تأثیر نانوذرات اکسید روی بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum L.*)

منا رئیسی[1*]، علی‌اکبر قطبی راوندی[1]
[1*] دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران – raeisimona1@gmail.com

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی تأثیر نانوذرات اکسید روی (ZnO NPs) بر شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum L.*) انجام شد. بذرهای گوجه‌فرنگی رقم کارون پس از رشد در شرایط کنترل‌شده، با دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از ZnO NPs، همراه با کیتوزان ۰.۵٪ به‌صورت محلول‌پاشی تیمار شدند. نمونه‌برداری در فواصل زمانی ۲۴ و ۹۶ ساعت پس از تیمار صورت گرفت و شاخص‌های مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، کل اکسیدان تام (TOS) و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تیمار با ZnO NPs، به‌ویژه در غلظت بالا، موجب افزایش معنادار سطح TOS و MDA در مقایسه با شاهد گردید(به ترتیب برای TOS و MDA ، ۲۳.۶٪ و ۵۰.۴٪ افزایش در تیمار غلظت بالا اکسید روی نسبت به نمونه کنترل در زمان ۹۶ ساعت). این بیانگر القای تنش اکسیداتیو و آسیب غشایی است. همچنین فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در پاسخ به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن، به‌طور چشمگیری افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات اکسید روی، اثرات دوگانه‌ای بر گیاه گوجه‌فرنگی دارند و در غلظت‌های بالا می‌توانند موجب استرس اکسیداتیو شوند و پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاه در برابر این تنش فعال می‌شود.

مقدمه

کاربرد فزاینده ZnO NPs در صنایع مختلف، نگرانی‌هایی را در مورد انتقال آن‌ها به محیط زیست و اثرات بالقوه بر سیستم‌های زیستی ایجاد کرده است. گیاهان به عنوان پایه‌های زنجیره غذایی، نقش مهمی در جذب و تجمع این نانوذرات ایفا می‌کنند. با وجود مطالعات متعدد، نتایج متناقضی درباره اثرات ZnO NPsبر گیاهان گزارش شده است(Ahmed et al., 2021). از یک سو، تیمار گندم با این نانوذرات (۲۵۰-۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نه تنها اثر نامطلوبی نداشت، بلکه محتوای کلروفیل و پروتئین را افزایش داد . همچنین در برنج غلظت کم (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی، سبب افزایش زیست‌توده شد. مطالعات روی کلزا و یونجه نیز نشان داد سمیت گیاهی نانو اکسید روی کمتر از شکل یونی آن است.

در مقابل، شواهد متعددی از اثرات منفی این نانوذرات وجود دارد. تیمار آرابیدوپسیس با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، رشد و محتوای کلروفیل را به شدت کاهش داد. این نانوذرات در غلظت بالا اثر منفی بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی داشتند(Ahmed et al., 2021). همچنین نانو اکسید روی (۵ – ۰.۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) جوانه‌زنی تربچه و خیار را مهار کرد. اثرات دوگانه و وابسته به غلظت نیز در استویا مشاهده شد(Javed et al., 2017). این پژوهش با هدف بررسی سیستماتیک تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) و اکسیدان تام (TOS) در گیاه گوجه‌فرنگی طراحی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر نانوذرات اکسید روی بر شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه گوجه‌فرنگی انجام شد. بذرهای رقم کارون پس از ضدعفونی در بستر پرلیت-پیت‌ماس در اتاق رشد با شرایط کنترل‌شده (دمای ۲۵±۲ درجه، رطوبت ۶۰٪، دوره نوری ۱۶/۸ ساعت) کشت شدند. گیاهان چهار هفته‌ای با دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذرات اکسید روی (میانگین اندازه ۳۰ نانومتر) همراه با ۰.۵٪ کیتوزان به‌صورت محلول‌پاشی تیمار شدند. گروه شاهد تنها با آب مقطر حاوی ۰.۵٪ کیتوزان تیمار گردید. نمونه‌برداری از برگ‌ها در زمان‌های ۲۴ و ۹۶ ساعت پس از تیمار انجام شد.

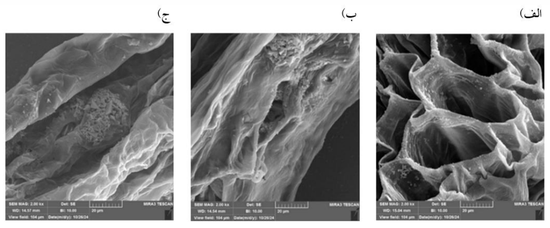
برگ‌های برداشت‌شده سریعاً در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس با استفاده از بافر استخراج سرد (پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار، EDTA ۰.۱ میلی‌مولار، PVP ۱٪ و Triton X-100 ۰.۱٪) هموژنیزه و پس از سانتریفیوژ، سوپرناتانت برای سنجش‌های بیوشیمیایی استفاده شد. میزان MDA با روش واکنش با اسید تیوباربیتوریک، TOS با استفاده از معرف xylenol orange–Fe^{3+}، و فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT به ترتیب با روش مهار احیای نیتروبلوترازولیوم و تجزیه پراکسید هیدروژن اندازه‌گیری شدند. تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از برش‌های عرضی برگ نیز انجام گرفت.

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی فاکتوریل با سه تکرار انجام و داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۰.۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

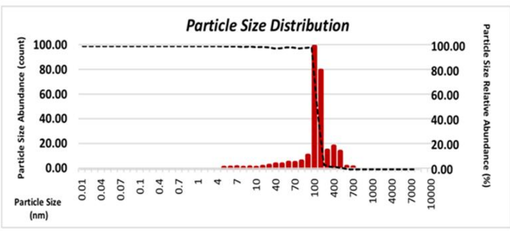
نتایج و بحث

ویژگی‌سازی نانوذرات اکسید روی با روش تفرق نور پویا (DLS) نشان داد که ذرات مورد استفاده دارای اندازه هیدرودینامیکی حدود ۱۳.۶۷ نانومتر، توزیع اندازه باریک PDI=۰.۰۱۸ و پتانسیل زتای ۲۸.۴۴- میلی‌ولت هستند که بیانگر یکنواختی، پایداری کلوئیدی مناسب و کیفیت مطلوب برای کاربردهای زیستی می‌باشد.

بررسی مورفولوژی سطح برگ با میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM آشکار ساخت که تیمار با غلظت پایین نانوذرات (۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) تنها منجر به تشکیل رسوبات نقطه‌ای و خوشه‌های کوچک روی اپیدرم برگ شده بدون آنکه تغییر محسوسی در ریخت‌شناسی سلول‌ها ایجاد کند. در مقابل، تیمار با غلظت بالا (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) سبب تجمع قابل توجه ذرات، برهم خوردن نظم لایه کوتیکول و تخریب نسبی بافت برگ گردید. این یافته‌ها حاکی از آن است که غلظت‌های بالای نانوذرات اکسید روی، می‌توانند از سطح یک استرس شیمیایی، فراتر رفته و به آسیب‌های فیزیکی و ساختاری در گیاه منجر شوند.

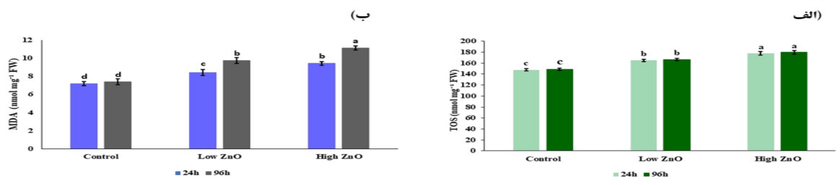


شکل2-تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از برش عرضی برگ گوجه‌فرنگی:الف)تیمار شده با اسپری محلول ۰.۵٪ کیتوزان. ب)تیمار با اسپری محلول ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید روی همراه با ۰.۵٪ کیتوزان.ج)تیمار شده با اسپری محلول ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید روی همراه با ۰.۵٪ کیتوزان.



شکل 1-توزیع اندازه‌ی نانوذرات اکسیدروی قبل از برهم‌کنش با آنزیم به روش DLS

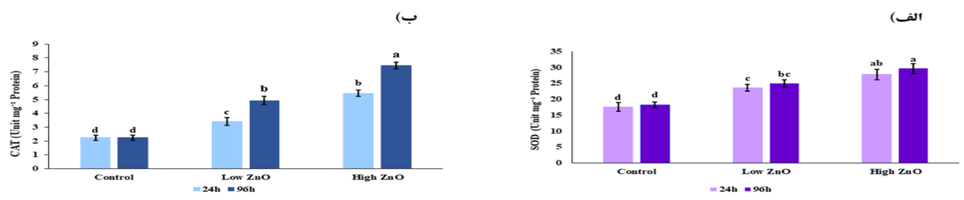
سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی تنش اکسیداتیو نشان داد که تیمار با نانوذرات اکسید روی، به ویژه در غلظت بالا، به طور معناداری باعث افزایش سطح TOS و MDA در مقایسه با گیاهان شاهد می‌شود. به عنوان مثال، در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار با غلظت بالا، سطح TOS حدود ۲۳.۶٪ افزایش یافت. همچنین محتوای MDA، به عنوان نشانگر پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، در تیمار غلظت بالا از ۲۴ تا ۹۶ ساعت پس از تیمار حدود ۱۷.۹٪ افزایش معنی‌دار نشان داد. پایداری این شاخص‌های آسیب در طول زمان بیانگر تداوم تنش اکسیداتیو القاشده و ناتوانی نسبی سیستم گیاه در بازیابی کامل تعادل اکسیدانی در بازه زمانی مطالعه است.



شکل3-. تأثیر نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های پایین و بالا بر الف) میزان ظرفیت اکسیداتیو کل (TOS) و ب)میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA)در برگ‌های گوجه‌فرنگی در مقایسه با نمونه کنترل (Control) در زمان‌های ۲۴ و ۹۶ ساعت پس از تیمار. حروف مشابه بر روی نمودار، بیانگر عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<0.05$ است.

در پاسخ به این شرایط استرس‌زا، فعالیت آنزیم‌های کلیدی سیستم آنتی‌اکسیدانی یعنی SOD و CAT به طور چشمگیری افزایش یافت. بیشترین فعالیت هر دو آنزیم در تیمار غلظت بالا و در زمان ۹۶ ساعت پس از کاربرد نانوذرات ثبت شد. این افزایش فعالیت، پاسخ دفاعی تطبیقی گیاه به تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ناشی از نانوذرات است. آنزیم SOD با تبدیل رادیکال‌های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و آنزیم CAT، با تجزیه پراکسید هیدروژن، سعی در خنثی‌سازی ROS و حفاظت از سلول‌ها را دارند.

با این حال، هم‌زمانی افزایش مداوم شاخص‌های آسیب (MDA) و (TOS) با فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی، نشان می‌دهد که اگرچه گیاه مکانیسم‌های دفاعی خود را به کار می‌گیرد، اما در مواجهه با غلظت‌های بالا از نانوذرات اکسید روی، این مکانیسم‌ها ممکن است برای جلوگیری کامل از آسیب‌های اکسیداتیو و ساختاری کافی نباشند. این نتایج بر اثرات دوگانه و وابسته به غلظت نانوذرات اکسید روی تأکید دارند که در غلظت‌های پایین ممکن است محرک سیستم دفاعی باشند، ولی در غلظت‌های بالا به عنوان عامل ایجادکننده استرس اکسیداتیو و آسیب سلولی عمل می‌کنند.



شکل 4. تأثیر نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های پایین و بالا بر الف) فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز(SOD) و ب)فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)در برگ‌های گوجه‌فرنگی در مقایسه با نمونه کنترل (Control) در زمان‌های ۲۴ و ۹۶ ساعت پس از تیمار. حروف مشابه بر روی نمودار، بیانگر عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<0.05$ است.

منابع

Ahmed, M., Marrez, D. A., Rizk, R., Zedan, M., Abdul-Hamid, D., Decsi ,K., Kovács, G. P., & Tóth, Z. (2024). The influence of zinc oxide nanoparticles and salt stress on the morphological and some biochemical characteristics of Solanum lycopersicum L. plants. *Plants*, *13*(10), 1418 .https://doi.org/10.3390/plants13101418

Akanbi-Gada, M. A., Ogunkunle, C. O., Vishwakarma, V., Viswanathan, K., & Fatoba, P. O. (2019). Phytotoxicity of nano-zinc oxide to tomato plant (Solanum lycopersicum L.): Zn uptake, stress enzymes response and influence on non-enzymatic antioxidants in fruits. Environmental technology & innovation, 14, 100325. https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100325

Javed, R., Usman, M., Yücesan, B., Zia, M., & Gürel, E. (2017). Effect of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on physiology and steviol glycosides production in micropropagated shoots of Stevia rebaudiana Bertoni. *Plant physiology and biochemistry : PPB*, *110*, 94–99. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.032

Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909-930 .

Ma, L., Kong, L., Jiang, S., Ma, J., He, L., Wu, J., Zhang, X., Wu, W., Ma, W., & Ren, W. (2025). Genome-Wide Expression Profile of SOD Gene Family in Isatis indigotica and the Key Role of IiSOD2 and IiSOD7 in Alkaline Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(17), 8131 .https://doi.org/10.3390/ijms26178131