

تأثیر تنش خشکی با کاربرد محلول پاشی هورمون و نانو ذرات بر صفات بیوشیمیایی ذرت رقم ماکسیما

محسن پور غلام، محمد نصری*، فرشاد قوشچی، حمید رضا توحیدی مقدم و حمید رضا لاریجانی

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، ورامین، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۰/۲۵)

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر کاربرد محلول پاشی هورمون و نانو ذرات بر صفات بیوشیمیایی ذرت در شرایط تنش خشکی، به صورت اسپیلت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در ۴ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین اجرا شد. تیمارها شامل تنش خشکی در دو سطح (تنش خشکی و عدم تنش خشکی) به عنوان عامل اصلی و سه تنظیم کننده رشد (کاربرد جیبرلین (۲۰۰ پی پی ام)، کاربرد سیتوکینین (۲۰۰ پی پی ام) و عدم کاربرد تنظیم کننده رشد) و سه سطح نانو ذرات (کاربرد نانو ذرات نقره (۰/۰۲ درصد)، کاربرد نانو ذرات روی (۰/۰۲ درصد) و عدم کاربرد نانو ذرات) به عنوان عامل فرعی بود. نتایج نشان داد در شرایط تنش خشکی کلیه صفات مورد بررسی تحت تأثیر قرار گرفت به طوری که در شرایط تنش خشکی غلظت مالون دی آلدئید، پرولین، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز افزایش و پروتئین برگ، آلفا آمیلاز و قند محلول کاهش یافت. محلول پاشی جیبرلین و سیتوکینین همچنین کاربرد نانو ذرات نقره و روی باعث کاهش اثرات تنش خشکی شد. در شرایط تنش خشکی کاربرد تنظیم کننده های رشد و نانو ذرات منجر به افزایش میزان پرولین گردید. کاربرد هورمون جیبرلین همراه کاربرد نانو ذرات نقره و روی باعث کاهش میزان پروتئین برگ گردید. با توجه به نتایج بدست آمده با کاربرد تنظیم کننده های رشد و نانو ذرات می توان به بهبود عملکرد گیاه در شرایط تنش خشکی کمک کرد.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدانت، جیبرلین، سیتوکینین، ذرت، مالون دی آلدئید، نانو ذرات

مقدمه

خشک و نیمه خشک جهان واقع شده است، که متوسط بارندگی آن در حدود ۲۵۰ میلی متر است که کمتر از یک سوم متوسط بارندگی جهان می باشد (اکبری مقدم، ۱۳۹۱). به علاوه همین مقدار بارندگی از یک توزیع مناسب مکانی و زمانی نیز برخوردار نیست (Amiri and Eslamian, 2010).

تقریباً تمام فرآیندهای زندگی گیاهان بطور مستقیم یا غیر مستقیم تحت تأثیر تنش ها و هورمون های گیاهی قرار می گیرند. کاهش رشد گیاه در شرایط تنش خشکی نتیجه بر

ذرت از گیاهان زراعی است که بیشترین پتانسیل تولید را در بین غلات دارد. به لحاظ سطح زیرکشت و میزان تولید پس از گندم و برنج سومین غله مهم دنیا محسوب می شود. این گیاه به عنوان پادشاه گیاهان دانه ای شناخته می شود (طریق الاسلامی، ۱۳۹۵). خشکی یکی از مهمترین تنش های محیطی محدود کننده تولیدات محصولات کشاورزی می باشد (Lum et al., 2014). بیش از ۸۲ درصد زمین های کشور ایران در منطقه

خوردن تعادل آبی و تغذیه‌ای سلول می‌شود که یکی از مهمترین دلایل کاهش وزن گیاه است (Brunner et al., 2006). نانو ذرات همچنین از طریق تنش یا تحریک ایجاد شده توسط سطح اندازه یا شکل اثرات تأثیرات خود را بر گیاهان مختلف می‌گذارند (Brunner et al., 2006). یون‌های نقره یکی از مهار کننده‌های فعالیت هورمون از جمله اتیلن می‌باشند که می‌توانند جایگزین مس شوند، به طوری که استفاده از یون‌های نقره به عنوان مهار کننده فعالیت اتیلن است. یون‌های نقره تبدیل به ابزاری جدید برای مطالعه بهتر و بیشتر هورمون‌های گیاهی و عملکردهای آن در گیاهان شده است (رضوی زاده و همکاران، ۱۳۹۴).

یکی از اثرات تنش خشکی برهم زدن تعادل تغذیه‌ای در گیاه است. با تکمیل مصرف عناصر غذایی کم مصرف از طریق محلول پاشی، می‌توان وضعیت رشد گیاه را در شرایط تنش بهبود بخشید، وجود عنصر روی برای فعالیت‌های متابولیکی در گیاهان ضروری است (Hassegawa, 2008). اگرچه نیاز گیاهان به روی اندک است، ولی اگر مقدار کافی از این عنصر در دسترس نباشد، گیاهان از تنش‌های فیزیولوژیکی حاصل از ناکارایی سیستم‌های متعدد آنزیمی و دیگر اعمال متابولیکی مرتبط با روی رنج خواهند برد (Baybordi, 2006). عنصر روی نقش مهمی در تنظیم میزان باز بودن روزنه‌ها دارد، به این دلیل که این عنصر در نگهداری عنصر پتاسیم در سلول‌های محافظ روزنه نقش دارد. کمبود آن می‌تواند باعث عدم توازن عناصر غذایی در گیاه شده و کاهش راندمان مصرف آب و در نهایت کاهش کیفیت و کمیت محصول را در پی داشته باشد (Jamali et al., 2011). با توجه به موارد ذکر شده هدف از این آزمایش بررسی تأثیر کاربرد محلول پاشی هورمون و نانو ذرات بر صفات بیوشیمیایی ذرت تحت شرایط تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۵ به منظور بررسی تأثیر کاربرد محلول پاشی هورمون و نانو ذرات بر صفات بیوشیمیایی ذرت در شرایط تنش خشکی، به صورت اسپیلت پلات فاکتوریل در

هم خوردن تعادل هورمون‌های می‌باشد. بنابراین کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد در شرایط تنش خشکی می‌تواند عاملی در جهت معکوس کردن اثر تنش‌های غیر زیستی باشد (ماهرخ و همکاران، ۱۳۹۵). هورمون‌های گیاهی مانند سیتوکینین بعنوان تنظیم کننده‌های دخیل در پاسخ‌های گیاهی به اثرات نامطلوب در شرایط محیطی شناخته شده هستند (Kaya, 2009). سیتوکینین در تنظیم رشد و نمو گیاه نقش مهمی بازی می‌کند سیتوکینین‌ها با هماهنگی یا تضاد با سایر هورمون‌های گیاهی باعث تقسیم سلولی و فرآیندهای مرتبط به رشد گیاه می‌شود. مقدار سیتوکینین داخلی گیاه بوسیله سایر هورمون‌ها بویژه اکسین تنظیم می‌شود. سیتو کنین باعث تجمع کلروفیل و تبدیل اتیو پلاست به کلروپلاست و تأخیر در روند پیری برگ می‌شود. بنابراین این امکان وجود دارد که در پاسخ به شرایط محیطی نامساعد دخیل باشند (ماهرخ و همکاران، ۱۳۹۵). از راهکارهای بهبود تنش می‌توان به کاربرد خارجی جیبرلیک اسید اشاره کرد. جیبرلین‌ها ترکیبات ترپنوئیدی هستند که از واحدهای ایزوپرن ساخته شده‌اند. جیبرلین‌ها هم رشد طولی هم تقسیم سلولی را افزایش می‌دهند، اثرات فیزیولوژیکی دیگر جیبرلین شامل تغییرات در جوانی، جنسیت گل‌ها، تحریک رسیدن میوه، رشد میوه و جوانه زدن دانه باشد. جیبرلین‌ها توسعه پذیری سلول‌های گیاهی را افزایش می‌دهند. میزان رشد طولی می‌تواند بوسیله توسعه پذیری دیواره سلولی و میزان جذب آب تحت تأثیر قرار بگیرد. مشخص شده است که جیبرلین میزان جذب آب را افزایش نمی‌دهد بلکه توسعه پذیری دیواره سلولی را افزایش می‌دهد (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۵).

سازوکار اثر نانو ذرات به خوبی شناخته شده نیست، اما شواهد نشان می‌دهد که این سازو کار از طریق آزاد سازی مواد سمی و خطرناکی نظیر یون‌های فلزی و گونه‌های فعال اکسیژن و یا تنش اکسیداتیو صورت می‌گیرد. رادیکال‌های ایجاد شده، به علت واکنش پذیری زیادی که دارند به ماکرومولکول‌هایی از قبیل نوکلئیک اسیدها، رنگیزه‌های کلروپلاست و در طولانی مدت به لیپیدها، حمله می‌کنند و سبب پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند (Franklin et al., 2007). این وضعیت موجب به هم

از منحنی استاندارد مقدار پروتئین بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تر برگ محاسبه گردید. با حل نمودن ۱ میلی گرم پودر BSA درون ۵ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر، محلول استاندارد پروتئین تهیه شد. ۵ میلی لیتر محلول برادفورد و حجم‌های تعیین شده‌ای از ۲۰ تا ۲۰۰ میکرو لیتر از محلول BSA استاندارد به ترتیب درون لوله‌های آزمایش ریخته و با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میکرو لیتر رسانده شدند. پس از جذب هر محلول رنگی استاندارد در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل UV-160A SHIMADZ خوانده شد و منحنی استاندارد رسم گردید.

سنجش پرولین: از روش Bates (۱۹۷۹) استفاده شد. به این ترتیب که به ۱۰۰ میلی گرم از پودر برگ ۱۰ میلی لیتر از محلول اسید سولفو سالیسیلیک ۳٪ اضافه شد و پس از ۲۴ این محلول بمدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ درو سانتریفیوژ گردبداز محلول روئی ۲ میلی لیتر برداشت و به آن نینهدرین به مقدار ۲ میلی لیتر اضافه گردید سپس ۱ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید و لوله‌ها بمدت ۱ ساعت در بن ماری آب جوش قرار گرفتند پس از سرد شدن روی هر لوله ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه شد دو فاز تشکیل گردید فاز بالا برداشت و در طول موج ۵۲۰ نانومتر جذب آن قرائت گردید. مقدار پرولین بر حسب میکرو مول بر گرم برگ تازه بیان شد.

سنجش کاتالاز: براساس میزان تجزیه آب اکسیژنه طبق روش Aebi (۱۹۸۴) انجام شد. بدین منظور محلول واکنش شامل ۱۰۰ میلی مول بافر فسفات پتاسیم، ۱۵ میلی مول آب اکسیژنه بود که پس از اضافه کردن عصاره نمونه بافت تغییر جذب در اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر ارزیابی گردید.

سنجش سوپر اکسید دیسموتاز: بر اساس تغییر شیمیائی نیترو بلو تترازولیوم و طبق روش Minami و Yoshikawa (۱۹۷۹) انجام شد. بدین منظور محلول واکنش شامل ۵۵ هزارم مول نیترو بلو تترازولیوم، ۱/۴۲ درصد تریتون X-100، 0.1 mM EDTA، ۱۶ میلی مول پیرو گالول بود که پس از اضافه کردن عصاره نمونه بافت تغییر جذب در اسپکتروفوتومتر در

قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین اجرا شد. تیمارها شامل تنش خشکی در دو سطح (تنش خشکی (پس از ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر) و عدم تنش خشکی) به عنوان عامل اصلی و سه تنظیم کننده رشد (کاربرد جیبرلین (۲۰۰ پی پی ام)، کاربرد سیتوکینین (۲۰۰ پی پی ام) و عدم کاربرد تنظیم کننده رشد) و سه سطح نانو ذرات (کاربرد نانو ذرات نقره (۰/۰۲ درصد)، کاربرد نانو ذرات روی (۰/۰۲ درصد) و عدم کاربرد نانو ذرات) به عنوان عامل فرعی بود. زمان اعمال تنش در مرحله ۵۰ درصد تاسلینگ و محلول پاشی در زمان ۱۰ تا ۱۲ برگی قبل از رشد سریع صورت گرفت. بذر مورد استفاده رقم زودرس ماکسیما با طول دوره رشد ۷۵ تا ۹۰ روز بود. در تاریخ اول خرداد دو عدد بذر در عمق ۵ سانتیمتری در مزرعه کشت گردید و تا زمان استقرار کامل گیاه آبیاری به صورتی که سطح خاک رطوبت مورد نیاز را حفظ کند صورت پذیرفت. آبیاری به صورت قطره‌ای اعمال و پس از آبیاری عرف منطقه (هر ۱۰ روز یکبار)، برای اعمال تیمارهای تنش خشکی بر اساس تشتک تبخیر کلاس A در شرایطی که میزان آب تشتک به ۸۰ میلی‌متر تبخیر رسید اجرا گردید. کلیه اندازه گیری‌های صورت گرفته ۲۴ ساعت پس از تنش در مرحله تاسلینگ صورت گرفت. نمونه از برگ بلال برداشت شد و پس از اتیکت گذاری در کلمن یخ گذاشته و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید.

سنجش پروتئین: از روش Bradford (۱۹۷۹) استفاده شد. به این ترتیب که به ۱۰۰ میلی لیتر بافر تریس ۰/۵ میلی مولار با pH معادل ۶/۸، ۲ گرم SDS افزوده و حل گردید. ۲۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج به نمونه‌های تازه برگ ذرت افزوده و توسط میله شیشه‌ای استریل خوب مخلوط گردید. تمامی این مراحل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس محلول‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با دور rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. به ۵ میلی لیتر محلول برادفورد، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره فوق اضافه و پس از ۳۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاه، جذب عصاره فوق در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه گیری و با استفاده

طول موج ۵۶۰ نانومتر ارزیابی گردید.

سنجش مالون دی آلدئید: با روش Ohkaw (۱۹۷۹) ارزیابی شد. بدین منظور ۰/۲ گرم بافت گیاهی (برگ یا ریشه)، به قطعات کوچک تقسیم و با هموژنایزر در ۲ میلی لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۵ درصد در مجاورت یخ هموژن شد. سپس در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه بمدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و محلول رویی برداشت شد. نیم میلی لیتر از این محلول با نیم میلی لیتر از محلول تیو باربیتوریک اسید و تری کلرو استیک ۲۰ درصد مخلوط و در ۹۶ درجه سانتی گراد بمدت ۲۵ دقیقه انکوبه شد. سپس در شرایط سرد در ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه بمدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. جذب محلول روئی در ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد. از محلول تیو باربیتوریک اسید و تری کلرو استیک ۲۰ درصد به عنوان شاهد استفاده شد. مقدار مالون دی آلدئید با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید.

سنجش آلفا آمیلاز: بر اساس روش Nielsen و همکاران (۱۹۹۷) انجام شد. محلول واکنش شامل KOH (۱۰۰ میلی مول) با PH ۶/۲ بوده و سوپسترا ماده پرا نیترو فنیل مالتو هپتا اوزید می باشد واکنش پس از ۱۵ دقیقه توسط محلول ۱۰ درصد تری زما بازی متوقف می گردد و تغییر جذب در ۴۰۵ نانومتر بر علیه بلانک قرائت می شود بر اساس منحنی استاندارد فعالیت آنزیم در نمونه های مجهول مشخص می گردد.

سنجش قند محلول: برای حل شدن قندهای محلول ماده خشک گیاهی (برگ)، ۱۰ میلی لیتر از اتانول ۷۰ درصد به ۰/۱ گرم از ماده خشک گیاهی اضافه و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد. پس از گذشت یک هفته، برای ساقه و برگ ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی نمونه برداشته و حجم آن با آب مقطر به ۲ میلی لیتر رسانده شد. سپس روی آن ۱ میلی لیتر فنل ۵ درصد اضافه کرده خوب هم زده و پس از آن ۵ میل لیتر سولفوریک اسید غلیظ با فشار اضافه شد. محلول زرد رنگی به دست آمد که به مرور زمان تغییر رنگ داده و به قهوه ای روشن تمایل پیدا کرد. پس از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر، میزان جذب تعیین شده و با استفاده از منحنی

استاندارد گلوگز و رابطه ۱، میزان تغییرات قندها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک ارزیابی گردید (رنجبر و همکاران، ۱۳۹۰).

$$C = (OD + 3.985) / 36.62 \quad \text{رابطه ۱}$$

تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C صورت گرفت و برای رسم نمودارها از نرم افزار EXCEL استفاده شد. میانگین ها در سطح ۵ درصد نیز با استفاده از آزمون دانکن مقایسه شدند.

نتایج و بحث

میزان پروتئین برگ: نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) میزان پروتئین برگ بر کلیه تیمارهای مورد بررسی در سطح یک درصد معنی دار گردید. مقایسه میانگین اثرات متقابل سه گانه (جدول ۲) مشخص گردید که در شرایط عدم تنش خشکی که مربوط به تیمار کاربرد سیتوکینین به همراه نانو ذرات نقره می باشد بالاترین میزان پروتئین برگ با میزان ۵/۲۵۷ درصد به دست آمد. تنش های غیر زیستی باعث مهار سنتز بعضی از پروتئین ها شده و سنتز بعضی دیگر را افزایش داد اما در کل باعث کاهش میزان پروتئین می گردند. علل کاهش میزان پروتئین در شرایط تنش عبارت است از: بازداشته شدن فعالیت آنزیم های نیترات ردوکتاز، گلوتامین سنتتاز، گلوتامات سنتتاز که حساسیت بیشتری به تنش دارند (Khan et al., 2003).

پرولین: با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص گردید اثرات ساده تیمارهای تنش خشکی، کاربرد هورمون و نانو ذرات بر میزان پرولین در سطح یک درصد معنی دار گردید. به طوریکه بالاترین میزان در شرایط تنش خشکی به میزان ۲۵/۹۱ (Umg^{-1} Protein) بدست آمد. همچنین کاربرد جیبرلین و نانو ذرات نقره و روی به ترتیب با میزان ۲۷/۱۶، ۲۳/۸۳ و ۲۲/۵۰ (Umg^{-1} Protein) پرولین بالاترین میزان بدست آمد. گزارش های مختلفی در مورد افزایش پرولین در شرایط تنش خشکی وجود دارد. این تجمع تا چندین روز بعد از تنش ادامه دارد (طریق الاسلامی، ۱۳۹۵، Miller et al., 2010). ذخیره پرولین در بافت های گیاهی به دلیل

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تنش خشکی و محلول پاشی تنظیم کننده های رشد و کاربرد نانو ذرات بر صفات مورد مطالعه در ذرت.

منابع تغییر	درجه آزادی	میزان پروتئین برگ	پرولین	کاتالاز	سوپر اکسید دیسموتاز	مالون دی آلدئید	آلفا آمیلاز	قند محلول
تکرار	۳	۰/۰۱۶ ^{ns}	۱۷/۶۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۸ ^{ns}	۰/۱۲۵ ^{ns}	۰/۱۶۷ ^{ns}	۰/۰۱۷ ^{ns}	۰/۳۰۲ ^{ns}
تنش خشکی	۱	۳/۱۰۸ ^{**}	۱۱۸۳/۴۱۱ ^{**}	۲۸/۶۷۸ ^{**}	۲۱/۹۷۸ ^{**}	۱۲۲/۷۲ ^{**}	۳۲/۱۶۰ ^{**}	۲۵۹/۸۸ ^{**}
خطای آزمایش	۳	۰/۰۲۷	۶/۶۲۳	۰/۰۲۵	۰/۰۵۲	۰/۳۷۷	۰/۱۰۵	۰/۰۶۵
کاربرد هورمون	۲	۲/۲۹۸ ^{**}	۹۲۳/۴۹۹ ^{**}	۲۷/۵۰۷ ^{**}	۲۲/۲۳۶ ^{**}	۳۸/۵۶ ^{**}	۱۰/۸۸۸ ^{**}	۸۲/۹۲۴ ^{**}
تنش خشکی × کاربرد هورمون	۲	۶/۵۶۱ ^{**}	۵۴/۱۲۸ ^{ns}	۰/۸۵۴ ^{**}	۰/۲۳۸ ^{**}	۲/۹۷ ^{**}	۰/۳۸۷ ^{**}	۲/۴۰۰ ^{**}
نانو ذرات	۲	۰/۴۴۲ ^{**}	۱۳۳/۹۱۲ ^{**}	۵/۱۰۱ ^{**}	۳/۷۵۳ ^{**}	۷/۱۱ ^{**}	۲/۷۷۵ ^{**}	۱۷/۸۶۳ ^{**}
تنش خشکی × نانو ذرات	۲	۰/۹۲۳ ^{**}	۱۱/۴۰۵ ^{ns}	۰/۱۸۸ [*]	۰/۰۹۷ ^{ns}	۰/۰۱۱ ^{**}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۲۹۶ ^{ns}
کاربرد هورمون × نانو ذرات	۴	۱/۳۶۲ ^{**}	۱۲/۸۵۵ ^{ns}	۰/۰۶۵ ^{ns}	۰/۰۲۷ ^{ns}	۰/۲۹۲ ^{ns}	۰/۰۹۱ ^{ns}	۰/۶۰۶ [*]
تنش خشکی × کاربرد هورمون × نانو ذرات	۴	۱/۷۷۸ ^{**}	۵/۲۵۹ ^{ns}	۰/۳۴۴ ^{**}	۰/۰۲۵ ^{ns}	۰/۷۲۷ ^{**}	۰/۰۸۶ ^{ns}	۰/۵۱۷ [*]
خطای آزمایش	۴۸	۰/۰۴۱	۱۰/۸۴۶	۰/۰۴۶	۰/۰۳۱	۰/۱۸۰	۰/۰۵۳	۰/۱۹۸
ضرب تغییرات	-	۵/۰۰	۱۵/۰۷	۴/۷۰	۵/۰۴	۶/۱۴	۵/۹۴	۳/۳۶

ns، *، ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح پنج و یک درصد

(جدول ۲) مشخص گردید که در شرایط تنش خشکی که مربوط به تیمار کاربرد جیبرلین به همراه نانو ذرات نقره می باشد بالاترین میزان کاتالاز با میزان $6/420 \text{ Umg}^{-1}$ (Protein) به دست آمد. و کمترین میزان کاتالاز مربوط به عدم تنش خشکی که مربوط به تیمار عدم کاربرد تنظیم کننده های رشد به همراه نانو ذرات روی و عدم کاربرد نانو ذرات می باشد. افزایش فعالیت کاتالاز جهت کاهش اثرات پر اکسیداز در هنگام تنش های مختلف گیاهان زراعی در مقاومت گیاه به شرایط تنش نقش مهمی ایفا می نماید. این آنزیم یکی از آنزیم هایی است که در تجزیه پراکسیدهای سلولی در شرایط تنش محیطی نقش دارد (طریق الاسلامی و همکاران، ۱۳۹۵). سلطانی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که کاربرد جیبرلین باعث افزایش فعالیت جیبرلین می شود.

سوپر اکسید دیسموتاز: با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص گردید میزان سوپر اکسید دیسموتاز بر تنش خشکی، کاربرد هورمون، نانو ذرات و اثر متقابل تنش خشکی و کاربرد هورمون در سطح یک درصد معنی دار گردید. به طوریکه بالاترین میزان سوپر اکسید

کاهش تجزیه پرولین و افزایش بیوستنز آن افزایش می یابد (سلطانی، ۱۳۹۵). جیبرلین می تواند با کاهش اثرات منفی تنش و تجمع پرولین باعث بهبود رشد گیاه شود (سلطانی، ۱۳۹۵). هورمون سیتوکینین باعث افزایش گشودگی روزنه ها شده و بدین ترتیب فشار تورژسانس سلول های بزرگ در اثر هدر رفتن زودتر آب کاهش یافته و به دنبال آن تجزیه پروتئین و افزایش اسید آمینه پرولین صورت گرفته است ولی احتمالاً میزان غلظت در تجمع سیتوکینین تأثیر دارد (ماهرخ، ۱۳۹۵). در تیمار نانو نقره همراه با خشکی میزان پرولین نسبت به شاهد افزایش یافته که این تجمع پرولین تصور می شود که ناشی از فعال سازی بیوستنز و غیر فعال کردن مسیره های تخریب آن در طول تنش باشد که در پی پاسخ گیاه به تنش تولید می شود (Abraham et al., 2003). تدین و نوروزی (۱۳۹۴) اعلام کردند که نانو ذرات روی باعث افزایش پرولین گردیده است.

کاتالاز: میزان کاتالاز بر کلیه تیمارهای مورد بررسی معنی دار گردید و تنها اثر متقابل کاربرد هورمون و نانو ذرات معنی دار نگردید (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل سه گانه

جدول ۲- اثر سطوح تنش خشکی بر تنظیم کننده‌های رشد و نانو ذرات بر صفات مورد بررسی.

تیمارها	میزان پروتئین برگ (%)	کاتالاز (Umg ⁻¹ Protein)	مالون دی آلدئید (μmol g ⁻¹ fw)	قند محلول
کاربرد نانو ذره نقره	۴/۵۸۸ ^{cd}	۶/۴۲۰ ^a	۶/۸۱۰ ^g	۱۳/۲۰ ^{ef}
کاربرد نانو ذره روی	۴/۳۰۰ ^{d-f}	۶/۱۴۵ ^a	۶/۰۷۷ ^h	۱۴/۱۱ ^d
عدم کاربرد نانو ذره	۴/۰۳۳ ^{fg}	۵/۸۳۰ ^b	۷/۰۸۵ ^{fg}	۱۲/۷۱ ^f
کاربرد نانو ذره نقره	۴/۰۸۰ ^{e-g}	۶/۲۱۰ ^a	۸/۴۸۸ ^{cd}	۱۱/۲۶ ^g
کاربرد نانو ذره روی	۳/۸۰۸ ^{gh}	۵/۷۱۰ ^{bc}	۷/۶۷۸ ^{ef}	۱۲/۵۳ ^f
عدم کاربرد نانو ذره	۳/۶۲۰ ^{hi}	۴/۸۸۰ ^d	۹/۰۳۲ ^{bc}	۱۰/۴۷ ^h
کاربرد نانو ذره نقره	۳/۵۵۰ ^{h-j}	۴/۴۵۰ ^e	۹/۶۶۰ ^{ab}	۹/۰۷۳ ⁱ
کاربرد نانو ذره روی	۳/۳۷۸ ^{ij}	۳/۹۴۰ ^f	۹/۱۵۳ ^b	۱۰/۳۵ ^h
عدم کاربرد نانو ذره	۳/۲۸۰ ^j	۳/۲۰۳ ⁱ	۹/۹۵۵ ^a	۸/۲۱۲ ^j
کاربرد نانو ذره نقره	۲/۹۱۲ ^k	۵/۴۲۰ ^c	۴/۸۶۰ ^{jk}	۱۶/۵۰ ^b
کاربرد نانو ذره روی	۲/۷۳۰ ^k	۵/۰۴۸ ^d	۴/۳۵۰ ^k	۱۷/۱۸ ^a
عدم کاربرد نانو ذره	۴/۹۳۲ ^b	۴/۲۷۰ ^e	۵/۱۵۰ ^j	۱۵/۶۱ ^c
کاربرد نانو ذره نقره	۵/۲۵۷ ^a	۴/۳۶۳ ^e	۵/۴۰۰ ^{ij}	۱۵/۵۶ ^c
کاربرد نانو ذره روی	۴/۸۸۰ ^{bc}	۳/۸۶۰ ^{fg}	۴/۷۸۷ ^{jk}	۱۶/۱۴ ^{bc}
عدم کاربرد نانو ذره	۴/۸۲۰ ^{bc}	۳/۶۰۰ ^{gh}	۵/۱۹۰ ^j	۱۵/۴۷ ^c
کاربرد نانو ذره نقره	۴/۶۹۰ ^{bc}	۳/۳۱۰ ^{hi}	۶/۷۴۰ ^g	۱۳/۴۶ ^e
کاربرد نانو ذره روی	۴/۳۷۰ ^{de}	۲/۷۰۰ ^j	۵/۹۲۷ ^{hi}	۱۴/۳۵ ^d
عدم کاربرد نانو ذره	۳/۷۸۳ ^{gh}	۲/۸۵۸ ^j	۸/۰۳۳ ^{de}	۱۱/۸۵ ^g

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد باهم تفاوت معنی داری ندارند.

الاسلامی و همکاران، ۱۳۹۵). کاربرد جیبرلین باعث افزایش سوپر اکسید دیسموتاز گردیده است (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۵).

مالون دی آلدئید: میزان مالون دی آلدئید بر کلیه تیمارهای مورد بررسی در سطح یک درصد معنی دار گردید و تنها اثر متقابل کاربرد هورمون و نانو ذرات معنی دار نگردید (جدول ۱). بررسی مقایسه میانگین اثرات متقابل سه گانه (جدول ۲) مشخص گردید که بالاترین میزان مالون دی آلدئید با میزان ۹/۹۵۵ (μmol g⁻¹ fw) در شرایط تنش خشکی مربوط به تیمار عدم کاربرد هورمون و عدم کاربرد نانو ذرات می‌باشد و کمترین میزان مالون دی آلدئید با میزان ۴/۳۵۰ (μmol g⁻¹ fw)

دیسموتاز با میزان ۴/۹۱۴ (U/g protein) تحت تیمار تنش خشکی با کاربرد جیبرلین بدست آمد و کمترین میزان سوپر اکسید دیسموتاز با میزان ۲/۰۱۴ (U/g protein) تحت تیمار عدم تنش خشکی با عدم کاربرد تنظیم کننده‌های رشد بدست آمد (جدول ۳). افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در تیمار تنش به خاطر نقش مهم این آنزیم جهت مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در اثر تنش خشکی به وجود می‌آید و به برخی از ترکیبات سلولی نظیر لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها آسیب می‌رساند می‌باشد. بنابراین سوپر اکسید دیسموتاز به عنوان یکی از اجزای ترکیب کننده مهم مکانیسم دفاعی گیاه در نظر گرفته می‌شود (طریق

جدول ۳- اثر سطوح تنش خشکی و تنظیم کننده‌های رشد بر صفات مورد بررسی.

تیماها	سوپر اکسید دیسموتاز (U/g protein)	آلفا آمیلاز (Umg ⁻¹ Protein)
کاربرد اسید جیبرلین	۴/۹۱۴ ^a	۳/۹۷۷ ^c
تنش خشکی	۴/۳۶۵ ^b	۳/۱۹۲ ^d
عدم کاربرد تنظیم کننده	۲/۹۱۸ ^e	۲/۴۹۳ ^e
کاربرد اسید جیبرلین	۳/۸۰۴ ^c	۵/۰۴۸ ^a
عدم تنش خشکی	۳/۰۶۳ ^d	۴/۷۶۷ ^b
عدم کاربرد تنظیم کننده	۲/۰۱۴ ^f	۳/۸۵۷ ^c

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد باهم تفاوت معنی داری ندارند.

(Denden, 2010). فرهودی (۱۳۹۱) گزارش کرد تخریب غشاء سلولی و افزایش غلظت مالون دی آلدئید منجر به کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز شده و در نتیجه رشد گیاهچه کلزا گردیده است.

قند محلول: میزان قند محلول بر کلیه تیمارهای مورد بررسی در سطح یک درصد معنی دار گردید و تنها اثر متقابل تنش خشکی و نانو ذرات معنی دار نگردید (جدول ۱). با بررسی جدول مقایسه میانگین اثرات متقابل سه گانه مشخص گردید که بالاترین میزان قند محلول در تیماری که تحت شرایط عدم تنش خشکی با کاربرد اسید جیبرلین و نانو ذرات روی می‌باشد به دست آمد (جدول ۲). در طی خشکی انتقال مواد به علت کاهش آب قابل دسترس منجر به تغییر غلظت برخی از متابولیت‌ها می‌شود. از سوی دیگر میزان محلول‌های سازگار به خشکی نظیر قندها، قندهای الکلی، آمینو اسیدها افزایش می‌یابد (Wu and Garg., 2003).

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی نتایج نشان داد که هرچند تنش خشکی بر روند صفات مورد آزمایش تأثیر داشت اما هورمون جیبرلین و سیتوکینین در بهبود تنش خشکی مؤثر بودند همچنین از جمله دلایل تأثیر نانو ذرات روی و نقره روی تنش به احتیاج گیاه ذرت به این عناصر کم مصرف باشد. تعادل عناصر غذایی در

مربوط به عدم تنش خشکی که مربوط به تیمار کاربرد جیبرلین به همراه نانو ذرات روی بدست آمد. پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی از طریق تجمع مالون دی آلدئید موجب ایجاد آسیب در گیاهان می‌گردد و تیمار هورمون با کاهش مالون دی آلدئید می‌تواند با جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌ها آسیب تنش را کاهش دهد (Asgharia and Aghdam, 2010). Hodges و همکاران (۱۹۹۹) بیان کردند مالون دی آلدئید محصول نهایی اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌باشد و می‌تواند به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید غشای سلولی که در اثر تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) بوجود می‌آید مورد توجه قرار گیرد.

آلفا آمیلاز: با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص گردید آلفا آمیلاز بر تنش خشکی، کاربرد هورمون، نانو ذرات و اثر متقابل تنش خشکی و کاربرد هورمون در سطح یک درصد معنی دار گردید. به طوریکه بالاترین میزان آلفا با میزان ۵/۰۴۸ (Umg⁻¹ Protein) تحت تیمار عدم تنش خشکی با کاربرد جیبرلین بدست آمد و کمترین میزان آلفا آمیلاز با میزان ۲/۴۹۳ (Umg⁻¹ Protein) تحت تیمار تنش خشکی با عدم کاربرد تنظیم کننده‌های رشد بدست آمد (جدول ۲). آنزیم آلفا آمیلاز از آنزیم‌های حیاتی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در فرآیند جوانه زنی است که فعالیت آن تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Dkhal and

خاک و میزان مصرف بسیار مهم می‌باشد. هورمون‌های جیبرلین و سیتوکینین در روند بهبود تأثیر خشکی اثر بهتری نسبت به نانو ذرات داشتند. در بین نانو ذرات نانو ذرات نقره تأثیر بهتری در هردو شرایط کاربرد با تنظیم کننده‌های رشد داشت.

منابع

- اکبری مقدم، ح. (۱۳۹۱) تسهیم ماده خشک و واکنش‌های مورفوفیزیولوژیکی ارقام گندم تحت تأثیر تنش خشکی در مراحل مختلف رشد. پایان نامه دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل.
- بایوردی، آ. (۱۳۸۵) روی در خاکها و تغذیه گیاهان. چاپ پرور. تهران. ایران.
- تدین، م. و نوروزی، س. (۱۳۹۴) تأثیر نانو اکسید تیتانیوم، نانو روی و نانوتیوب کربنی چند جداره بر عملکرد و اجزای عملکرد ماش (*Vigna radiata L.*). مجله به زراعی کشاورزی ۱: ۱۶۹-۱۸۲.
- سلطانی، ا.، خاوری نژاد، ر.، انگجی، س. و نجفی، ف. (۱۳۹۵) اثر برهمکنش شوری و جیبرلیک اسید بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدان در دو رقم نخود ایرانی (*Cicer arietinum L.*). مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۵: ۱۷۹-۱۸۸.
- فروودی، ر. (۱۳۹۱) اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، نشت پذیری غشای سلولی و رشد گیاهچه ارقام کلزا. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۱: ۱۴-۲۴.
- رضوی زاده، ر.، طباطبایی پژوه، ز. و رستمی، ف. (۱۳۹۴) تأثیر سالیسیک اسید بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای قند و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاه کلزا تحت تنش سرب. مجله زیست شناسی گیاهی ۳: ۵۲-۳۹.
- رنجبر، م.، لاری یزدی، ح. و برومند جزی، ش. (۱۳۹۰) تأثیر نانو ذرات نقره بر شاخص های رشد و فیزیولوژیکی گیاه کلزا (*Brassica napus*) در شرایط کشت درون شیشه ای. مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی ۷: ۲۲۱-۲۳۶.
- طریق الاسلامی، م.، کافی، م.، نظامی، ا. و ضرغامی، ر. (۱۳۹۶) تأثیر اسید سالیسیلیک در بهبود خسارت تنش سرمازدگی در هیبرید ذرت سینگل کراس ۴۰۰ (*Zea mays L.*). مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۶: ۲۸۱-۲۹۲.
- طریق الاسلامی، م.، کافی، م.، نظامی، ا. و ضرغامی، ر. (۱۳۹۵) اثر تنش سرما بر خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی سه هیبرید ذرت (*Zea mays L.*) در مرحله گیاهچه ای. مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی) ۳: ۵۴۰-۵۵۲.
- طریق الاسلامی، م.، کافی، م.، نظامی، ا. و ضرغامی، ر. (۱۳۹۵) اثر تنش سرمازدگی و خشکی تحت تأثیر اسید سالیسیلیک بر شاخص های انتخاب و عملکرد دانه ذرت (*Zea mays L.*). فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان زراعی ۸: ۵-۲۰.
- ماهرخ، ع.، نبی پور، م.، روشنفکر دزفولی، ح. و چوکان، ر. (۱۳۹۵) تأثیر محلول پاشی هورمون‌های اکسین و سیتوکینین بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی پرولین برگ ذرت سینگل کراس ۷۰۴ در شرایط تنش خشکی. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۵: ۱۶۵-۱۷۹.
- Abraham, E., Rigo, G., Sze'kely, G., Nagy, R., Koncz, C. and Szabados, L. (2003) Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in Arabidopsis. *Plant Molecular Biology* 51: 363-372.
- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol* 105: 121-126.
- Amiri, M. J. and Eslamian, S. S. (2010) Investigation of climate change in Iran. *Journal Environ Science Technol* 4: 208-216.
- Asgharia, M. R. and Aghdam, M. S. (2010) Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. *Trends in Food Science and Technology* 21:502-509.
- Bates, L. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Brunner, T.I., Wick, P., Manser, P., Spohn, P., Grass, R. N., Limbach, L. K., Bruinink, A. and Stark, W. J. (2006) In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and effect of particle solubility. *Environmental Science and Technology* 40: 4374-4381

- Bradford M. M. (1976) A rapid and sensitive method for quantitation of microgram of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Dkhil, B. B. and Denden, M. (2010) Salt stress induced changes in germination, sugars, starch and enzyme of carbohydrate metabolism in *Abelmoschus esculentus* L. (Moench.) seeds. *African Journal of Agricultural Research* 5:1412-1418.
- Franklin, N., Rogers, N., Apte, S., Batley, G., Gadd, G. and Casey, P. (2007) Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. *Environmental Science and Technology* 41: 8484-8490.
- Kaya, C. Tuna, A. L. and Yokas, I. (2009) The role of plant hormones in plants under salinity stress. *Book Salinity and Water Stress* 44: 45-50.
- Khan, W., Prithviraj, B. and Smith D. L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal Plant Physiology* 160: 485-492.
- Lum, M. S., Hanafi, M. M., Rafii, Y. M. and Akmar, A. S. N. (2014) Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. *Journal of Animal and Plant Sciences* 24: 1487-1493.
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilma, S. and Mittler, R. (2010) Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell and Environment* 33: 453-467.
- Minami, M. and Yoshikawa, H. (1979) A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. *Clinica Chimica Acta* 92: 337-342.
- Nielsen, T. H., Deiting, U. and Still, M. (1977) A-B amylase in potato tubers is induced by storage at low temperature. *Plant Physiology* 113: 503-510.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, Y. (1979) Assay of lipid peroxides in tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annals of Clinical Biochemistry* 95: 51-358.
- Hassegawa, R. H., Fonseca, H., Fancelli, A. L., Dasilva, V. N., Schammass, E. A., Reis, T. A. and Correa, B. (2008) Influence of macro-and micro nutrient fertilization on fungal contamination and fumonisin production in corn grains. *Food Control* 19: 36-43.
- Hodges, D., Delong, J. M., Forney, C. F. and Prange, R. K. (1999) Improving the thiobarbituric acid reactive substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207: 604-611.
- Wu, R. and Garg, A. (2003) Engineered rice plants with trehalose producing genes improves tolerance to drought, salt and low temperature. *ISB News*, February.

Effect of drought stress by application of hormone and Nano particulate spraying on biochemical Traits of maize (*Zea mays*) in Maxima cultivar

Mohsen Pourgholam, Mohammad Nasri, Farshad Ghoshchi, Hamid Reza Tohidimoghadam and Hamid Reza Larijani

Faculty of Agricultural Engineering, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

(Received: 02/11/2017, Accepted: 15/01/2018)

Abstract

In order to investigate the effect of drought stress by application of hormone and nanoparticulate spraying on corn biochemical traits, a split-plot factorial experiment was used in a randomized complete block design with four replications at the Agricultural Research Faculty of Islamic Azad University, Varamin. Drought stress in two levels (drought stress and control) and three growth regulators (application of gibberellic acid (200 ppm), application of cytokine (200 ppm) and lack of application of regulator and growth hormone) and three levels of nano particles (application of silver nanoparticles (0.02%), application of zinc nanoparticles (0.02%) and application of nanoparticles) were included. The results showed that in all drought stress conditions, the traits under study were affected so that the levels of malondialdehyde, proline, superoxide dismutase, catalase increased and leaf protein, alpha-amylase and soluble sugar decreased. The application of gibberellin and cytokinin as well as application of silver and zinc nanoparticles reduced the effects of drought stress. In drought stress conditions, growth regulator application and nanoparticles resulted in increased proline levels. The use of gibberellin hormone with the application of silver and zinc nanoparticles reduced the amount of protein in the leaf. According to the results, the application of growth regulators and nanoparticles could help to improve plant performance under drought stress conditions.

Key Words: Antioxidant, Gibberellin, Cytokine, Corn or maize, Malondialdehyde, Nanoparticles