

Nina DOSKOCZ, Monika ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ\*

## **OCENA ODDZIAŁYWANIA NANOCZĄSTEK $ZrO_2$ NA WZROST RZĘSY WODNEJ *LEMNA MINOR***

Wzrost produkcji nanomateriałów oraz ich szerokie wykorzystanie przyczynia się do rozprzestrzeniania nanocząstek w środowisku. Z opublikowanych danych wynika, iż są one stabilne w wodzie, wysoce reaktywne a ich niewielkie wymiary umożliwiają szybką penetrację do tkanek i narządów, stąd też mogą wywoływać szkodliwe efekty u organizmów wodnych i lądowych. W pracy zbadano ekotoksyczność nanocząstek tlenku cyrkonu w stosunku do rzęsy wodnej *Lemna minor* (rzęsa drobna). Badania przeprowadzono w zakresie stężeń od 500 mg/l do 0,34 mg/l. Wykazano, iż nanocząstki tlenku cyrkonu wpływały szkodliwie na wzrost rzęsy drobnej *Lemna minor*. W najwyższych badanych stężeniach (500–3,9 mg/l) badane nanocząstki hamowały zarówno wzrost liczby listków jak również i ich powierzchnię. Wyznaczona wartość stężenia  $EC_{50}$  po 168h dla nano- $ZrO_2$  w stosunku do powierzchni listków rośliny wynosiła 277 mg/L, natomiast w stosunku do liczby listków  $> 500$  mg/L. Dodatkowo, w zakresie stężeń 1,9–0,9 mg/l zaobserwowano niewielką stymulację wzrostu rzęsy drobnej *Lemna minor* w obecności badanego nanozwiązku. Uzyskane wyniki wskazują także, iż badany nanozwiązek w stosunku do rzęsy drobnej *Lemna minor* jest bardziej toksyczny od tego samego związku w „makro” postaci. Wskazuje to, że forma nano danej substancji może wskazywać inne właściwości i stanowić dużo większe zagrożenie dla środowiska niż ta sama substancja w dużej formie

### 1. WSTĘP

Szybki rozwój nanotechnologii zwiększa ryzyko uwalniania nanomateriałów do środowiska podczas ich produkcji czy stosowania [4, 19, 8]. Nanocząstki (NP) dzięki swoim wyjątkowym właściwościom chemicznym i fizycznym stały się atrakcyjnym materiałem dla zastosowań komercyjnych, w ochronie środowiska i energetyce czy terapeutycznych. Wykorzystuje się je m.in. do produkcji bardziej wydajnych i opłacalnych technologii produkcji energii jak ogniw słonecznych, ogniw paliwowych, baterii, biopaliwa. W ochronie środowiska nanocząstki są wykorzystywane w proce-

---

\* Politechnika Warszawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii ul. Nowowiejska 20, 00-653 Warszawa, nr tel. (22) 2347903, nina.chrzanowska@is.pw.edu.pl, monika.radziwill@is.pw.edu.pl

sach oczyszczania ścieków i uzdatniania wody, czy zmniejszenia emisji zanieczyszczeń. W medycynie stosuje się je, jako nośniki leków, w produkcji narzędzi chirurgicznych, testów diagnostycznych. Znajdują również zastosowanie w produkcji farb, różnego rodzaju powłok antybakteryjnych, katalizatorów, filtrów słonecznych kremów, różnych środków przeciwbakteryjnych. Tak powszechne stosowanie nanocząstek wzbudziło szereg obaw dotyczących zagrożeń zarówno dla środowiska jak i dla ludzi [15]. Nanocząstki ze względu na swoje niewielkie rozmiary i wysoką reaktywność, w porównaniu z cząstkami o większych rozmiarach mają zupełnie inny profil toksyczności [5].

Stąd też trudne do przewidzenia są skutki ekologiczne, jakie mogą wywołać. Konieczne są, więc szeroko zakrojone badania ekotoksykologiczne nanomateriałów, które nie tylko przyczynią się do zapewnienia bezpieczeństwa zastosowań nanotechnologii, ale pomogą również opracować materiały, najmniej szkodliwe dla organizmów [3].

Obecnie pojawiają się dane dotyczące ekotoksyczności nanocząstek w stosunku do takich organizmów jak: bakterie, glony i ryby, zooplankton czy rośliny wyższe. Wykazano m.in., iż nanocząstki  $\text{TiO}_2$  hamowały wzrost glonów, skorupiaków *Daphnia magna* oraz powodowały zaburzenia reprodukcji *Danio rerio* [17, 20, 22].

Dane dotyczące toksyczności nanocząstek w stosunku do roślin, nadal są jednak nieliczne [14]. Rośliny stanowią zasadnicze elementy wszystkich ekosystemów i odgrywają kluczową rolę w losach i transporcie nanocząstek w środowisku i mogą być przyczyną ich bioakumulacji w łańcuchu pokarmowym [16, 6]. Wpływ NP na procesy fizjologiczne roślin są bardzo istotne do oceny bezpieczeństwa stosowanych materiałów.

Ograniczona liczba publikacji odnośnie fitotoksyczności wykazała zróżnicowany wpływ nanocząstek na rośliny wyższe. Stwierdzono m.in., że mieszanina nanokrztenu ( $\text{SiO}_2$ ) i ditlenku tytanu ( $\text{TiO}_2$ ) w niskich stężeniach, powodowała przyspieszenie kiełkowania i wzrostu soi [11], z kolei badania przeprowadzone przez Song i wsp. (2012) wykazały, że nanocząstki ditlenku tytanu w niskich stężeniach stymulowały wzrost *Lemna minor*, natomiast w wysokich stężeniach hamowały wzrost tych roślin [18]. Stwierdzono również, że nanocząstki tlenu glinu znacznie zwiększały biomasę *L. minor*, przy czym dodatkowo zaobserwowano zmiany morfologiczne m.in. zwiększenie długości korzeni, liczby liści oraz zwiększona wydajność fotosyntezy [12].

Celem w niniejszej pracy, było badanie fitotoksyczności nanocząstek tlenu cyrkonu (nano- $\text{ZrO}_2$ ) w odniesieniu do rzęsy drobnej *Lemna minor*. Rzęsa drobna jest odpowiednią rośliną do oceny ekotoksyczności związków chemicznych. Jest rośliną słodkowodną, szeroko rozpowszechnioną na świecie. Należy do organizmów łatwo przystosowujących się do zmieniających się warunków środowiska. Z drugiej strony jest wrażliwa na zanieczyszczenia substancjami toksycznymi. Cechami, które sprawiają, że jest ona organizmem bardzo wygodnym w badaniach laboratoryjnych są jej małe rozmiary, prosta budowa, wegetatywny sposób rozmnażania i krótki czas między

kolejnymi podziałami [2]. Badania pokazują, iż *Lemna minor*, jest wrażliwa na wiele toksyn stąd też należy do najchętniej stosowanych w badaniach ekotoksyczności roślin wyższych, co znajduje potwierdzenie w licznych rozporządzeniach dotyczących oceny ryzyka w środowisku wodnym [13, 12].

Nanocząstki tlenku cyrkonu są wykorzystywane do usuwania zanieczyszczeń z wodny m.in. arsenu, jako katalizator i w bioinżynierii – do produkcji protez i implantów. Tak szerokie wykorzystanie nano- $ZrO_2$  stwarza możliwości ich migracji w środowisku i interakcji z organizmami w tym z roślinami wyższymi, stąd też zainteresowanie tym rodzajem nanocząstek w niniejszej pracy. W pracy dokonano porównania efektu oddziaływania na rzęsę drobną formy nanocząsteczkowej tlenku cyrkonu z tlenkiem tego związku.

## 2. MATERIAŁY I METODY

### 2.1. BADANE ZWIĄZKI

Nanocząstki tlenku cyrkonu, nanoproszek  $< 100$  nm, o powierzchni właściwej  $\geq 25$  m<sup>2</sup>/g uzyskano z firmy Sigma-Aldrich. Roztwory wyjściowe nano- $ZrO_2$  oraz  $ZrO_2$  (Sigma-Aldrich) sporządzano w wodzie dejonizowanej. Ze względu na tendencję tworzenia agregatów przez związki, uzyskane roztwory związków sonikowano przez 30 min za pomocą ultradźwiękowego dezintegratora typu MDM-10 (0,4 kW z częstotliwością 20kHz). Tak przygotowane roztwory rozcieńczano (wykorzystując medium odpowiednio do procedur testu) w szeregu malejącym o ilorazie postępu geometrycznego rozcieńczeń  $q=2$ . W ten sposób uzyskano roztwory w zakresie stężeń 500–0,9 mg/l.

### 2.2. TEST WZROSTOWY Z *LEMNA MINOR*

Test wzrostowy z *Lemna minor* wykonano według procedury PN-EN ISO 20079 [PN-EN ISO 20079 2004]. Do wykonania określonych stężeń nano- $ZrO_2$  zastosowano mineralną pożywkę wzrostową Steinberga (zmodyfikowaną przez Altenburgera). W każdym badanym stężeniu i kontroli umieszczano po trzy rośliny zawierające po 3 listki (frondy). Hodowle testowe prowadzono przez 7 dni w aparacie Fitotron przy oświetleniu ciągłym 3000 lx i w temperaturze 25°C. Pomiarów powierzchni i liczby listków na początku i na końcu testu dokonano przy użyciu oprogramowania komputerowego do cyfrowej analizy obrazu UTHSCA ImageTool wersja 3.0.

### 3. PROCEDURY OBLICZENIOWE

Określenie inhibicji *Lemna minor*. Szybkość wzrostu rzęsy wodnej określono na podstawie równania:

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_o}{t_n} \quad (1)$$

gdzie:

$N_o$  – liczba komórek glonów w 1 cm<sup>3</sup> w czasie  $t_o$ ;

$N_n$  – liczba komórek glonów w 1 cm<sup>3</sup> w czasie  $t$ ;

$t_n$  – czas ( $t - t_o$ ).

Inhibicję wzrostu obliczano zgodnie z równaniem:

$$I\mu_i = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c} \cdot 100 \quad (2)$$

gdzie:

$I\mu_i$  – procent inhibicji;

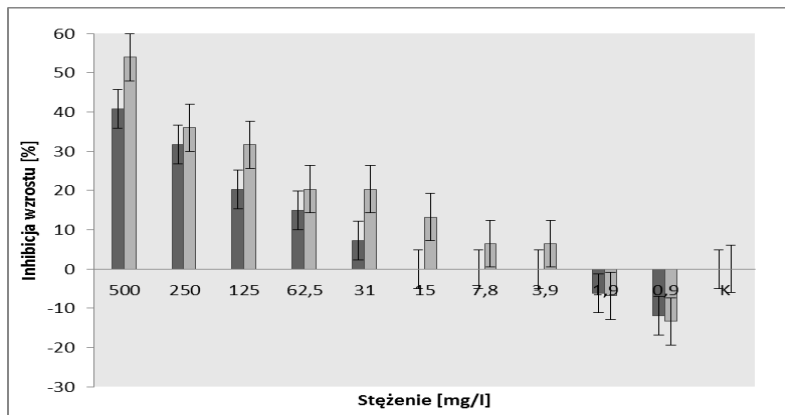
$\mu_i$  – średnie tempo wzrostu glonów w badanym stężeniu;

$\mu_c$  – średnie tempo wzrostu glonów w próbie kontrolnej.

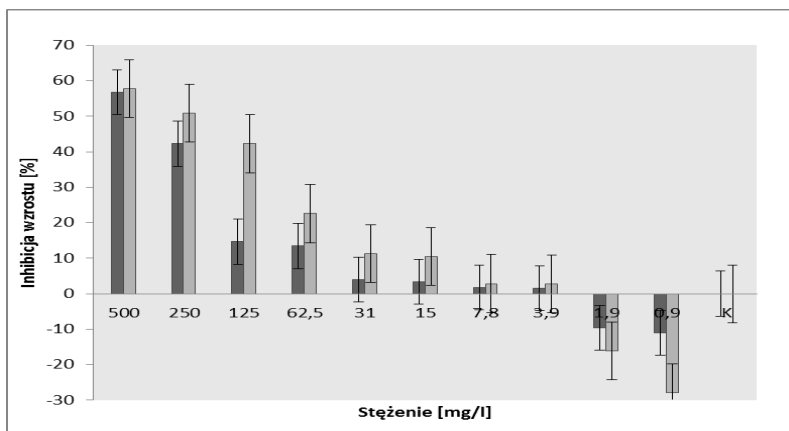
Obliczenie stężeń. Stężenia efektywne EC50-t obliczono metodą probitową, określając 95-procentowe przedziały ufności [21]. Najwyższe stężenia niewywołujące efektów szkodliwych (NOEC) wyznaczono stosując jednoczynnikową analizę wariancji i test Tukey'a [1]

### 4. WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Wyniki badań wpływu nanocząstek tlenku cyrkonu i tlenku cyrkonu na wzrost rzęsy wodnej *Lemna minor* przedstawiono na wykresach 1–2, oraz tabeli 1. Badane związki wpływały niekorzystnie na wzrost roślin zarówno w odniesieniu do przyrostu liczby listków jak i ich powierzchni.



Rys. 1. Wpływ nanocząstek tlenku cyrkonu (jasny kolor) i tlenku cyrkonu (kolor ciemny) na wzrost rzęsy wodnej *Lemna minor*- liczba listków rośliny.



Rys. 2. Wpływ nanocząstek tlenku cyrkonu (jasny kolor) i tlenku cyrkonu (kolor ciemny) na wzrost rzęsy wodnej *Lemna minor*- powierzchnia listków rośliny.

Tabela 1. Wartości  $EC_{50-168h}$  i  $NOEC_{168h}$  w odniesieniu do wzrostu *Lemna minor*

Rodzaj próbki	Zakres stężeń [mg/l]	<i>Lemna minor</i>			
		Liczba listków		Powierzchnia	
		$EC_{50-168h}$ [mg/l]	$NOEC_{168h}$ [mg/l]	$EC_{50-168h}$ [mg/l]	$NOEC_{168h}$ [mg/l]
Nano-ZrO <sub>2</sub>	500-0,9	>500	< 3,9	277	< 3,9
ZrO <sub>2</sub>		>500	≤ 3,9	401	< 3,9

Stwierdzono, iż najwyższe przebadane w teście stężenie nanocząstek tlenku cyrkonu – 500 mg/l powodowało ponad 57% inhibicję wzrostu powierzchni listków, natomiast w stosunku do liczby listków – 54% (rys. 1, rys. 2). Wyznaczona wartość stężenia  $EC_{50}$  po 168h dla nano-ZrO<sub>2</sub> wynosiła 277 mg/l w stosunku dla powierzchni listków rośliny i > 500 mg/l w stosunku do liczby listków i (tabela 1).

Badane organizmy okazały się mniej wrażliwe na działanie tlenku cyrkonu. Inhibicja wzrostu liczby listków w najwyższym badanym stężeniu wynosiła 40,87% (Rys. 1), natomiast, gdy badanym parametrem był wzrost powierzchni liści inhibicja wynosiła 56,81 % (Rys. 2). Stężenie efektywne ZrO<sub>2</sub> po 168h wobec rzęsy drobnej (powierzchnia listków rośliny) wynosiło 401 mg/L, natomiast wobec liczby listków *Lemna minor* > 500 mg/L (tabela 1).

Uzyskane wyniki wskazują, iż badany nanozwiązek jest bardziej toksyczny od tego samego związku w formie „makro” postaci (tabela 1). Należy pamiętać, że często forma *nano* danej substancji wykazuje inne właściwości i może stanowić dużo większe zagrożenie dla środowiska niż ta sama substancja w dużej formie [7, 23].

Dodatkowo, w zakresie stężeń 1,9–0,9 mg/l zaobserwowano niewielką stymulację wzrostu rzęsy drobnej *Lemna minor* w obecności badanego nanozwiązku (rys. 1 i 2). Wyniki te wskazują, iż nano-ZrO<sub>2</sub> zgodnie z zjawiskiem hormezy mają zdolność wywierania działania toksycznego przy wysokich stężeniach oraz promowanie wzrostu rośliny przy niższych stężeniach. Podobny efekt zaobserwowano u ZrO<sub>2</sub>.

Wcześniejsze badania dotyczące wpływu ZrO<sub>2</sub> na wzrost roślin, również wskazały na stymulujące właściwości tych nanocząstek. Stwierdzono m.in., że nano-ZrO<sub>2</sub>, w zakresie stężeń 10,93–0,34 mg/kg s.m. gleby, powodował większy niż w kontroli wzrost rzeżuchy (*Lepidium sativum*) oraz u gorczycy (*Sinapis alba*) w zakresie 21,87–0,34 mg/kg s.m. gleby [6].

Podobnie w badaniach Gao i wsp. (2008) wykazano, że nanocząstki ditlenku tytanu stymulują wzrost szpinaku, natomiast Song i wsp. (2012), udowodnili, iż nano-TiO<sub>2</sub> hamuje wzrost *Lemna minor* w wysokich stężeniach, i stymuluje w niskich (poniżej 200 mg/l) [9, 18]. JuheL i wsp. także potwierdzili stymulujący wpływ nanocząstek na procesy fizjologiczne roślin wyższych. Nanocząstki tlenku glinu powodowały zwiększanie akumulacji biomasy *Lemna minor*, oraz dodatkowo zaobserwowano zwiększoną wydajność fotosyntezy a także zmiany morfologiczne, takie jak: zwiększenie długości korzeni i liczby liści [9, 12].

Badania wskazują, iż prawdopodobnie dzieje się tak, gdyż komórki roślinne w obecności nanocząstek zwiększają aktywność obrony antyoksydacyjnej enzymów w celu wyeliminowania nagromadzonych reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*, ROS) w swoich komórkach [10, 12, 18].

## 5. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Przeprowadzone badania dotyczące określenia fitotoksyczności nanotlenku cyrkonu (nano-ZrO<sub>2</sub>) wobec rzęsy drobnej *Lemna minor* pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Wykazano, iż nanocząstki tlenku cyrkonu wpływały szkodliwie na wzrost rzęsy drobnej *Lemna minor*; W najwyższych badanych stężeniach nanocząstki hamowały przyrost liczby listków jak i ich powierzchni, natomiast w niższych stężeniach obserwowano stymulację wzrostu rośliny;
2. Nanocząstki tlenku cyrkonu okazały się najbardziej toksyczne dla *Lemna minor*, kiedy badanym parametrem był wzrost powierzchni liści;
3. Toksyczność tlenku cyrkonu (ZrO<sub>2</sub>) w ich cząsteczkowej postaci we wszystkich badanych stężeniach była niższa niż związków w formie nano.

Niniejsze badania potwierdziły dane z piśmiennictwa, wskazujące, na możliwości inhibicji i stymulacji procesów fizjologicznych roślin przez nanocząstki. Uzyskane wyniki potwierdzają, więc potrzebę unieszkodliwiania odpadów i osadów zawierających nanocząstki, a także konieczność stałego monitoringu tych zanieczyszczeń. Istnieje również konieczność rozwoju metod analitycznych oraz modelowania w celu dokładnego określania narażenia oraz wyjaśnienia mechanizmów oddziaływania nanocząstek na procesy fizjologiczne roślin. Bardzo ważne jest przeprowadzenie badań chronicznych efektów działania tych związków, również na poziomie molekularnym.

## LITERATURA

- [1] BERTHOUEX P.M., BROWN L.C., *Statistic for environmental engineers*, Lewis Publishers, C.R.C. Press Inc. 1994.
- [2] BIELIŃSKA M., NAŁĘCZ-JAWRCKI G., *Ocena toksyczności trzech fluorochinolonów dla rzęsy drobnej Lemna minor*, Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, 2009, Vol. 4, 24–30.
- [3] BING W., RICK H., MANORANJAN S., XUEYANG F., PRATIM B., YINJIE J.T., *Bacterial responses to Cu-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles*, Science of The Total Environment, 2010, Vol. 408, No. 7, 1755–1758.
- [4] BOXALL A.B., TIEDE K., CHAUDHRY Q., *Engineered nanomaterials in soils and water: how do they behave and could they pose a risk to human health?* Nanomedicine, 2007, Vo. 2, No. 6, 919–927.
- [5] BRAYNERC R., DAHOUMANE S.A., YEPREMIAN C., DJEDIAT C., MEYER M., COUTE A., FIEVET F., *ZnO Nanoparticles: Synthesis, characterization, and ecotoxicological studies*, Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids, 2010, Vol. 26, No. 9, 6522–6528.
- [6] CHRZANOWSKA N., ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ M., *Oddziaływanie wybranych nanocząstek na rośliny wyższe*, [w:] Interdyscyplinarne Zagadnienia w Inżynierii i Ochronie Środowiska, pod red. T.M. Traczewskiej, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2012, 111–122.
- [7] CHRZANOWSKA N., ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ M., *The impacts of aluminum and zirconium nano-oxides on planktonic and biofilm bacteria*, Desalination and Water Treatment – w druku.

- [8] FARRÉ M., GAJDA-SCHRANTZ K., KANTIANI L., BARCELÓ D., *Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment*, Analytical and bioanalytical chemistry, 2009, Vol. 393, No. 1, 81–95.
- [9] GAO F., LIU C., QU C., ZHENG L., YANG F., SU M., HONG F., *Was improvement of spinach growth by nano-TiO<sub>2</sub> treatment related to the changes of rubisco activase?* Biometals, 2008, Vol. 21, No. 2, 211–217.
- [10] HAO L., WANG Z., XING B., *Effect of sub-acute exposure to TiO<sub>2</sub> nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in juvenile carp (Cyprinus carpio)*, Journal of environmental sciences, 2009, Vol. 21, No. 10, 1459–1466.
- [11] HONG F.S., YANG F., LIU C., GAO Q., WAN Z., GU F., WU C., MA Z., ZHOU J., YANG P., *Influence of nano-TiO<sub>2</sub> on the chloroplast aging of spinach under light*, Biological trace element research, 2005, Vol. 104, No. 3, 249–260.
- [12] JUHEL G., BATISSE E., HUGUES Q., DALY D., VAN PELT F.N., O'HALLORAN J., JANSEN M.A., *Alumina nanoparticles enhance growth of Lemna minor*, Aquatic toxicology, 2011, Vol. 105, No. (3-4), 328–336.
- [13] LAHIVE E., O'HALLORAN J., JANSEN M.A.K., *Differential sensitivity of four Lemnaceae species to zinc sulphate*, Environmental and Experimental Botany, 2011, Vol. 71, no. 1, 25–33
- [14] LANGERUD B. R., SANDVIK M., *Development of containerized Picea abies (L.) Karst. seedlings grown with heavy watering on various peat, perlite and mineral wool mixtures*, New Forest, 1987, Vol. 1, No. 2, 89–99.
- [15] Li L., Sillanpää M., Tuominen M., Lounatmaa K., Schultz E., *Behavior of titanium dioxide nanoparticles in Lemna minor growth test conditions*, Ecotoxicology and Environmental Safety, 2013, Vol. 88, No. 1, 89–94.
- [16] ŁEBKOWSKA M., ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ M., *Występowanie i ekotoksyczność nanocząstek*, Ochrona Środowiska, 2011, Vol. 33, No. 4, 23–26.
- [17] SADIQ I.M., DALAI S., CHANDRASEKARAN N., MUKHERJEE A., *Ecotoxicity study of titania (TiO<sub>2</sub>) NPs on two microalgae species: Scenedesmus sp. and Chlorella sp.*, Ecotoxicology and Environmental Safety, 2011, Vol. 74, No. 5, 1180–1118.
- [18] SONG G., GAO Y., WU H., HOU W., ZHANG C., MA H., *Physiological effect of anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles on Lemna minor*, Environmental toxicology and chemistry, 2012 Vol. 31, No. 9, 2147–2152.
- [19] TIEDE K., BOXALL A.B, TEAR S.P., LEWIS J., DAVID H., HASSELLÖV M., *Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment*, Food additives & contaminants, 2008, Vol. 25, No. 7, 795–821.
- [20] VELZEBOER I., HENDRIKS A.J, RAGAS A.M., VAN DE MEENT D., *Aquatic ecotoxicity tests of some nanomaterials*, Environmental toxicology and chemistry, 2008, Vol. 27, No. 9, 1942–1947.
- [21] WEBER E., *Grundriss der biologischen Statistik für Naturwissenschaftler, Landwirte und Mediziner*, Veb. Fischer Verlag. Jena, 1972.
- [22] WIENCH K., WOHLLEBEN W., HISGEN V., RADKE K., SALINAS E., ZOK S., *Acute and chronic effects of nano- and non-nano-scale TiO<sub>2</sub> and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate Daphnia magna*, Chemosphere, 2009, Vol. 76, No. 10, 1356–1365.
- [23] ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ M., CHRZANOWSKA N., *Nanocząstki- nowe możliwości, nieznanne zagrożenia*, [w:] Ocena ryzyka zdrowotnego i ekologicznego na terenach rolniczych narażonych na oddziaływanie zanieczyszczeń chemicznych, Wydawnictwo Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy Puławy 2012, 31–33.

ASSESSING THE EFFECTS OF THE  $ZrO_2$  NANOPARTICLES ON *LEMNA MINOR*

Increased production of nanomaterials and their widespread use contributes to the spread of nanoparticles in the environment. Published data indicate that, they are stable in water, chemical reactivity, and their small dimensions (Nanoparticles are molecules of dimensions below 100 nm, they are of colloidal particle size, and are often smaller than eukaryotic cells and bacteria) allow their rapid penetration into tissues and organs. Therefore, harmful effects may cause in aquatic and terrestrial organisms. This paper presents results of ecotoxicological assessment of zirconium nanoparticles (nano- $ZrO_2$ ) in relation to higher plant: *Lemna minor*: Studies have been conducted in the concentration range 500–0,34 mg/l. zirconium nanoparticles exerted harmful influence on *Lemna minor* (lesser duckweed). In the highest concentration tested (500–3,9 mg/l), nano- $ZrO_2$  in the highest concentration tested inhibited increase in the number of leaves and their surface. The  $EC_{50}$  value after 168 hours for surface of the leaves of the plant was 277 mg/l and > 500 mg/L for number of leaves of the *Lemna minor*. Furthermore, the stimulation of these processes was observed when the concentration decreases (in concentration ranges 1,9–0,9 mg/l); The obtained results also indicate that the studied zirconium oxide nanoparticles are more toxic than the same compound in their ‘macro’ forms for *Lemna minor*. This indicates that the nano form of a given substance displays different properties and can pose greater danger to the environment than the same substance in its ‘macro’ form.