

پاسخ مکانسیم دفاعی آنتی اکسیدانی و تغییرات عملکردی گندم به تنش خشکی با کاربرد غلظت‌های مختلف نانو سیلیکون و نانو تیتانیوم

امین عباسی^{۱*}، رامین لطفی^۲، محسن جانمحمدی^۳

۱- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۲- موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مراغه، ایران

۳- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

چکیده

امروزه اهمیت ثبات تولید محصولات زراعی طی شرایط کم آبی به دلیل افزایش جمعیت جهان بیش از پیش حائز اهمیت می‌باشد. با توجه به احتمال تاثیر نانو تیتانیوم و نانو سیلیکون بر روی رشد و نمو گندم در شرایط تنش خشکی، پژوهش حاضر با بهره‌گیری از آزمایش اسپلینت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۳ در کشتزار پژوهشی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه انجام گرفت. سطوح مختلف آبیاری (آبیاری در ۹۰، ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب برای شرایط بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید) به عنوان کرت‌های اصلی و سطوح مختلف محلول پاشی نانو ذرات تیتانیوم و سیلیکون (شاهد، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد) نیز به عنوان کرت‌های فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل کاربرد نانو ذرات و بروز تنش خشکی بر روی پارامترهای وزن خشک، سطح برگ، کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کلروفیل کل، وزن هزار دانه، سوپر اکسید دیسموتاز، Cu/Zn-SOD، Mn-SOD، Fe-SOD، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدئید، پرولین در سطح احتمال یک درصد و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شدند. مقایسات میانگین صورت گرفته نشان داد که بیشترین میزان تاثیرگذاری نانو تیتانیوم و نانو سیلیکون بر روی سیستم آنتی اکسیدانی و مقادیر کلروفیل و پراکسید هیدروژن در تیمارهای ۵۰ و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی مربوط به سطوح محلول پاشی ۱/۵ و ۲ درصد این ماده‌ها می‌باشد. با توجه به اثرگذاری بیشتر عنصر تیتانیوم در مقایسه با سیلیکون بر روی میزان کلروفیل، سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد در شرایط تنش خشکی باعث گردید که غلظت ۲ درصد نانو تیتانیوم به عنوان نتیجه این پژوهش برای شرایط مشابه آزمایش معرفی گردد.

واژه‌های کلیدی: پراکسید هیدروژن، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، کلروفیل، کم آبی و گندم

مقدمه

تغییرات بیان ژنی (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2005) و انحراف مسیرهای اصلی انتقال الکترون (عباسی و عنایتی، ۱۳۹۳) مشاهده نمود. در بین موارد فوق امروزه اثبات گردیده است که انحراف مسیرهای اصلی انتقال الکترون سبب بروز تنش اکسیداتیو می‌گردد. در شرایط مطلوب و ایده‌آل الکترون‌های مورد نیاز برای احیای کامل اکسیژن به یکباره روی آن منتقل می‌شوند (Sairam *et al.*, 1998). اما در شرایط تنش انتقال الکترون‌ها بر روی اکسیژن، ممکن است به صورت تک تک انجام گیرد که سبب احیای ناقص اکسیژن و تولید انواع اکسیژن فعال گردد. این مواد جزو محصولات اجتناب ناپذیر متابولیسم بوده و حتی در شرایط مطلوب محیطی نیز بوجود می‌آیند. اما در اثر تنش‌های محیطی و زیستی میزان تولید آنها بطور چشمگیری افزایش می‌یابد. خوشبختانه سلول‌های گیاهی دارای مکانیسم دفاعی مناسب جهت مقابله با انواع اکسیژن فعال می‌باشند که از آنتی‌اکسیدان‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تشکیل شده است. امروزه نقش این سیستم‌ها در مقاومت به انواع تنش‌ها از جمله شوری (Asada, 2000)، خشکی، دماهای بالا و پایین به خوبی شناخته شده است (Sairam *et al.*, 1998). بروز تنش اکسیداتیو در شرایط نرمال به دلیل وجود تعادل میان تولید انواع اکسیژن فعال و فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدان اتفاق نمی‌افتد اما در شرایط تنش به دلیل افزایش میزان تولید انواع اکسیژن فعال بروز تنش اکسیداتیو دور از دسترس نیست (Ajay Arora *et al.*, 2002).

سازمان ملل متحد با انتشار گزارشی افزایش ۸۳ میلیون نفری جمعیت جهان را چالش بزرگ پیش‌روی بشر در سال ۲۰۳۰ دانست و اذعان داشت که با چنین شتابی جمعیت کره زمین تا سال ۲۰۵۰ به ۹ میلیارد و ۸۰۰ میلیون نفر خواهد رسید (FAO, 2017). با توجه به اینکه بیش از سه چهارم انرژی و در حدود نیمی از پروتئین مورد نیاز بشر از غلات تامین می‌شود (Rajaram, 2001) همواره باید به فکر افزایش تولید این محصولات بود تا نیازهای پیش‌روی جمعیت جهان را بتوان حل کرد اما در کنار افزایش جمعیت، عوامل دیگری نظیر تنش‌های زیستی و محیطی سبب کاهش قدرت تولید می‌گردند (Farooq *et al.*, 2012). کشور ایران با متوسط بارندگی ۲۴۰ میلی‌متر در سال جزو مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب می‌شود و بروز تنش خشکی در کشورمان محتمل‌تر از سایر تنش‌ها می‌باشد که کیفیت و کمیت عملکرد گندم و سایر گیاهان زراعی را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد (Rampino *et al.*, 2006). تنش خشکی تاثیرات چند جانبه‌ای بر روی گیاهان می‌گذارد (Yordanov *et al.*, 2000) که نمود آنها را در گیاهان می‌توان در کاهش تقسیم سلولی (Ji *et al.*, 2010)، حجم سلول (Luan, 2002)، رشد اندام‌های گیاه (Dulai *et al.*, 2006)، سطح برگ، فتوسنتز خالص (Parida and Das, 2005)، سنتز پروتئین (Chinnusamy *et al.*, 2004)، کلروفیل (Reddy *et al.*, 2004)، تغییر توازن هورمونی (Seki *et al.*, 2007)،

از کاربردها می‌باشد و اغلب از نظر فیزیولوژیکی برای انسان بی اثر در نظر گرفته می‌شود (Mital and Manoj, 2011). این عنصر همچنین قادر است جذب و انتقال برخی از عناصر همانند آهن و روی که کمبود آنها در کشور به مشکل جدی تبدیل شده است را تحریک و سهل نماید. نکته جالب توجه این که تیتانیوم به‌عنوان کاهش دهنده اثرات تنش شناخته می‌شود. دی اکسید تیتانیوم دارای سه شکل بلوری آنافاز، روتایل و بروکیت می‌باشد. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم که به‌عنوان یکی از نانو بلورهای نیمه‌هادی اکسید فلزی شناخته می‌شود، دارای اندازه ذرات بسیار کوچک بوده و از این رو دارای سطح تماس و کارایی بیشتر از روتایل و بروکیت می‌باشد (Sawhney and Condon, 2008). این نانو ذره امروزه در عرصه کاربرد، جایگاه ویژه‌ای در جهان بخصوص کشورهای صنعتی و توسعه یافته دارد و توجه بسیاری از دانشمندان را به خود جلب کرده است (Ahmad *et al.*, 2007). کاربرد فرم‌های معمول عناصر موجب ایجاد نگرانی در مورد اثرات بالقوه آنها روی محیط زیست شده است. نانو ذره اکسید تیتانیوم کلیه ویژگی‌های تیتانیوم را دارا بوده و همچنین به واسطه کوچکی اندازه ذرات، سطح تماس آن با مواد افزایش یافته و کارایی و اثربخشی بیشتری دارد (Karimi and Mirjalili, 2009) که دلیل افزایش روز افزون کاربرد این عنصر در کشورهای پیشرفته می‌باشد.

سیلیکون بعد از اکسیژن به‌عنوان دومین عنصر فراوان در خاک یافت می‌شود که به‌عنوان

از گیاهی به گیاه دیگر متفاوت می‌باشد که به صورت افزایش فعالیت سیستم‌های آنتی اکسیدان گزارش گردیده است (Costa *et al.*, 2005). آنزیم‌ها اساساً کاتالیزور واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاهان بوده و حساس‌ترین عوامل تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان تحت تنش‌های محیطی به‌شمار می‌آیند (Foyer and Shigeru, 2011). تنش‌های محیطی باعث انباشت انواع اکسیژن فعال مانند سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل در سلول و آسیب به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌گردند (Sharma *et al.*, 2012). سیستم آنتی اکسیدانی که در مقابل این تهدیدات در گیاهان عالی شکل گرفته است از چندین آنزیم ویژه تشکیل شده که شامل گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز می‌باشد، این سیستم دفاعی قادر است رادیکال‌های اکسیژن فعال را جمع آوری و اثرات سوء آنها را به حداقل ممکن کاهش دهند (Tan *et al.*, 2006) که نهایتاً به پایداری گیاهان در برابر تنش‌های محیطی و از جمله تنش خشکی می‌انجامد (Sharma *et al.*, 2012).

تقریباً ۹۵ درصد از تیتانیوم مورد استفاده به صورت دی اکسید تیتانیوم می‌باشد که ترکیبی نامحلول و از نظر دمایی پایدار ثابت و غیرقابل اشتعال می‌باشد. دی اکسید تیتانیوم به دلیل عملکرد نوری^۱ عالی و ویژگی‌های الکتریکی که دارد در بسیاری از عرصه‌ها دارای طیف وسیعی

1- photocatalytic performance

یک عنصر غیر ضروری در گیاهان شناخته می‌شود (Ma and Takahashi, 2002). این عنصر دارای کارکردهای بسیار مفیدی در گیاهان می‌باشد. به گونه‌ای که از افشانه کردن و کاربرد خاکی این عنصر به عنوان کاهش دهنده‌ی اثرات تنش‌های زیستی و غیر زنده از جمله تنش خشکی و بهبود رشد و نمو گیاه استفاده می‌گردد (Hattori *et al.*, 2005). در شرایط افشانه کردن، این عنصر در اثر رسوب‌گذاری در دیواره سلولی و تشکیل کمپلکس‌های آلی سبب پایداری دیواره سلول و حفظ انسجام غشاهای زیستی می‌گردد. سیلیکون علاوه بر القای کاهش میزان تعرق و ممانعت از انجام مسیرهای فرعی تعرق با رسوبی شدن در برگ‌ها می‌تواند در کاهش تعرق نقش اساسی ایفا نماید. این عنصر به دلیل تاثیر مستقیم بر تسهیل جذب و انتقال آب در آوندها سبب بهبود کارایی مصرف آب نیز می‌گردد (Yamaji and Ma, 2014). بروز تنش اکسیداتیو ناشی از کمبود رطوبت باعث وقوع واکنش‌های برگشت ناپذیری در سلول‌های گیاهی می‌گردد حال آنکه بنا به گزارش ما و همکاران (۲۰۱۴)، کیم و همکاران (۲۰۱۴)، گونش و همکاران (۲۰۰۸) و شکاری و همکاران (۲۰۱۷) کاربرد عنصر سیلیکون می‌تواند سنتز آنزیم‌های آنتی اکسیدان را افزایش و اثرات منفی حاصل از تنش خشکی را به شدت کاهش دهد. همچنین افزایش ساخت و تجمع برخی از آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی همانند گلوکاتایون و اسید آسکوربیک در حضور سیلیکون سبب تعادل سیستم دفاعی گیاه می‌گردد (Hattori *et al.*, 2007).

وقوع تنش خشکی در کشتزارهای گندم عملکرد کمی و کیفی این محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بدیهی است که کاهش اثرات تنش خشکی می‌تواند نقش موثری در بهبود وضعیت حاضر داشته باشند. در پژوهش کنونی تلاش گردیده تا اثر افشانه کردن نانو تیتانیوم و نانو سیلیکون در راستای افزایش تحمل گیاه گندم به تنش خشکی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین، اثرات تیمارهای یاد شده بر تغییرات سیستم‌های دفاعی، محتوای کلروفیل، سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور تعیین اثر کاربرد نانو تیتانیوم و نانو سیلیکون بر مقادیر آنزیم‌های آنتی اکسیدان، میزان مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن، سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد در شرایط تنش خشکی در سال ۱۳۹۳ در کشتزار پژوهشی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه اجرا گردید. برای انتخاب کشتزار مناسب، نخست نمونه‌های خاک از عمق ۰ تا ۲۵ سانتی‌متری کشتزارهای مختلف تهیه و غلظت برخی از عناصر غذایی و سایر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک اندازه‌گیری شدند (جدول ۱). تغذیه‌ی کودی کشتزار به دو شکل کود پایه و کود سرک صورت گرفت. کود پایه شامل ۱۸ کیلوگرم فسفر خالص (از منبع کود فسفات آمونیوم) و ۹۶ کیلوگرم نیتروژن خالص (از منبع کود اوره و

درصد نانو تیتانیوم، افشانه کردن ۲ درصد نانو تیتانیوم، افشانه کردن ۰/۵ درصد نانو سیلیکون، افشانه کردن ۱ درصد نانو سیلیکون، افشانه کردن ۱/۵ درصد نانو سیلیکون، افشانه کردن ۲ درصد نانو سیلیکون) به عنوان فاکتورهای مورد مطالعه در نظر گرفته شدند. برای اعمال تنش خشکی تمامی تیمارها تا مرحله ۴-۶ برگگی به صورت کامل آبیاری شدند سپس زمان‌های آبیاری مزرعه با اندازه‌گیری رطوبت خاک به روش وزنی از طریق نمونه‌گیری خاک در یک نوبت در وسط هر روز از عمق توسعه ریشه در تیمارهای مختلف و رسیدن به رطوبت مورد نظر تعیین گردید (Martin et al., 1990).

کود فسفات آمونیوم)، در هنگام دیسک زدن در سطح خاک پخش شد. این پژوهش با بهره‌گیری از آزمایش اسپلینت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. در آزمایش کنونی، دو فاکتور شامل سطوح مختلف آبیاری (آبیاری در ۹۰ درصد ظرفیت زراعی به عنوان شرایط عدم تنش، آبیاری در ۷۵ درصد ظرفیت زراعی به عنوان تنش متوسط و آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به عنوان تنش شدید) و کاربردهای نانو ذرات (عدم کاربرد نانوذرات، افشانه کردن ۰/۵ درصد نانو تیتانیوم، افشانه کردن ۱ درصد نانو تیتانیوم، افشانه کردن ۱/۵

جدول ۱- نتایج تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده پیش از کاشت

مقادیر	ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در خاک مورد آزمایش	مقادیر	ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در خاک مورد آزمایش
۰/۰۶	نیتروژن کل (درصد)	لومی شنی	بافت خاک
۳/۸۱	فسفر قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم - روش اولسون)	۷/۵۱	اسیدیته گل اشباع
۳۶۴	پتاسیم قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم - استات آمونیوم)	۰/۴۶	قابلیت هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)
۰/۳۸	روی قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم - DTPA)	۹/۶۱	کربنات کلسیم معادل (درصد)
۱/۵۶	منگنز قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم - DTPA)	۰/۳۲	کربن آلی (درصد)
۳/۲۶	آهن قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم - DTPA)	۴۶	رطوبت اشباع (درصد)

رطوبت ظرفیت زراعی خاک بر حسب متر مکعب محاسبه شد (Rostamza et al., 2011) و به مقدار مشخص به هر کرت اضافه گشت.

به منظور یکسان بودن آب در دسترس گیاهان، میزان آب آبیاری برای هر کرت با در نظر گرفتن عمق توسعه ریشه (۵۰ سانتی‌متر) مساحت کرت و

فرمول (۱)

$$In = \frac{(Fci - \Theta i) \times D \times A}{100}$$

In: حجم آب مصرفی، Fci: رطوبت خاک در شرایط ظرفیت زراعی، Θi : مقدار رطوبت خاک در شرایط نمونه برداری، D: عمق مناسب نفوذ ریشه، A: سطح کرت مورد استفاده

انتهای کرت‌ها برای جلوگیری از خروج آب به طور کامل بسته شدند. برای جلوگیری از تاثیر بارندگی‌ها بر روی کشتزار آزمایشی و اثرات آنها بر تیمارهای خشکی، پوشش‌های پلاستیکی با توجه به پیش‌بینی‌های هواشناسی در روزهایی با احتمال بارش بر روی کشتزار در نظر گرفته شد. همچنین جهت یکنواختی شرایط محیطی در بین سطوح مختلف آبیاری، پوشش‌ها بی‌درنگ پس از سپری شدن روزهای بارانی برداشته می‌شد. کاشت به صورت ردیفی در کرت‌های آزمایشی به مساحت ۴ مترمربع (۲×۲) با فاصله ردیف‌های ۲۰ سانتی‌متر انجام شد. به منظور برآورد وزن خشک اندام هوایی، به دنبال برداشت در مرحله پنج الی هفت برگی، این اندام‌ها بی‌درنگ توزین شده و سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در آون قرار گرفت. اندازه‌گیری سطح برگ برای همه تیمارها در مرحله پنج الی هفت برگی انجام گرفت. برای این منظور در مساحت ۱/۵ متر مربع کرت‌ها پنج بوته تصادفی برداشت شد و پس از جدا کردن برگ‌ها از ساقه‌ها سطح برگ اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری دقیق وزن هزاردانه، سه نمونه ۱۰۰۰ تایی از بذور هر کرت پس از برداشت به طور

جداگانه شمارش و با ترازوی حساس توزین گردید. میانگین اعداد حاصل به‌عنوان وزن هزار دانه‌ی تیمار مورد نظر در هر تکرار منظور شد. مقادیر کلروفیل a، b و کاروتنوئید کل بر اساس معادلات ولبورن (۱۹۹۴) و کلروفیل کل طبق معادله آرنون (۱۹۴۹) محاسبه گردید. به این منظور نمونه‌های برگ‌ی به مدت چهار ساعت در دمای ۶۵ درجه‌سانتی‌گراد در ۴ میلی‌لیتر از دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) غوطه‌ور گردید (Sairam et al., 2003). سپس میزان جذب آنها در طول موج‌های ۶۶۵، ۶۴۹ و ۴۸۰ نانومتر ثبت شد. همچنین برای اندازه‌گیری سایر پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی از برگ‌های جوان و کاملاً بالغ نمونه‌ی برگ‌ی تهیه و بلافاصله در نیتروژن مایع غوطه‌ور شد. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جهت استخراج آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گایاکول پراکسیداز (GPX)، ۰/۵ گرم از نمونه برگ‌ی با استفاده از هاون چینی کاملاً سرد و نیتروژن مایع هموژن شده و در $15000 \times g$ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند (Sairam et al., 1998). به منظور اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و آیزوزیم‌های آن از روش مورد اشاره توسط سایروم و همکاران (۲۰۰۲) استفاده گردید. بر اساس این روش کمپلکس واکنشی شامل کربنات سدیم، متیونین، EDTA، بافر فسفات پتاسیم، آب مقطر و آنزیم استخراجی بود. واکنش با اضافه

میزان مالون دی آلدئید بر اساس روش استوارت و بولی (Stewart and Bewley, 1980) اندازه گیری شد. نمونه های هموژن شده ی برگگی به مدت ۱۰ دقیقه در $15000 \times g$ سانتریفوژ گردید. محلول حاصل با تری کلرواستیک اسید و تیوباریتوریک اسید مخلوط شده و کمپلکس حاصل پس از انتقال به حمام آب سرد مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه در $10000 \times g$ سانتریفوژ شدند. جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (UV-2100-vis) ثبت گردید. میزان مالون دی آلدئید از اختلاف بین موج های جذبی و ضریب خاموشی $155 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ بدست آمد.

به منظور تخمین میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) نمونه های هضم شده به همراه تری کلرواستیک اسید در دور 12000 g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس کمپلکس واکنش حاوی سوپرناتانت، بافر فسفات و یدید پتاسیم تهیه شده و میزان جذب آنها در طول موج ۳۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (UV-vis-2100) قرائت شد (Chen *et al.*, 2000).

پیش از تجزیه ی واریانس، نرمال بودن توزیع داده ها و خطاها و افزایشی بودن اثر بلوک در تیمار بررسی گردید. مقایسه ی میانگین صفات مورد بررسی توسط آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح احتمال یک درصد صورت گرفت. برای انجام تجزیه ی داده ها و رسم نمودارها نرم افزارهای SPSS17، GenStat 12 و Excel به کار رفت.

کردن ریپوفلاوین آغاز و پس از توقف واکنش میزان جذب نمونه ها در ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (UV-2100-vis) قرائت شد (Sairam *et al.*, 1998).

فعالیت کاتالاز آنزیم طبق روش ابی (Aebi, 1984) اندازه گیری شد. کمپلکس واکنشی شامل بافر فسفات پتاسیم، پراکسید هیدروژن، آب دوبار تقطیر و محلول آنزیمی می باشد. جذب کمپلکس واکنشی در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت و با استفاده از ضریب خاموشی $36/6 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ میزان فعالیت آنزیم محاسبه شد.

برای اندازه گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز کمپلکس واکنشی شامل بافر فسفات، آسکوربات، EDTA، آب دو بار تقطیر، پراکسید هیدروژن و محلول آنزیمی استخراج شده بود. جذب کمپلکس واکنشی در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (UV-vis-2100) قرائت شد و با استفاده از ضریب خاموشی $2/8 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ میزان فعالیت آنزیم محاسبه شد (Sairam *et al.*, 1998).

برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز کمپلکس واکنشی شامل بافر فسفات، EDTA، گایاکول، پراکسید هیدروژن و محلول آنزیمی استخراج شده می باشد. افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (UV-vis-2100) به مدت یک دقیقه ثبت شد و با استفاده از ضریب خاموشی $26/6 \text{ } \mu\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ بدست آمد (Yoshimura *et al.*, 2000).

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل کاربرد نانو ذرات و بروز تنش خشکی بر روی وزن خشک، سطح برگ، کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کلرفیل کل، وزن هزار دانه، میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، آیزوزیم‌های Cu/Zn-SOD، Mn-SOD، Fe-SOD، مقدار پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید، پرولین در سطح احتمال یک درصد و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شدند. همچنین اثر ساده‌ی تیمار کاربرد نانو تیتانیوم بر روی عملکرد در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

طی پژوهش حاضر اثر متقابل کاربرد نانو سیلیکون و نانو تیتانیوم و بروز تنش خشکی بر روی وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین مقدار وزن خشک مربوط به تیمار نانو سیلیکون ۲ درصد در شرایط آبیاری مطلوب و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار عدم کاربرد نانو ذرات در شرایط آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بود. کاربرد نانو تیتانیوم و نانو سیلیکون در شرایط آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب ۲۵/۷ و ۱۵/۶۱ درصد میزان وزن خشک اندام هوایی را نسبت به تیمار عدم کاربرد نانو ذرات در این شرایط افزایش داد (جدول ۳). وزن خشک گیاه که متأثر از رشد گیاه و انجام فرایند فتوسنتز می‌باشد مسلماً با کاهش فتوسنتز در شرایط تنش

کاهش خواهد یافت. در این میان، رشد اندام هوایی نسبت به رشد ریشه به تنش خشکی حساس‌تر می‌باشد (Xu et al., 2015) به گونه‌ای که ممکن است حتی قبل از گسترش کمبود پتانسیل آب به بخش‌های هوایی گیاه، رشد آن متوقف گردد (Basu et al., 2016). با توجه به اینکه گیاهان در شرایط تنش خشکی از طریق افزایش مواد قندی و اسیدهای آمینه اقدام به تنظیم اسمزی می‌کنند لذا در شرایط تنش خشکی ماده خشک موجود در گیاه صرف تنظیم اسمزی گردیده و ذخیره‌ی ماده خشک در اندام‌های گیاهان دارای محدودیت خواهد بود (Kumar et al., 2006). کاهش وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش توسط لی و همکاران (۲۰۰۷)، کومار و همکاران (۲۰۰۶) گزارش گردیده است. بهبود وضعیت گیاهان و افزایش وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش خشکی با کاربرد سیلیکون و تیتانیوم توسط پژوهشگران متعددی گزارش گردیده است (Shekari et al., 2017; Li et al., 2007; Janislampi, 2012; Chen et al., 2012; Kiapour et al., 2015).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که پارامتر سطح برگ تحت تأثیر معنی‌دار سطوح تنش و کاربرد نانو ذرات قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین میزان سطح برگ در تیمار کاربرد ۱/۵ و ۲ درصد نانو تیتانیوم در شرایط آبیاری ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین مقدار آن در تیمار عدم کاربرد نانو ذرات در شرایط آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی ثبت گردید. کاربرد نانو سیلیکون و نانو تیتانیوم در شرایط آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت

زراعی به ترتیب ۲۶/۳۵ و ۳۰/۳ درصد میزان سطح برگ را بهبود بخشید. این تیمارها در شرایط آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب سبب افزایش ۲۰/۷۵ و ۲۷/۲۲ درصدی سطح برگ گردید (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه‌ی واریانس صفات تحت تأثیر کاربرد نانو ذرات و تنش خشکی در گندم

میانگین مربعات										
Mn-SOD	Cu/Zn-SOD	SOD	کلروفیل کل	کارتونوئید	کلروفیل b	کلروفیل a	سطح برگ	وزن خشک	درجه آزادی	منابع تغییرات
۰/۶۴۲ ^{NS}	۰/۳۴۷ ^{NS}	۴۰/۱۳ ^{**}	۱۵۶۶/۳ ^{NS}	۶۶۵/۳ ^{NS}	۴۶۵/۹ ^{**}	۱۷۸/۳۷ ^{NS}	۱۰/۸۱ ^{NS}	۱۰/۸۶ ^{**}	۲	تکرار
۱۶/۲۱ ^{**}	۰/۷۴۶ ^{NS}	۳۹۵/۶۱ ^{**}	۶۰۱۶۴۵ ^{**}	۴۳۳۸۹/۲ ^{**}	۲۸۸۱۸/۷ ^{**}	۲۱۲۹۵۵/۴ ^{**}	۱۸۶۹/۲۱ ^{**}	۱۳۰/۳ ^{**}	۲	تنش
۰/۵۹۱	۰/۷۲۶	۹/۳۷	۹۱۵/۲	۸۹/۸	۴۸/۵	۴۹۵/۵	۴/۹۸	۳/۱۴	۴	اشتباه اصلی
۱/۷۶۵ ^{**}	۰/۷۱۹ ^{**}	۳۵/۹۴ ^{**}	۷۳۳۹۲/۲ ^{**}	۱۵۷۸۰/۹ ^{**}	۳۳۱۲/۷ ^{**}	۱۰۵۸۷ ^{**}	۸۴/۵ ^{**}	۱۷/۹۷ ^{**}	۸	نانوذرات
۱/۱۷۴ ^{**}	۰/۳۱۶ ^{**}	۶/۲۸ ^{**}	۳۵۳۸/۶ ^{**}	۸۲۳/۲ ^{**}	۱۴۴/۶۸ ^{**}	۱۱۹۳/۹ ^{**}	۲۰/۱۹ ^{**}	۲/۸۲ ^{**}	۱۶	نانوذرات*تنش
۰/۲۳	۰/۰۸۵	۱/۷۶	۳۰۳/۴	۱۰۲/۲	۲۲/۲۳	۶۵/۳۱	۱/۱۵	۰/۸۱	۴۸	اشتباه
۱۵/۳	۲۳/۶	۱۱/۹	۳/۷	۶	۴/۸	۳/۶	۵/۷	۹	-	ضریب تغییرات

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

ادامه جدول ۲- تجزیه‌ی واریانس صفات تحت تأثیر کاربرد نانو ذرات و تنش خشکی در گندم

میانگین مربعات											
عملکرد	وزن هزار دانه	تعداد سنبله	پرولین	مالون دی آلدئید	پراکسید هیدروژن	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	Fe-SOD	درجه آزادی	منابع تغییرات
۰/۰۰۴ ^{NS}	۱/۹۲۵ ^{NS}	۷۵۴/۱۶ ^{**}	۱۵/۹۳ ^{**}	۸۱/۹۱ ^{**}	۰/۲۸۳ ^{**}	۰/۰۳۰۸ ^{NS}	۰/۰۲۲ ^{NS}	۰/۱۸۷ ^{NS}	۶۷/۵ [*]	۲	۱
۶/۶۴ ^{**}	۷۴۸/۵ ^{**}	۳۹۳۷/۱ [*]	۳۷۹/۷ ^{**}	۶۴۷/۳ ^{**}	۲۰/۲۷ ^{**}	۳/۷۳ ^{**}	۴/۲۸۸ ^{**}	۱/۰۳۲ [*]	۳۰۶/۰۵ ^{**}	۲	تنش
۰/۰۴۳	۲/۷۴	۸۷/۶۸	۱۷/۰۶	۱۱۰/۳۵۲	۰/۱۴۲	۰/۰۲۷	۰/۰۸۵	۰/۱۵۴	۳/۱۷	۴	اشتباه اصلی
۰/۱۱۸۳ ^{**}	۱۷/۱۱ ^{**}	۱۲۸/۱۶ ^{NS}	۲۳/۵۴ ^{**}	۵۶/۳۵ ^{**}	۱/۹۰۸ ^{**}	۲/۷۵۳ ^{**}	۱/۷۳۷ ^{**}	۰/۶۲۱ ^{**}	۱۳/۰۶ ^{**}	۸	نانوذرات
۰/۰۱۷۶ ^{NS}	۳/۰۳ ^{**}	۸۸/۲۵ ^{NS}	۹/۹۹ ^{**}	۲۵/۳۴ ^{**}	۰/۱۲۴ ^{**}	۰/۴۹۴ ^{**}	۰/۴۲۱ ^{**}	۰/۰۹۷ [*]	۳/۹۵ ^{**}	۱۶	نانوذرات*تنش
۰/۰۱۱۲	۰/۷۱	۴۸/۰۸	۰/۶۱۹	۴/۱۶	۰/۰۳۹	۰/۰۱۲۲	۰/۰۲۳۶	۰/۰۵۲۹	۰/۹۷۵	۴۸	اشتباه
۴/۱	۲/۶	۳/۸	۴/۱	۱۰/۴	۷/۹	۷/۱	۱۰/۸	۲۶/۶	۱۴/۴	-	ضریب تغییرات

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

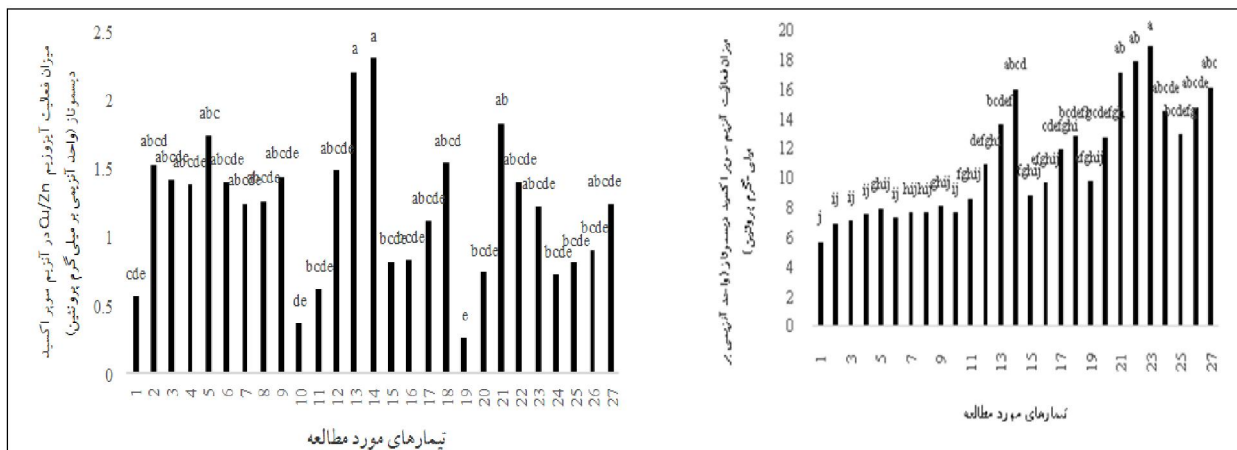
شاخص سطح برگ می‌باشد که همبستگی بالایی با عملکرد بیولوژیکی و اقتصادی دارد. این همبستگی در پژوهش حاضر نیز ثبت گردید به گونه‌ای که بالاترین میزان وزن خشک اندام هوایی و بیشترین سطح برگ در تیمار کاربرد ۲ درصد نانو تیتانیوم در شرایط آبیاری ۹۰ درصد

وقوع تنش کم آبی سبب کاهش فشار تورژسانس و افت محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها می‌گردد که برآیند آن را می‌توان در کاهش سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی مشاهده نمود. طبق گزارش‌های کیم و همکاران (۲۰۱۷) حساس‌ترین صفت مورفولوژیکی به تنش آبی

فعال و افزایش پراکسیداسیون این رنگریزه‌ها باشد (Schutz and Fangmeir, 2001). افزایش میزان کلروفیل در شرایط تنش به واسطه کاربرد نانو تیتانیوم توسط لیو و همکاران (۲۰۱۷) گزارش گردیده است.

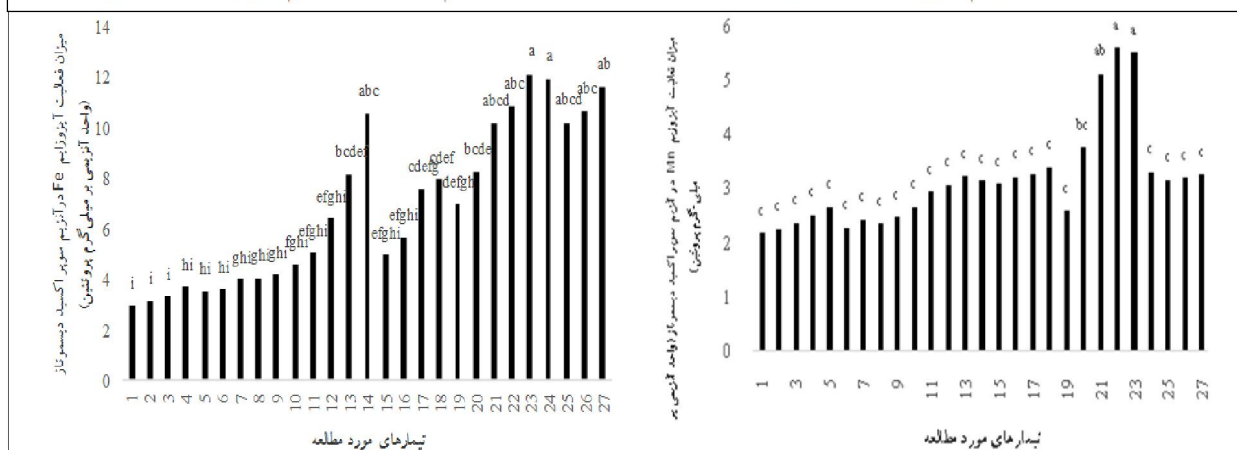
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کل در برگ تحت تأثیر معنی‌دار سطوح تنش و کاربرد نانوذرات قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین فعالیت این آنزیم (۱۸/۸ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به افشانه کردن نانوتیتانیوم ۲ درصد در شرایط اعمال تنش ۵۰ درصد آب در دسترس بود و کمترین مقدار فعالیت آن (۵/۶۷ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به تیمار عدم کاربرد نانو ذرات در شرایط بدون تنش بود (جدول ۴). با کاربرد نانوتیتانیوم ۲ درصد فعالیت این آنزیم در تیمارهای کمبود آب ۷۵ و ۵۰ درصد آب در دسترس به مقدار ۵۰/۵۳ و ۵۸ درصد افزایش یافت (جدول ۳). در بین آیزوزیم‌های این آنزیم Fe-SOD بیشترین فعالیت را ثبت نمود. به نظر می‌رسد تغییرات حاصل از کاربرد نانو تیتانیوم در شرایط تنش خشکی ۵۰ درصد آب در دسترس بر روی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در اثر تغییرات آیزوزیم Fe-SOD باشد. بیشترین فعالیت این آیزوزیم در تیمار افشانه کردن نانوتیتانیوم ۲ درصد در شرایط اعمال تنش ۵۰ درصد آب در دسترس ثبت گردید (شکل ۴).

ظرفیت زراعی و پایین‌ترین میزان آن در تیمار عدم کاربرد نانو ذرات در شرایط آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده گردید. نتایج انتظار بر این است که در راستای اظهارات پژوهش‌کیم و همکاران (۲۰۱۷) بالاترین مقدار عملکرد اقتصادی نیز در تیمار کاربرد ۲ درصد نانو تیتانیوم مشاهده گردد (شکل ۱۰). تنش کم آبی بر بخش نوری فتوسنتز بیشترین تأثیر را دارد. بروز تنش اکسیداتیو ناشی از کمبود رطوبت در کلروپلاست‌ها باعث تولید انواع اکسیژن فعال می‌گردد. رادیکال‌های ایجاد شده بسیار زیان‌بار بوده و اثرات نامطلوبی را بر پروتئین‌ها و مراکز واکنش فتوسیستم II می‌گذارد (Jin et al., 2003) به گونه‌ای که با افزایش مقدار و زمان قرارگیری گیاهان در شرایط تنش خشکی سبب افزایش روند تخریب رنگریزه‌های کلروفیل می‌گردد (Jiang and Huang, 2001). در پی اندازه‌گیری کلروفیل، بیشترین میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید در این پژوهش در تیمار کاربرد ۲ درصد نانو تیتانیوم در شرایط آبیاری ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین مقدار آن در تیمارهای عدم کاربرد نانو ذرات و کاربرد ۰/۵ درصد نانو سیلیکون در شرایط آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده گردید (جدول ۳). میزان کلروفیل در گیاهان زراعی به‌عنوان یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی شناخته می‌شود. به نظر می‌رسد که کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی به علت افزایش تولید انواع اکسیژن



شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف نانو ذرات و سطوح آبیاری بر میزان فعالیت آیزوزیم سوپر اکسید دیسموتاز Cu/Zn در آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز واحد آنزیم بر میلی گرم پروتئین

شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف نانو ذرات و سطوح آبیاری بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز



شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف نانو ذرات و سطوح آبیاری بر میزان فعالیت آیزوزیم Fe در آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف نانو ذرات و سطوح آبیاری بر میزان فعالیت آیزوزیم Mn در آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

۴= نانو تیتانیوم ۱/۵+ آبیاری ۹۰	۲= نانو تیتانیوم ۱+ آبیاری ۹۰	۲= نانو تیتانیوم ۰/۵+ آبیاری ۹۰	۱= عدم کاربرد نانو ذرات+ آبیاری ۹۰
۸= نانو سیلیکون ۱/۵+ آبیاری ۹۰	۷= نانو سیلیکون ۱+ آبیاری ۹۰	۶= نانو سیلیکون ۰/۵+ آبیاری ۹۰	۵= نانو تیتانیوم ۲+ آبیاری ۹۰
۱۲= نانو تیتانیوم ۱+ آبیاری ۷۵	۱۱= نانو تیتانیوم ۰/۵+ آبیاری ۷۵	۱۰= عدم کاربرد نانو ذرات+ آبیاری ۷۵	۹= نانو سیلیکون ۲+ آبیاری ۹۰
۱۶= نانو سیلیکون ۱+ آبیاری ۷۵	۱۵= نانو سیلیکون ۰/۵+ آبیاری ۷۵	۱۴= نانو تیتانیوم ۲+ آبیاری ۷۵	۱۳= نانو تیتانیوم ۱/۵+ آبیاری ۷۵
۲۰= نانو تیتانیوم ۰/۵+ آبیاری ۵۰	۱۹= عدم کاربرد نانو ذرات+ آبیاری ۵۰	۱۸= نانو سیلیکون ۲+ آبیاری ۷۵	۱۷= نانو سیلیکون ۱/۵+ آبیاری ۷۵
۲۴= نانو سیلیکون ۰/۵+ آبیاری ۵۰	۲۳= نانو تیتانیوم ۲+ آبیاری ۵۰	۲۲= نانو تیتانیوم ۱/۵+ آبیاری ۵۰	۲۱= نانو تیتانیوم ۱+ آبیاری ۵۰
	۲۷= نانو سیلیکون ۲+ آبیاری ۵۰	۲۶= نانو سیلیکون ۱/۵+ آبیاری ۵۰	۲۵= نانو سیلیکون ۱+ آبیاری ۵۰

نانو تیتانیوم ۱/۵ درصد در همین شرایط تفاوت معنی داری نشان نداشت (شکل ۳). آنزیم یاد شده یکی از آنزیم های کلیدی سیستم دفاعی سلول های گیاهی می باشد که در راستای

بیشترین میزان فعالیت آیزوزیم Mn-SOD نیز در تیمار افشانه کردن نانو تیتانیوم ۲ درصد در شرایط اعمال تنش ۵۰ درصد آب در دسترس مشاهده گردید که با تیمار افشانه کردن

درصد آب در دسترس و همچنین کاربرد نانوتیتانیوم ۲ درصد و پایین‌ترین مقدار (۰/۰۵۹) واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین) در تیمار عدم کاربرد نانو ذرات و تنش ۵۰ درصد آب در دسترس ثبت گردید (جدول ۳). آنزیم کاتالاز یکی دیگر از مهمترین آنزیم‌های دفاعی است که نقش بسیار مهمی در تبدیل پراکسید هیدروژن به آب بازی می‌کند و عملاً اثرات سوء ناشی از تجمع پراکسید هیدروژن را کاهش می‌دهد. در نتیجه، بالا بودن فعالیت آنزیم کاتالاز میزان پراکسید هیدروژن درون سلول را کاهش می‌دهد که پیامد آن کاهش خسارت به غشاها و انجام متعادل فعالیت‌های سلولی از قبیل فتوسنتز می‌باشد. معاونی و همکاران (۲۰۱۱) افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در تیمار ۰/۰۳ درصد افشانه کردن نانوتیتانیوم گزارش کردند طبق اظهار نظر آنها میزان پراکسید هیدروژن در این تیمارها به شدت کاهش یافت که عامل اصلی حفظ تعادل سلولی می‌باشد، یادآور می‌گردد که برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین به شدت به تجمع پراکسید هیدروژن حساس می‌باشند.

آسکوربات پراکسیداز یکی از مهمترین آنزیم‌های دفاعی است که نقش بسیار مهمی را در جمع‌آوری و احیای کامل پراکسید هیدروژن دارد. با فعالیت این آنزیم پراکسید هیدروژن به آب تبدیل می‌شود (Blokhina and Fagerstedt, 2010). نتایج تجزیه واریانس داده های این پژوهش نشان داد که میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر تیمار تنش کم آبی و کاربرد نانو ذرات قرار گرفت.

رویاری با اکسیداسیون مواد بیولوژیک سلولی نقش بسزایی را بازی می‌کند که با فعالیت آن رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود (Alscher et al., 2002). با کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مقدار رادیکال سوپراکسید در سلول افزایش می‌یابد که برآیند آن آسیب به ساختار سلول‌های گیاهی و بروز اختلالات متابولیکی، و نهایتاً مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی می‌باشد (Breusegem et al., 2001). از طرفی با تجمع این رادیکال در سلول امکان انجام واکنش هابر-ویز و تولید خطرناکترین شکل رادیکال یعنی هیدروکسیل وجود دارد. این رادیکال توان اکسید کردن تمامی ماکرو مولکول‌ها را دارد. بنا به گزارش بایساک و همکاران (۱۹۹۴) فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در طی کمبود آب افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. شارما و همکاران (۲۰۱۲) در گیاه جو گزارش کردند با افزایش سطوح تنش خشکی میزان فعالیت این آنزیم در پاسخ به وقوع تنش افزایش می‌یابد. گزارش کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در شرایط تنش خشکی نیز توسط یانگ و همکاران (۲۰۰۶) ثبت گردیده است. این تناقض نشان از متفاوت بودن فعالیت این آنزیم در شرایط تنش‌های مختلف با تیمارهای متنوع می‌باشد.

اثرات متقابل کاربرد نانو ذرات و تنش خشکی در فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بالاترین مقدار فعالیت این آنزیم (۱/۱۴) واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین) در شرایط تنش خشکی ۵۰

جدول ۳- مقایسات میانگین مربوط به صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مالون دی‌آلدئید تحت تأثیر کاربرد نانوذرات و اعمال تنش خشکی

تنش خشکی	تیمار	وزن خشک (گرم)	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	کلرفیل a (میلی مول بر گرم وزن تر)	کلرفیل b (میلی مول بر گرم وزن تر)	کارتوئید (میلی مول بر گرم وزن تر)	کلرفیل کل (میلی مول بر گرم وزن تر)	وزن هزار دانه (گرم)	کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین)	پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
آبیاری در ۹۰ درصد	عدم کاربرد نانو ذرات	8.873 efghij	20.35 ef	247.7 gh	84.33 hij	162 ghijk	464.3 ghi	36 bcd	0.1503 cde	29.85 hi
	نانو تیتانیوم ۰/۵	9.423 efghij	24.48 cd	276.3 efg	114.33 ef	206 def	547.3 e	38 ab	0.0754 de	29.99 hi
	نانو تیتانیوم ۱	11.403 bcdef	30.02 b	346.3 bc	131.33 cd	231 bcd	649.7 c	38 ab	0.1643 bcde	29.31 hi
	نانو تیتانیوم ۱/۵	11.683 bcde	35.52 a	379.3 ab	151 ab	255 b	764 b	38.67 ab	0.1613 bcde	29.15 hi
	نانو تیتانیوم ۲	13.623 abc	38.08 a	410 a	165 a	334.7 a	874 a	39.33 a	0.2453 bcde	28.88 i
	نانو سیلیکون ۰/۵	11.237 bcdef	22.78 de	283.3 ef	119.33 cde	158.7 ghijk	527.7 ef	36 bcd	0.1217 cde	30.32 ghi
	نانو سیلیکون ۱	13.27 abcd	23.89 de	294.3 de	129.67 cde	173.3 fgghi	576 de	36 bcd	0.1377 cde	29.83 hi
آبیاری در ۷۵ درصد	نانو سیلیکون ۱/۵	14.537 ab	28.36 bc	319.3 cd	135.67 bc	183.3 efg	620.7 cd	36.33 abc	0.6377 abcde	29.7 hi
	نانو سیلیکون ۲	15.487 a	30.78 b	361.3 b	135.33 bc	206 def	676.3 c	38.67 ab	0.7393 abcde	29.5 hi
	عدم کاربرد نانو ذرات	7.843 ghij	14.78 ghijkl	157.7 klmno	64.67 klm	119 lmn	340 mn	28.33 ghi	0.0773 de	29.89 hi
	نانو تیتانیوم ۰/۵	8.27 fghij	16.33 fghij	183.7 jkl	88 ghij	147.7 hijkl	409 ijkl	31 fg	0.3193 abcde	32.25 fghi
	نانو تیتانیوم ۱	9.343 efghij	16.86 fghi	200.3 ij	99.33 fgh	191 efg	483.3 fgh	33 def	0.6483 abcde	33.43 defghi
	نانو تیتانیوم ۱/۵	10.523 cdefgh	17.61 fgh	233.3 hi	118.33 de	207.7 cde	521.3 efg	33.67 cdef	0.889 abcd	36.5 abcdef
	نانو تیتانیوم ۲	11.697 bcde	20.31 ef	254 fgh	127.33 cde	241.3 bc	584 de	34.33 cde	0.9823 ab	38.41 abc
آبیاری در ۵۰ درصد	نانو سیلیکون ۰/۵	9.323 efghij	14.26 hijkl	154.3 lmno	76.67 jk	112.3 mn	349.7 lmn	32.67 ef	0.344 abcde	32.3 fghi
	نانو سیلیکون ۱	10.243 defghi	15.22 ghijkl	173 jklmn	93.33 ghi	137.7 jklm	385.3 jklm	32.67 ef	0.4733 abcde	33.59 defgh
	نانو سیلیکون ۱/۵	10.993 cdefg	16.16 ghijk	180.7 jklm	101.33 fg	139.7 ijklm	430 hij	34.67 cde	0.5943 abcde	35.44 cdef
	نانو سیلیکون ۲	12.17 abcde	18.65 fg	188 jk	122 cde	172 ghi	466.7 fghi	33.33 cdef	0.7813 abcde	36.77 abcdef
	عدم کاربرد نانو ذرات	6.817 j	9.75 n	136 o	44.67 n	96 n	271 op	25 j	0.059 e	32.74 efghi
	نانو تیتانیوم ۰/۵	7.053 ij	12.25 klmn	146.3 no	49.33 mn	120.3 lmn	303 nop	27 hij	0.296 bcde	36.12 bcdef
	نانو تیتانیوم ۱	7.617 hij	12.49 jklmn	157 klmno	63.33 klm	140.7 ijklm	353 lmn	27 hij	0.6553 abcde	37.87 abcd
آبیاری در ۲۵ درصد	نانو تیتانیوم ۱/۵	8.973 fghij	13.85 hijklm	173.7 jklmn	71.67 jkl	165.7 ghij	421.3 hijk	28 ghij	0.906 abc	40.59 ab
	نانو تیتانیوم ۲	9.177 efghij	13.99 hijkl	196 j	93.67 ghi	180 efgh	452 hi	29.33 gh	1.1453 a	40.94 a
	نانو سیلیکون ۰/۵	7.083 ij	9.94 mn	139.7 o	53.67 mn	95.3 n	255 p	25 j	0.376 abcde	34.65 cdefg
	نانو سیلیکون ۱	7.453 hij	11.66 lmn	146.3 no	57.67 lmn	121.7 lmn	302 nop	25.67 ij	0.4997 abcde	35.54 cdef
	نانو سیلیکون ۱/۵	7.75 ghij	11.76 lmn	150 mno	65.67 klm	130.3 klm	333 mno	27.33 hij	0.8663 abcde	36.99 abcde
	نانو سیلیکون ۲	8.077 fghij	13.24 ijklmn	155 klmno	78.67 ijk	145 ijklm	364.3 klmn	28 ghij	0.947 abc	37.86 abcd

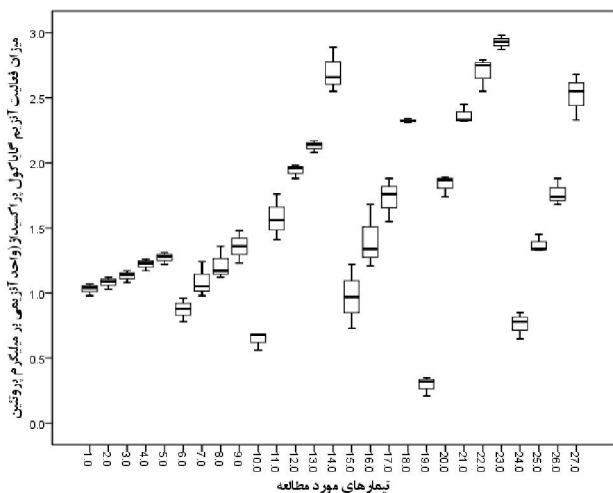
پراکسید هیدروژن، گایاکول را اکسید و ترکیبی به نام تتراگایاکوکوئینون تولید می‌کند (Erofeeva, 2015). عابدی و همکاران (2010) افزایش این آنزیم را در شرایط تنش خشکی گزارش نموده و از آن به عنوان عامل اصلی کاهش اثرات سو پراکسید هیدروژن بخصوص در شرایط عدم کارکرد کاتالاز نام بردند. همچنین ما و همکاران (۲۰۱۶) کاهش فعالیت این آنزیم را در آغازین مراحل تنش خشکی گزارش کردند. نتایج تجزیه واریانس داده‌های این پژوهش نشان داد که میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر (در سطح احتمال یک درصد) کاربرد نانو ذرات در شرایط تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۲). بر اساس مقایسات میانگین صورت گرفته بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار کاربرد نانوتیتانیوم ۲ درصد در شرایط تنش خشکی ۵۰ درصد آب در دسترس و کمترین مقدار آن در تیمار عدم کاربرد نانو ذرات و تنش ۵۰ درصد آب در دسترس مشاهده گردید (شکل ۶). بنا به اظهارات کوچه و همکاران (۲۰۱۷) افشانه کردن تیتانیوم تأثیر مثبتی بر روی فعالیت این آنزیم داشته است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان پراکسید هیدروژن تحت تأثیر معنی-دار تنش کم آبی و کاربرد نانو ذرات در سطح احتمال یک درصد واقع شد (جدول ۲). با افزایش تنش خشکی میزان انباشت پراکسید هیدروژن از ۲/۰۰۲ به ۴/۵۶ افزایش پیدا کرد، همچنین، با کاربرد نانوتیتانیوم و نانو سیلیکون میزان پراکسید هیدروژن نسبت به تیمار عدم کاربرد نانو ذرات ۲۳/۵۸ و ۲۴/۱۶ درصد کاهش معنی‌داری یافت.

بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۲/۸۳) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین) با کاربرد ۲ درصد نانوسیلیکون در شرایط ۵۰ درصد آب در دسترس و کمترین مقدار (۰/۵۲) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین) آن در تیمار عدم کاربرد نانو ذرات و تنش ۵۰ درصد آب در دسترس مشاهده شد (شکل ۵). با توجه به بیشتر بودن فعالیت این آنزیم در تیمارهای کاربرد ۱/۵ درصد نانوتیتانیوم، انتظار بر این هست که مقدار پراکسید هیدروژن سلولی کاهش می‌یابد. عباسی و همکاران (۲۰۱۰) کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در گیاه گندم گزارش کرده‌اند. آنها اذعان نمودند که این کاهش سبب افزایش میزان خسارت‌زایی انواع اکسیژن فعال می‌شود که دلیل آن را افزایش پراکسید هیدروژن در این پژوهش ذکر کردند. لازم بذکر است که در مقادیر بالای پراکسید هیدروژن فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین نظیر ریبولوز ۵-فسفات کیناز و بی فسفاتازها و آیزوزیم آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز متوقف می‌شود. عباسی و همکاران (۲۰۱۰) در پژوهشی دیگر عدم افزایش معنی‌دار این آنزیم در گیاه خلر را عامل اصلی حساسیت این گیاه به تنش شوری معرفی کردند. همچنین طبق اظهار نظر حیدری و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه سورگوم افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش خشکی متوسط، عامل اصلی مقاومت گیاه به تنش و کاهش اثرات سوء تنش گردید.

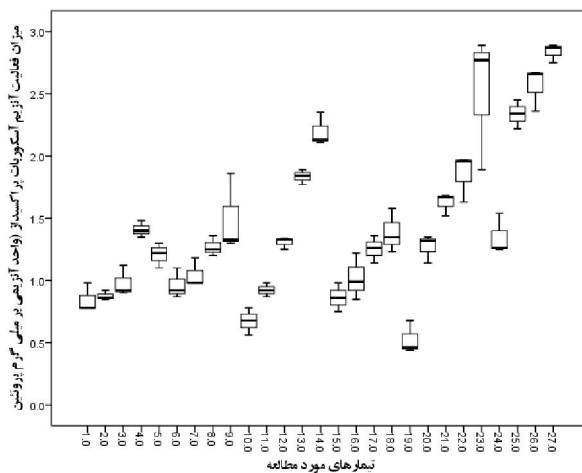
گایاکول پراکسیداز یکی از مهمترین آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌باشد که در واکنش با

۷. آریانو و همکاران (۲۰۰۵) کاهش مستقیم پراکسید هیدروژن را در اثر افزایش فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و اکسیداز را گزارش کردند که با نتایج به دست آمده از این پژوهش در یک راستا می باشد.

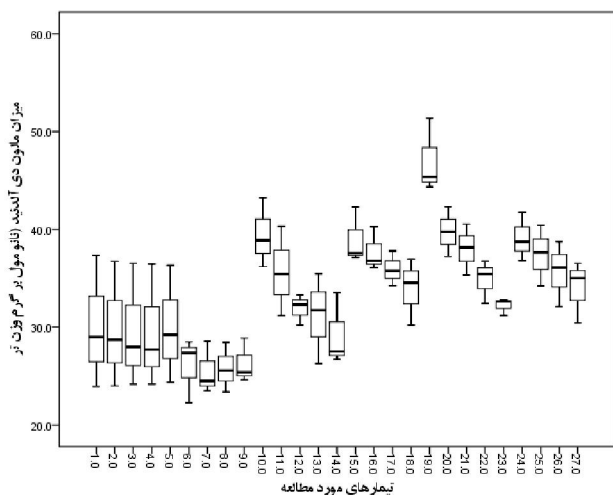
میزان انباشت پراکسید هیدروژن در شرایط ۹۰ درصد آب در دسترس برابر ۱/۸۷ بود که این مقدار در شرایط تنش ۷۰ درصد به مقدار ۳/۵۷ و در شرایط تنش ۵۰ درصد آب در دسترس به مقدار ۴/۵۶ میلی مول بر گرم وزن تر افزایش یافت (شکل



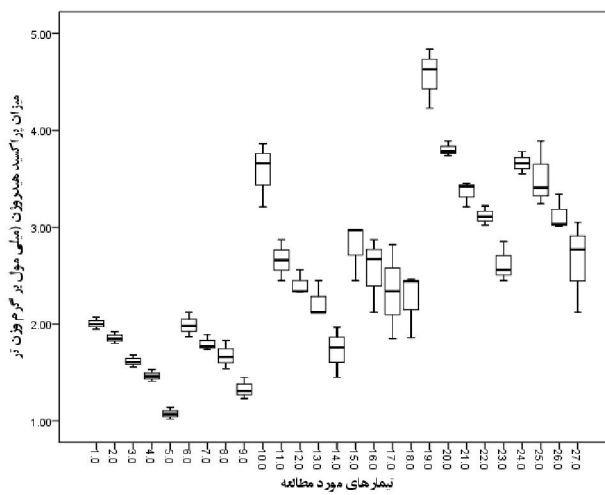
شکل ۶- اثر تیمارهای مختلف نانو ذرات و سطوح آبیاری بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز



شکل ۵- اثر تیمارهای مختلف نانو ذرات و سطوح آبیاری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز



شکل ۸- اثر تیمارهای مختلف نانو ذرات و سطوح آبیاری بر میزان مالون دی آلدئید



شکل ۷- اثر تیمارهای مختلف نانو ذرات و سطوح آبیاری بر میزان پراکسید هیدروژن

- ۴= نانو تیتانیوم ۱/۵+ آبیاری ۹۰
- ۷= نانو سیلیکون ۱+ آبیاری ۹۰
- ۱۱= نانو تیتانیوم ۰/۵+ آبیاری ۷۵
- ۱۵= نانو سیلیکون ۰/۵+ آبیاری ۷۵
- ۱۹= عدم کاربرد نانو ذرات+ آبیاری ۵۰
- ۲۳= نانو تیتانیوم ۲+ آبیاری ۵۰
- ۲۷= نانو سیلیکون ۲+ آبیاری ۵۰
- ۸= نانو سیلیکون ۱/۵+ آبیاری ۹۰
- ۱۲= نانو تیتانیوم ۱+ آبیاری ۷۵
- ۱۶= نانو سیلیکون ۱+ آبیاری ۷۵
- ۲۰= نانو تیتانیوم ۱/۵+ آبیاری ۵۰
- ۲۴= نانو سیلیکون ۰/۵+ آبیاری ۵۰

- ۱= عدم کاربرد نانو ذرات+ آبیاری ۹۰
- ۵= نانو تیتانیوم ۲+ آبیاری ۹۰
- ۹= نانو سیلیکون ۲+ آبیاری ۹۰
- ۱۳= نانو تیتانیوم ۱/۵+ آبیاری ۷۵
- ۱۷= نانو سیلیکون ۱/۵+ آبیاری ۷۵
- ۲۱= نانو تیتانیوم ۱+ آبیاری ۵۰
- ۲۵= نانو سیلیکون ۱+ آبیاری ۵۰
- ۲= نانو تیتانیوم ۰/۵+ آبیاری ۹۰
- ۶= نانو سیلیکون ۰/۵+ آبیاری ۹۰
- ۱۰= عدم کاربرد نانو ذرات+ آبیاری ۷۵
- ۱۴= نانو تیتانیوم ۲+ آبیاری ۷۵
- ۱۸= نانو سیلیکون ۲+ آبیاری ۷۵
- ۲۲= نانو تیتانیوم ۱/۵+ آبیاری ۵۰
- ۲۶= نانو سیلیکون ۱/۵+ آبیاری ۵۰

طبق نتایج ارائه شده در قسمت‌های پیشین می‌توان نتیجه گرفت که در تیمارهایی که میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در بالاترین مقدار خود بودند میزان پراکسید هیدروژن در این تیمارها در کمترین مقدار خود قرار داشتند که نشان از افزایش مقاومت گیاهان در شرایط کاربرد نانوتیتانیوم می‌باشد. طبق اظهارات اقدم و همکاران (۲۰۱۶) افشانه کردن نانو تیتانیوم توانست میزان پراکسید هیدروژن را در شرایط تنش خشکی در گیاه کتان کاهش دهد.

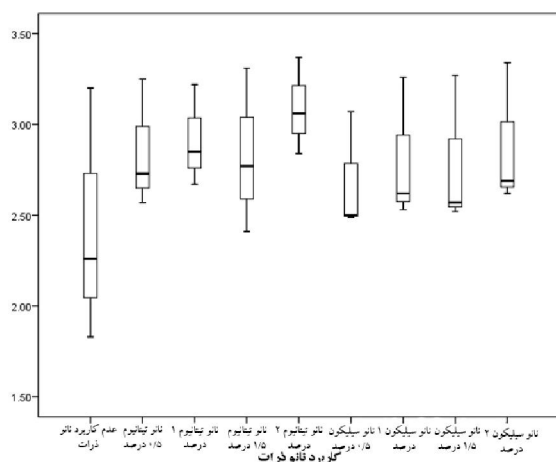
مالون‌دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسید-اسیون لیپیدهای غیر اشباع سلول می‌باشد که از آن جهت مطالعه اثرات تنش‌های محیطی روی پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به غشاها استفاده می‌شود (Mishra et al., 2006). همانطور که پیش‌تر نیز ذکر گردید یکی از دلایل مهم آسیب در گیاهان در معرض تنش ایجاد تنش اکسیداتیو است که در اثر تولید انواع اکسیژن فعال در کلروپلاست و میتوکندری می‌باشد که با آسیب های اکسیداتیو بر چربی‌ها، پروتئین‌ها و سایر ماکرومولکول‌های زیستی نهایتاً کارایی سلول را تحت تاثیر قرار می‌دهند در این میان، آسیب به غشاها یکی از رایجترین اثرات مخربی می‌باشد که توسط انواع اکسیژن فعال در سلول‌های گیاهی انجام می‌گردد به عبارت دیگر بین میزان مالون دی‌آلدئید و شدت تنش خشکی رابطه مستقیمی وجود دارد (Sofa et al., 2004). افزایش این ماده در پی تولید دی‌آسیل گلیسرول، تری‌آسیل گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد نشان

از سازوکارهای تخریب حاصل از کمبود آب بر تجزیه لیپیدهای غشا می‌باشد. نتایج تجزیه‌ی واریانس داده‌های این پژوهش نشان داد که اثر متقابل سطوح تنش خشکی و کاربرد نانو ذرات برای میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گشت (جدول ۲). با افزایش کمبود آب میزان انباشت مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت، به طوری که بیشترین میزان این ماده در تیمار عدم کاربرد نانو ذرات در آبیاری ۵۰ درصد آب در دسترس مشاهده شد. با کاربرد نانوتیتانیوم در شرایط آبیاری ۵۰ درصد آب در دسترس میزان انباشت مالون‌دی‌آلدئید کاهش معنی‌داری پیدا کرد به گونه‌ای که مقدار این ماده در تیمار عدم کاربرد نانوتیتانیوم در شرایط ۵۰ درصد آب در دسترس در حدود ۴۷/۰۳ نانو مول بر گرم وزن تر بود. درحالی که کاربرد نانوتیتانیوم در همان شرایط موجب کاهش ۱۴/۸۱ واحدی این ماده گردید (شکل ۸). به عبارتی کاربرد نانو سیلیکون مقدار انباشت مالون‌دی‌آلدئید را در تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد آب در دسترس به ترتیب، ۳۷/۷۸ و ۹/۱۸ درصد نسبت به تیمار عدم کاربرد این ماده در همین مراحل کاهش داد. همچنین، کاربرد نانو سیلیکون مقدار انباشت مالون‌دی‌آلدئید را در تیمارهای کمبود آب شامل ۷۵ و ۵۰ درصد آب در دسترس به ترتیب؛ به مقدار ۲۵/۸۱ و ۱۴/۰۴ درصد نسبت به تیمار عدم کاربرد این ماده در همین مراحل کاهش داد.

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که اثر متقابل کاربرد نانو ذرات در شرایط تنش خشکی تاثیر معنی‌داری (سطح

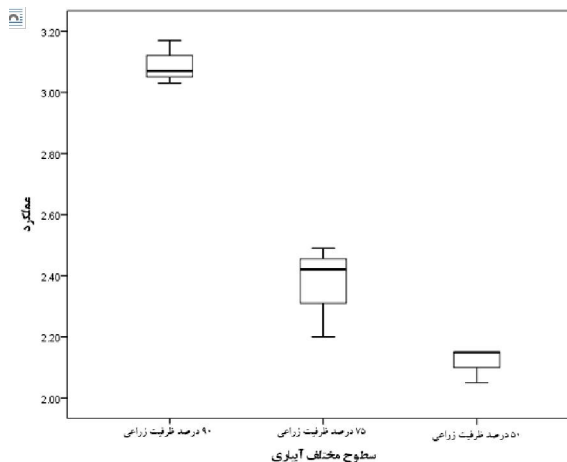
در رابطه با عملکرد اثر ساده‌ی تیمارهای کاربرد نانو ذرات و سطوح تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). تنش خشکی بر تمامی قسمت‌های گیاهان زراعی به صورت یکسان تاثیر نمی‌گذارد. به ترتیب برگ‌ها، ساقه و ریشه‌ی گیاهان زراعی بیشترین تاثیر را از کم آبی می‌گیرند. در همین راستا کاهش نسبت شاخساره به ریشه در گزارش‌های متعددی ذکر گردیده است (Kime et al., 2017). کاهش فتوسنتز از یک طرف و کاهش انتقال مواد پرورده سبب کاهش عملکرد می‌گردد. در همین راستا، طبق اظهارات مالونه و همکاران (۲۰۰۲) همبستگی بالایی بین سطح برگ و عملکرد وجود دارد. در طی این پژوهش نیز با افزایش مقدار تنش خشکی عملکرد از ۳/۰۹۸ به ۲/۱۱۹ تن در هکتار کاهش یافت (شکل ۹).

احتمال یک درصد) بر روی وزن هزار دانه داشت (جدول ۲). بیشترین وزن هزار دانه در تیمار کاربرد نانو تیتانیوم ۲ درصد در شرایط آبیاری ۹۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده گردید. کمترین مقدار این پارامتر نیز در تیمار عدم کاربرد نانو ذرات و نانو سیلیکون ۰/۵ درصد در شرایط آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی ثبت گردید (جدول ۳). کاهش وزن هزار دانه در شرایط تنش خشکی توسط امام و همکاران (۲۰۰۱) نیز گزارش شده است. طبق اظهار نظر این پژوهشگران کاهش فتوسنتز و افت میزان تولید شیره پرورده سبب تولید دانه‌های چروکیده با وزن کم می‌گردد. از طرفی با توجه به کاهش طول دوره رشد محصولات زراعی در شرایط تنش خشکی امکان پر شدن دانه کاهش یافته و وزن هزار دانه به شدت از کم آبی متاثر می‌گردد (Emam et al., 2001).



شکل ۱۰- اثر تیمارهای مختلف کاربرد نانو ذرات بر عملکرد اقتصادی

پایین‌ترین مقدار آن در تیمار عدم کاربرد نانو ذرات مشاهده گردید. بر اساس نتایج حاصل از



شکل ۹- اثر سطوح مختلف آبیاری بر عملکرد اقتصادی

در رابطه با تیمار کاربرد نانو ذرات بیشترین مقدار عملکرد در تیمار ۲ درصد نانو تیتانیوم و

بخش‌های پیشین بیشترین مقدار پارامترهای وزن خشک، سطح برگ، کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کلرفیل کل، وزن هزار دانه، سوپر اکسید دیسموتاز، Cu/Zn-SOD، Mn-SOD، Fe-SOD، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، کاتالاز، پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید، پرولین در تیمار کاربرد نانو تیتانیوم ۲ درصد ثبت گردید. طبق نتایج حاصل از پژوهش فیاضی و همکاران (۲۰۱۲) تیتانیوم به عنوان یک عنصر سودمند تاثیر معنی‌داری بر روی تحریک رشد و افزایش قدرت محصول‌دهی گیاهان زراعی دارد. در آزمایشی که توسط سلطانی و همکاران (۲۰۱۳) بر روی گیاه عدس انجام شد نانو تیتانیوم با تاثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان توانست سبب بهبود برخی از اجزا مرتبط با عملکرد دانه و نهایتاً افزایش عملکرد اقتصادی این گیاه گردد. نانو ذرات در تحریک رشد رویشی و تسهیل در جذب عناصر میکرو به ریشه گیاهان نقش دارند، بدین ترتیب منجر به افزایش رشد و عملکرد گیاهان زراعی در شرایط عدم وقوع تنش می‌گردد. از طرفی این عنصر با کنترل بیماری‌های گیاهی و تقویت سیستم ایمنی گیاهان زراعی نیز موجب افزایش عملکرد در شرایط عدم بروز تنش می‌گردد (Bowen et al., 1992).

نتیجه‌گیری

وقوع تنش خشکی به شدت سیستم‌های دفاعی گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد با دوام

شرایط تنش و بهم خوردن تعادل تولید انواع اکسیژن فعال و سیستم‌های دفاعی سلول، نهایتاً سلول‌های گیاهی از این شرایط متضرر گردیده و مرگ برنامه‌ریزی شده را در دستور کار خود قرار می‌دهند. در چنین شرایطی با پیدا کردن راهکارهایی که به کاهش اثرات سو انواع اکسیژن فعال مضر بیانجامد می‌توان مقاومت گیاهان را به وقوع تنش خشکی افزایش داد. کاربرد نانو ذرات تیتانیوم و سیلیکون یکی از راهکارهای قابل ارائه می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر کاربرد غلظت‌های ۱/۵ و ۲ درصد نانو تیتانیوم می‌تواند تاثیرات مثبتی را بر فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، آیزوزیم Cu/Zn در آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، آیزوزیم Mn در آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، آیزوزیم Fe در آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز بگذارد. برآیند این تغییرات را می‌توان در کاهش پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در این تیمارها دانست که نهایتاً به افزایش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، سطح برگ و ماده خشک گیاهان منتهی می‌گردد. در پژوهش حاضر، کاربرد ۲ درصد نانو تیتانیوم به‌طور نسبی از تاثیر بیشتری نسبت به دیگر غلظت‌های مورد مطالعه در ایجاد تعادل و حفظ پایداری سلولی برخوردار بود که برای کاربرد در دیمزارهای کشور پیشنهاد می‌گردد.

منابع

- امام یحیی، رنجبر فلامحسین. ۱۳۷۹. تاثیر تراکم بوته و تنش خشکی در مرحله رشد رویشی بر عملکرد، اجزای عملکرد و کارایی استفاده از آب در ذرت دانه ای. ۲(۳): ۵۱-۶۷.
- عباسی امین، اسفندیاری عزت اله، عنایتی واقف، حمزه‌ای جواد. ۱۳۸۹. ارتباط بین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و آیزوزیم‌های آن با پر اکسیداسیون لیپیدی. یازدهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران - دانشگاه شهید بهشتی.
- عباسی امین، اسفندیاری عزت اله، عنایتی واقف. ۱۳۸۹. کاهش فعالیت چرخه مهلر و ارتباط آن با حساسیت به تنش شوری در گیاه خلر یازدهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران - دانشگاه شهید بهشتی.
- عباسی امین، عنایتی واقف. ۱۳۹۳. تاثیر فقدان منیزیم در کاهش کارایی سازوکارهای دفاعی سلول و بروز تنش اکسیداتیو. زراعت دیم ایران. ۲(۲): ۴۱-۵۱.
- Abedi T, Pakniyat, H. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rap (*Brassica napus* L.). Czech J. Genet. Plant Breed. 46(1): 27-34.
- Aebi H. 1984. Catalase in vitro Methods Enzymol, 105: 121-126.
- Aghdam MTB, Mohammadi H, Ghorbanpour M. 2016. Effects of nanoparticulate anatase titanium dioxide on physiological and biochemical performance of *Linum usitatissimum* (Linaceae) under well-watered and drought stress conditions. Brazilian Journal of Botany, 39(1), 139-146.
- Ahmad A, Awan GH, Aziz S. 2007. Synthesis and applications of TiO₂ nanoparticles. Pakistan Engineering Congress. 676:405-407.
- Ajay Arora R, Sairam K, Srivastava GC. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current science, vol. 82, No. 10.
- Alscher RG, Erturk N, Heath LS. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany. 53: 1331-1341.
- Ariano S, Bartolomeo D, Cristos X, Andras M. 2005. Antioxidant defenses in Olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. Functional Plant Biology. 32: 45-53.
- Asada K. 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. Phill. Trans. R. Soc. Lond. B, 355:1419-1431.
- Baisak R, Rana D, Acharya RBB, Kar M. 1994. Alternations in the activities of active oxygen scavenging of wheat leaves of *Oryza sativa* during drought. Journal of Experimental of Botany, 48: 2075-2085.
- Basu S, Ramegowda V, Kumar A, Pereira A. 2016. Plant adaptation to drought stress. F1000 Research, 5.
- Blokhina OK, Fagerstedt V. 2010. Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation. Plant Physiology and Biochemistry 48(5), 359-373.

- Bowen P, Menzies J, Ehert D, Samuel L, Glass ADM. 1992. Soluble silicon sprays inhibit powdery development in grape leaves, *Journal of American Society of Horticultural Science*. 117, 906-912.
- Breusegem FV, Vranova E, Dat JF, Inze D. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science*, 161:405-414.
- Chen Li-Men, Lin CC, Kao CH. 2000. Copper toxicity in rice seedlings: changes in antioxidative enzyme activities, H₂O₂ level, and cell wall peroxidase activity in roots. *Botanical Bulletin- Academia Sinica*. 41: 99-103.
- Chen W, Cai K, Chen J. 2012. Effects of silicon application and drought stress on photosynthetic traits and mineral nutrient absorption of rice leaves. *Shengtai Xuebao/Acta Ecologica Sinica*, 32(8), 2620-2628.
- Chinnusamy V, Schumaker K, Zhu JK. 2004. Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *Journal of Experimental Botany* 55(395): 225-236.
- Costa PHAD, Neto ADDA, Bezerra MA, Prisco JT. 2005. Antioxidant- enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. *Brazilian Journal of Plant Physiology*., 17(4):353-361.
- Dulai S, Molnár I, Prónay J, Csernak A, Tarnai R, Molnár-Láng M. 2006. Effects of drought on photosynthetic parameters and heat stability of PSII in wheat and in *Aegilops* species originating from dry habitats. *Acta Biologica Szegediensis* 50(1-2): 11-17.
- Erofeeva EA. 2015. Dependence of guaiacol peroxidase activity and lipid peroxidation rate in drooping birch (*Betula pendula* Roth) and Tillet (*Tilia cordata* Mill) leaf on motor traffic pollution intensity. *Dose-Response*, 13(2), 1559325815588510.
- Fao. 2017. [www.fao.org/ fileadmin/ templates/wfs /.../How to Feed the World in 2050.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/wfs/.../How to Feed the World in 2050.pdf).
- Farooq M, Hussain M, Wahid A, Siddique KHM. 2012. Drought stress in plants: an overview. In *Plant responses to drought stress* (pp. 1-33). Springer Berlin Heidelberg.
- Feizi H, Moghaddam PR, Shahtahmassebi N, Fotovat A. 2012. *Biological Trace Element Research*. 146, 101-106.
- Foyer Christine H, Shigeru Shigeoka. 2011. Understanding Oxidative Stress and Antioxidant Functions to Enhance Photosynthesis. *Plant Physiology*, January 2011, Vol. 155, pp. 93–100.
- Gunes A, Pilbeam DJ, Inal A, Coban S. 2008. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, I: growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 39, 1885–1903.
- Hattori T, Inanaga S, Araki H, An P, Morita S, Luxová M, & Lux A. 2005. Application of silicon enhanced drought tolerance in sorghum *bicolor* *physiologia plantarum*, *Physiologia Plantarum*. 123(4), 459-466.
- Hattori T, Sonobe K, Inanaga S, An P, Tsuji W, Araki H, Morita S. 2007. Short term stomatal responses to light intensity changes and osmotic stress in sorghum seedlings raised with and without silicon. *Environmental and experimental botany*, 60(2), 177-182.

- Heidary Y, Moaveni P. 2009. Study of Drought stress on accumulation and proline among aba in different genotypes forage corn. Research Journal of Biological Sciences. 4:1121-1124.
- Janislampi KW. 2012. Effect of silicon on plant growth and drought stress tolerance. Utah State University.
- Ji X, Shiran B, Wan J, Lewis DC, Jenkins CL, Condon AG, Richards RA, Dolferus R. 2010. Importance of pre-anthesis anther sink strength for maintenance of grain number during reproductive stage water stress in wheat. Plant, Cell & Environment 33(6): 926-942.
- Jiang Y, Huang N. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 41: 436-442.
- Jin ES, Yokthongwattana K, Polle JEW, Melis A. 2003 Role of the reversible xanthophyll cycle in the photosystem II damage and in dunaliella salina. Plant physiology. 132:325-364.
- Karimi L. Mirjalili M. 2009. Titanium dioxide. Journal of Nanotechnology 8: 23-25.
- Kiapour H, Moaveni P, Habibi D, Sani B. 2015. Evaluation of the application of gibberellic acid and titanium dioxide nanoparticles under drought stress on some traits of basil (*Ocimum basilicum* L.). International Journal of Agricultural Research, 6(4): 138-150.
- Kim K, Wang MC, Ranjitkar S, Liu SH, Xu JC, Zomer RJ. 2017. Using leaf area index (LAI) to assess vegetation response to drought in Yunnan province of China. Journal of Mountain Science, 14(9), 1863-1872.
- Kim YH, Khan AL, WaqasM, Shim JK, Kim DH, Lee KY. 2014. Silicon application to rice root zone influenced the phytohormonal and antioxidant responses under salinity stress. Journal of Plant Growth Regulation. 33, 137–149.
- Koce JD. 2017. Effects of exposure to nano and bulk sized TiO₂ and CuO in Lemna minor. Plant Physiology and Biochemistry, 119, 43-49.
- Kumar R, Sarawgi AK, Ramos C, Amarante ST, Ismail AM, Wade LJ. 2006. Partitioning of dry matter during drought stress in rainfed lowland rice. Field Crops Research, 96-2, 455-465.
- Li Q F, Ma CC, Shang QL. 2007. Effects of silicon on photosynthesis and antioxidative enzymes of maize under drought stress. Ying Yong sheng tai xue bao. Journal of Applied Ecology, 18(3), 531-536.
- Luan S. 2002. Signalling drought in guard cells. Plant, cell & environment 25(2): 229-237.
- Lyu S, Wei X, Chen J, Wang C, Wang X, Pan D. 2017. Titanium as a Beneficial Element for Crop Production. Frontiers in plant science, 8.
- Ma D, Ding H, Wang C, Qin H, Han Q, Hou J, Guo T. 2016. Alleviation of drought stress by hydrogen sulfide is partially related to the abscisic acid signaling pathway in wheat. PloS one, 11(9), e0163082.
- Ma D, Sun D, Wang C, Qin H, Ding H, Li Y. 2016. Silicon application alleviates drought stress in wheat through transcriptional regulation of multiple antioxidant defense pathways. Journal of Plant Growth Regulation. 35, 1–10.
- Ma JF, Takahashi E. 2002. Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan. Amsterdam: Elsevier.

- Malone S, Herbert Jr DA, Holshouser DL. 2002. Relationship between leaf area index and yield in double-crop and full-season soybean systems. *Journal of economic entomology*, 95(5), 945-951.
- Martin D, Stegman E, Fereres E. 1990. Irrigation scheduling principles. IN: Management of Farm Irrigation Systems. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI. 155-203, 19, 9, 81.
- Mishra S, Srivastava S, Tripathi PD. 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Baccopa monnieri* L. *Plant Physiology and Biochemistry*. 44:25-37.
- Mital GS, Manoj TA. 2011. Review of TiO₂ nanoparticles. *Chinese Sci Bull*. 56(16): 1639-57.
- Moaveni P, Aliabadi Farahani H, Maroufi K. 2011. Effect of TiO₂ nanoparticles spraying on wheat (*Triticum Aestivum* L.) under field condition. *Advances in Environmental Biology*. 5(8): 2208-2210.
- Parida AK, Das AB. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60(3): 324-349.
- Rajaram S. 2001. Prospects and Promise of wheat breeding in the 21 st century. *Euphtica*, 119:3-15.
- Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandan M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161(11): 1189-1202.
- Rampino, P., Pataleo, S., Gerardi, C., Mita, G. and Perrotta, C. 2006. Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant Cell Environment*. 22: 2143-2153.
- Rostamza M, Chaichi MR, Jahansouz MR, Alimadadi A. 2011. Forage quality, water use and nitrogen utilization efficiencies of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.) grown under different soil moisture and nitrogen levels. *Agricultural Water Management* 98(10): 1607-1614.
- Sairam RK, Desmukh PS, Saxena DC. 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerant to water stress, *Biologia Plantarum*. 41 (1998) 387-394.
- Sawhney APS, Condon B. 2008. Modern Applications of Nanotechnology in Textiles. *Textile Research Journal*. 78:731-739.
- Schutz M, Fangmeir E. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv.Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. *Environmental Pollution*, 114: 187-194.
- Seki M, Umezawa T, Urano K, Shinozaki K. 2007. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. *Current Opinion in Plant Biology* 10(3): 296-302.
- Sharma P, Ambuj BJ, Rama SD, Pessaraki M. 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany* Volume 2012 (2012), Article ID 217037, 26-page [http:// dx.doi.org /10.1155/2012 /217037](http://dx.doi.org/10.1155/2012/217037).
- Shekari F, Abbasi A, Mustafavi SH. 2015. Effect of silicon and selenium on enzymatic changes and productivity of dill in saline condition. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.

- Sofa A, Dichio B, Xiloyannis C, Masia A. 2004. Lipoxygenase activity and praline accumulation in leaves and roots of olive tree in response to drought stress. *Plant Physiology*. 121, 56–58.
- Soltani M, Moaveni P, Noori H. 2013. The effect of foliar application of nanoparticles of titanium dioxide on yield and antioxidant enzyme activities in lentil (*Lens culinaris* Medik.) *Journal of Plant Ecophysiology Research, Special Issue*, 78-88.
- Stewart RRC, Bewley JD. 1980. Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, 65: 245-248.
- Tan Y, Liang ZS, Hongbo B, Du F. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of *Radix Astragali* at graining stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 49: 60-65.
- Xu W, Cui K, Xu A, Nie L, Huang J, Peng S. 2015. Drought stress condition increases root to shoot ratio via alteration of carbohydrate partitioning and enzymatic activity in rice seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(2), 9.
- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 2005. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic-and cold-stress-responsive promoters. *Trends in Plant Science*. 10(2): 88-94.
- Yamaji N, Ma JF. 2014. The node, a hub for mineral nutrient distribution in graminaceous plants. *Trends in Plant Science*. 19, 556–563.
- Yong T, Zongsuo L, Hongbo S, Feng D. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of *Radix astragali* at seedling stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 49: 60-65.
- Yordanov I, Velikova V, Tsonev T. 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica* 38(2): 171-186.
- Yoshimura K., Yabute Y, Ishikawa T, Shigeoka S. 2000. Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiology*, 123: 223-233.

Response of antioxidant defense mechanism and wheat yield changes to drought stress with application of different concentrations of nano-silicone and nano-titanium

A. Abbasi^{*1}, R. Lotfi², M. Janmohammadi³

1- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Maragheh University, Maragheh, Iran

2-Dryland Agricultural Research Institute, Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension (AREEO), Maragheh, Iran

3-Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Maragheh University, Maragheh, Iran

Abstract

The importance of crop production stability during water shortage is increasingly serious due to the growing population in the world. Regarding possibility effects of nano-titanium and nano-silicone on wheat growth and development under drought stress conditions, the present study was conducted using split plot experiment in a randomized complete block design with three replications in the Plant Production and Genetics department, Faculty of Agriculture, University of Maragheh. Different watering levels (irrigation in 90% of field capacity as non-stress condition, irrigation in 75% of the field capacity as a medium stress and irrigation in 50% of the field capacity as a severe stress) was arranged in main plot and application of nano-particles (dry seed, 0.5%, 1%, 1.5%, 2% of nano-titanium and nano-silicone spraying) was arranged in sub-plots. The results of analysis of variance showed that interaction effect of nano-particles application and drought stress on dry weight, leaf area, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid, total chlorophyll, 1000 grain weight, superoxide dismutase, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase, hydrogen peroxide, malondialdehyde, proline at 1% probability level, and the activity of catalase were significant at 5% probability level. The mean comparison showed that the highest impact of nano-titanium and nano-silicon on the antioxidant system and chlorophyll and hydrogen peroxide levels was recorded for watering treatments at 50 and 70% of the field capacity and high levels of those materials (1.5 and 2%). According to the chlorophyll content, leaf area, dry weight and yield results under drought stress conditions, application of 2% nano-titanium had the most beneficial effects, compared to the silicon on plants and it can be recommend as a result of this study for similar experimental conditions.

Keywords: Hydrogen Peroxide, Superoxide Dismutase, Catalase, Chlorophyll, Drought stress and Wheat.

* Corresponding author: a.abbasi25@yahoo.com Received: 2018/01/21 Accepted: 2018/08/27