

## مقاله پژوهشی

بررسی رشد اولیه گیاهچه سویا (*Glycine max*) در پاسخ به غلظت‌های مختلف ترکیبات مس در گیاه مادرینفیسه شیبانی<sup>۱</sup>، سینا فلاح<sup>۲\*</sup>، حسین بارانی بیرانوند<sup>۳</sup>، عالیه صالحی<sup>۴</sup>

چکیده مبسوط

مقدمه: استفاده از فناوری نانو در بسیاری از زمینه‌ها از جمله علوم کشاورزی رو به افزایش است و به موازات آن، رهاسازی این ذرات در محیط زیست نیز اجتناب ناپذیر است که ممکن است اثرات نامطلوبی بر گیاهان داشته باشد؛ بنابراین درک اثرات متقابل بین نانوذرات و گیاهان زراعی به عنوان جز اساسی همه اکوسیستم‌های کشاورزی اهمیت زیادی دارد. در این ارتباط، با کشت سویا در خاک دارای نانوذرات اکسید مس، مطالعه‌ای در مورد اثرات نانوذرات بر پتانسیل جوانه‌زنی و رشد اولیه بذرهای نسل دوم انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: به‌منظور ارزیابی اثرات تغذیه گیاه مادری سویا با ترکیبات مس بر گیاهچه‌های حاصل از آن، دو آزمایش فاکتوریل (در محیط ژرمیناتور و گلدان) در قالب طرح کاملاً تصادفی در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۹ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی در گیاه مادری شامل ترکیبات مختلف مس (نانوذرات اکسید مس با اندازه‌های ۲۵، ۵۰ نانومتر و کلرید مس) و پنج غلظت ترکیبات مس (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بودند که بذر حاصل از این تیمارها در شرایط کنترل شده و گلدان مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: افزایش غلظت کلرید مس و نانوآکسید مس (۲۵ نانومتر) در گیاهان مادری به ترتیب باعث کاهش درصد جوانه‌زنی (۲۵ و ۷۸ درصد)، طول ریشه‌چه (۵۶ و ۸۲ درصد)، وزن ریشه‌چه (۳۵ و ۸۱ درصد)، طول ساقه‌چه (۱۹ و ۷۱ درصد)، وزن ساقه‌چه (۳۲ و ۷۳ درصد) و شاخص بنیه گیاهچه (۴۹ و ۹۴ درصد) بذرهای تولید شده گردید. ارزیابی گیاهچه‌های حاصل از سویای تغذیه شده با ترکیبات مختلف مس نیز نشان داد که در شرایط تغذیه با کلرید مس و نانوآکسید مس در مقایسه با شاهد به ترتیب کاهش معنی‌داری در محتوای کلروفیل *a* (۱۰ و ۷۴ درصد)، کلروفیل *b* (۳۸ و ۴۹ درصد)، کاروتنوئیدها (۱۳۶ و ۱۴۵ درصد)، طول ریشه (۲۷ و ۶۱ درصد)، ارتفاع گیاهچه (۳۱ و ۵۸ درصد)، سطح برگ (۴۴ و ۶۴ درصد) و وزن شاخساره (۳۴ و ۶۴ درصد) مشاهده شد. نتیجه‌گیری: به‌طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که سمیت ترکیبات مس موجود در ریزوسفر گیاه مادری برای بذرهای تولید شده با میزان غلظت رابطه مستقیم دارد؛ بنابراین در شرایط تغذیه گیاه مادری با نانو اکسید مس اثرات سمیت تشدید می‌شود و بذرهای تولید شده در این شرایط بنیه بذر ضعیفی دارند.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی، رنگدانه‌های فتوسنتزی، سمیت، گیاه مادری، نانوذرات

## جنبه‌های نوآوری:

۱- تغذیه گیاه مادری سویا با نانوذرات اکسید مس رشد گیاهچه بذرهای تولید شده را کاهش می‌دهد.

۲- کاهش اندازه نانوذرات اکسید مس اثر سمیت بیشتری بر جوانه‌زنی بذرهای تولید شده دارد.

۳- اثرات سمیت نانوآکسید مس تا مرحله گیاهچه‌ای تداوم دارد.

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت، دانشگاه شهرکرد  
<sup>۲</sup> استاد گروه زراعت، دانشگاه شهرکرد  
<sup>۳</sup> استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد  
<sup>۴</sup> پژوهشگر گروه ارگانیک، دانشگاه بوکو



## مقدمه

نانو ذرات موادی طبیعی و مصنوعی به اندازه  $> 100$  نانومتر هستند (دو<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۱۹) که با توجه به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن‌ها در کشاورزی، مواد آرایشی، مواد شیمیایی، مواد غذایی، مواد افزودنی، سوخت، انرژی، نساجی، رنگ، مواد دارویی و پلاستیکی و الکترونیکی کاربرد گسترده‌ای دارند (راجپوت<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۱۹).

مس در آرایش پروتئین‌ها و متالوآنزیم‌های مورد نیاز برای انجام فعالیت‌های متابولیکی نقش دارد و به دلیل هدایت الکتریکی فوق العاده و رفتار کاتالیزوری خوب توجه پژوهشگران را برای کاربرد آن به عنوان یک جزء ضروری در نانوذرات جلب کرده است (چاندرا<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۱۴). نانوذرات اکسید مس دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی است که به طور فزاینده‌ای در محصولات مصرفی مانند محلول‌ها و اسپری‌های تمیزکننده مورد استفاده قرار می‌گیرد. از اینرو ممکن است تولید، استفاده و دفع بیش از حد نانوذرات اکسید مس منجر به انتشار آنها در هوا، آب و خاک می‌شود (شارما<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۱۹).

مطالعات مختلفی در ارتباط با تأثیر نانو اکسید مس بر جوانه‌زنی بذر انجام شده است. به عنوان مثال، قرار گرفتن سویا در معرض ۵۰۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات اکسید مس به طور قابل توجهی باعث کاهش رشد و مقدار کلروفیل کل گردید. در حالی که طول ریشه و وزن تر در تمامی غلظت‌های نانوذرات اکسید مس (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) کاهش یافت (نیر<sup>۵</sup> و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین نانوذرات اکسید مس در غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر در نخود (*Cicer arietinum*) توسعه ریشه را محدود کرده و حالت نکروزه در ریشه ایجاد کرد (آدهیکاری<sup>۶</sup> و همکاران، ۲۰۱۲). لئو و لال<sup>۷</sup> (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که در کاهو غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۴ و ۰/۰۸

میلی گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس با ابعاد ۵-۱۵ نانومتر موجب کاهش جوانه‌زنی بذر و طول ریشه می‌شود.

نانوذرات اکسید مس در ایجاد اختلال در بیوسنتز کلروفیل و فتوسنتز بسیار قدرتمند هستند (راجپوت و همکاران، ۲۰۱۸). اگرچه تولید کلروفیل در گیاه گشنیز تحت تأثیر این ذرات قرار نگرفت (زورزا منا<sup>۸</sup> و همکاران، ۲۰۱۶)، اما در ماش کاهش کلروفیل در ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات اکسید مس شروع شد ولی مقدار کاروتنوئیدها بدون تغییر باقی ماند (نیر و چانگ<sup>۹</sup>، ۲۰۱۴) و در سویا نیز مقدار کاروتنوئیدها در ۴۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات اکسید مس کاهش یافت، اما کلروفیل در ۴۰۰ میلی گرم در لیتر شروع به کاهش کرد علاوه بر این قرار گرفتن در معرض نانو ذرات مس منجر به کاهش رشد اندام هوایی و وزن گیاه سویا شد (نیر و چانگ، ۲۰۱۴). در مطالعه دیگری نانوذرات اکسید مس در غلظت ۰/۵ تا ۱/۵ میلی گرم بر لیتر در گیاه جو تغییری در حداکثر عملکرد کوانتوم فتوسیستم ۲ ایجاد نکرد، اما کارایی فتوسنتز را کاهش داد (شاو<sup>۱۰</sup> و همکاران، ۲۰۱۴). مشاهده شده است که نانوذرات اکسید مس می‌توانند توسط گیاهان از خاک جذب شوند و باعث ایجاد طیف وسیعی از تغییرات فیزیولوژیکی مانند کاهش بیوسنتز کلروفیل و فتوسنتز، افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال، واکنش پذیری آسیب غشایی و تنش اکسیداتیو شوند. در این ارتباط اثرات سمیت گیاهی نانو اکسید مس به صورت مهار جوانه‌زنی، کاهش رشد گیاه و ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان مختلف گزارش شده است (شارما و همکاران، ۲۰۱۹).

بطور کلی گیاهان زراعی نه تنها ممکن است بصورت مستقیم نانوکودها را دریافت کنند بلکه در معرض نانوذرات رها شده از منابع مختلف نیز قرار می‌گیرند. از طرفی، این تأثیرپذیری صرفاً به دوره زندگی گیاه مادری ختم نمی‌شود و ممکن است به نسل بعدی نیز منتقل شود؛ بنابراین در این آزمایش اثرات نانوذرات اکسید مس روی بذره‌های حاصل از گیاه سویا رشد کرده در خاک دارای این نانوذرات مورد بررسی قرار گرفت.

<sup>1</sup> Du<sup>2</sup> Rajput<sup>3</sup> Chandra<sup>4</sup> Sharma<sup>5</sup> Nair<sup>6</sup> Adhikari<sup>7</sup> Liu and Lal<sup>8</sup> Zuverza-Mena<sup>9</sup> Nair and Chung<sup>10</sup> Shaw

**مواد و روش‌ها**

یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در محیط ژرمیناتور و آزمایش دیگر نیز بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در گلدان اجرا گردید. در هر دو آزمایش، پتانسیل جوانه‌زنی و رشد اولیه بذرهای حاصل از گیاه سویا تغذیه شده با سه نوع ترکیب مس (نانوذرات اکسید مس ۲۵ نانومتر، نانوذرات اکسید مس ۵۰ نانومتر، کلرید مس) و پنج غلظت مختلف (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک؛ به ترتیب معادل صفر، ۳۹/۹، ۷۹/۹، ۱۵۹/۸ و ۳۹۹/۴ میلی‌گرم مس بر کیلوگرم خاک) مورد مقایسه قرار گرفتند. از غلظت‌های متناظر کلرید مس ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) به عنوان ترکیب یونی (تیمارهای شاهد) در این آزمایش استفاده شد.

**روش اجرای آزمایش جوانه‌زنی**

به منظور بررسی پارامترهای جوانه‌زنی بذرهای حاصل از گیاهان سویای رشد یافته در خاک دارای نانوآکسید مس و همچنین تیمارهای شاهد، ابتدا بذر با آب مقطر چندین بار شستشو داده شد و در هر واحد آزمایش (پتری) تعداد ۲۵ بذر روی کاغذ صافی واتمن موجود در پتری با قطر ۱۰ سانتی‌متر مربع قرار داده شد. سپس روی بذر با یک لایه کاغذ صافی قرار گرفت و هر پتری ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد به طوری که بذر با کاغذ صافی به طور کامل خیس‌مانده شد. جهت جلوگیری از تبخیر آب موجود در پتری‌ها، دور هر پتری چند لایه پارافیلیم کشیده شد و پتری‌ها در شرایط تاریکی در ژرمیناتور قرار داده شد و بذرهای جوانه زده هر ۲۴ ساعت به مدت ۷ روز ثبت گردید.

**روش اجرای آزمایش گلدانی**

ابتدا خاک مورد نیاز از لایه سطحی خاک مزرعه با بافت لوم رسی جمع‌آوری شد و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. برای ضدعفونی، خاک تهیه شده بین دو لایه پلاستیک شفاف در معرض نور خورشید به مدت ۱۰ روز قرار داده شد. سپس گلدان‌هایی با قطر و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر تهیه و جهت زهکشی و سهولت در تهویه کف هر گلدان سوراخ و با ۱۰۰ گرم سنگریزه ضدعفونی

شده پوشش داده شد. سپس هر گلدان با یک کیلوگرم خاک پر شد.

بذرهای حاصل از گیاهان رشد یافته در خاک دارای نانوذرات اکسید مس و تیمارهای شاهد با آب مقطر شستشو داده شدند و برای تسهیل در سبز شدن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خیس‌مانده شدند. در تاریخ ۱۴ تیر ۱۳۹۹ در هر گلدان یک بذر در عمق ۲/۵ سانتی‌متر خاک کشت گردید و بلافاصله پس از کاشت آبیاری شد. آبیاری‌های بعدی با توجه به نیاز آبی و شرایط محیطی انجام شد و تا پایان آزمایش مراقبت‌های لازم انجام گرفت. میانگین دما طی دوره رشد ۲۳ درجه سلسیوس بود. یک ماه پس از کاشت (مرحله شش برگی) (۱۴ مرداد) گیاهچه‌ها از سطح خاک گلدان قطع و بلافاصله ریشه‌شویی انجام شد.

**اندازه‌گیری پارامترهای جوانه‌زنی****درصد جوانه‌زنی**

پس از پایان جوانه‌زنی (روز هفتم) تعداد بذرهای جوانه زده شمارش و ثبت گردید و درصد جوانه‌زنی از طریق رابطه ۱ محاسبه شد (ایکیک<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۱۲).

$$\text{GP} = \left( \frac{n}{N} \right) \times 100 \quad \text{رابطه ۱:}$$

n: تعداد بذرهای جوانه‌زده، N: تعداد کل بذر

**طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه**

پس از پایان دوره جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با خط‌کش ۲۰۰ میلی‌متری اندازه‌گیری شد و میانگین طول پنج گیاهچه بر حسب میلی‌متر گزارش گردید.

**وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه**

پس از اندازه‌گیری طول گیاهچه، ریشه‌چه و ساقه‌چه از یکدیگر جداسازی شد و به‌صورت جداگانه درون پاکت کاغذی قرار داده شدند سپس در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت درون آون قرار داده شد. پس از خشک شدن گیاهچه، وزن آن‌ها بوسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد و میانگین وزن پنج گیاهچه بر حسب میلی‌گرم گزارش گردید.

<sup>1</sup> Ikić

### شاخص بنیه بذر

پس از محاسبه درصد جوانه‌زنی و اندازه‌گیری طول گیاهچه، شاخص بنیه بذر از رابطه ۲ محاسبه گردید (کلسا و آبیبی<sup>۱</sup>، ۲۰۱۲).

$$\text{رابطه ۲: } SV = GP(\%) \times SL(\text{cm})$$

SV: شاخص طولی بنیه بذر، SL: طول گیاهچه

### سطح برگ

پس از قطع گیاهچه و انتقال بوته‌ها به آزمایشگاه، برگ‌های هر بوته جدا گردید و با استفاده از کاغذ شطرنجی میانگین سطح برگ پنج برگ گیاه گزارش شد.

### طول ریشه

بلافاصله پس از قطع شاخساره، با انجام ریشه‌شویی خاک گلدان از ریشه‌ها جدا شد و سپس ریشه‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند و با آب مقطر شسته شدند و با استفاده از خط‌کش طول آن‌ها اندازه‌گیری شد.

### اندازه‌گیری پارامترهای آزمایش گلدانی

#### رنگدانه‌های فتوسنتزی

جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل *a* کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها از روش لیچنتالر و بشمن<sup>۲</sup> (۲۰۰۱) استفاده شد. طبق این روش ۰/۵ گرم برگ تازه در هاون چینی دارای ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به هم زده شد. محتویات حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و این کار تا برگ بی‌رنگ شود ادامه پیدا کرد. عصاره به‌دست آمده با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه (rpm) به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محتویات هر لوله آزمایش با استون ۸۰ درصد به حجم ۱۵ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس میزان جذب نوری هر عصاره‌ای توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل PD-3038) در طول موج‌های ۶۶۱/۶، ۶۴۴/۸ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. جهت محاسبه غلظت کلروفیل (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) از روابط ۳ تا ۵ استفاده شد.

رابطه ۳:

$$\text{Chlorophyll-}a \text{ (mg/mL)} = 12.5 \times A_{661.6} - 2.79 \times A_{644.8}$$

رابطه ۴:

$$\text{Chlorophyll-}b \text{ (mg/mL)} = 21.51 \times A_{644.8} - 5.1 \times A_{661.6}$$

رابطه ۵:

$$\text{Carotenoids (mg/mL)} = [(1000 (A_{470}) - 1.82 (\text{Chl.}a) - 85.02 (\text{Chl.}b))] / 198 \text{ (6)}$$

A = میزان جذب نور توسط عصاره در طول موج‌های مربوطه

#### ارتفاع بوته

قبل از قطع بوته‌ها، ارتفاع آن‌ها از سطح خاک گلدان با خط‌کش اندازه‌گیری شد و به عنوان ارتفاع بوته گزارش گردید.

### وزن خشک ریشه و شاخساره

بخش‌های گیاه بر اساس نوع بافت (ریشه، ساقه و برگ) جداسازی شد و درون پاکت کاغذی قرار داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سلسیوس درون آون قرار گرفتند. پس از سپری شدن مدت زمان مورد نظر وزن خشک اندام مختلف بوسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ توزین شد.

### آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری برای هر دو آزمایش برای داده‌های مربوط به پارامترهای مورد ارزیابی در قالب طرح کامل تصادفی به صورت فاکتوریل به وسیله نرم افزار SAS (ver 9.1) انجام گرفت. مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی توسط نرم افزار توسط MSTAT\_C انجام شد. میانگین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD انجام شد.

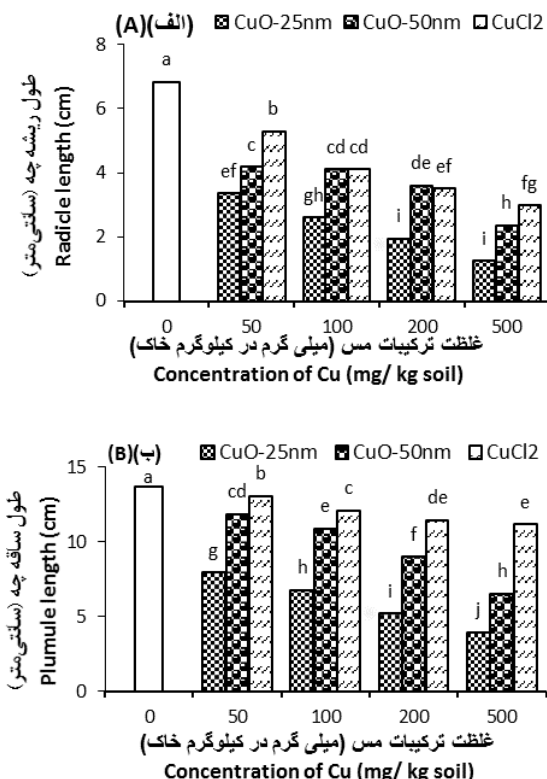
### نتایج و بحث

#### درصد جوانه‌زنی

نوع ترکیب مس، غلظت ترکیب و اثر متقابل آن‌ها بر درصد جوانه‌زنی بذرهای نسل دوم معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ). افزایش غلظت کلرید مس در گیاه مادری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی سویا در مقایسه با شاهد شد. میزان کاهش درصد جوانه‌زنی در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به شاهد به ترتیب ۶/۷، ۱۰/۱۶، ۱۶/۹ و ۲۵/۴۲ درصد بود. گیاهان در معرض نانو اکسید مس کاهش جوانه‌زنی بیشتری در

<sup>1</sup> Kalsa and Abebie

<sup>2</sup> Lichtenthaler and Buschman



شکل ۲. اثر تغذیه گیاه مادری با ترکیبات مختلف مس بر طول ریشه‌چه (الف) و طول ساقه‌چه (ب) نسل دوم سویا. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

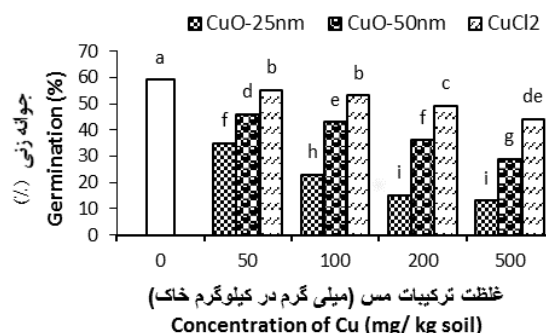
**Fig. 2.** Effect of maternal plant nourishment with different concentrations of copper compounds on radicle length (A), plumule length (B) of F2 soybean. Means with similar letters do not have a statistically significant difference based on LSD test at the level of 5%.

### طول ریشه‌چه

طول ریشه‌چه تحت تأثیر نوع و غلظت ترکیب مس و اثر متقابل آنها قرار گرفت ( $p < 0.01$ ). در شکل ۲.A مشاهده می‌شود که افزایش غلظت کلرید مس باعث کاهش طول ریشه‌چه ۱/۵۵ تا ۳/۸۵ سانتی‌متر طول ریشه‌چه در مقایسه با شاهد شد. گیاهان در معرض نانو اکسید مس ریشه‌چه کوتاه‌تری در مقایسه با کلرید مس داشتند. طول ریشه‌چه تیمار ۲۵ نانومتر در مقایسه با نانو اکسید ۵۰ نانومتر و کلرید مس کمتر بود و افزایش غلظت این نانوذره در گیاه مادری طول ریشه‌چه را ۳/۴۷ تا ۵۷/۵ سانتی‌متر در مقایسه با شاهد کاهش داد (شکل ۲.A).

مقایسه با کلرید مس نشان دادند و کمترین میزان جوانه‌زنی در نانو اکسید مس ۲۵ نانومتر در مقایسه با نانو اکسید ۵۰ نانومتر و کلرید مس مشاهده شد که درصد جوانه‌زنی آن با افزایش میزان غلظت نانو اکسید مس در گیاه مادری به ترتیب ۴۰/۷، ۶۱، ۷۴/۶ و ۷۸ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت (شکل A).

اگرچه عنصر مس برای رشد و نمو گیاهان مس از جمله جوانه‌زنی ضروری است. ولی غلظت‌های بالای آن باعث بازدارندگی رشد گیاه می‌شود (یوسف‌زایی<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۱۵). یوسفی<sup>۲</sup> (۲۰۲۰) دریافت که تجمع نانوذره مس در بذر سویا در اندازه ۲۵ نانومتر در مقایسه با اندازه ۵۰ نانومتر و کلرید مس بیشتر بود و مس تجمع یافته سبب کاهش جذب آب و مواد غذایی و در نتیجه مهار جوانه‌زنی و حتی مرگ سلول می‌گردد (یوسف‌زایی و همکاران، ۲۰۱۵). شاو و حسین<sup>۳</sup> (۲۰۱۳) نیز دریافتند که نانو اکسید مس باعث کاهش قابل توجهی در جوانه‌زنی برنج (*Oryza sativa*) شد و نسبت به گیاه شاهد ۱۳ درصد کاهش جوانه‌زنی را مشاهده کردند.



شکل ۱. اثر تغذیه گیاه مادری با ترکیبات مختلف مس بر درصد جوانه‌زنی نسل دوم سویا. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

**Fig. 1.** Effect of maternal plant nourishment with different concentrations of copper compounds on germination percentage of F2 soybean. Means with similar letters do not have a statistically significant difference based on LSD test at the level of 5%.

<sup>1</sup> Yousefzaei

<sup>2</sup> Yousefi

<sup>3</sup> Shaw and Hossain

### طول ساقه‌چه

اثر نوع ترکیب مس، غلظت ترکیب و اثر متقابل آنها بر طول ساقه‌چه سویا معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ). افزایش غلظت کلرید مس در گیاه مادری طول ساقه‌چه را کاهش داد. همانند طول ریشه‌چه، گیاهان مادری در معرض نانو اکسید مس ساقه‌چه کوتاه‌تری در مقایسه با کلرید مس داشتند اثرات کاهندگی نانو اکسید مس ۲۵ نانومتر بیشتر از نانو اکسید مس ۵۰ نانومتر بود (شکل ۲.B).

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه از صفات مهم استقرار اولیه گیاهچه محسوب می‌شوند که تحت تأثیر غلظت‌های بالای مس کاهش می‌یابد (پارسا<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۱۵). یوسفی (۲۰۲۰) نیز نشان داد که تجمع مس در بذر سویا تحت تیمار نانو اکسید مس ۲۵ نانمتری در مقایسه با نانو اکسید مس ۵۰ نانومتری و یون مس شیب بیشتری داشت. علاوه بر این وزن دانه سویا با غلظت مس رابطه معکوسی داشت؛ بنابراین کاهش اندازه بذر می‌تواند دلیل کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه باشد (لطیفی‌فر<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۷). شاهی و همکاران (۲۰۱۵) نیز دریافتند که میزان نیتروژن در گیاه مادری تأثیر مثبتی بر طول گیاهچه دارد. از آنجا که با افزایش میزان غلظت کلرید مس و نانوذرات مس میزان تجمع نیتروژن در گیاه سویا کاهش یافت (یوسفی، ۲۰۲۰) لذا کاهش رشد طولی گیاهچه قابل انتظار است. نیر و چانگ (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که نانوذرات مس بر روی ریشه و ساقه اثر گذاشته و سبب کاهش طول ریشه و ساقه نخود (*Cicer arietinum* L.) شدند. همچنین هونگ<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که یونجه (*Medicago sativa*) تحت تأثیر سمیت نانوذرات مس قرار گرفت و سبب کاهش طول ریشه در سویا شد.

### وزن ریشه‌چه

وزن ریشه‌چه سویا تحت تأثیر نوع و غلظت ترکیب مس و اثر متقابل آنها قرار گرفت ( $p < 0.01$ ). همانطور که در شکل ۳.A مشاهده می‌شود افزایش به موازات غلظت کلرید مس در گیاه مادری وزن ریشه‌چه نیز

کاهش یافت. نانو اکسید مس وزن ریشه‌چه را در مقایسه با کلرید مس کاهش داد. وزن ریشه‌چه گیاهان تغذیه شده با نانو اکسید مس ۲۵ نانومتر با افزایش میزان غلظت این نانوذره در گیاه مادری به ترتیب به ترتیب ۷، ۸/۵، ۱۰ و ۱۰/۵ میلی‌گرم در مقایسه با شاهد کاهش یافت.

### وزن ساقه‌چه

اثر معنی‌داری برای نوع و غلظت ترکیب مس و اثر متقابل آن‌ها بر وزن ساقه‌چه سویا مشاهده شد ( $p < 0.01$ ). کلرید مس در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ساقه‌چه را به ترتیب ۵/۰، ۲/۵، ۴ و ۵/۵ میلی‌گرم نسبت به شاهد کاهش داد (شکل ۳.B). وزن ساقه‌چه گیاهان تغذیه شده با نانو اکسید مس ۲۵ نانومتری در مقایسه با نانو اکسید مس ۵۰ نانومتری و کلرید مس بسیار کمتر بود (شکل ۳.B).

کاهش وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه با افزایش غلظت در نانوذرات اکسید مس و یون‌های مس در نتایج مشاهده شد. از طرفی یوسفی (۲۰۲۰) اظهار داشتند که افزایش میزان غلظت نانوذرات اکسید مس و یون‌های مس باعث کاهش نیتروژن سویا می‌شود که این کاهش نیتروژن در اندازه‌های نانوذرات مس بیشتر از یون‌های مس است. همچنین شاهی و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که کاهش نیتروژن در گیاه مادری بر وزن ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه تأثیر می‌گذارد و باعث کاهش وزن آن‌ها در گیاه می‌شود. علاوه بر این رونقی<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۲) نیز دریافتند که افزایش فسفر در گیاه مادری سبب افزایش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌شود؛ بنابراین کاهش نیتروژن و فسفر دانه (یوسفی، ۲۰۲۰) می‌تواند باعث کاهش وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه نسل دوم شود. نیر و چانگ (۲۰۱۴) گزارش کردند سویا در معرض نانوذرات اکسید مس سبب کاهش وزن ریشه و ساقه شد. علاوه بر این، آدامز<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که نانوذرات مس ۵۰ نانومتر در غلظت‌های ۱۰، ۳۰، ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک سبب کاهش رشد ریشه گندم در خاک شد.

<sup>1</sup> Parsa

<sup>2</sup> Lotfifar

<sup>3</sup> Hong

<sup>4</sup> Ronaghi

<sup>5</sup> Adams

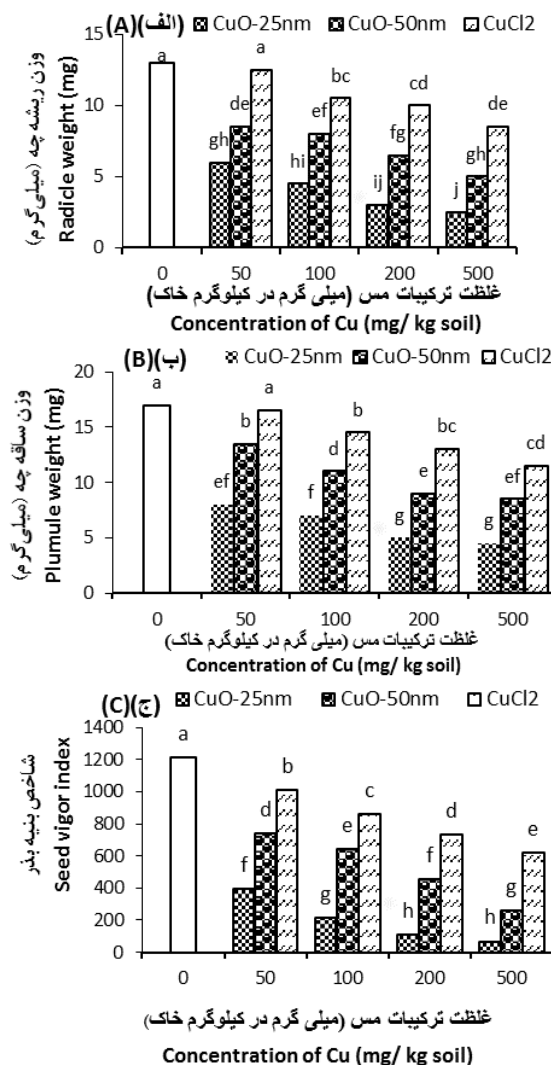
شاخص بنیه بذر سویا شد. بذرهای حاصل از گیاهان در معرض نانو اکسید مس بنیه کمتری در مقایسه با کلرید مس داشتند و کمترین بنیه در تیمار نانو اکسید مس ۲۵ نانومتری مشاهده شد که در مقایسه با نانو اکسید ۵۰ نانومتری و کلرید مس بطور معنی‌داری کمتر بود. به طور کلی کلرید مس و نانو اکسید مس اثر سمی بر گیاهچه داشت و با کوچک‌تر شدن اندازه نانوذرات و افزایش میزان غلظت این سمیت افزایش یافت. افزایش میزان غلظت نانوذرات اکسید مس و یون‌های مس باعث کاهش درصد جوانه‌زنی و کاهش طول گیاهچه می‌شود بنابراین کاهش شاخص بنیه بذر اتفاق افتاد. همچنین ضرایب همبستگی معنی‌داری بین شاخص بنیه بذر با وزن هزار دانه، فسفر و نیتروژن (به ترتیب ۰/۹۶، ۰/۶۸ و ۰/۹۷) مشاهده شد که بیانگر تأثیر ارتباط زیاد بین غلظت عناصر غذایی دانه و فرایند جوانه‌زنی است.

### کلروفیل a

در آزمایش محیط گلدان مشاهده شد که اثرات اصلی و متقابل نوع ترکیب مس و غلظت ترکیب بر میزان کلروفیل a در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. همانطور که در شکل ۴.A مشاهده می‌شود غلظت ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم کلرید مس میزان کلروفیل a را کاهش داد. گیاهان در معرض نانو اکسید مس ۵۰ نانومتری در مقایسه با شاخص کلروفیل a را به ترتیب ۱۳، ۲۰، ۲۵ و ۴۱ درصد کاهش داد و برای نانو اکسید مس ۲۵ نانومتری این کاهش به ترتیب ۶۱، ۶۵، ۶۹ و ۷۴ درصد بود.

### کلروفیل b

اثر نوع و غلظت ترکیب مس و اثر متقابل آن‌ها بر کلروفیل b معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ). بین غلظت ترکیبات مس در گیاه مادری و میزان کلروفیل b گیاهچه نسل دوم رابطه معکوسی مشاهده شد. نانو اکسید مس در مقایسه با کلرید مس به میزان بیشتری کلروفیل b را کاهش داد (شکل ۴.B). میزان کلروفیل b گیاهچه‌های حاصل از گیاهان تیمار شده با ۲۵ نانومتر در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم اختلاف معنی‌داری



شکل ۳. اثر تغذیه گیاه مادری با ترکیبات مختلف مس بر وزن ریشه چه (الف)، وزن ساقه چه (ب) و شاخص بنیه بذر (ج) نسل دوم سویا. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشند.

**Fig. 3.** Effect of maternal plant nourishment with different concentrations of copper compounds on radicle weight (A), plumule weight (B) and seed vigor index (C) of F2 soybean. Means with similar letters do not have a statistically significant difference based on LSD test at the level of 5%.

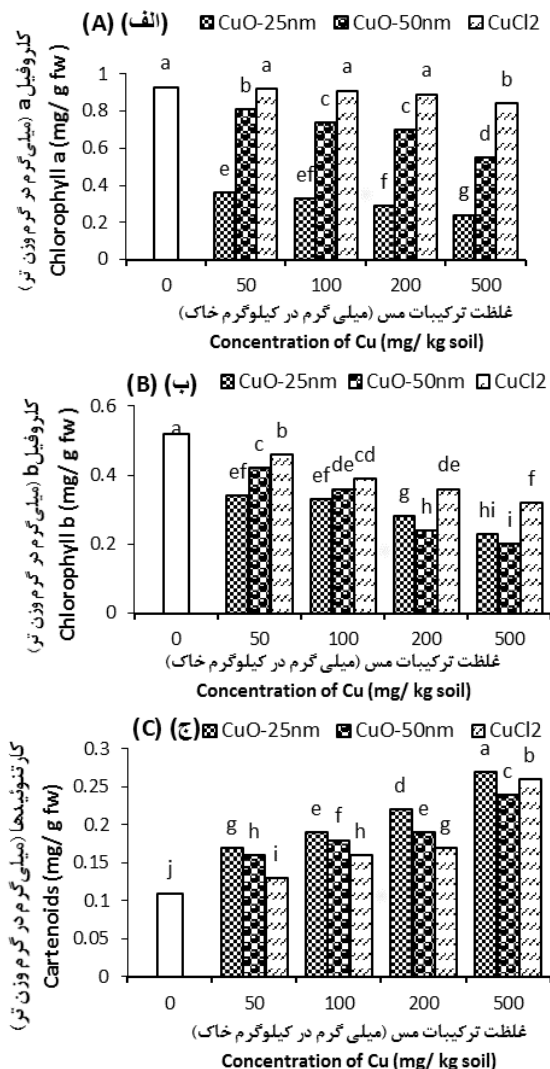
### شاخص بنیه بذر

اثرات اصلی و متقابل نوع ترکیب مس و غلظت ترکیب شاخص بنیه بذر گیاهچه سویا در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. در شکل ۳.C مشاهده می‌شود که افزایش غلظت کلرید مس در گیاه مادری باعث کاهش

## کاروتنوئیدها

اثرات اصلی و متقابل نوع و غلظت ترکیبات مس بر مقدار کاروتنوئیدها معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ). با افزایش غلظت ترکیبات مس میزان کاروتنوئیدهای برگ گیاهچه نسل دوم افزایش یافت و این افزایش در نانوذرات اکسید مس ۲۵ نانومتر بیشتر بود. در نانوذرات اکسید مس ۵۰ نانومتری با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان کاروتنوئیدها به ترتیب ۴۵، ۶۳، ۷۲ و ۱۱۸ درصد در مقایسه با شاهد افزایش یافت (شکل ۴.C).

همانطور که ژانگ<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند کاهش میزان کلروفیل‌ها در غلظت‌های تیمار شده در گیاهان با غلظت زیاد مس به دلیل آسیب‌های اکسیداتیو کاهش می‌یابد؛ زیرا مس از طریق واکنش فنتون منجر به افزایش رادیکال‌های سوپراکسید و اکسیژن تنها در کلروپلاست می‌شود؛ بنابراین این رادیکال‌ها به کلروفیل حمله کرده و باعث آزاد شدن کلروفیل از غشا تیلاکوئیدی و کاهش محتوای آن می‌شوند؛ اما کاروتنوئیدها مانع از تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود و همچنین با جذب نور از دستگاه فتوسنتزی محافظت می‌کنند (ال-طیب<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۶)؛ بنابراین کاروتنوئیدها تا حدودی اثرات تنش ناشی از مس را جبران می‌نمایند و به همین دلیل مشاهده شد که در غلظت‌های بالای مس میزان کاروتنوئیدهای بیشتر از تیمار شاهد بود (شکل ۴.C) و یک همبستگی مثبت معنی‌دار بین کاروتنوئیدها با کلروفیل *a* و کلروفیل *b* مشاهده شد (بترتیب ۰/۹۵ و ۰/۸۸). دیمپا<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۲) نیز دریافتند که نانوذرات اکسید مس اثر منفی بر مراحل فتوسنتز دارد که باعث کاهش محتوای کلروفیل در بافت‌ها می‌شود. در گیاه ماش کاهش کلروفیل در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس شروع شد اما کاروتنوئیدها بدون تغییر باقی ماندند (نیر و همکاران، ۲۰۱۴). در حالیکه در سویا، مقدار کاروتنوئیدها در ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید مس کاهش یافت، اما کلروفیل در ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر شروع به کاهش کرد (نیر و چانگ، ۲۰۱۴).



شکل ۴. اثر تغذیه گیاه مادری با ترکیبات مختلف مس بر میزان کلروفیل *a* (الف)، کلروفیل *b* (ب) و کاروتنوئیدهای (ج) گیاهچه نسل دوم سویا. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشند.

Fig. 4. Effect of maternal plant nourishment with different concentrations of copper compounds on chlorophyll-a (A), chlorophyll-b (B) and carotenoids (C) of F2 soybean seedlings. Means with similar letters do not have a statistically significant difference based on LSD test at the level of 5%.

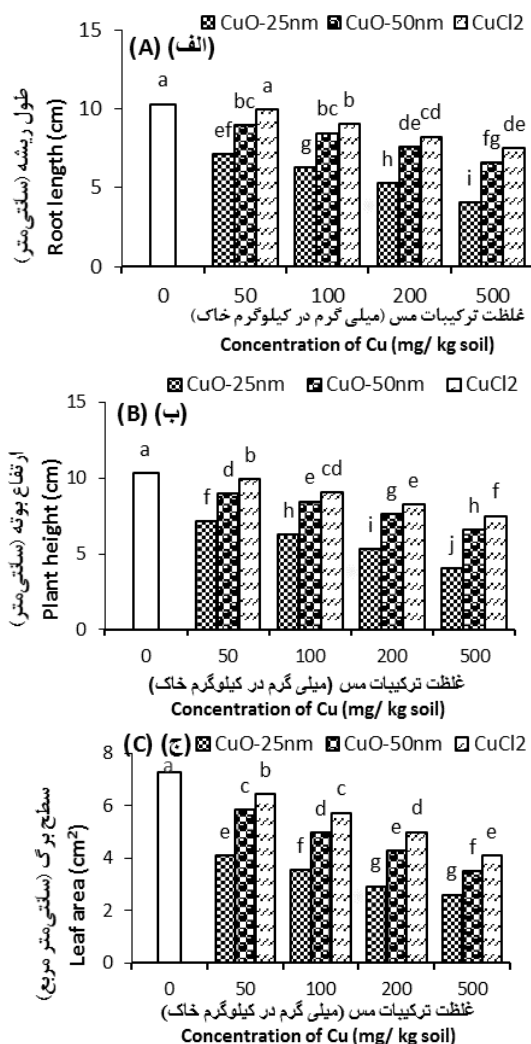
نداشتند و در غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان کلروفیل *b* به ترتیب ۴۶/۱۵ و ۵۵/۷۶ درصد در مقایسه با شاهد کاهش دادند (شکل ۴.B).

<sup>1</sup> Zhang

<sup>2</sup> El-Tayeb

<sup>3</sup> Dimkpa





شکل ۵. اثر تغذیه گیاه مادری سویا با ترکیبات مختلف مس بر طول ریشه (الف)، ارتفاع بوته (ب) و سطح برگ (ج) گیاهچه نسل دوم سویا. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد تفاوت معنی‌دار می‌باشند.

**Fig. 5.** Effect of maternal plant nourishment with different concentrations of copper compounds on root length (A), plant height (B) and leaf area (C) of F2 soybean seedlings. Means with similar letters do not have a statistically significant difference based on LSD test at the level of 5%.

کاهش معنی‌دار طول ریشه، ارتفاع بوته و سطح برگ در گیاهان تیمار شده با نانوذرات اکسید مس و همچنین یون‌های مس ممکن است به دلیل کاهش عناصر غذایی موجود در دانه بخصوص نیتروژن باشد؛ زیرا نیتروژن موجود در گیاهچه بر ارتفاع بوته گیاه اثر می‌گذارد

## طول ریشه

اثرات اصلی و متقابل نوع ترکیب مس و غلظت ترکیب طول ریشه سویا در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. شکل ۵.A نشان می‌دهد که افزایش غلظت کلرید مس باعث کاهش طول ریشه گیاهچه نسل دوم سویا شد. همانند نتایج آزمایش پتری، نانو اکسید مس در گیاه مادری موجب کاهش طول ریشه در مقایسه با کلرید مس شد و کمترین طول ریشه با نانو اکسید مس ۲۵ نانومتری در مقایسه شاهد مشاهده شد. بطوری که طول ریشه تحت تأثیر تغذیه گیاه مادری با این نانوذره در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به ترتیب ۳۷، ۳۹، ۴۸ و ۶۰ درصد کمتر از تیمار شاهد بود (شکل ۵.A).

## ارتفاع بوته

ارتفاع بوته به نوع و غلظت ترکیب مس و اثر متقابل آن‌ها پاسخ معنی‌داری نشان داد ( $p < 0.01$ ). نتایج این آزمایش کاهش ارتفاع بوته گیاهچه نسل دوم را با افزایش غلظت نانوذرات اکسید مس و کلرید مس در گیاه مادری سویا نشان دادند (شکل ۵.B). بیشترین کاهش ارتفاع بوته در نانوذره اکسید مس ۲۵ نانومتر در مقایسه با نانوذره اکسید مس ۵۰ نانومتر و کلرید مس مشاهده شد که در غلظت‌های مورد آزمایش به ترتیب ۳۴، ۴۲، ۵۰ و ۵۸ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت.

## سطح برگ

سطح برگ به نوع ترکیب مس، غلظت ترکیب و اثرات متقابل نوع و ترکیب مس پاسخ معنی‌داری نشان داد ( $p < 0.01$ ). نتایج نشان دادند که سطح برگ گیاه تغذیه شده با نانوذرات اکسید مس ۲۵ نانومتری با افزایش غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب ۴۴، ۵۱، ۶۰ و ۶۴ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. سطح برگ گیاهچه‌های حاصل از گیاهان تغذیه شده با نانوذرات اکسید مس ۵۰ نانومتری با افزایش غلظت به ترتیب ۱/۵، ۲/۳، ۳ و ۳/۸ سانتی‌متر مربع در مقایسه با شاهد کاهش یافت (شکل ۵.C).

(ایرنا<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۱۸) و از آنجا که افزایش غلظت نانوذرات اکسید مس در گیاه سبب کاهش میزان نیتروژن بذر شد (یوسفی، ۲۰۲۰) بنابراین کاهش ارتفاع بوته قابل انتظار است. لی و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که نانوذرات اکسید مس ۲۰ نانومتر در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در گندم کاهش رشد ساقه مشاهده شد. در مطالعه دیگری نیز نانوذرات اکسید مس ۵۰ نانومتری در غلظت‌های بالای ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش رشد ساقه سویا شد (آدهیکاری و همکاران، ۲۰۱۲). شاو و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که نانوذرات اکسید مس ۵۰ نانومتر در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار باعث کاهش رشد ریشه و ساقه در گیاه جو شدند. سبحانی و حمیدی<sup>۲</sup> (۲۰۲۰) دریافتند که پتاسیم باعث بهبود شاخص سطح برگ در سیب زمینی شده است. با توجه به کاهش میزان پتاسیم موجود در بذر سویا تیمار شده با نانواکسید مس (یوسفی، ۲۰۲۰) بنابراین کاهش سطح برگ تحت شرایط افزایش غلظت نانوذرات اکسید مس علاوه بر ارتباط مستقیم با کاهش نیتروژن و فسفر موجود دانه ممکن است به دلیل کاهش میزان پتاسیم دانه نیز باشد. کیم<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که نانوذرات اکسید مس باعث کاهش سطح برگ گیاه در *Cucumis sativus* شده است.

### وزن خشک ریشه

اثرات اصلی و متقابل نوع ترکیب مس و غلظت ترکیب وزن خشک ریشه سویا در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. با افزایش غلظت نانوذرات اکسید مس و کلرید مس، وزن خشک ریشه کاهش یافت و این اثر کاهشی در نانو اکسید مس ۲۵ نانومتری در مقایسه با دیگر نانوذرات اکسید مورد استفاده و همچنین کلرید مس بیشتر بود. (شکل ۶.A).

### وزن خشک ساقه

وزن خشک ساقه به نوع و غلظت ترکیب مس و اثر متقابل بین آن‌ها پاسخ معنی‌داری نشان داد ( $p < 0.01$ ).

۰.۰۰۱). نتایج این آزمایش نشان داد که وزن خشک ساقه همانند وزن خشک ریشه با افزایش غلظت نانوذرات اکسید مس و کلرید مس در گیاه سویا کاهش یافت (شکل ۶.B). وزن خشک ریشه در گیاهان تغذیه شده با کلرید مس نسبت به شاهد کاهش یافت. این در حالی است که میزان کاهش وزن خشک در شرایط تغذیه با نانواکسید مس بسیار بیشتر بود. به طوری که وزن خشک ساقه گیاهان تغذیه شده نانو اکسید مس ۲۵ نانومتری با افزایش غلظت به ترتیب ۴۰/۱۴، ۵۲/۵۳، ۵۹/۵۵ و ۶۳/۵۷ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت (شکل ۶.B).

### وزن خشک برگ

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثرات ترکیب مس، غلظت ترکیب و اثر متقابل آنها بر وزن خشک برگ سویا معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ). در شکل ۶.C مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت کلرید مس وزن خشک برگ سویا در مقایسه با شاهد کاهش یافت. همچنین گیاهان در معرض نانو اکسید مس وزن خشک کمتری نسبت به کلرید مس داشتند و کمترین میزان وزن خشک برگ با نانو اکسید مس ۲۵ نانومتر در مقایسه با نانواکسید ۵۰ نانومتر و کلرید مس بدست آمد.

کاهش وزن خشک ریشه، ساقه و برگ گیاهچه نسل دوم احتمالاً کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی به علت وجود ترکیبات مس در برگ‌های گیاه مادری سویا است که سبب کاهش وزن دانه (یوسفی، ۲۰۲۰) و در نتیجه کاهش رشد گیاهچه نسل دوم می‌شود. علاوه بر این کاهش غلظت عناصر غذایی از قبیل نیتروژن، فسفر و پتاسیم دانه در کاهش رشد گیاهچه نیز مؤثر است. تروخیلو ریس<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش کردند که کاهو تغذیه شده با نانوذرات اکسید مس ۱۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب کاهش ۵۱ و ۵۴ درصدی وزن برگ گیاه نسبت به شاهد شدند.

<sup>1</sup> Irna

<sup>2</sup> Sobhani and Hamidi

<sup>3</sup> Kim

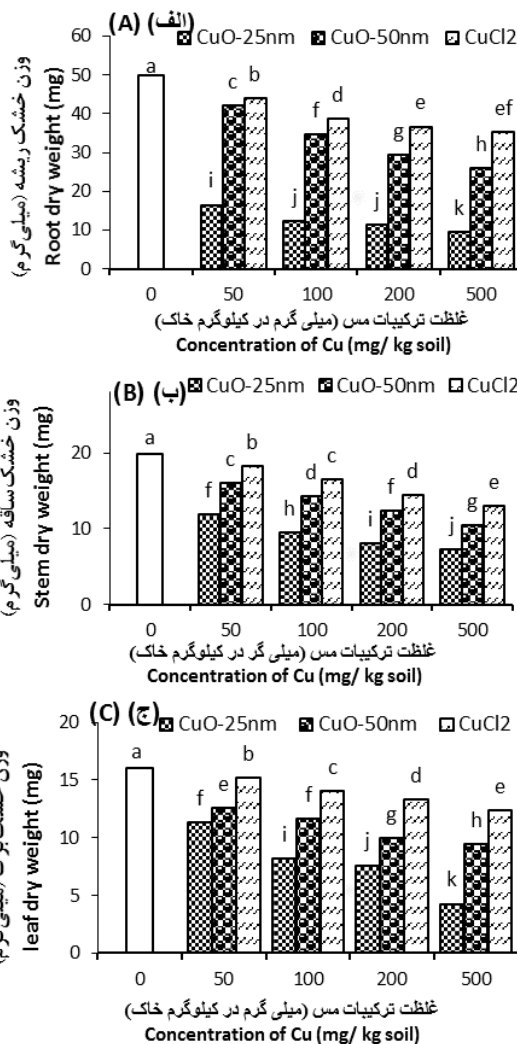
<sup>4</sup> Trujillo-Reyes

شکل ۶. اثر تغذیه گیاه مادری با ترکیبات مختلف مس بر وزن خشک ریشه (الف)، وزن خشک ساقه (ب) و وزن خشک برگ (ج) گیاهچه نسل دوم سویا. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشند.

**Fig. 6.** Effect of maternal plant nourishment with different concentrations of copper compounds on root dry weight (A), stem dry weight (B) and leaf dry weight (C) of F2 soybean seedlings. Means with similar letters do not have a statistically significant difference based on LSD test at the level of 5%.

### نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش نشان داد که افزایش غلظت ترکیبات مس سبب کاهش جوانه‌زنی و به دنبال آن کاهش طول ریشه و شاخساره گیاهچه می‌شود. همچنین رنگدانه‌های فتوسنتزی و به دنبال آن فتوسنتز گیاهچه سویا بدلیل اثر سمیت نانوذرات اکسید مس کاهش می‌یابد. اثر سمیت نانوذرات اکسید مس (۲۵ و ۵۰ نانومتر) نسبت به یون‌های مس بیشتر است و با کاهش اندازه نانوذره این سمیت تشدید می‌شود؛ بنابراین بذره‌ای تولید شده در شرایط تغذیه با نانوذره مس مشابه غلظت‌های این آزمایش موجب کاهش بذر سویا می‌شود.



### منابع

- Adams, J., Wright, M., Wagner, H., Valiente, J., Britt, D. and Anderson, A. 2017. Cu from dissolution of CuO nanoparticles signals changes in root morphology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110: 108-117. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.005>
- 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 Agricultural Science and Technology*, 2: 815-834.
- Chandra, S., Kumar, A. and Tomar, P.K. 2014. Synthesis and characterization of copper nanoparticles by reducing agent. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(2): 149-153. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2011.06.009>
- Dimkpa, C., 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: 1-15. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1125-9>

- Du, W., Yang, J., Peng, Q., Liang, X. and Mao, H. 2019. Comparison study of zinc nanoparticles and zinc sulphate on wheat growth: From toxicity and zinc biofortification. *Chemosphere*, 3: 155- 168. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.168>
- El-Tayeb, M. A., El-Enany, A. E. and Ahmed, N. L. 2006. Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Growth Regulation*, 50: 191-199. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9118-2>
- Hong, J., Rico, C.M., Zhao, L., Adeleye, A.S., Keller, A.A., Peralta-Videa, J.R. and Gardea-Torresdey, J. L. 2015. Toxic effects of copper-based nanoparticles or compounds to lettuce (*Lactuca sativa*) and alfalfa (*Medicago sativa*). *Environmental Science: Processes and Impacts*, 17(1): 177-185. <https://doi.org/10.1039/C4EM00551A>
- Ikic, I., Maric, M., Tomasovic, S., Gunjaca, J., Atovic, Z. S. and Arcevic, H. S. 2012. The effect of germination temperature on seed dormancy in creation- grown winter wheats. *Euphytica*, 188: 25-34. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0735-8>
- Irma, C., Jaswir, I., Othman, R. and Jimat, D.N. 2018. Comparison between high-pressure processing and chemical extraction: astaxanthin yield from six species of shrimp carapace. *Journal of Dietary Supplements*, 15(6): 805-813. <https://doi.org/10.1080/19390211.2017.1387885>
- Kalsa, K.K., Abebie, B. 2012. Influence of seed priming on seed germination and vigor traits of *Vicia villosa* ssp. *dasycarpa* (Ten.). *African Journal of Agricultural Research*, 7(21): 3202-3208. <https://doi.org/10.5897/AJAR11.1489>
- Kim, S., Lee, S. and Lee, I. 2012. Alteration of phytotoxicity and oxidant stress potential by metal oxide nanoparticles in *Cucumis sativus*. *Water, Air, and Soil Pollution*, 223: 2799-2806. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-1067-3>
- Li, M. Y., Dong, W. S., Liu, C. L., Liu, Z. and Lin, F. Q. 2008. Ionic liquid-assisted synthesis of copper oxalate nanowires and their conversion to copper oxide nanowires. *Journal of Crystal Growth*, 310: 4628-4634. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2008.08.032>
- Lichtenthaler, H.K. and Buschman, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: Wrolstad R.E. (ed.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* Jhon Wiley and Sons, Inc. New York, 3: 31-34.
- Liu, R.Q. and Lal, R. 2015. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the Total Environment*, 514: 131-139. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.104>
- Lotfifar, A., Akbari, G., Shirani-Rad, A., Sadat Noori, S.A., Mottaghi, S. and Nik-Niaei, A.B. 2007. Effect of 1000-seed weight on seed germinability and emergency in spring rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.). *Agricultural Research*, 7(3): 199-213. [In Persian with English Summary]
- Nair, P. M.G. and Chung, I.M. 2015. Changes in the growth, redox status and expression of oxidative stress related genes in chickpea (*Cicer arietinum* L.) in response to copper oxide nanoparticle exposure. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34: 350-361. <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9468-3>
- Nair, P.M.G. and Chung, I.M. 2014. A mechanistic study on the toxic effect of copper oxide nanoparticles in soybean (*Glycine max* L.) root development and lignification of root cells. *Biological Trace Element Research*, 162: 342-352. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0106-5>

- Nair, P.M.G., Kim, S.H. and Chung, I.M. 2014. Copper oxide nanoparticle toxicity in mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings: physiological and molecular level responses of in vitro grown plants. *Acta Physiologiae Plantarum*. 36: 2947-2958. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1667-9>
- Parsa, M., Saeedi Garaghani, H.R. and Hashemi, A.A. 2015. Investigation of the effects of different concentrations of lead and copper on seed germination and seedling growth (*Agropyron trichophrum*). *Iranian Natural Ecosystems*, 6: 79-88. [In Persian with English Summary].
- Rajput, V., Sushkova, S., Minkina, T. and Behal, A. 2019. ZnO and CuO nanoparticles: a threat to soil organisms, plants, and human health. *Environmental Geochemistry and Health*. <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00317-3>
- Rajput, V.D., Minkina, T.M., Behal, A., Sushkova, S.N., Mandzhieva, S., Singh, R., Gorovtsov, A., Tsitsuashvili, V.S., Purvis, W.O., Ghazaryan, K.A. and Movsesyan, H. S. 2018. Effects of zinc oxide nanoparticles on soil, plants, animals and soil organisms. A review. *Environmental Nanotechnology Monitoring and Management*, 9: 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2017.12.006>
- Ronaghi, A., Chakerolhosseini, M.R. and Karimian, N. 2002. Growth and chemical composition of corn as affected by phosphorus and iron. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 6(2): 53-66. [In Persian with English Summary]
- Sharma, S., Uttam, R., Sarika Bharti, A. and Uttam, K.N. 2019. Interaction of zinc oxide and copper oxide nanoparticles with chlorophyll: A fluorescence quenching study. *Analytical Letters*, 52: 1539-1557. <https://doi.org/10.1080/00032719.2018.1556277>
- Shaw, A. K., Ghosh, S., Kalaji, H. M., Bosa, K. and Brestic, M. 2014. Nano-CuO stress induced modulation of antioxidative defense and photosynthetic performance of Syrian barley. *Environmental and Experimental Botany*, 102: 37-47. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.02.016>
- Shaw, A.K. and Hossain, Z. 2013. Impact of nano-CuO stress on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Chemosphere*, 93: 906-915. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.044>
- Sobhani, A.R. and Hamidi, H. 2013. The effect of different amounts of potassium on yield and growth indices of potatoes in Mashhad climate. *Journal of Crop Ecophysiology*, 7: 341-356. [In Persian with English Summary]
- Trujillo-Reyes, J., Majumdar, S., Botez, C.E., Peralta-Videa, J.R., and Gardea-Torresdey, J.L. 2014. Exposure studies of core-shell Fe/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and Cu/CuO NPs to lettuce (*Lactuca sativa*) plants: Are they a potential physiological and nutritional hazard? *Journal of Hazardous Materials*, 267(1): 255-263. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.11.067>
- Yousefi, A. 2020. Investigation of transfer and effects of metal oxide nanoparticles (zinc oxide and copper oxide) in soybean. Ph.D. dissertation, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran. [In Persian with English Summary]
- Yousefzaei, F., Pourakbar, L. and Farhadi, Kh. 2015. Investigation of the effect of copper nanoparticles and copper chloride solution on germination and some morphological and physiological factors of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Plant Research*, 1: 221-231. [In Persian with English Summary]
- Zhang, H., Zhou, Y., Zhang, M., Shen, T., Li, Y. and Zhu, D. 2003. Photoinduced interaction between fluorescein ester derivatives and CdS colloid. *Journal of Colloid and Interface Science*, 264: 290-29. [https://doi.org/10.1016/S0021-9797\(03\)00372-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9797(03)00372-2)

Zuverza-Mena N. Armendariz R. Peralta-Videa J.R. and Gardea-Torresdey J.L. 2016. Effects of silver nanoparticles on radish sprouts: root growth reduction and modifications in the nutritional value. *Frontiers in Plant Science*, 7: 90. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00090>

## Research Article

**Evaluating the initial growth of soybean (*Glycine max*) seedlings in response to different concentrations of copper compounds in the maternal plant**Nafiseh Sheibany<sup>1</sup>, Sina Fallah<sup>2\*</sup>, Hossien Barani-Beiranvand<sup>3</sup>, Aliyeh Salehi<sup>4</sup>**Extended abstract**

**Introduction:** The use of nanotechnology is increasing in many fields including agricultural sciences. Concurrently, the release of these particles into the environment is inevitable, which may have adverse effects on plants. Therefore, it is important to understand the interactions between nanoparticles and crops as an essential component of all agricultural ecosystems. In this regard, a study was conducted on the effects of nanoparticles on germination potential and initial growth of F2 seeds by cultivating soybean in soil containing copper oxide nanoparticles.

**Materials and Methods:** To evaluate the nourishment effects of maternal soybean with copper compounds on its seedlings, two factorial experiments (in a growth chamber and pot) were conducted in a completely randomized design at the Faculty of Agriculture, Shahrekord University in 2021. Treatments in the maternal plant included different copper compounds (copper oxide nanoparticles with sizes of 25, 50 nm and copper chloride) and five concentrations of copper compounds (0, 50, 100, 200 and 500 mg/kg soil), and the seeds produced from these treatments were evaluated under controlled and pot conditions.

**Results:** An increase in the concentration of copper chloride and copper oxide nanoparticle (25 nm) in maternal plants reduced the germination percentage (25 and 78%), radicle length (56 and 82%), radicle weight (35 and 81%), plumule length (19 and 71%), plumule weight (32 and 73%) and seedling vigor index (49 and 94%) of produced seeds, respectively. The evaluation of soybean seedlings nourished with different copper compounds also showed the nourishment with copper chloride and copper oxide nanoparticle (25 nm) significantly decreased the content of chlorophyll a (10 and 74%), chlorophyll b (38, 49%), carotenoids (136 and 145%), root length (27 and 61%), seedling height (31 and 58%), leaf area (44 and 64%), and shoot weight (34 and 64%) compared to the control, respectively.

**Conclusion:** In general, it is concluded that the toxicity of copper compounds in the rhizosphere of the maternal plant for the produced seeds is directly related to the concentration. Therefore, the toxic effects are intensified when the maternal plant is nourished with copper oxide nanoparticles, and the seeds produced under these conditions have poor vigor.

**Keywords:** *Germination, Maternal plant, Nanoparticles, Photosynthetic pigments, Toxicity*

**Highlights:**

1. Nourishment of the maternal soybean plant with copper oxide nanoparticles reduces the seedling growth of the produced seeds.
2. Reducing the size of copper oxide nanoparticles has a more toxic effect on the germination of produced seeds.
3. The toxic effects of copper oxide nanoparticles continue until the seedling stage.

<sup>1</sup> M.Sc. Student, Department of Agronomy, Shahrekord University, Iran

<sup>2</sup> Professor, Department of Agronomy, Shahrekord University, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Najafabad Branch, Iran

<sup>4</sup> Researcher, Department of Organic Farming, BOKU University, Austria

