

DOI: 10.71829/BIOLOGY-2024-1185255

نوع مقاله: پژوهشی

بررسی تاثیر کاربرد برگی نانوکیتوزان بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنتی اکسیدان‌های آنزیمی ذرت (*Zea mays*)سیده نسرین وقار موسوی^۱، سارا سعادتمند^۲، رشید جامعی (نویسنده مسئول)^{۳*} و رضا درویش‌زاده^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، setayesh139@yahoo.com

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، sadatmandsara@yahoo.com

۳- استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، r.jamei@urmia.ac.ir

۴- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۳

Investigating the effect of foliar application of chitosan nanoparticles on photosynthetic pigments and some enzymatic antioxidants (*Zea mays*)Seyede Nasrin Veghar Moosavi¹, Sara Saadatmand², Rashid Jamei (Corresponding author)^{3*} and Reza Darvishzadeh⁴

1- Ph.D. Student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, setayesh139@yahoo.com

2- Associated Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, sadatmandsara@yahoo.com

3- Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran, r.jamei@urmia.ac.ir

4- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

Received: October 2024

Accepted: December 2024

Abstract

This study evaluated the physiological responses of corn seedlings following the foliar application of chitosan nanoparticles (CSNPs). The CSNPs-mediated changes in enzymatic antioxidants and photosynthetic pigments were investigated. Ten-day-old corn seedlings were sprayed with CSNPs at concentrations of 0 (control), 50 and 100 mg/L for five consecutive days. Foliar application of CSNPs at both concentrations significantly increased leaf fresh weight compared to the control group. A significant increase in the root fresh weight also resulted from the foliar application of CSNPs. Foliar spraying with CSNPs was associated with a significant increase in the concentration of photosynthetic pigments, including chlorophylls (Chl a and b) and carotenoids. Compared to the control group, the foliar utilization of CSNPs led to a significant stimulation in catalase activity. The activity of the polyphenol oxidase enzyme had an upward trend in response to the application of CSNPs. The activity of the superoxide dismutase enzyme also showed a significant increase due to the use of CSNPs compared to the control. In a similar trend, CSNPs had a stimulating effect on glutathione reductase enzyme activity compared to the control group. According to the results of this research, the foliar application of CSNPs is significantly associated with an increase in photosynthetic pigments and induction in enzymatic antioxidants, thereby improving plant growth and resistance to stresses.

Keywords: Antioxidants, Chitosan, Nanoparticles, Sustainable agricultureIranian Journal of Plant & Biotechnology
Autumn 2024, Vol 19, No 3, Pp 1-10**چکیده**

این مطالعه برای ارزیابی تغییرات فیزیولوژیک در اثر محلول‌پاشی برگی گیاه ذرت با نانوکیتوزان اجرا شد. در این تحقیق، گیاهان ذرت با نانوکیتوزان محلول‌پاشی شدند و تغییرات در سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و رنگیزه‌های فتوسنتزی بررسی شد. گیاهچه‌های ذرت ده روزه با نانوکیتوزان در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت پنج روز متوالی محلول‌پاشی شدند. کاربرد نانوکیتوزان در هر دو غلظت منجر به افزایش معنی‌دار وزن تر برگ نسبت به گروه شاهد شد. وزن تر ریشه نیز در اثر محلول‌پاشی با نانوکیتوزان افزایش معنی‌داری نشان داد. محلول‌پاشی نانوکیتوزان همراه با افزایش معنی‌دار غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل Chl a، Chl b و کاروتنوئیدها بود. محلول‌پاشی با نانوکیتوزان منجر به تحریک قابل ملاحظه فعالیت کاتالاز نسبت به گروه شاهد شد. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بدنال محلول‌پاشی با نانوکیتوزان نیز روند صعودی نسبت به شاهد داشت. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز در اثر کاربرد نانوکیتوزان نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. در روندی مشابه، نانوکیتوزان اثر تحریکی بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز در مقایسه با گروه شاهد داشت. براساس نتایج این تحقیق، کاربرد برگی نانوکیتوزان به‌طور قابل توجهی همراه با افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنتی اکسیدان‌های آنزیمی است که از آن طریق موجب بهبود رشد و مقاومت در برابر تنش‌ها می‌شود.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، کیتوزان، کیتوزان، نانوذرات

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران

پاییز ۱۴۰۳، دوره ۱۹، شماره ۳، صص ۱-۱۰

مقدمه و کلیات

تنش‌های بیوتیک (حمله پاتوژن و گیاهخواران)، غیرزیستی (کمبود یا زیاد آب، دمای کم یا زیاد، شوری زیاد، اشعه ماوراء بنفش، فلزات سنگین، آلاینده‌های مختلف سمی) و به ویژه ترکیب غیرقابل پیش بینی تنش‌های مختلف برای گیاه بسیار مضر است. با توجه به تقاضای فزاینده غذایی جمعیت رو به رشد جهان، افزایش تحمل گیاهان در برابر چند تنش ضروری است. تاکنون روش‌های مختلفی برای افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها آزمایش شده است. به طور خاص، مقاومت فزاینده‌ای با استفاده از مواد شیمیایی مختلف مانند آفت کش‌ها، کودها و تنظیم کننده‌های گیاهی به دست آمده است. با این حال، استفاده گسترده از این مواد شیمیایی در کشاورزی، با تجمع در خاک، آب و موجودات زنده، اثرات زیست محیطی زیادی دارد. این امر جستجوی مکانیسم‌های سازگار با محیط زیست را برای مدیریت تنش‌های گیاهی برانگیخته است (Malerba and Cerana, 2020). کیتین، یک پلی ساکارید با وزن مولکولی بالا با زنجیره بلند و طبیعی متشکل از N-استیل-D-گلوکزآمین و D-گلوکزآمین، جزء اصلی اسکلت بیرونی بندپایان و دیواره سلولی قارچی و کیتوزان مشتق غیر استیل شده آن، ابزار امیدوارکننده‌ای برای حل این مشکل به نظر می‌رسد (Malerba and Cerana, 2020). با توجه به ضرورت ارتقا تولید مواد غذایی و کشاورزی پایدار، استفاده از پلیمر زیستی کیتوزان، به عنوان مشتق N-دی استیله کیتین، توجه زیادی را به عنوان یک روش سازگار به خود جلب کرده است. خواص منحصر به فرد آن، مانند زیست

تخریب پذیری، زیست سازگاری، هزینه، اثربخشی، عملکردهای ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی (Sharif et al., 2018) دلایلی هستند که این ترکیب توجه زیادی را در بین متخصصان به خود جلب نموده است. این مسئله تایید شده است که کاربرد خارجی بیوپلیمر کیتوزان قادر به بهبود رشد گیاه است (Li et al., 2020; Zhang et al., 2021) و تغییراتی را در فرآیندهای بیولوژیکی مهم مانند فتوسنتز (Li et al., 2020)، جذب نیتروژن (Geng et al., 2020)، متابولیسم ثانویه (Pirbalouti et al., 2017) و سیستم آنتی اکسیدانی (Chun et al., 2019) القا می‌کند. محلول پاشی کیتوزان رشد را در گیاه فلفل (*Capsicum annuum*) بهبود بخشید (Esyanti et al., 2019). به طور مشابه، کیتوزان بیماری‌های ناشی از قارچ فوزاریوم را در سیب زمینی (*Solanum tuberosum*) کاهش داد (Mejdoub-Trabelsi et al., 2020). بکارگیری همزمان میکوریزا و کیتوزان به مقدار قابل توجهی موجب بهبود رشد و متابولیسم در گیاه گوجه فرنگی شد (El Amerany et al., 2020). علاوه بر این، گزارش شده است که کاربرد کیتوزان موجب بهبود تحمل گیاهان در برابر تنش‌های فیزیکی و شیمیایی مختلف مانند فلزات سنگین (Sadeghipour, 2021)، خشکی (Mohammed et al., 2024) و شوری (Zhang et al., 2021) شده است. به همین ترتیب، نانوذرات کیتوزان (CSNPs) مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌هایی مانند خشکی (Attaran Dowom et al., 2022)، شوری (Hassan et al., 2021; Balusamy et al., 2022) و زیستی (Chun and Chandrasekaran, 2019) بهبود

Lichtenaler (۱۹۸۷) استفاده شد. ۰/۵ گرم از بافت تر برگ‌ها وزن شد و با ۵۰ میلی‌لیتر استون ۱۰۰٪ له شد و سپس با تنظیف صاف گردید و عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در داخل سانتیفریوژ با دور ۲۵۰۰ g گذاشته شد. برای تعیین محتوای کلروفیل (Chl) a و b، جذب عصاره حاصل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۶۲ نانومتر و ۶۴۵ نانومتر، برای تعیین کاروتنوئید کل (CX+ C) جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه محتوای کلروفیل a، b و همچنین کاروتنوئید کل از فرمول (Lichtenaler, 1987) استفاده گردید.

$$\text{Chl}_a = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$\text{Chl}_b = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

$$\text{Carotenoids} = 1000 A_{470} - 2.270 \text{Chl}_a - 81.4 \text{Chl}_b / 227$$

فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز (GR): سنجش فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز (GR) با استفاده از روش Foyer و Halliwell (۱۹۷۶) با اندکی تغییرات انجام شد. اساس سنجش کاهش جذب نمونه‌ها طی ۱ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر به علت اکسیداسیون NADPH بود. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، کلرید منیزیم ۲/۵ میلی‌مولار، NADPH ۰/۲ میلی‌مولار، GSSG ۰/۵ میلی‌مولار و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره‌ی استخراجی بود. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ($6.2 \times 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) و فرمول زیر استفاده شد.

$$\text{Units (mM/min)} = \frac{\frac{\text{doD}}{\text{min(slope)}} \times \text{Vol. of assay} (0.0005)}{\text{Extinction coefficient} (6.2)}$$

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD, EC 1.15.1.1): برای استخراج عصاره‌ی گیاهی ۱ گرم از بافت تر ریشه، ساقه و برگ به همراه ۴ میلی‌لیتر بافر

بخشیدند. در بین محصولات زراعی، ذرت (Zea mays) توجه زیادی را از سوی محققان به دلیل اهمیت کشاورزی-اقتصادی آن به خود جلب کرده است. این مطالعه برای ارزیابی تغییرات فیزیولوژیک در اثر محلول‌پاشی برگی گیاه ذرت با نانوکیتوزان اجرا شد. در این تحقیق، گیاهان ذرت با نانوکیتوزان محلول‌پاشی شدند و تغییرات در سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و رنگیزه‌های فتوسنتزی مورد بررسی قرار گرفت.

فرآیند پژوهش

در این تحقیق، ماده نانوکیتوزان CSNPs با قطر ۲۰ تا ۵۰ نانومتر از شرکت پیشگامان نانومواد ایران (مشهد، ایران) تهیه شد. دانه‌های ذرت با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۵ دقیقه ضد عفونی شدند و به خوبی با آب شسته شدند و به مدت ۷۲ ساعت در ظرف پتری برای جوانه زنی در انکوباتور نگهداری شدند. بذره‌های جوانه زده در عمق ۵ سانتی‌متری در گلدان‌های حاوی ۲/۵ کیلوگرم محیط بدون خاک متشکل از ماسه و پرلیت (۲:۱) کاشته شدند. در هفته اول، آبیاری گیاهان یک روز در میان با استفاده از محلول هوگلند و آب مقطر انجام شد. دانه رست‌ها در هفته‌های بعد با استفاده از این محلول غذایی به صورت روزانه آبیاری شدند. گیاهچه‌های ذرت ده روزه با CSNPs در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت پنج روز متوالی محلول‌پاشی شدند. دو هفته پس از اعمال آخرین محلول‌پاشی، نمونه‌ها برای ارزیابی صفات مختلف فیزیولوژیک برداشت شدند.

رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها): برای اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌ها از روش

ساییده شد. هموژنات حاصل با استفاده از پارچه
تنظیف ۴ لایه صاف و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴
درجه سانتی گراد و در ۱۰۰۰۰ g سانتریفوژ شد، سپس
عصاره‌ی استخراج شده برای سنجش مورد استفاده
قرار گرفت. مخلوط سنجش فعالیت آنزیم محتوی
۱/۹۵ میل لیتر بافر فسفات (pH = ۶/۸)، ۱ میلی لیتر
کافئیک اسید ۲۰ میلی مولار و ۵۰ میکرو لیتر عصاره‌ی
استخراج شده بود. جذب نمونه‌ها پس از اضافه کردن
عصاره طی ۱ دقیقه در طول موج نانومتر ۴۲۰ خوانده
شد. برای سنجش میزان فعالیت آنزیم از ضریب
خاموشی ($2.4/9 \text{ m M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) استفاده شد.

$$\text{Units (mM/min)} = \frac{\frac{\text{dOD}}{\text{min(slope)}} \times \text{Vol. of assay (0.0005)}}{\text{Extinction coefficient}}$$

تجزیه و تحلیل آماری: این مطالعه بر اساس طرح
کاملاً تصادفی انجام شد. تمامی داده ها با استفاده از
نرم افزار GraphPad مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند.
خروجی ها به صورت میانگین و انحراف معیار (SD)
سه تکرار بیان شد. میانگین تفاوت‌ها بر اساس آزمون
چند دامنه ای توکی مورد ارزیابی آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

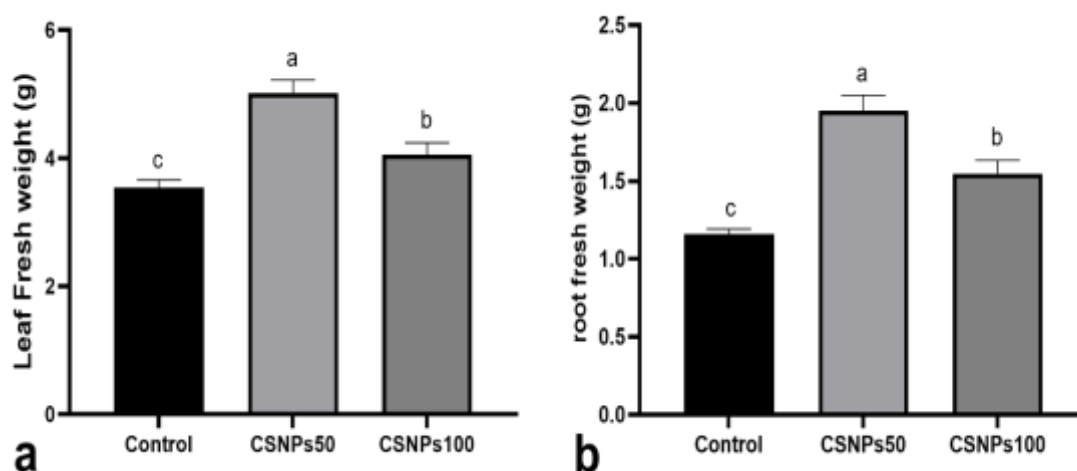
کاربرد برگی CSNPs در هر دو غلظت منجر به
افزایش معنی دار وزن تر برگ نسبت به گروه شاهد
شد. همچنین تفاوت بین دو گروه CSNPs50 و
CSNPs100 نیز معنی دار بود (شکل 1a). افزایش
معنی دار وزن تر ریشه نیز از محلول پاشی برگی با
CSNPs نتیجه شد. بیشترین وزن تر ریشه در گروه
 تیماری CSNPs50 ثبت شد (شکل 1b).

پتاسیم-فسفات (pH= ۷) محتوی پلی وینیل پیرولیدون
۱ درصد و ۰/۱ میلی مولار اتیلن دی آمین ترا استیک
اسید (EDTA) در هاون سرد ساییده شد. سپس
هموژنات به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه
سانتی گراد و در ۱۰۰۰۰ g سانتریفوژ شد. محلول
رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی مورد استفاده قرار
گرفت. سنجش فعالیت SOD با استفاده از روش
Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) انجام شد. اساس
سنجش مهار فتوشیمیایی نیتروبلوترازولیوم (NBT)
بود. مخلوط واکنش شامل ۳ میلی لیتر بافر سدیم-
فسفات ۵۰ میلی مولار با (pH= ۷/۸) محتوی ۰/۱۷
میلی مولار نمک NBT، ۱۳۰ میلی مولار متیونین، ۰/۱
میلی مولار EDTA، ۲۰ میکرومولار ریپوفلاوین ۵ میلی
مولار (ریپوفلاوین در آخرین مرحله اضافه شد) و ۱
میلی لیتر عصاره‌ی استخراج شده بود. مخلوط واکنش
به مدت ۴۵ دقیقه زیر دو لامپ مهتابی ۴۰ وات و دمای
۳۰ درجه‌ی سانتی گراد گذاشته شد. بعد از مدت زمان
یاد شده جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر
خوانده شد. (Units) یک واحد فعالیت آنزیم SOD
مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰
درصد احیای نوری NBT شود. سنجش فعالیت SOD
با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO, EC 1.10.

3.1: سنجش فعالیت آنزیم PPO با استفاده از روش
Siriphanich و Kader (۱۹۸۵) با اندکی تغییرات
انجام شد. ۱ گرم از بافت تر برگ به همراه ۹ میلی لیتر
بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH = ۶/۸) در هاون سرد

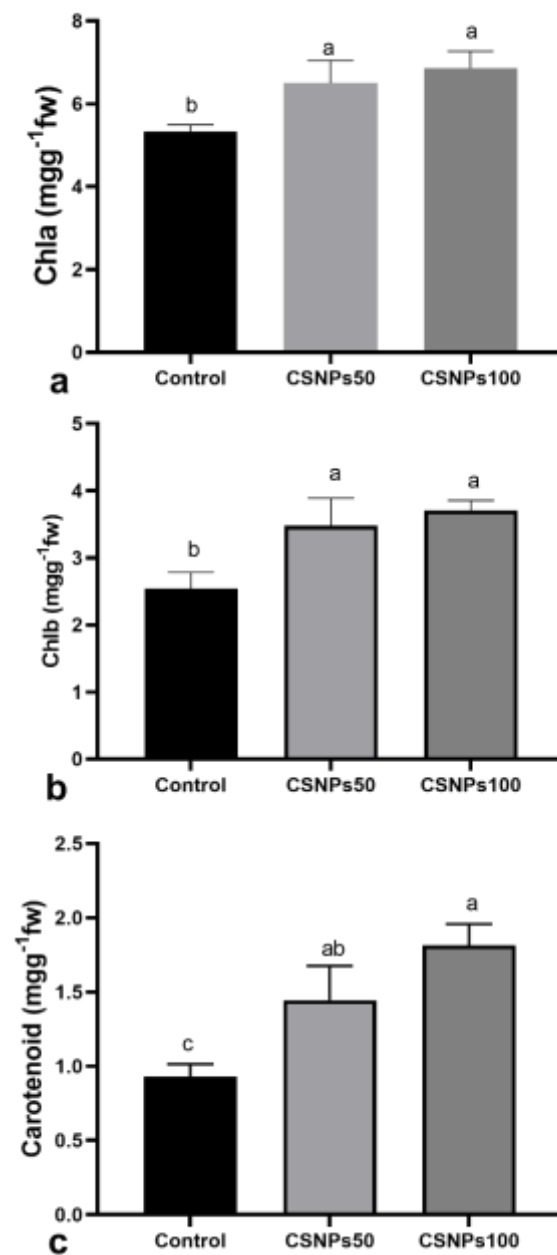
بررسی تاثیر کاربرد برگي نانوکیتوزان بر رنگيزه‌های فتوسنتزي و برخي آنتي اکسيدان‌های آنزيمي ذرت ۵



شکل ۱- تغييرات در وزن تر برگ (a) و وزن تر ريشه (b) تحت تأثير محلول‌پاشي برگي CSNPs در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ ميلي گرم در ليتر (حروف متفاوت روی ستون‌ها دلالت بر تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها براساس آزمون توکی است)

Fig 1- Changes in leaf fresh weight (a) and root fresh weight (b) following foliar application of CSNPs at two concentrations, including 50 and 100 mg/L (different letters on the columns indicate significant mean differences based on Tukey's test)

کاربرد برگي CSNPs در هر دو غلظت منجر به افزایش معنی‌دار رنگيزه فتوسنتزي کلروفیلی نسبت به گروه شاهد شد. اما تفاوت بین دو گروه CSNPs50 و CSNPs100 معنی‌دار نبود (شکل 2a,b). افزایش معنی‌دار غلظت کاروتنوئیدها نیز از محلول‌پاشي برگي با CSNPs حاصل شد. بیشترین وزن تر ريشه در گروه تیماري CSNPs100 ثبت شد (شکل 2c).



شکل ۲- تغییرات در (a) chl a، (b) chl b و (c) کاروتنوئید تحت تاثیر محلول پاشی برگ با CSNPs در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر (حروف متفاوت روی ستون ها دلالت بر تفاوت معنی دار میانگین ها براساس آزمون توکی است)

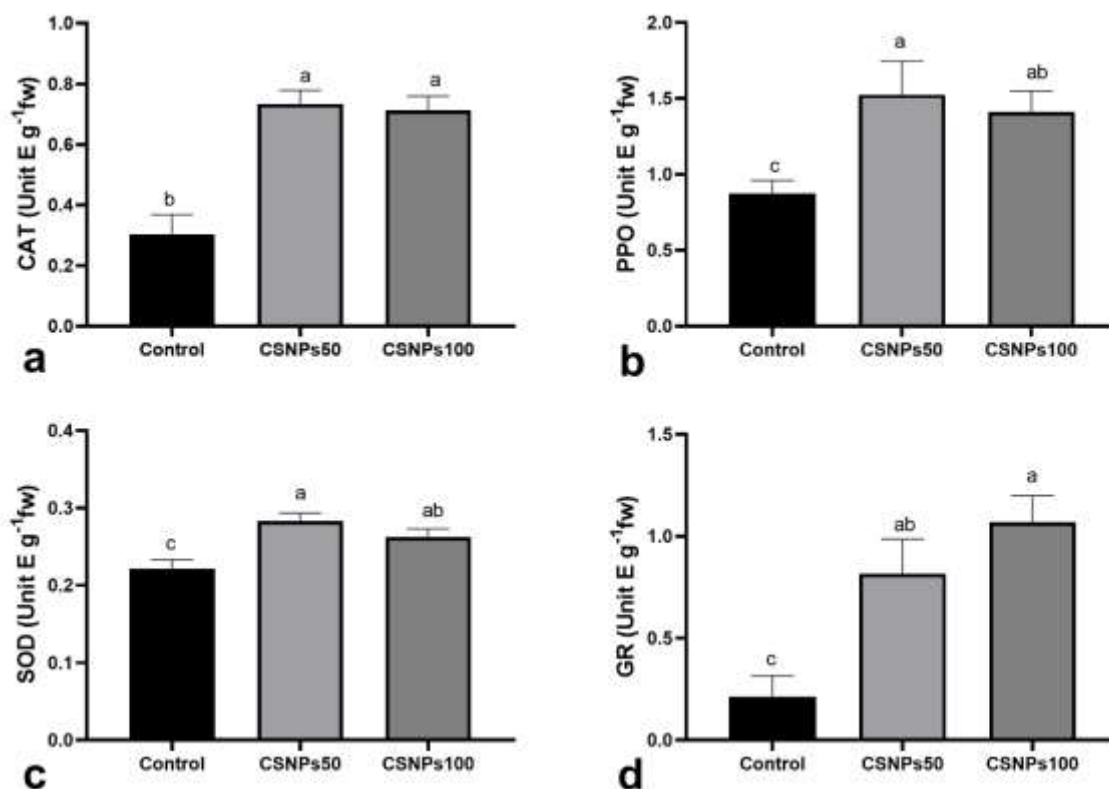
Fig 2- Changes in chl a (a), chl b (b), and carotenoid (c) in response to the foliar application of CSNPs at two concentrations, including 50 and 100 mg/L (different letters on the columns indicate a significant mean difference based on the Tukey's test)

محلول پاشی برگ با CSNPs منجر به تحریک قابل ملاحظه فعالیت CAT نسبت به گروه شاهد شد (شکل 3a). فعالیت آنزیم PPO بدنبال محلول پاشی برگ با CSNPs نیز روند صعودی نسبت به شاهد داشت (شکل 3b). فعالیت آنزیم SOD نیز در اثر کاربرد CSNPs نسبت به شاهد افزایش معنی داری را نشان

بررسی تاثیر کاربرد برگي نانوکیتوزان بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنتی اکسیدان‌های آنزیمی ذرت ۷

(شکل 3d). تفاوت بین دو گروه CSNPs50 و CSNPs100 معنی دار نبود.

داد(شکل 3c). در روندی مشابه، CSNPs اثر تحریکی بر فعالیت آنزیم GR در مقایسه با گروه شاهد داشت



شکل ۳- تغییرات در فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدان شامل کاتالاز (a)، پلی فنل اکسیداز (b)، سوپراکسید دیسموتاز (c) و گلو تاتیون ردوکتاز (d) بدنال محلول پاشی برگي گیاه ذرت با CSNPs در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر (حروف متفاوت روی ستون‌ها دلالت بر تفاوت معنی دار میانگین‌ها براساس آزمون توکی است)

Fig 3- Changes in the activity of some antioxidant enzymes, including catalase (a), polyphenol oxidase (b), superoxide dismutase (c), and glutathione reductase (d) following foliar spraying of corn plants with CSNPs at two concentrations, including 50 and 100 mg/L. Different letters on the columns indicate a significant mean difference based on Tukey's test

است که استفاده از CSNPs در غلظت‌های بهینه با بهبود شاخص‌های مربوط به رشد (Balusamy *et al.*, 2022)، افزایش کارایی فتوسنتز (Abuelsoud *et al.*, 2023)، تغییر متابولیسم اسید آمینه (Balusamy *et al.*, 2022)، تقویت سیستم آنتی اکسیدانی (Hassan *et al.*, 2021)، افزایش متابولیسم ثانویه (Arya *et al.*, 2022)، تعدیل برنامه ترانسکریپتومیک (Ali *et al.*, 2021)

کاربرد برگي CSNPs در هر دو غلظت منجر به افزایش معنی دار رنگیزه‌های فتوسنتزی، وزن تر برگ و وزن تر ریشه شد که دلالت بر بهبود شاخص‌های رشدی گیاه دارد. علاوه بر این، بررسی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نشان داد که کاربرد CSNPs منجر به تحریک قابل ملاحظه سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی شامل CAT، PPO، SOD و GR شده است. بیان شده

(*STR*) *synthase* را تقویت کردند که از طریق آن باعث افزایش تحمل به خشکی در گیاه *Catharanthus roseus* شد. CSNP ها با القای ژن *MAPK3*، *ORCA3* و *geissoschizine synthase* (GS) مقاومت گیاه *Catharanthus roseus* را در برابر شوری بهبود بخشیدند (Hassan et al., 2021). به نظر می رسد که CSNP ها با تأثیر بر متابولیسم پرولین (Balusamy et al., 2022)، تحریک سیستم آنتی اکسیدانی (Chun et al., 2019) حفظ یکپارچگی غشاء (Ali et al., 2021)، تغییر بیان ژن ها (Hassan et al., 2021)، و متابولیسم ثانویه (Arya et al., 2022) در جهت تحمل تنش مزایایی دارند. مطالعات رونویسی جامع آینده برای شناسایی شبکه های سیگنالینگ اصلی بالادست و پایین دست مورد نیاز است. علاوه بر این، این مطالعه در محدوده غلظت باریکی از CSNP ها و شرایط کنترل شده به طور کوتاه مدت انجام شد و نیاز به آزمایش های مزرعه ای طولانی مدت در گونه های مختلف زراعی برای بهینه سازی روش های عملکردی کارآمد را مورد تأکید است.

نتیجه گیری کلی

براساس نتایج این تحقیق، کاربرد برگی CSNPs به طور قابل توجهی همراه با افزایش رنگیزه های فتوسنتزی و آنتی اکسیدان های آنزیمی است که از آن طریق موجب بهبود رشد و مقاومت در برابر تنش ها می شود. طراحی تحقیقاتی با غلظت های مختلف و روش تیماری متفاوت در گونه های مختلف گیاهی برای شناخت بیشتر مکانیسم های پاسخ گیاهان به تیمار کیتوزان ضروری است تا از طریق آن دانش ما برای

فعال کردن سیستم دفاعی (Chun et al., 2019) و ایجاد تحمل تنش (Zhang et al., 2021) همراه بود. همسو با نتایج این تحقیق، گزارش های علمی از قدرت بالای کیتوزان (Turk, 2019؛ Zhao et al., 2019) و CSNPs (Balusamy et al., 2022) در بهبود مقاومت گیاهان مختلف در برابر تنش شوری (Hassan et al., 2021; Zhang et al., 2021; Liu et al., 2022) و شرایط خشکی (Liu et al., 2020) حمایت می کنند. نتایج ما با یافته های Geng و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت دارد که گزارش کرده اند که تیمار کیتوزان با افزایش در بیان ژن های *NHX4*، *NHX5* و *NHX6* در گیاهان در معرض شوری همراه بود. آنها همچنین تغییرات با واسطه کیتوزان را در فتوستتوز (متابولیسم کربن)، آنتی اکسیدان های آنزیمی، پلی آمین ها، اسید آمینه بوتیریک (GABA) و متابولیسم اسیدهای آمینه (به ویژه گلوتامات) ثبت کردند، در نتیجه کیتوزان مقاومت به شوری را در گیاه علف خرنده بهبود بخشید (Geng et al., 2020). مطالعات قبلی نشان می دهد که کاربرد کیتوزان می تواند با تغییرات سلولی در سطح مولکولی، از جمله تغییرات در بیان برخی از ژن ها همراه باشد. به عنوان مثال، استفاده از نانوکیتوزان در گوجه فرنگی، مقاومت گیاه را در برابر قارچ *Fusarium andiyazi* از طریق تحریک رونویسی چندین ژن دفاعی مانند کیتیناز، PR1، 3-β-1-گلوکاناز، و PR-10 بهبود بخشید. CSNP ها بیان چندین ژن از جمله *geissoschizine synthase* (GS) پراکسیداز ۱ (*PRX1*)، 4-O-acetyl-vindoline (*deacetyl*) و *acetyltransferase* (*DAT*) و *strikosidine*

- 8) El Amerany, F., Meddich, A., Wahbi, S., Porzel, A., Taourirte, M., Rhazi, M. and B, Hause. 2020. Foliar application of chitosan increases tomato growth and influences mycorrhization and expression of endochitinase-encoding genes. *International journal of molecular sciences*, 21(2): p.535.
- 9) Esyanti, R.R., Dwivany, F.M., Mahani, S., Nugrahapraja, H. and K, Meitha. 2019. Foliar application of chitosan enhances growth and modulates expression of defense genes in chilli pepper ('*Capsicum annuum* 'L.). *Australian Journal of Crop Science*, 13(1): 55-60.
- 10) Foyer, C.H. and B, Halliwell. 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133: 21-25.
- 11) Geng, W., Li, Z., Hassan, M.J. and Y, Peng. 2020. Chitosan regulates metabolic balance, polyamine accumulation, and Na⁺ transport contributing to salt tolerance in creeping bentgrass. *BMC Plant Biology*, 20: 506. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02720-w>.
- 12) Hassan, F.A.S., Ali, E., Gaber, A., Fetouh, M.I. and R, Mazrou. 2021. Chitosan nanoparticles effectively combat salinity stress by enhancing antioxidant activity and alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162: 291-300.
- 13) Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll fluorescence signatures of leaves during the autumnal chlorophyll breakdown. *Journal of plant physiology*, 131: 101-110.
- 14) Li, K.C., Zhang, X.Q., Yu, Y., Xing, R.E., Liu, S. and P.C, Li. 2020. Effect of chitin and chitosan hexamers on growth and photosynthetic characteristics of wheat seedlings. *Photosynthetica*, 58(3): 816-826.
- 15) Liu, Z., Liu, T., Liang, L., Li, Z., Hassan, M.J., Peng, Y. and D, Wang. 2020. Enhanced photosynthesis, carbohydrates, and energy metabolism associated with chitosan-induced drought tolerance in creeping bentgrass. *Crop Science*, 60(2): 1064-1076.
- 16) Malerba, M. and R, Cerana. 2020. Chitin-and chitosan-based derivatives in plant protection against biotic and abiotic stresses and in

کاربرد عملی CSNPs در ترکیب کودها و آفت کش‌ها
ارتقا یابد.

منابع

- 1) Abuelsoud, W., Saleh, A.M., Mohammed, A.E., Alotaibi, M.O. and H, AbdElgawad. 2023. Chitosan nanoparticles upregulate C and N metabolism in soybean plants grown under elevated levels of atmospheric carbon dioxide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 252: 126434.
- 2) Ali, E.F., El-Shehawi, A.M., Ibrahim, O.H.M., Abdul-Hafeez, E.Y., Moussa, M.M. and F.A.S, Hassan. 2021. A vital role of chitosan nanoparticles in improvisation the drought stress tolerance in *Catharanthus roseus* (L.) through biochemical and gene expression modulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 161: 166-175.
- 3) Arya, S.S., Rookes, J.E., Cahill, D.M. and S.K, Lenka. 2022. Chitosan nanoparticles and their combination with methyl jasmonate for the elicitation of phenolics and flavonoids in plant cell suspension cultures. *International Journal of Biological Macromolecules*, 214: 632-641.
- 4) Attaran Dowom, S., Karimian, Z., Mostafaei Dehnavi, M. and L, Samiei. 2022. Chitosan nanoparticles improve physiological and biochemical responses of *Salvia abrotanoides* (Kar.) under drought stress. *BMC Plant Biology*, 22(1): p.364.
- 5) Balusamy, S.R., Rahimi, S., Sukweenadhi, J., Sunderraj, S., Shanmugam, R., Thangavelu, L., Mijakovic, I. and H, Perumalsamy. 2022. Chitosan, chitosan nanoparticles and modified chitosan biomaterials, a potential tool to combat salinity stress in plants. *Carbohydrate Polymers*, 284: 119189.
- 6) Beauchamp, C. and I, Fridovich. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1): 276-287.
- 7) Chun, S.C. and M, Chandrasekaran. 2019. Chitosan and chitosan nanoparticles induced expression of pathogenesis-related proteins genes enhances biotic stress tolerance in tomato. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125: 948-954.

stress tolerance in annual ryegrass by exogenous chitosan. *Genes*, 10(11): p.853.

- recovery of contaminated soil and water. *Polysaccharides*, 1(1): 21-30.
- 17) Mejdoub-Trabelsi, B., Touihri, S., Ammar, N., Riahi, A. and M, Daami-Remadi. 2020. Effect of chitosan for the control of potato diseases caused by *Fusarium* species. *Journal of Phytopathology*, 168(1): 18-27.
- 18) Mohammed, K.A., Hussein, H.M. and A.M, Elshamly. 2024. Monitoring plant responses in field-grown peanuts exposed to exogenously applied chitosan under full and limited irrigation levels. *Scientific Reports*, 14(1): p.6244.
- 19) Pirbalouti, A.G., Malekpoor, F., Salimi, A. and A, Golparvar. 2017. Exogenous application of chitosan on biochemical and physiological characteristics, phenolic content and antioxidant activity of two species of basil (*Ocimum ciliatum* and *Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. *Scientia Horticulturae*, 217: 114-122.
- 20) Sadeghipour, O. 2021. Chitosan application improves nickel toxicity tolerance in soybean. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(3): 2096-2104.
- 21) Sharif, R., Mujtaba, M., Ur Rahman, M., Shalmani, A., Ahmad, H., Anwar, T., Tianchan, D. and X, Wang. 2018. The multifunctional role of chitosan in horticultural crops; a review. *Molecules*, 23(4): p.872.
- 22) Siriphanich, J. and A.A, Kader. 1985. Effects of CO₂ on cinnamic acid-4-hydroxylase in relation to phenolic metabolism in lettuce tissue. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 110(3): 333-335.
- 23) Turk, H. 2019. Chitosan-induced enhanced expression and activation of alternative oxidase confer tolerance to salt stress in maize seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 141: 415-422.
- 24) Zhang, G., Wang, Y., Wu, K., Zhang, Q., Feng, Y., Miao, Y. and Z, Yan. 2021. Exogenous application of chitosan alleviates salinity stress in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Horticulturae*, 7(10): p. 342.
- 25) Zhao, J., Pan, L., Zhou, M., Yang, Z., Meng, Y. and X, Zhang. 2019. Comparative physiological and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved osmotic



Investigating the effect of foliar application of chitosan nanoparticles on photosynthetic pigments and some enzymatic antioxidants (*Zea mays*)

Seyede Nasrin Veghar Moosavi¹, Sara Saadatmand², Rashid Jamei (Corresponding author)^{3*} and Reza Darvishzadeh⁴

1- Ph.D. Student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, setayesh139@yahoo.com

2- Associated Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, sadatmandsara@yahoo.com

3- Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran, r.jamei@urmia.ac.ir

4- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

Abstract

Introduction: Biotic stresses (pathogen attack and herbivores), abiotic stresses (water deficit or excess, low or high temperature, high salinity, ultraviolet radiation, heavy metals, various toxic pollutants), and particularly the unpredictable combination of different stresses are highly detrimental to plants. Given the increasing food demands of the world's growing population, enhancing plant tolerance to multiple stresses is essential. The use of the biopolymer chitosan has attracted significant attention as a sustainable approach.

Materials and Methods: This study evaluated the physiological responses of corn seedlings following the foliar application of chitosan nanoparticles (CSNPs). The CSNPs-mediated changes in enzymatic antioxidants and photosynthetic pigments were investigated. Ten-day-old corn seedlings were sprayed with CSNPs at concentrations of 0 (control), 50 and 100 mg/L for five consecutive days.

Results and Discussion: Foliar application of CSNPs at both concentrations significantly increased leaf fresh weight compared to the control group. A significant increase in the root fresh weight also resulted from the foliar application of CSNPs. Foliar spraying with CSNPs was associated with a significant increase in the concentration of photosynthetic pigments, including chlorophylls (Chl a and b) and carotenoids. Compared to the control group, the foliar utilization of CSNPs led to a significant stimulation in catalase activity. The activity of the polyphenol oxidase enzyme had an upward trend in response to the application of CSNPs. The activity of the superoxide dismutase enzyme also showed a significant increase due to the use of CSNPs compared to the control. In a similar trend, CSNPs had a stimulating effect on glutathione reductase enzyme activity compared to the control group.

Conclusion: According to the results of this research, the foliar application of CSNPs is significantly associated with an increase in photosynthetic pigments and induction in enzymatic antioxidants, thereby improving plant growth and resistance to stresses.

Keywords: Antioxidants, Chitosan, Nanoparticles, Sustainable agriculture