

## اثر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد بلال و برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ذرت شیرین (*Zea mays var saccharata*) در شرایط تنش کمبود آب

ابراهیم خلیل‌وند بهروزیار<sup>۱\*</sup>، مهرداد یارنیا<sup>۲</sup> و عزیزاله قاسمی<sup>۳</sup>

۱، ۲ و ۳) گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

\* نویسنده مسئول: e.khalilvand@iaut.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۳۱

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۲۱

### چکیده

به منظور بررسی اثر تنش کمبود آب و محلول پاشی با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد بلال و فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ذرت شیرین، این آزمایش به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز در سال ۱۳۹۶ به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایشی عبارتند از تنش کمبود آب در سه سطح ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس و محلول پاشی با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در چهار سطح صفر، ۰/۰۱، ۰/۰۳ و ۰/۰۵ درصد بودند. نتایج نشان داد که اثر تنش کمبود آب بر صفات فعالیت آنزیم پراکسید هیدروژن، محتوای رطوبت نسبی، عملکرد بلال و آسکوربیک پراکسیداز معنی‌دار بود. همچنین اثر محلول پاشی با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در تمامی صفات مورد مطالعه و بر همکنش تنش کمبود آب و محلول پاشی با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم به جز در صفت محتوای رطوبت نسبی در سایر صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. کاربرد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت ۰/۰۱ درصد در تمامی تیمارها موجب افزایش آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و کاهش پراکسید هیدروژن شد اما محلول پاشی با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۰/۰۱ درصد در شرایط ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و کم‌ترین مقدار پراکسید هیدروژن را داشت. همچنین محلول پاشی با غلظت ۰/۰۱ درصد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم تحت شرایط آبیاری کامل در مقایسه با عدم محلول پاشی این ترکیب تحت شرایط ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس و شاهد عملکرد بلال را به ترتیب ۵۸ و ۸/۱ درصد افزایش داد. در کل محلول پاشی با غلظت ۰/۰۱ درصد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در شرایط تنش کمبود آب توانست فعالیت آنزیم‌های مرتبط با کاهش اثر مخرب تنش را افزایش داده و در نهایت منجر به افزایش عملکرد بلال در شرایط مشابه و عدم مصرف این ترکیب شد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، پراکسید هیدروژن و محتوای رطوبت نسبی.

## مقدمه

تنش کمبود آب یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی تهدید کننده فراهمی غذای جمعیت در حال رشد جهان است که همچنان به‌عنوان یک مشکل در حال توسعه، به‌شدت تولید محصولات زراعی را در مناطق خشک و نیمه خشک جهان با محدودیت مواجه کرده است (Nuccio *et al.*, 2015; Dwivedi *et al.*, 2018). تنش کمبود آب در گیاهان روابط آب گیاه را مختل کرده و به‌تبع آن فرآیندهای فیزیولوژیکی و در نهایت تولید گیاه را به‌شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد (دستی و همکاران، ۱۳۹۳). رشد روزافزون جمعیت و کمبود مواد غذایی از یک سو و نابودی بخش مهمی از منابع زیست محیطی کره زمین به دلیل استفاده بی‌رویه از منابع از سوی دیگر (منصوری و همکاران، ۱۳۹۶)، لزوم تغییر نگرش جدی نسبت به مدیریت بخش کشاورزی در سطح جهان و به کارگیری فناوری جدید در صنعت کشاورزی را پیش از هر زمان دیگری آشکار می‌سازد. در این بین فناوری نانو به‌عنوان یک فناوری نوین بین رشته‌ای و پیشتاز رفع مشکلات و کمبودها در بسیاری از عرصه‌های علمی و صنعتی، امیدهای زیادی را برای رفع کمبودها و توسعه بخش کشاورزی ایجاد نموده است (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۳). نانو ذرات، ذراتی با ابعاد کمتر از ۱۰۰ نانومتر هستند که به دلیل سطح ویژه زیاد، واکنش-پذیری بالایی دارند و همین ویژگی موجب تسهیل جذب آن‌ها در مقیاس نانو می‌شود (Fadeel *et al.*, 2017). نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم<sup>۱</sup> به‌عنوان یکی از نانو بلورهای نیمه هادی اکسید فلزی، جایگاه ویژه‌ای در جهان صنعتی امروز یافته و به علت ویژگی‌های الکتریکی، نوری و فوتوکاتالیستی خوبی که دارد توجه بسیاری از دانشمندان در حوزه‌های مختلف از جمله کشاورزی را به خود جلب کرده است (Khan *et al.*, 2017). این ترکیب از جمله موادی می‌باشد که امروزه خواص آن مبنی بر کاهش اثرات مخرب تنش خشکی گزارش شده است. تنش خشکی علاوه بر کاهش رشد رویشی و تغییر در ساختارهای آناتومیکی گیاه، از طریق ایجاد تنش ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو، سبب تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Sharma *et al.*, 2012). مطالعات فراوان حاکی از افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۲</sup> تحت تنش خشکی است (Miller, 2010; Hasanuzzaman *et al.*, 2014). نانو دی اکسید تیتانیوم با افزایش فعالیت احیایی نوری فتوسیستم II، آزادسازی اکسیژن، فعالیت فسفوریلاسیون نوری کلروپلاست، آنزیم روبیسکو، فعالیت آنزیم نیترات رداکتاز، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و بهبود محتوای برخی از عناصر ضروری در بافت‌های گیاهی عملکرد محصولات مختلف را افزایش می‌دهد (Khater, 2015). همچنین با کاهش رادیکال آزاد اکسیژن و مالون دی آلدید و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش اثرات منفی تنش می‌شود (Zheng, 2007). در وضعیت خشکی به دلیل محدود شدن جذب و تثبیت دی‌اکسیدکربن توسط گیاه و افزایش فعالیت اکسیژنازی روبیسکو، تنفس نوری افزایش می‌یابد که این امر

1-TiO<sub>2</sub>

2- Reactive oxygen species (ROS)

نیز افزایش تولید پراکسید هیدروژن<sup>۱</sup> را به همراه خواهد داشت (Cruz de Carvalho, 2008). آنزیم کاتالاز<sup>۲</sup> و آسکوربات پراکسیداز<sup>۳</sup> در حذف پراکسید هیدروژن نقش مهمی ایفا می‌کنند و هر کدام میل ترکیبی متفاوتی با این نوع از گونه‌های فعال اکسیژن دارند. طی تحقیقی روی ذرت گزارش شد که اثر نانو ذرات تیتانیوم بر کاتالاز در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود و بیش‌ترین میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در محلول‌پاشی نانو ذرات تیتانیوم ۰/۰۳ درصد به دست آمد (Moaveni et al., 2011). سلطانی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز از تیمار ۰/۰۵ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله ۶۰ درصد ساقه روی بود. افشار محمدیان و همکاران (۱۳۹۵) نیز گزارش کردند که تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی پونه معطر شد. بر اساس گزارش منصوری و همکاران (۱۳۹۶) بیش‌ترین عملکرد دانه در گیاه زیره سبز با محلول‌پاشی ۰/۰۱۵ درصد دی‌اکسید تیتانیوم و آبیاری کامل به دست آمد که نسبت به شاهد ۱۶ درصد افزایش داشت. با توجه به مزایای بالقوه‌ای که برای کاشت ذرت شیرین وجود دارد، انجام تحقیقات همه جانبه اعم از به‌زراعی و به‌نژادی در این گیاه ضروری به نظر می‌رسد. با عنایت به اینکه بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت در ایران دارای شرایط آب و هوایی نیمه‌خشک است و به دلیل موقعیت خاص جغرافیایی، در اکثر نقاط آن تنش‌های مهم غیرزنده مانند خشکی، شوری و دما موجب کاهش عملکرد و در مواردی نیز موجب عدم موفقیت در کشاورزی گردیده است، بنابراین حصول بالاترین میزان عملکرد با مصرف حداقل آب ممکن در کوتاه‌ترین زمان با کاربرد نانو ترکیباتی چون دی‌اکسید تیتانیوم در مقابل روش‌های به‌نژادی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بر هستند ضروری به نظر می‌رسد که پژوهش حاضر نیز در راستای نیل به اهدافی چون ارزیابی و شناسایی صفات مهم فیزیولوژیکی مؤثر بر عملکرد ذرت شیرین در شرایط تنش کمبود آب و کاربرد ترکیب فوق صورت می‌گیرد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سال زراعی ۱۳۹۶ در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بر روی بذور رقم چلنجر<sup>۴</sup> ذرت شیرین (این هیبرید از انواع زودرس بوده که دارای بلال‌های یکنواخت، بلند و مناسب برای مصارف تازه خوری، کنسروی و منجمد با عیار قند بالا می‌باشد) به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. عوامل مورد آزمایش عبارتند از تنش کمبود آب شامل ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس و محلول‌پاشی با نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در چهار سطح صفر، ۰/۰۱، ۰/۰۳ و ۰/۰۵ درصد (به ترتیب معادل ۰/۰۰۷، ۰/۰۲۳ و ۰/۰۳۹ گرم در لیتر). هر کرت شامل چهار ردیف کاشت به طول چهار متر، فاصله بین ردیف‌ها ۷۵ سانتی‌متر و

1- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

2- Catalase (CAT)

3- Ascorbate peroxidase (APX)

4- Challenger

فاصله بوته‌ها روی ردیف ۲۵ سانتی‌متر بود. فاصله هر کرت فرعی با کرت فرعی دیگر یک خط نکاشت و فاصله کرت‌های اصلی از هم‌دیگر به دلیل وجود تنش آبی ۳ متر در نظر گرفته شد. محلول پاشی روی اندام هوایی سه بار طی فصل رشدی و در مراحل ۱۰-۸ برگی، ظهور تاسل و پر شدن دانه‌ها انجام شد. جهت تعیین زمان آبیاری در تیمارهایی که تنش در آن‌ها اعمال گردید، ابتدا ظرفیت مزرعه‌ای خاک اندازه‌گیری شده و سپس شاهد بر اساس ظرفیت مزرعه‌ای و سایر تیمارها بر اساس سطوح تنش‌ها آبیاری شدند. آبیاری برحسب نیاز کانوپی و بسته به شرایط آب و هوایی منطقه انجام و از مرحله ۱۰-۸ برگی به بعد با توجه به فواصل دور آبیاری تیمارها اعمال شدند. برای تعیین ظرفیت مزرعه‌ای از دستگاه صفحات فشار استفاده شد. بدین ترتیب که نمونه‌هایی از خاک مزرعه برداشت و سپس نمونه‌های خاک اشباع شدند. نمونه‌های اشباع شده در دستگاه صفحه فشار روی صفحات سرامیکی قرار داده شدند. سپس به آهستگی هوای داخل محفظه افزایش یافت تا به فشار یک‌سوم بار (۰/۳ بار) رسید. این فشار در خاک‌های رسی ۰/۳، در خاک‌های شنی ۰/۱ و به‌طور متوسط ۰/۲ اتمسفر می‌باشد. در این آزمایش با توجه به بافت خاک، این میزان فشار ۰/۳ بار در نظر گرفته شد (خلیل‌وند بهروزیار، ۱۳۹۶). دستگاه به‌منظور ایجاد تعادل در سیستم به مدت ۲۴ ساعت در همان حال رها گردید. پس از این مدت و زمانی که دیگر از لوله‌ها آبی خارج نمی‌شد هوای محفظه خالی و نمونه‌های خاک بلافاصله در آزمایشگاه به‌وسیله ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند. سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون قرار گرفتند. پس از توزین خاک خشک شده مقدار رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت مزرعه‌ای با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (Luxmore, 1990):

$$\theta_m = M_w - M_s / M_s \times 100 \quad \text{رابطه ۱:}$$

در این رابطه  $\theta_m$  مقدار رطوبت وزنی،  $M_w$  وزن خاک مرطوب و  $M_s$  وزن خاک خشک برحسب گرم می‌باشد. بعد از مشخص شدن رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت مزرعه‌ای، مقدار رطوبت نقطه پژمردگی نیز در فشار ۱۵ بار به همان ترتیب اندازه‌گیری و تفاضل رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای و رطوبت نقطه پژمردگی، به‌عنوان رطوبت قابل دسترس در نظر گرفته شد (Khan et al., 2017). پس از مشخص شدن میزان رطوبت قابل دسترس، هر روز از خاک نمونه‌برداری شده و میزان رطوبت وزنی خاک تعیین شد و فواصل دور آبیاری در تیمارهای مختلف به دست آمد.

### فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز مقدار ۰/۲ گرم نمونه منجمد در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی مولار با اسیدیت ۶/۸ در هاون روی یخ ساییده و عصاره آن با استفاده از کاغذ صافی صاف شد. همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور به

مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سپس محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. تجزیه پراکسید هیدروژن با کاهش در جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر به مدت ۲ دقیقه پیگیری شده و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید (Cakmak and Horst, 1991).

### فعالیت آسکوربات پراکسیداز در برگ

۰/۲ گرم نمونه منجمد گیاهی از بخش هوایی با ۳ میلی لیتر بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی مولار با اسیدیتته ۷/۸ حاوی EDTA ۵ میلی مولار، دی تیو تریتول ۵ میلی مولار، کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مولار و پلی وینیل پیرولیدین ۲ درصد (وزنی به حجمی) در هاون روی یخ ساییده و عصاره با کاغذ صافی صاف شد. محلول های همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد و محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. کاهش جذب آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر تعیین و به ازای هر میلی گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد (Nakano and Asada, 1981).

### اندازه گیری پراکسید هیدروژن برگ

غلظت پراکسید هیدروژن بر اساس روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) به دست آمد. استخراج برگ ها در تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد وزنی به حجمی انجام گرفت. عصاره ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و ۵۰۰ میکرو لیتر از روشناور به یک میلی لیتر از محلول واکنشی که شامل ۱۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH برابر ۷) و یک مولار یدید پتاسیم بود اضافه شد و به منظور انجام واکنش، مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. جذب نمونه ها در ۳۹۲ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه گیری و محاسبه شد (Velikova et al., 2000).

### محتوای رطوبت نسبی<sup>۱</sup>

یک برگ مشخص از هر بوته در هر تیمار برداشت و بلافاصله وزن تر برگ توزین شد. سپس با استفاده از آب مقطر برگ موردنظر در داخل لوله های آزمایشی به مدت ۵ ساعت به حالت اشباع درآورده شده و بار دیگر توزین شد. در ادامه برگ را در داخل آون ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و پس از خشک شدن وزن خشک برگ تعیین و از رابطه ۲ محتوای رطوبت نسبی محاسبه گردید:

$$\text{رابطه ۲: } 100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن اشباع}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}) = \text{محتوای رطوبت نسبی}$$

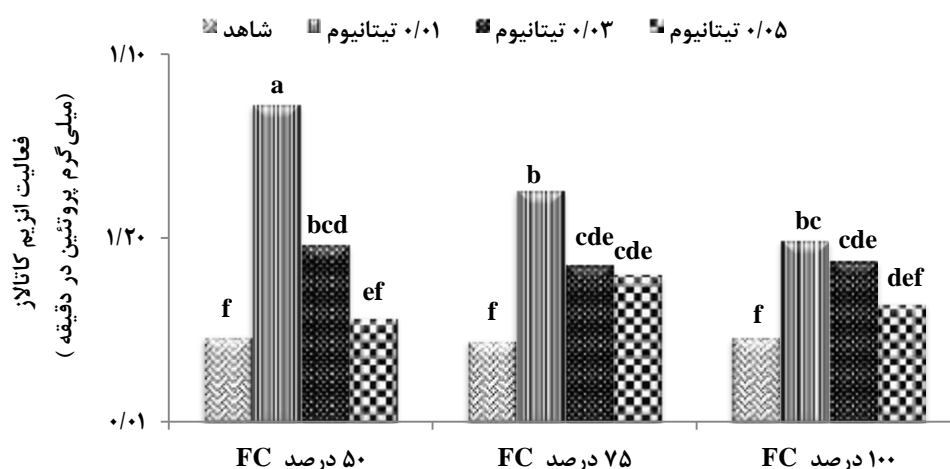
1 Relative Water Content (RWC)

## عملکرد بلال

با توجه به اینکه اندام قابل فروش در ذرت شیرین، بلال آن است بنابراین در مرحله شیری - خمیری، برداشت از دو ردیف وسط با حذف اثرات حاشیه انجام و عملکرد بلال محاسبه شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام گرفت. میانگین‌ها با کاربرد آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه و شکل‌ها توسط برنامه EXCEL ترسیم شدند.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش کمبود آب بر صفات محتوای رطوبت نسبی و عملکرد بلال در سطح احتمال ۱ درصد و فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. همچنین محلول پاشی با نانو دی اکسید تیتانیوم بر صفات فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسید هیدروژن، محتوای رطوبت نسبی و عملکرد بلال در سطح احتمال ۱ درصد و فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز در سطح احتمال ۵ درصد تأثیر معنی‌داری داشت. برهمکنش تنش کمبود آب و محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم نیز بر صفات فعالیت آنزیم کاتالاز، آسکوربیک پراکسیداز و پراکسید هیدروژن در سطح احتمال ۱ درصد و عملکرد بلال در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). محلول پاشی با نانو دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۰/۰۱ درصد در تمامی تیمارها موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد، اما افزایش غلظت دی اکسید تیتانیوم از این مقدار فعالیت این آنزیم را کاهش داد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر محلول پاشی با نانو دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس به دست آمد (شکل ۱).

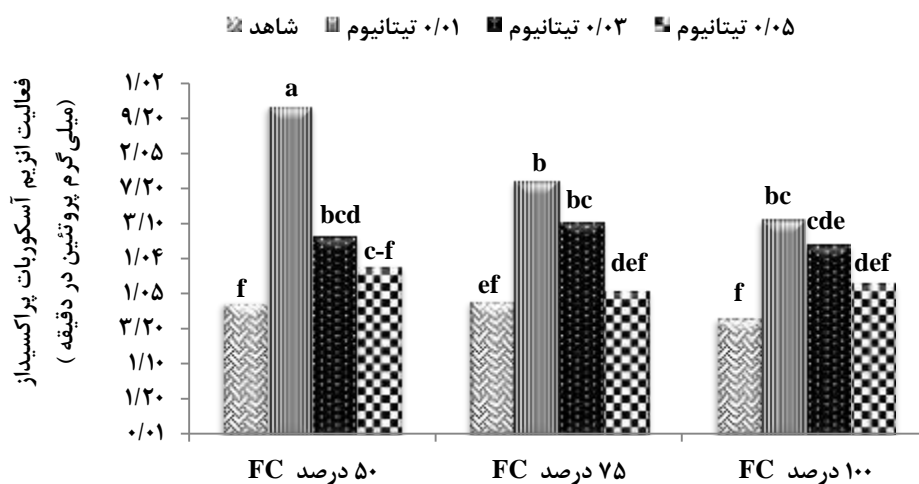


شکل ۱: اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم در شرایط تنش کمبود آب بر فعالیت آنزیم کاتالاز

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده ذرت شیرین تحت تأثیر تنش کمبود آب و محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم

| میانگین مربعات                                   |            |            |                    |                 |                   |             |
|--|------------|------------|--------------------|-----------------|-------------------|-------------|
| منابع تغییر                                      | درجه آزادی | کاتالاز    | آسکوربات پراکسیداز | پراکسید هیدروژن | محتوای رطوبت نسبی | عملکرد بلال |
| تکرار  | ۲          | ۰/۰۰۱ ns   | ۰/۰۰۱ ns           | ۰/۴۵ ns         | ۰/۳۳۳ ns          | ۱۴۳۶ *      |
| تنش کمبود آب                                     | ۲          | ۰/۰۰۰۲۷ ns | ۰/۰۰۹ *            | ۲۴/۳۲ **        | ۱۹ **             | ۴۱۴۴ **     |
| خطا  | ۴          | ۰/۰۰۰۰۹۱   | ۰/۰۰۱              | ۰/۴۴۴           | ۰/۳۳۳             | ۹۴/۹۵       |
| محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم                | ۳          | ۰/۰۰۱ **   | ۰/۰۰۶ *            | ۱۹/۶۲ **        | ۱۷/۶۶ **          | ۹۲۸ **      |
| تنش کمبود آب × محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم | ۶          | ۰/۰۰۱ **   | ۰/۰۳۵ **           | ۱۰/۸۰ **        | ۱/۶۶ ns           | ۱۶۷ *       |
| خطا  | ۱۸         | ۰/۰۰۰۰۴۳   | ۰/۰۰۱              | ۰/۴۴۴           | ۱/۲۲              | ۵۵/۸۲       |
| ضرب تغییرات                                      |            | ۱۵/۶۰      | ۱۳/۳۷              | ۱۰/۳۹           | ۱/۲۷              | ۶/۶۵        |

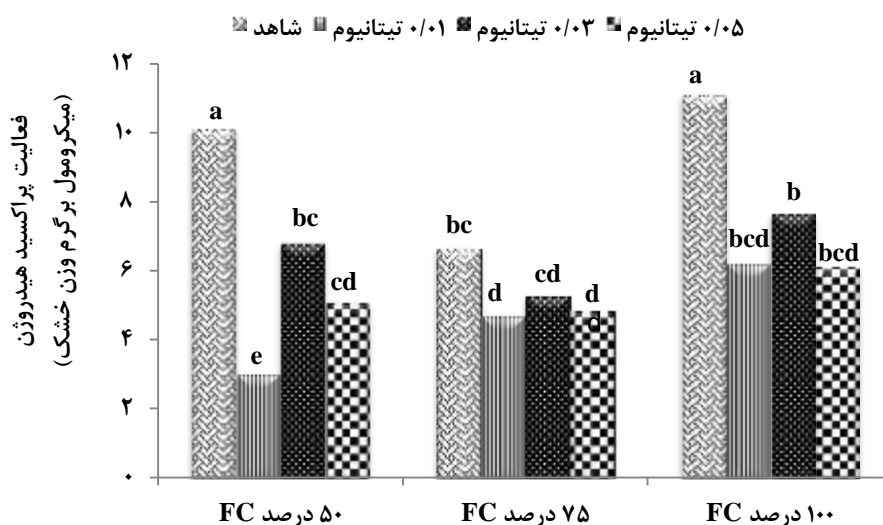
همین روند در مورد فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز صادق بود، به طوری که بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار محلول پاشی با تیمار ۰/۰۱ درصد دی اکسید تیتانیوم تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بود که افزایش تیتانیوم از این مقدار موجب کاهش فعالیت این آنزیم گردید (شکل ۲).



شکل ۲: اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم در شرایط تنش کمبود آب بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز محلول پاشی با نانو دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد تحت شرایط رطوبت ۵۰ درصد قابل دسترس فعالیت پراکسید هیدروژن را کاهش داد که این فعالیت با افزایش مقدار این ترکیب و نیز افزایش رطوبت قابل دسترس افزایش یافت (شکل ۳). آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نقش موازی و مشابهی را در سیستم دفاعی گیاه ایفا می‌نمایند. به طوری که وظیفه هر دو آنزیم، سم‌زدایی و تجزیه پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول‌ها می‌باشد (Ariano *et al.*, 2005) و هر

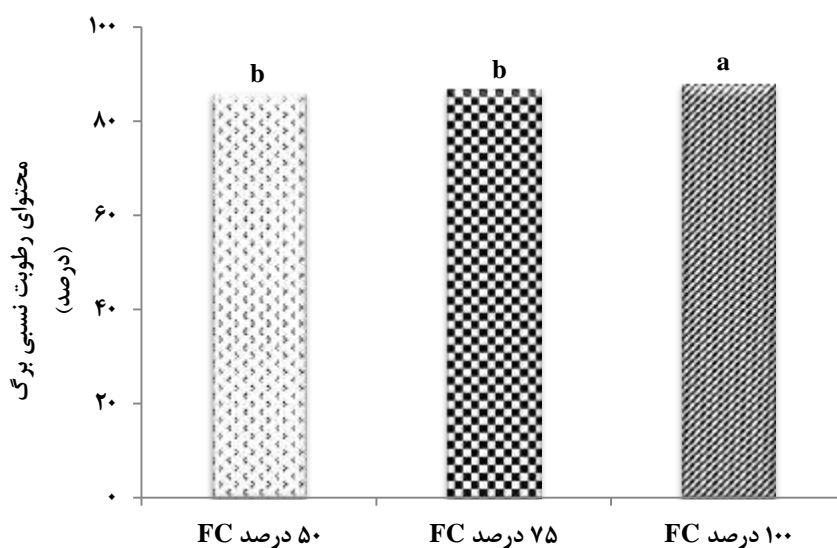
کدام میل ترکیبی متفاوتی با این نوع گونه فعال اکسیژن دارند. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نشان دهنده مهار کارآمد پراکسید هیدروژن توسط این آنزیم‌ها می‌باشد که این افزایش در نتایج تحقیقات انجام شده درباره پونه معطر (افشار محمدیان و همکاران، ۱۳۹۵) و یونجه (Wen-Bin *et al.*, 2009) گزارش شده است. کاتالاز برای عمل به نیروی احیایی نیاز ندارد، اما آسکوربات پراکسیداز جهت فعالیت به عامل احیای نیاز دارد. سطح تمایل کاتالاز به پراکسید هیدروژن پایین تر از آسکوربات پراکسیداز است. آسکوربات پراکسیداز در بیش تر اندامک‌های سلولی یافت می‌شود در حالی که کاتالاز فقط در پراکسی زوم دیده می‌شود. با توجه به این دلایل پیشنهاد شده است که آسکوربات پراکسیداز ممکن است یک تنظیم‌کننده و کنترل‌کننده داخل سلولی خوبی جهت حفظ تعادل گونه فعال اکسیژن باشد (Sairam and Tyagi, 2004). اختلاف در فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان در تنش خشکی را می‌توان به شدت و مدت زمان کمبود آب و وضعیت متابولیک گیاه مرتبط دانست (Amini *et al.*, 2013). گزارش شده که سنتز آنزیم‌هایی مانند کاتالاز در پاسخ به تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد (Mittler, 2002). از سوی دیگر یکی از علت‌های مهم آسیب بافتی در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند، ایجاد تنش اکسیداتیو است. رادیکال‌های اکسیژن به‌طور عمده در کلروپلاست و میتوکندری تولید می‌شوند و با ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو بر چربی‌ها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها سبب اختلال در متابولیسم طبیعی سلول، اختلال فرآیندهای مهم تنفس و فتوسنتز و کاهش رشد می‌شوند (Miller, 2010). به هنگام قرار گرفتن گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی، گیاهان از طریق مکانیسم آنزیمی و با سنتز آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز رادیکال‌های اکسیژن را جمع‌آوری نموده و به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کنند. این ترکیب در ادامه توسط آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به آب و اکسیژن تبدیل می‌شوند (Sairam and Tyagi, 2004). بر اساس این تحقیق غلظت ۰/۰۱ درصد تیتانیوم محلول پاشی شده فعالیت این دو آنزیم جمع‌کننده پراکسید هیدروژن را در تمامی تیمارها افزایش داد، اما نکته مهم این است که در سطوح تنشی بالا و کاهش رطوبت قابل دسترس خاک نقش تیتانیوم در افزایش این دو آنزیم به‌عنوان جمع‌کننده پراکسید هیدروژن بیشتر نمایان می‌شود. همچنین دی اکسید تیتانیوم در غلظت‌های بالا و در تمامی تیمارها با وجود تاثیرگذاری بر میزان آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد اثرات بازدارنده داشته است. سلطانی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه عدس به این نتیجه رسیدند که بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز از تیمار ۰/۰۵ درصد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در مرحله ۶۰ درصد ساقه روی و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز در غلظت نانو ذرات دی-اکسید تیتانیوم ۰/۰۳ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه روی حاصل شد.





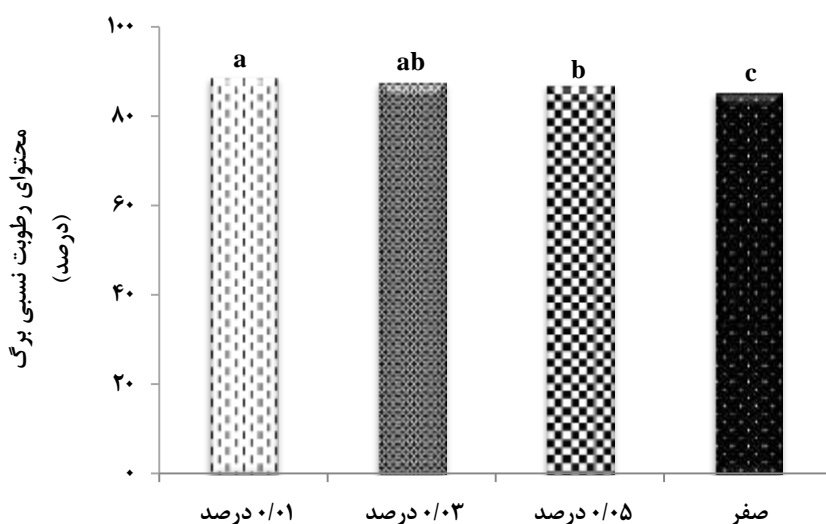
شکل ۳: اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم در شرایط تنش کمبود آب بر فعالیت پراکسید هیدروژن

بدیهی است که گیاهان با محتوای نسبی آب برگ بیشتر، از توان حفظ آب بالاتری برخوردار خواهند بود و بنابراین به فتوسنتز ادامه خواهند داد. مقدار نسبی آب برگ یکی از صفات درگیر در تحمل به تنش کمبود آب در گیاهان می‌باشد (Ghaffari and haji Hoseinlou, 2013). بر اساس نتایج این تحقیق بیشترین محتوای نسبی آب برگ تحت شرایط آبیاری کامل (۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کمترین مقدار هم در تیمار ۷۵ درصد رطوبت قابل دسترس حاصل شد (شکل ۴)).



شکل ۴: اثر سطوح مختلف تنش کمبود آب بر محتوای رطوبت نسبی

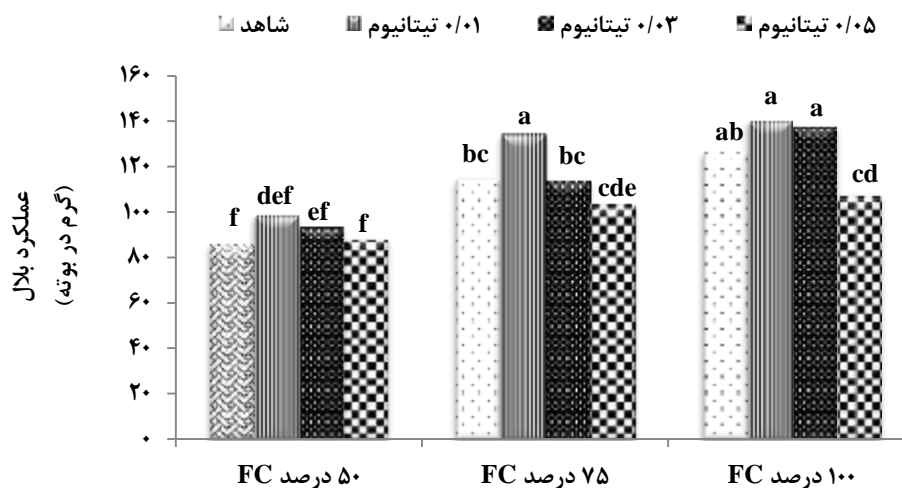
همچنین محلول پاشی با تیمار ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم بیشترین و عدم محلول پاشی هم کمترین مقدار محتوای رطوبت نسبی برگ را داشتند (شکل ۵). در شرایط تنش کمبود آب مقدار نسبی آب برگ با هدایت روزنه‌ای همبستگی داشته و کاهش مقدار آن در شرایط کمبود آب، منجر به کاهش هدایت روزنه‌ای و جذب دی اکسید کربن شده و در نهایت سبب افت فتوسنتز می‌گردد (Mailer *et al.*, 2002). بر اساس تحقیق خلیل‌وند بهروزیار (۱۳۹۶) بیشترین مقدار نسبی آب برگ در تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس در کلزا با میانگین ۷۴/۷۷ درصد و کمترین آن نیز در تیمار ۲۵ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۵۴/۶۶ درصد بود.



شکل ۵: اثر سطوح محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم بر محتوای رطوبت نسبی

محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم تحت شرایط آبیاری کامل با میانگین ۱۴۰ گرم در بوته بیشترین و عدم محلول پاشی در شرایط ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس با میانگین ۸۶ گرم بر بوته کمترین عملکرد بلال را داشتند که کاهش معادل ۳۸ درصد را نشان داد (شکل ۶). محلول پاشی با دی اکسید تیتانیوم در تمامی تیمارها موجب افزایش عملکرد بلال در مقایسه با شاهد شده است، به طوری که در شرایط آبیاری کامل افزایش عملکرد بلال در شرایط محلول-پاشی با ۰/۰۱ و ۰/۰۳ درصد تیتانیوم نسبت به شاهد به ترتیب ۹/۷ و ۸/۱ درصد بود. بر اساس نتایج احتمالاً کاربرد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم با تأثیر بر فتوسنتز گیاه موجب افزایش عملکرد بلال شده است (Khater, 2015). نانو اکسید تیتانیوم با اسپری برگی و تغذیه از طریق ریشه باعث افزایش جذب عناصر غذایی به خصوص نیتروژن شده و به دلیل تسریع فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، سبب افزایش سنتز اسیدهای آمینه، پروتئین و فتوسنتز در گیاه اسفناج می‌گردد (صابر و همکاران، ۱۳۹۲). جابرزاده و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش

ارتفاع، وزن سنبله و عملکرد دانه گندم در شرایط تنش خشکی شده است. تیتانیوم با افزایش محتوای آمونیوم، افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و همچنین آنزیم‌های درگیر در جذب و تحلیل آمونیوم باعث افزایش رشد می‌گردد ( Yang *et al.*, 2006).



شکل ۶: اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم در شرایط تنش کمبود آب بر فعالیت پراکسید هیدروژن

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول پاشی با کود نانو دی اکسید تیتانیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش کمبود آب و کاهش رادیکال آزاد اکسیژن (پراکسید هیدروژن) ذرت شیرین شد. نانو کود دی اکسید تیتانیوم با کاهش آثار منفی تنش کمبود آب توانست عملکرد ذرت شیرین را در تمام تیمارهای مورد مطالعه افزایش دهد که این موضوع نشان از تأثیرات مثبت این ترکیب در گیاه دارد. با توجه به اهداف پژوهش می‌توان گفت کاربرد نانو دی اکسید تیتانیوم به منظور افزایش عملکرد تحت شرایط مصرف حداقل آب می‌تواند جایگزین خوبی در مقابل روش‌های به نژادی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بر هستند می‌باشد.

### سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز اجرا شده است. نویسندگان مقاله بر خود واجب می‌دانند از همکاری و مساعدت معاونت پژوهش و فناوری واحد تبریز و تمامی عزیزانی که در این طرح ما را یاری نموده‌اند، سپاس-گزاری نمایند.

## منابع

افشار محمدیان، م.، قناتی، ف.، احمدیانی، س. و صدر زمانی، ک. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان فندهای محلول پونه معطر (*Mentha pulegium L.*). یافته‌های نوین در علوم زیستی. ۳ (۳): ۲۲۸-۲۳۷.

جابرزاده، ا.، معاونی، پ.، توحیدی مقدم، ح.ر. و مرادی، ا. ۱۳۸۹. بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر برخی خصوصیات زراعی در گندم تحت شرایط تنش خشکی. فصلنامه علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. ۲ (۴): ۲۹۵-۳۰۱.

خلیلوند بهروزیار، ا. ۱۳۹۶. پیش تیمار بذر با متانول، اتانول، بور و منگنز و اثر آن‌ها بر برخی از صفات مورفوفیزیولوژیک کلزا (*Brassica Napus L.*) تحت تنش کمبود آب. اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. ۴ (۴۴): ۸۰۵-۸۲۰.

دشتی، م.، کافی، م.، توکلی، ح. و میرزا، ح. ۱۳۹۳. تأثیر تنش کمبود آب بر روابط آب، فتوسنتز و تجمع اسمولایت‌ها در گیاه دارویی نوروبک. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. ۱۳ (۴): ۸۱۳-۸۲۱.

سلطانی، م.، معاونی، پ. و نوری، ح. ۱۳۹۳. بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد و اجزای عملکرد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه عدس (*Medik culinaris Lens*). پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران. ۹: ۷۸-۸۸.

صابر، س.، قسیمی حق، ز. و مصطفوی، ش. ۱۳۹۲. تأثیر مکانیسم نانو اکسید تیتانیوم بر فرایندهای فیزیولوژی گیاه اسفناج. دومین همایش ملی و توسعه پایدار کشاورزی و محیط‌زیست سالم. ص ۱۶-۱.

منصوری، م.، اکبری، غ. و مرتضویان، م.م. ۱۳۹۶. اثر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد و اجزای عملکرد اکو تیپ‌های مختلف زیره سبز تحت تنش خشکی. مجله به زراعی کشاورزی. ۱۹ (۲): ۴۶۱-۴۷۳.

**Amini, H., Arzani, A. and Bahrami, F. 2013.** Seed yield and some physiological traits of safflower as affected by water deficit stress. *International Journal of Plant Production* 7: 597-614.

**Ariano, S., Bartolomeo, D., Cristos, X. and Andras, M. 2005.** Antioxidant defenses in Olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. *Functional Plant Biology* 32: 45-53.

**Cakmak, I. and Horst, W. 1991.** Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). *Plant Physiology* 83: 463-468.

**Cruz de Carvalho, M. 2008.** Drought stress and reactive oxygen species. Production, scavenging and signalling. *Plant Signaling Behavior* 3: 156-165.

**Dwivedi, S.K., Arora, A., Singh, V.P. and Singh, G.P. 2018.** Induction of water deficit tolerance in wheat due to exogenous application of plant growth regulators: membrane stability, water relations and photosynthesis. *Photosynthetica* 56 (2): 478-486.

**Fadeel, B., Pietroiusti, A. and Shvedova, A. 2017.** Adverse Effects of Engineered Nanomaterials. Exposure, Toxicology, and Impact on Human Health. Elsevier Academic Press, New York. Pp. 468.

**Ghaffari, M. and Haji Hoseinlou, S. 2013.** Seed yield determinants of sunflower under drought stressed and well watered conditions. *International Journal of Agronomy and Plant Production* 4 (S): 3816-3823.

**Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S. S. and Fujita, M. 2014.** Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. In: Gill, S.S., Tuteja, N. (ed.): *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance* 18: 209-249.

**Khan, M. N., Mobin, M., Abbas, Z. K., AlMutairim K. A. and Siddiqui, Z. H. 2017.** Role of nanomaterials in plants under challenging environments. *Plant Physiology and Biochemistry* 110: 194-209.

**Khater, M. S. 2015.** Effect of Titanium Nanoparticles (TiO<sub>2</sub>) on Growth, Yield and Chemical Constituents of Coriander Plants. *Arab Journal of Nuclear Science and Applications* 48 (4): 187-194.

**Luxmore, B. 1990.** Methods of soil Analysis. Part II, 3th Edition, pp.493-59.

**Mailer, P., Baltensperger, D., Clayton, G., Johnson, A., Lafond, G., Mc Conkey, B., Schat, B. and Starica, J. 2002.** Pulse crop adaptation and impact across the Northern Great Plains. *Agronomy Journal* 94: 261-272.

**Miller, G., Suzuki, N. and Ciftci-Yilmaz, S. 2010.** Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant Cell and Environmental* 33: 453-467.

**Mittler, R. 2002.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.

**Moaveni, P., Talebi, R., Farahani, H. A. and Maroufi, K. 2011.** Study of TiO<sub>2</sub> nano particles spraying effect on the some physiological parameters in barley (*Hordem Vulgare* L.). *Advances in Environmental Biology* 5 (7): 1663-1667.

**Nakano, Y. and Asada, K. 1981.** Hydrogen Peroxide is scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22 (5): 867-880.

**Nuccio, M. L., Wu, J., Mowers, R., Zhou, H., Meghji, M., Primavesi, L. F., Paul, M. J., Chen, X., Gao, Y., Haque, E., Basu, S. S. and Largrimini. 2015.** Expression of trehalose-6-

phosphate phosphatase in maize ears improves yield in well-watered and drought conditions. *Nature Biotechnology* 33 (8): 862–869.

**Sairam, R. and Tyagi, A. 2004.** Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science* 86 (3): 407-421.

**Sharma, P., Jha, A., Dubey, R. and Pessarakli, M. 2012.** Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 14: 1-26.

**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.

**Wen-Bin, W., Yun-Hee, K., Haeng-Soon, L., Ki-Yong, K. and Xi-Ping, D. 2009.** Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 570-577.

**Yang, F., Hong, F. S. and You, W.J. 2006.** Influences of nano-anatase TiO<sub>2</sub> on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research* 110: 179–190.

**Zheng, L., Su., M., Liu C.h., Li, C., Huang, H., Wu, X., Liu, X., Yang., Gao, F. and Hong, F. 2007.** Effects of Nanoanatase TiO<sub>2</sub> on Photosynthesis of Spinach Chloroplasts under Different Light Illumination. *Biological Trace Element Research* 119: 68–76.

## **Effect of foliar application of titanium dioxide nanoparticles on maize yield and some antioxidant enzymes of sweet maize (*Zea mays var saccharata*) under water deficit tension conditions**

E. Khalilvand Behrouzfar<sup>\*1</sup>, M. Yarnia<sup>2</sup> and A. Ghasemi<sup>3</sup>

1, 2 & 3) Department of Agronomy and Plant Breeding, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, sIran.

\* Corresponding author: e.khalilvand@iaut.ac.ir

Received date: 2019.03.12

Accepted date: 2019.07.22

### **Abstract**

In order to investigate the effect of water deficit tension and titanium dioxide nanoparticle spraying on maize yield and activity of some sweet corn antioxidant enzymes, the present experiment was conducted as split plots in a randomized complete blocks design with three replications at Islamic Azad University Research Station, Tabriz Branch was carried out in 2017. Experimental treatments were water deficit tension at three levels of 50, 75 and 100 percent of available moisture and spraying with titanium dioxide nanoparticles at four levels of zero, 0.01, 0.03 and 0.05 percent. The results showed that the effect of water deficit tension on hydrogen peroxide enzyme activity, relative humidity content, ear yield and ascorbic peroxidase was significant. Also, the effect of foliar application with nano titanium dioxide was significant on all studied traits and on the interaction of water deficit tension and foliar application with nano dioxide except for relative humidity content in other studied traits. Application of nano titanium dioxide at 0.01 percent concentration in all treatments increased catalase, ascorbate peroxidase and hydrogen peroxide enzymes but foliar application of nano dioxide at 50 percent humidity had the highest activity of catalase enzymes. , Ascorbate peroxidase had the lowest amount of hydrogen peroxide. Also, foliar application of 0.01 percent nano titanium dioxide under complete irrigation conditions compared to non-foliar application of this compound under conditions of 50 percent available moisture and control increased maize yield by 58 and 1.8 percent, respectively. Overall, foliar application of 0.01 percent nano titanium dioxide concentration in water deficit tension conditions increased the activity of enzymes related to reducing the destructive effect of tension and eventually resulted in higher yield of maize under similar conditions and no use of this compound.

**Keywords:** Ascorbate peroxidase, Hydrogen peroxide and Water relative content.