

# Fitotoksični učinci nanočestica metala

---

**Košić, Nela**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:464116>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-04-01**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Nela Košić

# **Fitotoksični učinci nanočestica metala**

Završni rad

Zagreb, 2024.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Nela Košić

# **Phytotoxic effects of metal nanoparticles**

Bachelor thesis

Zagreb, 2024.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Znanosti o okolišu na Zavodu za molekularnu biologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Biljane Balen.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Završni rad

## Fitotoksični učinci nanočestica metala

Nela Košić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Tijekom posljednjih desetljeća nanotehnologija je postala primjenjiva u gotovo svim znanostima, a posebice biologiji, kemiji, fizici, mehanici, medicini i farmaciji. Konačan proizvod ove interdisciplinarne grane jesu nanočestice, koje se svojim unaprijeđenim svojstvima razlikuju od izvornih materijala. Posebna skupina koja se izdvaja su nanočestice metala (MNPs), čija je primjena osobito popularna u poljoprivredi gdje se koriste u sastavu pesticida i umjetnih gnojiva, što vrlo često rezultira negativnim, fitotoksičnim učinkom na biljke te posljedično i okoliš. Interakcije MNPs s biljkama uzrokuju oštećenja na morfološkoj, fiziološkoj, ali i genetičkoj razini. Različite vrste MNPs poput nanočestica srebra (AgNPs) te bakrovog i cinkovog oksida (CuO-NPs i ZnO-NPs) mogu oštetiti korijen biljke, ali i substancične komponente tj. stanične organele te važne biološke makromolekule poput molekule DNA, uzrokovati promjene i poremećaje u procesu fotosinteze te povećati akumulaciju štetnih reaktivnih molekula kisika. Navedena oštećenja rezultat su različitih svojstava MNPs, a njihova fitotoksičnost uvelike ovisi o vrsti i koncentraciji MNPs koja se primjenjuje te vrsti biljke.

Ključne riječi: oksidacijski stres, korijen, fotosinteza, kloroplast, molekula DNA  
(18 stranica, 2 slike, 0 tablica, 39 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)  
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Biljana Balen

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Bachelor thesis

### Phytotoxic effects of metal nanoparticles

Nela Košić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

During the last decades, nanotechnology has found application in almost all sciences, particularly in biology, chemistry, physics, mechanics, medicine and pharmacy. The final product of this interdisciplinary branch are nanoparticles, which differ from the original materials due to their improved properties. A special group are metal nanoparticles (MNPs), whose application is particularly popular in agriculture, where they are used in the composition of pesticides and artificial fertilizers, which very often leads to negative, phytotoxic effects on plants and thus on the environment. The interactions of MNPs with plants cause damage at morphological, physiological and genetic levels. Different types of MNPs such as silver nanoparticles (AgNPs) and copper and zinc oxide nanoparticles (CuO-NPs and ZnO-NPs) can damage plant roots, but also subcellular components, i.e. cell organelles and important biological macromolecules such as the DNA molecule, cause changes and disturbances in the photosynthesis process and increase the accumulation of harmful reactive oxygen molecules. The above damages are the result of different properties of MNPs, and their phytotoxicity largely depends on the type and concentration of MNPs used and the plant species.

Keywords: oxidative stress, root, photosynthesis, chloroplast, DNA molecule  
(18 pages, 2 figures, 0 tables, 39 references, original in: Croatian)  
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: prof. dr. sc. Biljana Balen

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. OSNOVNI POJMOVI</b> .....	2
<b>2.1. Nanočestice metala</b> .....	2
<b>2.1.1. Nastanak i građa</b> .....	2
<b>2.1.2. Mikroemulzijska sinteza nanočestica metala i metalnih oksida</b> .....	3
<b>2.2. Abiotički stres i fitotoksičnost</b> .....	4
<b>3. UTJECAJ MNPs NA BILJKE</b> .....	5
<b>3.1. Utjecaj na korijen</b> .....	5
<b>3.2. Utjecaj na kloroplast i proces fotosinteze</b> .....	6
<b>3.2.1. Utjecaj na ultrastrukturu kloroplasta</b> .....	6
<b>3.2.2. Utjecaj na proces fotosinteze</b> .....	9
<b>3.3. Utjecaj na molekulu DNA</b> .....	11
<b>4. ZAKLJUČAK</b> .....	13
<b>5. LITERATURA</b> .....	14

## 1. UVOD

Pojam nanotehnologija označava spektar znanstvenih disciplina iz područja biologije, fizike i kemije, koje se međusobno isprepliću kako bi proizveli nanomaterijale, kemijske tvari čija je veličina u barem jednoj dimenziji na nanometarskoj skali, tj. između 1 i 100 nm (Bathi i sur., 2022). Takve dimenzije omogućavaju bolja mehanička, optička i površinska svojstva materijala te poboljšane performanse u odnosu na njihov izvorni materijal (Altammar, 2023). Posebna kategorija nanomaterijala su nanočestice metala (eng. *metal nanoparticles*, MNPs), koje se mogu proizvesti kemijskim postupcima miješanja dviju mikroemulzija ili redukcijom metalnog kationa (Jurkin i Gotić, 2013). Nanočestice metalnih oksida jedna su od najčešće korištenih vrsta MNPs. Razlikujemo tri kategorije metalnih oksida koji tvore MNPs: mono-metal oksidi, bi-metal oksidi, te tri-metal oksidi. Najpoznatije su nanočestice mono-metal oksida kao što su nanočestice cinkovog oksida (eng. *zinc oxide nanoparticles*, ZnO-NPs), bakrovog oksida (eng. *copper oxide nanoparticles*, CuO-NPs) te magnezijevog oksida (eng. *magnesium oxide nanoparticles*, MgO-NPs). U MNPs također ubrajamo i nanočestice zlata (eng. *gold nanoparticles*, AuNPs) te možda i najpoznatije nanočestice srebra (eng. *silver nanoparticles*, AgNPs).

MNPs često mogu imati dvostruki učinak na biljne organizme, koji varira ovisno o njihovoj kemijskoj građi, ali i dozi. Njihov pozitivan učinak na biljke primjenjuje se u pesticidima i umjetnim gnojivima (Feigl, 2023) jer se na taj način značajno povećava preciznost i iskoristivost aktivnih sastojaka, što pospješuje ukupnu učinkovitost poljoprivredne prakse (Das i sur., 2022). Za ovu namjenu naročito se koriste nanočestice titanijevog (IV) oksida (eng. *titanium oxide nanoparticles*, TiO<sub>2</sub>-NPs) i nanočestice silicijevog (IV) oksida (eng. *silicium oxide nanoparticles*, SiO<sub>2</sub>-NPs) čijom se uporabom unutar pesticida i umjetnih gnojiva povećava proizvodnja nutrijenata, rast i brzina odvijanja fotosinteze u biljci (Das, 2022). Osim u poljoprivredi i agronomiji, uporaba MNPs rasprostranjena je i u medicini, biotehnologiji, genetičkom inženjerstvu, farmaciji i mnogim drugim gospodarskim granama (Mody i sur., 2010). Velika površina, male dimenzije i visoka reaktivnost neke su od karakteristika MNPs koji prolaze kroz složene promjene u tlu. Migracija, taloženje, disperzija, otapanje, transformacija te podložnost redoks reakcijama procesi su koji izazivaju fizikalno-kemijske promjene MNPs te utječu na rast i razvoj nanočesticama pogođene fitocenoze. Pretjeranom i nekontroliranom uporabom MNPs u agrikulturi, poljoprivredi te ostalim srodnim djelatnostima, povećava se rizik fitotoksičnosti, pogađanja neciljanih organizama, što se u konačnici manifestira kao neželjeni učinak na okoliš, ali i čitavu biocenozu (Cruz-Luna i sur, 2023).



Ovisno o količini i distribuciji MNPs okolišu, njihova prisutnost te kontinuirana akumulacija unutar biljnih tkiva može prouzrokovati fitotoksične učinke, ali i rezultirati posljedicama rizičnima za okoliš (Ul Hassan i sur., 2023; Li i sur., 2024).

Biljke se svakodnevno suočavaju s različitim složenim interakcijama koje obuhvaćaju širok spektar okolišnih faktora kao što su niske razine i dostupnost hranjivih tvari, nepovoljni uvjeti, oštećenja herbivorima te različita zagađenja prouzrokovana antropogenim utjecajem. Naročito je izražen utjecaj neživih elemenata, što uključuje sušu, povećani salinitet, teške metale te temperaturene ekstreme, koji dovode do pojave abiotičkog stresa i predstavljaju značajne globalne izazove (Al-Khayri i sur., 2023). Zbog svakodnevne izloženosti abiotičkom stresu, može doći do disbalansa u metabolizmu biljaka, što može rezultirati promjenama u morfologiji i fiziologiji, ali i promjenama na staničnoj i molekularnoj razini poput promjena u genetičkom materijalu i proteinima (Rejeb i sur., 2014). Tijekom evolucije biljke su razvile specifične mehanizme kako bi se prilagodile i preživjele stresne uvjete kojima su izložene. Na promjenu standardnih okolišnih uvjeta reagiraju izmjenom sastava i komponenti stanične membrane te stanične stijenke, mirovanjem stanica, usporavanjem i modifikacijom metaboličkih i fizioloških procesa poput fotosinteze kao i translokacijom hranjivih tvari unutar biljnog organizma (Santos i sur., 2022).

## **2. OSNOVNI POJMOVI**

### **2.1. Nanočestice metala**

#### **2.1.1. Nastanak i građa**

S obzirom na nastanak, nanočestice možemo kategorizirati u tri skupine: sintetske, antropogene i prirodne (Biba, 2022). Sintetski nanomaterijali proizlaze kao umjetna tvorevina priređena prema specifičnim pravilima i karakteristikama s pravilnom građom kako bi se smanjio potencijalni štetan okolišni učinak istih (Biba, 2022). Plod posrednog i neposrednog čovjekovog djelovanja na okoliš jesu antropogene nanočestice, koje nastaju kao posljedica različitih antropogenih onečišćenja poput izgaranja fosilnih goriva (Biba, 2022), a često imaju negativan učinak na ekosustave. Prirodne nanočestice nastaju kao rezultat različitih prirodnih procesa koji se odvijaju na Zemlji, poput vulkanskih erupcija i trošenja stijena (Biba, 2022). Bez obzira na njihovo porijeklo, nanočestice su sastavni dio biogeokemijskog ciklusa Zemlje. Njihova prisutnost i kretanje utječu na sve komponente Zemlje, uključujući biosferu, litosferu,

atmosferu i hidrosferu (Lespes i sur., 2020). Građa nanočestica razlikuje se s obzirom na prirodu nastanka. Različite vrste nanočestica građene su od širokog spektra kemijskih elemenata, što se pritom odražava i u funkciji koju obavljaju u okolišu (Biba, 2022).

Osim prema nastanku, nanočestice možemo podijeliti i prema njihovom sastavu na organske, anorganske te hibridne. Sastav nanočestica važan je čimbenik u njihovoj uporabi. Razvojem nanotehnologije anorganski nanomaterijali sve više nalaze komercijalnu primjenu. Unutar domene anorganskih nanomaterijala, razlikujemo šest temeljnih grupacija: nanočestice metala, nanočestice metalnih oksida, nanočestice poluvodičkih materijala (kao što su SiO<sub>2</sub>-NPs i kvantne točke), hibridne nanočestice, magnetne nanočestice te sulfidne nanočestice. Toksičnost metalnih nanomaterijala ovisi o njihovom obliku, veličini i vrsti metala od kojeg su građene.

### **2.1.2. Mikroemulzijska sinteza nanočestica metala i metalnih oksida**

Sinteza MNPs može se postići miješanjem dviju mikroemulzija pri čemu prva sadrži otopljeni sol metala, dok se u drugoj nalazi otopljeni reducens. Osim toga, koriste se i postupci redukcije metalnog kationa te izravne redukcije metalnog kationa vodikom, gdje je potonji proces za većinu metala vrlo spor pa se kao katalizatori koriste natrijev borhidrid (NaBH<sub>4</sub>), topljivi hidrazin dihidrat (N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) ili hidrazin diklorovodik (N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·2HCl). Vrsta i koncentracija reducensa uvelike može utjecati na dimenziju sintezom dobivenih MNPs (Jurkin i Gotić, 2013).

Nanočestice metalnih oksida pripremaju se hidrolizom ili taloženjem unutar vodene jezgre mikroemulzije voda/ulje. Stvaranje mikroemulzija odvija se postupcima dodavanja i miješanja dviju mikroemulzija različitih sadržaja, gdje jedna sadrži otopljenu lužinu (npr. amonijevu lužinu, NH<sub>4</sub>OH), a druga vodenu otopinu iona metala. Posljedično, dolazi do taloženja čestica metalnih oksida i hidroksida. Također, isti produkt moguće je dobiti i izravnim dodatkom taložnog sredstva u mikroemulziju voda/ulje. Istaloženi se hidroksid centrifugira te ispire, a zatim i termički obrađuje kako bi se uklonila voda. Takvom obradom, povećava se kristalnost uzorka te se hidroksid uspješno prevodi u metalni oksid, što posljedično daje željeni produkt, nanočestice metalnog oksida (Jurkin i Gotić, 2013).

## 2.2. Abiotički stres i fitotoksičnost

Abiotički stres definira se kao štetan učinak neživih komponenti na žive organizme. Okolišni čimbenici poput visokog saliniteta, temperaturnih ekstrema, suše te povišenih koncentracija određenih metala, uključujući i metale u obliku nanomaterijala, mogu uzrokovati pojavu abiotičkog stresa u biljaka (Balen, 2016). Jedna od posljedica abiotičkog stresa jest i pojava oksidacijskog stresa, koji može imati negativan učinak na rast i razvoj biljnog organizma i smanjiti produktivnost biljaka za 65 % do 87 % (Balen, 2016). U trenutku kada biljka prepozna stres, na staničnoj razini počinje stvaranje reaktivnih oblika kisika (eng. *reactive oxygen species*, ROS) koji potiču aktivaciju puta prijenosa signala, što dovodi do provođenja informacije unutar pojedinačnih stanica te kroz cijelu biljku (Balen, 2016). ROS molekule mogu negativno utjecati na biološki važne strukture, poput staničnih membrana i biološki važne molekule, poput proteina, lipida te molekule DNA. Ovakve interakcije rezultiraju nizom metaboličkih poremećaja, a posljedično i staničnom smrću (Tkalec i sur., 2019).

Fitotoksičnost tj. negativni i neželjni učinak neke tvari (fitotoksina) ili uvjeta uzgoja na biljke može se manifestirati na više načina npr. kao nemogućnost klijanja sjemenki, inhibicija rasta, promjene u morfologiji i/ili fiziologiji (Raviv i sur., 2019). Kemijska istraživanja omogućuju identifikaciju niza ključnih parametara i potencijalnih opasnosti te toksičnih čimbenika za rast biljaka. Ipak, gotovo je nemoguće ispitati biljni materijal na sve potencijalno štetne toksine. Za procjenu štetnosti neke tvari na biljke, koristi se test reakcije biljnog materijala. Testovi se koriste kada kemijske analize uoče visoku koncentraciju nepoželjne i štetne tvari poput teških metala ili npr. prisutnost fenola u biljnim tkivima. Služe kao provjera nepoželjnih učinaka i daju informacije u kojoj mjeri te koji fitotoksin će ugroziti biljni organizam. Iako takav test ne pruža konačan odgovor zbog varijabilnosti u uzorcima različitih biljnih vrsta te nejasnog uzroka mogućih učinaka, omogućava određenu razinu sigurnosti u pogledu prikladnosti supstrata i njegovih sastojaka za uzgoj biljaka (Raviv i sur., 2019). Fitotoksični učinak mijenja funkciju vegetativnih i generativnih organa biljaka, pri čemu visoke koncentracije fitotoksina dovode do njihovog oštećenja i gubitka funkcionalnosti (Bažok i Cenko, 2016). Za MNPs se pokazalo da imaju fitotoksični učinak, koji primarno ovisi o njihovoj veličini što je vidljivo na primjeru AgNPs koje kada se koriste kao nanočestice manjih dimenzija (promjer 10 nm) izazivaju jači negativni učinak u usporedbi s česticama većih dimenzija (promjer 20 nm - 100 nm) (Bhatti i sur., 2021). Iako postoje određeni pozitivni učinci pri uporabi MNPs, poput poboljšanja staničnog odgovora na stresne uvjete te rasta i razvoja korijena (Kaningini i sur., 2022), povećana izloženost MNPs te njihova pretjerana uporaba u

konačnici rezultira značajnim negativnim metaboličkim promjenama u biljaka (Bhatti i sur., 2021).

### 3. UTJECAJ MNPs NA BILJKE

#### 3.1. Utjecaj na korijen

Kao podzemni organ biljaka, korijen omogućava apsorpciju vode i mineralnih tvari iz tla, koje se kroz njega prenose do izdanka te zatim do svih dijelova biljnog organizma. Na površini korijena nalaze se bočna izbočenja rizoderme, korijenove dlačice. Njihovim razvitkom dolazi do povećanja površine ovog podzemnog organa te se tako pospješuje upijanje svih potrebnih nutrijenata iz terestričkih staništa (Pevalek-Kozlina, 2002). Oštećenjem korijenja inhibira se rast biljke jer se javlja nemogućnost provođenja potrebnih mineralnih tvari i vode, što je neophodno za provođenje metaboličkih procesa u stanicama. Smanjivanje sadržaja vode u stanicama na manje od 50% do 60% obično rezultira staničnom smrću (Pevalek-Kozlina, 2003).

Kada govorimo o biljkama, osobito kopnenim vrstama, primarna meta fitoksičnih učinaka MNPs je korijen. Istraživanja su pokazala da npr. AgNPs mogu izazvati morfološke promjene na korijenu nakon izlaganja biljke, a učinak ovisi o njihovoj veličini i koncentraciji kao i omotaču korištenom za njihovu stabilizaciju. U radu Tripathi i sur. (2017), istraživan je utjecaj AgNPs promjera 22 nm u koncentracijama od 1000 i 3000  $\mu\text{M}$  tijekom 15 dana na korijenju klijanaca graška (*Pisum sativum*) u Hoaglandovom mediju, a rezultat je pokazao značajno smanjenje broja korijenovih dlačica, kao i njihovo skraćenje. Nadalje, stanice korijenovih kapica klijanaca pšenice tretirane su sa 10 mg/L AgNP-PVP tijekom perioda od 5 dana, što je izazvalo njihovu degradaciju i intenzivniji proces plazmolize (Vannini i sur., 2014). Slična istraživanja izvedena su na korijenju trave (rod *Poaceae*) koje je tretirano s AgNP-GA promjera 6 nm, koncentracije 40 mg/L tijekom 5 dana, a uočene su morfološke promjene poput nemogućnosti stvaranja korijenovih dlačica, oštećenja epiderme te pojačane vakuolizacije kortikalnih stanica (Yin i sur., 2011).

Značajan fitotoksični učinak na korijen uočen je i kod primjene ZnO-NPs. U radu Lin i Xing (2007) ispitivan je utjecaj ZnO-NPs na sjemenkama 6 različitih biljnih vrsta: *Brassica napus*, *Raphanus sativus*, *Lolium perenne*, *Lactuca sativa*, *Zea mays* te *Cucumis sativus*, koje su tretirane sa suspenzijom ZnO-NPs koncentracije 2000 mg/L u periodu od 5 dana, sve do

razvitka korijenja. Dužina korijenja biljaka tretiranih sa ZnO-NPs uspoređivala se s kontrolom, a rezultat je pokazao kako je suspenzija ZnO-NPs inhibirala rast korijena kod vrste *Z. mays*, dok se kod ostalih pet biljnih vrsta korijen uopće nije razvio kao posljedice akumulacije ZnO-NPs (Lin i Xing, 2007).

Utjecaj MNPs na fiziološka i morfološka svojstva stanica korijena kao i čitavog organa uvjetovan je njihovim fizikalno-kemijskim karakteristikama, koncentracijom korištenom za izlaganje, vrstom biljke te načinom i duljinom izlaganja (Lin i Xing, 2007; Tkalec i sur., 2019).

### **3.2. Utjecaj na kloroplast i proces fotosinteze**

Prisustvo i odsustvo specifičnih organela u biljnoj stanici doprinijelo je njihovoj karakterističnoj građi, koja proizlazi iz njezine fundamentalne funkcije, fotosinteze. Jedan od ključnih organela biljne stanice je kloroplast. Unutar kloroplasta nalazi se složeni membranski sustav koji uključuje vanjsku i unutarnju membranu organela te tilakoidne membrane koje sadrže pigmentne molekule, poput klorofila i karotenoida, koje su ključne za fotosintezu. Klorofil se ističe kao pigment neophodan za provođenje procesa fotosinteze zbog mogućnosti apsorpcije svjetlosne energije iz plavog i crvenog dijela vidljivog spektra, što dovodi do pokretanja prve faze fotosinteze, reakcija na svjetlu. Vanjska membrana odgovorna je za propusnost molekula iz i unutar kloroplasta te ju grade proteini porini, dok unutarnju membranu karakterizira odsustvo fotosintetskih pigmenta. Stroma kloroplasta, svojevrsni matriks, služi kao platforma za enzimske reakcije Calvinovog ciklusa. Međusobnim interakcijama više tilakoidnih membrana unutar strome kloroplasta formira se struktura granum. Ova organizacija omogućuje učinkovitu apsorpciju svjetlosti i proizvodnju energije u obliku ATP-a i NADPH-a (Alberts i sur., 2002).

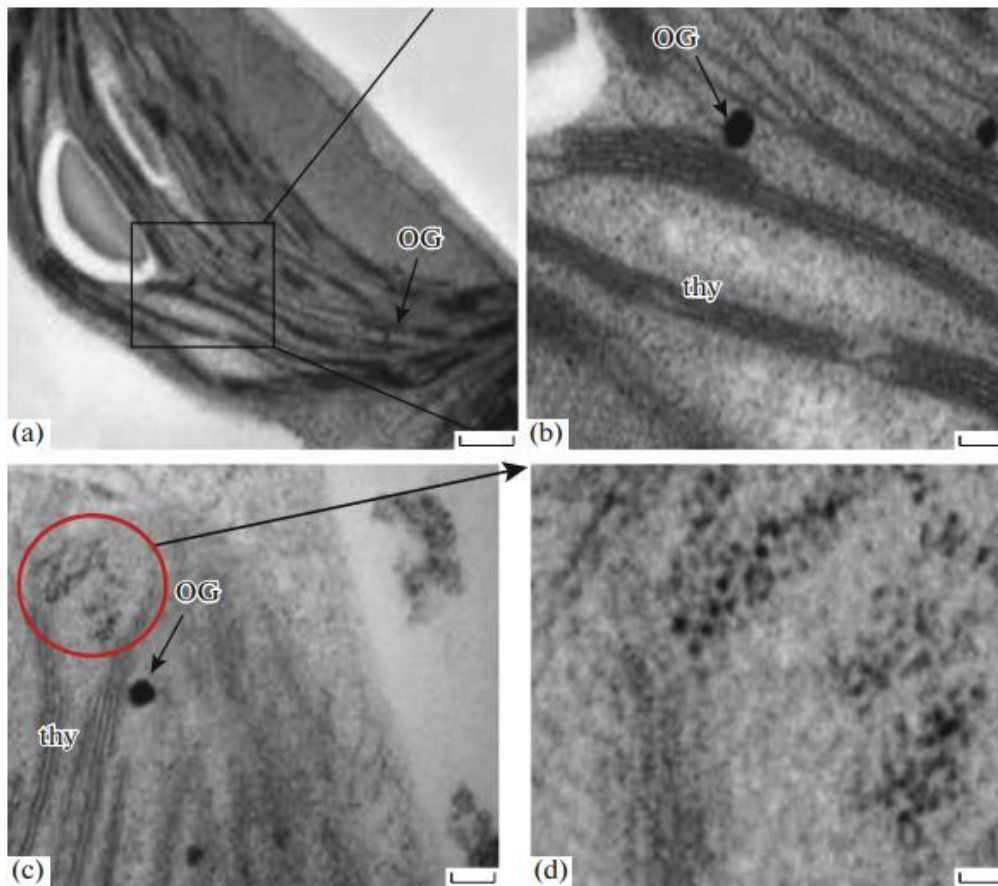
#### **3.2.1. Utjecaj na ultrastrukturu kloroplasta**

Izlaganjem biljaka MNPs dolazi do značajnih promjena u ultrastrukturi kloroplasta koje mogu biti slabijeg ili jačeg intenziteta ovisno o primijenjenoj koncentraciji MNPs. Njihovim djelovanjem kloroplast kao organel podliježe morfološkim promjenama koje zbog prirode nanočestica utječu na proces fotosinteze, ali i čitav fotosintetski aparat (Venzhik i sur., 2021).

U radu Qian i sur. (2013) biljke roda *Arabidopsis* izložene su AgNPs u rasponu koncentracija od 0.5 do 3 mg/L tijekom 14 dana nakon čega je opažena promjena u obliku organela iz lećastog u okrugli, što se pripisalo osmotskom stresu koji se stvorio kao posljedica djelovanja AgNPs. Također su opažene i promjene u viskoznosti strome koja je postala mutnija,

što je posljedica promjene kemijskog sastava strome, koja se javlja uslijed djelovanja AgNPs. Nadalje, primijećeno je i nakupljanje škrobnih zrnaca, akumulacija AgNP u stromi koje su stvorile naslage (Slika 1) te morfološke promjene tilakoidnih membrana koje su pri većim koncentracijama AgNPs postale udaljenije, konkretnije u rasponu od 5 do 10 mg/L (Qian i sur., 2013; Jiang i sur., 2014).

U radu Lalau i sur., (2015) istraživao se utjecaj CuO-NPs na vrstu *Landoltia punctata* u rasponu koncentracija od 1 do 10 mg/L, što je rezultiralo savijanjem tilakoidne membrane, povećanim brojem plastoglobula, pomicanjem i potamnjenjem sustava grana. Povećanje broja plastoglobula ukazuje na pojačanu potrebu stanice za lipidima kako bi se prilagodila i odgovorila na promjene u okolišu budući da plastoglobuli služe kao skladišta lipida potrebnih za adaptaciju na nove uvjete (Venzhik i sur., 2021). Ovi lipidi igraju ključnu ulogu u održavanju stanične stabilnosti i funkcionalnosti pod stresom, izazvanim prisutnošću CuO-NPs. CuO-NPs uzrokuju osmotski stres koji dovodi do redistribucije komponenti unutar stanice prema vakuoli. Ovaj pomak ključan je za obnovu i održavanje stanične homeostaze, jer vakuola djeluje kao centar za regulaciju osmotskog tlaka i detoksifikaciju. Kretanje organela prema vakuoli može pomoći u neutralizaciji stresa izazvanog nanočesticama, omogućavajući stanici da se prilagodi i stabilizira svoje unutarnje uvjete (Venzhik i sur., 2021).



**Slika 1.** Prikaz ultrastrukture kloroplasta iz poprečnog presjeka lista vrste *Arabidopsis thaliana* u kontrolnim biljkama (a,b) i nakon izlaganja biljke 3 mg/L AgNPs (c,d). Na slikama (c) i (d) vidljive su tamne naslage (crveni krug, slika nastale u stromi kloroplasta (slika d) nakon tretmana. Naslage prikazuju akumulirane AgNPs. OG - plastoglobuli, thy - tilakoidi.

Fotografije ultrastrukture kloroplasta nastale su primjenom transmisijskog elektronskog mikroskopa (TEM), pri povećanjima: 0,5  $\mu\text{m}$  (a), 0,1  $\mu\text{m}$  (b,c) i 25 nm (d). Preuzeto iz Qian i sur., (2013).

### 3.2.2. Utjecaj na proces fotosinteze

Fotosinteza je neophodan biogeokemijski proces kojim fotosintetski organizmi poput cijanobakterija, zelenih algi i biljaka pretvaraju svjetlosnu energiju u kemijsku. Osim što omogućava očuvanje staničnog metabolizma, fotosinteza upravlja proizvodnjom energije i fiziološkim procesima unutar biljnih organizama. Budući da je proces fotosinteze vrlo osjetljiv na vanjske faktore, promjene u okolišnim uvjetima, poput suše, prisutnosti teških metala, visokog saliniteta i temperaturnih ekstrema, mogu izazvati poremećaje u njegovom odvijanju (Tkalec i sur., 2019).

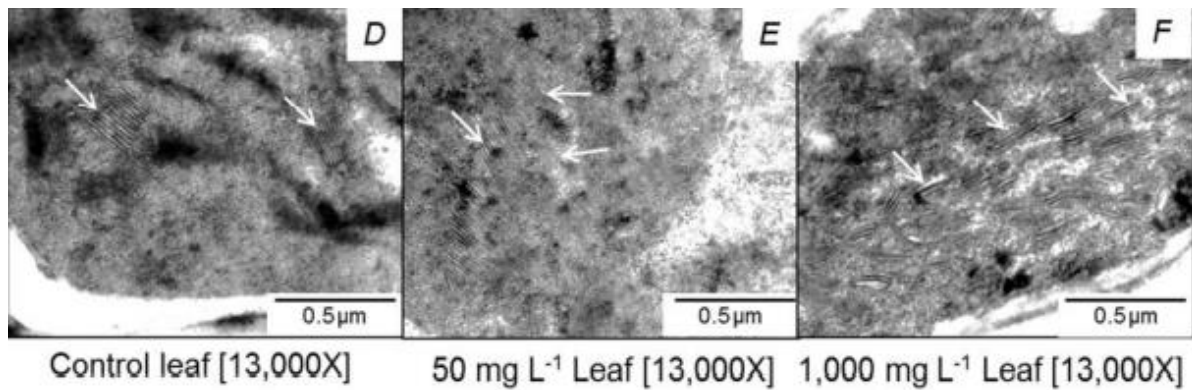
Klorofil, temeljni fotosintetski pigment, nalazi se unutar tilakoidnih membrana kloroplasta i organiziran je u posebne strukture sačinjene od stotinu pigmentnih molekula, fotocentre. Unutar fotocentara, klorofil djeluje kao antena za apsorpciju svjetlosti, a energija dobivena ovim procesom prenosi se od pigmenta do pigmenta, sve do klorofila *a* čije je ishodište reakcijski centar. On pobuđuje elektrone te ih obogaćuje energijom (visokoenergetski  $e^-$ ) pa kao takvi ulaze u transportni lanac. Elektroni zatim putuju serijom nosača u procesu koji je združen sa sintezom ATP i NADPH (Alberts i sur., 2002).

Istraživanja su pokazala da izlaganje biljaka česticama AgNPs dovodi do poremećaja u funkciji transportnog lanca elektrona te smanjenja učinkovitosti i brzine fotokemijskih reakcija, posebice reakcija provedenih kao dio fotosustava II (Biba i sur., 2021). Sukladno navedenim tvrdnjama, unutar kloroplasta dolazi do pretjerane apsorpcije svjetlosne energije, što rezultira akumulacijom ROS molekula u stromi kloroplasta. Ova pojava predstavlja način fitotoksičnog djelovanja nanomaterijala metala (Biba i sur., 2021). Valja napomenuti kako točan mehanizam fitotoksičnosti AgNPs još uvijek nije u potpunosti shvaćen i definiran. Smatra se da AgNP u stanici disociraju na toksične katione srebra ( $Ag^+$ ) koji mogu zamijeniti katione bakra ( $Cu^+$ ) plastocijanina (Pc), nositelja elektrona u fotosintetskim reakcijama na svjetlu. Nadalje, ometanje procesa fotosinteze može se postići i djelovanjem kationa  $Ag^+$  s tiolnom skupinom enzima odgovornih za biosintezu pigmenta klorofila (Biba i sur., 2021).

Fitotoksičan učinak MNPs na proces fotosinteze uočen je i kod biljnih vrsta tretiranim sa CuO-NPs. Učinak CuO-NPs pri različitim koncentracijama ispitivao se na vrsti *Oryza sativa* tijekom 30 dana, a najveću fitotoksičnost pokazala je koncentracija od 1000 mg/L CuO-NPs. Zamijećeno je smanjenje u broju i veličini puči prisutnih na listovima, pad stope fotosinteze kao i smanjenje broja prisutnih molekula fotosintetskih pigmenata (Da Costa i Sharma, 2016). Posljedično, akumulacija CuO-NPs unutar stanica navedene vrste izaziva stres koji smanjuje brzinu i efikasnost procesa fotosinteze. Nadalje, uočeno je i smanjenje broja tilakoida te



granuma pri koncentracijama većim od 50 mg/L (Slika 2) unutar kloroplasta, što se povezuje sa smanjenom funkcijom fotosustava II, što posljedično dovodi do smanjene učinkovitosti procesa fotosinteze ((Da Costa i Sharma, 2016).



**Slika 2.** Prikaz ultrastrukture kloroplasta u stanicama lista kontrolne biljke vrste *Oryza sativa* (D) te biljaka izloženih 50 i 1000 mg/L CuO-NPs (E i F). Strelice na slikama (E) i (F) označavaju promjenu u organizaciji i položaju tilakoida unutar kloroplasta nakon tretmana s CuO-NPs. Fotografije ultrastrukture kloroplasta nastale su primjenom transmisijskog elektronskog mikroskopa (TEM). Preuzeto iz Da Costa i Sharma, (2016).

### 3.3. Utjecaj na molekulu DNA

Molekula DNA nositelj je genetičke informacije koja upravlja rastom, razvojem i reprodukcijom svih živih organizama pa tako i biljaka. Sekvence molekule DNA sadrže genetički kod koji određuje stvaranje neophodnih polimera aminokiselina, proteina. Izlaganjem biljaka česticama MNPs povećava se rizik od mogućih oštećenja i mutacija molekule DNA te daljnjeg razvitka genotoksičnosti na staničnoj na razini budući da MNPs mogu ući u biljne stanice, transportirati se do jezgre i uzrokovati oštećenja nasljedne tvari (Gosh i sur., 2016). Osim jezgre, MNPs mogu se transportirati i u druge organele koji sadrže vlastitu genetičku uputu, poput kloroplasta i mitohondrija, te oštetiti plastidnu i/ili mitohondrijsku DNA (Košpić, 2021). Dosadašnja istraživanja pokazala su da MNPs mogu izazvati izravna oštećenja DNA pri direktnoj reakciji sa molekulom, ili posredno, povećanjem ROS koje izazivaju oksidacijska oštećenja DNA (Košpić, 2021).

U radu Gosh i sur., (2016), stanice korijena vrste *Allium cepa* izložene su utjecaju ZnO-NPs kako bi se utvrdio utjecaj spomenutih nanočestica na molekulu DNA i genetički materijal. Ispitivanje razine oštećenja provedeno je u jezgrama stanica korijena metodom jednolančane gel elektroforeze. Koncentracija nanočestica od 0.4 mg/L uzrokovala je povećan broj lomova u lancima molekule DNA, što ukazuje na značajna oštećenja koja u konačnici mogu dovesti do mutacija pa i smrti stanice. Nadalje, u istom radu genotoksičnost ZnO-NPs dodatno je istražena praćenjem učestalosti kromosomskih aberacija, a rezultati su pokazali mostove prisutne u anafazi i telofazi mitoze te nepravilnu segregaciju kromosoma i smanjenje mitotskog indeksa (Gosh i sur., 2016).

U radu Kumari i sur. (2009), stanice korijena vrste *A. cepa* izlagane su djelovanju AgNPs različitih dimenzija. AgNPs promjera 100 nm dovele su do pojave genotoksičnog učinka, dok su čestice promjera od 20 nm u rasponu koncentracija od 5 do 20 µg/mL uzrokovale mitotičke i mejotičke malformacije poput nepravilnog sparivanja sestrinskih kromatida te nemogućnosti formiranja diobenog vretena (Kumari i sur., 2009).

ROS molekule svoj štetan učinak iskazuju posredno, a na DNA djeluju različitim mehanizmima poput pomicanja okvira čitanja, delecije, modifikacija nukleotidnih baza, dvolančanih lomova i kromosomskih aberacija. Posljedica djelovanja ROS molekula spomenutim mehanizmima rezultira genotoksičnim učincima te oštećenjima molekule DNA (Košpić, 2021). Najreaktivniji predstavnik ROS molekula je hidroksilni radikal (eng. *hydroxyl radical*, HO·) dok se kao najzastupljenija modifikacija nukleotidnih baza pojavljuje se oksidacija gvanina u hidroksi-gvanin djelovanjem singletnog kisika (eng. *singlet oxygen*, <sup>1</sup>O<sub>2</sub>).

Spomenuta modifikacija uzrokuje poremećeno sparivanje dušičnih baza, što u konačnici rezultira nastajanjem mutacija (Košpić, 2021). Oksidacijske promjene osim različitih mutacija mogu dovesti do metilacije citozina, što posljedično dovodi do promjena u ekspresiji gena (Košpić, 2021). Određene vrste MNPs kao npr. TiO<sub>2</sub>-NPs pri većim koncentracijama ostvaruju vrlo štetan učinak na biljne organizme i okoliš jer posljedično mogu ući u hranidbeni lanac. Tretiranje sjemenki špinata ovim nanočesticama pokazalo je genotoksični učinak TiO<sub>2</sub>-NPs te potencijalno oštećenje DNA molekule. Toksično djelovanje na biljni genom i nasljedni materijal posredovano je stvaranjem i akumulacijom ROS molekula (Gordillo-Delgado i sur., 2020).

Odgovor biljnog genoma na toksična djelovanja MNPs ovisi o vrsti, koncentraciji, dimenzijama MNPs koje djeluju na stanice biljnog organizma. Genotoksični učinci mogu dugoročno utjecati na reprodukciju, otpornost biljnog materijala na stresore, te općenito narušiti ekološku i poljoprivrednu održivost biljaka (Gosh i sur., 2016; Tkalec i sur., 2019).

#### 4. ZAKLJUČAK

Nanotehnologija je posljednjih desetljeća donijela inovacije i pozitivne učinke u raznovrsnim granama znanosti poput mehanike, medicine, farmacije, ali i djelatnostima kao što su agronomija i poljoprivreda. Povećana uporaba nanočestica, posebno MNPs donosi pozitivne i negativne posljedice. Prisutnost MNPs u pripravcima gnojiva i pesticida dovodi do međudjelovanja MNPs s biljnim organizmima gdje iskazuju svoja fitotoksična djelovanja. Fitotoksični učinci mogu se primjetiti na različitim organima biljaka poput korijena te substancijskim komponentama tj. staničnim organelima poput kloroplasta. Nadalje, pretjerana akumulacija MNPs dovodi do oštećenja biljnog genoma i molekule DNA. Fitotoksičnost i razina štetnosti koju uzrokuju pojedine vrste MNPs ovisi o njihovim svojstvima, koncentraciji, veličini te vrsti biljke koja je izložena njihovoj akumulaciji. Provedena istraživanja ističu AgNPs kao nanočestice s najviše toksičnih posljedica po biljni organizam, no to ne znači da i ostale vrste poput CuO-NPs, ZnO-NPs te TiO<sub>2</sub>-NPs pri većim koncentracijama ne mogu uzrokovati slične učinke. Fitotoksični mehanizam djelovanja MNPs na biljke još se istražuje, a nova saznanja mogla bi pomoći pri razumijevanju i osvještenijoj uporabi MNPs u djelatnostima gdje ostvaruju kontakt sa biljkama, ali i okolišem.

## 5. LITERATURA

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., i Walter, P. (2002). Molecular biology of the cell (5. izdanje). NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21054/>
- Al-Khayri, J. M., Rashmi, R., Ulhas, R. S., Sudheer, W. N., Banadka, A., Nagella, P., Aldaej, M. I., Rezk, A. A. S., Shehata, W. F., i Almaghasla, M. I. (2023). The role of nanoparticles in response of plants to abiotic stress at physiological, biochemical, and molecular levels. *Plants*, 12(2), 292. <https://doi.org/10.3390/plants12020292>
- Altammar, K. A. (2023). A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1155622. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1155622>
- Balen, B. (2016). Promjene u ekspresiji biljnih proteina izazvane nanočesticama srebra. *Educatio Biologiae*, 2, 115-130.
- Bathi, J. R., Wright, L., i Khan, E. (2022). Critical review of engineered nanoparticles: environmental concentrations and toxicity. *Current Pollution Reports*, 8(4), 498–518. <https://doi.org/10.1007/s40726-022-00237-4>
- Baucom, R. S., Heath, K. D., i Chambers, S. M. (2020). Plant-environment interactions from the lens of plant stress, reproduction, and mutualisms. *American Journal of Botany*, 107(2), 175–178. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1437>
- Bažok, R., i Cenko, P. (2016). Fitotoksičnost kombinacija insekticidnih i fungicidnih pripravaka na ukrasnu vrstu *Petunia sp.* *Poljoprivreda*, 2, 34-39.
- Bhatti, R., Shakeel, H., Malik, K., Qasim, M., Khan, M. A., Ahmed, N., i Jabeen, S. (2022). Inorganic nanoparticles: toxic effects, mechanisms of cytotoxicity and phytochemical interactions. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 12(4), 757–762. <https://doi.org/10.34172/apb.2022.077>
- Biba, R. (2022). Fiziološki i proteomski odgovori klijanca duhana (*Nicotiana tabacum L.*) na izlaganje nanočesticama srebra stabiliziranih različitim omotačima. Doktorski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.
- Biba, R., Košpić, K., Komazec, B., Markulin, D., Cvjetko, P., Pavoković, D., Štefanić, P. P., Tkalec, M., i Balen, B. (2021). Surface coating-modulated phytotoxic responses of silver

nanoparticles in plants and freshwater green algae. *Nanomaterials*, 12(1), 24. <https://doi.org/10.3390/nano12010024>

Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., i Caro, N. (2021). Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7202. <https://doi.org/10.3390/ijms2213720>

Cai, H., i Gao, D. (2011). Phytotoxicity of salts in composted sewage sludge and correlation with sodium chloride, calcium nitrate, and magnesium nitrate. *Journal of Plant Nutrition*, 34(12), 1788–1796. <https://doi.org/10.1080/01904167.2011.600406>

Cruz-Luna, A. R., Vásquez-López, A., Rojas-Chávez, H., Valdés-Madriral, M. A., Cruz-Martínez, H., i Medina, D. I. (2023). Engineered metal oxide nanoparticles as fungicides for plant disease control. *Plants*, 12(13), 2461. <https://doi.org/10.3390/plants12132461>

Da Costa, M. V. J., i Sharma, P. K. (2016). Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*. *Photosynthetica*, 54(1), 110–119. <https://doi.org/10.1007/s11099-015-0167-5>

Das, I., Gogoi, B., Sharma, B., i Borah, D. (2022). Role of metal-nanoparticles in farming practices: an insight. *3 Biotech*, 12(11), 294. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03361-6>

Elhawat, N., Alshaal, T., Hamad, E., El-Nahrawy, E., Omara, A. E. D., El-Nahrawy, S., Elsakhawy, T., Ghazi, A., Abdalla, N., Domokos-Szabolcsy, V., i El-Ramady, H. (2018). Nanoparticle-associated phytotoxicity and abiotic stress under agroecosystems. *Springer eBooks* (pp. 241–268). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-76708-6\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-76708-6_10)

Feigl, G. (2023). The impact of copper oxide nanoparticles on plant growth: a comprehensive review. *Journal of Plant Interactions*, 18(1). <https://doi.org/10.1080/17429145.2023.2243098>

Ghosh, M., Jana, A., Sinha, S., Jothiramajayam, M., Nag, A., Chakraborty, A., Mukherjee, A., i Mukherjee, A. (2016). Effects of ZnO nanoparticles in plants: cytotoxicity, genotoxicity, deregulation of antioxidant defenses, and cell-cycle arrest. *Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 807, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2016.07.006>

Gordillo-Delgado, F., Zuluaga-Acosta, J., i Restrepo-Guerrero, G. (2020). Effect of the suspension of Ag-incorporated TiO<sub>2</sub> nanoparticles (Ag-TiO<sub>2</sub> NPs) on certain growth,

physiology and phytotoxicity parameters in spinach seedlings. *PLoS One*, 15(12), e0244511. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244511>

Jiang, H., Qiu, X., Li, G., Li, W., i Yin, L. (2014). Silver nanoparticles induced accumulation of reactive oxygen species and alteration of antioxidant systems in the aquatic plant *Spirodela polyrhiza*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(6), 1398–1405. <https://doi.org/10.1002/etc.2577>

Jurkin, T., i Gotić, M. (2013). Mikroemulzijska sinteza nanočestica. *Kemija u Industriji*, 62 (11-12), 401–415.

Kaningini, A. G., Nelwamondo, A. M., Azizi, S., Maaza, M., i Mohale, K. C. (2022). Metal nanoparticles in agriculture: a review of possible use. *Coatings*, 12(10), 1586. <https://doi.org/10.3390/coatings12101586>

Košpić, K. (2023). Fitotoksični učinci nanočestica srebra stabiliziranih različitim omotačima na fiziološke procese u odraslim biljkama duhana (*Nicotiana tabacum L.*). Doktorski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.

Kumari, M., Mukherjee, A., i Chandrasekaran, N. (2009). Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Science of the Total Environment*, 407(19), 5243–5246. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.06.024>

Lalau, C. M., De Almeida Mohedano, R., Schmidt, D. C., Bouzon, Z. L., Ouriques, L. C., Santos, R. W. D., Da Costa, C. H., Vicentini, D. S., i Matias, W. G. (2014). Toxicological effects of copper oxide nanoparticles on the growth rate, photosynthetic pigment content, and cell morphology of the duckweed *Landoltia punctata*. *Protoplasma*, 252(1), 221–229. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0671-7>

Lespes, G., Faucher, S., i Slaveykova, V. I. (2020). Natural nanoparticles, anthropogenic nanoparticles, where is the frontier? *Frontiers in Environmental Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00071>

Li, P., Xia, Y., Song, K., i Liu, D. (2024). The impact of nanomaterials on photosynthesis and antioxidant mechanisms in gramineae plants: research progress and future prospects. *Plants*, 13(7), 984. <https://doi.org/10.3390/plants13070984>

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

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.01.016>

Ulhassan, Z., Yang, S., Khan, A. R., Hamid, Y., Muhammad, S., Azhar, W., Salam, A., Sheteiwy, M. S., Aftab, T., Wei, J. A., i Zhou, W. (2023). Potential toxic effects of metal or metallic nanoparticles in plants and their detoxification mechanisms. *Emerging Contaminants and Associated Treatment Technologies* (pp. 67–85). [https://doi.org/10.1007/978-3-031-22269-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-031-22269-6_3)

Pevalek-Kozlina, B. (2003). Fiziologija bilja (1.izdanje). Profil.

Qian, H., Peng, X., Han, X., Ren, J., Sun, L., i Fu, Z. (2013). Comparison of the toxicity of silver nanoparticles and silver ions on the growth of terrestrial plant model *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Environmental Sciences*, 25(9), 1947–1956. [https://doi.org/10.1016/s1001-0742\(12\)60301-5](https://doi.org/10.1016/s1001-0742(12)60301-5)

Raviv, M., Lieth, H., i Bar-Tal, A. (2019). Soilless culture: theory and practice. Academic Press.

Rejeb, I. B., Pastor, V., i Mauch-Mani, B. (2014). Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. *Plants*, 3(4), 458–475. <https://doi.org/10.3390/plants3040458>

Santos, T. B. D., Ribas, A. F., De Souza, S. G. H., Budzinski, I. G. F., i Domingues, D. S. (2022). Physiological responses to drought, salinity, and heat stress in plants: a review. *Stresses*, 2(1), 113–135. <https://doi.org/10.3390/stresses2010009>

Tkalec, M., Štefanić, P. P., i Balen, B. (2019). Phytotoxicity of silver nanoparticles and defence mechanisms. *Comprehensive Analytical Chemistry* (pp. 145–198). <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2019.04.010>

Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, S., Srivastava, P. K., Singh, V. P., Singh, S., Prasad, S. M., Singh, P. K., Dubey, N. K., Pandey, A. C., i Chauhan, D. K. (2017). Nitric oxide alleviates silver nanoparticles (AgNPs)-induced phytotoxicity in *Pisum sativum* seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.015>



Vannini, C., Domingo, G., Onelli, E., De Mattia, F., Bruni, I., Marsoni, M., i Bracale, M. (2014). Phytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles exposure on germinating wheat seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 171(13), 1142–1148. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.05.002>

Venzhik, Y. V., Moshkov, I. E., i Dykman, L. A. (2021). Influence of nanoparticles of metals and their oxides on the photosynthetic apparatus of plants. *Biology Bulletin of the Russian Academy of Sciences*, 48(2), 140–155. <https://doi.org/10.1134/s106235902102014x>

Yin, L., Cheng, Y., Colman, B. P., Auffan, M., Wiesner, M., Rose, J., i Bernhardt, E. S. (2011). More than the ions: the effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. *Environmental Science & Technology*, 45(6), 2360-2367. <https://doi.org/10.1021/es103995x>