در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر دارای بیشترین سرعت جوانه زنی است که نسبت به شاهد ۱۰/۶ درصد افزایش را نشان می دهد.

سنجش قندهای محلول: سنجش محتوای قند محلول برگ با استفاده از روش فنل سولفوریک (Dubois, et al., 1956) با اندکی تغییرات انجام گرفت. یک صد میلی گرم از بافت خشک و پودر شده نمونه برگ با چهار میلی لیتر از اتانول ۸۰ درصد در یک لوله آزمایش به خوبی مخلوط شد. سپس لوله ها به مدت بیست دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. جهت حذف کلروفیل و ترکیبات چربی از ۱/۵ میلی لیتر کلروفرم استفاده شد. جهت جدایی بهتر اتانول و کلروفرم در مخلوط و استخراج بهتر قند، مقدار چهار میلی لیتر آب دیونیزه نیز افزوده شد. در ادامه با سانتریفیوژ عصاره ی حاصل در ۵۰۰ rpm به مدت ده دقیقه محلول دو فازی ایجاد شد. یک میلی لیتر از عصاره روئی با یک میلی لیتر عصاره ی فنل ۵ درصد در لوله ی آزمایش مخلوط شد و بلافاصله پنج میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ بر روی آن افزوده شد. پس از ده دقیقه فاصله ی زمانی، مخلوط واکنش به خوبی هم زده شد و به مدت نیم ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب نوری محلول در طول موج ۴۹۰ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر (شیماتزو - مدل UV/1100)، سنجش شد (۱۹).

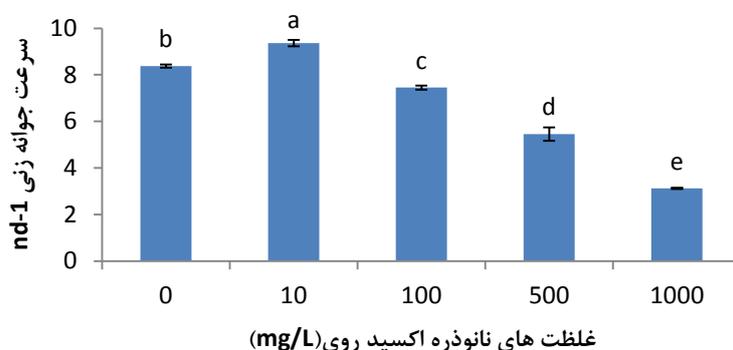
آماده سازی نمونه برای مطالعه ی میکروسکوپ

الکترونی گذاره (TEM): نمونه های برگ تازه (۱)

میلی متر مربع) با گلو تار آلدئید ۶ درصد در بافر کاکودیلات سدیم ۰/۱ مولار با pH برابر ۷/۵ به مدت شش ساعت در چهار درجه سانتی گراد تثبیت شدند و سپس با تترا اکسید اسمیوم ۱ درصد به مدت دو ساعت در چهار درجه ی سانتی گراد، در غلظت های مختلف الکل (۵۰، ۳۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد)، آگیری شده و سپس از نسبت های مختلف رزین و پروپیلن اکساید (۳ به ۱، ۱ به ۱ و ۱ به ۳) برای نفوذ رزین استفاده شد. پس از نفوذ رزین، نمونه ها قالب گیری شدند و در ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. ابتدا برش های نیمه نازک تهیه شدند و پس از شناسایی اولیه، برش های نازک با ضخامت ۸۰-



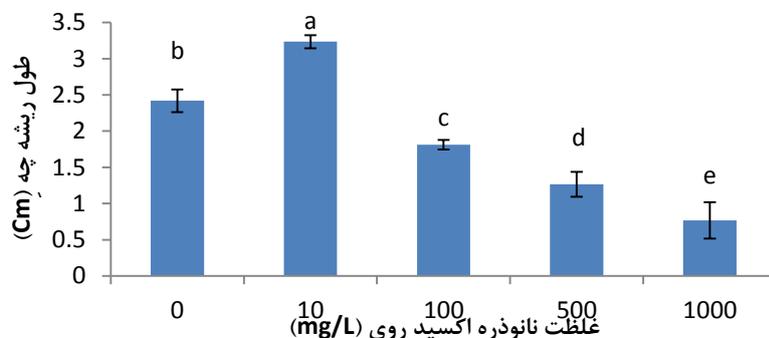
شکل ۴: اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی بر درصد جوانه‌زنی دانه رست‌های کرچک. *حروف مشابه نشان دهنده غیر معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ در آزمون LSD می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (خطوط بار بر روی ستون‌ها) می‌باشد.



شکل ۵: اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر سرعت جوانه‌زنی دانه رست‌های کرچک. *حروف مشابه نشان دهنده غیر معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ در آزمون LSD می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (خطوط بار بر روی ستون‌ها) می‌باشد.

افزایش نشان می‌دهد و کمترین طول ریشه‌چه (۰/۷ سانتی‌متر) در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر به دست آمده است که بیشترین کاهش طول ریشه‌چه در حدود ۶۸/۳۴ درصد نسبت به شاهد را نشان می‌دهد (شکل ۶).

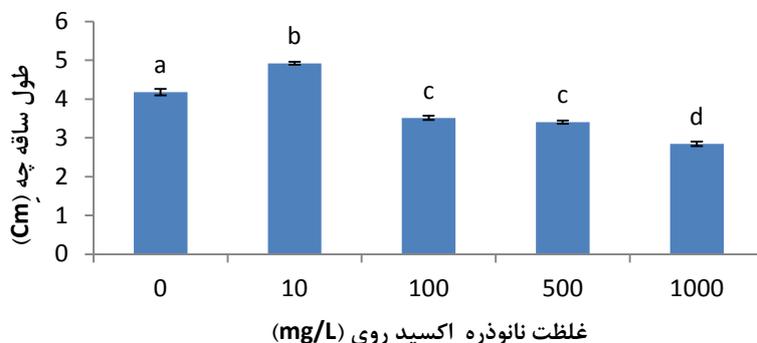
همچنین نتایج نشان داد که طول ریشه‌چه با افزایش غلظت نانوذرات به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا می‌کند. بیشترین طول ریشه‌چه (۳/۲۳ سانتی‌متر) در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره اکسید روی (ZnO) کسب گردیده است که در حدود ۲۵/۱ درصد نسبت به شاهد



شکل ۶: اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر طول ریشه‌چه (بر حسب سانتی‌متر) در دانه‌رست‌های کرچک. *حروف مشابه نشان دهنده غیر معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد در آزمون LSD می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (خطوط بار بر روی ستون‌ها) می‌باشد.

افزایش ۱۵/۱۲ درصدی را نسبت به شاهد نشان می دهد. بیشترین اثر کاهشی در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر با ۲۷/۳۲ درصد کاهش نسبت به گیاه شاهد به دست آمد.

از طرف دیگر، نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی (ZnO) یک روند کاهشی در طول ساقه چه مشاهده می شود (شکل ۷) و بیشترین طول ساقه در تیمار ۱۰ میلی گرم بر لیتر آن کسب شد که یک

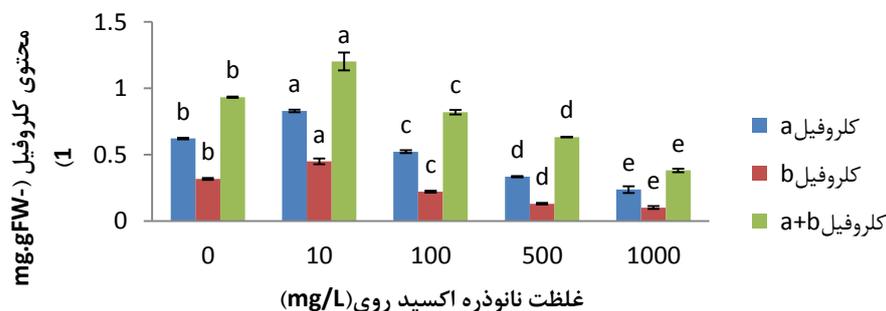


شکل ۷. اثر غلظت های مختلف نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر طول ساقه چه (بر حسب سانتی متر) دانه رست های کرچک. * حروف مشابه نشان دهنده غیر معنی دار بودن در سطح ۵٪ در آزمون LSD می باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (خطوط بار بر روی ستون ها) می باشد.

کلروفیل b در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر با ۶۸/۳ کاهش نسبت به شاهد مشاهده گردید، هر چند بیشترین مقدار این رنگدانه در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر با ۲۵/۸۵ درصد افزایش نسبت به شاهد بدست آمد (شکل ۸). به علاوه نتایج نشان داد که غلظت پایین نانوذرات اکسید روی (ZnO) اثر تحریکی در مقدار کلروفیل a+b نشان می دهد. به طوری که در تیمار ۱۰ میلی گرم بر لیتر آن نزدیک به ۲۵/۴۷ درصد افزایش معنی دار نسبت به شاهد مشاهده شد در صورتی که غلظت بالای آن اثر کاهشی در مقدار کلروفیل a+b نسبت به شاهد را نشان می دهد (شکل ۸).

اثر نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر پارامترهای بیوشیمیایی

نتایج نشان داد که میزان کلروفیل a در غلظت های بالای نانوذرات اکسید روی (ZnO) به طور معنی داری کاهش می یابد. با این وجود، میزان کلروفیل a در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر آن نسبت به شاهد ۲۵ درصد افزایش نشان داد (شکل ۸). نتایج مربوط به کلروفیل b مشابهت زیادی با نتایج کلروفیل a دارد، به طوری که در غلظت های بالای نانوذرات اکسید روی (ZnO) اثرات کاهشی در میزان کلروفیل b مشاهده می شود و کمترین مقدار

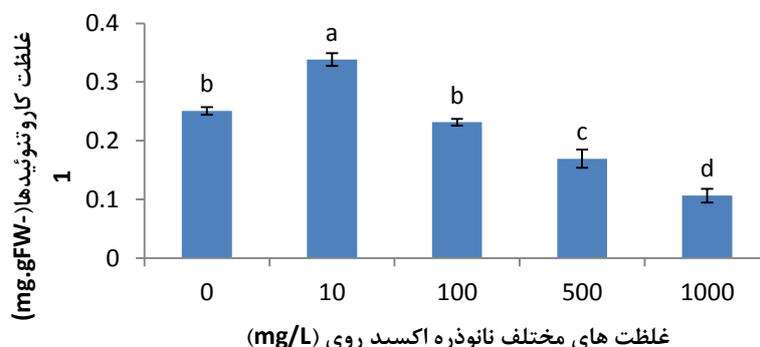


شکل ۸: اثر غلظت های مختلف نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر محتوی انواع کلروفیل (بر حسب میلی گرم آن در گرم وزن تر برگ) در دانه رست های کرچک.

*حروف مشابه نشان دهنده غیر معنی دار بودن در سطح ۵٪ در آزمون LSD می باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (خطوط بار بر روی ستون ها) می باشد.

بر لیتر افزایش معنی داری در میزان کاروتنوئیدها نسبت به شاهد مشاهده می‌شود (شکل ۹).

از طرف دیگر، نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات اکسید روی (ZnO) از غلظت ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان کاروتنوئیدها یک روند کاهشی را نشان می‌دهد هرچند در غلظت ۱۰ میلی‌گرم

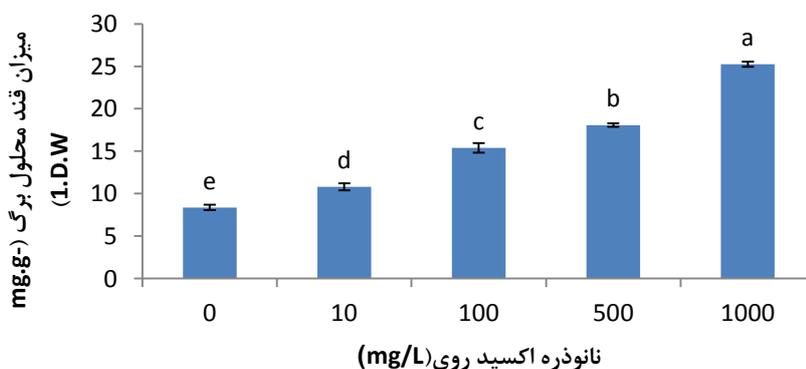


شکل ۹: اثر غلظت های مختلف نانو ذرات اکسید روی (ZnO) بر میزان کاروتنوئیدها (بر حسب میلی‌گرم آن در گرم وزن تر برگ) در دانه رسته‌های کرچک.

*حروف مشابه نشان دهنده غیر معنی دار بودن در سطح ۵٪ در آزمون LSD می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (خطوط بار بر روی ستون‌ها) می‌باشد.

افزایش و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در حدود ۲۲/۵ درصد افزایش را نسبت به شاهد نشان می‌دهند (شکل ۱۰).

از سوی دیگر، نتایج نشان داد که میزان قندهای محلول در برگ با افزایش غلظت نانو ذرات اکسید روی (ZnO) افزایش می‌یابد. به طوری که میزان قندهای محلول در برگ در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نزدیک به ۶۶/۴



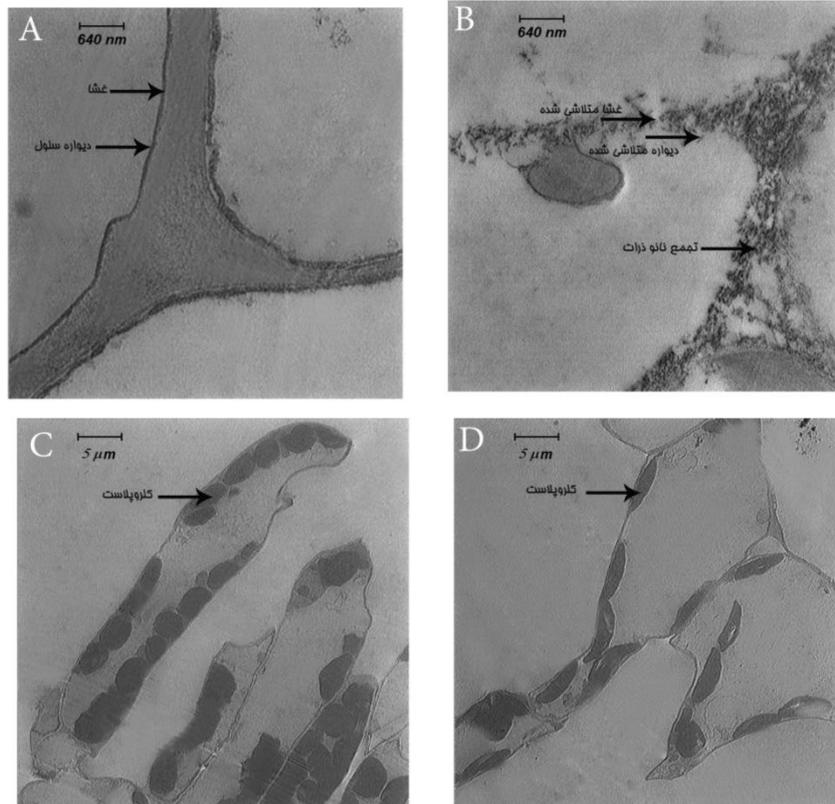
شکل ۱۰: اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید روی (ZnO) بر میزان قندهای محلول (بر حسب میلی‌گرم آن در گرم وزن خشک برگ) در دانه رسته‌های کرچک

*حروف مشابه نشان دهنده غیر معنی دار بودن در سطح ۵٪ در آزمون LSD می‌باشد. مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد (خطوط بار بر روی ستون‌ها) می‌باشد.

تجمع نانوذرات اکسید روی بر روی دیواره نسبت به شاهد به وضوح نمایان است (تصویر A و B). غشای سلولی نیز دچار از هم پاشیدگی شده است (تصویر B). در برخی از اندامک های سلولی خصوصا کلروپلاست تحت تاثیر تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر دچار تغییرات ساختاری شده و در مقایسه با شاهد دفرمه و غیر طبیعی مشاهده شدند. همچنین تعداد کلروپلاست ها در گروه تحت تیمار نسبت به شاهد کمتر شده است (C و D).

اثر نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر فرا ساختار برگ گیاه کرچک

تأثیر غلظت های مختلف نانوذره اکسید روی بر فراساختار گیاه کرچک توسط میکروگراف های الکترونی حاصل از بررسی فراساختارهای سلول های برگ گیاه کرچک تحت تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره اکسید روی (ZnO) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی TEM در شکل ۱۱ نشان داده شده است. از هم پاشیدگی دیواره سلولی و



شکل ۱۱: اثر نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر برگ گیاه کرچک
* A گیاه کنترل. B تجمع نانوذرات اکسید روی در تیمار ۱۰۰۰ PPM. C گیاه کنترل. شکل و تعداد کلروپلاست. D تغییر شکل و تعداد کلروپلاست در تیمار ۱۰۰۰ PPM.

بحث

در این پژوهش تأثیر نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر گیاه کرچک در سه قسمت مورد بحث قرار گرفت.

اثر نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر پارامترهای جوانه زنی

به نظر می رسد که غلظت پایین نانوذره اکسید روی (ZnO) یک اثر مثبتی در درصد و سرعت جوانه زنی وجود

دارد. به طوری که غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر بیشترین تأثیر را بر افزایش سرعت و درصد جوانه زنی داشت، ولی با افزایش غلظت این نانوذره این فاکتورها، کاهش پیدا کرد و در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر بیشترین تأثیر کاهشی را در درصد و سرعت جوانه زنی نشان داد. علت دقیق این اثرات شناخته شده نیست اما احتمالاً به دلیل غلظت بالاتر

کاهش قابل توجه در طول ریشه می‌شوند. با این حال سمیت نانو ذرات اکسید روی (ZnO) از کبالت (Co) بیشتر است به طوری که به سرعت به درون ریشه‌ها نفوذ کرده و متابولیسم سلولی و مراحل تقسیم سلولی و مواد ژنتیکی را تحت تاثیر قرار می‌دهد که این سمیت نانو ذرات را می‌توان، به ترکیب شیمیایی، مواد شیمیایی، ساختار و اندازه ذرات در سطح نانو ذرات نسبت داد (۲۱). کومار و همکاران (۱۲) نشان دادند که نانو ذرات اکسید روی (ZnO) باعث ممانعت از طول ریشه و کاهش تعداد ریشه‌های گیاه برنج می‌شوند که این امر به سمیت نانو ذرات اکسید روی (ZnO) اشاره دارد. در تحقیقی دیگر تعداد ریشه‌ها مشابه طول ریشه‌ها در گیاه برنج، تحت تاثیر غلظت‌های (۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) نانو اکسید روی (ZnO) قرار گرفته است و نتایج آن‌ها نشان می‌دهد که در غلظت پایین یعنی ۱۰ میلی گرم بر لیتر بیشترین میزان تعداد ریشه مشاهده شده است و با افزایش غلظت این نانو ذره تعداد ریشه به شدت کاهش پیدا می‌کند که این موضوع میزان سمیت نانو اکسید روی (ZnO) را به ریشه‌های برنج آشکار می‌سازد (۸). این یافته‌ها با نتایج حاضر همسویی دارد.

تأثیر نانو ذرات اکسید روی (ZnO) بر پارامترهای بیوشیمیایی

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که تیمار در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر باعث افزایش کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل a+b و کارتنوئیدها شده و با افزایش غلظت سبب کاهش پارامترهای مذکور شد. در پژوهشی در سال ۲۰۰۷ اثرات نانو ذرات آهن در گیاه ذرت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها نشان داد که کلروفیل a با افزایش میزان نانو ذرات آهن در محیط کشت کاهش می‌یابد. بهترین شاخص برای کارایی فتوسنتز نسبت کلروفیل a/b است که اطلاعات غیر مستقیمی را در مورد گیرنده های سیستم فتوسنتزی (LHCII) واقع در غشای کلروپلاست فراهم می‌کند. این پژوهشگران فرض کردند اکسید آهن فراهم شده از طریق نانو ذرات آهن می‌تواند با واکنش احیا در پدیده‌ی فتوسنتز درگیر باشد و تیمار بیش از حد آن سبب ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود و می‌تواند در ساختار آنزیم به کار رفته و در مراحل مختلف فتوسنتز تاثیرگذار باشد (۲۲). در این رابطه اثرات نانو

روی در دانه‌ها هنگام تیمار با غلظت کم نانو ذرات اکسید روی نسبت به شاهد است. در تیمارهای بالاتر از ۱۰ میلی گرم بر لیتر احتمالاً به دلیل ایجاد تنش اکسیداتیو اثرات منفی بر روی این فاکتورها مشاهده می‌شود به طوری که غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر بیشترین تاثیر کاهشی در پارامترهای مذکور داشت. پوشش بذر نقش مهمی را در حفاظت از جنین در برابر عوامل خارجی دارد و می‌تواند خاصیت نفوذپذیری انتخابی هم داشته باشد. اگرچه آلاینده‌ها آشکارا اثرات بازدارنده‌ای روی رشد ریشه دارند و اگر به درون پوشش بذر وارد نشوند ممکن است نتوانند بر جوانه زنی تاثیر بگذارند. ریشه‌چه پس از نفوذپذیری پوسته‌ی بذر مستقیماً با نانو ذرات تماس پیدا می‌کند، بنابراین طول شدن ریشه‌ی گیاهان، واکنشی وابسته به دوز خواهد داشت زیرا، اولین هدف در برابر آلاینده‌ها می‌باشد، بنابراین علایم سمیت در ریشه‌ها نسبت به ساقه بیشتر است. اگرچه سمیت نانو ذرات ناشناخته است، این موضوع شدیداً به ترکیب شیمیایی و سطح نانو ذرات وابسته است (۱۱). اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد و یا جذب به آرامی صورت گیرد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه زنی در داخل بذر به آرامی انجام خواهد شد و در نتیجه مدت زمان لازم برای خروج ریشه‌چه از بذر افزایش یافته و سرعت جوانه زنی کاهش می‌یابد (۲۰). در این رابطه گزارش شده است که نانو ذره اکسید روی (ZnO) بر روی گیاه چاودار در غلظت ۳۵ میلی گرم بر لیتر و ذرت در غلظت ۱۵ تا ۲۵ میلی گرم بر لیتر از جوانه زنی بذرها آن‌ها ممانعت به عمل می‌آورد (۱۱). لین و زینک (۱۱) اثرات نانو ذرات اکسید روی (ZnO) و روی (Zn) در جوانه زنی بذر زعفران و آزمون طولی شدن ریشه‌چه را مورد مطالعه قرار داده‌اند. نتایج آن‌ها نشان می‌دهد که نانو ذرات روی (Zn) و اکسید روی (ZnO) باعث مهار قابل توجه جوانه زنی بذر و رشد ریشه در گیاهان مذکور می‌شود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بهترین غلظت برای رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه تیمار ۱۰ میلی گرم بر لیتر می‌باشد و با افزایش غلظت اثر کاهشی در طول ریشه‌چه و ساقه‌چه مشاهده شد. اعمال نانو ذرات روی (Zn) و کبالت (Co) بر روی طول ریشه‌های گیاه سیر (Allium cepa) نشان می‌دهد هر دو نوع نانو ذره سبب

سلول های گیاهی ناشی از فرآیندهای جذب اضافی توسط دیواره و غشا سلول شامل تبادلات یونی، انتشار تسهیل شده و انتقال فعال است (۲۹). تصاویر میکروسکوپ الکترونی آسیب سلول های برگ به غشا، دیواره ی سلولی و کروپلاست را نسبت به گروه شاهد نشان می دهد. احتمالاً علت این آسیب تجمع بالای نانوذرات اکسید روی و ایجاد تنش اکسیداتیو و نتیجه ی آن ممانعت از رشد گیاه کرچک می باشد. بعد از ورود نانوذرات به سلول ها آن ها از طریق پلاسمادسماتا از یک سلول به سلول دیگر انتقال می یابند (۳۰). گاهی تجمع نانوذرات ممکن است در نتیجه ی انسداد منافذ و کانال ها رخ دهد (۳۰)، از این رو تحقیق بیشتری مورد نیاز است تا ارزیابی دقیق تری صورت گیرد.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که در غلظت کم، نانوذره اکسید روی (۱۰ میلی گرم بر لیتر) سبب افزایش سرعت و درصد جوانه زنی، طول ریشه چه، ساقچه چه و رنگیزه ها شامل کلروفیل a، b، a+b و کاروتنوئید و همچنین افزایش میزان قند محلول برگ گیاه کرچک در مقایسه با گیاه شاهد شد. به طور کلی می توان گفت که استفاده از غلظت های پائین نانوذره اکسید روی (ZnO) سبب افزایش و بهبود در رشد گیاه و در سطوح بالا احتمالاً به علت ایجاد تنش اکسیداتیو و همچنین سمیت شدید نانوذره اکسید روی می تواند اثر بازدارنده بر روی مرحله جوانه زنی گیاه کرچک داشته باشد.

تشکر و قدردانی

از حوزه ی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد که حمایت های اجرایی این تحقیق را بر عهده داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

منابع

1. Monica RC, Cremonini R. Nanoparticles and higher plants. J Caryol. 2009; 62(2), 161-165.
2. Arora S, Sharma p, Kumar S. Gold – nanoparticle induced enhancement in growth and seed yied of Brassica juncea. J Plant Growth Regul. 2012; 66(3): 303-310.

ذرات نقره بر محتوی کلروفیل (a و b) و کاروتنوئیدها در گیاهان ذرت و لوبیا در سال ۲۰۱۲ مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج آن ها نشان می دهد که محتوی کلروفیل a در غلظت های پائین نانو ذره نقره در ذرت و لوبیا افزایش پیدا می کند در حالی که در غلظت های بالای آن محتوی کلروفیل و کاروتنوئیدها کاهش پیدا می کند (۲۳). که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. احتمالاً یکی از دلایل کاهش محتوی کلروفیل a، b و a+b در غلظت های بالا، ایجاد تنش اکسیداتیو و تخریب آن ها به وسیله انواع اکسیژن فعال (ROS) است (۲۴). از طرف دیگر، نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره اکسید روی (ZnO) محیط، مقدار قندهای محلول نیز افزایش پیدا می کند. برخی از تحقیقات نشان داده است که با افزایش غلظت فلزات سنگین، میزان تعادل آب درون سلولی دچار اختلال شده و سبب تغییرات فراساختاری در اندامک های سلولی و آنزیم های مسیر متابولیسم قندها می شود و با افزایش غلظت فلزات سنگین میزان فعالیت آنزیم اینورتاز کاهش می یابد. به دنبال کاهش میزان انتقال آب به برگ ها و تجمع این عناصر سنگین در سلول، میزان کربوهیدرات ها در برگ ها افزایش می یابد. از این رو ممکن است افزایش قندها یک نوع مکانیسم تطابقی و سازگار یافته برای حفظ و نگه داری پتانسیل اسمزی تحت تنش نانوذره اکسید روی باشد. تجمع کربوهیدرات ها در حفظ غشای سلولی و تنظیم اسمزی موثر است (۲۵ و ۲۶) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

اثر نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر فرا

ساختار میکروسکوپی برگ گیاه کرچک

ساده ترین راه برای تعیین موقعیت نانوذرات در بافت گیاه استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره است. نتایج زو و همکاران (۲۷) نشان می دهد که با افزایش غلظت نانوذرات مس، تجمع درون سلولی افزایش می یابد. نتایج پژوهش شامارا و همکاران (۲۸) در رابطه با افزایش غلظت نانوذرات نقره و افزایش تجمع درون سلولی با نتایج پژوهش فوق هم سویی دارد. بر خلاف جانوران، جلبک ها و قارچ ها و گیاهان دارای دیواره ی سلولی هستند که مکانی برای واکنش و ممانعت از ورود نانوذرات است. فقط نانوذرات با اندازه ی کوچکتر از منافذ دیواره ی سلولی می توانند عبور کنند. تجمعات نانوذرات غلظت های بالا در

3. Bonnet M, Camares O, Veisseire P. Effect of Zinc and influence of Acremonium Lolli on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activity of ryegrass. 2005; J Exp bot. 51(346): 945–953.
4. Lu C M, Zhang CY, Wen JQ, Wu GR , et al. Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of Glycine max and its mechanism. J Soy bean Sci. 2002; 21(3): 168-172.
5. Hong F, Yang F, Liu C, Yang P. Influence of nano -Ti O2 on the Chloroplast aging of spinach under light. J Bio Trace Elem Res. 2005; 104(3): 249-260.
6. Menard A, Drobne D, Jemec A. Ecotoxicity of naosized TiO2. Review of in vivo data. J. Environ Pollut. 2011; 159(3): 677-684.
7. Lee CW, Mahendra S, Zodrow K. Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to Arabidopsis thaliana. J Environ Toxicol Chem. 2009; 29(3): 669-675.
8. Boonyanitpony P, Kumar P, Kositsup B, Baruah S , et al. Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Roots of Rice (Oryza sativa L).J Environ Biosci. 2011; 27: 172-176.
9. Da Silva LC, Oliva MA, Azevedo AA, De Araujo JM. Responses of restinga plant species to pollution from an iron pelletization factory. J Water Air Soil Pollut. 2006; 175(1): 241-56.
10. Ovečka M, Lang I, Baluška F, Ismail A, et al. Endocytosis and vesicle trafficking during tip growth of root hairs. J Protoplasma. 2005; 226(1): 39-54.
11. Lin D, Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles inhibition of seed germination and root growth. J Environ Pollut. 2007; 150(2): 243-250.
12. Kumar P, Kositsup B, Baruah S, Dutta J. Effect of Zinc Oxide Nanoparticle on Root of Rice (Oryza sativa L.). J Environ Bio sci. 2011; 21: 172-176.
13. Mahajan P, Dhoke SK, Khanna AS. Effect of Nano-ZnO Particle Suspension on Growth of Mung (Vigna radiate) and Gram (Cicer arietinum) Seedlings Using Plant Agar Method. J Nanotechnol. 2011; 1-7.
14. Shaymurat T, Gu J, XU C, Yang Z, et al. Phytotoxic and genotoxic effects of ZnO nanoparticles on garlic (Allium sativum L.): A morphological study. J Nanotoxicol. 2011; 6(3): 241-248.
15. Kumari M, Khan S, Pakrashi S, Mukherjee A, et al. Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of Allium cepa. J Hazard Mater. 2011; 190(1): 613-621.
16. Yusuf AK, Mamza AP, Ahmed AS, Agunwa U. Extraction and characterization of castor seed oil from wild Ricinus communis linn. J Sci Environ. 2015; 4(5) 1392 – 1404.
17. Vandta P, Nirali A , Khyati P, Monish K. Effect of Phytochemical Constituents of Ricinus Communis, Pterocarpus Santalinus, Terminalia Belerica on Antibacterial, Antifungal and Cytotoxic Activity. Toxicol Pharmacol Res. 2013; 5(2): 47-54.
18. Arnon D. Photosynthesis by isolated chloroplast, Iv Central Concept and Comparision of the Phytocmical Reaction1. J Biochem Bioph. Acta. 1956; 20(3): 440-446.
19. DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. J Anal Chem. 1956; 28(3): 350 – 356.
20. De F, Kar RK. Seed germination and seedling growth of mung bean (Vigna radiata) under water stress induced by PEG-6000. J Seed Sci Technol. 1994, 23: 301-304.
21. Ghodak G, Deuk Seo Y, Sung Lee D. Hazardous phytotoxic nature of cobalt and zinc oxid nanoparticles assessed using Allium cepa. J Hazard Mater. 2011; 186(1): 952-955. internalized in vegetal tissue. Rom J Phys. 2007; 54(1-2): 112-115.
22. Racuciu, M , Emilia Creanga d. Biocompatible magnetic fluid nanoparticles

23. Hediat M and Salama H. Effect of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *Res J Biotech.* 2012; 3(10):190-197.
24. Navari-Izzo F, Quartacci M, Pinzino O, Dalla F. Thylakoid-bound and stromal antioxidative enzymes in wheat treated with excess copper. *Plant Physiol.* 1998; 104: 630-638.
25. Sato F, Yoshioka H, Fujiwara T, Higashio H, et al. Physiological responses of cabbage plug seedlings to water stress during low-temperature storage in darkness. *J. Sci. Hortic.* 2004; 101(4): 349-57.
26. Prasad M. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. *J Environ Exp Bot.* 1995; 35(4): 525-45.
27. Zhou D, Jin S, Li L, Wang Y, et al. Quantifying the adsorption and uptake of CuO nanoparticles by wheat root based on chemical extractions. *J Environ Sci.* 2011; 23(11): 1852-1857.
28. Sharma P, Bhatt D, Zaidi MG, Arora S, et al. Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *J Appl Biochem Biotechnol.* 2012; 178(8): 2225-2233.
29. Navarro E, BaunvA, Behra R, Hartmann B, et al. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants and fungi. *J Ecotoxicol.* 2008; 17(5): 372-386.
30. Rico CM, Majumdar S, Darte -Gardea M, Peralta-Videa JR, et al. Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. *J Agric Food Chem.* 2011; 59(8): 3485-3496.

The Effects of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles on the Germination, Biochemical and Ultrastructural Cell Characteristics of *Ricinus communis*

Esparham E, Ph.D. Student¹, Saeidisar S, Ph.D^{2*}, Mahmoodzadeh H, Ph.D³, Hadi M. R. Ph.D⁴

1. Ph.D. Student, Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University of Damghan, Damghan, 3671639998, Iran.
2. Department of agriculture, Dr.Shariaty Technical college, Technical and vocational University, Tehran, 1891816851, Iran
3. Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University of Mashhad, Mashhad, 41391735, Iran.
4. Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University of Marvdasht, Marvdasht, 33386849, Iran.

* Email corresponding author: s_saeidisar@yahoo.com

Received: 19 Jun. 2017

Accepted: 31 Dec. 2017

Abstract

Aim: The present research attempts to study the effect of different concentrations of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on the germination, the amount of photosynthetic pigments and sugar content and analyze the ultrastructure of *Ricinus communis* plant leaves.

Material and methods: Experiment were performed under controlled greenhouse conditions, and designed completely randomly with three incidents. The plants were exposed to various concentrations (0, 10, 100, 500 and 1000) mg/l of zinc oxide nanoparticles. The ultrastructural Characteristics of plant leaves were made with the use of TEM electron microscope in the experimental plants of 1000 mg/l.

Results: Treatment of the plant with (ZnO) Nanoparticels at concentration of 10 mg/l caused increased and higher concentrations significantly reduced the rate and percentage of germination, as well as the radicle and plumule length and the photosynthetic pigments. The amount of soluble sugars in leaves increased significantly with the increase of nanoparticle concentration. The images TEM electron microscope revealed the concentration of zinc oxide nanoparticles and cell membrane rupture, as well as a deformation and decrease of the number of chloroplasts in the 1000 mg/l treated plants, compared with the control plants.

Conclusion: The Zn absorption by the plant increases by increasing the concentration of (ZnO) nanoparticles. At high concentrations due to toxicity, germination parameters in the plant decrease, which leads to oxidative stress in the plant. The plant in response to this stress increases its sugar content. In these conditions, the amount of photosynthetic pigments decreased and caused ultrastructural ruptures in plant cells.

Key words: *Ricinus communis*, Zinc oxide nanoparticles, germination