

## ارزیابی اثر محلول پاشی اکسید روی به فرم معمول و نانوذرات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای پرولین در دو رقم *Zea Mays L.* تحت تنش شوری

علیرضا فتحی<sup>۱\*</sup>، مرتضی زاهدی<sup>۲</sup> و شهرام ترابیان<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شاهرود، سمنان

۲. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

۳. دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۱۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱/۱۳)

### چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی اکسید روی به دو فرم معمول و نانوذرات بر واکنش دو رقم ذرت به شوری، آزمایشی گلدانی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. عوامل آزمایشی شامل دو رقم ذرت (توده بذری و سینگل کراس ۷۰۴)، سه تیمار تغذیه برگی (محلول پاشی اکسید روی به فرم معمول، به فرم نانوذرات و تیمار عدم محلول پاشی آب مقطر) و سه سطح شوری (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم) بود. وزن خشک اندام هوایی در اثر شوری کاهش یافت و این کاهش در رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر از توده بذری بود. محتوای پرولین، مالون دآلدئید و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز برگ در واکنش به تنش شوری افزایش یافت. میزان افزایش محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در رقم توده بذری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر بود. محلول پاشی اکسید روی به دو فرم معمول و نانو سبب افزایش وزن خشک اندام هوایی و فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز هر دو رقم شد. صرف نظر از رقم، میزان افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری در اثر محلول پاشی اکسید روی به فرم نانوذرات نسبت به فرم معمول آن کمتر بود. نتایج این آزمایش نشان داد که افزایش محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توده بذری ذرت تحت تنش شوری بیشتر از سینگل کراس ۷۰۴ بود. همچنین نتایج مطالعه حاضر بیانگر تأثیر مثبت و بارزتر فرم نانوذرات اکسید روی بر ارقام ذرت بود.

**واژه‌های کلیدی:** نانوذرات، کاتالاز، پراکسیداز، سوپر اکسید دسموتاز، سینگل کراس ۷۰۴، محلول پاشی.

### مقدمه

مدت زمان تنش بستگی دارد (Munns, 1993). دامنه پاسخ به تنش شوری از کاهش رشد تا پیری زودرس برگ‌ها، پژمردگی دائمی و مرگ گیاه متفاوت است. تنش‌های مختلف محیطی شامل تنش‌های زنده و غیرزنده سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند.

شوری یکی از عوامل مهم کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی به خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک است. پاسخ گیاهان به تنش شوری متفاوت است و به میزان سمیت و پتانسیل اسمزی نمک و

کمبود عنصر روی دچارند ( Khoshgoftarmanesh *et al.*, 2004). بنابراین توجه به رفع نیاز این عنصر در گیاهانی که در خاک‌های شور کشت‌وکار می‌شوند، ضروری به‌نظر می‌رسد (Kalayci *et al.*, 1999). محلول‌پاشی عناصر کم‌مصرف از جمله روی، از ساده‌ترین و سریع‌ترین راه‌های رفع کمبود این عناصر است (Brennan, 1991). گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر محلول‌پاشی روی بر افزایش معنی‌دار عملکرد ذرت. Grzebisz *et al.* (2008)، سویا Mirzapour & Gadallah (2000) و آفتابگردان و آفتابگردان (2006) Khoshgoftar وجود دارد. عنصر روی تأثیر مستقیمی بر فعالیت تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسید دسموتاز Cu/Zn دارد و در کاهش خسارت ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال به غشای سلولی، پروتئین‌ها، کلروفیل و اسید نوکلئیک دارای اهمیت است (Mirzapour & Khoshgoftar 2006). نتیجه مطالعه‌ای نشان می‌دهد که مصرف روی می‌تواند مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی به‌ویژه شوری را افزایش دهد (Baybordi, 2004). این عنصر به‌عنوان کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشارکت دارد و از این رو در شرایط تنش، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر کمبود عناصر ریزمغذی کاهش یافته و در نتیجه آن حساسیت گیاهان به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد (Cakmak, 2000).

استفاده از فناوری نانو در همه عرصه‌ها از جمله کشاورزی در حال توسعه است. نانوکودها موادی هستند که دارای ذراتی با قطر کمتر از ۱۰۰ نانومتر می‌باشند (Monica & Cremonini, 2009). گزارش‌های کمی مبنی بر تأثیر نانوکودها بر رشد برخی از گیاهان از جمله بادام زمینی. Prasad *et al.* (2012)، نخود Pandey *et al.* (2010) و آفتابگردان Torabian (2011) وجود دارد. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر تغذیه برگ‌ی اکسید روی به دو فرم معمول و نانوذرات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون لیپیدها و محتوای پرولین در برگ‌های دو رقم ذرت کاشته‌شده در شرایط شور و غیرشور اجرا شد.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در تاریخ اول اردیبهشت ۱۳۹۰ در فضای

از جمله این تنش‌ها می‌توان به نور شدید، خشکی، شوری و عوامل بیماری‌زا اشاره کرد (Karpinski *et al.*, 2003). هر نوع رادیکال آزاد که قادر به برداشتن هیدروژن متصل به گروه فعال متیل موجود در زنجیره اسید چرب غیراشباع باشد می‌تواند سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی شود (Halliwell, 1999). پراکسیداسیون غشا به نشت محتویات سلول و در نهایت مرگ سلول منجر می‌شود. گیاهان سازوکارهای متفاوتی برای کاهش اثر مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارند که از جمله آنها، تولید ترکیبات آنزیمی و غیر آنزیمی است؛ بدین صورت که مقدار گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌های گیاهی به‌وسیله فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها کنترل می‌شود (Selote, 2004).

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی عمومی‌ترین واکنش گیاهان در مواجهه با صدمات ناشی از تنش اکسیداتیو است. تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور گسترده در بسیاری از گیاهان تحت تنش گزارش شده است (Halliwell, 1999). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن از طریق یکسری واکنش‌های پیچیده ایفا می‌کنند. این واکنش‌ها شامل تبدیل اکسیژن مولکولی ( $O_2$ ) به پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) توسط آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD) و سمیت‌زدایی  $H_2O_2$  به‌وسیله آنزیم‌های متعددی از جمله پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون ردوکتاز (GR) است (Neto *et al.*, 2005).

مهم‌ترین واکنش بیوشیمیایی سلول‌های گیاهی به تنش اسمزی، تجمع مواد متابولیکی آلی است که معمول‌ترین آنها پرولین، بتائین و ساکارز هستند (Delauney & Verma, 1993). پرولین تأثیری اساسی به‌عنوان متابولیت تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان در معرض تنش‌های اسمزی، دارد. در واقع تجمع این اسید آمینه ممکن است به‌علت سازگاری عمومی به شرایط محیطی و در واکنش به چند تنش مختلف شامل درجه حرارت کم، شوری، کمبود مواد غذایی، فرار گرفتن در معرض فلزات سنگین، اسیدیته بالا و کمبود رطوبت صورت گیرد (Delauney & Verma, 1993).

مطالعات نشان داده است که بسیاری از اراضی شور به

کراس ۷۰۴ تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان، سه تیمار محلول پاشی (اکسید روی، نانو اکسید روی و شاهد محلول پاشی آب مقطر) و سه سطح شوری (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم) بود. ویژگی های خاک مورد استفاده در جدول ۱ ثبت شده است.

باز گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان (میانگین دمایی ۲۸ درجه سانتی گراد و بدون بارش معنی دار) به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. عوامل آزمایشی شامل دو رقم ذرت توده بذری و سینگل

جدول ۱. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

بافت	pH	EC (دسی زمینس بر متر)	نیتروژن (%)	پتاسیم فسفر		روی میلی گرم بر کیلوگرم
				۳۵	۱۶۰	
لومی	۷/۹	۲/۴	۰/۱۵	۳۵	۱۶۰	۰/۵۴

### فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، ابتدا نمونه های برگگی توسط نیتروژن مایع پودر شد و ۰/۱ گرم از آن به کمک یک میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار با pH ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار و PVP ۱ درصد (پلی وینیل پیرولیدون) همگن شد. سپس عصاره به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد و از محلول رویی به دست آمده به عنوان عصاره آنزیمی برای اندازه گیری فعالیت آنزیم استفاده شد (Esfandiari et al., 2007).

### کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز در ۳ میلی لیتر بافر واکنش به صورت ۵۰ میلی مولار بافر فسفات سدیمی با pH=۷، ۱۰ میلی مولار آب اکسیژنه و ۴۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بر اساس روش Aebi (1984) اندازه گیری شد. پس از افزودن آب اکسیژنه، فعالیت آنزیم در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه طیف سنج (HITACHI u-1800) اندازه گیری شد.

### سوپراکسید دسموتاز

به منظور تعیین فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز از روش Nishikimi et al. (1972) استفاده شد. برای تهیه ترکیب واکنش از ۱۳ میلی مول متیونین، ۲۵ میکرومول نیتروبولوتترازولیموم، ۶ میکرومول محلول ۰/۵ مولار EDTA، ۱/۵ میلی لیتر از محلول ۱ مولار فسفات بافر (pH= ۷/۸)، ۶۰ میکرومول ریبوفلاوین ۱ میلی مولار و

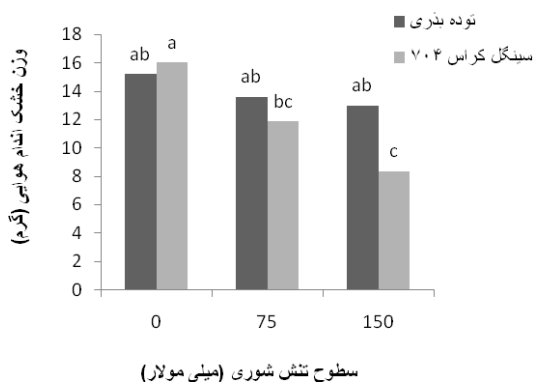
شوری خاک اندازه گیری شده به وسیله تانسومتر پیش از افزودن کلرید سدیم با غلظت ۱۰۰ میلی مولار حدود ۲/۱ دسی زمینس بر متر و پس از افزودن نمک، حدود ۱۲/۲ دسی زمینس بر متر بود. بذور در گلدان های ۱۰ لیتری و در عمق ۳ سانتی متری خاک کاشته شدند. ابتدا ۱۰ بذر در هر گلدان کشت شد و در مرحله دو برگ حقیقی، بوته های اضافی حذف شدند و در هر گلدان پنج بوته نگهداری شد. آبیاری گلدان ها به منظور حفظ رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی هر روز یک بار انجام گرفت. محلول غذایی نترات پتاسیم در غلظت دو در هزار در مرحله دو برگگی و به مقدار ۵۰۰ سی سی به هر گلدان اضافه شد. پودر اکسید روی به هر دو فرم معمول و نانو ذرات (با میانگین قطر ذرات ۱۰ تا ۳۰ نانومتر) تهیه شد. تیمارهای شوری دو هفته پس از سبز شدن گیاهان (مرحله چهار برگ حقیقی) به تدریج و طی چهار مرحله اعمال شد. محلول پاشی اکسید روی در سه مرحله، یک هفته، دو هفته و سه هفته پس از اعمال تنش شوری با غلظت دو در هزار صورت گرفت. برای جلوگیری از سوختگی برگ ها، محلول پاشی هنگام غروب آفتاب انجام گرفت. برداشت گیاهان دو هفته پس از مرحله سوم محلول پاشی صورت گرفت. برای اندازه گیری وزن خشک اندام هوایی ابتدا نمونه های گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد خشک و سپس توزین شدند. نمونه های گیاهی در نظر گرفته شده برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی بلافاصله پس از نمونه گیری در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

سولفوسالیسیلیک ۳ درصد به آن در هاون کوبیده شد. سپس محلول حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و ۲ میلی لیتر از محلول صاف شده به همراه ۲ میلی لیتر محلول ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک درون یک لوله آزمایش ریخته شد و به مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد در حمام بن ماری قرار گرفت. برای متوقف شدن واکنش، لوله های حاوی محلول بی درنگ در یخ قرار داده شدند. سپس ۴ میلی لیتر تولون به محلول اضافه و بعد از تکان دادن، محلولی دوفازی تشکیل شد که فاز بالایی برای اندازه گیری پرولین به کار گرفته شد. نمونه ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر طیف سنجی شدند. محتوای پرولین بر اساس میکرومول پرولین در گرم برگ تازه محاسبه شد.

## نتایج

### وزن خشک اندام هوایی

تأثیر رقم، شوری، محلول پاشی و اثر متقابل رقم و شوری بر وزن خشک اندام هوایی معنی دار بود (جدول های ۲ و ۳). در شرایط غیرشور تفاوت بین دو رقم از نظر وزن خشک اندام هوایی معنی دار نبود، ولی در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار وزن خشک گیاه در توده بذری به طور معنی داری بیشتر از رقم سینگل کراس ۷۰۴ بود (شکل ۱). در واقع کاهش وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای شور نسبت به تیمار غیرشور در توده بذری کمتر از رقم سینگل کراس ۷۰۴ بود (شکل ۱). نتایج بیانگر این نکته است که توده بذری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ در مراحل اولیه رشد، در برابر شوری مقاومت بیشتری دارد.



شکل ۱. تأثیر تنش شوری بر وزن خشک دو رقم ذرت

۵۰ میلی مول سدیم بیکربنات استفاده شد. سپس ۲/۹ میلی لیتر از مخلوط حاصل داخل تیوپ استریل ریخته شد و بی درنگ پس از افزودن ۲ میکرومول ربوفلاوین و ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی، به مدت ۱۵ دقیقه زیر نور لامپ فلورسانس قرار داده شد. برای تعیین فعالیت آنزیم SOD، مخلوط حاصل در طول موج ۵۶۰ نانومتر طیف سنجی شد.

### آسکوربات پراکسیداز

برای اندازه گیری فعالیت این آنزیم از روش Nakano & Asad (1981) استفاده شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در یک میلی لیتر بافر واکنش به صورت ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم با  $\text{pH}=7$ ، ۰/۵ میلی مولار اسکوربیک اسید، ۰/۱ میلی مولار EDTA، ۱/۲۵ میلی مولار آب اکسیژنه و ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اندازه گیری شد. سپس فعالیت APX در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه اندازه گیری شد. شایان ذکر است که EC آسکوربات پراکسیداز برابر  $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  در نظر گرفته شد.

### محتوای مالون دالدئید

برای اندازه گیری محتوای مالون دالدئید ابتدا ۰/۱ گرم برگ تازه در ۲/۵ میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ساییده و به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۱ میلی لیتر از محلول رویی به ۲/۲۵ میلی لیتر محلول تیوباری تیوریک اسید اضافه و ۳۰ دقیقه روی حمام بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد و بعد از آن به منظور متوقف شدن واکنش بلافاصله در یخ قرار گرفت. سپس نمونه ها سانتریفیوژ شد و مقدار جذب در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه گیری و محتوای مالون دالدئید محاسبه شد (Hodges *et al.*, 1999). ضریب خاموشی به کاررفته برای محاسبه غلظت مالون دالدئید  $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  ۱۵۵ بود.

### محتوای پرولین

محتوای پرولین با استفاده از روش Bates (1973) اندازه گیری شد. ۴۰۰ میلی گرم از برگ تازه به داخل هاون چینی انتقال یافت و با افزودن ۱۰ میلی لیتر اسید

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس صفات وزن خشک اندام هوایی، پرولین، مالون د آلدئید، سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک اندام هوایی	پرولین	سوپراکسید دسموتاز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	مالون د آلدئید
تکرار	۳	۱۴۷/۶**	۲/۲۷*	۳/۲۷ <sup>ns</sup>	۰/۲۴**	۰/۲۲**	۲/۰۶ <sup>ns</sup>
رقم	۱	۶۰/۵*	۶۵**	۶۰۴**	۱/۲۲**	۰/۴۲**	۴/۸۶ <sup>ns</sup>
محلول پاشی	۲	۳۵/۲*	۰/۸۵ <sup>ns</sup>	۳۲/۷*	۰/۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۱۶ <sup>ns</sup>
شوری	۲	۱۴۷/۸**	۳۲/۴**	۷۲۱**	۷/۸۸**	۰/۸۰**	۴۵**
رقم × شوری	۲	۴۴/۷*	۱۵/۹**	۱۴۸**	۰/۴۷**	۰/۳۶**	۰/۱۹ <sup>ns</sup>
رقم × محلول پاشی	۲	۰/۰۴ <sup>ns</sup>	۰/۷۰ <sup>ns</sup>	۴/۱۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۳ <sup>ns</sup>	۱/۲۶ <sup>ns</sup>
شوری × محلول پاشی	۴	۱/۶۶ <sup>ns</sup>	۰/۱۵ <sup>ns</sup>	۲/۴۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۸*	۰/۸۳ <sup>ns</sup>
رقم × شوری × محلول پاشی	۴	۱/۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۱۱ <sup>ns</sup>	۳/۶۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۳۳ <sup>ns</sup>
خطا	۵۱	۱۱/۵	۰/۵۵	۷/۲۷	۰/۰۲	۰/۰۲	۱/۵۵

علامت‌های ns، \* و \*\* به ترتیب معرف غیر معنی دار، معنی دار در سطح ۰.۵٪ و معنی دار در سطح ۰.۱٪.

جدول ۳. مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی، محتوای پرولین، مالون د آلدئید و فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز ارقام ذرت

عامل آزمایشی (میلی مولار)	وزن خشک اندام هوایی	پرولین	سوپراکسید دسموتاز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	مالون د آلدئید
شاهد	۱۵/۶a	۲/۳۴c	۳/۹۱c	۰/۳۰c	۰/۳۵c	۲/۸۷c
۷۵	۱۲/۷b	۳/۷۲b	۱۱/۶b	۰/۸۵b	۰/۵۳b	۴/۵۸b
۱۵۰	۱۰/۶c	۴/۶۶a	۱۴/۵a	۱/۴۴a	۰/۷۱a	۵/۵۸a
محلول پاشی						
آب مقطر	۱۱/۷b	۳/۳۸a	۸/۹۸b	۰/۸۲a	۰/۴۹a	۴/۳۳a
اکسید روی	۱۳/۱ab	۳/۷۶a	۹/۷۹ab	۰/۸۸a	۰/۵۵a	۴/۲۷a
نانو اکسید روی	۱۴/۱a	۳/۵۸a	۱۱/۲a	۰/۸۹a	۰/۵۵a	۴/۴۳a
رقم						
توده بذری	۱۳/۹a	۴/۵۲a	۱۲/۹a	۰/۹۹a	۰/۶۱a	۴/۶۰a
سینگل کراس ۷۰۴	۱۲/۱b	۲/۶۲b	۷/۱۲b	۰/۷۳b	۰/۴۵b	۴/۰۸a

در هر ستون و برای هر واحد آزمایشی، میانگی نهایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

### محتوای پرولین برگ

تأثیر رقم، شوری و اثر متقابل رقم و شوری بر محتوای پرولین در برگ‌ها معنی دار بود (جدول ۲). در تیمار شاهد غیرشور، تفاوت بین دو رقم از نظر محتوای پرولین در برگ‌ها معنی دار نبود؛ ولی در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محتوای پرولین در توده بذری به‌طور معنی داری بیشتر از رقم سینگل کراس ۷۰۴ بود (شکل ۲). به‌عبارت دیگر، با افزایش سطح شوری، محتوای پرولین برگ در دو رقم افزایش یافت، ولی افزایش در توده بذری بیشتر از رقم سینگل کراس ۷۰۴ بود. تأثیر محلول پاشی اکسید روی بر محتوای پرولین از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۲).

### محتوای مالون د آلدئید برگ

تنها شوری تأثیر معنی داری بر محتوای مالون د آلدئید برگ‌ها (در سطح احتمال ۱ درصد) داشت (جدول ۲). غلظت مالون د آلدئید تحت سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به تیمار شاهد غیرشور افزایش نشان داد. تأثیر رقم، محلول پاشی و اثر متقابل عوامل آزمایشی بر محتوای مالون د آلدئید در برگ‌ها از نظر آماری معنی دار نبود.

### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ

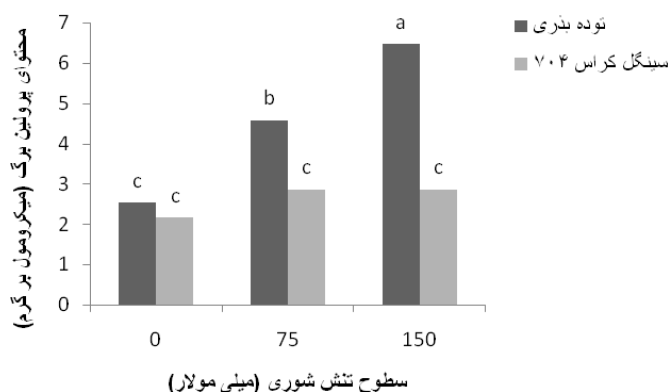
تأثیر رقم، شوری و اثر متقابل رقم و شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و

فعالیت این آنزیم در تیمار محلول پاشی اکسید روی به فرم نانوذرات نسبت به تیمار شاهد عدم محلول پاشی به طور معنی داری بیشتر بود، در حالی که تفاوت بین تیمار محلول پاشی اکسید روی به فرم معمول آن با شاهد از نظر آماری معنی دار نبود.

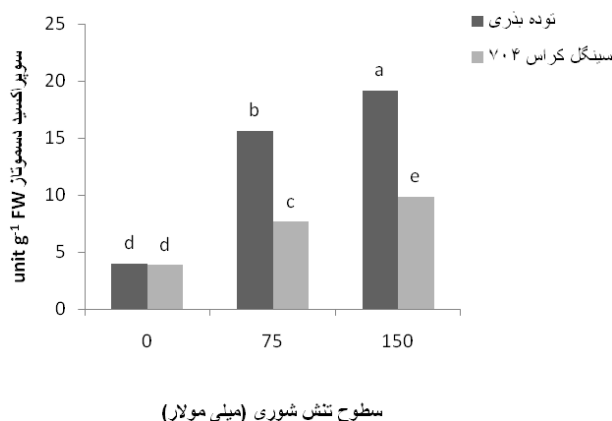
اثر متقابل شوری و محلول پاشی اکسید روی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۲). صرف نظر از رقم، با افزایش سطوح شوری، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در محلول پاشی نانوذرات اکسید روی تحت تنش ۱۵۰ میلی مولار مشاهده شد. کمترین فعالیت این آنزیم متعلق به تیمار محلول پاشی آب مقطر در تنش ۷۵ میلی مولار بود که با این تیمار در تنش ۱۵۰ میلی مولار و عدم تنش شوری اختلاف معنی داری نداشت (شکل ۶).

آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). در شرایط غیرشور تفاوت معنی داری بین دو رقم توده بذری و سینگل کراس از نظر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی برگ وجود نداشت، در hllh در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار، فعالیت این آنزیم ها در توده بذری به طور معنی داری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر بود. شوری سبب افزایش چشمگیر فعالیت آنزیم های یادشده در هر دو رقم ذرت شد، به طوری که این افزایش در توده بذری نسبت به رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر بود (شکل های ۳ تا ۵).

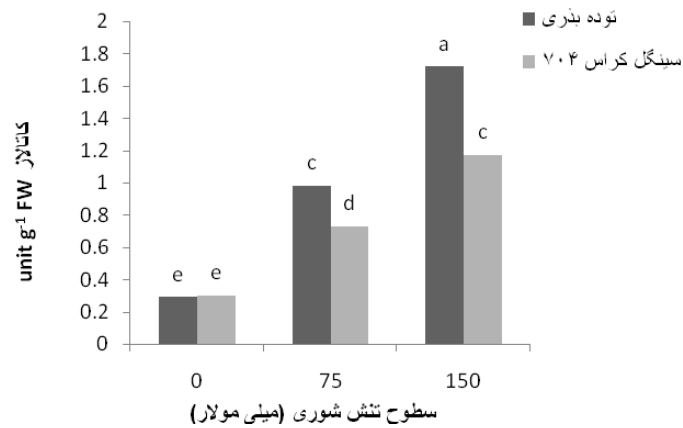
تأثیر محلول پاشی اکسید روی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). صرف نظر از رقم و تنش شوری، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در اثر محلول پاشی اکسید روی در مقایسه با تیمار عدم محلول پاشی افزایش یافت.



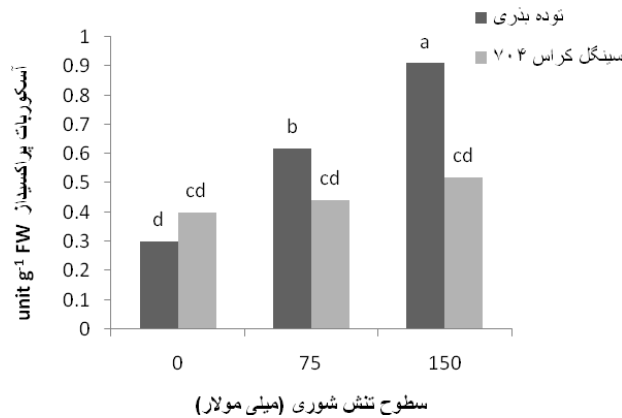
شکل ۲. تأثیر تنش شوری بر محتوای پرولین برگ دو رقم ذرت



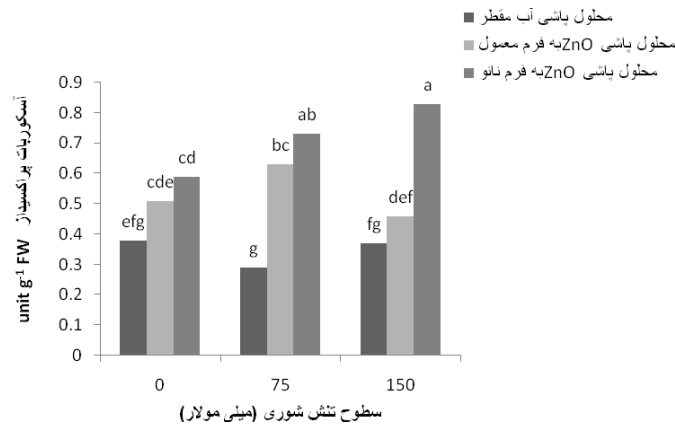
شکل ۳. تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز برگ دو رقم ذرت



شکل ۴. تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ دو رقم ذرت



شکل ۵. تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ دو رقم ذرت



شکل ۶. تأثیر تیمارهای محلول پاشی اکسید روی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری

کاهش یافت و این کاهش در رقم سینگل کراس ۷۰۴ به طور معنی داری بیشتر از توده بذری بود. این نتیجه بیانگر این است که توده بذری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ در مراحل اولیه رشد، در برابر

### بحث

با توجه به نتایج این آزمایش، وزن خشک اندام هوایی در اثر تنش شوری در هر دو سطح ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم نسبت به تیمار شاهد غیرشور

برگ‌های ذرت تحت تنش شوری افزایش یافت (Rios-Gonzalez & Lips, 2002). نتایج مشابهی مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ارقام ذرت تحت تنش شوری وجود دارد که نشان می‌دهد تأثیر شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ذرت بسته به نوع رقم مورد مطالعه ممکن است متفاوت باشد؛ چنانکه در آزمایش Neto *et al.* (2005) فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری در رقم مقاوم بیشتر از رقم حساس بود.

صرف‌نظر از رقم و تنش شوری، محلول‌پاشی اکسید روی موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی شد و تأثیر محلول‌پاشی اکسید روی به فرم نانوذرات نسبت به فرم معمول آن بارزتر بود. در مطالعه‌ای بر روی دو رقم هیبرید و کمپوزیت ذرت مشاهده شد که ماده خشک در تیمار محلول‌پاشی روی افزایش چشمگیری نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی نشان داد (Peaslee *et al.*, 1981). در زمینه تأثیر نانوذرات اکسید روی بر رشدونمو ذرت اطلاعاتی در دسترس نیست. در عین حال در آزمایشی نتایج مشابهی برای گیاه آفتابگردان به دست آمد (Torabian, 2011). در این آزمایش محلول‌پاشی اکسید روی به فرم معمول سبب افزایش ۹ درصدی و محلول‌پاشی اکسید روی به فرم نانوذرات موجب افزایش ۲۶ درصدی وزن خشک اندام هوایی شد. در آزمایش حاضر تفاوت معنی‌داری بین دو رقم از نظر واکنش به محلول‌پاشی برای هیچ‌یک از صفات مورد مطالعه مشاهده نشد. در مطالعه حاضر اثر متقابل محلول‌پاشی اکسید روی و شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار شد. به عبارت دیگر، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط شور به خصوص در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم در اثر محلول‌پاشی اکسید روی به فرم نانوذرات نسبت به فرم معمول آن به میزان کمتری افزایش یافت.

#### نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده، ذرات نانو به دلیل نسبت سطح به حجم بیشتر، قابلیت جذب و انتقال بیشتری در مقایسه با فرم معمول داشت و در این آزمایش نیز

شوری مقاومت بیشتری نشان می‌دهد. در آزمایشی نیز تنش شوری موجب کاهش بیشتر وزن خشک گیاه در ارقام حساس نسبت به ارقام مقاوم‌تر ذرت شد. تنش شوری همچنین موجب افزایش محتوای پرولین در گیاهان ذرت شد (Cicek & Cakirlar, 2002). در مطالعه حاضر، افزایش محتوای پرولین در توده بذری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر بود که به نظر می‌رسد این نتیجه بیانگر ارتباط بین افزایش محتوای پرولین در شرایط شور و تحمل بیشتر توده بذری است. همبستگی مثبت تجمع پرولین در گیاه با مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی گزارش شده است (DeLauney, 1993). در آزمایشی با مطالعه تأثیر شوری بر ذرت، افزایش سه‌برابری محتوای پرولین برگ با افزایش سطح شوری گزارش شد (Cha-um & Kirdman, 2009). افزایش غلظت پرولین تحت تنش‌های محیطی یکی از سازوکارهای حفظ پتانسیل اسمزی گیاه است که در گیاهان و ارقام مختلف متفاوت است (DeLauney, 1993).

در این آزمایش غلظت مالون دآلدئید در برگ‌ها به‌عنوان شاخصی از میزان پراکسیداسیون لیپیدها در شرایط شور در مقایسه با تیمار شاهد غیرشور افزایش یافت که بیانگر صدمه تنش شوری به غشای سلولی و در نتیجه تجمع مالون دآلدئید در برگ‌هاست. با این حال معنی‌دار نشدن اثر متقابل رقم و شوری بر محتوای مالون دآلدئید نشان‌دهنده واکنش مشابه دو رقم مورد مطالعه از این نظر است. در مطالعه Sairam *et al.* (2002) شوری در تمام سطوح سبب افزایش غلظت مالون دآلدئید در هر دو ژنوتیپ مقاوم و نیمه‌مقاوم مورد مطالعه گندم شد و این افزایش در ژنوتیپ مقاوم در حد چشمگیری کمتر بود.

تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در هر دو رقم مورد مطالعه ذرت شد. میزان افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در شرایط شور در رقم توده بذری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر بود. در واقع اختلاف در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش شوری می‌تواند از جمله دلایل پاسخ متفاوت دو رقم ذرت به شوری باشد. در آزمایشی نیز فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز در



نانوذرات با توجه به ماهیت این مواد باشد. دوم اینکه ممکن است با توجه به نقش عنصر روی در ساختمان برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و جذب بیشتر فرم نانو، افزایش فعالیت این آنزیم‌ها توجیه پذیر باشد. تفکیک این دو نکته از هم مستلزم آزمایش‌های بیشتر است، ولی شایان ذکر است که استفاده از نانوذرات باید در شرایط خاص و با رعایت دقیق غلظت آنها باشد.

تأثیر تعدیل‌کنندگی بیشتری در مقایسه با فرم معمول داشت. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز بیانگر برخورد گیاه با شرایط تنشی است. در مورد محلول پاشی نانوذرات روی و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دو نکته شایان بررسی است. اول اینکه ممکن است افزایش بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به دلیل اثرهای تنش‌زای

## REFERENCES

1. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Method Enzymol*, 105, 121-126.
2. Bates, L. S. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
3. Baybordi, A. (2004). Effect of Fe, Mn, Zn and Cu on the quality and quantity of wheat under salinity stress. *Journal Water and Soil Science*, 17, 140-150.
4. Brennan, R.F. (1991). Effectiveness of zinc sulphate and zinc chelate as foliar spray in alleviating zinc deficiency of wheat grown on zinc-deficient soils in Wewestern Australia. *Australian Experiment Agriculture*, 31, 831-834.
5. Cakmak, I. (2000). Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytol*, 146, 185-205.
6. Cha-um, S. & Kirdmane, C. (2009). Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. *Pakistanian Journal of Botany*, 41, 87-98.
7. Cicek, N. & Cakirlar, H. (2002). The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivar. *Journal of Plant Physiology*, 28, 66-74.
8. Delauney, A. J. & Verma, D. S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant Journal*, 4, 215-223.
9. Esfandiari, E., Shakiba M.R., Mahboob, S., Alyari, H. & Toorchi, M. (2007). Water stress, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 5, 148-153.
10. Gadallah, M.A.A. (2000). Effects of indole-3-acetic acid and zinc on the growth, osmotic potential and soluble carbon and nitrogen components of soybean plants growing under water deficit. *Journal of Arid Environ*, 44, 451-467.
11. Grzebisz, W., Wrońska, M., Diatta, J.B. & Dullin, P. (2008). Effect of zinc foliar application at early stages of maize growth on patterns of nutrients and dry matter accumulation by the canopy. Part I. Zinc uptake patterns and its redistribution among maize organs. *Journal of Elementology*, 13, 17-28.
12. Halliwell, B. (1999). Antioxidant defense mechanism from the beginning to the end. *Free Radical Reserch*, 31, 261-272.
13. Kalayci, M., Torun, B., Eker, S., Aydin, M., Ozturk, L. & Cakmak, I. (1999). Grain yield, zinc efficiency and zinc concentration of wheat cultivation grown in a zinc-deficient calcareous soil in field and greenhouse. *Field Crops Research*, 63, 87-98.
14. Karpinski, S., Gabrys, H. A., Mateo, K. & Mullineaux, P.M. (2003). Light perception in plant disease defense signalling. *Current Opinion Plant Biology*, 6, 390-396.
15. Khoshgoftarmanesh, A. H., Shariatmadari, H., Karimian, N., Kalbasi, M. & Khajepour, M. R. (2004). Zinc Efficiency of Wheat Cultivars Grown on a Saline Calcareous Soil. *Journal of Plant Nutrition*, 27, 1953-1962.
16. Mirzapour, M.H. & Khoshgoftar, A.H. (2006). Zinc application effects on yield and seed oil content of sunflower grown on a saline calcareous soil. *Journal of Plant Nutrition*, 29, 1719-1727.
17. Monica, R.C. & Cremonini, R. (2009). Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*, 62, 161-165.
18. Munns, R. (1993). Physiological process limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environ*, 16, 15-24.
19. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880.
20. Neto, A.D., Prisco, J.T., Eneas-Filho, J., Abreu, C.E.B. & Gomes-Filho, E. (2005). Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environ Experimental Botany*, 56, 87-94.

21. Nishikimi, M., Rao, N.A. & Yagi, K. (1972). The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulphate and molecular oxygen. *Biochemistry and Biophysics Research*, 48, 849-854.
22. Pandey, A.C., Sanjay, S.S. & Yadav, R.S. (2010). Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. *Journal of Experimental Nanoscience*, 5, 488-497.
23. Peaslee, D.E., Isarang, K. & Leggeha, J.E. (1981). Accumulation and translocation of zinc by two corn cultivars. *Agronomy Journal*, 73, 729-732.
24. Prasad, T.N.V.K.V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja Reddy, K., Sreepasad, T.S., Sajanlal, P.R. & Pradeep, T. (2012). Effect of nanoscales Zinc Oxide on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*, 35, 905-927.
25. Rios-Gonzalez, L. & Herman Lips, S. (2002). The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as effected by salinity and different nitrogen sources. *Plant science*, 162, 923-930.
26. Sairam, R.K., Rao, K.V. & Srivastava, G.C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163, 1037-1046.
27. Selote, D.S. & Khanna-Chopra, R. (2004). Drought-induced spikelet sterility is associated with an inefficient antioxidant defense in rice panicles. *Plant Physiology*, 121, 462-471.
28. Torabian, S. (2011). *Effects of Foliar Application of Nano-Sized Iron Sulphate and Zinc Oxide on the Response of Sunflower Cultivars to Salinity*. M.Sc. Dissertation, Isfahan University of technology, Iran. (in Farsi)