فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۱، شماره ۴۸، خرداد و تیرماه ۱۴۰۱ صفحه: ۱۹-۳۳

مقاله پژوهشی

اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر تحمل تنش شوری در گیاه زنیان (*Carum copticum* L.)

ریحانه عموآقایی*، مینا مجیدی و صادق فرهادیان

گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۹/۲۷)

چکیده

در مناطق خشک و نیمه‌خشک مانند ایران، شوری آب و خاک تهدیدی مهم برای رشد گیاهان و کشاورزی محسوب می‌شود. ثابت شده است که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به رشد گیاهان کمک می‌کند و تحمل تنش در گیاهان را افزایش می‌دهد. بنابراین، در پژوهش حاضر، آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سدیم‌کلرید) و پنج سطح محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نمک، وزن تر و خشک گیاه، میزان کلروفیل *a, b* و محتوای نسبی آب گیاه بطور معنی‌داری کاهش یافت، اما محتوای مالون دی‌آلدئید، کاروتنوئیدها، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و APX افزایش یافت. محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های مناسب (اغلب ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر) رشد را بهبود داد و باعث افزایش میزان کلروفیل *a, b*، کاروتنوئید، محتوای نسبی آب، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و APX شد و میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشاها را کاهش داد. اثر کاربرد ۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر پارامترهای رشد و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی کمتر از اثر غلظت ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات بود و میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشاها را تحت هر دو شرایط شور و غیرشور افزایش داد. در مجموع می‌توان گفت که غلظت مناسب نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از طریق افزایش پرولین و تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانی باعث حفاظت گیاه در برابر تنش اسمزی و اکسیداتیو ناشی از تنش شوری شده است.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین، تنش شوری، کلروفیل، محتوای نسبی آب

مقدمه

در اکثر مناطق دنیا تنش شوری جز عمده‌ترین تنش‌های محیطی است که رشدونمو گیاهان را محدود می‌کند. کشور ایران پس از هند و پاکستان با دارابودن ۶/۸ میلیون هکتار اراضی شور در صدر کشورهای آسیایی در معرض تهدید از نظر تنش شوری قرار گرفته است (رنجبر و پیرسته انوشه، ۱۳۹۴). تنش شوری با ایجاد پتانسیل اسمزی منفی در محیط، موجب کاهش جذب آب و درنتیجه کاهش تورگر سلول و افت رشد گیاه می‌شود. علاوه بر این ورود یون‌های سمی نظیر سدیم و کلر به بافت‌های تحت تنش شوری، تمام فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه مانند سنتز پروتئین، تنفس، متابولیسم لیپید و فتوسنتز را بطور منفی تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (Vafadar *et al*., 2020; Munns and Tester, 2008). طی تنش شوری، اختلال در فرآیندهای تنفس و فتوسنتز موجب انحراف الکترون از زنجیره انتقال الکترون شده و با انتقال این الکترون‌ها به اکسیژن، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید شده و از طریق القای

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: rayhanehamooaghaie@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

تنش اکسیداتیو، موجب پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و غیرفعال‌سازی بسیاری از آنزیم‌ها می‌شوند (Munns and Tester, 2008; Yang and Guo, 2018).

گیاهان، برای غلبه بر تنش اسمزی تجمع اسمولیت‌هایی مانند پرولین را افزایش می‌دهند و برای پاکروبی گونه‌های فعال اکسیژن و محافظت در مقابل واکنش‌های اکسیداتیو مخرب ناشی از شوری، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (POX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، آسکوربات پراکسیداز (APX) را فعال می‌کنند (Munns and Tester, 2008). برخی پژوهش‌ها، نشان داده است که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مقاومت گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از شوری را افزایش می‌دهد (Ghorbannejad and Amooaghaie, 2017; Khodabakhsh *et al*., 2014; Vafadar *et al*., 2020).

تاکنون روش‌های مختلفی نظیر اصلاح نباتات، مهندسی ژنتیک، مدیریت آب و خاک، استفاده از انواع محرک‌های بیولوژیکی و هورمون‌ها برای غلبه بر اثرات منفی تنش شوری بر گیاهان تجربه شده است. اما هر یک از این روش‌ها خود دارای محدودیت‌هایی هستند. فناوری نانو، امیدواری‌هایی را برای غلبه بر این تنگناها بوجود آورده است. اکنون، از پتانسیل استفاده از این فناوری برای ایجاد روش‌های مناسب و حسگرهای دقیق برای مدیریت تغذیه گیاهان در کشاورزی، مدیریت منابع طبیعی و تشخیص زودرس عوامل بیماری‌زا و آلاینده‌ها در گیاهان و محصولات غذایی، استفاده می‌شود. اخیراً استفاده از نانوذرات برای افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌ها مورد توجه قرار گرفته است (Saxena *et al*., 2016). اثرات نانوذرات ممکن است در رابطه با یون‌های عنصری رهاشده از آنها و یا مرتبط با خواص ویژه فیزیکوشیمیایی آنها از نظر حلالیت، بار سطحی، اثرات کوانتومی، تجمع‌پذیری و سطح ویژه بالا باشد و اثراتشان روی موجود زنده به اندازه، شکل و غلظت ذراتشان بستگی دارد (Farooqui *et al*., 2016).

در سال‌های اخیر، استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌علت خواص فوتوکاتالیستی در کشاورزی مورد توجه قرار گرفته است. نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم کلیه خصوصیات دی‌اکسید تیتانیوم را دارا بوده و علاوه بر آن به‌دلیل کوچکی اندازه ذرات، سطح تماس آن با مواد افزایش یافته و کارایی و اثربخشی بیشتری دارد (Shi *et al*., 2013). هر چند، براساس معیارها برای عناصر ضروری، تیتانیوم، یک عنصر ضروری برای تغذیه گیاه نیست، اما مقادیر کم آن برای گیاه سودمند است و می‌تواند جذب برخی عناصر نظیر نیتروژن، فسفر، کلسیم، منیزیم، آهن، منگنز و روی را تحریک کند. استفاده تیتانیوم با غلظت کم از طریق ریشه‌ها یا برگ‌ها، با تحریک فعالیت آنزیم‌های مشخص، افزایش مقدار کلروفیل و فتوسنتز و بهبود جذب مواد غذایی، موجب افزایش عملکرد، بازده و کیفیت محصول و افزایش مقاومت در برابر تنش در گیاهان مختلف می‌شود (Lyu *et al*., 2017). مکانیسم اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مشابه با اثرات ذکرشده برای تیتانیوم است (Chaudhary and Sing, 2020). گزارش‌هایی مبنی بر اثرات مثبت یا منفی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم روی رشد در شرایط بدون تنش و تحمل تنش در گیاهان وجود دارد (Rastogi *et al*., 2017; Mingyu *et al*., 2007; Tumburu *et al*., 2017; Yang and Hong, 2006). مشاهدات قربانی و همکاران (۱۴۰۰) نشان داد که محلول‌پاشی با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، وزن خشک بخش هوایی، سطح برگ، شاخص کلروفیل، هدایت روزنه‌ای، طول، قطر، سطح و حجم ریشه گیاه نخود را تحت سه سطح خشکی (۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی) افزایش داد، اما با افزایش بیشتر غلظت نانوذرات این صفات روند کاهشی را نشان دادند. در پژوهش دیگری Shah و همکاران (۲۰۲۱) دریافتند که پرایمینگ دانه‌های ذرت در محلول ۶۰ پی‌پی‌ام نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، جوانه‌زنی دانه، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی دانه‌رست ذرت را تحت تنش شوری بهبود داد و با افزایش تجمع پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش اکسیداتیو ناشی از شوری را تعدیل کرد. یک مطالعه ترانس کریپتوم نشان داد که در پاسخ به تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، بسیاری از ژن‌های درگیر در فرآیند فتوسنتز و همچنین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ‌های دفاعی در گیاهان فعال می‌شوند که بهبود رشد و مقاومت به تنش القا شده توسط این نانوذرات را توجیه می‌کند (Tumburu *et al.*, 2017). به هر حال، استفاده از نانوذرات در زمینه‌های کشاورزی هنوز در ابتدای راه است و مکانیسم عمل نانوذرات در بهبود تحمل گیاهان دارویی در شرایط تنش تا حد زیادی ناشناخته مانده است و نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

از آنجایی که میزان تولید گیاهان دارویی و معطر در طبیعت کم است نیاز به کشت و زرع این گیاهان به‌شدت افزایش یافته است. اغلب زمین‌های حاصلخیز به تولید غذا، علوفه و فیبر و دیگر الزامات اختصاص یافته‌اند و علاقه برای کشت گیاهان دارویی در چنین زمین‌هایی وجود ندارد. لذا اراضی حاشیه‌ای به‌ویژه آن‌هایی که تحت تأثیر مسائل شوری هستند و تولید دیگر محصولات کشاورزی در آنها بازده خوبی ندارد می‌تواند به کشت چنین گیاهان ارزشمندی اختصاص یابند (Ines *et al.*, 2008). لذا باید راهکارهایی برای افزایش تحمل گیاهان دارویی به شوری پیدا کرد. گیاه زنیان با نام علمی *Carum copticum* (L.) یکی از گیاهان دارویی متعلق به تیره چتریان (Apiaceae) است که اسانس بذر آن مصارف دارویی، بهداشتی و صنعتی دارد. در طب مدرن به‌عنوان ضدعفونی‌کننده قوی، تقویت جهاز هاضمه و در مصرف خارجی به‌منظور درمان روماتیسم بکار می‌رود (دوازده امامی و مجنون حسینی، ۱۳۸۷). براساس اطلاعات فوق، در پژوهش حاضر اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر رشد و تحمل شوری در گیاه زنیان بررسی شد.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه زنیان از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری و در هر گلدان پرشده با خاک رسی و کود حیوانی، ۲۰ بذر کاشته شد. گیاهان در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد، تحت رطوبت نسبی ۵۷ درصد، دمای روز/ شب ۲۸ و ۲۰ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۸/۱۴ روز/ شب رشد کردند. در ابتدا برای جوانه‌زنی بذر و تا استقرار اولیه گیاهچه دو برگی از آب معمولی استفاده شد. سپس تیمار شوری در سه سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) از طریق افزودن نمک سدیم‌کلرید (Merck) به آب آبیاری گلدان‌ها اعمال شد. لازم به ذکر است که طبق بررسی منابع، تحمل شوری زنیان اغلب در سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار بررسی شده است. لیکن در این آزمایش علی‌رغم اینکه شوری آب کمتر بوده (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، چون خاک رسی و هدایت الکتریکی اولیه خاک (۳/۱۱ دسی‌زیمنس بر متر) هم نسبتاً بالا بوده و تیمار با آب شور بطور مکرر انجام شده و معمولاً آب زیادی از گلدان خارج نمی‌شده است و از سوی دیگر شرایط گلخانه هم نسبتاً گرم و خشک بوده و میزان تبخیر آب زیاد بوده است، احتمال تجمع نمک در خاک زیاد بوده و بدیهی است که با شرایط فوق در عمل گیاه با سطوح شوری بالاتری در خاک مواجه بوده است.

همزمان با شروع تیمار شوری، محلول‌پاشی برگی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در پنج سطح (صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) انجام شد. لازم به ذکر است که پودر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از کمپانی SigmaAldrich با سایز ۲۵ نانومتر و (M= ۷۹/۸۷ g/mol) خریداری شد. سوسپانسیون نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در آب، قبل از استفاده به‌مدت ۶۲۰ ثانیه به‌وسیله امواج اولتراسوند با قدرت ۹۰-۸۰ هرتز و دور ۱۰۰ سونیکیت شدند تا به‌راحتی قابل جذب برای گیاه باشد و از آگلوتینه‌شدن ذرات جلوگیری شود. بعد از گذشت ۱۰ روز از برگ تازه گیاهان هر تیمار نمونه‌برداری شد و در این نمونه‌ها، میزان رنگیزه‌ها، محتوای نسبی آب، میزان پراکسیداسیون لیپیدی، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به شرح زیر اندازه‌گیری شد. در پایان گیاهان گلدان‌ها برداشت و فوراً وزن تر گیاهان اندازه‌گیری شد و سپس به آون ۷۰ درجه سانتیگراد منتقل و وزن خشک گیاهچه تعیین شد.

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌ها بافت تازه پهنک برگ در هاون به کمک استون ۸۰٪ سائیده شد و پس از صاف‌کردن، جذب محلول در طول‌موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

و سپس میزان کلروفیل *a, b* و کاروتنوئیدها طبق فرمول‌های پیشنهادی Lichtenthaler (۱۹۸۷) محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ‌ها، چند دیسک برگی از گیاهان هر گلدان برداشت شد و وزن تر آنها تعیین شد. سپس دیسک‌ها در آب دیونیزه برای ۷ ساعت شناور شدند و پس از تورژسانس کامل، وزن تورگر (TW) دیسک‌های برگی اندازه‌گیری شد. وزن خشک آن (DW) بعد از خشک‌شدن دیسک‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد آون به‌مدت ۷۲ ساعت تعیین شد و با رابطه زیر درصد محتوای نسبی آب برگ‌ها محاسبه گردید (Lara, *et al.*, 2003).

رابطه (۱) $$RWC = \frac{FW-DW}{TW-DW} \times 100$$

اندازه‌گیری پرولین به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) با استفاده از معرف نین‌هیدرین انجام شد. از تولوئن به‌عنوان بلانک استفاده شد وجذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد، تعیین گردید. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار پرولین برحسب گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردیدند (Bates *et al.*, 1973).

برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA)، ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرو استیک (TCA)، ۰/۱ درصد سائیده شد و با استفاده از تیوباربیتوریک (TBA) طی مراحلی یک کمپلکس قرمز رنگ حاصل شد. شدت جذب این محلول در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}Cm^{-1}$ استفاده شد (Heath and Packer, 1968).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها، بافت برگ در بافر استخراج، ساییده و سانتریفوژ شد و روشناور حاصل، برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مطابق با روش ارائه‌شده توسط Vafadar و همکاران (2020) براساس تبدیل نیتروبلو تترازولیوم (NBT) به فورمازان در حضور نور و ظهور رنگ تخمین زده شد. یک واحد فعالیت SOD، معادل مقدار آنزیمی که ۵۰ درصد احیای نوری NBT را ممانعت می‌کند، تعریف شد. برای اندازه‌گیری آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی حاوی آنزیم،۳ میلی‌لیتر بافر فسفات، ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربات و ۴/۵ میکرولیتر هیدروژن پراکسید داخل کوت ریخته شد و تغییرات جذب نوری محلول در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر، در فواصل ۳۰ ثانیه و به‌مدت ۱۲۰ ثانیه خوانده شد. میزان فعالیت آنزیم بر مبنای میزان مصرف H_2O_2 در دقیقه و با ضریب خاموشی ۲/۶ $mM^{-1}Cm^{-1}$ برآورد شد (Nakano and Asada, 1981). در نهایت میزان فعالیت ویژه هر دو آنزیم براساس واحد آنزیم بر میلی‌گرم وزن تر محاسبه و بیان گردید.

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد اجرا شد. فاکتورها شامل: شوری در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در پنج سطح (صفر،۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. آنالیز واریانس داده‌ها با نرم‌افزار SAS نسخه۲۰ و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج

وزن تر و وزن خشک زنیان: با توجه به نتایج آنالیز واریانس (جدول ۱) اثر ساده شوری و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و نیز اثر برهمکنش شوری و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر وزن تر و خشک گیاه زنیان در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود.

در شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر وزن تر گیاهچه به‌ترتیب ۱۵/۷۰٪ و ۴۱/۵۱٪ و وزن خشک گیاهچه به‌ترتیب ۱۸/۴۱٪ و ۳۲/۲۷٪ کاهش یافت که نسبت به شاهد کاملاً معنی‌دار بود (شکل ۱).

در شرایط عدم‌شوری، وزن تر و خشک گیاهچه، فقط با کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم افزایش و با محلول‌پاشی غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۱). در شوری ۵۰ و

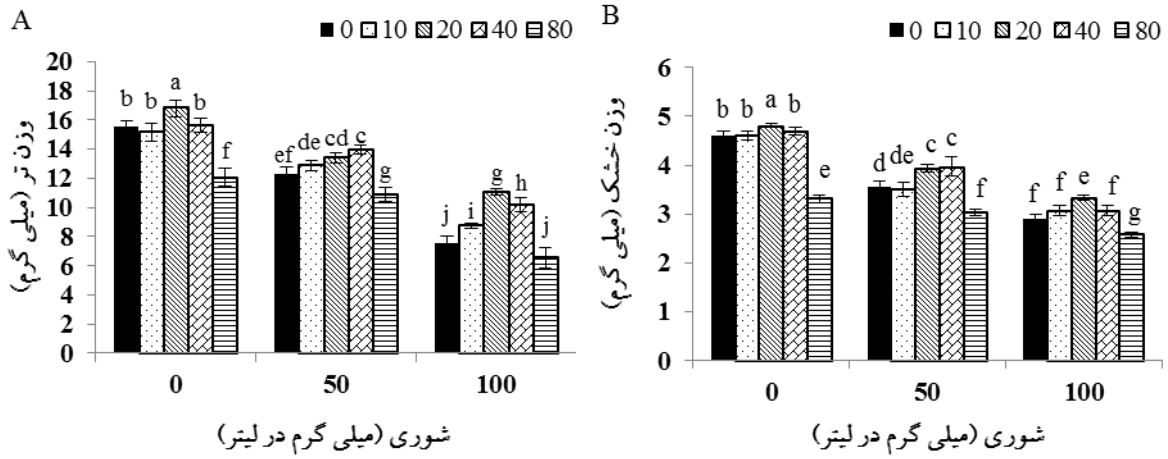
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثر غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش شوری بر وزن تر و خشک گیاهچه و رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ گیاه زنیان

	درجه آزادی	وزن تر	وزن خشک	کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	کاروتنوئید
شوری	۲	۱۴۸/۸۹**	۷/۵۶**	۴/۷۱**	۱/۸**	۱۱/۳۶**
نانوذرات	۴	۲۱/۰۰**	۱/۵۰**	۰/۶۵**	۰/۷۲**	۱/۳۱**
شوری × نانوذرات	۸	۱/۴۹**	۰/۱۵**	۰/۰۴^{ns}	۰/۰۳*	۰/۴۱**
خطا	۳۰	۰/۱۴	۰/۰۱	۰/۰۴	۰/۰۲	۰/۰۳
ضریب تغییرات		۳/۰۷	۳/۶۵	۶/۰۷	۶/۶۵	۷/۲۹

ns، * و ** به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد



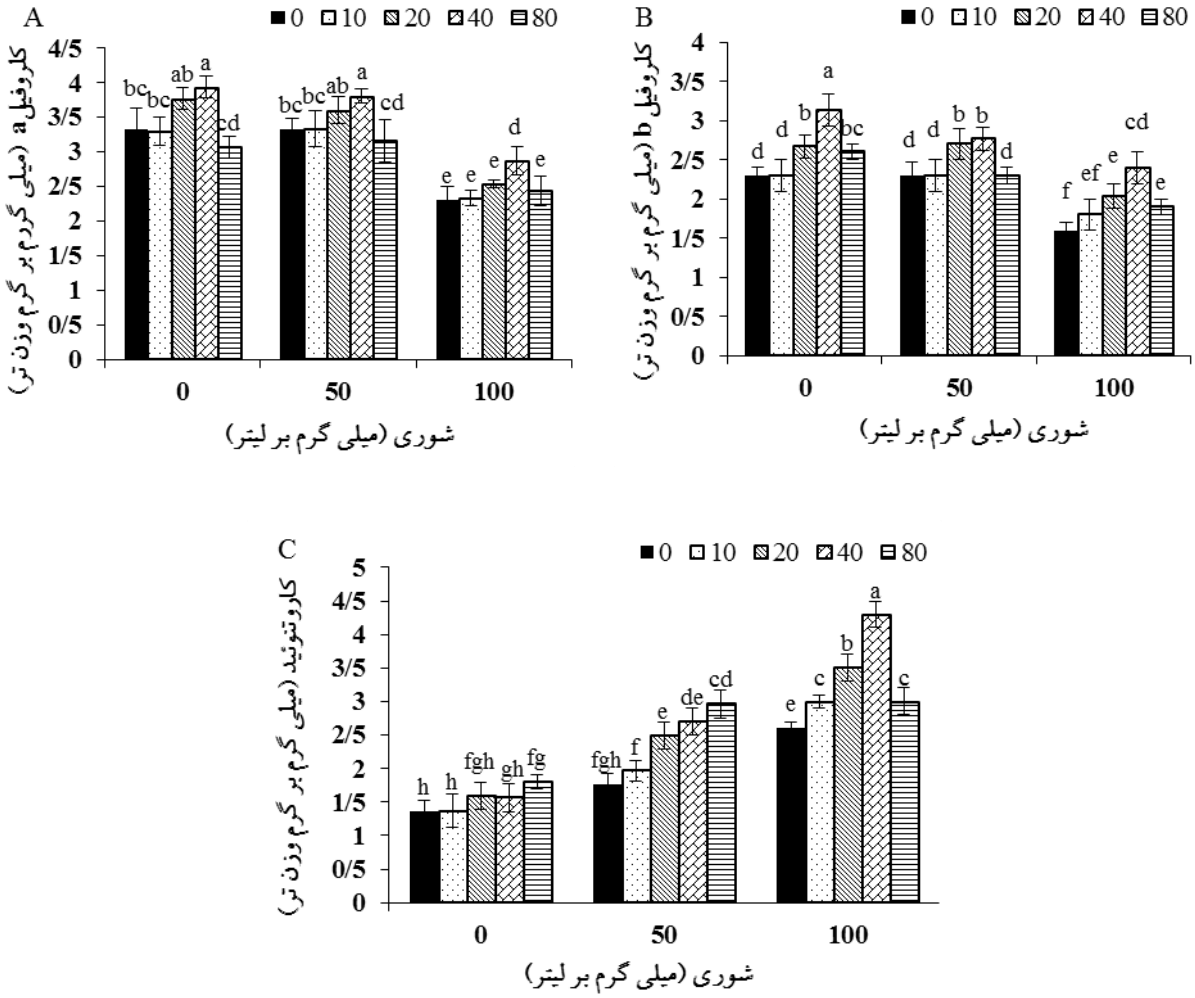
شکل ۱- اثر تنش شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۱۰ ،۲۰، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) بر وزن تر (A) و خشک (B) گیاه زنیان. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلرید سدیم، وزن تر و خشک با کاربرد غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در حد معنی‌داری نسبت به شاهد این گروه‌ها افزایش و در مقابل با کاربرد ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در حد معنی‌داری (به استثنای وزن تر در شوری ۱۰۰) نسبت به شاهد این گروه‌ها کاهش یافت (شکل ۱).

رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ زنیان: در شوری ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، تغییرات محتوای کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئیدها نسبت به شاهد بدون شوری، معنی‌دار نبود. اما در شوری ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر محتوای کلروفیل *a* و *b* به‌ترتیب ۲۸/۴۴٪ و ۲۵/۳۸٪ کاهش و محتوای کاروتنوئید ۵۳/۰۴٪ افزایش یافت (شکل ۲).

نتایج نشان داد در شرایط بدون شوری و نیز در حضور ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سدیم‌کلرید، فقط غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، باعث افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل *a* نسبت به شاهد هر گروه شد (شکل ۲A). چون پاسخ به نانوذرات در همه سطوح شوری مشابه بود، همانطور که نتایج آنالیز واریانس (جدول ۱) نشان داد اثر برهمکنش شوری و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر محتوای کلروفیل *a* معنی‌دار نشد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]



شکل ۲- اثرتنش شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) بر محتوای کلروفیل *a* (A) کلروفیل *b* (B) و کاروتنوئید (C) در برگ زنیان. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

بیشترین مقدار کلروفیل *b* تحت ترکیب تیمار بدون شوری × ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم بدست آمد، در حالی‌که کمترین مقدار آن در ترکیب تیمار شوری ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر × عدم کاربرد نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم بدست آمد. در کل بیشترین محتوای کلروفیل *b* در شرایط بدون شوری و در شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با کاربرد غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بدست آمد و با کاربرد غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم محتوای کلروفیل *b* نسبت به غلظت‌های ۲۰،۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات در همه سطوح شوری کمتر بود (شکل ۲B).

در شرایط بدون شوری فقط غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش معنی‌دار محتوای کاروتنوئید نسبت به شاهد شد (شکل ۲C). در حضور۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلریدسدیم، بیشترین محتوای کاروتنوئید با کاربرد غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بدست آمد. اما در شوری ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، محتوای کاروتنوئید غلظت ۸۰ کمتر از غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بود.

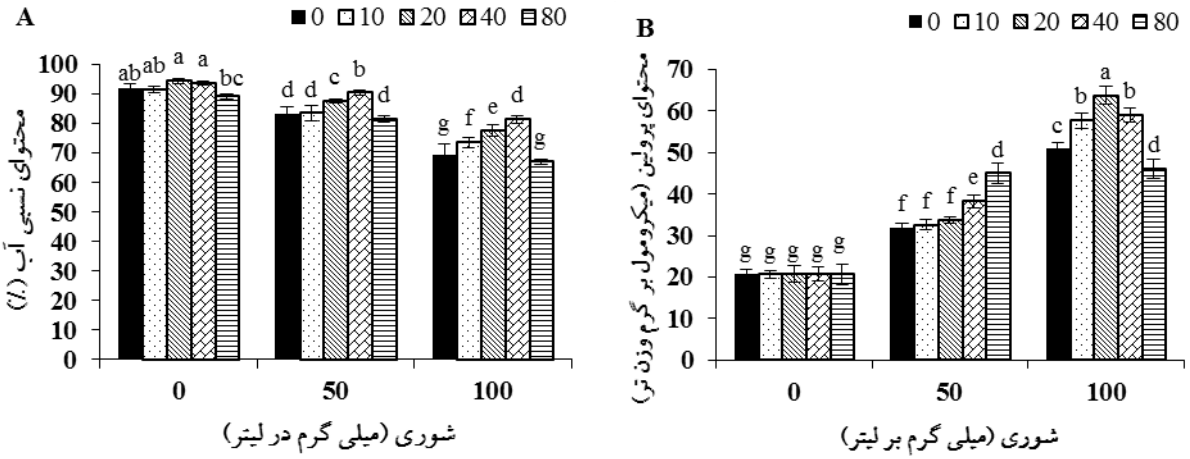
پرولین و محتوای آب برگ: با توجه به نتایج آنالیز واریانس (جدول ۲) اثر شوری و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و اثر برهمکنش آنها بر محتوای نسبی آب و محتوای پرولین برگ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثر غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش شوری بر محتوای نسبی آب (RWC)، محتوای پرولین، محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ زنیان

	درجه آزادی	RWC	پرولین	MDA	SOD	APX
شوری	۲	۵۷۸/۶۹**	۴۵۳/۴۳**	۳۹۲/۰۱**	۴۶۵/۴۴**	۴۶۳/۴۴**
نانوذرات	۴	۱۲۴/۶۸**	۳۷/۶۳**	۳۷/۳۸**	۵۷۶/۶۰**	۹۲/۶۸**
شوری × نانوذرات	۸	۱۴/۳۷*	۹۹/۳۲**	۵/۸۵**	۱۴۱/۷۴**	۳۷/۳۱**
خطا	۳۰	۳/۰۴	۳/۱۱	۰/۵۹	۱/۵۰	۰/۸۸
ضریب تغییرات		۲/۰۸	۴/۷۱	۵/۲۷	۴/۶۶	۷/۵۰

** و * معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد



شکل ۳- اثر تنش شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) بر محتوای نسبی آب (A) و محتوای پرولین (B) در برگ زنیان. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

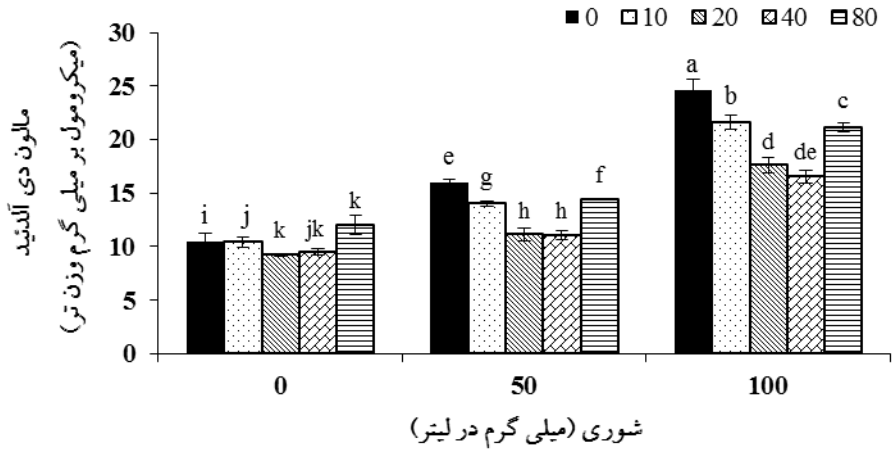
گیاه زنیان در سطح احتمال ۱ یا ۵ درصد معنی‌دار بود.

در شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدسدیم، محتوای نسبی آب به‌ترتیب ۷/۴۳٪ و ۱۹/۸۶٪ کاهش (شکل ۳A) و محتوای پرولین ۱۶/۸۰٪ و ۲۹/۲۰٪ افزایش یافت (شکل ۳B) که این تغییرات نسبت به شاهد کاملاً معنی‌دار بود.

در شرایط بدون شوری، کاربرد هیچ کدام از غلظت‌های نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تفاوت معنی‌داری در محتوای نسبی آب (شکل ۳A) و محتوای پرولین (شکل ۳B) نسبت به شاهد این گروه ایجاد نکرد. در شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدسدیم، با کاربرد غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، افزایش معنی‌داری در محتوای نسبی آب نسبت به شاهد هر گروه مشاهده گردید ولی کاربرد غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، تفاوت معنی‌داری در محتوای نسبی آب نسبت به شاهد گروه خود ایجاد نکرد (شکل ۳A).

در حضور ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدسدیم، محلول‌پاشی ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، باعث افزایش معنی‌دار (به‌ترتیب ۱۶/۸۰٪ و ۲۹/۲۰٪) محتوای پرولین نسبت به شاهد گروه خود گردید (شکل ۳B). در شوری ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سدیم‌کلرید، محلول‌پاشی ۱۰، ۲۰ و ۴۰

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]



شکل ۴- اثر تنش شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) بر محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) در برگ زنیان. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی-داری با هم ندارند.

میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش معنی‌دار (به‌ترتیب ۱۱/۷۹٪، ۲۰/۱۵٪ و ۱۳/۸۴٪) در محتوای پرولین نسبت به شاهد گروه خود شدند و محلول‌پاشی ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث کاهش معنی‌دار محتوای پرولین (۹/۴۴٪) نسبت به شاهد گروه خود شد (شکل 3B).

محتوای مالون دی‌آلدئید: با توجه به نتایج آنالیز واریانس اثر ساده شوری و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و نیز اثر برهمکنش شوری و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر محتوای مالون دی‌آلدئید گیاه زنیان در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد در شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، محتوای مالون دی‌آلدئید نسبت به شاهد به‌ترتیب ۲۲/۳۹٪ و ۰۹/ ۴۹٪ افزایش یافت (شکل ۴).

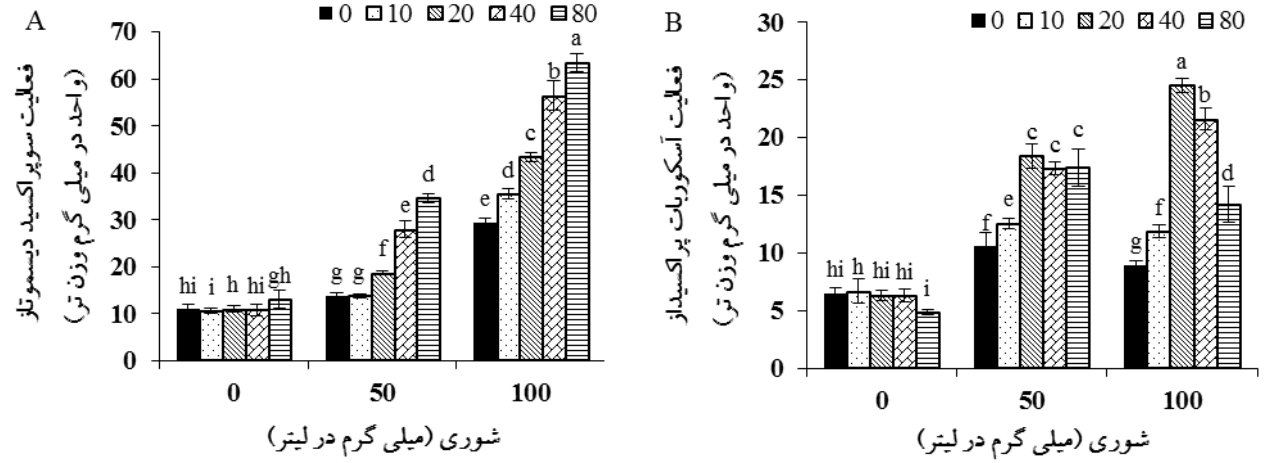
بررسی اثر برهمکنش شوری و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نشان داد که در تمام سطوح شوری، محلول‌پاشی ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث کاهش معنی‌دار محتوای مالون دی‌آلدئید نسبت به شاهد گروه خود شد (شکل ۴). در حضور شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سدیم‌کلرید، بیشترین کاهش در محتوای مالون دی‌آلدئید نسبت به شاهد هر گروه با کاربرد ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده گردید. اسپری۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در حضور شوری ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر ۳۰/۱۱٪ و ۳۰/۷۳٪ و در شوری ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ۲۸/۳۳٪ و ۳۲/۶۸٪ محتوای مالون دی‌آلدئید را نسبت به شاهد هر گروه کاهش داد. به هر حال در هر دو سطح شوری با کاربرد غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم محتوای مالون دی‌آلدئید، بطور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اما کمتر از شاهد هر گروه بود (شکل ۴).

فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر ساده شوری و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و نیز اثر برهمکنش شوری در نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان APX و SOD در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

با افزایش سطح شوری، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان APX و SOD در حد معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت اما فعالیت APX در سطح شوری ۱۰۰ کمتر از ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بود (شکل ۵).

در شرایط بدون شوری هیچ‌کدام از غلظت‌های نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم APX و SOD نسبت به شاهد این گروه ایجاد نکردند (شکل ۵). در حضور ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سدیم‌کلرید، کاربرد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]



شکل ۵- اثر تنش شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (A) و آسکوربات پراکسیداز (B) در برگ زنیان. ستون‌های دارای حروف مشترک بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

غلظت‌های ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم SOD نسبت به شاهد گروه خود شد که بیشترین افزایش مربوط به کاربرد ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بوده است (شکل ۵A).

در حضور شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سدیم‌کلرید، کاربرد تمام غلظت‌های نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم APX نسبت به شاهد گروه خود ایجاد کرد و بیشترین افزایش با کاربرد غلظت ۲۰ و۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات حاصل شد.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که آبیاری مکرر با آب شور با غلظت ملایم ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سدیم‌کلرید، بطور معنی‌داری میزان وزن تر و خشک گیاهچه زنیان را نسبت به شاهد کاهش داد (شکل ۱). Abdoli و همکاران (۲۰۲۰) هم گزارش کردند که با افزایش غلظت شوری از ۴ به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، زیست‌توده ریشه و بخش هوایی گیاه زنیان کاهش یافت. لازم به یادآوری است که علی‌رغم اینکه شوری آب آبیاری مورد استفاده در پژوهش حاضر خیلی کمتر از شوری بکار برده شده توسط پژوهشگران فوق بوده است، با توجه به رسی‌بودن خاک و تبخیر بالا در شرایط نسبتاً گرم و خشک گلخانه و همچنین آبیاری مکرر با آب شور و عدم خروج آب از گلدان، احتمالاً تجمع نمک در خاک رخ داده است و عملاً گیاه با سطح شوری بالاتر از این غلظت اسمی مواجه بوده است. علاوه بر این، چون شوری در مراحل اولیه استقرار گیاهچه اعمال شده است، گیاه در این مرحله حساسیت زیادی نسبت به این سطح شوری ملایم نشان داده است. شوری، تنش اسمزی را بر گیاه تحمیل می‌کند که سبب کاهش جذب آب و آسیب سیستم ریشه می‌شود که احتمالاً همین موضوع باعث کاهش وزن تر گیاه می‌شود. علاوه بر این شوری موجب تجمع یون‌های سمی و کمبود عناصر غذایی نیز می شود که همین اثر منجر به ایجاد تغییراتی در متابولیسم و در نهایت باعث کاهش وزن خشک گیاه می‌شود (Yang and Guo, 2018).

محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در شرایط نرمال و نیز تحت تنش شوری موجب افزایش وزن خشک و تر گیاه زنیان نسبت به شاهد شد (شکل ۱). بطور مشابهی، حقیقی و دانشمند (۱۳۹۲) هم گزارش کردند که تیتانیوم وزن خشک و وزن تر اندام‌های هوایی گیاه گوجه‌فرنگی را از طریق افزایش جذب و بهره‌وری عناصر و بهبود فتوسنتز گیاه افزایش داد. در پژوهش‌های قبلی گزارش شده است که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از طریق تأثیرشان بر بهبود جذب نور و فعالیت آنزیم

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

روبیسکو (Mingyu *et al.*, 2007) و همچنین اثر بر افزایش جذب نیترات (Yang and Hong, 2006) رشد گیاه را بهبود می‌دهند.

در این مطالعه محتوای کلروفیل *a, b* و کاروتنوئیدها در شوری ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد تغییر معنی‌داری نداشت اما با افزایش غلظت شوری به ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، محتوای کلروفیل *a, b* کاهش ولی محتوای کاروتنوئید افزایش یافت (شکل ۱). میرزایی و همکاران (۱۳۹۲) نیز اعلام کردند که تنش شوری ایجادشده با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید، به‌طور معنی‌داری محتوای کلروفیل را در برگ زنیان کاهش داد. نتایج مشابه در یونجه تحت تنش شوری نیز گزارش شده است (عموآقایی و نیک‌اندیش، ۱۳۹۴). تنش شوری ممکن است باعث جلوگیری از سنتز کلروفیل و یا موجب تخریب کلروفیل و آسیب‌پذیری کمپلکس‌های پروتئین- رنگدانه شود. کاهش در سنتز کلروفیل *a* و *b* ممکن است به‌دلیل تأثیر شوری بر ایجاد اختلال در جذب یون‌های لازم در مسیر سنتز کلروفیل مانند یون‌های منیزیم و آهن رخ دهد (Munns and Tester, 2008). در این پژوهش، محلول‌پاشی با غلظت مناسب نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر) موجب افزایش کلروفیل*a* و *b* و کاروتنوئیدها (شکل C –2A) در شرایط نرمال و تحت تنش شوری شد. کاروتنوئیدها علاوه بر کمک به جذب نور برای فتوسنتز، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان مؤثر در حفاظت کلروفیل در مقابل صدمات رادیکال‌های اکسیژن فعال در کلروپلاست‌ها نقش دارند. بنابراین افزایش آنها تحت شرایط تنش، در حفاظت کلروپلاست از فرآیندهای مخرب فتوشیمیایی و پایداری کلروفیل‌ها نقش دارد (Havaux, 1998). اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر افزایش کلروفیل *a* و*b* در گیاه کلزا (Li *et al.*, 2015) در شرایط بدون تنش و بر میزان کلروفیل *a*, *b* و کاروتنوئید در گیاه باقلا (Abdel Latef *et al.*, 2018) تحت تنش شوری نیز گزارش شده است. احتمالاً تأثیر مثبت تیتانیوم در جذب عناصری مانند روی و آهن که در سنتز کلروفیل نقش دارند موجب افزایش کلروفیل در گیاهان می‌شود.

مشاهدات Young و Hong (۲۰۰۶) نشان داد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌دلیل اثرشان بر افزایش جذب و متابولیسم نیتروژن، میزان سنتز کلروفیل در گیاه اسفناج را افزایش دادند.

این یافته که تیمار شوری، محتوای نسبی آب برگ گیاه زنیان را کاهش داد (شکل ۳A) نشان می‌دهد که شوری، تنش اسمزی را بر گیاه تحمیل می‌کند که سبب کاهش جذب آب توسط سیستم ریشه و انتقال آن به برگ می‌شود. در پاسخ به کاهش محتوای نسبی آب برگ ناشی از تنش شوری، محتوای پرولین در برگ زنیان افزایش یافت که با یافته‌های Abdoli و همکاران (۲۰۲۰) درباره زنیان مطابقت داشت. پرولین یک اسمولیت سازگار است که حلالیت بالایی در آب دارد و در غلظت بالا، بدون اثر منفی بر روی ماکرومولکول‌ها، موجب حفظ پتانسیل اسمزی سلول و استمرار جذب آب تحت تنش شوری می‌شود. علاوه بر این تجمع پرولین تحت تنش شوری نقش مهمی در تنظیم ردوکس سلولی و خنثی‌کردن ROS ایفا می‌کند (Hayat *et al.*, 2012). احتمالاً افزایش تجمع پرولین در گیاهان زنیان تیمارشده با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تحت تنش شوری (شکل ۳B) مکانیسمی است که به غلبه بر تنش اسمزی ناشی از شوری کمک کرده است و عامل افزایش محتوای نسبی آب (شکل ۳A) در گیاهان زنیان تحت تنش شوری بوده است. بطور مشابهی اثر مثبت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر افزایش محتوای پرولین درگوجه‌فرنگی (Khan, 2016)، جو (Karami and Sepehri, 2018) و باقلا (Abdel Latef *et al.*, 2018) تحت تنش شوری نیز گزارش شده است.

افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید در برگ گیاه زنیان تحت تنش شوری (شکل ۴) نشان داد که شوری علاوه بر تنش اسمزی، تنش اکسیداتیو هم ایجاد کرده است. احتمالاً کاهش کلروفیل (شکل ۲A) تحت تنش شوری موجب انحراف الکترون از زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی شده و الکترون به اکسیژن منتقل شده و رادیکال‌های اکسیژنی (ROS) تولید شده است و واکنش ROS با لیپیدهای غیراشباع غشاهای سلولی منجر به پراکسیداسیون لیپیدی غشا و تولید محصولات تخریبی غشا، مانند مالون دی‌آلدئید شده است. بطور مشابهی گزارش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

شده است که شوری میزان کلروفیل و تمامیت و پایداری غشا را در یونجه تحت تنش شوری کاهش داد (عموآقایی و نیک‌اندیش، ۱۳۹۴). بر طبق نتایج این پژوهش، در پاسخ به تنش اکسیداتیو ناشی از شوری، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD و APX در گیاه زنیان افزایش یافت (شکل ۵). این نتایج با یافته‌های Razavizadeh و همکاران (۲۰۱۷) درباره زنیان مشابهت دارد. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش شوری در یونجه (Amooaghaie and Tabatabaei, 2017) و نخود (Khodabakhsh *et al*., 2014) نیز گزارش شده است. به هر حال با کاربرد غلظت مناسب نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، محتوای مالون دی‌آلدئید در هر دو سطح شوری کاهش یافت (شکل ۴). احتمالاً به‌دلیل آنکه محلول‌پاشی با غلظت مناسب نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر گیاه زنیان تحت تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی SOD و APX شد (شکل ۵) و پاکروبیROS به‌وسیله این آنزیم‌ها، میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را کاهش داد. Khan (۲۰۱۶) نیز گزارش کرد که تحت تنش شوری میزان تجمع ROS در گیاه گوجه‌فرنگی زیاد شد و با محلول‌پاشی غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD و APX افزایش یافت که درنتیجه تنش اکسیداتیو کاهش یافت و از آثار منفی شوری بر رشد گیاه گوجه‌فرنگی کاسته شد. نتایج مشابه در گیاه جو (Karami and Sepehri, 2018) و باقلا (Abdel Latef *et al*., 2018) تحت تنش شوری نیز گزارش شده است. پیشنهاد شده است که ماهیت ویژه نانوذرات بر سطح تولید پراکسید هیدروژن در سلول تأثیر می‌گذارد و پراکسید هیدروژن یک مولکول پیام‌رسان است که در غلظت کم بر سطح بیان ژن و فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اثر می‌گذارد (Tumburu *et al*., 2017).

بطور جالبی نتایج این مطالعه نشان داد که محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر بر گیاه زنیان تحت تنش شوری باعث افزایش چشمگیر میزان مالون دی‌آلدئید (شکل ۴)، پرولین (شکل ۳B) و تشدید فعالیت آنزیم SOD (شکل ۵A) اما کاهش فعالیت APX (شکل ۵B) شد. اما وزن تر و خشک گیاه (شکل ۱)، میزان کلروفیل برگ (شکل ۲A) و محتوای نسبی آب (شکل ۳A) در این غلظت نسبت به تیمار ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم کمتر بود و در اغلب موارد با شاهد هر گروه تفاوت معنی‌داری نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت ۸۰ میلی‌گرم، خود به‌عنوان یک تنش عمل کرده و موجب تشدید تنش اکسیداتیو در شرایط شوری شده است، بطوری‌که تجمع مالون دی‌آلدئید در این غلظت (شکل ۴) را افزایش داده است. علیرغم اینکه گیاه در معرض قرار گرفته با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر، تا حدی فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی را تشدید نموده و پرولین و فعالیت آنزیم SOD را افزایش داده است (شکل ۵A) اما نتوانسته تنش حاصل از شوری و غلظت زیاد نانوذرات را مهار کند و تشدید اثر اکسیداتیو به‌وسیله نانوذرات، حتی به خود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل APX نیز آسیب رسانیده است و از فعالیت این آنزیم کاسته است (شکل ۵B). به‌طور مشابهی Song و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند که تیمار با غلظت کم نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، میزان مالون دی‌آلدئید را کاهش و فعالیت CAT، SOD و APX را افزایش داد و رشد عدسک آبی را تقویت کرد. اما در غلظت بالای نانوذرات، پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را کاهش داد و باعث کاهش رشد گیاه عدسک آبی شد. نتایج مشابهی با کاربرد غلظت کم و زیاد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر روی دانه‌های پیاز گزارش شده است (Laware and Raskar, 2010). Ghosh و همکاران (۲۰۱۰) معتقدند که غلظت بالای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث آگلوتینه‌شدن نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌شود که جذب و نفوذ نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در گیاه را کاهش می‌دهند. به هر حال با توجه به اینکه در این پژوهش نانوذرات کاملاً سوسپانسه شدند و روی برگ محلول‌پاشی شدند، این احتمال ضعیف است و به‌نظر می‌رسد میزان زیاد فلز تیتانیوم رهاشده از نانوذرات، و یا اندازه و ماهیت فیزیکوشیمیایی ویژه خود

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

نانوذرات در غلظت زیاد، به گونه‌ای است که ممکن است موجب راه‌اندازی تنش اکسیداتیو در گیاه می‌شود. اثر منفی غلظت بالای نانوذرات نقره بر رشد سیاهدانه (Amooaghaie *et al.*, 2015) و بر افزایش محتوای کاروتنوئید و افزایش میزان مالون دی‌آلدئید و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در خردل سیاه (Amooaghaie *et al.*, 2018) نیز به‌وسیله سایر پژوهشگران قبلاً گزارش شده است. در گندم و گوجه‌فرنگی تحت غلظت بالای نانوذرات روی و اکسید روی ثابت شده است که هم میزان زیاد یون‌های Zn^{2+} رهاشده از نانوذرات و هم ماهیت و خواص ویژه خود نانوذرات از عواملی هستند که موجب کاهش رشد و محتوای کلروفیل و تجمع پرولین و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان واکنش‌های دفاعی این گیاهان می‌شوند (Amooaghaie *et al.*, 2017).

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که حتی شوری ملایم (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در مراحل اولیه رشد گیاهچه زنیان، موجب کمبود دسترسی به آب به گیاه و درنتیجه کاهش محتوای نسبی آب برگ و نیز کاهش وزن تر گیاهچه شد. علاوه بر این، تنش شوری موجب القای تنش اکسیداتیو در گیاه شد به‌طوری‌که میزان پراکسیداسیون لیپید غشای سلول را در گیاه افزایش داد و همین اثر منجر به برهم ریختن ساختار غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست نیز شده و درنتیجه کاهش میزان کلروفیل a و b در گیاه شد. در پاسخ به تنش اسمزی و اکسیداتیو ناشی از شوری تجمع پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، این مکانیسم‌های دفاعی را تقویت نمود. غلظت‌های مناسب آن (اغلب ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر)، باعث تشدید تجمع پرولین در گیاه و تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه شد و این اثر منجر به تعدیل تنش اکسیداتیو و درنتیجه بهبود محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاه و نهایتاً افزایش وزن تر و خشک گیاه شد. به هر حال غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، خود موجب نوعی تنش اکسیداتیو شد بطوری‌که میزان مالون دی‌آلدئید در این غلظت بیشتر بود و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل (APX)، در این غلظت افت کرد و محتوای کلروفیل و وزن تر و خشک گیاه نیز کاهش یافت. در کل بر مبنای اطلاعات این پژوهش می‌توان استفاده از غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم را برای افزایش تحمل تنش شوری در این گیاه توصیه کرد. هر چند که لازم است این پژوهش در شرایط مزرعه با سطوح بالاتر شوری و با ژنوتیپ‌های بیشتری از این گیاه نیز تکرار شود و از کاربرد غلظت‌های زیاد نانوذرات بر گیاهان باید پرهیز شود.

تقدیر و تشکر

بدی‌نوسیله از دانشگاه شهرکرد برای پشتیبانی مالی و در اختیار گذاشتن گلخانه و سایر تجهیزات برای اجرای عملیات آزمایشگاهی تقدیر می‌شود.

منابع

دوازده امامی، س. و مجنون حسینی، ن. (۱۳۷۸) زراعت و تولید برخی گیاهان دارویی و ادویه‌ای. انتشارات دانشگاه تهران.

حقیقی، م. و دانشمند، ی. (۱۳۹۲) مقایسه اثر تیتانیوم و نانو تیتانیوم بر رشد و تغییرات فتوسنتز گوجه‌فرنگی در سیستم هیدروپونیک. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای. ۱۳: ۷۹-۷۳.

رنجبر، غ. و پیرسته انوشه، ه. (۱۳۹۴) نگاهی به تحقیقات شوری در ایران با تأکید بر بهبود تولید گیاهان زراعی. مجله علوم زراعی ایران ۱۷: ۱۷۸-۱۶۵.

عموآقایی، ر. و نیک‌اندیش، ف. (۱۳۹۴) اثر تلقیح ریشه دو رقم یونجه با جدایه‌هایی از گونه‌های سینوریزوبیوم و باسیلوس بر رشد، مقدار کلروفیل و تمامیت غشای سلول در شرایط تنش شوری. مجله زیست‌شناسی ایران. مجله پژوهش‌های گیاهی ۲۸: ۱۵۲-۱۴۰.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

قربانی، ر.، موافقی، ع.، گنجعلی، ع. و نباتی، ج. (۱۴۰۰) تأثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر برخی ویژگی‌های موفولوژیکی نخود تحت شرایط تنش خشکی. تنش‌های محیطی در علوم زراعی. جلد ۱۴: ۹۸-۵۸.

میرزایی، س.، رحیمی، ا.، دشتی، ح. و مداح حسینی، ش. (۱۳۹۲) اثر اصلاحی کلسیم و پتاسیم بر محتوای پرولین، کلروفیل، پروتئین و رشد گیاه دارویی زنیان (*Carum copticum*) تحت شوری. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۹: ۲۶۰-۲۴۷.

Abdel Latef, A. A., Srialhvi vastava, A. K., AbdElsadek, M., Kordrostami, M. and Phan Tran, L. S. (2018) Titanium dioxide nanoparticles improve growth and enhance tolerance of broad bean plants under saline soil conditions. Land Degradation and Development 29: 1065-1073.

Abdoli, S., Ghassemi-Golezani, K. and Alizadeh-Salteh, S. (2020) Responses of ajowan (*Trachyspermum ammi* L.) to exogenous salicylic acid and iron oxide nanoparticles under salt stress. Environmental Science and Pollution Research 1-15.

Razavizadeh, R., Adabavazeh, F. and Rezaee Chermahini, M. (2017) Adaptive responses of *Carum copticum* to *in vitro* salt stress. International Journal of Agricultural and Biosystems 11: 37-42.

Amooaghaie, R., Saeri, M. R. and Azizi, M. (2015) Synthesis, characterization and biocompatibility of silver nanoparticles synthesized from *Nigella sativa* leaf extrac in comparison with chemical silver nanoparticles. Ecotoxicology and Environmental Safety 120: 400-480.

Amooaghaie, R. and Tabatabaei, F. (2017) Osmopriming-induced salt tolerance during seed germination of alfalfa most likely mediates through H_2O_2 signaling and upregulation of heme oxygenase. Protoplasma 254: 1791-1803.

Amooaghaie, R., Norouz, M. and Saeri, M. (2017) Impact of zinc and zinc oxide nanoparticles on the physiological and biochemical processes in tomato and wheat. Botany 95: 441-445.

Amooaghaie, R., Tabatabaei, F. and Ahadi, A. (2018) Alterations in *HO-1* expression, heme oxygenase activity and endogenous NO homeostasis modulate antioxidant responses of *Brassica nigra* against nano silver toxicity. Journal Plant Physiology 228: 75-84.

Bates, L. S., Waldran, R. P. and Teare, I. D. (1973) 3.Rapid determination of free proline for water studies. Plant and Soil 39: 205-208.

Chaudhary, I. J. and Sing, V. (2020) Titanium dioxide nanoparticles and its impact on growth, biomass and yield of agricultural crops under environmental stress: A review. Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology 10: 1-8.

Farooqui, A., Tabassum, H., Ahmad, A., Mabood, A., Ahmad, A. and Ahmad, I. Z. (2016) Role of nanoparticles in growth and development: A review. International Journal of Pharma and Bio Sciences 7: 22-37.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomemranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.

Ghosh, M., Bandyopadhyay, M. and Mukherjee, A. (2010) Genotoxicity of titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles at two trophic levels: Plant and human lymphocytes. Chemosphere 81: 1253-1262.

Ghorbannejad, H. and Amooaghaie, R. (2017) Differential changes of proline content and activities of antioxidant enzymes results in varied salttolerance in canola genotypes. Journal Genet Resour 3: 36-46.

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J. and Ahmad, A. (2012) Role of proline under changing environments: A review. Plant Signaling and Behavior 7: 1456-1466.

Havaux, M. (1998) Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. Trends Plantarum Science 3: 147-151.

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

Ines, S., Ghnaya, T., Savoure, A. and Abdelly, Ch. (2008) Combined effects of long-term salinity and soil drying on growth, water relations, nutrient status and proline accumulation of *Sesuvium portulacastrum*. Comptes Rentus Biologies 331: 442-451.

Karami, A. and Sepehri, A. (2018) Nano titanium dioxide and nitric oxide alleviate salt induced changes in seedling growth, physiological and photosynthesis attributes of barley. Zemdirbyste 105: 123-132.

Khan, N. (2016) Nano-titanium dioxide (Nano-TiO_2) mitigates NaCl stress by enhancing antioxidative enzymes and accumulation of compatible solutes in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Journal of Plantarum Science 11: 1-11.

Khodabakhsh, F., Amooaghaie, R. and Mostajeran, A. (2014) Effect of hydro and osmo-priming on membrane deterioration, proline accumulation and H_2O_2 scavenging enzymes in two salt stressed chickpea cultivars. Environmental Engineering and Management Journal (EEMJ) 13: 619-626.

Laware, S. L. and Rasker, Sh. (2014) Effect of titanium dioxide nanoparticles on hydrolytic and antioxidant enzyme during seed germination in onion. International Journal of current Microbiology and Applied Science 3: 749-760.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

Lara, M. V., Disante, K. B., Podesta, F. E., Andreo, C. and Drincovich, M. F. (2003) Induction of a crassulacean acid like metabolism in the C_4 Succulent plant, *Portulaca oleracea* L. physiological changes are accompanied by specific modifications in phosphoenolpyruvate carboxylase. Photosynthesis Research 77: 241-254.

Li, J., Shahbaz Naeem, M., Wang, X., Liu, L., Chen, Ch., Ma, N. and Zhang, Ch. (2015) Nano-TiO_2 is not phytotoxic as revealed by the oilseed rape growth and photosynthetic apparatus ultra-structural response. PloS One 10: e0143885.

Lyu, Sh., Wei, X., Chen, J., Wang, C., Wang, X. and Pan, D. (2017) Titanium as a beneficial element for crop production. Frontiers in Plant Science. 8: Article 597.

Mingyu, S., Hong, F., Liu, C., Wu, X., Liu, X. and Chen, L. (2007) Effects of nano-anatase TiO_2 on absorption, distribution of light and photo reduction activities of chloroplast membrane of spinach. Biological Trace Elemenet Research 118: 120-130.

Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate- specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, H. M., He, X., Mbarki, S. and Brestic, M. (2017) Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: A critical review. Frontiers in Chemistry 5: 78.

Saxena, R., Toma, R. S. and Kumar, M. (2016) Exploring nanobiotechnology to mitigate abiotic stress in crop plants. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 8: 974-980.

Shah, T., Latif, S., Saeed, F., Ali, I., Ullah, S., Abdullah Alsahli, A., Jan, S. and Ahmad, P. (2021) Seed priming with titanium dioxide nanoparticles enhances seed vigor, leaf water status, and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. Journal of King Saud University – Science 33: 101207.

Shi, H., Magaye, R., Castranova, V. and Zhao, J. (2013) Titanium dioxide nanoparticles: A review of current toxicological data. Particle and Fibre Toxicology 10: 15.

Song, G., Gao, F., Wu, H., Hou, W., Zhang, C. and Ma, H. (2012) Physiological effect of anatase TiO_2 nanoparticles on *Lemna minor*. Environmental Toxicology Chemistry 31: 2147.

Tumburu, L., Andersen, C. P., Rygiewicz, P. T. and Reichman, J. R. (2017) Molecular and physiological responses to titanium dioxide and cerium oxide nanoparticlesin Arabidopsis. Environmental Toxicology and Chemistry 36: 71-82.

Vafadar, F., Amooaghaie, R., Ehsanzadeh, P., Ghanati, F. and Sajed, R. (2020) Crosstalk between melatonin and Ca^{2+}/CaM evokes systemic salt tolerance in *Dracocephalum kotschyi*. Journal of Plant Physiology 252: 153237.

Yang, F. and Hong, S. (2006) Influence of nano anatase TiO_2 on the nitrogen metabolism of growing spinach. Biological Trace Elemenet Research 110: 179-190.

Yang, Y. and Guo, Y. (2018) Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses. New Phytologist 217: 523-539.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]

Impact of nano-TiO_2 on salt stress tolerance of *Carum copticum*

R. Amooaghaie*, M. majidi and S. Farhadian
Biology Department, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
(Received: 13/07/2021, Accepted: 18/12/2021)

Abstract

Soil and water salinity in semi-arid regions such as Iran have been important threats for plant growth and agriculture. It has been demonstrated that TiO_2 nanoparticles can improve plant growth and increase stress tolerance in plants. Therefore, in this study, a pot experiment was conducted as factorial with completely randomized design to evaluate the effect of 3 levels of salinity (0, 50, 100 mg/L NaCl) and 5 levels nano- TiO_2 (0, 10, 20, 40, 80 mg/L) on ajowan (*Carum copticum*). Results showed that with increasing salt concentration, fresh and dry weight of roots and shoots, content of chlorophyll *a*, *b* and relative water content (RWC) significantly reduced, but content of malon dialdehyde, carotenoids, proline content and the activities of SOD and APX increased in leaves. Foliar spray of nano- TiO_2 concentrations influenced all the above mentioned parameters in a dose-dependent manner. Foliar spray with suitable nano- TiO_2 concentrations (often 20 and 40 mg/L) improved plant growth, content of chlorophyll *a*, *b* and carotenoids, RWC, proline accumulation as well as the activities of SOD and APX whereas it reduced lipid peroxidation level. Impact of 80 mg/L nano- TiO_2 on growth parameters and photosynthetic pigments contents was less than 20 and 40 mg/L and significantly increased lipid peroxidation under both normal and salinity stress conditions. In conclusion, it can said that appropriate nano-TiO_2 concentrations protected ajowan against salt –induced osmotic- and oxidative stresses through increasing proline accumulation and enhancing the activities of antioxidant enzymes

Key words: Antioxidant enzymes; Proline; Salinity stress; Chlorophyll, Relative water content

Corresponding author, Email: rayhanehamooaghaie@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.2.3]