

مقاله پژوهشی

ارزیابی تأثیر نانوذرات اکسید آهن ($\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$) بر خصوصیات مورفولوژیک، بیوشیمیایی و آنزیمی در گیاه گوجه‌فرنگی (رقم Cal-j N3) تحت تنش کادمیوم

راضیه رحمتی‌زاده^۱، حسین مظفری^{۲*}، محمدجواد آروین^۳، رشید جامعی^۱، نورمحمد براهویی مقدم^۴ و

احد ابن‌العلی^۵

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، ^۲ گروه اکولوژی، دانشکده علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان، ایران، ^۳ گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران، ^۴ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فرهنگیان زاهدان، ایران، ^۵ گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۱۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۶/۱۲)

چکیده

تحقیقات در زمینه نانوفناوری به‌عنوان یک رشته در حال ظهور، سبب پیشرفت شاخه‌های گوناگون فناوری شده است. اگر چه آهن به‌عنوان یک عنصر ضروری برای رشد گیاه در نظر گرفته می‌شود، اما نقش آن در کاهش تنش‌های غیرزیستی به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار نگرفته است. از این‌رو آزمایشی در سال ۱۳۹۷ در گلخانه دانشگاه تحصیلات تکمیلی، صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان انجام شد. در این پژوهش اثر نانوذرات Fe_3O_4 بر گیاه گوجه‌فرنگی در پنج سطح صفر، ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تحت تنش کلرید کادمیوم (CdCl_2) با سه غلظت صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد غلظت ۲۰۰ میکرومولار CdCl_2 در محلول غذایی باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی (۵۶ درصد)، وزن خشک ریشه (۶۵/۵ درصد)، طول اندام هوایی (۵۲/۶ درصد)، طول ریشه (۵۶/۸ درصد) نسبت به شاهد گردید. همچنین محتوای MDA و H_2O_2 در اندام هوایی و ریشه به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. تغییر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در اندام هوایی ۲۳۲/۴ درصد (۳/۳ برابر) و در ریشه ۱۴۳/۵ درصد (۲/۴ برابر) نسبت به شاهد بود. اما کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات $\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$ به‌طور معنی‌داری برای رشد گیاه مؤثر بود و از طریق تحریک سازوکارهای دفاعی مختلف توانست سمیت کادمیوم را همراه با کاهش غلظت کادمیوم آزاد در گیاه بهبود بخشد. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان از اسپری نانوذرات اکسید آهن برای محافظت گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش کادمیوم استفاده نمود.

کلمات کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، تنش اکسیداتیو، فلزات سنگین، کاتالاز، نانوتکنولوژی

مقدمه

زیست‌محیطی در سراسر جهان است (Wei et al., 2021). غلظت Cd در محلول خاک غیرآلوده در محدوده $0.004 - 0.32 \mu\text{M}$ است در حالی که خاک‌های متوسط آلوده در محدوده $1 - 0.32 \text{ M}\mu$ است (Kao, 2014). باید به این

وجود سطوح بالای فلزات سنگین مانند مس (Cu)، نیکل (Ni)، کادمیوم (Cd) و کبالت (Co) در محیط زیست یک تهدید بالقوه بزرگ برای اکوسیستم‌ها و همچنین یک نگرانی مهم

* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: mozafari.hossein@gmail.com

مورد نیاز در بدن می‌گردند (Zhang et al., 2022). به‌طور کلی اختلالات عصبی، اختلالات تنفسی، انواع سرطان‌ها، پیری زودرس، عدم تعادل هورمون‌ها، مشکلات قلبی عروقی، آسیب به کبد، تخریب ژن‌ها، تضعیف سیستم ایمنی بدن و در مواردی مرگ از آسیب‌های فلزات سنگین در بدن است (Haider et al., 2021). مکانیسم سمیت کادمیوم به‌طور کامل مشخص نشده است اما یک مکانیسم احتمالی اتصال Cd به گروه‌های سولفیدریل و/ یا کربوکسیل یا جایگزینی کوفاکتورهای ضروری مانند روی با کادمیوم است (Shanying et al., 2017).

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) محصول اقتصادی از تیره سیب‌زمینی است که بعد از سیب‌زمینی از نظر اقتصادی در مقام دوم جهان قرار دارد (Shamshiri et al., 2018). این گیاه جز میوه‌های منطقه معتدله و گرمسیری است اما امروزه در سراسر جهان نیز کشت داده می‌شود (Shamshiri et al., 2018). مصرف این گیاه بیشتر به‌صورت تازه و بعد از آن به‌صورت فرآوری شده است و حاوی ترکیباتی از قبیل آب، هیدروکربن‌ها، پروتئین، اسیدهای چرب و مواد معدنی شامل آهن، روی، فسفر، پتاسیم، کلسیم، مس، منگنز، ویتامین‌های A، B₁، B₂، C، E و نیاسین، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها توکوفرول‌ها است (Li et al., 2020).

نانوفناوری در قرن حاضر، به‌عنوان یک رشته در حال پیشرفت تأثیر بسزایی بر زندگی مردم داشته و سبب بهبود کیفیت زندگی از طریق برنامه‌های کاربردی در زمینه‌های مختلف از جمله پزشکی، تولیدات خوراکی، علوم مواد، انرژی، زیست‌درمانی و کشاورزی شده است (Shang et al., 2019). نانوذرات دارای ویژگی‌های مهمی مانند نسبت سطح به حجم بالا، اندازه کوچک و انرژی سطحی فراوان هستند که خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی برجسته‌ای به آن‌ها می‌دهد (Kumar et al., 2019). این ذرات معمولاً اندازه‌ای بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر دارند (Shang et al., 2019). آهن یک ریزمغذی ضروری است که با بسیاری از واکنش‌های فیزیولوژیکی مرتبط است و چهارمین عنصر مهم در بین عناصر هست اما مقدار مورد نیاز گیاه به آن کم است (Rizwan et al., 2019) و بیشتر

واقعیت توجه کرد که کاربرد مکرر کودهای آلی یا شیمیایی در مزارع و ماندگاری طولانی مدت فلزاتی مانند کادمیوم در خاک باعث بعضی از نگرانی‌ها می‌شود (Kubier et al., 2019). در شرایطی که آلودگی خاک به کادمیوم در طی زمان افزایش یابد، این خاک ممکن است به‌تدریج جهت تولید محصولات کشاورزی غیرقابل استفاده شود (Shiyu et al., 2020). همچنین آلوده‌شدن خاک به کادمیوم تأثیر منفی بر تنوع زیستی و فعالیت جمعیت میکروبی دارد (Kubier et al., 2019). اصلی‌ترین ورودی کادمیوم از طریق فعالیت‌های انسانی، ضایعات صنعتی به‌دست آمده از کارخانه‌ها هستند (Haider et al., 2021). کودهای آلی و یا کودهای شیمیایی و حتی لجن‌های فاضلاب شهری نیز که از شدیدترین مراکز کنترلی عبور می‌کنند دارای کادمیوم هستند و آن را به دیگر آلاینده‌ها اضافه می‌کنند (Latosinska et al., 2021). در میان تمام فلزات سنگین سمی، کادمیوم منجر به سطح بالایی از آسیب به گیاهان می‌شود و همچنین سلامت انسان را به خطر می‌اندازد (Haider et al., 2021). کادمیوم می‌تواند به راحتی جذب شود و در قسمت‌های مختلف گیاه توزیع و سپس به بدن انسان از طریق زنجیره غذایی منتقل شود (Genchi et al., 2020). تحرک، پویایی زیاد و ماهیت آبدوست این عنصر سبب شده است که به‌راحتی در گیاهان جذب و انباشته شود (Zhou and Li, 2022). کادمیوم باعث تغییراتی در چندین فرآیند حیاتی از جمله رشد، تعرق، تغذیه مواد معدنی، فعالیت‌های آنزیمی مرتبط با متابولیسم، بیوسنتز کلروفیل و اسیدهای نوکلئیک می‌شود و باعث آسیب‌هایی مانند کلروز، نکروز، قهوه‌ای شدن نوک ریشه و درنهایت مرگ می‌گردد (Genchi et al., 2020). نیمه عمر بالای این عنصر (۱۰ تا ۳۰ سال) در بدن انسان، کادمیوم را به‌عنوان مستعدترین فلز برای تجمع در بدن معرفی می‌کند (Haider et al., 2021). یکی از مشکلات اساسی کادمیوم، عدم متابولیزه شدن آن در بدن است (Genchi et al., 2020). تأثیرات فلزات سنگین بر انسان مختلف بوده و بروز اختلالات عصبی از مهمترین آنها است (Haider et al., 2021). فلزات سنگین همچنین جایگزین دیگر املاح و مواد معدنی

و ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن‌ها اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای تولید ریشه قرار گرفتند. پس از جوانه‌زنی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی (۲۰×۳۰ سانتی‌متر) منتقل شدند. گلدان‌ها با پرلیت پر شدند و برای هر گلدان سه گیاهچه کشت شد. سپس گیاهچه‌ها به مدت ۱۴ روز در اتاقک رشد با دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۵-۵۵ درصد، دوره‌های روشن و تاریک ۱۶/۸ ساعت، تحت شرایط نوری ۲۳۰ میکرومول بر متر مربع ثانیه قرار گرفتند و با محلول هوگلند نصف قدرت تغذیه شدند.

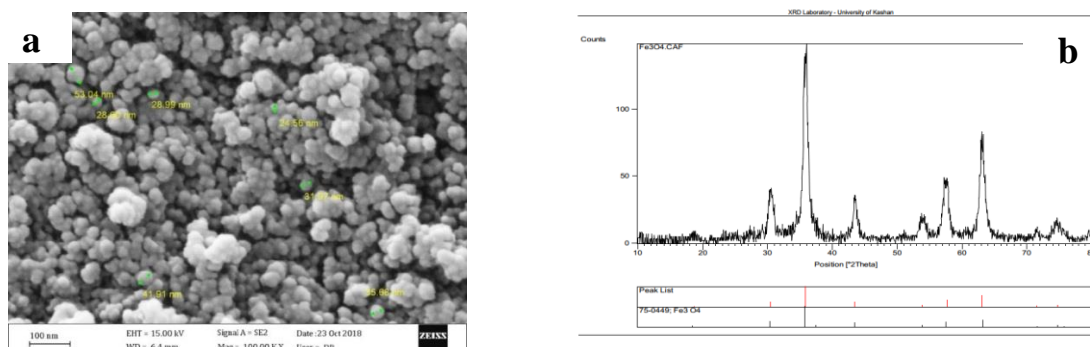
برای تهیه نانوذرات Fe_3O_4 ، تحت شرایط نیتروژن مایع Fe^{+3} chloride hexahydrate (4.6 g, 0.017 M) و همچنین Fe^{+2} chloride tetrahydrate (2.2 g, 0.011 M) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد حل شدند. سپس مخلوط واکنش تا درجه حرارت محیط سرد شد. پس از آن نانوذرات سنتز شده در معرض جداسازی مغناطیسی خارجی (آهن‌ریا) قرار گرفتند و چندین بار با آب دیونیزه شسته شدند. در نهایت، نانوذرات Fe_3O_4 در دمای اتاق آب‌زدایی شدند. اندازه و شکل نانوذرات Fe_3O_4 توسط تصویر میکروسکوپ SEM (شرکت دی پترونیک تهران) (شکل ۱a) و حضور نانوذرات توسط XRD (شکل ۱b) تأیید گردید. میکروگراف SEM به وضوح تغییر اندازه نانوذرات سنتز شده را از ۲۴/۵۶ تا ۵۳/۰۴ نشان داد (شکل ۱a).

نانوذرات سنتز شده در غلظت‌های صفر، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور مستقیم در آب دیونیزه اضافه گردید و پس از آن ارتعاش اولتراسونیک به مدت ۴۰ دقیقه اعمال شد تا سوسپانسیون‌های پایدار Fe_3O_4 -nano به‌طور یکنواخت در محلول ذکر شده پخش شود. بلافاصله محلول پاشی یک‌بار در روز و به مدت پنج روز روی گیاهان چهار برگی صورت گرفت. بعد از آن گیاهان به مدت ۱۴ روز با CdCl_2 در سه غلظت صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول به همراه محلول هوگلند (با نصف غلظت) تغذیه شدند. بعد از چهار هفته از شروع آزمایش (در روز ۲۸) صفات مورفولوژی شامل وزن خشک و

به شکل نامحلول Fe^{3+} به‌ویژه در خاک‌هایی با pH بالا یافت می‌شود (Manzoor et al., 2021). از این‌رو، چنین خاک‌هایی معمولاً دارای کمبود آهن Fe^{+2} هستند (Rizwan et al., 2019). به دلیل حلالیت کم مواد معدنی حاوی آهن در بسیاری از نقاط جهان، یک راه‌حل برای مقابله با کمبود آهن استفاده از نانوذرات است (Manzoor et al., 2021). نانوذرات آهن که در سطح مولکولی با سلول‌های زنده برهمکنش می‌دهند سبب بهبود جذب مواد غذایی برای گیاه می‌شوند (Ahmad et al., 2021). با توجه به این‌که نانوذرات اکسید آهن کوچکتر از مولکول‌های معمولی اکسید آهن هستند، کمپلکس‌های بیشتری ایجاد می‌کنند و سطح آهن بالاتری را برای گیاه فراهم کنند که باعث افزایش رشد یاخته می‌شوند (Rizwan et al., 2019). همچنین بهره‌برداری از کودهای آهن جدید با فناوری نانو ممکن است روش‌های جایگزین برای حذف علائم کلروز آهن را فراهم کند (Rizwan et al., 2019). نانوذرات اکسید آهن از جمله مهم‌ترین اکسیدها در زمینه نانومواد هستند و در طبیعت به صورت بلورهای Fe_2O_3 و Fe_3O_4 وجود دارند (Hussain et al., 2018). تحقیقات بسیار اندکی در مورد نانوذره Fe_3O_4 بر تخفیف تنش فلزات سنگین در گیاهان انجام شده است لذا در پژوهش حاضر بررسی تأثیر Fe_3O_4 -nano در تخفیف تنش کادمیوم در گیاه گوجه‌فرنگی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه دانشگاه تحصیلات تکمیلی، صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان (واقع در ۵۷ درجه و ۵ دقیقه طول و ۳۰ درجه و ۱۷ دقیقه عرض جغرافیایی و ۱۷۶۰ متر ارتفاع از سطح دریا) از فروردین تا آذرماه ۱۳۹۷ انجام گرفت. بذر گوجه‌فرنگی (cv. Cal-j N₃) از شرکت فلات ایران (تهران) تهیه شد. بذرهای ابتدا با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه استریل سطحی شدند و سپس با آب دیونیزه سه بار شستشو داده شدند. بذرهای به‌منظور جوانه‌زنی (۱۰ بذر در هر گروه) روی کاغذ صافی مرطوب در پتری‌دیش قرار داده شدند



شکل ۱- تصویر SEM (a) و XRD (b) مربوط به نانوذره سنتز شده Fe_3O_4

(pH=7) و یدید پتاسیم ۱ مولار بود. جذب مخلوط واکنش در طول موج ۳۹۰ نانومتر بود. غلظت H_2O_2 با استفاده از منحنی استاندارد H_2O_2 و براساس روش (Velikova *et al.*, 2000) محاسبه شد. برای تعیین غلظت پرولین ۳۰۰ میلی‌گرم نمونه برگ تازه در اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد ساییده شد پس از آن ۲ میلی‌لیتر نین‌هیدرین و اسید استیک گلاسیال اضافه شد و یک ساعت در حمام آب‌گرم و سپس بلافاصله در حمام آب سرد قرار گرفت. بعد از اضافه کردن تولوئن جذب لایه بالایی در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد (Bates *et al.*, 1973). اندازه‌گیری پروتئین کل از روش برادفورد و همکاران (Bradford, 1976) انجام شد و از سرم آلبومین گاوی در غلظت‌های مختلف به‌عنوان استاندارد استفاده گردید. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (EC 1.11.1.6) با استفاده از سرعت تجزیه و کاهش جذب پراکسید هیدروژن (کاهش مقدار H_2O_2) در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با استفاده از روش (Dhindsa *et al.*, 1981) انجام گرفت. مخلوط واکنش در حجم ۳ میلی‌لیتر شامل ۲/۸۷۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=7 و ۳۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱/۵ مولار بود. با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط فوق واکنش آنزیمی تجزیه پراکسید هیدروژن شروع شد. برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (EC1.11.1.1) از مخلوط واکنش دارای حجم ۳ میلی‌لیتر و شامل ۲/۴۹۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=7، ۳۰ میکرولیتر H_2O_2 ۱۵ میلی‌مولار، ۳۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۰/۵

طول گیاهان هم در ساقه و هم در ریشه اندازه‌گیری شد. سپس اندام هوایی و ریشه در نیتروژن مایع منجمد شدند و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا آنالیزهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند کلروفیل، مالون دی‌آلدئید (MDA)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، پرولین، پروتئین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و جذب اتمی انجام گیرد.

برای اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی ۲۰۰ میلی‌گرم برگ‌های تازه گیاه در ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد (Lichtenthaler, 1987) ساییده شد و سپس رنگدانه‌ها استخراج و سانتریفیوژ شدند. میزان جذب عصاره ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (Shimadzu, Japan Model 1700) محاسبه شد. محتوای MDA با توجه به روش (Heath and Packer, 1968) تعیین شد. برگ‌ها وزن شده و در محلول حاوی ۱۰ درصد تری‌کلرو استیک اسید و ۲- تیوباریتوریک اسید ۶۵ درصد به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و سپس در دمای اتاق سرد شد و در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. برای تخمین سطح پراکسید هیدروژن، اندام هوایی و ریشه (۵۰ میلی‌گرم) گیاهان شاهد و تیمار شده در ۰/۱ درصد (وزنی/حجمی) تری کلرواستیک اسید آسیاب شدند. مخلوط واکنش حاوی عصاره بافت، بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار

تنش شد. تیمار توأم ۲۰ میلی‌گرم در لیتر $\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$ و ۲۰۰ میکرومولار CdCl_2 باعث کاهش ۳۶ درصد در وزن خشک اندام هوایی، ۴۴/۲ درصد در وزن خشک ریشه، ۳۹ درصد در طول اندام هوایی و ۳۲ درصد در طول ریشه و ۲۵/۳ درصد در کلروفیل کل گردید (جدول ۱).

کاهش پارامترهای رشد یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های سمیت کادمیوم در گیاهانی مانند گوجه‌فرنگی (Naciri *et al.*, 2021)، گندم (Ur Rahman *et al.*, 2021) و خیار (Munawar *et al.*, 2021) است. تحت تنش کادمیوم، کاهش رشد ممکن است به دلیل پیوندهای قوی بین اجزای دیواره سلول (مانند سلولز همی سلولز، پکتات و پروتئین) با یون‌های کادمیوم باشد که با کاهش اندازه فضای بین سلولی همراه است (El Rasafi *et al.*, 2021). از سوی دیگر تزریق لیگنین به دیواره سلولی تحت تنش کادمیوم منجر به سخت شدن و کاهش انبساط دیوار سلولی می‌شود (Naciri *et al.*, 2021). این تنش همچنین منجر به افزایش تولید ROS می‌شود که به دنبال آن آسیب به غشا سلول و ماکرومولکول‌ها، تغییرات در فرآیند فتوسنتز و جذب عناصر غذایی رخ می‌دهد (Feng *et al.*, 2021). نانو مواد ممکن است نقش کلیدی در حفاظت در برابر تنش‌های محیطی بخصوص فلزات سنگین از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تجمع اسمولیت‌ها و کاهش غلظت کادمیوم در گیاه ایفا کنند (Siddiqui *et al.*, 2014). از طرف دیگر آهن یک عنصر ضروری برای رشد و فتوسنتز است (Al-Amri *et al.*, 2020). گزارش شده نانو اکسید آهن اگر در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شود، باعث بهبود رشد به میزان قابل توجهی در هندوانه می‌گردد (Wang *et al.*, 2015). در پژوهش حاضر نیز به نظر می‌رسد که ۲۰ میلی‌گرم در لیتر $\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$ با افزایش سنتز ترکیبات آلی مانند کلروفیل پرولین، پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور معنی‌داری باعث بهبود اثرات مضر تنش گردید و با کاهش تجمع کادمیوم در اندام هوایی و ریشه همراه بود. در توافق با نتایج ما شیخ بیگلو و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند ۰/۷۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن باعث افزایش مقدار کلروفیل a، b و کل در

میلی‌مولار، ۳۰ میکرولیتر EDTA ۱۰ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استفاده گردید (Nakano and Asada, 1981). سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (EC 1.15.1.1) با کمک سنجش مهار این واکنش احیای نوری NBT در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام شد. مخلوط واکنش شامل نیتروبلوتترازولیم (NBT) ۰/۰۷۵ میکرومولار، ۷۵ میکرومولار ربوفلاوین، بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار $\text{pH}=7$ ، ۱۳ میلی‌مولار متیونین، ۰/۱ میلی‌مولار Na-EDTA و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است (Giannopolitis and Ries, 1977). برای اندازه‌گیری محتوای کادمیوم، نمونه‌های اندام هوایی و ریشه به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. بعد از تعیین زیست‌توده خشک، ۰/۵ گرم نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۵ درصد (وزنی/حجمی) (فوق خالص، مرک) حل شد. سپس با استفاده از آب دیونیزه، حجم هر نمونه به ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. غلظت کلی عناصر با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (Sagner *et al.*, 1998) (Varian CO, OES JCP).

تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌های بدست آمده حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20.0 انجام گرفت و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

برای مشاهده این‌که چگونه تنش کادمیوم بر کاهش رشد گیاه گوجه‌فرنگی تأثیر می‌گذارد، پارامترهای رشد و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی بررسی شد. تنش کادمیوم باعث کاهش رشد و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید و این کاهش با افزایش غلظت CdCl_2 بیشتر نمایان شد. ۲۰۰ میکرومولار کادمیوم باعث کاهش ۵۶ درصد در وزن خشک اندام هوایی، ۶۵/۵ درصد در وزن خشک ریشه، ۵۲/۶ درصد در طول اندام هوایی، ۵۶/۸ درصد در طول ریشه و ۵۸/۸ درصد در کلروفیل کل گردید. با این حال، اضافه شدن ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر $\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$ به گیاهان گوجه‌فرنگی باعث تخفیف شرایط

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم (میکروگرم بر لیتر) و نانو ذره اکسید آهن (میلی گرم بر لیتر) بر وزن خشک و طول اندام هوایی و ریشه و همچنین کلروفیل a، کلروفیل b، کل و کارتوتنید در گیاه گوجه‌فرنگی رقم Cal-j N3

کلرید کادمیوم	nano-Fe ₃ O ₄	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	طول اندام هوایی	طول ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتوتنید
		(گرم بر گیاه)	(گرم بر گیاه)	(سانتی-متر بر گیاه)	(سانتی-متر بر گیاه)	(میکروگرم بر گرم وزن تر)	(میکروگرم بر گرم وزن تر)	(میکروگرم بر گرم وزن تر)	(میکروگرم بر گرم وزن تر)
۰	۰	۰/۵۰±۰/۰۱abcd	۰/۶۱±۰/۰۴a	۱۲/۸۰±۰/۴۶bcd	۱۰/۳±۰/۱۹d	۱۱/۵۷±۰/۲۸de	۳/۷۹±۰/۳۰def	۱۵/۳۶±۰/۵۷de	۲/۱۱±۰/۲۴cde
۱۰	۱۰	۰/۴۷±۰/۰۲abcd	۰/۶۴±۰/۰۲a	۱۴/۸۰±۰/۴۶ab	۱۳/۵۵±۰/۶۷ab	۱۶/۸۷±۰/۲۵b	۶/۴۳±۰/۴۴b	۲۳/۳۱±۰/۶۰b	۲/۶۹±۰/۱۴b
۲۰	۲۰	۰/۵۵±۰/۰۱a	۰/۶۴±۰/۰۴a	۱۶/۴۰±۱/۱۵a	۱۴/۴۴±۰/۱۱a	۱۹/۳۲±۰/۷۱a	۷/۶۱±۰/۱۹a	۲۶/۹۴±۰/۸۶a	۳/۴۴±۰/۰۸a
۵۰	۵۰	۰/۵۴±۰/۰۶ab	۰/۶۱±۰/۰۶a	۱۳/۶۰±۰/۴۶bc	۱۲/۶۶±۰/۱۹b	۱۳/۹۴±۰/۹۶c	۵/۲۲±۰/۵۳c	۱۹/۱۶±۰/۶۶c	۲/۴۸±۰/۱۲bcd
۱۰۰	۱۰۰	۰/۵۱±۰/۰۲abc	۰/۶۲±۰/۰۱a	۱۴/۲۶±۰/۵۸ab	۱۱/۴۴±۰/۱۱c	۱۲/۱۶±۰/۹۱cd	۴/۶۵±۰/۱۹cd	۱۶/۸۲±۰/۹۱cd	۲/۷۰±۰/۰۳b
۰	۰	۰/۴۲±۰/۰۳d	۰/۵۰±۰/۰۱b	۱۰/۲۰±۱/۱۵e	۷±۱/۱۹g	۸/۶۷±۰/۴۰fghi	۲/۵۴±۰/۲۰g	۱۱/۲۲±۰/۳۹g	۱/۴۷±۰/۱۱f
۱۰	۱۰	۰/۴۷±۰/۰۲abcd	۰/۵۵±۰/۰۱ab	۱۲/۶۶±۰/۶۶bcd	۸/۵۵±۰/۱۱e	۱۰/۱۴±۰/۴۱def	۴/۰۱±۰/۱۸de	۱۴/۰۳±۲/۰۳ef	۱/۳۱±۰/۱۴f
۲۰	۱۰۰	۰/۴۹±۰/۰۳abcd	۰/۶۲±۰/۰۱a	۱۳/۴۰±۰/۵۰bc	۹/۷۷±۰/۴۸d	۱۱/۰۷±۱/۵۶def	۳/۶۶±۰/۰۷ef	۱۵/۳۵±۱/۳۸de	۲/۵۱±۰/۰۲bc
۵۰	۵۰	۰/۴۵±۰/۰۱bcd	۰/۵۸±۰/۰۱ab	۱۱/۴۶±۰/۴۰cde	۸/۱۱±۰/۱۱ef	۹/۳۵±۱/۲۵efg	۳±۰/۴۲fg	۱۲/۳۶±۰/۸۴fg	۲±۰/۱۱de
۱۰۰	۱۰۰	۰/۴۴±۰/۰۱cd	۰/۵۶±۰/۰۱ab	۱۰/۶۰±۱/۱۳de	۷/۲۲±۰/۴۸fg	۸/۹۲±۰/۷۳fgh	۲/۷۲±۰/۳۳g	۱۱/۶۵±۰/۴۰fg	۱/۷۱±۰/۰۳ef
۰	۰	۰/۲۲±۰/۰۱f	۰/۲۱±۰/۰۱d	۶/۰۶±۱/۰۹f	۴/۴۴±۰/۴۸h	۴/۹۷±۰/۲۱i	۱/۵۰±۰/۱۵h	۶/۳۲±۰/۲۹i	۰/۵۰±۰/۰۰۵i
۱۰	۱۰	۰/۲۴±۰/۰۱f	۰/۲۲±۰/۰۱d	۶/۵۳±۰/۲۹f	۵/۳۳±۰/۱۹h	۷/۷۵±۰/۲۳ghi	۵/۲۹±۰/۲۱c	۱۰/۱۲±۰/۲۸gh	۱/۱۹±۰/۱۳gh
۲۰	۲۰۰	۰/۳۲±۰/۰۳c	۰/۳۴±۰/۰۲c	۷/۸۰±۰/۲۳f	۷±۰/۱۹g	۱۰/۷۸±۰/۱۶def	۷/۲۹±۰/۱۹a	۱۱/۴۷±۰/۰۴fg	۳/۴۶±۰/۱۸a
۵۰	۵۰	۰/۲۳±۰/۰۲f	۰/۲۴±۰/۰۱d	۶/۸۰±۱/۱۵f	۵/۳۰±۰/۱۹h	۶/۸۹±۰/۸۱hij	۱/۶۰±۰/۱۱h	۸/۴۹±۰/۷۲hi	۰/۷۹±۰/۰۰۵hi
۱۰۰	۱۰۰	۰/۲۲±۰/۰۰۳f	۰/۲۲±۰/۰۳d	۶/۵۳±۰/۷۸f	۵±۰/۵۷h	۶/۴۶±۰/۳۹ij	۱/۵۲±۰/۳۴h	۷/۹۹±۰/۲۰hi	۰/۶۰±۰/۰۲۱i

میانگین‌های دارای حروف مشابه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم (میکرومولار) و نانوذره اکسید آهن (میلی گرم بر لیتر) بر مالون دی‌آلدئید، سایر آلدئیدها، پراکسید هیدروژن، پرولین و پروتئین در اندام هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی رقم Cal-j N3

کلرید کادمیوم	nano-Fe ₃ O ₄	مالون دی آلدئید برگ	مالون دی آلدئید ریشه	سایر آلدئید برگ	سایر آلدئید ریشه	پراکسید هیدروژن اندام هوایی	پراکسید هیدروژن ریشه	پرولین اندام هوایی	پرولین ریشه	پروتئین اندام هوایی	پروتئین ریشه
		(نانومول بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میکرومول بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میکرومول بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)
۰	۰	۰/۱۴±۰/۰۲j	۰/۳۳±۰/۰۱g	۰/۰۶±۰/۰۱f	۰/۱۵±۰/۰۰e	۳۰/۳۴±۳/۴۵f	۶۱/۲۷±۹/۲۶ef	۸۷/۲۶±۱/۵۳hi	۱۰/۸۹±۵/۹۲gh	۷/۶۳±۳/۵۵g	۲/۴۲±۰/۲۶fg
۱۰	۱۰	۰/۰۹±۰/۰۱k	۰/۲۴±۰/۰۰۵e	۰/۰۵±۰/۰۰۱f	۰/۰۶±۰/۰۰۱e	۲۸/۹۷±۲/۲۵f	۵۴/۰۲±۹/۷۱f	۸۲/۹۸±۱/۸۱i	۹/۸۳±۵/۹۵gh	۷/۳۷±۰/۴۳g	۲/۱۹±۰/۱۴e
۲۰	۲۰	۰/۰۶±۰/۰۱k	۰/۱۹±۰/۰۰۶e	۰/۰۴±۰/۰۰۱f	۰/۰۴±۰/۰۰۱e	۲۸/۲۵±۱/۷۵f	۵۱/۲۹±۷/۵۷f	۷۴/۴۶±۰/۶۸i	۹/۲۳±۵/۵۶gh	۷/۸۱±۰/۲۶fg	۲/۳۱±۰/۱۲e
۵۰	۵۰	۰/۱۱±۰/۰۱k	۰/۲۶±۰/۰۰۶e	۰/۰۷±۰/۰۰۱f	۰/۰۵±۰/۰۰۱e	۳۲/۵۱±۱/۵۱f	۵۸/۸۴±۱۲/۸۹f	۹۱/۳۹±۱/۹۲gh	۱۰/۵۳±۵/۶۱gh	۸/۰۶±۰/۰۳fg	۲/۵۶±۰/۰۸e
۱۰۰	۱۰۰	۰/۱۳±۰/۰۱j	۰/۲۹±۰/۰۰۵e	۰/۰۶±۰/۰۰۱f	۰/۱۵±۰/۰۰e	۳۴/۵۴±۳/۵۶f	۶۵/۵۴±۹/۴۸ef	۱۰۱/۲۸±۱/۴۳ef	۱۱۰/۸۷±۵/۲۱efg	۹/۲۵±۰/۴۴efg	۲/۷۰±۰/۰۰۵e
۰	۰	۰/۳۶±۰/۰۱c	۰/۸۰±۰/۰۳c	۰/۲۵±۰/۰۰۲c	۰/۲۰±۰/۰۰b	۵۹/۵۵±۹/۳۳d	۱۰۶/۰۵±۹/۲۷c	۱۰۵/۴۱±۵/۹۴ef	۱۳۰/۷۰±۲/۳۸cd	۱۱/۳۳±۰/۶۱de	۳/۸۰±۰/۰۰۹d
۱۰	۱۰	۰/۲۴±۰/۰۱b	۰/۶۰±۰/۰۰۶f	۰/۱۸±۰/۰۰۱d	۰/۱۷±۰/۰۰cd	۵۰/۷۲±۳/۷۰c	۸۲/۱۷±۱/۳۹de	۹۸/۴۸±۱/۷۷fg	۱۲۰/۵۶±۸/۱۳cdef	۹/۹۶±۰/۴۷ef	۳/۵۸±۰/۰۰۵de
۲۰	۱۰۰	۰/۱۹±۰/۰۱hi	۰/۵۸±۰/۰۰۹f	۰/۱۴±۰/۰۰c	۰/۱۰±۰/۰۰g	۴۸/۱۳±۲/۵۶c	۶۵/۵۸±۱/۰۶ef	۹۲/۷۲±۱/۳۳gh	۱۱۳/۵۷±۴/۰۷defg	۱۰/۶۵±۰/۴۰de	۳/۰۱±۰/۰۳ef
۵۰	۵۰	۰/۲۸±۰/۰۱fi	۰/۶۹±۰/۰۱ef	۰/۱۹±۰/۰۰۱d	۰/۱۵±۰/۰۰c	۵۳/۵۱±۱/۱۸de	۸۲/۴۴±۵/۶۸de	۱۰۲/۱۵±۱/۷۸ef	۱۲۵/۳۰±۶/۲۰cde	۱۱/۳۴±۰/۲۱de	۳/۶۵±۰/۱۳d
۱۰۰	۱۰۰	۰/۳۰±۰/۰۲ef	۰/۶۷±۰/۰۰۱ef	۰/۲۱±۰/۰۰d	۰/۱۸±۰/۰۰c	۵۶/۳۵±۱/۲۰de	۹۳/۲۸±۳/۹۰cd	۱۰۷/۶۰±۲/۳۰c	۱۳۷/۷۴±۲/۱۴c	۱۲/۸۱±۰/۷۳cd	۴/۰۴±۰/۰۰۸d
۰	۰	۰/۷۳±۰/۰۰۲a	۰/۸۰±۰/۰۰۱a	۰/۴۵±۰/۰۰a	۰/۲۶±۰/۰۰a	۹۱/۷۳±۱/۵۷a	۱۷۴/۲۶±۳/۲۹a	۱۶۵/۷۳±۳/۹۳a	۱۹۱/۸۴±۳/۵۱a	۲۵/۰۴±۱/۹۸a	۹/۵۱±۰/۲۴a
۱۰	۱۰	۰/۶۲±۰/۰۰۲c	۱/۳۲±۰/۰۰۳b	۰/۳۵±۰/۰۰b	۰/۱۶±۰/۰۰de	۸۰/۸۹±۴/۶۷b	۱۵۸/۷۵±۴/۲۵b	۱۳۹/۸۸±۲/۶۹c	۱۷۹/۴۵±۷/۵۲a	۲۲/۰۲±۰/۴۰b	۹/۳۵±۰/۱۹a
۲۰	۲۰۰	۰/۵۲±۰/۰۰۲d	۰/۹۷±۰/۰۰۱d	۰/۲۸±۰/۰۰c	۰/۰۷±۰/۰۰b	۶۸/۵۰±۱/۴۴c	۱۳۲/۸۸±۳/۱۰b	۱۲۰±۲/۷۴d	۱۵۵/۶۴±۵/۱۵b	۱۶/۷۹±۰/۶۶c	۶/۲۳±۰/۱۹c
۵۰	۵۰	۰/۶۶±۰/۰۰۲bc	۱/۱۳±۰/۰۰۲c	۰/۳۸±۰/۰۰۱b	۰/۱۲±۰/۰۰f	۷۹/۵۳±۱/۱۳b	۱۵۹/۶۷±۱/۳۲a	۱۴۸/۹۱±۳/۵۸b	۱۸۲/۲۵±۴/۷۷a	۲۱/۹۴±۱/۵۱b	۸/۵۵±۰/۲۲b
۱۰۰	۱۰۰	۰/۶۹±۰/۰۰۲ab	۱/۳۴±۰/۰۰۲b	۰/۴۲±۰/۰۰a	۰/۱۲±۰/۰۰f	۸۲/۶۹±۱/۶۰b	۱۶۷/۰۸±۴/۱۶a	۱۶۰/۴۸±۲/۴۴a	۱۸۴/۹۵±۸/۲۰a	۲۰/۶۳±۰/۷۳b	۹/۰۴±۰/۰۳۱ab

میانگین‌های دارای حروف مشابه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

جدول ۳- اثر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم (میکرومولار) و نانوذره اکسید آهن (میلی‌گرم بر لیتر) بر تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، و محتوای کادمیوم اندام هوایی و ریشه در گیاه گوجه‌فرنگی رقم Cal-j N₃

کلرید کادمیوم	nano-Fe ₃ O ₄	کاتالاز اندام هوایی	آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی	آسکوربات پراکسیداز ریشه	سوپراکسید دیسموتاز اندام هوایی	سوپراکسید دیسموتاز ریشه	کادمیوم اندام هوایی	کادمیوم ریشه
۰	۰	۱۱/۶۹±۱/۰۶ ^g	۴/۴۷±۰/۳۱ ^e	۷/۵۲±۰/۶۰ ^{gh}	۷/۷۷±۰/۷۵ ^g	۱۳/۶۱±۱/۸۵ ⁱ	۰±۰ ^e	۰±۰ ^h
۱۰	۱۰	۱۲/۴۶±۱/۲۵ ^g	۴/۶۲±۰/۱۵ ^e	۶/۵۶±۰/۶۶ ^{gh}	۹/۰۶±۰/۸۰ ^g	۱۶/۸۶±۱/۲۵ ^{hi}	۰±۰ ^e	۰±۰ ^h
۲۰	۲۰	۱۲/۴۵±۱/۶۱ ^g	۴/۹۶±۰/۴۶ ^{de}	۹/۲۹±۰/۶۵ ^{efg}	۱۰/۳۲±۱/۸۱ ^g	۲۰/۵۷±۲/۷۱ ^{gh}	۰±۰ ^e	۰±۰ ^h
۵۰	۵۰	۱۲/۲۷±۱/۴۴ ^g	۴/۶۰±۰/۵۸ ^e	۱۰/۵۰±۰/۵۱ ^{def}	۸/۶۱±۱/۶۱ ^g	۲۲/۴۳±۱/۰۴ ^{fg}	۰±۰ ^e	۰±۰ ^h
۱۰۰	۱۰۰	۱۲/۶۸±۱/۶۱ ^g	۴/۳۰±۰/۲۱ ^e	۵/۸۰±۰/۷۳ ^h	۱۰/۴۳±۰/۴۷ ^g	۱۶/۱۹±۱/۱۰ ^{shi}	۰±۰ ^e	۰±۰ ^h
۰	۱۰۰	۱۶/۹۴±۰/۷۷ ^f	۵/۴۴±۰/۲۹ ^{de}	۱۰/۱۷±۰/۳۶ ^{def}	۱۶/۰۱±۱/۵۴ ^f	۱۹/۵۶±۲/۱۸ ^{gh}	۰/۵۱±۰/۰۳ ^d	۱/۳۶±۰/۰۴ ^g
۱۰	۱۰	۱۸/۴۸±۱/۴۵ ^{ef}	۵/۹۰±۰/۴۹ ^{de}	۱۲/۳۰±۱/۲۴ ^{bcd}	۱۸/۵۵±۰/۴۶ ^{ef}	۲۴/۷۷±۲/۱۸ ^{ef}	۰/۴۷±۰/۰۱ ^d	۱/۶۷±۰/۰۵ ^{fg}
۲۰	۲۰	۲۵/۶۷±۱/۱۸ ^{cd}	۵/۴۰±۰/۴۴ ^{de}	۱۵/۶۱±۱/۶۷ ^b	۲۴/۵۸±۰/۶۸ ^{cd}	۳۱/۴۳±۱/۱۱ ^d	۰/۴۵±۰/۰۲ ^d	۱/۹۲±۰/۱۵ ^e
۵۰	۵۰	۲۱/۸۰±۲/۱۳ ^{de}	۶/۶۴±۰/۲۲ ^d	۱۲/۱۳±۱/۸۳ ^{cde}	۲۲/۸۷±۱/۶۸ ^{cd}	۳۴/۹۵±۲/۷۷ ^{cd}	۰/۴۷±۰/۰۶ ^d	۲/۳۶±۰/۱۲ ^e
۱۰۰	۱۰۰	۱۷/۲۵±۱/۳۹ ^f	۶/۸۴±۰/۵۸ ^d	۸/۶۷±۱/۲۹ ^{gh}	۱۶/۳۹±۱/۴۹ ^f	۲۹/۶۳±۰/۴۳ ^{de}	۰/۴۹±۰/۰۵ ^d	۲/۲۴±۰/۰۹ ^{de}
۰	۲۰۰	۲۷/۰۷±۱/۲۲ ^{bc}	۹/۴۱±۱/۲۳ ^c	۱۲/۹۵±۰/۸۸ ^{bcd}	۲۵/۸۳±۱/۸۰ ^c	۳۳/۲۲±۱/۳۹ ^d	۱/۱۴±۰/۰۶ ^b	۴/۰۵±۰/۲۶ ^a
۱۰	۱۰	۳۱/۷۷±۰/۷۱ ^b	۳۹/۰۶±۱ ^{bc}	۱۵/۱۹±۰/۶۴ ^{bc}	۳۲/۶۱±۱/۴۰ ^b	۳۹/۶۹±۰/۶۴ ^{bc}	۱/۰۶±۰/۰۴ ^b	۳/۶۲±۰/۲۴ ^b
۲۰	۲۰	۳۷/۵۱±۱/۷۱ ^a	۴۹/۷۱±۱/۵۸ ^a	۱۳/۸۵±۰/۱۷ ^a	۴۰/۸۶±۱ ^a	۴۹/۸۴±۲/۲۹ ^a	۰/۸۸±۰/۰۲ ^c	۲/۷۵±۰/۰۳ ^c
۵۰	۵۰	۲۷/۸۶±۱/۵۵ ^{bc}	۳۷/۶۵±۱/۰۱ ^{bc}	۱۴/۶۸±۰/۷۳ ^{bc}	۲۲/۴۷±۱/۵۹ ^{cde}	۴۲/۲۰±۱/۵۵ ^b	۱/۱۳±۰/۰۶ ^b	۳/۷۲±۰/۱۲ ^{ab}
۱۰۰	۱۰۰	۲۲/۲۴±۱/۲۹ ^{de}	۳۰/۴۳±۲/۶۹ ^{de}	۱۴/۸۸±۱/۳۶ ^{bc}	۲۱/۵۳±۰/۸۸ ^{de}	۴۰/۵۸±۲/۹۶ ^{bc}	۱/۳۳±۰/۰۵ ^a	۳/۹۲±۱ ^{ab}

میانگین‌های دارای حروف مشابه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

افزایش سطح پرولین، MDA، H₂O₂ و افزایش فعالیت CAT و SOD گردید (Ur Rahman *et al.*, 2021) که با نتایج تحقیق حاضر نیز موافق است (جدول ۲). در مطالعه حاضر ۲۰۰ میکرومولار کادمیوم باعث افزایش ۱۳۶/۹ درصد در CAT اندام هوایی، ۶۵/۹ در CAT ریشه، ۱۱۰/۵ در APX اندام هوایی، ۷۲/۲ در APX ریشه، ۲۳۲/۴ در SOD اندام هوایی و ۱۴۳/۵ در SOD ریشه گردید. گیاهان در شرایط تنش، از سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی متشکل از آنزیم‌هایی نظیر SOD، CAT و APX برای مهار تجمع بیش از حد رادیکال‌های آزاد استفاده می‌کنند (Bhat *et al.*, 2019). از طرفی آهن یک فاکتور جدایی‌ناپذیر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند CAT است و القاء فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان ممکن است یکی از راهکارهای میانجیگری آهن در مقابل ROS بوجود آمده از تنش‌های غیرزنده مانند فلزات سنگین باشد (Manzoor *et al.*, 2021). Rizwan و همکاران

سویا می‌شود (Sheykhbaglou *et al.*, 2018). در گندم کاربرد ۲۰ میلی‌گرم نانوذره اکسید آهن باعث افزایش طول، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه گردید (Rizwan *et al.*, 2019).

از طرف دیگر برای ارزیابی اثر نانوذره اکسید آهن بر تنظیم تنش اکسیداتیو در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش کادمیوم نشانگرهای اکسیداتیو مانند آلدئیدها، H₂O₂، پرولین و همچنین پروتئین در اندام هوایی و ریشه بررسی شدند. نتایج تأثیر مخرب CdCl₂ را بخصوص در غلظت ۲۰۰ میکرومولار به وضوح روی گیاه گوجه‌فرنگی نشان داد و باعث افزایش محتوای این پارامترها گردید (جدول ۲).

نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که فلزات سنگین در گیاهان باعث افزایش تولید ROS و تنش اکسیداتیو می‌شوند که به ماکرومولکول‌هایی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌رسانند (Wani *et al.*, 2018). در گیاه گندم افزایش غلظت کادمیوم تا ۲۰۰ میکرومولار منجر به

داشته است. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که $\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$ از طریق کاهش تجمع کادمیوم در اندام هوایی، کاهش تنش اکسیداتیو و القا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند باعث تخفیف این تنش گردد. این مطالعه اطلاعاتی در مورد نقش $\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$ بر مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در جهت کاهش تنش کادمیوم ارائه می‌دهد. با این حال، تحقیقات بیشتر در سطح مولکولی برای بینش عمیق‌تر به منظور درک ماهیت برهمکنش $\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$ و تنش کادمیوم در گیاهان مورد نیاز است.

تقدیر و تشکر

این مطالعه بخشی از پژوهش فرصت مطالعاتی کوتاه‌مدت داخل کشور بوده است که در دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان انجام شد و توسط وزارت علوم، تحقیقات و فناوری حمایت مالی گردید.

(۲۰۱۹) نیز به نقش نانوذره آهن در تحمل به تنش از طریق القا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش محتوای اسمولیت‌هایی مانند پروتئین اشاره کردند (Rizwan *et al.*, 2019). نتایج ما نیز نقش محافظتی $\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$ را به‌ویژه در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در شرایط تنش کادمیوم نشان می‌دهد (جدول ۳). Konate و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند استفاده از ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر $\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$ از طریق افزایش محتوای کلروفیل، قند، پروتئین و همچنین کاهش محتوای MDA باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود رشد گیاه گندم در شرایط تنش کادمیوم شد (Konate *et al.*, 2017) که با نتایج ما مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر $\text{nano-Fe}_3\text{O}_4$ در محافظت از گیاه گوجه‌فرنگی در برابر تنش کادمیوم تأثیر معنی‌دار و چشمگیر در سطح معنی‌داری ۵ درصد

منابع

- Ahmad, A., Yasin, N. A., Khan, W. U., Akram, W., Wang, R., Shah, A. A., Akbar, M., Ali, A. and Wu, T. (2021) Silicon assisted ameliorative effects of iron nanoparticles against cadmium stress: Attaining new equilibrium among physiochemical parameters, antioxidative machinery, and osmoregulators of *Phaseolus lunatus*. *Plant Physiology and Biochemistry* 874-886.
- Al-Amri, N., Tombuloglu, H., Slimani, Y., Akhtar, S., Barghouthi, M., Almessiere, M., Alshammari, T., Baykal, A., Sabit, H. and Ercan, I. (2020) Size effect of iron (III) oxide nanomaterials on the growth, and their uptake and translocation in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 194: 110377.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Bhat, J. A., Shivaraj, S. M., Singh, P., Navadagi, D. B., Tripathi, D. K., Dash, P. K., Solanke, A. U., Sonah, H. and Deshmukh, R. (2019) Role of silicon in mitigation of heavy metal stresses in crop plants. *Plants* 8: 71.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T. A. (1981) Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 32: 93-101.
- El Rasafi, T., Oukarroum, A., Haddioui, A., Song, H., Kwon, E. E., Bolan, N., Tack, F. M. G., Sebastian, A., Prasad, M. N. V. and Rinklebe, J. (2021) Cadmium stress in plants: A critical review of the effects, mechanisms, and tolerance strategies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 1-52.
- Feng, J., Shen, R. F. and Shao, J. F. (2021) Transport of cadmium from soil to grain in cereal crops: A review. *Pedosphere* 31: 3-10.
- Genchi, G., Sinicropi, M. S., Lauria, G., Carocci, A. and Catalano, A. (2020) The effects of cadmium toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17: 3782.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
- Haider, F. U., Liqun, C., Coulter, J. A., Cheema, S. A., Wu, J., Zhang, R., Wenjun, M. and Farooq, M. (2021) Cadmium

- toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 211: 111887.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hussain, A., Ali, S., Rizwan, M., ur Rehman, M. Z., Javed, M. R., Imran, M., Chatha, S. A. S. and Nazir, R. (2018) Zinc oxide nanoparticles alter the wheat physiological response and reduce the cadmium uptake by plants. *Environmental Pollution* 242: 1518-1526.
- Kao, C. H. (2014) Cadmium stress in rice plants: Influence of essential elements. *Crop, Environment and Bioinformatics* 11: 113-118.
- Konate, A., He, X., Zhang, Z., Ma, Y., Zhang, P., Alugongo, G. and Rui, Y. (2017) Magnetic (Fe₃O₄) nanoparticles reduce heavy metals uptake and mitigate their toxicity in wheat seedling. *Sustainability* 9: 790.
- Kubier, A., Wilkin, R. T. and Pichler, T. (2019) Cadmium in soils and groundwater: a review. *Applied Geochemistry* 108: 104388.
- Kumar, A., Gupta, K., Dixit, S., Mishra, K. and Srivastava, S. (2019) A review on positive and negative impacts of nanotechnology in agriculture. *International Journal of Environmental Science and Technology* 16: 2175-2184.
- Latosinska, J., Kowalik, R. and Gawdzik, J. (2021) Risk assessment of soil contamination with heavy metals from municipal sewage sludge. *Applied Sciences* 11: 548.
- Li, N., Wu, X., Zhuang, W., Xia, L., Chen, Y., Wu, C., Rao, Z., Du, L., Zhao, R. and Yi, M. (2020) Tomato and lycopene and multiple health outcomes: Umbrella review. *Food Chemistry* 128396.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Manzoor, N., Ahmed, T., Noman, M., Shahid, M., Nazir, M. M., Ali, L., Alnusaire, T. S., Li, B., Schulin, R. and Wang, G. (2021) Iron oxide nanoparticles ameliorated the cadmium and salinity stresses in wheat plants, facilitating photosynthetic pigments and restricting cadmium uptake. *Science of The Total Environment* 769: 145221.
- Munawar, S., Ghani, M. A., Ali, B., Azam, M., Anjum, R., Sarwar, M., Ahmad, T., Noor, A., Iqbal, Q. and Cheema, K. L. (2021) Attenuation of cadmium induced oxidative stress in cucumber seedlings by modulating the photosynthesis and antioxidant machinery through foliar applied glutamic acid. *Horticultural Science* 49: 19-28.
- Naciri, R., Lahrir, M., Benadis, C., Chtouki, M. and Ouarrour, A. (2021) Interactive effect of potassium and cadmium on growth, root morphology and chlorophyll a fluorescence in tomato plant. *Scientific Reports* 11: 1-10.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hussain, A., ur Rehman, M. Z. and Waris, A. A. (2019) Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat. *Chemosphere* 214: 269-277.
- Sagner, S., Kneer, R., Wanner, G., Cosson, J. P., Deus-Neumann, B. and Zenk, M. H. (1998) Hyperaccumulation, complexation and distribution of nickel in *Sebertia acuminata*. *Phytochemistry* 47: 339-347.
- Shamshiri, R. R., Jones, J. W., Thorp, K. R., Ahmad, D., Che Man, H. and Taheri, S. (2018) Review of optimum temperature, humidity, and vapour pressure deficit for microclimate evaluation and control in greenhouse cultivation of tomato: A review. *International Agrophysics* 32.
- Shang, Y., Hasan, M., Ahammed, G. J., Li, M., Yin, H. and Zhou, J. (2019) Applications of nanotechnology in plant growth and crop protection: A review. *Molecules* 24: 2558.
- Shanying, H. E., Xiaoe, Y., Zhenli, H. E. and Baligar, V. C. (2017) Morphological and physiological responses of plants to cadmium toxicity: A review. *Pedosphere*, 27: 421-438.
- Sheykhabglou, R., Sedghi, M. and Fathi-Achachlouie, B. (2018) The effect of ferrous nano-oxide particles on physiological traits and nutritional compounds of soybean (*Glycine max* L.) seed. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias* 90: 485-494.
- Shiyu, Q. I. N., Hongen, L. I. U., Zhaojun, N. I. E., Rengel, Z., Wei, G. A. O., Chang, L. I. and Peng, Z. (2020) Toxicity of cadmium and its competition with mineral nutrients for uptake by plants: A review. *Pedosphere* 30: 168-180.
- Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Faisal, M. and Al Sahli, A. A. (2014) Nano-silicon dioxide mitigates the adverse effects of salt stress on *Cucurbita pepo* L. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33: 2429-2437.
- Ur Rahman, S., Xuebin, Q., Zhao, Z., Du, Z., Imtiaz, M., Mehmood, F., Hongfei, L., Hussain, B. and Ashraf, M. N. (2021) Alleviatory effects of silicon on the morphology, physiology, and antioxidative mechanisms of wheat (*Triticum aestivum* L.) roots under cadmium stress in acidic nutrient solutions. *Scientific Reports* 11: 1-12.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
- Wang, M., Liu, X., Hu, J., Li, J. and Huang, J. (2015) Nano-ferric oxide promotes watermelon growth. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* 6: 160.
- Wani, W., Masoodi, K. Z., Zaid, A., Wani, S. H., Shah, F., Meena, V. S., Wani, S. A. and Mosa, K. A. (2018) Engineering plants for heavy metal stress tolerance. *Rendiconti Lincei Scienze Fisiche e Naturali* 29: 709-723.

- Wei, T., Li, X., Yashir, N., Li, H., Sun, Y., Hua, L., Ren, X. and Guo, J. (2021) Effect of exogenous silicon and methyl jasmonate on the alleviation of cadmium-induced phytotoxicity in tomato plants. *Environmental Science and Pollution Research* 1-11.
- Zhang, J., Zhu, Y., Yu, L., Yang, M., Zou, X., Yin, C. and Lin, Y. (2022) Research advances in cadmium uptake, transport and resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Cells* 11: 569.
- Zhou, M. and Li, Z. (2022) Recent advances in minimizing cadmium accumulation in wheat. *Toxics* 10: 187.

Study of the effect of iron oxide nanoparticles (nano-Fe₃O₄) on the morphological, biochemical and enzymatical changes of tomato plants (Cal-j N3) under cadmium stress

Razieh Rahmatizadeh^{1*}, Hossain Mozafari², Mohammad Javad Arvin³, Rashid Jamei¹, Noor Mohammad Barahouei Moghadam⁴ and Ahad ebne abdolali⁵

¹ Biology Department, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran

² Department of ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

³ Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

⁴ Biology Department, Faculty of Science, Farhangian University of Zahedan, Zahedan, Iran

⁵ Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

(Received: 03/05/2022, Accepted: 03/09/2022)

Abstract

Research in the field of nanotechnology as an emerging field has culminated in the advancement of various branches of technology. The role of iron in reducing abiotic stresses has not been widely studied despite the fact that it is considered an essential element for plant growth. Therefore, an experiment was conducted in 2017 in the greenhouse of Kerman Graduate University of Technology. In this research, the effect of Fe₃O₄ nanoparticles at five levels of 0, 10, 20, 50 and 100 mg/l on tomato plant subjected to cadmium chloride (CdCl₂) stress with three concentrations of 0, 100 and 200 μM was evaluated. The results showed that the 200 μM CdCl₂ concentration in the nutrient solution caused a significant decrease in shoot dry weight (56%), root dry weight (65.5%), shoot length (52.6%), as well as root length (56.8%) compared to the control. Besides, MDA and H₂O₂ content of shoots and roots increased significantly relative to the control. The change in superoxide dismutase (SOD) activity was 232.4% (3.3-fold) in the shoot and 143.5% (2.4-fold) in the root compared to the control. However, the application of 20 mg/L concentration of Fe₃O₄ nanoparticles was significantly effective for plant growth and improved cadmium toxicity along with reducing the concentration of free cadmium in the plant through the stimulation of various defense mechanisms. In general, the results of this research showed that spraying iron oxide nanoparticle can be useful to protect tomato plants under cadmium stress.

Keywords: Ascorbate Peroxidase, Oxidative Stress, Heavy Metals, Catalase, Nanotechnology

Corresponding author, Email: mozafari.hosseini@gmail.com