



اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم و سالیسیلیک اسید بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و تولید دانه ذرت سینگل کراس ۷۰۴ تحت رژیم‌های آبیاری

فائزه شرقی^۱ و ابراهیم خلیوند بهروزیار^{۲*}

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۲۵

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۲/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۶

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و سالیسیلیک اسید بر برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی و تولید دانه ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ تحت رژیم‌های آبیاری، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز در سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶ به اجرا درآمد. عامل اصلی تنش کمبود آب در سه سطح ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس و ترکیب فاکتوریلی کاربرد نانو دی اکسید تیتانیوم ($n\text{-TiO}_2$) (در سه سطح صفر، ۰/۰۱ و ۰/۰۳ درصد) و سالیسیلیک اسید (SA) (در دو سطح صفر و نیم درصد) به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و کمترین فعالیت مالون دی آلدئید در اثر محلول پاشی با ۰/۵ درصد SA در شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بود. محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد TiO_2 بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز و کمترین فعالیت مالون دی آلدئید را به خود اختصاص داد. در شرایط کاربرد و عدم کاربرد SA، محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد TiO_2 تاثیر مثبتی بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز داشت. محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد TiO_2 و ۰/۵ درصد SA تحت رطوبت ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس نیز بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول و پرولین را داشت. بر اساس نتایج با افزایش سطح تنش کمبود آب فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز افزایش یافت به طوری که در آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بیشترین فعالیت این آنزیم مشاهده شد. با توجه به نقش صفات مورد مطالعه در همکاری با یکدیگر در ممانعت از تولید گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش اثرات مخرب تنش کمبود آب، کاربرد سالیسیلیک اسید و نانو دی اکسید تیتانیوم با افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، مقدار کربوهیدرات‌های محلول، پرولین همزمان با کاهش میزان مالون دی آلدئید موجب کاهش اثرات منفی تنش کمبود آب گردید. با توجه به این که نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و اسید سالیسیلیک بر آنزیم‌های تاثیرگذار بر فیزیولوژی گیاه اثرات مثبتی داشتند از این رو میزان تولید دانه ذرت نسبت به شاهد و شرایط کم آبیاری افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان داد.

واژگان کلیدی: پرولین، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کربوهیدرات‌های محلول، گایاکول پراکسیداز.

۱- فرهیخته‌ی کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

مقدمه

تنش کمبود آب یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده محیطی است که رشد و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می دهد (Mohammadi *et al.*, 2016). تنش کمبود آب در گیاهان ارتباط سلول و آب را مختل کرده و به تبع آن فرآیندهای فیزیولوژیکی و در نهایت تولید گیاه را به شدت تحت تأثیر قرار می دهد (Aref *et al.*, 2017). تنش اکسیداتیو ناشی از تنش کمبود آب به این معنی می باشد که تولید گونه های فعال اکسیژن سبب آسیب رساندن به غشای سلولی و تخریب برخی از آنزیم ها می شود (Zlatev and Lidon, 2012). افزایش ترکیبات آنتی اکسیدانی یکی از مهم ترین سازوکارهای دفاعی گیاهان در برابر تنش ها می باشد. سیستم دفاع آنتی اکسیدانی شامل آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی از جمله ترکیبات فنولی، بتاکاروتن، اسید آسکوربیک، آلفاتوکوفرول، گلوتاتیون و آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پلی فنول اکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز هستند (Daneshmand, 2014). همکاری این اجزا با یکدیگر از تولید گونه های فعال اکسیژن ممانعت کرده و یا با جمع آوری آنها موجب کاهش اثرات مخرب این ترکیبات می شوند (Ashraf and Iram, 2005). ورود فناوری های جدید به صنعت کشاورزی مهم ترین عامل در ایجاد کشاورزی مدرن است. در این میان فناوری نانو، زمینه مناسبی را در تولید محصولات غذایی و کشاورزی فراهم آورده است (Hashemi-Dehkourdi *et al.*, 2017). نانو ذره دی اکسید تیتانیوم (TiO₂-NPs) مجموعه ای از اتم ها و مولکول ها با قطر بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است که نهمین عنصر فراوان از نظر

وزنی در پوسته زمین می باشد (Khan *et al.*, 2017). این ترکیب از جمله موادی می باشد که امروزه خواص آن مبنی بر کاهش اثرات مخرب تنش خشکی گزارش شده است (Rosi, 2018). نانو دی اکسید تیتانیوم از طریق افزایش جذب آهن باعث بهبود جذب نور و فعالیت آنزیم روبیسکو (Mingyu *et al.*, 2007)، افزایش جذب نیتрат (Yang *et al.*, 2006) می شود. همچنین، با افزایش آنزیم هایی چون پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز (Khater, 2015) و کاهش گونه های فعال اکسیژن و مالون دی آلدئید باعث کاهش اثرات منفی تنش می شود (Zheng *et al.*, 2007). مالون دی آلدئید یک محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب فسفو لیپیدها است. از سطح پراکسیداسیون لیپید به عنوان یک شاخص برای ارزیابی شدت بروز تنش اکسیداتیو و آسیب به غشاهای بیولوژیک استفاده می شود (Israr and Sahi, 2006). پژوهش درباره سازوکار نانو دی-اکسید تیتانیوم نشان می دهد این ماده باعث کاهش گونه های فعال اکسیژن و سطح مالون دی-آلدئید می شود (Hong *et al.*, 2005). در شرایط تنش، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش پیدا کرده و از گیاه در برابر آسیب های ناشی از گونه های فعال اکسیژن محافظت می کند (Moussa and Abdel-Aziz, 2008). لی و همکاران (Lei *et al.*, 2008) گزارش کردند که کاربرد نانو دی-اکسید تیتانیوم موجب کاهش اثرات اکسیداتیو در کلروپلاست اسفناج در اثر افزایش فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز می گردد. تنظیم اسمزی یکی از مهم ترین مکانیزم های تحمل به خشکی در گیاهان است که به واسطه کاهش

صفات عملکرد دانه، برخی از اجزای مرتبط با عملکرد دانه، فعالیت آنزیم کاتالاز، اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود. شوقیان و روزبهانی (Shoghiyan and Rozbahani, 2017) در بررسی اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر صفات مورفوفیزیولوژیکی، عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا قرمز در شرایط تنش خشکی گزارش کردند که محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید سبب بهبود کلروفیل کل، پرولین و اجزای عملکرد دانه شد.

با توجه به مطالب یاد شده درباره نقش نانو دی‌اکسید تیتانیوم و سالیسیلیک اسید در بهبود و افزایش متابولیت‌های ثانویه، در پژوهش حاضر اثر محلول‌پاشی نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم و سالیسیلیک اسید بر روی برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی و تولید دانه ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ تحت تنش کمبود آب بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶ در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز با طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۱۷ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۵ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۶۰ متر از سطح دریا بر روی بذور هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت دانه‌ای به‌صورت اسپلینت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. عامل اصلی تنش کمبود آب در سه سطح ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس و ترکیب فاکتوریلی کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در سه سطح صفر، ۰/۰۱ درصد (۰/۰۰۷۹ گرم در لیتر) و ۰/۰۳ درصد (۰/۰۲۳۹ گرم در لیتر) و سالیسیلیک اسید (در دو سطح صفر و نیم درصد) به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. عملیات تهیه

پتانسیل اسمزی از طریق تجمع اسیدهای آمینه، قندها، برخی یون‌های معدنی، هورمون‌ها و پروتئین‌ها در سلول‌های گیاهی با حفظ فشار آماس به توسعه سلولی و رشد گیاه در شرایط تنش کمک می‌کند (Blumt, 2017). تجمع کربوهیدرات‌ها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی نقش اصلی در متابولیسم گیاه دارند و در واکنش به تنش کمبود آب علی‌رغم کاهش اسمیلاسیون CO₂ شرکت می‌کنند (Aldesuquy et al., 2018). پرولین یکی از اسید آمینه‌های فعال در پدیده تنظیم اسمزی است که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون سلولی گیاه نقش به‌سزایی دارد (Bundig et al., 2016). 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). ترکیبات فنولی به علت ویژگی آنتی‌اکسیدانی قوی، رادیکال‌های آزاد را به دام انداخته و گیاهان این ترکیبات را در پاسخ به برخی ترکیبات پیام‌رسان دارای نقش دفاعی مهم آزاد می‌کنند (Sheraphti Chaleshtari et al., 2008).

سالیسیلات (SA) یکی از تنظیم‌کننده‌های درونی رشد و از ترکیبات طبیعی فنولی است که در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک در گیاهان مشارکت دارد (Roa et al., 2012). سالیسیلات باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه شده و به دنبال آن افزایش تجمع مولکول‌های پراکسید هیدروژن صورت می‌گیرد (Wang and Li, 2006). سلطانی و همکاران (Soltani et al., 2013) در آزمایشی روی گیاه عدس نشان دادند که اثر محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر

و به آرامی فشار داخل محفظه افزایش یافت. در این آزمایش با توجه به بافت رسی خاک، این میزان فشار ۰/۳ بار در نظر گرفته شد (Khalilvand, 2017). دستگاه به منظور ایجاد تعادل در سیستم به مدت ۲۴ ساعت در همان حال رها گردید. پس از این مدت و زمانی که دیگر از لوله ها آبی خارج نمی شد هوای محفظه تخلیه شده و نمونه های خاک بلافاصله در آزمایشگاه به وسیله ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند. سپس نمونه ها در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در آن قرار گرفتند. پس از توزین خاک خشک شده مقدار رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت مزرعه ای با استفاده از فرمول زیر محاسبه و به دست آمد (Luxmore, 1990):

$$\theta_m = \frac{M_w - M_s}{M_s} \times 100$$

در این رابطه θ_m مقدار رطوبت وزنی، M_w وزن خاک مرطوب و M_s وزن خاک خشک برحسب گرم می باشد. بعد از مشخص شدن رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت مزرعه ای، مقدار رطوبت نقطه پژمردگی نیز در فشار ۱۵ بار به همان ترتیب اندازه گیری و تفاضل رطوبت ظرفیت مزرعه ای و رطوبت نقطه پژمردگی، به عنوان رطوبت قابل دسترس در نظر گرفته شد (Khan et al., 2017). پس از مشخص شدن میزان رطوبت قابل دسترس، هر روز از خاک نمونه برداری شده و میزان رطوبت وزنی خاک تعیین و فواصل دور آبیاری در تیمارهای مختلف به دست آمد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز: اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش حمدا و کلین (Hemeda and Klein, 1990) انجام شد. ۰/۲ گرم

زمین شامل شخم نیمه عمیق، دیسک و تسطیح و کرت بندی بود. هر کرت شامل چهار ردیف کاشت به طول چهار متر، فاصله بین ردیف ها ۷۵ سانتی متر و فاصله بوته ها روی ردیف ۲۵ سانتی متر بود. عملیات کاشت به صورت دستی و با قرار دادن ۳ بذر در هر کپه انجام شد. در مرحله ۳ تا ۴ برگی، عمل تنک صورت گرفت تا نهایتاً یک بوته در هر کپه باقی بماند. به منظور رفع نیاز غذایی ذرت، مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود سرک اوره در دو نوبت همزمان با آبیاری در زمان کاشت و در مرحله ۶ تا ۸ برگی استفاده شد. کنترل علف های هرز در چندین مرحله در طول فصل کشت و به صورت وجین دستی صورت گرفت. فاصله هر کرت های فرعی یک خط نکاشت و فاصله کرت های اصلی از هم دیگر 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 دانه ها انجام شد.

به منظور تعیین زمان آبیاری ابتدا ظرفیت مزرعه ای خاک اندازه گیری شده و سپس شاهد بر اساس ظرفیت مزرعه ای و سایر تیمارها بر اساس سطوح تنش ها آبیاری شدند. آبیاری تا زمان اعمال تیمارها برحسب نیاز کانوبی 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. جدول ۱ مشخصات خاک مورد کشت منطقه مورد آزمایش را نشان می دهد.

برای تعیین ظرفیت مزرعه ای از دستگاه صفحه فشاری (ساخت شرکت آذر خاک ارومیه) استفاده شد. نمونه هایی از خاک مزرعه برداشت و اشباع شدند. نمونه های اشباع شده در دستگاه صفحه فشار روی صفحات سرامیکی قرار داده شده

مقطر عصاره‌گیری 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 لوله آزمایش یک میلی‌لیتر عصاره قندی، ۰/۵ میلی‌لیتر فنل پنج درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک 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 طول موج 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 بیتس 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 در ۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده 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 سلسیوس 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 طول موج ۵۲۰ نانومتر و با توجه به منحنی استاندارد تعیین شد.

نمونه تر در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی مولار با اسیدیته ۶/۸ هضم شده و سپس محلول حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی حاصل جهت سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز استفاده شد. فعالیت آنزیم با استفاده از کمپلکس واکنشی شامل عصاره آنزیمی محلول بافر فسفات، گایاکول با غلظت نهایی ۵ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت نهایی ۵ میلی‌مولار در طول موج ۴۷۰ نانومتر سنجش گردید. از ضریب خاموشی دستگاه برای محاسبه فعالیت آنزیمی استفاده شد.

پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی: سنجش مالون دی‌آلدئید (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 نمونه تر برگ توزین و در هاون چینی حاوی پنج میلی‌لیتر اسید تری کلرواستیک ۰/۱ درصد (TCA) ساییده شد. عصاره حاصل به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. نسبت ۱ به ۴ از روشناور با محلول ۲۰ درصد از TCA حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربیتوریک در لوله آزمایش با هم مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس نمونه‌ها بلافاصله در یخ سرد شده و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفته و محاسبه شد.

اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول: میزان کربوهیدرات‌های محلول به روش فنل-اسید سولفوریک اندازه‌گیری شد (Dubios et al., 1956). ۰/۲ گرم بافت برگ در ۳ میلی‌لیتر آب

۵ درصد مقایسه و شکل‌ها توسط برنامه EXCEL ترسیم شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم و سالیسیلیک اسید تحت سطوح مختلف تنش کمبود آب بر میزان کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و عملکرد دانه در متر مربع معنی‌دار بود. همچنین، اثر محلول پاشی سالیسیلیک اسید تحت تنش کمبود آب بر صفات فعالیت آنزیم پراکسیداز، مالون دی‌آلدئید و پلی فنل اکسیداز، اثر متقابل محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم در سطوح مختلف تنش کمبود آب بر صفت پلی فنل اکسیداز و اثر متقابل نانو دی اکسید تیتانیوم و سالیسیلیک اسید در صفت پلی فنل اکسیداز معنی‌دار بودند. اثرات ساده تنش کمبود آب و محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر صفت گایاکول پراکسیداز نیز معنی‌دار بود (جدول ۲).

محلول پاشی با ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید در شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بیشترین فعالیت پراکسیداز را داشت در حالی که عدم محلول پاشی در شرایط آبیاری کامل (۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس) کمترین فعالیت این آنزیم را به خود اختصاص داد. بر اساس این تحقیق محلول پاشی با ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید، فعالیت آنزیم پراکسیداز را در تمامی تیمارها افزایش داد (شکل ۱). تنش خشکی با کوتاه کردن دوره رشد گیاه و پیری زودرس برگ، ظرفیت فتوسنتزی را تحت تأثیر قرار داده و با تولید گونه‌های فعال اکسیژن همچون پراکسید هیدروژن باعث ایجاد تنش اکسیداتیوی در سلول‌های گیاهی می‌شود که خود منجر به تخریب سامانه فتوسنتزی، مهار فرآیندهای

اندازه‌گیری آنزیم پلی فنل اکسیداز:

سنجش فعالیت پلی فنل اکسیداز بر طبق روش قناتی و همکاران (Ghanati *et al.*, 2002) تعیین گردید. مخلوط واکنش، شامل ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ی آنزیمی، ۵۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار و ۵۰۰ میکرولیتر متیل کاتکول ۰/۰۲ مولار در ۱۹۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات است. افزایش در جذب در طول موج ۴۱۰ نانومتر محاسبه و فعالیت آنزیمی به میلی‌گرم بر گرم پروتئین وزن تر بر حسب تغییرات جذب در دقیقه بیان شد.

اندازه‌گیری آنزیم گایاکول پراکسیداز:

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) محیط واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار (pH= ۶/۸) و پراکسید هیدروژن ۴۰ میلی‌مولار و گایاکول ۲۰ میلی‌مولار تهیه گردید. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر آغاز گردید. افزایش جذب به وسیله‌ی تشکیل تتراگایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم به صورت تغییرات جذب به ازای هر گرم وزن تر در دقیقه بیان گردید (Dazy *et al.*, 2008). به هنگام رسیدگی فیزیولوژیکی دانه‌ها، یعنی در زمانی که برگ‌ها و ساقه‌ها به زردی متمایل شدند، برداشت نهایی صورت گرفت. برای تعیین عملکرد دانه از ردیف‌های ۲ و ۳ پس از حذف اثرات حاشیه‌ای از بالا و پایین کرت، بوته‌های باقیمانده از وسط هر کرت بریده شده و اندازه‌گیری صورت گرفت.

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام گرفت. میانگین‌ها با کاربرد آزمون دانکن در سطح احتمال

می‌تواند نمایانگر القای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانتی به‌وسیله سالیسیلیک اسید، با از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن به‌طور مستقیم و یا توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باشد، که خسارت‌های ناشی از این گونه‌های فعال در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی غشاء را کاهش دهد (Hayat et al., 2007) بر اساس یک تحقیق، کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم، محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید را در گیاه کتان کاهش داد (Amirjani et al., 2014).

پلی فنل اکسیداز در سلول‌های گیاهی نقش مهمی در اکسیداسیون فنل‌ها به کئینون‌ها و تشکیل لیگنین دارد. این آنزیم در واکنش‌های دفاعی و فوق حساسیت گیاه در مقابل ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها دخالت دارد. نقش کئینون‌ها در مقاومت گیاهان به عوامل بیماری‌زا ثابت شده است (Mohammadi et al., 2002). اهمیت پلی فنل اکسیداز به‌دلیل وجود هماهنگی در تنظیم میزان فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و سنتز فنیل پروپانویید می‌باشد. وقتی که سلولی آسیب می‌بیند در نتیجه فعالیت این آنزیم، ترکیبات فنلی به کئینون تبدیل و در القا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی مؤثر می‌باشد و همچنین، ترکیبات فنلی پلیمریزه شده را برای جلوگیری از آلودگی‌های بعدی مهیا می‌سازد (Newman et al., 2011). محلول‌پاشی با ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید در شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بیشترین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را داشت در حالی که عدم محلول‌پاشی در شرایط آبیاری کامل کمترین فعالیت این آنزیم را دارا بود (شکل ۵). همچنین تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس، محلول‌پاشی با ۰/۱ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم فعالیت آنزیم پلی فنل

متابولیکی، پراکسیداسیون لیپیدها، تغییر در نفوذپذیری غشا و نشت یون‌ها می‌گردد (Gregersen et al., 2013). پراکسیدازها از مهم‌ترین آنزیم‌های دخیل در فرآیند جمع‌آوری و خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن است (Sunkar, 2010). سالیسیلیک اسید به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از جمله پراکسیدازها را فعال می‌کند که می‌تواند به‌عنوان یک سوپسترای دهنده الکترون برای پراکسیدازها عمل نماید (Hamidzadeh Moghadam et al., 2015). بر اساس نتایج، محلول‌پاشی با ۰/۱ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم بیشترین و عدم محلول‌پاشی با این ترکیب کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیدازها را داشت (شکل ۲).

مزارعی و همکاران (Mazarie et al., 2019) افزایش آنزیم‌های پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز را در اثر کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در گیاه مریم گلی گزارش کردند.

کمترین میزان آنزیم مالون دی‌آلدئید در تیمار محلول‌پاشی ۰/۰۵ درصد سالیسیلیک اسید تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بود (شکل ۳). نتایج همچنین نشان داد که محلول‌پاشی با ۰/۱ نانو دی‌اکسید تیتانیوم کمترین میزان آنزیم مالون دی‌آلدئید را داشت، در حالی که با افزایش غلظت نانو دی‌اکسید تیتانیوم این مقدار افزایش نشان داد (شکل ۴). از آنجایی که افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارتباط با میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است، کاهش میزان مالون دی‌آلدئید در گیاهان تحت تیمار، نشان‌دهنده کفایت سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز در جمع‌آوری گونه‌های فعال اکسیژن جهت جلوگیری از آسیب به غشاء می‌باشد. کاهش آسیب غشای سلولی در پاسخ به سالیسیلیک اسید

محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم و ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید تحت رطوبت ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بیشترین مقدار کربوهیدرات های محلول و پرولین را داشت. در بحث کربوهیدرات های محلول بر اساس جدول ۳، تیماری که بیشترین مقدار کربوهیدرات ها را داشت با تیمارهای محلول پاشی با ۰/۰۳ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم و ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید تحت رطوبت ۵۰ درصد، محلول پاشی با ۰/۰۱ و ۰/۰۳ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم و عدم مصرف سالیسیلیک اسید اختلاف معنی داری نداشت.

بر اساس جدول ۳، تیماری که بیشترین مقدار پرولین را داشت با تیمارهای محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم و ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید تحت رطوبت ۷۵ درصد قابل دسترس و محلول پاشی با ۰/۰۳ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم و ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید تحت رطوبت ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس اختلاف معنی داری نداشت. عدم محلول پاشی این ترکیبات در ۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس نیز کمترین مقدار کربوهیدرات های محلول و پرولین را به خود اختصاص داد (جدول ۳). سالیسیلیک اسید از طریق تأثیر بر آنزیم های هیدرولیز کننده پلی ساکاریدها منجر به افزایش مقدار قندها شده یا اینکه تشکیل قندهای محلول از پلی ساکاریدها را تسریع می نماید (Khodary, 2004). همچنین، قندها در گیاهان می توانند فعالیت آنتی اکسیدانته داشته باشند (Lang-Mladek *et al.*, 2010) ساکارز در غلظت های کم به عنوان یک مولکول علامت دهی و در غلظت های بالا به عنوان پالاینده گونه های فعال اکسیژنی عمل می کند (Sugio *et al.*, 2009). پرولین از دیگر تنظیم کننده های اسمزی تحت تنش های محیطی می باشد که در

اکسیداز را افزایش داد که این تیمار اختلاف معنی داری با محلول پاشی با ۰/۰۳ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم نداشت در حالی که آبیاری کامل و عدم کاربرد نانو دی اکسید تیتانیوم فعالیت این آنزیم را کاهش داد. در شرایط آبیاری کامل محلول پاشی با نانو دی اکسید تیتانیوم اختلاف معنی داری با شاهد نداشت (شکل ۶). با توجه به شکل ۷ مشاهده می شود که محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم تأثیر مثبتی بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط کاربرد و عدم کاربرد سالیسیلیک اسید داشته است. بیشترین فعالیت این آنزیم در شرایط محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم و ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید بود و اختلاف معنی داری با محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم و ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید نداشت.

گیاکول پراکسیداز، از مهم ترین گروه های پراکسیدازها است که گیاکول به عنوان تامین کننده پتانسیل هیدروژن عمل می کند. واکنش گیاکول با پراکسید هیدروژن به تولید ترکیبی بنام تترآگایاکوکوئینون منجر می شود (Amiri *et al.*, 2011). نتایج نشان داد که با افزایش سطح تنش کمبود آب سطح فعالیت آنزیم گیاکول پراکسیداز نیز افزایش می یابد به طوری که در آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بیشترین و در شرایط آبیاری کامل کمترین سطح فعالیت این آنزیم وجود داشت (شکل ۸). بررسی اثر تنش خشکی بر آنزیم های آنتی اکسیدان گیاه کلزا نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش فعالیت در چندین آنزیم آنتی اکسیدان از جمله گیاکول پراکسیداز می شود. افزایش گیاکول پراکسیداز می تواند عاملی مهم برای تجزیه پراکسید هیدروژن باشد (Abedi and Pakniyat, 2012).

محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر خصوصیات گندم تحت شرایط تنش خشکی گزارش شده که بالاترین میزان عملکرد دانه در آبیاری معمولی مربوط به مرحله گلدهی و غلظت ۰/۰۲ درصد دی اکسید تیتانیوم بود و بالاترین میزان عملکرد دانه در تنش خشکی مربوط به مرحله ساقه دهی و غلظت ۰/۰۲ درصد دی اکسید تیتانیوم بود (Jaberzadeh et al., 2010).

نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول پاشی با ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید در شرایط آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس موجب افزایش ۵۱ درصدی فعالیت آنزیم پراکسیداز، ۲/۱ برابری پلی فنل اکسیداز و کاهش ۲۴ درصدی فعالیت مالون دی آلدئید شد. همچنین، محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز و کمترین فعالیت مالون دی آلدئید را به خود اختصاص داد به طوری که موجب افزایش ۲۱ درصدی فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاهش ۱۱ درصدی آنزیم مالون دی آلدئید شد. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاهش میزان مالون دی آلدئید در شرایط کاربرد سالیسیلیک اسید و نانو دی اکسید تیتانیوم نشان دهنده افزایش نقش این دو آنزیم در جهت جلوگیری از آسیب به غشاء می باشد. در شرایط کاربرد و عدم کاربرد سالیسیلیک اسید، محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم تاثیر مثبتی بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز داشت. محلول پاشی با ۰/۰۱ درصد دی اکسید تیتانیوم و ۰/۵ درصد سالیسیلیک اسید تحت رطوبت ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس نیز بیشترین مقدار کربوهیدرات های محلول و پرولین را داشت. بر اساس نتایج، با افزایش سطح تنش

تعداد زیادی از گونه های گیاهی، همبستگی بالایی با تحمل به تنش ها ایفا می کند (Azarpanah et al., 2013). تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش به واسطه سنتز پرولین و غیرفعال شدن تخریب آن تحت تأثیر نانو دی اکسید تیتانیوم می باشد (Abdel Latef et al., 2017).

محلول پاشی با نانو دی اکسید تیتانیوم در تمامی تیمارها موجب افزایش عملکرد دانه در متر مربع شد به طوری که کاربرد ۰/۰۱ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم بدون کاربرد اسید سالیسیلیک در شرایط آبیاری کامل ۳۱ درصد عملکرد دانه را نسبت به شاهد و ۹۲ درصد نسبت به عدم کاربرد نانو دی اکسید تیتانیوم و اسید سالیسیلیک تحت آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس که کمترین تیمار را به خود اختصاص داده بود افزایش داد. در شرایط آبیاری کامل، با توجه به باز بودن بیشتر روزنه ها و تأثیر مثبتی که نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در بهبود جذب نور و فعالیت آنزیم های مؤثر در فرایند فتوسنتز دارند، در نتیجه افزایش قابل توجهی در عملکرد دانه ایجاد شد. محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۰/۰۱ درصد در شرایط تنش خشکی نسبت به عدم کاربرد دی اکسید تیتانیوم در همین شرایط عملکرد دانه را ۴۷/۳ درصد افزایش داد (جدول ۳). در اثر کمبود آب حجم سلول، تقسیم سلولی، دیواره سازی سلول، اندازه کلی گیاه و وزن تر و خشک گیاه به عنوان ملاک های کلی رشد اغلب کاهش می یابند. یکی از اولین نشانه های کمبود آب، کاهش تورژسانس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول به خصوص در ساقه و برگ ها است. نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم اثر افزایشی بر سرعت فتوسنتز دارد و باعث افزایش رشد می شود (Yang et al., 2006). در بررسی اثرات

فعالیت آنزیم های مؤثر در فرایند فتوسنتز داشت، در نتیجه افزایش قابل توجهی در عملکرد دانه نسبت به شاهد و شرایط عدم مصرف و کم آبیاری ایجاد شد.

کمبود آب فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز افزایش یافت به طوری که در آبیاری ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس بیشترین فعالیت این آنزیم مشاهده شد. در تحقیق حاضر با توجه به تأثیر مثبتی که نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در بهبود

جدول ۱- مشخصات خاک مزرعه مورد آزمایش

Table1- Soil physical and chemical analysis

رس (Clay)	سیلت (Silt)	شن (Sand)	پتاسیم (K)	فسفر (P)	نیتروژن (N)	کربن (C)	هدایت الکتریکی (EC)	pH
%	%	%	ppm	ppm	%	%	dsmm ⁻¹	
14	18	68	600	48	0.133	0.92	1.57	7.8-8.9

جدول ۲ - تجزیه واریانس صفات ذرت تحت تأثیر تنش کمبود آب، محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم و اسید سالیسیلیک
Table2- The analysis of variance traits of mays under water deficit stress, TiO₂ and salicylic acid

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات						
		پراکسیداز Peroxidase	مالون دی آلدئید Malon dialdehyde	کربوهیدرات های محلول soluble carbohydrates	پروлін Proline	پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase	گایاکول پراکسیداز guaiacol peroxidase	عملکرد دانه Seed yield
REP بلوک	2	0.001**	2.17 ^{ns}	0.689 ^{ns}	2.36**	0.008 ^{ns}	0.012**	^{ns} 172
WDS تنش کمبود آب	2	0.004**	4.1*	72**	2.76**	0.16**	0.056**	121446**
ERROR1 خطای ۱	4	0.000024	0.486	0.357	0.098	0.002	0.0002	411
SA اسید سالیسیلیک	1	0.003**	3.95**	9.29**	5.2**	0.054**	0.014*	50585**
SA×WDS تنش × اسید سالیسیلیک	2	0.00018**	1.59**	0.141 ^{ns}	0.22 ^{ns}	0.013**	0.001 ^{ns}	5947**
TiO ₂ نانو دی اکسید تیتانیوم	2	0.002**	2.56**	6.4**	2.17**	0.034**	0.004 ^{ns}	49696**
TiO ₂ ×WDS تنش × تیتانیوم	4	0.002 ^{ns}	0.393 ^{ns}	0.932**	0.366**	0.011**	0.001 ^{ns}	3124**
TiO ₂ ×SA سالیسیلیک × تیتانیوم	2	0.000006 ^{ns}	0.067 ^{ns}	1.72**	0.204 ^{ns}	0.005**	0.00004 ^{ns}	20834**
TiO ₂ ×SA×WDS تنش × سالیسیلیک × تیتانیوم	4	0.00003 ^{ns}	0.143 ^{ns}	1.53**	0.323*	0.001 ^{ns}	0.001 ^{ns}	3191*
ERROR2 خطای ۲	30	0.00001	0.194	0.211	0.085	0.001	0.002	740
CV% ضریب تغییرات		4.05	7.27	6.66	9.75	8.72	19.03	4.52

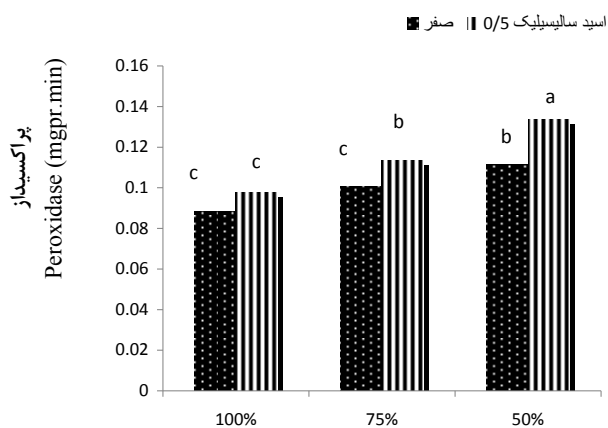
ns, *, ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

ns, * and ** : Non significant, significant at 5% and 1% respectively,
WDS: Water Deficit Stress, SA: Salicylic Acid, TiO₂: Nano Dioxide Titanium

جدول ۳- اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم و اسید سالیسیلیک در سطوح تنش کمبود آب بر صفات مورد مطالعه

Table3- Effect of TiO₂ and salicylic acid under water deficit stress on traits of study

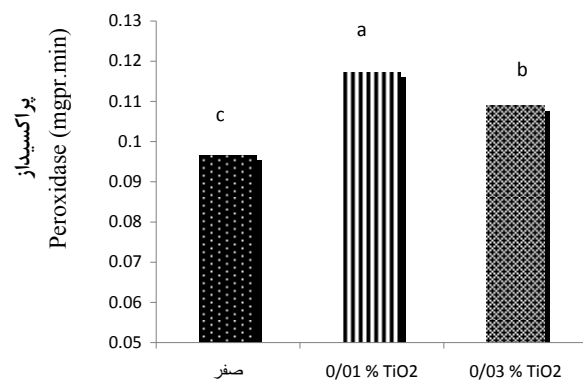
تنش کمبود آب Water deficit stress	اسید سالیسیلیک Salicylic acid	نانو دی اکسید تیتانیوم TiO ₂	کربوهیدرات های محلول Soluble carbohydrates mg/ g FW	پروکلین Prolin μmole/g	عملکرد دانه Seed yield g m-2
۱۰۰ درصد رطوبت قابل دسترس 100 % FC	صفر 0	0	4.489i	2.100e	620.8cd
		0/01	4.496i	2.570cde	817.6a
		0/03	4.624i	2.540cde	761.9a
	۰/۵ درصد 0.5	0	4.616i	2.903bc	635.4bcd
		0/01	5.924gh	2.750bc	700.7b
		0/03	5.055hi	2.650cd	642.4bc
۷۵ درصد رطوبت قابل دسترس 75 % FC	صفر 0	0	5.230hi	2.183de	595.4cde
		0/01	7.363ef	2.857bc	698.4b
		0/03	6.946efg	2.843bc	597cde
	۰/۵ درصد 0.5	0	7.747de	2.893bc	529.8efg
		0/01	7.835cde	4.077a	570.2d-g
		0/03	6.392fg	3.097bc	522.2fg
۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس 50 % FC	صفر 0	0	6.996efg	2.650cd	424.2h
		0/01	9.257ab	3.267b	626.3cd
		0/03	8.90abc	3.077bc	588.1c-f
	۰/۵ درصد 0.5	0	8.625bcd	2.913bc	525.8fg
		0/01	9.981a	4.367a	547.7efg
		0/03	9.599ab	3.937a	504.6g



شکل ۱- اثرات محلول پاشی اسید سالیسیلیک تحت تنش کمبود

آب بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

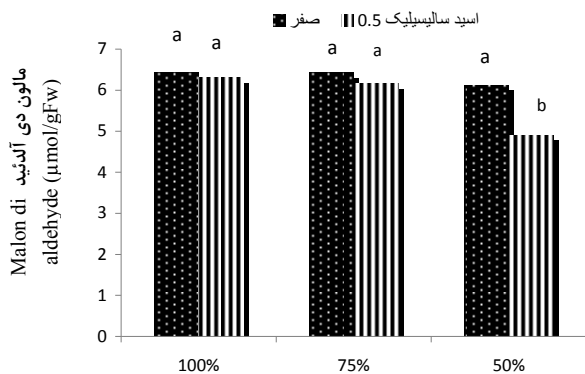
Figure1- Effects of salicylic acid foliar application under water deficit stress on peroxidase activity



شکل ۲- اثرات محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم بر فعالیت

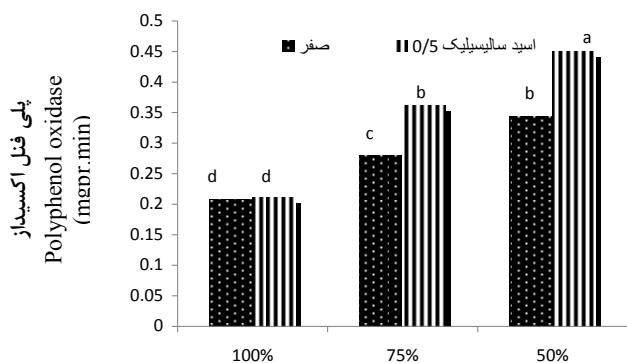
آنزیم پراکسیداز

Figure2- Effects of TiO₂ foliar application under water deficit stress on peroxidase activity



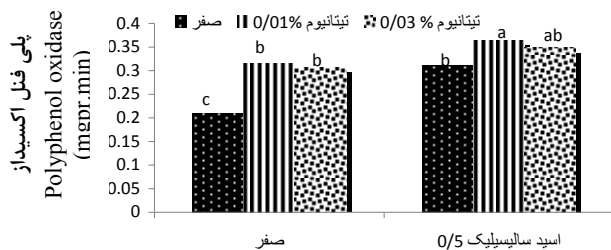
شکل ۳- محلول پاشی اسید سالیسیلیک تحت تنش کمبود آب بر فعالیت مالون دی آلدئید

Figure3- Salicylic acid foliar application under water deficit stress on malondialdehyde activity



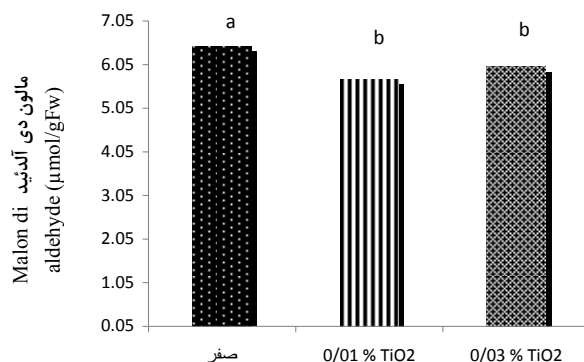
شکل ۵- اثرات محلول پاشی اسید سالیسیلیک تحت تنش کمبود آب بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

Figure5- Effects of salicylic acid foliar application under water deficit stress on polyphenol oxidase activity



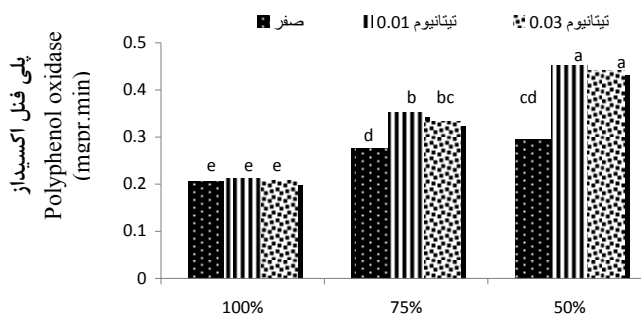
شکل ۷- اثرات محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

Figure7- Effects of TiO₂ foliar application under water deficit stress on polyphenol oxidase activity



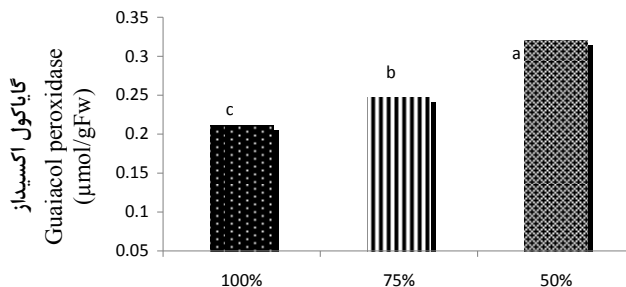
شکل ۴- اثر محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم بر فعالیت مالون دی آلدئید

Figure4- Effect of TiO₂ foliar application on malondialdehyde activity



شکل ۶- اثرات محلول پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم تحت تنش کمبود آب بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

Figure6- Effects of TiO₂ foliar application under water deficit stress on polyphenol oxidase activity



شکل ۸- اثرات تنش کمبود آب بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

Figure8- Effects of water deficit stress on guaiacol peroxidase activity

References

منابع مورد استفاده

- Abdel Latef, A.A.H., A.K. Srivastava, M.S., Abd El-Sadek, M. Kordrostami, and L.P. Tran. 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.
- Abedi, T., and H. Pakniyat. 2012. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oil seed rap (*Brassica napus* L.). *Genetics and Plant Breeding*. 46(4): 27-34.
- Aldesuquy, H.S., M.A. Abass, S.A. Abo-Hamed, and A.H. Elhakem. 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): 5-22.
- Amirjani, M. R., M. Askari, and P. Askari. 2014. The effect nano oxide zinc on the amount of alkaloids, enzymatic and nonenzymatic antioxidants and some indicators of physiology *Catharantus roseu*. *Cells and Tissues Journal*. 5(2): 173-183. (In Persian).
- Amiri, A., S.R. Parsa, M. Nezami, and A. Ganjeali. 2011. The effects of drought stress at different phenological stages on growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions. *Pulses Research* 1: 69-84. (In Persian).
- Aref, I., H. El Atta, M. El Obeid, A. Ahmed, P. Khan, and M. Iqbal. 2013. Effect of water stress on relative water and chlorophyll contents of *Juniperus procera* Hochst. ex Endlicher in Saudi Arabia. *Life Science Journal*. 10(4): 681–685.
- Ashraf, M., and A. Iram. 2005. Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. *Flora*. 200: 446-535
- Azarpanah, A., O. Alizadeh, and H. Dehghanzadeh. 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.
- Blum, A. 2017 Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production: Osmotic adjustment and plant production. *Plant Cell Environment*. 40, 4–10.
- Bundig, C., T.H. Vu, P. Meise, S. Seddig, A. Schum, T. Winkelmann. 2016. Variability in Osmotic Stress Tolerance of Starch Potato Genotypes (*Solanum tuberosum* L.) as Revealed by an In Vitro Screening: Role of Proline, Osmotic Adjustment and Drought Response in Pot Trials. *Joyrnal of Agronomy and Crop Science*. 203, 206–218.
- Daneshmand, F. 2014. Response of antioxidant system of tomato to water deficit stress and its interaction with ascorbic acid. *Iranian Journal of Plant Biology*. 6(19): 57-72. (In Persian).
- Dazy, M., V. Jung, J. Ferard, and J. Masfarau. 2008. Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: Role of plant antioxidant enzymes and possible implication in site restoration. *Chemosphere*. 74: 57-63.

- Dubios, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and F.S. Ith. 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. *Chemosphere*. 28: 350-356.
- Ghanati, F., A. Morita, and H. Yokota. 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in Tobacco cell. *Soil Science, Plant Nutrition*. 48(3): 357-364.
- Gregersen, P.L., A. Culetic, L. Boschian, and K. Krupinska. 2013. Plant senescence and crop productivity. *Plant Molecular Biology*. 82: 603-622.
- Hashemi-Dehkourdi, E., M. Mousavi, N. Moallemi, and M.H. Ghafariyan-Moghareb. 2017. Effect of nanoparticles of titanium dioxide (anatase) on physiological characteristics of strawberry (*Fragaria ananassa* c.v. Queen Elisa) in hydroponic condition. *Journal of Plant Process and Function*. 5(16): 1-8. (In Persian).
- Hamidzadeh Moghadam, S.H., S. Jahanbakhsh Godekahriz, and A. Ebadi. 2015. Salicylic acid effect on variation of carbohydrate content, total protein and antioxidant enzymes during programmed cell death in two wheat cultivars. *Journal of Crop Production*. 7(2): 97-112. (In Persian).
- Hayat, S., and A. Ahmad. 2007. Salicylic acid: A plant hormone. Springer, Dordrecht, Netherlands Pp: 97-99
- Heath, R.L., and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125: 189-198.
- Hemeda, H.M., and B.P. Klein. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*. 55: 184-185.
- Israr, M., and S.V. Sahi. 2006. Antioxidative responses to mercury in the cell cultures of *Sesbania drummondii*. *Plant Physiology Biochemical*. 44: 590-595
- Hong, F., J. Zhou, C. Liu, F. Yang, C. Wu, L. Zheng, and P. Yang. 2005. Effects of nano TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of Spinach. *Journal Biological Trace Element Research*. 105: 269-279.
- Jaberzadeh, A., Moaveni, P., Tohidi Moghadam, H., Moradi, A., 2010. Effect of nano titanium dioxide particles spraying on some agronomy traits of wheat under drought stress condition. *Crop Ecophysiology*. 2(4), 259-301. (In Persian).
- Khalilvand Behrouzfar, E. 2017. Effect of seed priming with ethanol, methanol, boron and manganese on some of morpho-physiological characteristics of rapeseed (*Brassica napus* L.) under water deficit stress. *Journal of Crop Ecophysiology*. 11(4): 805-820. (In Persian).
- Khan, M.N., M. Mobin, Z.K. Abbas, K.A. AlMutairim, and Z.H. Siddiqui. 2017. Role of nanomaterials in plants under challenging environments. *Plant Physiology and Biochemistry*. 110: 194-209.
- Khater, M.S. 2015. Effect of titanium nanoparticles (TiO₂) on growth, yield and chemical constituents of coriander plants. *Arab Journal of Nuclear Science and Applications*. 48(4): 187-194
- Khodary, S.E.A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *International Journal of Agriculture and Biology*. 6: 5-8.

- Lang-Mladek, C., O. Popova, K. Kiok, M. Berlinger, B. Rakic, and W. Aufastez. 2010. Transgenerational inheritance and resetting of stress-induced loss of epigenetic in Arabidopsis. *Molecular Plant*. 3: 594-602.
- Lei, Z., S. Mingyu, W. Xiao, L. Chao, Q. Chunxiang, C. Liang, H. Hao, L. Xiao-qing, and H. Fashui. 2008. Antioxidant stress is promoted by nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-B radiation. *Biological Trace Element Research*. 121: 69–79
- Luxmore, B. 1990. Methods of soil Analysis. Part II, 3th Edition, pp.493-59.
- Mohammadi, H., M. Esmailpour, and A. Gheranpaye. 2017. Effects of TiO₂ nanoparticles and water deficit stress on morpho-physiological characteristics of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) plants. *Acta Agriculturae Slovenica*. 107(2): 385-396.
- Mohammadi, M., and H. Kazemi. 2002. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. *Plant Science*. 162: 491-498.
- Moussa, H., and S.M. Abdel-Aziz. 2008. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Australian Journal of Crop Science*. 1: 31-36.
- Mazarie, A., S.M. Mousavi-nik, A. Ghanbari, and L. Fahmideh. 2019. Effect of different spraying concentrations of jasmonic acid and titanium dioxide nanoparticles on some physiological traits and antioxidant system activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). *Iranian Journal of Plant Biology*. 11(1): 1-22. (In Persian).
- Newman, S., D. Tantasawat, and J. Steffens. 2011. Tomato polyphenol oxidase B is spatially and temporally regulated during development. *Molecules*. 6: 493-517
- Rao, S.R., A. Qayyum, A. Razzaq, M. Ahmad, I. Mahmood, and A. Sher. 2012. Role of foliar application of salicylic acid and L-Tryptophan in drought tolerance on maize. *The Journal of Animal and Plant Sciences*. 22(3): 768-772.
- Rosi, H.S. 2018. Kalyanasundaram, 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.
- Sheraphti chaleshtari, F., R. Sheraphti chaleshtari, and M. Momeni. 2008. The antimicrobial effects of aqueous extract and ethanol plant *Scrophularia striata* on E. coli in Laboratory. *Journal of Medical Sciences* (Shaherkord University). 10(4): 32-37. (In Persian).
- Shoghiyan, M., and A. Rozbahani. 2017. The effect of salicylic acid foliar application on morphological traits, yield and yield components of red bean under drought tension conditions. *Crop Physiology Journal*. 34(9): 131-147. (In Persian).
- Soltani, M., P. Moaveni, and H. Noori. 2013. The effect of foliar application of nanoparticles of titanium dioxide on yield and antioxidant enzyme activities in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Journal of Plant Ecophysiology Research*, Special Issue, 78-88. (In Persian)
- Sugio, A., R. Dreos, F. Aparicio, and A.J. Maule. 2009. The cytosolic protein response as a subcomponent of the wider heat shock response in Arabidopsis. *Plant Cell*. 21: 642-645

- Sunkar, R. 2010. Plant stress tolerance methods and protocols, Humana Press, Oklahoma.
- Wang, L.J., and S.H.H. Li. 2006. Salicylic acid induced heat or cold tolerance in relation to Ca^{2+} homeostasis and antioxidant system in young grape plants. *Plant Science*. 170: 685-694.
- Yang, F., F. Hong, W. You, C. Liu, F. Gao, C. Wu, and P. Yang. 2006. Influence of nanoanatase TiO_2 on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research*. 110(2): 179-190
- Zheng, L., M. Su., C.H. Liu, C. Li, H. Huang, X. Wu, X. Liu, X. Yang., F. Gao, and F. Hong. 2007. Effects of nanoanatase TiO_2 on photosynthesis of spinach chloroplasts under different light illumination. *Biological Trace Element Research*. 119: 68-76.
- Zlatev, Z., and F.C. Lidon. 2012. An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 24: 57-72.

Effect of Nano-TiO₂ and Salicylic Acid Foliar Application on some Biochemical Traits of Corn 704 Single Cross under Water Regimes

Faezeh Shargi¹, and Ebrahim Khalilvand Behrouzfar^{2*}

Received: February 2019, Revised: 10 May 2019, Accepted: 14 May 2019

Abstract

In order to investigate the effects of water deficit stress and nano-TiO₂ and salicylic acid foliar application on some biochemical traits of corn 704 single cross plant, an experiment was conducted in split plot factorial based on RCBD in three replications at the Research Station of the Islamic Azad University, Tabriz Branch, during growing seasons of 2017-2018. Treatments were water deficit stress in three levels contained: 50, 75 and 100% field capacity (FC) as well as the factorial combination of nano-TiO₂ (n-TiO₂) foliar application in three levels contains: non application (control), 0.01 and 0.03 and salicylic acid (SA) foliar application in two levels contain: non application and 0.5%. Result showed that 0.5% SA foliar application under 50% water deficit stress had the highest peroxidase, polyphenol oxidase and lowest malondialdehyde activity. Furthermore, 0.01% n-TiO₂ foliar application had the highest effect on peroxidase and lowest effect on malondialdehyde activity. Use and non-use condition of SA, 0.01% n-TiO₂ foliar application had the positive effect on polyphenol oxidase activity. Foliar application of 0.01% n-TiO₂ and 0.5% SA under water deficit stress had the highest effect on soluble carbohydrates and proline. Based on the results, the guaiacol peroxidase enzyme activity increased with increasing water deficit stress level, so that the most activity of this enzyme was observed in irrigation with 50 % field capacity. Considering the role of the traits studied in cooperation with each other in preventing the production of active oxygen species and reducing the effects of water deficit stress, SA and n-TiO₂, increasing the activity of enzyme peroxidase, polyphenol oxidase, soluble carbohydrates, Proline and in contrast to the reduction of malondialdehyde reduced the negative effects of water deficit stress. Since SA and n-TiO₂ had positive effects on the enzymes affecting plant physiology, the seed yield increased significantly compared to control and water deficit conditions.

Key words: Guaiacol peroxidase, Peroxidase, Polyphenol oxidase, Proline, Soluble carbohydrates.

1- Msc. Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

*Corresponding Author: e.khalilvand@iaut.ac.ir

