علوم و تحقیقات بذر ایران
سال ششم/ شماره سوم/ ۱۳۹۸ (۳۸۰ - ۳۶۹)

DOI: 10.22124/jms.2019.3834

بررسی تأثیر فرم‌های نانو و غیر نانو (توده‌ای) اکسید روی (ZnO) بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های تنباکو (*Nicotiana tabacum* L.)

مریم مظاهری تیرانی[۱]، مریم مددکار حق‌جو[۲*]، احمد اسماعیلی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۲۱

چکیده

کاربردهای روزافزون اکسید روی توده‌ای و نانو می‌تواند، سبب آلوده‌شدن گسترده محیط زیست گیاهان به این مواد گردد. در این مطالعه تأثیر اکسید روی توده‌ای تجاری (اندازه <۱۰۰۰ نانومتر) و نانواکسید روی (اندازه معادل ۲۵ نانومتر) بر روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های تنباکو، بررسی شد. بذرها در یک طرح کاملاً تصادفی و در ۳ تکرار، تحت تیمار ۱۰ سطح (۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰، ۵۰،۱۰، ۲/۵،۵، ۰/۲، ۰/۰۴ پی‌پی‌ام) از دو فرم اکسید روی (توده‌ای و نانو) و آب دوبار تقطیر به‌عنوان شاهد، قرار گرفتند و جوانه‌زنی در مدت ۱۴ روز و نیز برخی صفات کمی و کیفی در روز ۲۱ رشد گیاهچه‌ها بررسی شدند. بر اساس نتایج، تیمارها بر درصد جوانه‌زنی نهایی و زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی، اثر مثبت نداشتند، اما میانگین زمان و ضریب یکنواختی جوانه‌زنی، تحت تأثیر غلظت‌های بالا (به‌ویژه برای فرم نانو) افزایش یافتند. تیمارهای فرم نانو از ۵۰ به بعد و توده‌ای از ۱۰۰ پی‌پی‌ام به بعد، محدودکننده طول هیپوکوتیل بوده، درحالی‌که اثر مهاری بر طول ریشه‌چه از سطوح پایین‌تر فرم توده‌ای (۰/۲پی‌پی‌ام به بعد) و در تمام سطوح نانو فرم، نمودار گردید. اغلب تیمارها به‌ویژه در غلظت‌های بالا، بر شاخص طول هیپوکوتیل نسبی، شاخص تحمل ریشه‌چه، شاخص تحمل جوانه‌زنی، شاخص تحمل طول گیاهچه و ضریب آلومتری تأثیر منفی گذاردند و این اثر مهاری در سطوح پایین‌تری از فرم نانو نسبت به فرم توده‌ای اتفاق افتاد. کاهش رنگ لپه‌ها و خوابیدگی گیاهچه‌ها در غلظت‌های بالاتر از ۱۰ پی‌پی‌ام، می‌تواند به‌دلیل کاهش کلروفیل و تغییر در میزان تنظیم‌کننده‌های رشد، اتفاق افتاده باشد.

واژه‌های کلیدی: بقای گیاهچه، تنباکو، جوانه‌زنی، فلز سنگین، نانواکسید روی

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، خرم اباد، ایران
۲- استادیار فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، خرم اباد، ایران
۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم اباد، ایران
*نویسنده مسئول: madadkar.m@lu.ac.ir

مقدمه

جوانه‌زنی بذر و مرحله استقرار اولیه گیاهچه، از مهم‌ترین مراحل رشد در گیاهان محسوب شده و به‌دلیل عدم توسعه سیستم‌های آنتی‌اکسیدانت در مراحل ابتدایی، بسیار حساس به فلزات سنگین می‌باشند. به‌عبارت دیگر، مراحل اولیه رشد گیاهان، حساس‌تر از سایر مراحل رشدی هستند (Kubala *et al.,* 2015; Wang *et al.,* 2014). خاک‌های مناطق مختلف، به‌دلیل فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی روزمره انسان‌ها، می‌توانند حاوی مقادیر بسیار زیادی از فلزات سنگین مانند روی، مس، آلومینیوم و غیره باشند (Rossato *et al.*, 2011) که می‌تواند از هر دو فرم توده‌ای (معمولی یا غیرنانو) و نانوذرات این فلزات تشکیل شده باشد. با پیشرفت نانوتکنولوژی، کاربرد مهندسی نانوذرات در رشته‌های مختلف در حال گسترش بوده و بنابراین در آینده‌ای نه‌چندان دور، نانوذرات بخش مهمی از بیش‌تر محصولات مصرفی زندگی روزمره خواهند بود (Aslani *et al*., 2014; Monica and Cremonini, 2009). فرم توده‌ای ترکیب اکسید روی (ZnO)، به‌علت دارابودن خصوصیات پایدار در مقابل اکسیداسیون نوری و شیمیایی، یک ماده نیمه هادی در تبدیل انرژی خورشیدی بوده و در صنایع مختلف الکترونیکی، تکنولوژی لیزر و لاستیک، سرامیک، رنگ‌سازی، مواد دارویی و آرایشی نظیر کرم‌های ضدآفتاب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Moezzi *et al.,* 2012). از فرم نانوذرات اکسید روی نیز در صنایع الکترونیک، سرامیک، رنگ‌سازی و مواد آرایشی استفاده می‌شود (Han *et al.,* 2016). بنابراین کاربرد هر دو فرم‌های غیرنانو یا توده‌ای و نانواکسید روی، امروزه به وفور در صنایع مختلف مشاهده می‌گردد.

در پیکر موجودات زنده، عنصر روی نقش‌های متابولیکی مهمی را در گیاه ایفا نموده و کمبود یا زیاد بود آن می‌تواند تعادل متابولیکی گیاه را برهم بزند (Broadley *et al.,* 2007). نظر به واکنش‌پذیری فراوان نانوذرات و به‌دلیل آن‌که نانو ذرات فلزی می‌توانند تغییرات شیمیایی درون سلول را تسهیل نموده و مشابه کاتالیزور عمل نمایند (Dimkpa *et al.,* 2012; Lin and Xing, 2007) پیامدهای پیش‌بینی‌نشده فراوانی می‌تواند در نتیجه حضور آن‌ها در محیط زیست و محدوده رشد گیاهان و نیز در پیکر جانوران تغذیه‌کننده، مورد انتظار باشد (Patra *et al.,* 2013). گزارش‌های موجود، حاکی از نتایج متناقضی در زمینه تأثیر نانو ذرات اکسید روی، بر جوانه‌زنی و رشد گیاهان می‌باشند. به‌عنوان مثال، تأثیرات منفی نانواکسید روی بر جوانه‌زنی بذور برنج و نیز بر رشد ریشه آن (Boonyanitipong *et al.,* 2011) و بالعکس افزایش جوانه‌زنی بذر و رشد ساقه و ریشه گیاهچه‌های بادام زمینی (Prasad *et al.,* 2012) بر اثر تیمار با آن مشاهده گردیده، اما این ماده بر روی جوانه‌زنی گیاه ازمک بی‌تأثیر بوده است (Ghazi Zadeh Ehsaii *et al*., 2013). در واقع، مسئله جذب و میزان جذب این عنصر از سطح ریشه نیز، هنوز جای تأمل داشته و طیف‌سنجی اشعه ایکس در گیاهان سویا حاکی از عدم حضور نانو ذرات اکسید روی در ریشه بوده است (López-Moreno *et al.,* 2010)، گرچه برخی تحقیقات نیز مدعی جذب نانوذرات روی در ریشه گیاهان شده‌اند (Dimkpa *et al.,* 2012).

بنابراین نظر به کاربرد فراوان ترکیبات نانو و توده‌ای اکسید روی و تجمع روزافزون آن‌ها در محیط زیست و نیز با توجه به اهمیت وجود مقدار مناسب عنصر روی در محیط رشد ریشه، و همچنین وجود گزارش‌های ضد و نقیض در رابطه با تأثیر فرم‌های مختلف آن بر جوانه‌زنی و رشد گیاه که می‌تواند مرتبط با غلظت این ترکیبات در محیط زیست باشد، بررسی دقیق‌تر این مسئله، موضوع این تحقیق قرار گرفت. در این پژوهش، تأثیر غلظت‌های متفاوت اکسید روی (در ۱۰ سطح)، در فرم‌های توده‌ای و نانو بر شاخص‌های جوانه‌زنی، تحمل تنش بذر، و افزایش طول و وزن‌تر گیاهچه، در گیاه مدل تنباکو بررسی و نتایج با نمونه شاهد (غلظت صفر) و نیز با یکدیگر مقایسه شدند. لازم به ذکر است، انجام مطالعات دقیق در زمینه تأثیر نانوفلزات بر گیاهان مدل، نظیر تنباکو می‌تواند به شناسایی راهکارهای مؤثرتر در ارزیابی سمیت نانومواد و نیز شناخت و بهره‌گیری از جنبه‌های مفید احتمالی آن‌ها کمک نماید (Dimkpa *et al.,* 2012; Monica and Cremonini, 2009).

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه تنباکو، واریته اصفهان، ابتدا به‌مدت یک دقیقه با اتانول ۷۰ درصد و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم تجاری ۵۰ درصد (وایتکس با ۵ درصد

کلر فعال) ضدعفونی شدند. پس از هر مرحله تا ۸ بار با آب مقطر شستشو شدند، تا سطح بذرها از هر گونه مواد خارجی پاک شود. پودر نانواکسید روی با اندازه ذرات معادل ۲۵ نانومتر، کروی و بدون پوشش و نیز پودر اکسید روی توده‌ای یا غیر نانو با اندازه تقریبی ذرات در محدوده ۱۰۰۰ نانومتر، به‌ترتیب از کمپانی‌های نانوتک فلدریچ/مونیخ آلمان و سیگمای آمریکا خریداری شدند. ابتدا ۱۰ سطح (۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰، ۵۰،۱۰، ۵، ۲/۵، ۰/۲، ۰/۰۴ پی‌پی‌ام) از اکسید روی توده‌ای و نانواکسید روی به‌طور جداگانه با استفاده از آب دو بار تقطیر تهیه گردید و آب دو بار تقطیر نیز به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. بنابراین تیمارها در ۲۱ سطح اعمال گردیدند. با توجه به این‌که اکسیدهای فلزات در آب نامحلول هستند، برای پراکنده‌نمودن ذرات، محلول‌ها با غلظت‌های مختلف، دو مرتبه با فاصله ۱۰ دقیقه و هر بار به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴۵°C در دستگاه اولتراسونیک (سونیکا DS_3، ۲۰۱۱) قرار داده شدند. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از محلول‌های فوق به هر یک از پتری‌دیش‌ها (به قطر ۱۰ سانتی‌متر) حاوی کاغذ واتمن شماره ۲ اضافه گردید و سپس ۲۰ عدد بذر سالم تنباکو در پتری‌دیش، در درون ژرمیناتور و شرایط روز (۲۴-۲۳°C)، به‌مدت ۱۶ ساعت)، شب (۱۸-۱۷°C)، به‌مدت ۸ ساعت)، با شدت نور تقریبی ۳۰۰ میکرومول فوتون برثانیه متر مربع و رطوبت ۵۰ درصد قرار داده شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید و برای هر تیمار، تعداد سه عدد پتری‌دیش (حاوی ۲۰ بذر) به‌عنوان سه تکرار (هر پتری‌دیش یک تکرار) در نظر گرفته شد. بذرهای جوانه‌زده در طی ۱۴ روز، با فاصله زمانی دو روز در میان شمارش گردیدند. مطابق گزارش رائو و همکاران (Rao *et al.,* 2006) اولین و آخرین روز جوانه‌زنی بذرهای تنباکو، به‌ترتیب در چهارمین و چهاردهمین روز پس از کشت مشاهده شد. جوانه‌زنی زمانی ثبت شد که ریشه‌چه از پوسته بذر خارج و قابل رویت گردید (He *et al.,* 2014). آزمون تا روز ۲۱ ادامه یافت و سپس برخی صفات و شاخص‌های کمی و کیفی گیاهچه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. صفات و شاخص‌های ارزیابی شده به‌صورت صفات کمی و کیفی دسته‌بندی شدند.

الف) صفات و شاخص‌های کمی

صفات و شاخص‌های کمی از روابط زیر محاسبه شدند. رابطه۱؛ درصد نهایی جوانه‌زنی[1]، رابطه ۲؛ میانگین روز جوانه‌زنی[2]، رابطه ۳؛ زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی[3]، رابطه ۴؛ ضریب یکنواختی جوانه‌زنی[4] و رابطه ۵؛ شاخص تحمل وزن تر[5] به‌ترتیب از رابطه‌های ارائه شده توسط موت و اکای (Mut and Akay, 2010)، اشکان و مومنی (Ashkan and Moemeni, 2013)، دزفولی و همکاران (Dezfuli *et al.,* 2008) و راسکار و لاوار (Raskar and Laware, 2014) استفاده شد.

طول هیپوکوتیل[6] و طول ریشه‌چه[7] ۲۱ روز پس از کشت، با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری گردید. برای هر گروه تیماری، سه تکرار و هر تکرار از میانگین کل نمونه‌های جوانه‌زده در هر پتری‌دیش محاسبه و بر اساس سانتی‌متر گزارش گردید. سپس سایر شاخص‌های تحمل به تنش‌ها در گیاهان، وابسته به تغییرات پارامترهای رشد و جوانه‌زنی هستند از روابط زیر محاسبه شدند. رابطه ۶؛ طول هیپوکوتیل نسبی[8]، رابطه ۷؛ شاخص تحمل ریشه‌چه[9] و رابطه ۸؛ شاخص تحمل جوانه‌زنی[10] بترتیب از معادلات ارائه شده توسط عموآقایی و همکاران (۲۰۱۵) استفاده شدند (Amooaghaie *et al.,* 2015) و رابطه ۹؛ شاخص تحمل طول گیاهچه[11] و رابطه ۱۰؛ ضریب آلومتری[12] از رابطه‌های ارائه شده توسط به‌ترتیب از معادلات ارائه شده توسط راسکار و لاوار (Raskar and Laware, 2014) و هوانگ و همکاران (Huang *et al.,* 2006) محاسبه گردیدند.

(رابطه ۱) درصد جوانه‌زنی نهایی، $FGP=\left(\frac{N'}{N}\right)\times 100$

(رابطه ۲) میانگین روز جوانه‌زنی، $MGT=\sum\frac{G_tD_t}{G}$

[1] Final germination percentage; FGP
[2] Means of germination time; MGT
[3] The time to reach 50% germination; T_{50}
[4] Coefficient of uniformity of germination; CUG
[5] Tolerance index fresh weight of Seedling; TIFW
[6] Hypocotyl length; HL
[7] Root length; RL
[8] Relative hypocotyl length; RHL
[9] Root tolerance index; RTI
[10] Germination tolerance index; GTI
[11] Tolerance index of seedling length; TISL
[12] Allometric coefficient; AC

(رابطه ۳) زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی،

$$T_{50}=\frac{[(t_2-t_1)\times 50]+(P_2t_1-P_1t_2)}{P_2-P_1}$$

(رابطه ۴) ضریب یکنواختی جوانه‌زنی،

$$GUC=\frac{\sum_{i=1}^{k}n_i}{\sum_{i=1}^{k}(\overline{D}-D_i)^2n_i}$$

$$CRG=\frac{\sum_{i=1}^{k}n_i}{\sum_{i=1}^{k}D_in_i}\cdot D=\frac{100}{CRG}$$

(رابطه ۵) شاخص تحمل وزن تر= (وزن تر در تیمار/ میانگین وزن تر در شاهد) × ۱۰۰

(رابطه ۶) طول هیپوکوتیل نسبی= (میانگین طول هیپوکوتیل در گروه تیمار/میانگین طول هیپوکوتیل درگروه شاهد)

(رابطه ۷) شاخص تحمل طول ریشه‌چه=(میانگین طول ریشه‌چه در گروه تیمار/ میانگین طول آن در گروه شاهد) × ۱۰۰

(رابطه ۸) شاخص تحمل جوانه‌زنی، $GTI=\frac{RSG\times RTI}{100}$

- جوانه‌زنی بذر نسبی[13]= (تعداد بذر جوانه زده شده در گروه تیمار/ تعداد بذر جوانه زده در گروه شاهد) × ۱۰۰

(رابطه ۹) شاخص تحمل طول گیاهچه= (طول گیاهچه در گروه تیمار/ طول گیاهچه در گروه شاهد) × ۱۰۰

(رابطه ۱۰) ضریب آلومتری، $AC=\left(\frac{L_r}{L_h}\right)$

N' = تعداد بذرهای جوانه‌زده شده در روز آخر، N = تعداد کل بذر، G_t= تعداد بذرهای جوانه‌زده در زمان t، D_t=زمان (روز)، G= مجموع بذرهای جوانه‌زده، t_1 و t_2=کم‌ترین و بیش‌ترین زمان۵۰ درصد جوانه‌زنی، P_1 و P_2=درصد جوانه‌زنی در زمان t_1 و t_2، n_i=تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز i، X_i=تعداد روز پس از تیمار، k=آخرین روز جوانه‌زنی و $\overline{D}$=میانگین زمان جوانه‌زنی

ب) صفات و شاخص‌های کیفی

وضعیت گیاهچه (ایستاده یا خوابیده) و رنگ گیاهچه‌ها در روز ۲۱ پس از کشت، در هر گروه و هر تیمار بررسی گردید.

محاسبه داده‌ها با نرم افزار Excel انجام شد. قبل از انجام آنالیز داده‌ها، توزیع نرمالیته داده‌ها بررسی شد و بر این اساس برای صفات تحمل وزن‌تر گیاهچه‌ها (TIFW)، شاخص تحمل ریشه‌چه (RTI)، شاخص تحمل جوانه‌زنی (GTI) و تحمل طول گیاهچه (TISL) با روش لگاریتمی و برای صفات طول ریشه‌چه (RL) و ضریب آلومتری (AC) با روش جذری، تبدیل داده صورت گرفت تا توزیع نرمال برقرار شود. سپس تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد ($p<0.05$) با استفاده از نرم افزار SPSS 22 صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌ها، (جدول ۱) نشان داد که تأثیر تیمارهای اکسید روی بر کلیه شاخص‌های ارزیابی شده به‌جز درصد جوانه‌زنی نهایی و زمان رسیدن به نصف مقدار جوانه‌زنی در سطح ۱ درصد معنی دار بود. مقایسات میانگین تأثیر تیمارهای نانواکسید روی و اکسید روی توده‌ای، در مرحله جوانه‌زنی، بر غالب شاخص‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی نظیر درصد جوانه‌زنی نهایی، میانگین زمان جوانه‌زنی، زمان رسیدن به نصف مقدار جوانه‌زنی و ضریب یکنواختی جوانه‌زنی، نشان‌دهنده بی تغییر ماندن و یا وجود تغییرات اندک در این رابطه می‌باشد (جدول ۲). البته برخی از پارامترهای مربوط به سرعت جوانه‌زنی مانند میانگین زمان جوانه‌زنی و ضریب یکنواختی جوانه‌زنی در غلظت‌های بالای اکسید روی (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام) افزایش یافتند، درحالی‌که اکسید روی به هر دو فرم توده‌ای و نانو بر روی برخی دیگر از صفات نظیر FGP و T_{50} اثری نداشت (جدول ۲). کومر و همکاران (Kumar *et al.*, 2015) گزارش کردند که تیمار گندم، برنج، ماش و خیار با مقادیر ۱۰۰۰-۱۰ پی‌پی‌ام نانو روی، هیچ گونه تغییری در درصد جوانه‌زنی نهایی ایجاد نکرده، اما منجر به آسیب‌رسانیدن به ریشه و ساقه این گیاهان شدند. بر اساس گزارشی دیگر، اکسید روی در غلظت ۲/۵ پی‌پی‌ام، درصد جوانه‌زنی دانه‌های ذرت، سویا و لوبیا را بالا برد (Adhikari *et al.*, 2015). درحالی‌که برخی محققین نیز تأثیر منفی آن بر روی جوانه‌زنی بذور را گزارش نموده‌اند (Boonyanitipong *et al.*, 2011). بنابراین به‌نظر می‌رسد که درصد جوانه‌زنی نهایی می‌تواند بسته به نوع گیاه و غلظت اکسید روی تغییر نماید. ضمناً با توجه به این‌که بذرهای مورد استفاده در این پژوهش از نوع بدون خواب بوده و میزان آنزیم‌های الکل دهیدروژناز، آلفا-آمیلاز و β-1، ۳ گلوکوناز در دانه‌های بدون خواب پس از جذب آب، افزایش می‌یابد، محتمل است که به‌همین دلیل بر روی درصد جوانه‌زنی

[13] Relative seed germination; RSG

جدول ۱ - تجزیه واریانس اثرات تیمارهای اکسید روی توده‌ای و نانو (بر حسب پی‌پی‌ام) بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌ها در تنباکو

Table 1. Analysis of variance of the effects of bulk and nano ZnO (ppm) treatments on seed germination and growth indices in tobacco seedlings

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	FGP	MGT	T_{50}	CUG	TIFW	HL	RL	RHL	RTI	GTI	TISL	AC
تیمار Treatment	20	2310.4^{ns}	12.55^{**}	9.49^{ns}	0.00044^{**}	1.426^{**}	9.33^{**}	0.327^{**}	2.94^{**}	3.011^{**}	4.387^{**}	1.219^{**}	0.396^{**}
خطای آزمایش Error	42	2166.7	7.53	14.52	0.00011	0.054	0.65	0.016	0.20	0.199	0.269	0.069	0.032
ضریب تغییرات CV (%)	-	11.3	11.4	15.5	22.7	7.6	26.1	6.28	26.1	15.7	17.0	7.5	19.1

^{ns} غیرمعنی‌دار و** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد. شاخص درصد جوانه‌زنی نهایی (FGP)، میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT)، زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (T_{50})، ضریب یکنواختی جوانه‌زنی (CUG)، تحمل وزن‌تر گیاهچه‌ها (TIFW)، طول هیپوکوتیل (HL)، طول ریشه‌چه (RL)، طول هیپوکوتیل نسبی (RHL)، شاخص تحمل ریشه‌چه (RTI)، شاخص تحمل جوانه‌زنی (GTI)، تحمل طول گیاهچه (TISL) و ضریب آلومتری (AC).

^{ns} non-significant and ** significant at 1 percent of probability. Final germination percentage (FGP), mean germination time (MGT), the time to reach 50% germination (T_{50}), coefficient of uniformity of germination (CUG), tolerance index of fresh weight (TIFW), hypocotyl length (HL), root length (RL), relative hypocotyl length (RHL), root tolerance index (RTI), germination tolerance index (GTI), tolerance index of seedling length (TISL) and allometric coefficient (AC).

اثری نداشته است (He *et al.,* 2014; Farashah *et al.,* 2011; Jacobs *et al.,* 1988, Ho and Scandalios *et al*., 1975). از سوی دیگر مسئله روابط آبی بذر با محیط، مسئله مهمی است. در واقع بذرها در محدوده وسیعی از شرایط رطوبت خاک (از ظرفیت مزرعه‌ای تا نقطه پژمردگی) قادر به جوانه‌زنی هستند، با این حال تنش‌های فلزات سنگین قادرند که روابط آبی گیاهان را برهم زده و از این طریق به گیاهان آسیب بزنند (Barcelo and Poschenrieder, 2004). خاصیت مجتمع‌شوندگی در ذرات اکسید روی توده‌ای و نانو که در نانوذرات شدیدتر از توده‌ای بوده، احتمالاً سبب می‌شود که تعداد ذرات موجود در محیط قدری کاهش یابد و رطوبت لازم برای جوانه‌زنی در اختیار بذرها قرار گیرد و شاید بر همین اساس، تغییری در درصد جوانه‌زنی نهایی مشاهده نمی‌گردد. درحالی‌که با گذشت زمان، میزان رطوبت بر رشد گیاهچه و میزان وزن‌تر گیاهچه در حال رشد، تأثیرگذار خواهد شد.

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثرات اکسید روی توده‌ای و نانو (بر حسب پی‌پی‌ام) بر درصد جوانه‌زنی نهایی (FGP)، میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT)، زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (T_{50})، ضریب یکنواختی جوانه‌زنی (CUG) و تحمل وزن‌تر گیاهچه‌ها (TIFW) در تنباکو.

Table 2. Means comparison of bulk and nano ZnO (ppm) effects on final germination percentage (FGP), mean germination time (MGT), the time to reach 50% germination (T_{50}), coefficient of uniformity of germination (CUG) and tolerance index of fresh weight (TIFW) of tobacco.

تیمار (پی‌پی‌ام) Treatment (ppm)	درصد جوانه‌زنی نهایی (درصد) FGP (%)	میانگین زمان جوانه‌زنی (روز) MGT (day)	زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (روز) T_{50} (day)	ضریب یکنواختی جوانه‌زنی (در روز^{۲}) CUG (day $^{-2}$)	تحمل وزن‌تر گیاهچه‌ها (درصد) TIFW (%)
شاهد Control	86.6^{a}	4.45^{cd}	3.31^{a}	0.012^{b-e}	100.0^{d-h}
اکسید روی توده‌ای Bulk ZnO					
0.04	73.3^{a}	5.18^{a-d}	4.18^{a}	0.012^{b-e}	109.1^{d-f}
0.2	83.3^{a}	4.81^{a-d}	3.56^{a}	0.012^{b-e}	146.2^{ab}
2.5	71.7^{a}	5.16^{a-d}	4.44^{a}	0.013^{b-e}	141.0^{a-c}
5	75.0^{a}	5.31^{a-d}	4.18^{a}	0.014^{b-d}	84.2^{gh}
10	66.7^{a}	4.83^{a-d}	4.38^{a}	0.011^{c-e}	104.4^{d-g}
50	73.3^{a}	4.68^{b-d}	3.62^{a}	0.010^{de}	29.5^{j}
100	68.7^{a}	4.87^{a-d}	4.33^{a}	0.010^{de}	90.0^{f-h}
500	81.7^{a}	5.06^{a-d}	3.89^{a}	0.014^{b-d}	98.9^{e-h}
1000	76.7^{a}	5.44^{a-d}	4.22^{a}	0.015^{bc}	93.3^{f-h}
2000	78.3^{a}	5.87^{ab}	4.83^{a}	0.016^{ab}	89.1^{f-h}
نانواکسید روی Nano ZnO					
0.04	68.3^{a}	4.18^{d}	3.54^{a}	0.008^{e}	110.6^{c-f}
0.2	78.3^{a}	5.17^{a-d}	3.94^{a}	0.012^{b-e}	90.2^{f-h}
2.5	66.7^{a}	5.04^{a-d}	4.67^{a}	0.011^{b-e}	166.5^{a}
5	75.0^{a}	4.57^{b-d}	4.05^{a}	0.011^{c-e}	122.7^{b-e}
10	80.0^{a}	5.59^{a-c}	4.38^{a}	0.016^{ab}	127.4^{b-d}
50	81.6^{a}	5.20^{a-d}	3.88^{a}	0.015^{b}	82.6^{gh}
100	80.0^{a}	4.63^{b-d}	3.79^{a}	0.012^{b-e}	90.3^{f-h}
500	71.7^{a}	4.64^{b-d}	3.89^{a}	0.011^{c-e}	80.2^{h}
1000	86.7^{a}	5.99^{a}	4.35^{a}	0.020^{a}	59.9^{i}
2000	70.0^{a}	5.33^{a-d}	4.49^{a}	0.013^{d}	93.1^{f-h}

میانگین‌ها با حروف مشابه، براساس آزمون توکی ($p\leq0.05$)، نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

The means with similar letters show no significant difference based on Tukey's test ($p \leq 0.05$).

نتایج به‌دست آمده از شاخص تحمل وزن تر گیاهچه در جدول ۲ نیز مؤید اختلال در جذب آب گیاه در نمونه‌های تیمارشده با غلظت بالای اکسید روی بود، به‌طوری‌که در کل، وزن تر گیاهچه، تحت تأثیر تیمارهای با غلظت پایین اکسید روی نانو و توده‌ای، افزایش یافت ولی غلظت‌های بالا، آن را کاهش دادند.

کاهش طول هیپوکوتیل و ریشه (نسبت به شاهد)، در غلظت‌های پایین‌تری از نانواکسید، در مقایسه با زمانی که فرم توده‌ای به‌کار برده شده، اتفاق افتاد (جدول ۳). به-

طوری‌که اکسید روی توده‌ای و نانو به‌ترتیب در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ پی‌پی‌ام و ۵۰ پی‌پی‌ام منجر به کاهش طول هیپوکوتیل گردیدند. در رابطه با طول ریشه‌چه نیز تیمارهای اکسید روی توده‌ای از ۰/۲ پی‌پی‌ام و بیش‌تر از آن و نیز کلیه سطوح نانو (یعنی از ۰/۰۴ پی‌پی‌ام به بالا) موجب کاهش طول ریشه‌چه نسبت به شاهد شدند. محققان نشان داده‌اند که فرم‌های مختلف روی (توده‌ای و نانو) در کیفیت و کینتیک انتشار در طول زمان مشابه‌اند، اما سرعت حلالیت آن‌ها و میزان انتقال و جذب آن‌ها به گیاه، با یکدیگر متفاوت است (Dimkpa *et al.,* 2012). همچنین، نانو فلزات دارای خواص فیزیکوشیمیایی ویژه مانند سطح گسترده و کنش‌پذیری بسیار زیادی هستند که این ویژگی‌ها می‌تواند میزان تأثیرگذاری آن‌ها بر گیاه را از ترکیبات غیر نانو متفاوت سازد (Jayarambabu *et al.,* 2014). مقایسه تغییر طول ریشه‌چه در مقایسه با طول ساقه‌چه، نشان می‌دهد که غلظت‌هایی از تیمار اکسید روی که سبب کاهش طول ریشه‌چه می‌شوند (۰/۲ پی‌پی‌ام و بیش‌تر آن)، از غلظت‌هایی که سبب کاهش طول هیپوکوتیل می‌گردند (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام)، پایین‌تر هستند. این مسئله حساسیت بیش‌تر ریشه‌ها در مقایسه با هیپوکوتیل را بر اثر تیمارهای اکسید روی خاطر نشان می‌سازد. بررسی مقدار شاخص تحمل ریشه‌چه و شاخص تحمل جوانه‌زنی (جدول ۳) نشان می‌دهد که این شاخص‌ها بر اثر تیمار گیاهچه‌ها با غلظت‌های ۱۰ پی‌پی‌ام و بیش‌تر اکسید روی توده‌ای و تمام تیمارهای نانو نسبت به گیاهچه‌های شاهد کاهش یافته اما شاخص تحمل هیپوکوتیل صرفاً با مصرف غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام به بالای فرم توده‌ای و ۱۰ پی‌پی‌ام به بالای فرم نانو، کاهش یافت که نشان‌دهنده حساسیت بیش‌تر ریشه‌ها در مقایسه با هیپوکوتیل است. با این‌که جذب برخی از مواد نانو از طریق ریشه هنوز بحث‌انگیز است. تحقیقات اخیر نشان داده که، به‌طورکلی تجمع عنصر روی مانع ذخیره‌سازی آب در واکوئل‌ها می‌شود (Kozhevnikova *et al.,* 2014) و بنابراین بیش‌بود عنصر روی از این طریق قادر است، رشد کل گیاهچه را کاهش دهد. نتایج شاخص تحمل طول گیاهچه (جدول ۳) نیز موید این مسئله است. اما بازدارندگی بیش‌تر رشد طولی ریشه‌ها نسبت به هیپوکوتیل در غلظت‌های پایین، می‌تواند به‌دلیل حساسیت زیاد مریستم راسی ریشه به فلزات سنگین و نیز میزان هورمون اکسین باشد. زیرا در شرایط تنش روی، تعادل مقدار اکسین نیز در گیاه بر هم می‌خورد (Cui and Zhao, 2011).

عنصر روی، در داخل گیاه متحرک نیست. بنابراین اولین نشانه‌های کمبود آن در بخش‌های جوان هوایی گیاه و بالعکس سمیت آن در بخش‌های نزدیک به خاک (بخش‌های مسن) یا در تماس با خاک (ریشه‌ها) مشاهده می‌شود، بنابراین غلظت‌های پایین‌تری که سبب کاهش سریع و شدید طول ریشه‌چه می‌شوند، ممکن است در طول هیپوکوتیل و یا ساقه‌چه به‌میزان معادل و مشابهی سمیت ایجاد نکنند.

ضریب آلومتری که در واقع نسبت طول ریشه‌چه به طول هیپوکوتیل است، در تمامی تیمارهای اعمال‌شده اکسید روی (به‌جز ۰/۰۴ پی‌پی‌ام توده‌ای) در مقایسه با وضعیت شاهد کاهش یافت و بررسی داده‌ها نشان داد که این مورد به علت کاهش شدیدتر طول ریشه‌چه نسبت به هیپوکوتیل بوده است (جدول ۳). نتایج حاصل از طول ریشه و ساقه در این تحقیق، با نتایج مطالعه بر روی گیاهان گندم، برنج و خیار همخوانی دارد. نانواکسید روی در غلظت‌های بیش از ۵۰ پی‌پی‌ام به‌ترتیب در برنج و خیار و ۲۰ پی‌پی‌ام نانواکسید روی به‌مدت ۱۲ روز، در گندم منجر به کاهش اندام هوایی و ریشه گردید (Kumar *et al.,* 2015). در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد که، تیمار گیاه کلزا با غلظت‌های بیش از ۲۵ پی‌پی‌ام اکسید روی توده‌ای و نانو، رشد طولی و وزن ریشه و طول اندام هوایی را کاهش داد (Mousavi Kouhi *et al.,* 2014). درحالی‌که در مطالعه دیگری سمیت نانواکسید روی را در تیمارهای ۷ روزه، در غلظت بالاتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بر طول ریشه‌ها گزارش نمودند (Boonyanitipong *et al*., 2011).

بنابراین به‌نظر می‌رسد که آستانه تحمل و غلظت سمی که می‌تواند سبب کاهش رشد طولی اندام‌ها گردد، ممکن است بسته به نوع فرم فلز سنگین (نانو یا توده‌ای)، نوع اندام (ساقه و یا ریشه) و نیز طول دوره تیمار متغیر باشد. در این تحقیق برخی تغییرات مورفولوژیک نظیر میزان خوابیده‌بودن گیاهچه‌ها و کاهش رنگ لپه‌ها نیز در غلظت‌های بالا اتفاق افتاد (جدول ۴). درصد خوابیده‌بودن گیاهچه‌ها، در تیمار با غلظت‌های ۰/۲ تا ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام اکسید روی توده‌ای و نانو (به‌جز سطح ۵ پی‌پی‌ام نانو) به

طور معنی‌دار ($p<0.05$) نسبت به گیاهچه‌های شاهد افزایش یافت.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اکسید روی توده‌ای و نانو (بر حسب پی‌پی‌ام) بر طول هیپوکوتیل (HL)، طول ریشه‌چه (RL)، طول هیپوکوتیل نسبی (RHL)، شاخص تحمل ریشه‌چه (RTI)، شاخص تحمل جوانه‌زنی (GTI)، تحمل طول گیاهچه (TISL) و ضریب آلومتری (AC) در تنباکو.

Table 3. Means comparison of bulk and nano ZnO (ppm) effects on hypocotyl length (HL), root length (RL) relative hypocotyl length (RHL), root tolerance index (RTI), germination tolerance index (GTI), tolerance index of seedling length (TISL) and allometric coefficient (AC) of tobacco.

تیمار (پی‌پی‌ام) Treatment (ppm)	طول هیپوکوتیل (cm) HL (cm)	طول ریشه (cm) RL (cm)	طول هیپوکوتیل نسبی RHL	شاخص تحمل ریشه‌چه (درصد) RTI (%)	شاخص تحمل جوانه‌زنی (درصد) GTI (%)	تحمل طول گیاهچه (درصد) TISL (%)	ضریب آلومتری AC
شاهدControl	1.78^{a-c}	0.59^{a}	1.00^{a-c}	100.0^{ab}	100.0^{a}	100.0^{a-c}	0.33^{a}
اکسید روی توده‌ایBulk ZnO							
0.04	2.15^{a}	0.60^{a}	1.21^{a}	103.1^{a}	93.1^{ab}	116.2^{a}	0.28^{ab}
0.2	1.89^{ab}	0.44^{bc}	1.06^{a-c}	74.2^{a-c}	71.7^{a-c}	98.2^{a-c}	0.23^{b-e}
2.5	1.89^{ab}	0.41^{b-d}	1.06^{a-c}	69.7^{a-d}	57.3^{b-e}	97.0^{a-c}	0.22^{b-f}
5	1.86^{ab}	0.46^{b}	1.04^{a-c}	77.5^{a-c}	67.2^{a-d}	97.9^{a-c}	0.25^{b-d}
10	1.64^{b-d}	0.30^{d-g}	0.92^{c-f}	50.6^{c-e}	38.6^{ef}	81.9^{b-e}	0.18^{d-g}
50	1.41^{c-e}	0.19^{f-i}	0.79^{e-g}	32.6^{e-g}	27.7^{f-i}	67.5^{d-g}	0.14^{g-j}
100	1.10^{e-g}	0.17^{g-i}	0.62^{g-i}	28.1^{f-h}	21.6^{g-j}	53.4^{g}	0.15^{f-i}
500	1.17^{ef}	0.13^{hi}	0.66^{gh}	22.5^{gh}	21.3^{h-j}	55.1^{g}	0.11^{h-j}
1000	0.81^{fg}	0.11^{i}	0.45^{hi}	18.0^{h}	15.9^{j}	38.5^{h}	0.13^{g-j}
2000	0.75^{g}	0.11^{i}	0.42^{i}	19.1^{h}	17.2^{ij}	36.3^{h}	0.15^{f-j}
نانواکسید روی Nano ZnO							
0.04	1.79^{a-c}	0.27^{e-h}	1.00^{a-d}	46.1^{c-f}	36.1^{e-g}	86.9^{b-d}	0.15^{f-j}
0.2	2.13^{a}	0.35^{b-e}	1.20^{ab}	59.6^{b-d}	53.6^{c-e}	104.9^{ab}	0.17^{e-h}
2.5	1.77^{a-c}	0.33^{c-f}	1.00^{b-e}	59.4^{b-d}	41.4^{d-f}	88.6^{b-d}	0.18^{d-g}
5	1.65^{b-d}	0.29^{d-g}	0.93^{c-f}	62.3^{b-d}	40.7^{d-f}	81.6^{b-e}	0.17^{d-g}
10	1.45^{c-e}	0.37^{b-e}	0.80^{d-g}	62.4^{b-d}	57.1^{b-e}	76.8^{g-f}	0.26^{b-c}
50	1.31^{de}	0.20^{f-i}	0.74^{ef}	33.2^{e-g}	31.3^{f-h}	63.7^{e-g}	0.15^{f-i}
100	1.25^{e}	0.13^{hi}	0.70^{f}	22.5^{gh}	20.4^{h-j}	58.4^{fg}	0.11^{ij}
500	1.28^{de}	0.14^{hi}	0.72^{ef}	23.0^{gh}	19.1^{h-j}	59.8^{fg}	0.11^{h-j}
1000	1.25^{e}	0.24^{e-i}	0.70^{f}	41.0^{d-f}	40.7^{d-f}	62.9^{e-g}	0.19^{c-g}
2000	1.30^{de}	0.12^{i}	0.73^{ef}	20.2^{gh}	16.4^{ij}	59.9^{fg}	0.09^{j}

میانگین‌ها با حروف مشابه، براساس آزمون توکی ($p\leq0.05$)، نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

The means with similar letters show no significant difference based on Tukey's test ($p \leq 0.05$).

رنگ سبز لپه‌ها و حاشیه‌های آن‌ها در گیاهچه‌های تحت تیمار اکسید روی توده‌ای با افزایش غلظت‌های ۲،۵/۵ و ۵۰ تا ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام کم‌رنگ تر شد، به‌طوری‌که در ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام حاشیه‌های لپه‌ها به رنگ زرد درآمد. اما شدیدبودن تغییر رنگ در گیاهچه‌های تحت تیمار نانواکسید روی در غلظت‌های کم‌تر و پایین‌تری اتفاق افتاد. رنگ لپه‌ها و حاشیه‌های آن در غلظت‌های کم و متوسط نانواکسید روی (۵-۰/۰۴ پی‌پی‌ام) سبز تیره و در غلظت بالاتر نانو (۱۰ پی‌پی‌ام) سبز کمرنگ بود، اما رنگ لپه‌ها در غلظت‌های بالا و سمی نانو (۲۰۰۰-۵۰ پی‌پی‌ام) به رنگ سبز کم‌رنگ و حاشیه لپه‌ها به رنگ زرد درآمد.

کاهش بیان ژن‌های دخیل در سنتز کلروفیل که سبب زردی می‌گردد، در شرایط سمیت گزارش شده است (Wang *et al.,* 2016). تیمار با اکسید روی نانو و توده‌ای همچنین می‌تواند منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، کاهش رنگدانه‌های کلروفیلی، تغییر در متابولیسم یون فریک و تغییر در مقدار تنظیم کننده‌های رشد (Dimkpa *et al.,* 2012) گردد و بنابراین کاهش رنگ لپه‌ها و خوابیدگی گیاهچه‌ها در غلظت‌های بالاتر از ۱۰ پی‌پی‌ام، احتمالاً می‌تواند به‌ترتیب، در اثر کاهش کلروفیل و تغییر در مقدار تنظیم‌کننده‌های رشد اتفاق افتاده باشد.

نتیجه‌گیری کلی

داده‌های حاصل از این تحقیق، در مجموع نشان داد که فرم‌های توده‌ای و نانواکسید روی در غلظت‌های ۰/۲ تا ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام بر درصد جوانه‌زنی بذور تنباکو واریته

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات اکسید روی توده‌ای و نانو (بر حسب پی‌پی‌ام) بر صفات درصد ایستاده و خوابیده بودن گیاهچه‌ها، رنگ لپه‌ها و رنگ حاشیه لپه‌ها در بذرهای تنباکو

Table 4. Means comparison of bulk and nano ZnO (ppm) effects on status of seedlings (stand up or asleep percentage), cotyledon color and marginal of cotyledon color characteristics of tobacco seeds

تیمار (پی‌پی‌ام) Treatment (ppm)	ایستاده (درصد) Stand up (%)	خوابیده (درصد) Asleep (%)	رنگ لپه‌ها Cotyledon color	رنگ حاشیه لپه‌ها Marginal of cotyledon color
شاهدControl	100.0[a]	0.0[g]	سبز Green	سبز Green
اکسید روی توده‌ایBulk ZnO				
0.04	100.0[a]	0.0[g]	سبز Green	سبز Green
0.2	74.1[cd]	25.6[ef]	سبز Green	سبز Green
2.5	81.7[bc]	18.3[f]	سبز کم رنگ Pale Green	سبز کم رنگ Pale Green
5	66.9[d]	33.1[e]	سبز کم رنگ Pale Green	سبز کم رنگ Pale Green
10	37.3[g]	62.7[b]	سبز Green	سبز Green
50	4.3[h]	95.7[a]	سبز Green	سبز کم رنگ Pale Green
100	53.4[e]	46.6[d]	سبز Green	سبز کم رنگ Pale Green
500	0.0[h]	100.0[a]	سبز کم رنگ Pale Green	سبز کم رنگ Pale Green
1000	0.0[h]	100.0[a]	سبز کم رنگ Pale Green	سبز کم رنگ Pale Green
2000	0.0[h]	100.0[a]	سبز کم رنگ Pale Green	زرد Yellow
نانواکسید روی Nano ZnO				
0.04	100.0[a]	0.0[g]	سبز پر رنگ Dark Green	سبز پر رنگ Dark Green
0.2	89.7[ab]	10.3[fg]	سبز پر رنگ Dark Green	سبز پر رنگ Dark Green
2.5	42.1[fg]	57.9[bc]	سبز پر رنگ Dark Green	سبز پر رنگ Dark Green
5	100.0[a]	0.0[g]	سبز پر رنگ Dark Green	سبز پر رنگ Dark Green
10	48.0[ef]	52.0[cd]	سبز پر رنگ Dark Green	سبز پر رنگ Dark Green
50	32.9[g]	67.1[b]	سبز پر رنگ Dark Green	زرد Yellow
100	0.0[h]	100.0[a]	سبز پر رنگ Dark Green	زرد Yellow
500	0.0[h]	100.0[a]	سبز پر رنگ Dark Green	زرد Yellow
1000	3.7[h]	93.3[a]	سبز پر رنگ Dark Green	زرد Yellow
2000	0.0[h]	100.0[a]	سبز پر رنگ Dark Green	زرد Yellow

میانگین‌ها با حروف مشابه، براساس آزمون توکی ($p\leq0.05$)، نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

The means with similar letters show no significant difference based on Tukey's test ($p \leq 0.05$)

اصفهان، تأثیر افزایشی نداشته و بر شاخص‌های سرعت جوانه‌زنی نیز تنها در برخی غلظت‌های بالا مؤثر بوده‌اند. بالعکس شاخص‌های رشد نظیر طول هیپوکوتیل و با شدت بیش‌تر، طول ریشه‌چه، تحت تأثیر تیمارهای اکسید روی قرار گرفتند. تأثیرات منفی فرم نانو نسبت به فرم توده‌ای در این موارد در غلظت‌ها و سطوح پایین‌تری آشکار شد. رنگ سبز لپه‌ها در سطوح بالای اکسید روی نیز از بین رفت و گیاهچه‌ها به حالت خوابیده درآمدند. بنابراین تیمارهای اکسید روی با اثر بر روی سرعت جوانه‌زنی، رشد طولی اندام‌ها و رنگدانه‌های گیاه، بقای گیاهچه‌ها را محدود نمودند. به‌طورکلی، داده‌های حاصل از این تحقیق نشان دادند که تأثیرات هر دو فرم بر شاخص‌های رشد بیش از شاخص‌های جوانه‌زنی بوده و در غلظت‌های بالاتر هر دو فرم (غالباً فرم نانو) تأثیرات کاهشی قابل مشاهده بود. با توجه به اهمیت اندام‌های هوایی در گیاه تنباکو، به‌نظر می‌رسد که بهتر است شاخص‌های وزن و طول این اندام‌ها حتماً در ارزیابی‌ها لحاظ گردند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Adhikari, T., Kundu, S. and Rao, A.S. 2015. Zinc delivery to plants through seed coating with nano zinc oxide particles. Journal of Plant Nutrition, 39(1): 136-146. **(Journal)**

Amooaghaie, R., Tabatabaei, F. and Ahadi, A.M. 2015. Role of hematin and sodium nitroprusside in regulating *Brassica nigra* seed germination under nanosilver and silver nitrate stresses. Ecotoxicology and Environmental Safety, 113: 259-270. **(Journal)**

Ashkan, A. and Moemeni, J. 2013. Effect of salinity stress on seed germination and seedling vigour indices of two halophytic plant species (*Agropyron elongatum* and *A. pectiniforme*). International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5: 2669-2676. **(Journal)**

Aslani, F., Bagheri, S., Julkapli, N.M., Juraimi, A.S., Hashemi, F.S. and Baghdadi, A. 2014. Effects of engineered nanomaterials on plants growth. The Scientific World Journal, 10: 1-29. **(Journal)**

Barcelo, J. and Poschenrieder, C. 2004. Structural and ultrastructural changes in heavy metal exposed plants. In: Prasad MNV (eds) Heavy metal stress in plants, 3rd. Springer, Berlin, 223–248. **(Book)**

Boonyanitipong, P., Kositsup, B., Kumar, P., Baruah, S. and Dutta, J. 2011. Toxicity of ZnO and TiO_2 nanoparticles on germinating rice seed *Oryza sativa* L. International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics, 1(4): 282-285. **(Journal)**

Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P., Zelko, I. and Lux, A. 2007. Zinc in plants. New Phytologist, 173(4): 677-702. **(Journal)**

Cui, Y. and Zhao, N. 2011. Oxidative stress and change in plant metabolism of maize (*Zea mays* L.) growing in contaminated soil with elemental sulfur and toxic effect of zinc. Plant, Soil and Environment, 57(1): 34-39. **(Journal)**

Dezfuli, P.M., Sharif-zadeh, F. and Janmohammadi, M. 2008. Influence of priming techniques on seed germination behavior of maize inbred lines (*Zea mays* L.). ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 3(3): 22-25. **(Journal)**

Dimkpa, C.O., McLean, J.E., Latta, D.E., Manangón, 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(9): 1-15. **(Journal)**

Farashah, H.D., Afshari, R.T., Sharifzadeh, F. and Chavoshinasab, S. 2011. Germination improvement and [alpha]-amylase and [Beta]-1, 3-glucanase activity in dormant and non-dormant seeds of oregano (*Origanum vulgare*). Australian Journal of Crop Science, 5: 421. **(Journal)**

Ghazi zadeh Ehsaii, M., Riahi Madvar, A., Rezvani Nejad, A., Jadid Bonyad, F. and Hami Zoafa, N. 2013. Study of ZnO Nano forms in compare to bulk form on morphological indices of *Lepidium draba.* 1st proceeding of Noano Technology, Benefits and Aplications. 15th Esfand, Hamadan, Iran. (In Persian)**(Conference)**

Han, Y., Hwang, G., Kim, D., Bradford, S.A., Lee, B., Eom, I., Kim, P.J., Choi, S.Q. and Kim, H. 2016. Transport, retention, and long-term release behavior of ZnO nanoparticle aggregates in saturated quartz sand: Role of solution pH and biofilm coating. Water Research, 90: 247-257. **(Journal)**

He, J., Ren, Y., Chen, X. and Chen, H. 2014. Protective roles of nitric oxide on seed and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. Ecotoxicology and Environmental Safety, 108: 114-119. **(Journal)**

He, D., Zhang, H. and Yang, P. 2014. The Mitochondrion-located protein $OsB_{12}D_1$ enhances flooding tolerance during seed germination and early seedling growth in Rice. International Journal of Molecular Sciences, 15: 13461-13481. **(Journal)**

Ho, D.T.H. and Scandalios, J.G. 1975. Regulation of alcohol dehydrogenases in maize scutellum during germination. Plant Physiology. 56: 56-59. **(Journal)**

Huang, B. 2006. Plant-Environment Interactions. CRC Press, P. 388. **(Book)**

Jacobs, M., Dolferus, R. and Van Den Bossche, D. 1988. Isolation and biochemical analysis of ethyl methanesulfonate-induced alcohol dehydrogenase null mutants of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Biochemical Genetics, 26: 105-122. **(Journal)**

Jayarambabu, N., Kumari, B.S., Rao, K.V. and Prabhu, Y. 2014 Germination and growth characteristics of nungbean seeds (*Vigna radiata* L.) affected by synthesized zinc oxide

vanoparticles. International Journal of Current Engineering and Technology, 4: 3411-3416. **(Journal)**

Kozhevnikova, A.D., Erlikh, N.T., Zhukovskaya, N.V., Obroucheva, N.V., Ivanov, V.B. and Belinskaya, A.A. 2014. Nickel and zinc effects, accumulation and distribution in ruderal plants *Lepidium ruderale* and *Capsella bursa-pastoris*. Acta Physiologiae Plantarum, 36(12): 3291-3305. **(Journal)**

Kubala, S., Wojtyla, L., Quinet, M., Lechowska, K., Lutts, S. and Garnczarska, M. 2015. Enhanced expression of the proline synthesis gene P5CSA in relation to seed osmopriming improvement of *Brassica napus* germination under salinity stress. Journal of Plant Physiology, 183: 1-12. **(Journal)**

Kumar, S., Patra, A.K., Datta, S.C., Rosin, K.G. and Purakayastha, T.J. 2015. Phytotoxicity of nanoparticles to seed germination of plants. International Journal of Advanced Research, 3(3): 854-865. **(Journal)**

Lin, D. and Xing, B. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root Growth. Environmental Pollution, 150(2): 243-250. **(Journal)**

López-Moreno, M.L., Botez, C.E., De La Rosa, C., Hernández-Viezcas, J.A., Castillo-Michel, H., Peralta-Videa, J.R. and Gardea-Torresdey, J.L. 2010. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO_2 nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. Environmental Science and Technology, 44(19): 7315–7320. **(Journal)**

Moezzi, A., McDonagh, A.M. and Cortie, M.B. 2012. Zinc oxide particles: Synthesis, properties and applications. Chemical Engineering Journal, 185: 1-22. **(Journal)**

Monica, R.C. and Cremonini, R. 2009. Nanoparticles and higher plants. Caryologia, 62(2): 161-165. **(Journal)**

Mousavi Kouhi, S.M., Lahoutia, M., Ganjealia, A. and Entezarib, M.H. 2014. Comparative phytotoxicity of ZnO nanoparticles, ZnO microparticles, and Zn^{2+} on rapeseed *Brassica napus* L: investigating a wide range of concentrations. Toxicological and Environmental Chemistry, 861-868. **(Journal)**

Mut, Z. and Akay, H. 2010. Effect of seed size and drought stress on germination and seedling growth of naked oat (*Avena sativa* L.). Bulgarian Journal of Agricultural Science, 16: 459-467. **(Journal)**

Patra, P., Choudhury, S.R., Mandal, S., Basu, A., Goswami, A., Gogoi, R., Srivastava, C. and Kumar, R. 2013. Effect sulfur and ZnO nanoparticles on stress physiology and plant (*Vigna radiata*) nutrition. Advanced Nanomaterials and Nanotechnology, 143: 301-309. **(Journal)**

Prasad, T.N.V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja Reddy, K., Sreeprasad, T.S., Sajanlal, P.R. and Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. Journal of Plant Nutrition, 35(6): 905-927. **(Journal)**

Rao, N.K., Hanson, J., Dulloo, M.E., Ghosh, K. and Nowell, A. 2006. Manual of seed handling in genebanks. Vol 8. Bioversity International. **(Book)**

Raskar, S. and Laware, S. 2014. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3 (2): 467-473. **(Journal)**

Rossato, L., Mac Farlane, J., Whittaker, M., Pudmenzky, A., Doley, D., Schmidt, S. and Monteiro, M. 2011. Metal-binding particles alleviate lead and zinc toxicity during seed germination of metallophyte grass *Astrebla lappacea*. Journal of Hazardous Materials, 190(1): 772-779. **(Journal)**

Wang, Y., Wang, Y., Kai, W., Zhao, B., Chen, P., Sun, L., Ji, K., Li, Q., Dai, S. and Sun, Y. 2014. Transcriptional regulation of abscisic acid signal core components during cucumber seed germination and under Cu^{2+}, Zn^{2+}, NaCl and simulated acid rain stresses. Plant Physiology and Biochemistry, 76: 67-76. **(Journal)**

Wang, X., Yang, X., Chen, S., Li, Q., Wang, W.X., Wang, L. and Wang, S. 2016. Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in *Arabidopsis*. Frontiers in Plant Science, 6: 1-9. **(Journal)**

Effect of bulk and nano zinc oxide on seed germination and growth indices in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seedlings

Maryam Mazaheri Tirani[1], Maryam Madadkar Haghjou[2]*, Ahmad Ismaili [3]

Received: September 21, 2016 Accepted: December 11, 2016

Abstract

The applications of bulk and nano zinc oxides have been increased recently, which can cause widespread plant's environment contaminations. This study investigated the effects of commercial bulk ZnO (<1,000 nm) and nano ZnO (25 nm) on *Nicotiana tabacum*. Seeds were treated with ten concentrations of two forms (bulk and nano) ZnO (0.04, 0.2, 2.5, 5, 10, 50, 100, 500, 1000 and 2000 ppm) and dionized water used as control, at three replications. Number of germinated seeds was counted until 14th days. Some quantify and quality traits were investigated on 21th day. The results showed that both forms had no positive effect on final germination percentage (FGP) and time to reach 50% germination (T_{50}%) but mean of germination time (MGT) and coefficient of uniformity of germination (CUG) were increased, especially by high concentrations of nano-form. Nano-ZnO (50 ppm and upper) and the bulk ZnO treatments (100 ppm and upper) decreased the length of hypocotyl, but inhibitory effects on radical length appeared at the lower levels of bulk form (0.2 ppm and upper) and all nano-ZnO levels. Most of treatments, especially at high concentrations, showed a negative effect on the tolerance indices such as relative hypocotyl length, root tolerance, germination tolerance, and allometric coefficient.These inhibitory effects were happened in the lower levels of nano-form compared to bulk-form. Pallid cotyledon's color and asleep seedlings, which were observed at upper than 100 ppm, could be due to decreased chlorophyll and some changes in the amount of growth regulators.

Key words: Heavy metal; Nano ZnO; *Nicotiana tabacum*; Seed germination; Seedlings surviva

How to cite this article

Mazaheri Tirani, M., Madadkar Haghjou, M. and Ismaili, A. 2019. Effect of bulk and nano zinc oxide on seed germination and growth indices in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seedlings. Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(3): 369-380. (In Persian)(**Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2019.3834

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Ph.D Student of Plant Physiology, College of Basic Sciences, University of Lorestan, Khorramabad, Iran
2. Assistant Professor of Plant Physiology, College of Basic Sciences, University of Lorestan, Khorramabad, Iran
3. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, University of Lorestan, Khorramabad, Iran

*Corresponding author: madadkar.m@lu.ac.ir