تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد سیزدهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۹
۵۰۲-۴۹۱
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2019.2012.1495

مقاله پژوهشی

تأثیر محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر وزن بلال و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی ذرت شیرین (*Zea mays* var. saccharata) در شرایط تنش کمبود آب

ابراهیم خلیل‌وند بهروزیار*
استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۸/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۴

چکیده

به‌منظور بررسی اثر تنش کمبود آب و محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر وزن بلال و برخی ویژگی-های بیوشیمیایی ذرت شیرین، آزمایشی به‌صورت 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 عبارت بودند از تنش کمبود آب در سه سطح ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد رطوبت قابل‌دسترس به‌عنوان عامل اصلی و محلول‌پاشی با نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در چهار سطح صفر، ۰/۰۱، ۰/۰۳ و ۰/۰۵ درصد به‌عنوان عامل فرعی. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز و اثر متقابل محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم و تنش کمبود آب بر میزان آنزیم مالون دی آلدئید، قندهای محلول، پرولین و وزن بلال معنی‌دار بود. محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم با غلظت ۰/۰۱ درصد موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد اما با افزایش غلظت، فعالیت این آنزیم کاهش یافت. همچنین محلول‌پاشی با نانو دی‌اکسید تیتانیوم با غلظت ۰/۰۱ درصد در تیمار ۵۰ درصد رطوبت قابل‌دسترس موجب افزایش میزان قندهای محلول، پرولین و کاهش مالون دی آلدئید گردید و در تیمار آبیاری کامل در مقایسه با عدم محلول‌پاشی در تیمار ۵۰ درصد رطوبت قابل‌دسترس و شاهد (عدم محلول‌پاشی در تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت قابل‌دسترس) وزن بلال را به ترتیب ۳۸/۵ و ۹/۷ درصد افزایش داد. در کل محلول‌پاشی با غلظت ۰/۰۱ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در شرایط تنش کمبود آب توانست با تأثیرگذاری بر فعالیت آنزیم‌های مرتبط با کاهش اثرات مخرب تنش، منجر به افزایش وزن بلال در شرایط مشابه و عدم مصرف این ترکیب گردد.

واژه‌های کلیدی: **پراکسیداز، پرولین، قندهای محلول، مالون دی آلدئید.**

مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین علل کاهش بهره‌وری کشاورزی در سطح جهان است (Kamanga et al., 2018). کمبود آب با تأثیر بر آماس سلولی و در نتیجه باز و بسته شدن روزنه‌ها، فرآیندهای فتوسنتز، تنفس و تعرق را تحت تأثیر قرار داده و درنهایت منجر به کاهش عملکرد می‌شود (Zhang et al., 2018). با افزایش جمعیت جهان، نیاز به غذا و محصولات کشاورزی به‌شدت در حال افزایش است، به‌طوری‌که سازمان خواروبار جهانی پیش‌بینی کرده با افزایش روزافزون جمعیت در سال ۲۰۵۰ سالانه ۲۰۰ میلیون تن غذا و محصولات کشاورزی موردنیاز است (Sekhon, 2014)؛ اما در اثر عواملی از قبیل تغییرات آب و هوایی، محدود شدن منابع آب‌وخاک، افزایش آلودگی محیط‌زیست و افزایش بیماری‌های گیاهی، مشکلاتی در زمینه کشاورزی و تولید غذای کافی و سالم به وجود می‌آید؛ بنابراین کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی و امنیت غذایی دراین‌بین به خطر خواهد افتاد. ازاین‌رو دانشمندان به‌منظور غلبه بر این مشکلات ابزارهای گوناگونی به کار می‌برند که ازجمله آن می-توان به فناوری نانو اشاره نمود (Prasad et al., 2014).

* نگارنده پاسخگو: ابراهیم خلیل‌وند بهروزیار. پست الکترونیک: e.khalilvand@iaut.ac.ir

نانو ذرات، ذراتی با ابعاد کمتر از ۱۰۰ نانومتر هستند که به دلیل سطح مخصوص زیاد، واکنش‌پذیری بالایی دارند و همین ویژگی موجب تسهیل جذب آن‌ها در مقیاس نانو می‌شود (Fadeel et al., 2017). نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم به‌عنوان یکی از نانوبلورهای نیمه‌هادی اکسید فلزی، جایگاه ویژه‌ای در جهان صنعتی امروز یافته و به علت خواص ویژه الکتریکی، نوری و فوتوکاتالیستی خوبی که دارد توجه بسیاری از دانشمندان در حوزه‌های مختلف ازجمله کشاورزی را به خود جلب کرده است (Khan et al., 2017). این ترکیب ازجمله موادی است که امروزه خواص آن مبنی بر کاهش اثرات مخرب زیست‌محیطی گزارش شده است (Rosi and Kalyanasudaram, 2018).

مطالعات فراوان حاکی از افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن تحت تنش خشکی است (Hasanuzzaman et al., 2014). تحقیقات نشان داده است که ارتباط بسیار قوی بین میزان تحمل به تنش‌های اکسیداتیو ایجادشده توسط تنش‌های محیطی و افزایش میزان غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان فتوسنتز کننده وجود دارد (Sairam and Srivatava, 2002). نانو دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش فعالیت احیایی نوری فتوسیستم II، آزادسازی اکسیژن، فعالیت فسفوریلاسیون نوری کلروپلاست، آنزیم روبیسکو، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و بهبود محتوای برخی از عناصر ضروری در بافت‌های گیاهی عملکرد محصولات مختلف را افزایش می‌دهد (Khater and Osman, 2015). همچنین با کاهش رادیکال آزاد اکسیژن و مالون‌دی‌آلدئید و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش اثرات منفی تنش می‌شود (Zheng, 2007).

مالون دی‌آلدئید یک محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع‌نشده در فسفولیپیدها است. از سطح پراکسیداسیون لیپید به‌عنوان یک شاخص برای ارزیابی میزان رادیکال آزاد مضر تحت شرایط تنش استفاده می‌شود. ازاین‌رو مالون دی آلدئید به‌عنوان یک معرف برای بررسی میزان صدمات واردشده به غشاء در شرایط تنش مورداستفاده قرار می‌گیرد (Israr and Sahi, 2006). نتایج بررسی‌های متعدد نشان‌دهنده افزایش مقدار مالون دی آلدئید تحت تنش خشکی است (Janda et al., 2007). گزارش‌شده که پراکسیداز پس از کاتالاز در درجه دوم اهمیت در حذف پراکسید هیدروژن قرار دارد (Cook et al., 2004). در شرایط تنش، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش پیداکرده و از گیاه در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت می‌کند (Moussa and Abdel-Aziz, 2008). افزایش میزان آنزیم پراکسیداز در مواجهه با تنش خشکی در گندم گزارش شده است (Shao et al., 2007). سیمون و همکاران (Simon et al., 1990) گزارش کردند که عنصر تیتانیوم قادر است فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در گیاهان به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار دهد. تجمع کربوهیدرات‌ها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی نقش اصلی در متابولیسم گیاه دارند و در واکنش به تنش کمبود آب علی‌رغم کاهش اسیمیلاسیون CO_2 شرکت می‌کنند (Aldesuquy et al., 2018). آلدسوکوی و همکاران (Aldesuquy et al., 2013) گزارش کردند که مجموع کربوهیدرات‌های محلول در برگ پرچم گندم در مرحله سنبله‌دهی و گرده‌افشانی در مقایسه با شاهد افزایش پیدا می‌کند. پرولین از دیگر تنظیم‌کننده‌های اسمزی تحت تنش‌های محیطی است که در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی، همبستگی بالایی با تحمل به این تنش‌ها ایفا می‌کند (Azarpanah et al., 2013). افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Yang et al., 2006). در بررسی اثر محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر برخی ویژگی‌های زراعی در گندم گزارش شده است که عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی با محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد، ۲۳ درصد نسبت به عدم محلول‌پاشی در شرایط تنش خشکی افزایش نشان داد (jaberzadeh et al., 2010). بر اساس گزارش امینیان و همکاران (Aminian et al., 2017)، تیمار نانو دی‌اکسید تیتانیوم، قطر طبق، شاخص برداشت و عملکرد دانه گلرنگ را افزایش داد و همچنین اثر سوء تنش خشکی بر قطر طبق را به‌طور معنی‌داری کاهش داد.

با توجه به مزایای بالقوه‌ای که برای کاشت ذرت شیرین وجود دارد، انجام تحقیقات همه‌جانبه اعم از به زراعی و به نژادی 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،

ازاین‌رو حصول بالاترین میزان عملکرد با مصرف حداقل آب ممکن در کوتاه‌ترین زمان با کاربرد نانو ترکیباتی چون دی‌اکسید تیتانیوم در مقابل روش‌های به نژادی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بر هستند ضروری به نظر می‌رسد، پژوهش حاضر در راستای نیل به اهدافی چون ارزیابی و شناسایی صفات مهم فیزیولوژیکی مؤثر بر وزن بلال ذرت شیرین در شرایط تنش کمبود آب و کاربرد ترکیب فوق صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بر روی بذور رقم چلنجر ذرت شیرین (این هیبرید از انواع زودرس بوده که دارای بلال‌های یکنواخت، بلند و مناسب جهت مصارف تازه خوری، کنسروی و منجمد با عیار قند بالا است) به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. عوامل مورد آزمایش عبارت بودند از تنش کمبود آب شامل ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد رطوبت قابل‌دسترس به‌عنوان عامل اصلی 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) به‌عنوان عامل فرعی. هر کرت شامل ۴ ردیف کاشت به طول ۴ متر، فاصله بین ردیف‌ها ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۲۵ سانتی‌متر بود. فاصله هر کرت فرعی با کرت فرعی دیگر یک خط نکاشت و فاصله کرت‌های اصلی از هم به دلیل وجود تنش آبی ۳ متر در نظر گرفته شد. محلول‌پاشی روی اندام هوایی سه بار طی فصل رشد و در مراحل ۸-۱۰ برگی، ظهور تاسل و پر شدن دانه‌ها انجام شد. جهت تعیین زمان آبیاری در تیمارهایی که تنش در آن‌ها اعمال گردید، ابتدا ظرفیت زراعی خاک اندازه‌گیری شده و سپس شاهد بر اساس ظرفیت زراعی 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 ۸-۱۰ برگی به بعد با توجه به فواصل دور آبیاری تیمارها اعمال شدند. برای تعیین ظرفیت زراعی از دستگاه صفحات فشار استفاده شد. بدین ترتیب که نمونه-هایی از خاک مزرعه برداشت و سپس نمونه‌های خاک اشباع شدند. نمونه‌های اشباع‌شده 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 است. در این آزمایش با توجه به بافت خاک، این میزان فشار ۰/۳ بار در نظر گرفته شد (Khalilvand, 2017). پس از رسیدن رطوبت به حالت تعادل 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 سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در آون قرار گرفتند. پس از توزین خاک خشک‌شده مقدار رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت زراعی با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد (Luxmore, 1990):

$$\theta\ m=(Mw-Ms)/Ms\times100 \qquad [۱]$$

در این رابطه θm مقدار رطوبت وزنی، Mw وزن خاک مرطوب و Ms وزن خاک خشک برحسب گرم می‌باشد. بعد از مشخص شدن رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت زراعی، مقدار رطوبت نقطه پژمردگی نیز در فشار ۱۵ بار به همان ترتیب اندازه‌گیری و تفاضل رطوبت ظرفیت زراعی و رطوبت نقطه پژمردگی، به‌عنوان رطوبت قابل‌دسترس در نظر گرفته شد (Khan et al., 2017). پس از مشخص شدن میزان رطوبت قابل‌دسترس، 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 پراکسیداز در برگ

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش حمدا و کلین (Hemeda and Klein, 1990) انجام شد. ۰/۲ گرم نمونه منجمد در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی مولار با اسیدیته ۶/۸ عصاره‌گیری و محلول رویی با استفاده از کاغذ صافی جدا شد. همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و سپس محلول رویی جهت سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز استفاده شد. فعالیت آنزیم با مقادیر مناسب از عصاره آنزیمی به محلول بافر گایاکول با غلظت نهایی ۵ میلی مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت نهایی ۵ میلی مولار در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید.

پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی

سنجش مالون دی آلدئید (MDA) به‌عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء طبق روش

هیت و پاکر (Heath and Packer, 1968) صورت گرفت. بدین منظور ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ توزین و در هاون چینی حاوی پنج میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد (TCA) سائیده شد. عصاره حاصل به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. عصاره‌ی برگ در محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید (TCA) استخراج‌شده و به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. نسبت ۱ به ۴ از روشناور با محلول ۲۰ درصد از TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید در لوله‌آزمایش باهم مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس نمونه‌ها بلافاصله در یخ سرد شده و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر موردراندازه‌گیری قرارگرفته و محاسبه شد.

اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول

میزان کربوهیدرات‌های محلول به روش فنل اسیدسولفوریک اندازه‌گیری شد (Dubios et al., 1956). ۲/۰ گرم بافت برگ در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر عصاره گیری شده و محلول همگن به کمک کاغذ صافی صاف گردید. عصاره حاصل با استفاده از ۴/۷ میلی‌لیتر هیدروکسید باریم ۰/۳ نرمال و پنج میلی‌لیتر سولفات روی پنج درصد صاف گردید. به هر لوله‌آزمایش یک میلی‌لیتر عصاره قندی، ۰/۵ میلی‌لیتر فنل پنج درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد اضافه شد. پس از ۴۵ دقیقه و با تثبیت رنگ قهوه‌ای مایل به زرد، غلظت کربوهیدرات‌های محلول به‌وسیله میزان جذب نور با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۸۵ نانومتر و با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف گلوکز تعیین گردید. مقدار قند نمونه بر مبنای میلی‌گرم بر گرم بافت تازه تعیین شد.

اندازه‌گیری پرولین

به‌منظور تعیین مقدار پرولین برگ‌ها، از روش باتیس و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد. مقدار ۰/۲ گرم از نمونه برگ تر در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد به‌وسیله هاون ساییده و عصاره حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف‌شده را به لوله‌های درب‌دار منتقل نموده و به همه لوله‌ها مقدار ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید. پس از بستن درب لوله‌ها، به مدت یک ساعت در حمام بن ماری و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از سرد شدن، به هریک از لوله‌ها مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. غلظت پرولین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر و با توجه به منحنی استاندارد تعیین شد.

وزن بلال

با توجه به این‌که در ذرت شیرین، بلال دارای اهمیت است، ازاین‌رو در مرحله شیری- خمیری، برداشت از دو ردیف وسط با حذف اثرات حاشیه انجام و وزن بلال برحسب گرم بر مترمربع محاسبه شد. تجزیه واریانس و مقایسه‌ی میانگین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام گرفت. میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه و نمودارها توسط نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز و اثر متقابل محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم و تنش کمبود آب بر میزان آنزیم مالون دی آلدئید، قندهای محلول، پرولین و وزن بلال معنی‌دار بود ($p<0.01$) (جدول ۱).

محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم با غلظت ۰/۰۱ درصد موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد اما با افزایش غلظت، فعالیت این آنزیم کاهش یافت (شکل ۱). تنش خشکی با کوتاه کردن دوره‌ی رشد گیاه و پیری زودرس برگ، ظرفیت فتوسنتزی را تحت تأثیر قرار داده و با تولید رادیکال-های آزاد اکسیژن همچون پراکسید هیدروژن باعث ایجاد تنش اکسیداتیوی در سلول‌های گیاهی شده که خود منجر به تخریب سامانه فتوسنتزی، مهار فرآیندهای متابولیکی، پراکسیداسیون لیپیدها، تغییر در نفوذپذیری غشاء و نشت یون‌ها می‌گردد (Muller et al., 2011, Gregersen et al., 2013). در مقابل گیاهان با دارا بودن سیستم‌های ضد اکسایشی آنزیمی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربیت پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز، غیر آنزیمی مانند ترکیبات فنلی، اسید آسکوربیک، گلوتاتیون،

کارتنوئیدها و آلفاتوکوفرول، آنیون‌ها، قندها و اسیدهای آمینه نظیر پرولین، ساختار غشاء و قسمت‌های مختلف سلول را در برابر تنش اکسایشی تا حدودی مقاوم می‌کنند (Wei et al., 2015). بر اساس این تحقیق محلول‌پاشی غلظت ۰/۰۱ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم، فعالیت آنزیم پراکسیداز را در تمامی تیمارها افزایش داده ولی نکته مهم این است که دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های بالا باوجود تأثیرگذاری بر میزان آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد اثرات بازدارنده داشته است. لی و همکاران (Lei et al., 2008) نشان دادند که حضور نانو ذرات تیتانیوم موجب افزایش و بهبود عملکرد آنزیم پراکسیداز شده است.

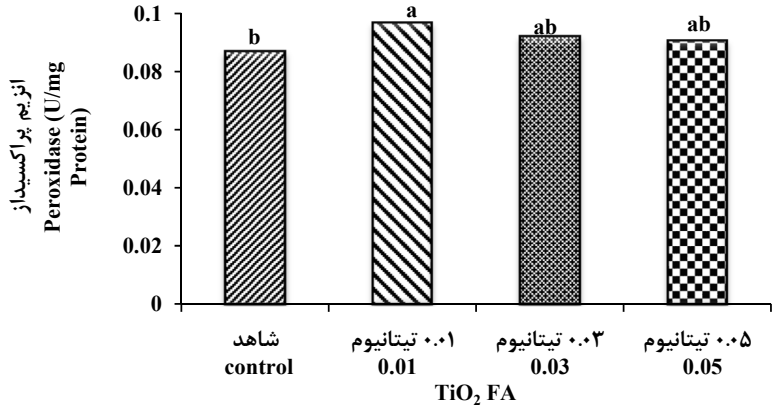
جدول ۱. تجزیهٔ واریانس صفات مورد ارزیابی ذرت شیرین تحت تأثیر تنش کمبود آب و محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم

Table 1. Analysis of variance of studied traits of sweet corn under water deficit stress and TiO2 foliar application

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square: پراکسیداز Peroxidase	مالون دی آلدئید Malondialdehyde	کربوهیدرات‌های محلول Soluble carbohydrates	پرولین Proline	وزن بلال Ear weight
تکرار Replication	2	0.0000 ns	0.032 ns	0.061 **	0.00 ns	40354 **
تنش کمبود آب Water deficit stress (WSF)	2	0.00023 ns	7.766 **	2.637 **	36.95 **	116416 **
خطا Error	4	0.00058	0.076	0.004	0.007	2667
نانو دی‌اکسید تیتانیوم TiO_2 foliar application	3	0.000144 **	1.191 **	0.334 **	5.739 **	26067 **
تنش × نانو دی‌اکسید تیتانیوم WDF × TiO_2 FA	6	0.000012 ns	0.438 **	0.116 **	2.064 **	4696 **
خطا Error	18	0.000019	0.027	0.006	0.043	1567
ضریب تغییرات CV (%)		*4.72*	*4.13*	*12.03*	*6.86*	*6.65*

ns، *،** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

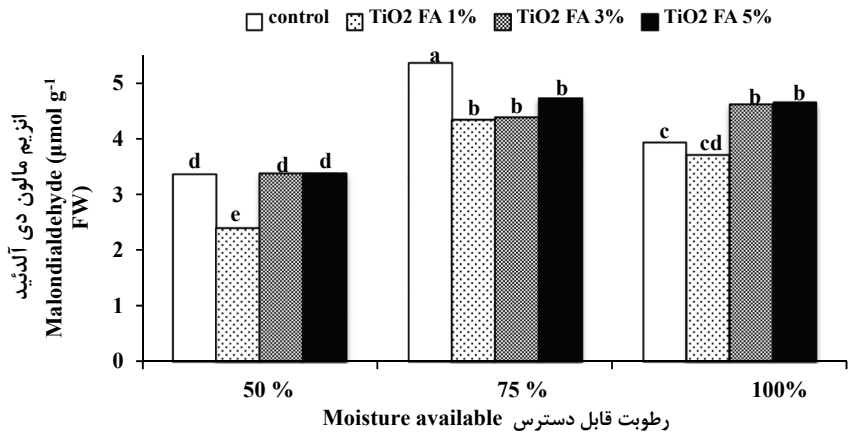
ns, * and **, non- significant, significant at 5% &1% respectively, WDF: Water Deficit Stress, TiO2 FA: TiO_2 foliar application



شکل ۱. محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

Fig. 1. TiO_2 foliar application on peroxidase enzyme activity

کمترین میزان آنزیم مالون دی آلدئید در تیمار محلول-پاشی ۰/۰۱ درصد دی‌اکسید تیتانیوم تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل‌دسترس بود (شکل ۲). یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در اثر آسیب گونه‌های فعال اکسیژن، مالون دی آلدئید است. پایین بودن میزان این آنزیم نشان‌دهنده‌ی پایین بودن آسیب وارده در اثر تنش به غشای سلولی است که خود به معنای مقاوم‌تر بودن گیاه به تنش وارده است (Hasanuzzaman et al., 2014). ازآنجایی‌که افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارتباط با میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است، کاهش میزان مالون دی آلدئید در گیاهان تحت تیمار، نشان-دهنده‌ی کفایت سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز در جمع‌آوری گونه‌های فعال اکسیژن جهت جلوگیری از آسیب به غشاء است. در این خصوص حیدری رمی و همکاران (Heydary Romy et al.,2017) نیز افزایش میزان آنزیم مالون دی آلدئید در اثر اعمال تیمار تیتانیوم در مرحله گلدهی در گیاه گاوزبان را گزارش کردند



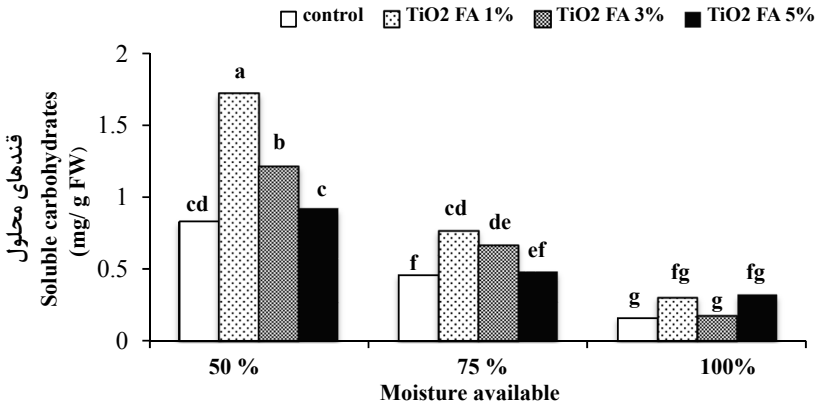
شکل ۲. محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم تحت تنش کمبود آب بر میزان آنزیم مالون دی آلدئید

Fig. 2. TiO_2 foliar application under water deficit stress on amount of malondialdehyde enzyme

ازجمله سازوکارهای پاسخ به تنش‌های محیطی، تنظیم اسمزی است. تنظیم اسمزی نوعی سازگاری با تنش کمبود آب است که از طریق تجمع مواد محلول درون‌سلولی، می‌تواند به حفظ تورژسانس سلول‌ها و فرآیندهای وابسته به آن در پتانسیل‌های پایین آب شود. در زمان تنش‌های غیر زیستی مانند خشکی، مولکول‌های آلی با وزن مولکولی کمتر نظیر قندهای محلول، پرولین، بتائین در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی گیاهان به‌منزله‌ی تنظیم‌کننده‌های اسمزی عمل می‌کنند (Lokhande et al., 2010). محلول‌پاشی با نانو دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد تحت شرایط رطوبت ۵۰ درصد قابل‌دسترس میزان قندهای محلول (شکل ۳) و پرولین (شکل ۴) را افزایش داد که این میزان با افزایش مقدار این ترکیب و نیز افزایش رطوبت قابل‌دسترس کاهش یافت.

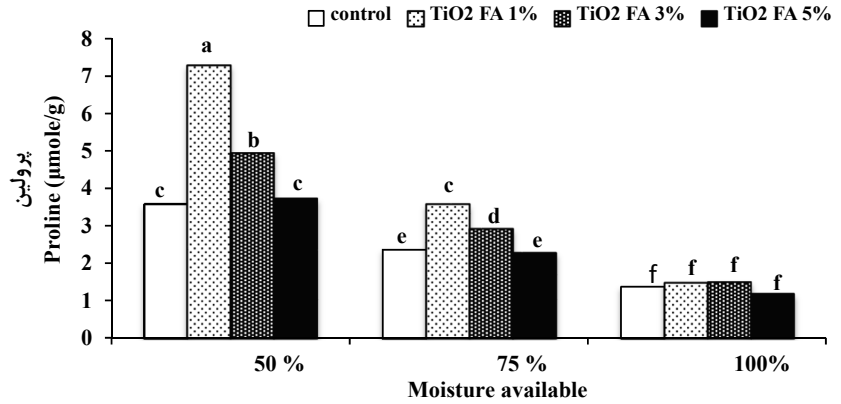
کربوهیدرات‌ها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی نقش اصلی در متابولیسم گیاه دارند و در واکنش به تنش‌های غیرزنده شرکت می‌کنند. کلودیا و همکاران (Claudia et al., 2012) در بررسی اثر تنش خشکی بر غلظت کربوهیدرات‌های لوبیا دریافتند که تنش خشکی در مرحله گلدهی به مدت ۶ و ۱۰ روز باعث افزایش میزان گلوکز و فروکتوز در برگ‌های بالغ شد. نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب افزایش جذب و متابولیسم نیتروژن و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز می‌گردد، ازاین‌رو محتوای آمونیوم نیز در گیاه افزایش می‌یابد. از طرف دیگر این نانو ذرات میزان اسیمیلاسیون آمونیوم و همچنین آنزیم‌های درگیر در آن را افزایش داده و باعث می‌شود آمونیوم سریعاً به نیتروژن آلی مانند پروتئین، اسیدهای آمینه و کلروفیل تبدیل گردد (Yang et al., 2006). کاربرد ۰/۰۱ درصد دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل b، قندهای محلول، پرولین و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه باقلا گردید (Abdel Latef et al., 2017). تجمع پرولین در

گیاهان تحت تنش به‌واسطه سنتز پرولین و غیرفعال شدن تخریب آن تحت تأثیر نانو دی‌اکسید تیتانیوم است. در مطالعه‌ی سندیا و همکاران (Sandhya et al., 2010) که به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر گیاه ذرت بود مشاهده گردید که تنش خشکی سبب افزایش میزان قندهای محلول، اگزوپلی ساکارید، اسیدآمینه داخلی سلول و پرولین نسبت به گیاه شاهد شده است.



شکل ۳. محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم تحت تنش کمبود آب بر میزان قندهای محلول

Fig. 3. TiO_2 foliar application under water deficit stress on amount of soluble carbohydrates

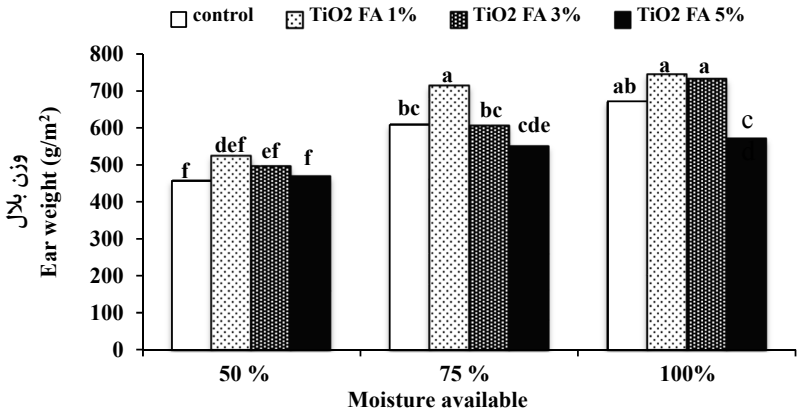


شکل ۴. محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم تحت تنش کمبود آب بر میزان اسیدآمینه پرولین

Fig. 4. TiO_2 foliar application under water deficit stress on amount of proline

محلول‌پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در تیمار آبیاری کامل با میانگین ۷۴۴ گرم بر مترمربع بیشترین و عدم محلول‌پاشی در شرایط ۵۰ درصد رطوبت قابل‌دسترس با میانگین ۴۵۷ گرم بر مترمربع کمترین وزن بلال را داشتند که افزایشی معادل ۳۸/۵ درصد را نشان داد (شکل ۵). محلول‌پاشی با دی‌اکسید تیتانیوم در تمامی تیمارها موجب افزایش وزن بلال در مقایسه با شاهد شد. محلول‌پاشی با ۰/۰۱ درصد تیتانیوم در شرایط ۷۵ درصد رطوبت قابل‌دسترس نیز موجب افزایش وزن بلال شد. در اثر کمبود آب حجم سلول، تقسیم سلولی، دیواره‌سازی سلول، اندازه کلی گیاه و وزن تر و خشک گیاه به‌عنوان ملاک‌های کلی رشد اغلب کاهش می‌یابند. یکی از اولین نشانه‌های کمبود آب، کاهش تورژسانس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول به‌خصوص در ساقه و برگ‌ها است. نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثر افزایشی بر سرعت فتوسنتز دارد (Yang et al., 2006) و باعث افزایش رشد می‌شود. بر اساس تحقیق مرتضی

و همکاران (Morteza et al., 2015)، محلول‌پاشی ۰/۰۴ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در مقایسه با شاهد عملکرد دانه گلرنگ را ۱۰ درصد افزایش داد. این یافته با نتایج تحقیق فوق مغایرت دارد چراکه افزایش غلظت دی‌اکسید تیتانیوم محلول‌پاشی شده از ۰/۰۱ درصد، اثرات سمی داشته و موجب کاهش کلیه صفات موردبررسی گردید. افزایش میزان محصول لوبیا چشم‌بلبلی تحت تیمار ۱۲۵ میلی‌لیتر در هکتار تیتانیوم توسط اوولاد و همکاران (Owolade et al., 2008) گزارش شده است. این محققین دلیل افزایش محصول لوبیا چشم‌بلبلی را نقش تیتانیوم در فعالیت نوری دانستند. تیتانیوم با افزایش میزان کلروفیل و فتوسنتز به‌ویژه از طریق افزایش انتقال الکترون از فتوسیستم ۲ به ۱ (Carvajal and Alcaraz, 1998) و جذب عناصر مؤثر در تولید کلروفیل و فتوسنتز نظیر آهن، منیزیم و نیتروژن باعث افزایش رشد می‌شود (Carvajal et al., 1994).



شکل ۵. محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم تحت تنش کمبود آب بر وزن بلال

Fig. 5. TiO_2 foliar application under water deficit stress on ear weight

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی با نانو دی‌اکسید تیتانیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز، قندهای محلول، پرولین و کاهش فعالیت آنزیم مالون دی آلدئید تحت تنش کمبود آب در ذرت شیرین گردید. همچنین این نانو کود توانست وزن بلال ذرت شیرین را در تمام تیمارهای موردمطالعه افزایش دهد که این موضوع نشان از تأثیرات مثبت این ترکیب در گیاه دارد. محلول-پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در تیمار آبیاری کامل با میانگین ۷۴۴ گرم بر مترمربع بیشترین وزن بلال را داشت که در مقایسه با ۰/۰۳ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در همین تیمار آبیاری و ۰/۰۱ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در تیمار ۷۵ درصد رطوبت قابل‌دسترس تفاوت معنی‌داری نداشت. با توجه به اهداف پژوهش می‌توان گفت کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم به‌منظور افزایش عملکرد تحت شرایط مصرف حداقل آب می‌تواند جایگزین خوبی در مقابل روش‌های به نژادی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بر هستند باشد.

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، سپاسگزاری نمایند.

منابع

Abdel Latef, A.A.H., Srivastava, A.K., Abd El-Sadek, M.S., Kordrostami, M., Tran, L.P., 2017. Titanium Dioxide Nanoparticles Improve Growth and Enhance Tolerance of Broad bean plants under saline soil conditions.

Land Degradation and Development. 29(4), 1065-1073.

Aldesuquy, H.S., Ibraheem, F.L., Ghanem, H.E., 2018. Comparative effects of salicylic acid and/or trehalose on osmotic adjustment and solutes allocation of two droughted wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Advances in Agricultural Technology and Plant Sciences. 1(1), 1-14.

Aldesuquy, H.S., Abass, M.A., Abo-Hamed, S.A., Elhakem, A.H., 2013. Does glycine betaine and salicylic acid ameliorate the negative effect of drought on wheat by regulating osmotic adjustment through solutes accumulation? Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 9(3), 05-22.

Aminian, R., Paknejhad, M., Hoseini, M., 2017. Effect of nano TiO2 on yield and yield components of safflower under normal irrigation conditions and limited irrigation stress. Enviromental Stresses in Crop Sciences. 10(3), 377-390. [In Persian with English Summary].

Azarpanah, A., Alizadeh, O., Dehghanzadeh, H., 2013. Investigation on proline and carbohydrates accumulation in *Zea mays* L. under water stress condition. Extreme life, Biospeology and Asterobiology, International Journal of the Bioflux Society. 5(1), 47-54.

Bates, L., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207.

Carvajal, M., Alcaraz, C.F., 1998. Why titanium is a beneficial element for plants. Journal of Plant Nutrition. 21(4), 655-664.

Carvajal, M., Martínez-Sánchez, F., Alcaraz, C. F., 1994. Effect of Ti (IV) on some physiological activity indicators of *Capsicum annuum* L. plants. Horticulture Science. 69, 427-432.

Claudia Castaneda Saucedo, M., Delgado Alvarado, D., Cordova Tellez, L., Gonzalez Hernandez, V., Tapia-Campos, E., Santacruz Varela, A., 2012. Changes in carbohydrate concentration in leaves, pods and seeds of dry bean plants under drought stress. Interciencia. 37(3), 168-175

Cook, D., Fowler, S., Fiehnand, O., Etval, A., 2004. Prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low temperature metabolome of arabidopsis. Plant Biology. 101, 15243-8.

Dubios, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Ith, F.S., 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. 28, 350- 356.

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

Gregersen, P.L., Culetic, A., Boschian, L., Krupinska, K., 2013. Plant senescence and crop productivity. Plant Molecular Biology. 82, 603–622.

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

Heath, R.L. Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125, 189–198.

Hemeda, H.M., Klein, B.P., 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. Journal of Food Science. 55, 184–185.

Heydary Romy, R., Moaveny, P., Hoseinpour Darvishy, H., Arefrad, M., 2017. Response of some morpho-physiological characteristics of borago (*Borago officinalis*) to nano particles of titanium spraying. Journal of Crop Ecophysiology. 10(4), 875-890. [In Persian with English Summary].

Israr, M., Sahi, S.V., 2006. Antioxidative responses to mercury in the cell cultures of Sesbaniadrummondii. Plant Physiology Biochemical. 44, 590-595

Jaberzadeh A., Moaveni, P., Tohidi Moghaddam, H., Moradi, O., 2010. Investigation of the effect of TiO_2 nanoparticles foliar application on some agronomy characteristics in wheat under drought stress. Journal of Crop Ecophysiology. 2 (4), 295-301. [In Persian with English Summary].

Janda, T., Horváth, E., Szalai, G., Páldi, E., 2007. Role of salicylic acid in the induction of abiotic stress tolerance. In: Hayat, S., Ahmad, A. (eds.), Salicylic acid: A Plant Hormone. The Netherlands: Springer. 91–150.

Kamanga, R.M., Mbega, E., Ndakidemi, P., 2018. Drought tolerance mechanisms in plants: physiological responses associated with water deficit stress in *Solanum lycopersicum*. Advances in Crop Science and Technology. 6(3), 1-8.

Khalilvand Behrouzyar, E., 2017. Effect of seed priming with ethanol, methanol, boron and manganese on some of morphophysiological characteristics of rapeseed (*Brassica napus* L.) under water deficit stress. Journal of Crop Ecophysiology. 11(4), 805-820. [In Persian with English Summary].

Khater, M.S., Osman, Y.A.H., 2015. Influence of TiO2 nanoparticles on growth, chemical constituents and toxicity of fennel plant. Arab Journal of Nuclear Science and Applications. 48 (4), 178-186.

Lei, Z., Su, M.Y., Wu, X.C., Qu, C.X., Chen, L., Huang, H., Liu, X.Q., Hong, F.S., 2008. Antioxidant stress is promoted by Nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-Beta radiation, Biological Trace Element Research. 121, 69–79

Lokhande, V.H., Nikam, T.D. Penna, S., 2010. Biochemical, physiological and growth changes in response to salinity in callus cultures of *Sesuvium portulacastrum* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture.102, 17-25.

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

Morteza, E., Moaveni, P., Morteza, T., Saemi, H., Joorabloo, A., 2015. Effects of TiO_2 (nano and bulk) foliar application on physiological traits and grain yield of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Biological Forum – An International Journal. 7 (1), 1725-1731

Moussa, H., Abdel-Aziz, S.M., 2008. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. Australian Journal of Crop Science. 1, 31-36.

Muller, B., Pantin, F., Génard, M., Turc, O., Freixes, S., Piques, M., Gibon, Y., 2011. Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. Journal of Experimental Botany. 62, 1715–1729.

Owolade, O. F., Ogunleti, D.O., Adenekan, M. O., 2008. Titanium dioxide affects diseases, development and yield of edible cowpea. Eletronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry. 7(5), 2942-2947.

Prasad, R., Kumar, W., Prasad, S., 2014. Nanotechnology in sustainable agriculture: present concern and future aspects. African Journal of Biotechnology. 13 (6), 705-713.

Rosi, H., Kalyanasudaram, S., 2018. Synthesis, characterization, structural and optical properties of titanium-dioxide nanoparticles using glycosmis cochinchinensis leaf extract and its photocatalytic evaluation and antimicrobial properties. World News of Natural Sciences. 17, 1-15

Sairam, R.K., Srivastava, G.C., 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Plant Science. 162, 897-904.

Sandhya, V., Ali, S.k.Z., Grover, M., Reddy, G., Venkateswaralu, B., 2010. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. Plant Growth Regulation. 62, 21-30

Sekhon, B.S., 2014. Nanotechnology in agri-food production: an overview. Nanotechnology, Science and Applications. 4 (7), 31-53.

Shao, H.B., Chu L, Y., Wu, G., Zhang, J.H., Lu, Z.H., Hu, Y.C., 2007. Changes of Some anti-oxidative physiological indices under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at tillering stage. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 54, 143-149.

Simon, L., Balogh, A., Hajdu, F. et al., 1990. Effect of titanium on the carbohydrate content and phosphofructokinase activity of tomato. In: Pais, I. (ed.), New Results in the Research of Hardly Known Trace Elements and Their Importance in the International Geosphere-Biosphere Program. University of Horticultural and Food Science. Budapest. pp. 49–84.

Wei, P., Yang, Y., Wang, F., Chen, H., 2015. Effects of drought stress on the antioxidant systems in three species of Diospyros L. Horticulture Environment and Biotechnology. 56, 597– 605.

Yang, F., Hong, F.S., You, W.J., 2006. Influences of nano-anatase TiO_2 on the nitrogen metabolism of growing spinach.

Biological Trace Element Research. 110, 179–190.

Zhang, X., Lei, L., Lai, J., Zhao, H., Song, W., 2018. Effects of drought stress and water recovery on physiological responses and gene expression in maize seedlings. BMC Plant Biology. 18 (68), 1-16.

Zheng, L., Mingyu, S., Chao, L., Liang, C., Huang, H., Xiao, W., Xiaoqing, L., Tang, F., Gao, F., Hong, F., 2007. Effects of nanonatase TiO2 on photosynthesis of spinach chloroplast under different light illumination. Biological Trace Element Research. 119, 68-76.

University of Birjand

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences
Vol. 13, No. 2, pp. 491-502
Summer 2020
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2019.2012.1495

Original article

Effect of nano-TiO_2 foliar application on ear weight and some of biochemical characteristics of sweet corn (*Zea mays* var saccharata) under water deficit stress

E. Khalilvand Behrouzyar
Assistant Prof. Department of Agronomy, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

Received 8 November 2018; Accepted 14 January 2019

Abstract
In order to investigate the effects of water deficit stress and nano-TiO_2 foliar application on ear weight and some of biochemical characteristics in sweet corn plant, an experiment was conducted in split plot form based on RCBD in three replications at the Research Station of the Islamic Azad University, Tabriz Branch, during growing seasons of 2017. Treatments were water deficit stress in three levels contained: 50, 75 and 100% filed capacity (FC) (the main plot) as well as the nano-TiO_2 foliar application in four levels contains: non application (control), 0.01, 0.03 and 0.05% (the sub plot). The analysis of variance showed that the TiO_2 foliar application on peroxidase and interaction effect between TiO_2 foliar application and water deficit stress on malondialdehyde, soluble carbohydrates, proline and ear weight was significant ($p<0.01$). 0.01% nano-TiO_2 foliar application increased peroxidase activity but with increasing TiO_2 concentration, the activity of this enzyme decreased. furthermore, 0.01% nano-TiO_2 foliar application under 50% water deficit stress increased soluble carbohydrates, proline and reduced malondialdehyde enzyme and under 100% FC irrigation as compared to the non TiO_2 foliar application in 50% FC and control (non TiO_2 foliar application in 100% FC) increased ear yield by 38.5 and 9.7%, respectively. Generally, 0.01% nano-TiO_2 foliar application under 50% FC irrigation was able to influence the activity of enzymes associated with the reduction of stressful effects, finally, the yield of the ear was increased in similar conditions and did not use this combination.

***Keywords*:** Malondialdehyde, Peroxidise, Proline, Soluble carbohydrates.

*Correspondent author: Ebrahim Khalilvand Behrouzyar; E-Mail: e.khalilvand@iaut.ac.ir