

## اثر نانو ذرات اکسید مس (CuO-NPs) بر رشد گیاه کاهو و جذب آن توسط گیاه در شرایط گلخانه

ساره نظامی\*

ایران، کرمانشاه، دانشگاه رازی، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و مهندسی خاک

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۳

### چکیده

افزایش تولید و مصرف نانو ذرات نگرانی‌هایی را در مورد اثرات آنها بر موجودات زنده ایجاد کرده است. در این مطالعه اثر نانو ذرات اکسید مس بر رشد گیاه کاهو و جذب آن توسط گیاه و در محیط خاک در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه دیوبیس- کالیفرنیا بررسی شد. تیمارها شامل شاهد، کلرید مس و نانو ذرات اکسید مس بودند که ۱۴ روز بعد از کاشت گیاه اعمال شدند. در طول دوره رشد گیاه شاخص پلاستوکرون (به عنوان شاخص رشد گیاه)، شاخص پلاستوکرون برگ شماره ۴ (به عنوان برگ مرجع)، غلظت مس در برگ شماره ۴ با دستگاه ICP-MS و غلظت مس در برگهای شاخص پلاستوکرون مشخص با دستگاه لیزر ابلیشن همراه با ICP-MS اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که اثر نانو ذرات بر شاخص پلاستوکرون کل گیاه و برگ شماره ۴ معنی‌دار نبود. غلظت مس در برگ شماره ۴ با گذشت زمان از اعمال تیمار نانو ذرات کاهش یافت. اندازه‌گیری غلظت مس با دستگاه لیزر ابلیشن نشان داد که تفاوت چندانی بین غلظت مس در بخش‌های مختلف برگ و در تیمار نانو ذرات با سایر تیمارها وجود نداشت. همچنین، بیشترین غلظت مس در رگبرگ برگ نسبت به سایر بخش‌ها مشاهده گردید. به طور کلی با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که نانو ذرات توسط گیاه جذب نشده و تأثیر چندانی نیز بر رشد گیاه نداشته‌اند. انجام مطالعات بیشتر با سایر گیاهان در این زمینه پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: نانو ذرات، مس، شاخص پلاستوکرون، کاهو

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۳-۳۸۳۲۲۰۳۵، پست الکترونیکی: snezami1981@gmail.com

### مقدمه

شده اثر سوء دارد. پتانسیل تجمع گونه‌های محلول و نانو این فلزات در محصولات زراعی باعث ایجاد نگرانی در سلامت حیوانات و انسان‌ها شده است و رفتار این آلاینده‌های ریز در خاک و گیاهان باید بیشتر مورد بررسی قرار گیرد (۵).

نانو ذرات اکسید مس یکی از نانو ذرات مهم با کاربرد وسیع در کاتالیزورها، مواد ابررسانا، مواد ترموالکتریک، مواد حساس، شیشه و سرامیک هستند. نتایج به دست آمده از تحقیقات مختلف نشانگر سمیت نانو ذرات مس برای باکتری‌ها، نماتدها و سایر میکروارگانیسم‌های خاک و

امروزه به دلیل کاربرد و استفاده ذرات نانو در بخش‌های مختلف کشاورزی، تکنولوژی و صنعتی توجه خاصی به این ترکیبات شده است و تلاشهایی در حال انجام است تا پتانسیل این مواد را در ایجاد سمیت در محیط بررسی کنند (۱۷ و ۲۳). ذرات نانو مهندسی شده بالاجبار در فاضلاب وارد شده و در نهایت وارد محیط‌های آبی و خاکی می‌شوند. آبیاری محصولات زراعی با آب‌های بازیافتی کشاورزی و شهری یا افزودن بیوسالیدها به آنها ممکن است منجر به حضور فلزات و نانو ذرات اکسیدی فلزی در منطقه ریشه شود، که بر روی محصولات کشاورزی تولید

است اما مشخص نیست که آیا انحلال نانو ذرات و جذب فلز محلول توسط گیاه به دنبال رسوب نانو ذرات رخ می‌دهد یا خیر؟ (۸، ۱۰ و ۱۱)

اثر نانو ذرات اکسید مس بر گیاهان عمدتاً در محیط هیدروپونیک و یا در پتری دیش در اتاقک رشد انجام شده است. تحقیق حاضر انجام شد تا اثر نانو ذرات اکسید مس بر رشد کاهو و میزان جذب آن توسط گیاه را در خاک و در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار دهد.

### مواد و روشها

**نمونه برداری از خاک:** این تحقیق در سال ۲۰۱۴ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه دیویس در کالیفرنیا انجام شد. نمونه خاک مورد مطالعه از منطقه لاکفورد (۸۰ کیلومتری شهر دیویس در کالیفرنیا) جمع‌آوری شد. رده بندی خاک مورد نظر coarse-loamy, mixed, superactive, nonacid thermic Oxyaquic Xerofluvents بود. خاک‌ها پس از جمع‌آوری در سطل‌های ۳۶ کیلوگرمی به خوبی با یکدیگر مخلوط شده و سپس هوا خشک شدند. پس از عبور نمونه‌ها از الک ۲ میلیمتری، یک نمونه بمنظور انجام آزمایشات خاک از آنها برداشته شد و به آزمایشگاه منتقل گردید.

**کاشت گیاه:** برای مطالعه اثر نانو ذرات اکسید مس بر رشد، از گیاه کاهو (*Lactuca sativa*) و گلدان‌های ۲/۵ کیلوگرمی استفاده شد. براساس نتایج تجزیه خاک ابتدا کود‌های مورد نظر محاسبه شده و به خاک افزوده شدند. قبل از کاشت گیاهان رطوبت گلدان‌ها به ظرفیت مزرعه (FC) رسانده شد و سپس بذرهای کاهو خیس شده بعد از ۲۴ ساعت در گلدان‌ها کاشت شدند. تعداد ۱۵ بذر در هر گلدان کشت شده (۵ مارچ) و سپس گلدان‌ها در گلخانه قرار گرفتند. در طول دوره رشد گلدان‌ها تنک شده و رطوبت آنها در حد ظرفیت مزرعه نگه داشته شد. ۱۴ روز بعد از کاشت، تیمارها به صورت محلول در آب و بترتیب زیر اعمال شدند: شاهد (آب مقطر)، کلرید مس ( $\text{CuCl}_2$ )

حتی گیاهان است (۳). در مقایسه با سایر نانو ذرات اکسیدی فلزی نظیر  $\text{TiO}_2$  و  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ، نانو ذرات اکسید مس اثرات منفی بر رشد گونه‌های گیاهی آبی و خاکی دارند، به خصوص محصولاتی که به عنوان غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند (۷). پریئولت و همکاران (۲۰۱۰) اظهار داشتند که کاربرد نانو ذرات اکسید مس به مدت ۴۸ ساعت بر روی گیاه عدس آبی، اثر بازدارندگی قوی بر فتوسنتز گیاه داشت که این امر منجر به کاهش رشد گیاه شد (۱۸). دیمکپا و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که کاربرد نانو ذرات اکسید مس در محیط هیدروپونیک رشد بخش هوایی گیاه گندم را به طور چشمگیری کاهش داد. همچنین، اثرات تنش اکسیداتیو در گیاهان تیمار شده با نانو ذرات مشاهده گردید (۶). در مطالعه ای ادهیکاری و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که نانو ذرات اکسید مس رشد ریشه گیاه سویا و نخود را کاهش داد (۳). تحقیقات قبلی در مورد اثرات نانو ذرات اکسید مس بر روی رشد گیاهان نشان دادند که اثرات آنها بر ریشه بیشتر از بخش‌های هوایی است که عمدتاً به واسطه سمیت فلزی  $\text{Cu}^{2+}$  حل شده می‌باشد (۱۹). دو و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند که نانو ذرات اکسید مس بر روی رشد گیاهان تأثیر گذاشته که این اثر ممکن است مستقیماً در اثر ممانعت از رشد ریشه یا غیر مستقیم، با اثر بر نقش ریشه در انتقال آب باشد (۷). مارجنوت و همکاران (۲۰۱۸) در محیط کشت هیدروپونیک نشان دادند که نانو ذرات اکسید مس میزان هدایت هیدرولیکی ریشه کاهو را کاهش دادند که از این طریق می‌توانند انتقال آب را در گیاه کاهش داده و در نتیجه باعث کاهش رشد شوند (۱۴).

اندازه بیشتر نانو ذرات در حد ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر است. بنابراین، برای ورود غیرفعال به داخل منافذ دیواره سلولی ریشه گیاه (قطر ۲ تا ۵ میکرومتر) بسیار بزرگ هستند. هنوز مشخص نیست که آیا نانو ذراتی که در ارتباط با گیاه هستند، به طور کامل جذب می‌شوند. اگرچه حضور ذرات نانو در داخل بافت‌های گیاهی مورد بررسی قرار گرفته

متابولیسم آن را براساس اثرات سن فراهم می‌کند. این شاخص با استفاده از فرمول میشلینی و اریکسون (۱۹۵۷) محاسبه می‌شود. در این فرمول طول برگ ۵۰ میلی‌متر (برگ شماره ۴) به عنوان طول مرجع انتخاب گردید (۱۲).

$$PI = \left( n + \frac{\log Ln+1 - \log 50}{\log Ln - \log Ln+1} \right) \quad (1)$$

در این فرمول  $Ln+1$  طول برگ است که اندازه آن از ۵۰ میلی‌متر کوچکتر است،  $Ln$  طول برگ است که اندازه آن از ۵۰ میلی‌متر بیشتر است و  $n$  شماره برگ در کل گیاه است (۲۴).  $LPI$  نیز به صورت زیر تعیین می‌گردد:

$$LPI = PI - a \quad (2)$$

حرف  $a$  بیانگر شماره برگ است.

بمنظور تعیین اثر نانو ذرات اکسید مس بر رشد گیاه کاهو، شاخص‌های  $PI$  و  $LPI$  تعیین شدند.

#### اندازه‌گیری غلظت مس در گیاه با دستگاه LA-ICP-MS

بمنظور تعیین غلظت مس در بخش‌های مختلف برگ گیاه، برگ‌های شاخص پلاستوکرون ۳، ۱، ۷ و ۱۲ برداشت شده و فریز درای شدند. سپس با استفاده از دستگاه لیزر ابلیشن غلظت مس در بخش‌های مختلف برگ (دمبرگ (P)، رگبرگ اصلی (V) و بین رگبرگ (BV)) اندازه‌گیری گردید. لیزر ابلیشن فرایند برداشت مواد از یک سطح جامد (یا گاهی مایع) با تابش پرتو لیزر بر سطح آن است.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ برای بررسی سطوح معنی داری و آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها انجام شد. نمودارها نیز با نرم افزار اکسل رسم شدند.

#### نتایج

**خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک:** نتایج تجزیه خاک مورد مطالعه نشان داد که pH خاک در محدوده اسیدی بود.

(۵۴/۷۲ میلی گرم  $CuCl_2$  در هر گلدان) و نانو ذره اکسید مس ( $CuO-NP$ ) با قطر ۵۰ نانومتر و مقدار ۶۸۵ میلی گرم  $CuO-NP$  در هر گلدان). آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۶ تکرار انجام شد. یک هفته پس از اعمال تیمارها دو بار در هفته طول برگ‌ها بمنظور اندازه‌گیری شاخص‌های پلاستوکرون ((PI) Plastochron Index) و پلاستوکرون برگ ((LPI) Leaf Plastochron Index) اندازه‌گیری شد. برگ شماره ۴ به عنوان مرجع انتخاب شده و در زمان‌های ۲۱ (۲۷ مارچ)، ۲۹ (۳ آوریل) و ۴۳ (۱۷ آوریل) روز پس از کاشت گیاه برداشت و جهت اندازه‌گیری غلظت مس با دستگاه ICP-MS نگه داشته شد. نمونه‌های گیاهی برگ شماره ۴ پس از برداشت و آماده سازی با افزودن اسید نیتریک غلیظ هضم شدند. به این ترتیب که پس از افزودن اسید نیتریک نمونه‌ها به مدت یک شبانه روز باقی ماندند. سپس، به مدت دو ساعت در دمای ۷۰-۶۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. در نهایت با افزودن آب اکسیژنه فرایند هضم تا بی‌رنگ شدن کامل نمونه‌ها ادامه یافت. در نهایت کل گیاهان تیمارهای مختلف در تاریخ ۱ می برداشت شدند. از هر تیمار یک گلدان نگه داشته شد و در تاریخ ۱۶ می برگ‌های با  $LPI$  مشخص برای اندازه‌گیری غلظت مس با دستگاه لیزر ابلیشن همراه با ((ICP-MS (LA-ICP-MS) Laser Ablation Inductively Coupled plasma Mass Spectrometry)) فریز درای شدند.

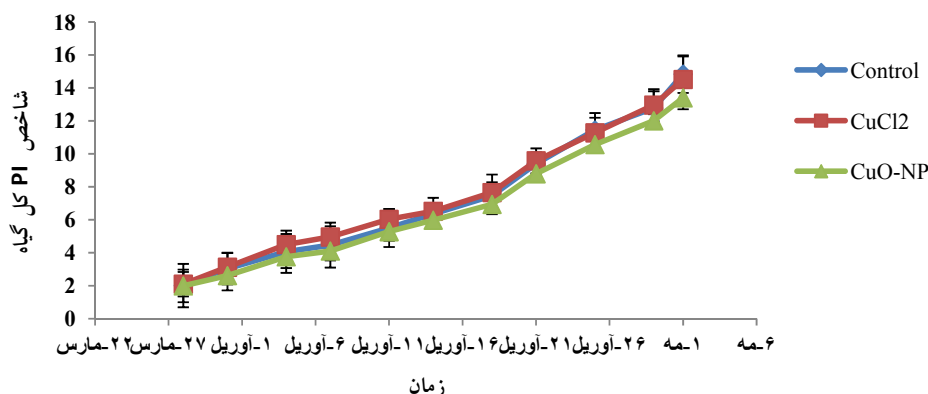
**محاسبه شاخص پلاستوکرون در گیاه:** سن برگ و مراحل توسعه ای (نموی) آن شاخص‌های مهمی برای تعیین بسیاری از فرایندهای مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی در گیاهان هستند. شاخص پلاستوکرون یک شاخص مفید و غیرمخرب برای تعیین سن توسعه‌ای برگ‌ها و گیاهان است. زمانی که گیاهان تحت شرایط یکنواختی کشت می‌شوند، توسعه مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی در برگ‌هایی که سن پلاستوکرونی یکسانی دارند، مشابه است. بنابراین استفاده از شاخص پلاستوکرون اسباب تنظیم توسعه گیاه و

شاخص پلاستوکرون گیاه و برگ شماره ۴: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف مس بر شاخص پلاستوکرون کل گیاه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار نشده است. نمودار ۱ اثر نانو ذرات اکسید مس بر متوسط شاخص پلاستوکرون کل گیاه کاهو را با زمان نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود با گذشت زمان این شاخص در گیاه در تمامی تیمارها افزایش می‌یابد و روند یکسانی در مورد هر سه تیمار مشاهده می‌شود. نکته مهم اینست که تیمار نانو ذرات اکسید مس میزان شاخص پلاستوکرون را نسبت به بقیه تیمارها با زمان بیشتر کاهش داده است، اما این کاهش معنی‌دار نبوده است. رنج میانگین شاخص پلاستوکرون گیاه در طول زمان در تیمار شاهد از  $۰۳/۲$  تا  $۸۲/۱۴$  و در تیمار نانو ذرات اکسید مس از  $۹۳/۱$  تا  $۴۰/۱۳$  بود. این نتیجه نشان دهنده کمتر بودن شاخص پلاستوکرون در طول زمان در تیمار نانو ذرات اکسید مس نسبت به شاهد بود. اختلاف بین این مقادیر نیز بین دو تیمار ذکر شده با گذشت زمان افزایش یافت.

مقدار ماده آلی خاک بیش از ۲ درصد و در حد مطلوب بود. باتوجه به درصد ذرات خاک بافت خاکی شنی لومی تعیین شد. باتوجه به نتایج عناصر فسفر و پتاسیم مقادیر کمتری از حد مطلوب داشتند که بعد از محاسبه مقادیر لازم به خاک افزوده شدند (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

پارامتر	مقدار
pH	۸۲/۵
کربن آلی (درصد)	۳۵/۱
درصد شن	۷۵
درصد سیلت	۱۶
درصد رس	۹
فسفر قابل تبادل (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	۱۷
پتاسیم قابل تبادل (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	۱۲۰
کلسیم قابل تبادل (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	۷۰۰
منیزیم قابل تبادل (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	۱۸۰
آهن قابل تبادل (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	۱۱۵
منگنز قابل تبادل (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	۱۴
روی قابل تبادل (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	۲۲
مس قابل تبادل (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)	۳/۶
CEC (میلی‌اکی والان در ۱۰۰ گرم خاک)	۵/۷



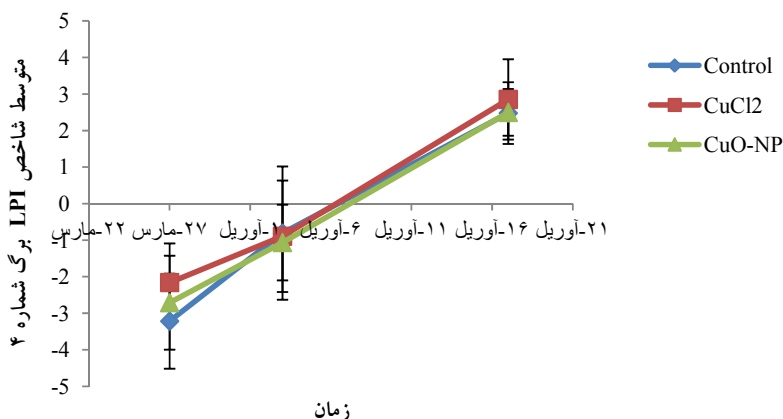
شکل ۱- متوسط شاخص پلاستوکرون کل گیاه با زمان

$۵/۲$  و در تیمار نانو ذرات  $۷/۲$ ،  $۱/۱$  و  $۵/۲$  بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف مس بر LPI در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار نشد. بیشترین تفاوت این شاخص در تیمار نانو ذرات اکسید مس با

برگ شماره ۴ به عنوان مرجع در گیاه انتخاب شد و در نتیجه LPI در این برگ در سه زمان متفاوت (۲۷ مارس، ۳ و ۱۷ آوریل) تعیین گردید. مقادیر میانگین این شاخص در سه زمان ذکر شده بترتیب در تیمار شاهد  $۲/۳$ ،  $۸/۰$  و

زمان نیز در نمودار ۲ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود تیمار نانو ذرات اکسید مس LPI را نسبت به بقیه تیمارها کاهش داده است، اما این کاهش معنی‌دار نیست.

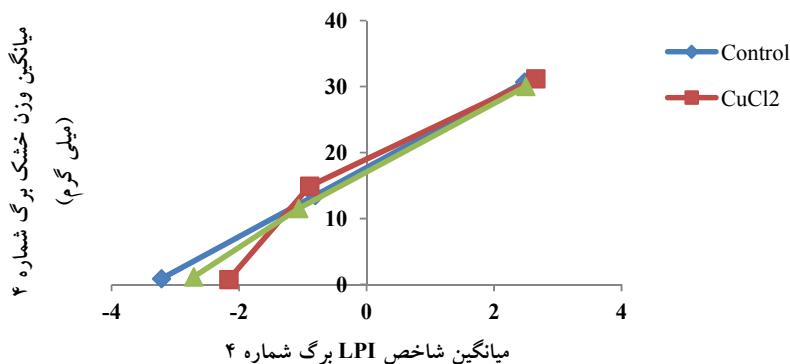
شاهد تقریباً یک هفته پس از اعمال تیمارها مشاهده گردید، که این تفاوت در حد ۵/۰ واحد بود با گذشت زمان تفاوت بین تیمار نانو ذرات و شاهد کمتر گردید و در نهایت به حدود ۰۲/۰ رسید. روند تغییرات این شاخص با



شکل ۲- متوسط شاخص پلاستوکرون برگ شماره ۴ با زمان

LPI برگ شماره ۴ تیمار نانو ذرات اکسید مس وزن خشک کمتری نسبت به بقیه تیمارها دارد که با نتایج حاصل از کاهش PI کل گیاه در تیمار نانو ذرات اکسید مس همخوانی دارد.

در شکل ۳ نیز رابطه بین LPI برگ شماره ۴ و وزن خشک برگ نشان داده شده است. مقادیر میانگین وزن خشک گیاه نیز در سه زمان ذکر شده بترتیب در تیمار شاهد ۸۷/۰، ۵۰/۱۳ و ۷۰/۳۰ گرم و در تیمار نانو ذرات ۹۰/۱۴ و ۲۰/۳۰ گرم بود. همانطور که ملاحظه می‌شود با افزایش

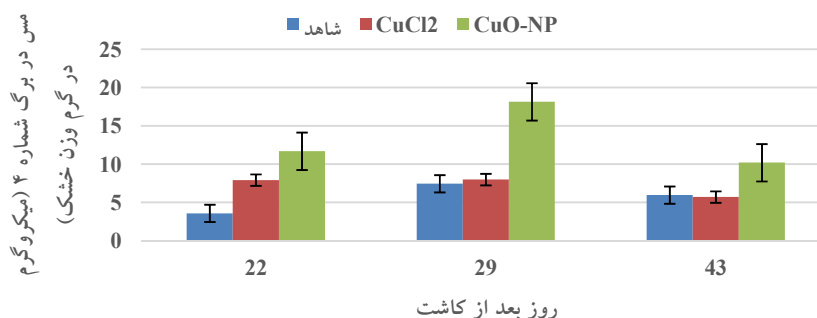


شکل ۳- رابطه بین متوسط شاخص پلاستوکرون و وزن خشک برگ شماره ۴

شماره ۴ در سه زمان مختلف بعد از کاشت در نمودار شماره ۴ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود تیمار نانو ذرات اکسید مس در زمان‌های ۲۲ و ۲۹ روز پس از کاشت بیشترین غلظت مس را نسبت به تیمار ۴۳ روز پس از کاشت دارد. اما با گذشت زمان غلظت مس

**غلظت مس در برگ شماره ۴:** نتایج تحلیل واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف مس بر جذب مس در گیاه در سطح احتمال پنج درصد در زمان‌های مختلف پس از کاشت معنی‌دار شد. نمودار تغییرات غلظت مس در برگ

در برگ کاهش یافته است. تفاوت مقادیر غلظت مس در گیاه نیز بین تیمارهای شاهد و نانو ذرات در زمان‌های ۲۲ و ۴۳ روز پس از کاشت ۲۱/۴ واحد بود.



شکل ۴- اثر نانو ذرات اکسید مس بر غلظت مس در برگ کاهو

با یکدیگر نداشته و حتی در تیمار شاهد بیشتر از بقیه تیمارها بوده است. این نتایج با نتایج حاصل از شاخص پلاستوکرون کل گیاه همخوانی دارد. در برگ‌های با LPI کم (برگ‌های جوان) غلظت مس در تمامی بخش‌های برگ بیشتر از برگ‌های با LPI بالا (برگ‌های مسن) است که این امر نشان می‌دهد که غلظت مس عمدتاً در اندام‌های جوان گیاه بیشتر می‌باشد. همچنین براساس نتایج، بیشترین غلظت مس در تمامی برگ‌ها در بخش رگبرگ نسبت به سایر بخش‌ها مشاهده شده است.

**غلظت مس در برگ گیاه با استفاده از دستگاه LA-ICP-MS:** نتایج اندازه‌گیری غلظت مس در گیاه با استفاده از دستگاه لیزر ابلیشن در جدول ۲ آورده شده است. بیشترین غلظت مس در گیاه (۴۹/۱۷ میکروگرم بر گرم) در تیمار شاهد و در برگ با LPI، ۳- و در بخش رگبرگ اصلی برگ و کمترین غلظت (۲۹/۱ میکروگرم بر گرم) در تیمار نانو ذرات و در برگ با LPI، ۷ و در بخش دمبرگ حاصل شد. همانطور که ملاحظه می‌شود غلظت مس در بخش‌های مختلف برگ و در تیمارهای مختلف تفاوت چندانی

جدول ۲- متوسط غلظت مس در بخش‌های مختلف برگ (میکروگرم بر گرم)

متوسط LPI	بخش برگ*	غلظت مس در گیاه در تیمار شاهد	غلظت مس در گیاه در تیمار CuCl <sub>2</sub>	غلظت مس در گیاه در تیمار CuO-NPs
-۳	V	۴۹/۱۷	۸۸/۷	۸۹/۱۰
-۳	BV	۱۵/۱۳	۲۷/۱۴	۰۳/۱۱
-۱	V	۷۵/۸	۹۶/۸	۹۷/۹
-۱	BV	۲۹/۸	۴۰/۹	۱۸/۶
-۱	P	۶۷/۴	۵۱/۹	۸۶/۳
۷	V	۲۸/۹	۵۷/۶	۸۷/۶
۷	BV	۲۱/۵	۴۵/۶	۹۰/۵
۷	P	۱۲/۳	۰۴/۳	۲۹/۱
۱۲	V	۶۸/۴	۵۷/۲	۲۰/۴
۱۲	BV	۵۳/۳	۵۸/۱	۷۳/۳
۱۲	P	۶۵/۲	۴۳/۱	۲۵/۳

\* (V: رگبرگ اصلی، BV: بین رگبرگ، P: دمبرگ)

## بحث

مارجنوت و همکاران (۲۰۱۸) در محیط کشت هیدروپونیک در مطالعه‌ای که بر روی همین رقم کاهو و بمنظور تکمیل نتایج این مطالعه انجام دادند مشاهده کردند که نانو ذرات اکسید مس هدایت هیدرولیکی ریشه کاهو را کاهش داده و در نتیجه در شیره آوند چوبی نیز مشاهده نشدند (۱۴). براساس این نتیجه و نتایج سایر محققین نانو ذرات منافذ سطح ریشه را مسدود کرده و در نتیجه ورود آنها به آپوپلاست نیز کاهش می‌یابد (۴). کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه توسط نانو ذرات اکسید مس و همینطور کوچک بودن قطر منافذ دیواره سلولی ریشه (کمتر از ۲۰ نانومتر) (۹) و همچنین عدم وجود گونه‌های مس در شیره آوند چوبی این فرضیه را که اثر نانو ذرات اکسید مس بر انتقال آب می‌تواند در سطح ریشه باشد و نه از طریق ورود آپوپلاستی و سیم پلاستی، حمایت می‌کند. بنابراین به نظر می‌رسد که مقدار کاهش شاخص‌های مطالعه شده نیز به دلیل کاهش انتقال آب در گیاه باشد.

کاهش غلظت مس در برگ کاهو با زمان نیز با نتایج آزمایشی که بمنظور بررسی انحلال نانو ذرات و آزاد سازی مس از آنها در آزمایشگاه انجام شد، مطابقت داشت. نتایج این بخش نشان داد که نانو ذرات عمدتاً در همان مراحل اولیه بیشترین مقدار مس را آزاد کرده و با گذشت زمان مقدار مس آزاد شده ثابت می‌باشد (داده‌ها آورده نشده اند). بنابراین، به نظر می‌رسد که علت بالا بودن غلظت نانو ذرات مس در برگ کاهو و در زمان‌های اولیه پس از کاربرد تیمار نانو ذرات به این دلیل باشد. همچنین، مارجنوت و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که اثر سوء نانو ذرات بر رشد ریشه گیاه کاهو و کاهش هدایت هیدرولیکی آن عمدتاً در مراحل اولیه رشد گیاه مشاهده می‌شود (۱۴).

## نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج حاصل از این مطالعه نانو ذرات اکسید مس سبب کاهش شاخص پلاستوکرون گیاه نسبت به شاهد شدند، اما این کاهش معنی‌دار نبود. بیشترین غلظت مس

تغییرات نمودی در رشد برگ و گیاه معمولاً بر اساس زمان خاصی از کاشت گیاه، به عنوان مثال تعداد روز پس از کاشت بیان می‌شود (تخصیص یک رویداد به زمان‌های خاص که معادل واژه کرنولوژی می‌باشد). اما سن کرنولوژیکی برگ یا گیاه عمدتاً به مرحله نمودی آن ارتباطی ندارد به همین خاطر شاخص پلاستوکرون برگ یک راه بسیار مناسب برای تعیین سن نمودی برگها و گیاهان است. این شاخص درکی از فرایند نمودی در گیاه می‌دهد که از زمان یا سن کرنولوژیکی به دست نمی‌آید. بنابراین با استفاده از این شاخص می‌توان مرحله نمودی (سن نمودی) گیاه و متابولیسم‌های موجود در آن را که در اثر سن اتفاق می‌افتد با هم تطبیق داد. اندازه‌گیری تغییرات نمودی و دنبال کردن آن در جمعیتی از گیاهان با زمان با تغییرات بسیار زیادی همراه است که شاخص پلاستوکرون این تغییرپذیری را به شدت کاهش می‌دهد (۱۲، ۱۵ و ۲۴). در این مطالعه شاخص پلاستوکرون به عنوان معیاری برای رشد گیاه انتخاب گردید و مشاهده شد با کاربرد نانو ذرات اکسید مس و کاهش این شاخص رشد گیاه نیز کاهش یافته است. کمتر بودن شاخص پلاستوکرون در تیمار نانو ذرات و کاهش رشد گیاه نسبت به شاهد در این مطالعه با نتایج تحقیقات دیگری که اثر نانو ذرات اکسید مس را بر روی رشد گیاهان مختلف بررسی کرده‌اند، همخوانی دارد. براساس نتایج تحقیقات انجام شده نانو ذرات اکسید مس سبب افزایش گونه‌های رادیکال‌های آزاد و کاهش مقدار فتوسنتز (۱، ۶، ۱۶ و ۱۸)، کاهش رشد ریشه (۲، ۳، ۱۳ و ۲۲) و کاهش رشد بخش‌های هوایی گیاه (۲، ۶، ۲۰، ۲۱ و ۲۵) شدند. اما لازم به ذکر است که براساس نتایج تحلیل واریانس و نمودارها، اثر نانو ذرات بر شاخص PI معنی‌دار نشده است و همانطور که مشاهده می‌شود این کاهش شاخص PI هم در کل گیاه و هم در برگ شماره ۴ تفاوت چندانی با تیمار  $\text{CuCl}_2$  ندارد.

آن مصرف می‌شود، نگرانی در مورد جذب و تجمع نانو ذرات در گیاه و اثر سوء آنها بر سلامتی انسان وجود ندارد. انجام مطالعات بیشتر در این زمینه با سایر گیاهان و در شرایط طبیعی مزرعه ضروری به نظر می‌رسد.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات خانم پروفسور Wendy Silk استاد دانشگاه کالیفرنیا- دیویس که شرایط را برای انجام این تحقیق در گلخانه و آزمایشگاه ایشان فراهم آوردند، سپاسگزارم.

در برگ شماره ۴، ۲۹ روز بعد از کاشت مشاهد گردید و با گذشت زمان کاهش یافت. با اندازه‌گیری غلظت مس در بخش‌های مختلف برگ مشاهده شد که تفاوت چندانی بین تیمارهای مختلف وجود نداشت و بیشترین مقدار مس نیز در بخش رگبرگ برگ مشاهده گردید. همانطور که مشاهده می‌شود نتایج تمامی بخش‌های این تحقیق با هم همخوانی داشته و به نوعی همدیگر را تایید می‌کنند. به طور کلی با توجه به این نتایج و نتایج مطالعه تکمیلی (مارجنوت و همکاران، ۲۰۱۸) در این زمینه به نظر می‌رسد که نانو ذرات اکسید مس توسط گیاه کاهو جذب نشده‌اند. بنابراین، در مورد محصولی نظیر کاهو که بخش‌های هوایی

### منابع

- ۱- میری، م. و خندان بارانی، ه.، ۱۳۹۵. تاثیر نانو ذرات اکسید مس بر رشد، مقدار پروتئین، کلروفیل‌ها و کاروتن جلبک گونه (*Chlorella Vulgaris*)، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۹ (۱)، صفحات ۲۳۵-۲۴۲.
- ۲- یوسف‌زایی، ف.، پوراکبر، ل.، فرهادی، خ.، و مولایی، ر.، ۱۳۹۶. بررسی تأثیر نانو ذرات مس و محلول کلرید مس بر جوانه زنی و برخی فاکتورهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*)، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۳۰ (۱)، صفحات ۲۲۱-۲۳۲.
- 3- Adhikari, T., Kundu, S., Biswas, A. K., Tarafdar, J. C., and Rao, A. S., 2012. Effect of Copper Oxide Nano Particle on Seed Germination of Selected Crops, *Journal of Agriculture and Science Technology*, 2, PP: 815- 823.
- 4- Asli, S., and Neumann, P. M., 2009. Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant, Cell and Environment*, 32, PP :577-584.
- 5- Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., and Surampalli, R. Y., 2010. Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge - Evidence and impacts. *Waste Management*, 30(3), PP: 504-520.
- 6- Dimkpa, C. O., McLean, J. E., Latta, D. E., Manangon, E., Britt, D. W., Johnson, W. P., Boyanov, M. I., and Anderson, A. J., 2012. CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. *Journal of Nanoparticle Research*, 14 (1125), PP:1-15.
- 7- Du, W., Tan, W., Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., Ji, R., Yin, Y., and Guo, H., 2016. Interaction of metal oxide nanoparticles with higher terrestrial plants: Physiological and biochemical aspects. *Plant Physiology and Biochemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.024>.
- 8- Fabrega, J., Luoma, S. N., Tyler, C. R., Galloway, T. S., and Lead, J. R., 2011. Silver nanoparticles: Behaviour and effects in the aquatic environment. *Environment International*, 37(2), PP: 517-531.
- 9- Fleischer, A., O'Neill, M. A., and Ehwald, R., 1999. The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II. *Plant Physiology*, 121, PP: 829-838.
- 10- Gardea-Torresdey, J. L., Parsons, J. G., Gomez, E., Peralta-Videa, J., Troiani, H. E., Santiago, P., and Yacaman, M. J., 2002. Formation and growth of Au nanoparticles inside live alfalfa plants, *Nano Letters*, 2(4), PP: 397-401.
- 11- Harris, A. T., and Bali, R., 2008. On the formation and extent of uptake of silver nanoparticles by live plants, *Journal of Nanoparticle Research*, 10(4), PP: 691-695.



- 12- Horsley, S. B., and Gottschalk, K. W., 1993. Leaf area and net photosynthesis during development of *Prunus serotina* seedlings. *Tree Physiology*, 12, PP: 55-69.
- 13- Lee, S., Chung, H., Kim, S., and Lee, I., 2013. The Genotoxic Effect of ZnO and CuO Nanoparticles on Early Growth of Buckwheat, *Fagopyrum Esculentum*, *Water Air Soil Pollution*, 224, PP: 1668.
- 14- Margenot, A. J., Rippner, D. A., Dumlao, M. R., Nezami, S., Green, P. G., Parikh, S. J., and McElrone, A. J., 2018. Copper oxide nanoparticle effects on root growth and hydraulic conductivity of two vegetable crops. *Plant and Soil*, 431 (1-2), PP: 333-345.
- 15- Meicenheimer, R. D., 2014. The plastochron Index: Still useful after nearly six decades, *American Journal of Botany*, 101 (11), PP: 1821- 1835.
- 16- Nekrasovaa, G. F., Ushakovaa, O. S., Ermakovb, A. E., Uiminb, M. A., and Byzovb, I. V., 2011. Effects of Copper (II) Ions and Copper Oxide Nanoparticles on *Elodea densa* Planch. *Russian Journal of Ecology*, 6, PP: 422- 428.
- 17- Nowack, B., and Bucheli T. D., 2007. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*, 150(1), PP: 5-22.
- 18- Perreault, F., Oukarroum, A., Pirastru, L., Sirois, L., Matias, W. G., and Popovic, R., 2010. Evaluation of Copper Oxide Nanoparticles Toxicity Using Chlorophyll a Fluorescence Imaging in *Lemna gibba*, *Journal of Botany*, Doi :10.1155/2010/763142.
- 19- Servin, A. D., and White, J. C., 2016. Nanotechnology in agriculture: Next steps for understanding engineered nanoparticle exposure and risk. *NanoImpact*, 1, PP: 9-12.
- 20- Shaw, A. K., and Hossain, Z., 2013. Impact of nano-CuO stress on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings, *Chemosphere*, 93, PP: 906- 915
- 21- Shi, J., Gras, M. A., and Silk, W. K., 2009. Laser ablation ICP-MS reveals patterns of copper differing from zinc in growth zones of cucumber roots. *Planta*, 229, PP: 945- 954.
- 22- Trujillo-Reyesa, J., Peralta-Videa, J. R., Majumdar, S., Botezc, C. E., and GardeaTorresdey, J. L., 2013. Exposure studies of core-shell Fe/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and Cu/CuO NPs to lettuce (*Lactuca 2 sativa*) plants: Are they a potential physiological and nutritional hazard? *Journal of Hazardous Materials*, Doi: 10.1016/j.jhazmat, 2013. 11. 067.
- 23- Unrine, J., Bertsch, P., and Hunyadi, S., 2008. Bioavailability, Trophic Transfer, and Toxicity of Manufactured Metal and Metal Oxide Nanoparticles in Terrestrial Environments, in *Nanoscience and Nanotechnology*, V. H., Grassian, Editor., Wiley-VCH: Berlin.
- 24- Urban, O., Sprtova, M., Kosvancova, M., Tomaskova, I., Lichtenthaler, H. K., and Marek, M. V., 2008. Comparison of photosynthetic induction and transient limitations during the induction phase in young and mature leaves from three poplar clones. *Tree Physiology*, 28, PP: 1189-1197.
- 25- Wang, Z., Xie, X., Zhao, J., Liu, X., Feng, W., White, J. C., and Xing, B., 2012. Xylem- and Phloem-Based Transport of CuO Nanoparticles in Maize (*Zea mays* L.). *Environmental Science and Technology*, 46, PP: 4434-4441.

## Effect of Copper Oxide Nanoparticles (CuO- NPs) on Lettuce Growth and Uptake by Plant in Greenhouse Condition

Nezami S.

Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, I.R. of Iran.

### Abstract

Production and the use of nanoparticles in the environment has been raised concerns about their effects on living organisms. In this study the effect of CuO- NPs on the lettuce growth and its uptake by the plant were investigated in a research greenhouse in soil environment at Davis university of California. Treatments included control (DI water), CuCl<sub>2</sub> and CuO- NPs which applied 14 days after planting. During the plant growth, Plastochron Index (PI), Leaf Plastochron Index (LPI) of leaf number 4, copper (Cu) concentration in leaf number 4 by ICP-MS and Cu concentration in leaves with specific plastochron index by Laser Ablation-ICP-MS were measured. Results showed that the effect of nanoparticles on the PI of plant and leaf number 4 was not significant. The Cu concentration in leaf number 4 was decreased after application of nanoparticles treatment. Measurement of Cu concentration by LA-ICP-MS showed the insignificant difference in Cu concentration between different parts of leaf and between nanoparticles treatment with other treatment. Also, the highest concentration of Cu was observed in between veins than other parts of the leaf. It seems that CuO- NPs have not been absorbed by the plant and have not significantly and little effect on plant growth. More studies with other plants are recommended.

**Key words:** Nanoparticle, Copper, Plastochron Index, Lettuce