علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۶، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹۴ (ص ۲۶۶-۲۵۷)

ارزیابی اثر محلول‌پاشی 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[1*]، مرتضی زاهدی[2] و شهرام ترابیان[3]
۱. دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شاهرود، سمنان
۲. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان
۳. دانشجوی دکتری، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تبریز
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۱۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱/۱۳)

چکیده

به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی 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 (تودهٔ بذری و سینگل کراس ۷۰۴)، سه تیمار تغذیهٔ برگی (محلول‌پاشی اکسید روی به فرم معمول، به فرم نانوذرات و تیمار عدم محلول‌پاشی آب مقطر) و سه سطح شوری (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بود. وزن خشک اندام هوایی در اثر شوری کاهش یافت و این کاهش در رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر از تودهٔ 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 تودهٔ بذری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر بود. محلول‌پاشی 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 محلول‌پاشی 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 تودهٔ بذری ذرت تحت تنش شوری بیشتر از سینگل کراس ۷۰۴ بود. همچنین نتایج مطالعهٔ حاضر بیانگر تأثیر مثبت و بارزتر فرم نانوذرات اکسید روی بر ارقام ذرت بود.

واژه‌های کلیدی: **نانوذرات، کاتالاز، پرکسیداز، سوپر اکسید دسموتاز، سینگل کراس۷۰۴، محلول‌پاشی.**

مقدمه

شوری یکی از عوامل مهم کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک است. پاسخ گیاهان به تنش شوری متفاوت است و به میزان سمیت و پتانسیل اسمزی نمک و مدت زمان تنش بستگی دارد (Munns, 1993). دامنهٔ 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.

* تلفن: ۰۹۱۵۳۳۲۹۵۷۶
E-mail: alireza.fathi.af@gmail.com

از جملهٔ 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 زنجیرهٔ 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 جملهٔ آنها، تولید ترکیبات آنزیمی و غیرآنزیمی است؛ بدین صورت که مقدار گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌های گیاهی به‌وسیلهٔ 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 به‌وسیلهٔ آنزیم‌های متعددی از جمله پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون 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 تنظیم‌کنندهٔ 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 درجهٔ حرارت کم، شوری، کمبود مواد غذایی، قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین، اسیدیتهٔ بالا و کمبود رطوبت صورت گیرد (Delauney & Verma, 1993).

مطالعات نشان داده است که بسیاری از اراضی شور به 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 Gadallah (2000) و آفتابگردان Mirzapour & Khoshgoftar (2006) 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). نتیجهٔ 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 ازاین‌رو در شرایط تنش، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر کمبود عناصر ریزمغذی کاهش یافته و در نتیجهٔ آن حساسیت گیاهان به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد (Cakmak, 2000).

استفاده از فناوری نانو در همهٔ 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 تغذیهٔ 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

باز گلخانهٔ پژوهشی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان (میانگین دمایی ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد و بدون بارش معنی‌دار) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. عوامل آزمایشی شامل دو رقم ذرت تودهٔ بذری و سینگل کراس۷۰۴ تهیه‌شده از مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان، سه تیمار محلول‌پاشی (اکسید روی، نانواکسید روی و شاهد محلول‌پاشی آب مقطر) و سه سطح شوری (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بود. ویژگی‌های خاک مورد استفاده در جدول ۱ ثبت شده است.

جدول ۱. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

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

شوری خاک اندازه‌گیری‌شده به‌وسیلهٔ تانسیومتر پیش از افزودن کلرید سدیم با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار حدود ۲/۱ دسی‌زیمنس بر متر و پس از افزودن نمک، حدود ۱۲/۲ دسی‌زیمنس بر متر بود. بذور در گلدان‌های ۱۰ لیتری و در عمق ۳ سانتی‌متری خاک کاشته شدند. ابتدا ۱۰ بذر در هر گلدان کشت شد و در مرحلهٔ دو برگ حقیقی، بوته‌های اضافی حذف شدند و در هر گلدان پنج بوته نگهداری شد. آبیاری گلدان‌ها به‌منظور حفظ رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی هر روز یک‌بار انجام گرفت. محلول غذایی نیترات پتاسیم در غلظت دو در هزار در مرحلهٔ دوبرگی و به‌مقدار ۵۰۰ سی‌سی به هر گلدان اضافه شد. پودر اکسید روی به هر دو فرم معمول و نانوذرات (با میانگین قطر ذرات ۱۰ تا ۳۰ نانومتر) تهیه شد. تیمارهای شوری دو هفته پس از سبز شدن گیاهان (مرحلهٔ چهار برگ حقیقی) به‌تدریج و طی چهار مرحله اعمال شد. محلول‌پاشی 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 برگ‌ها، محلول‌پاشی هنگام غروب آفتاب انجام گرفت. برداشت گیاهان دو هفته پس از مرحلهٔ سوم محلول‌پاشی صورت گرفت. برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی ابتدا نمونه‌های گیاهی به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲درجهٔ سانتی‌گراد خشک و سپس توزین شدند. نمونه‌های گیاهی درنظر گرفته‌شده برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بلافاصله پس از نمونه‌گیری در دمای ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ابتدا نمونه‌های برگی توسط نیتروژن مایع پودر شد و ۰/۱ گرم از آن به‌کمک یک میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با pH ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و PVP ۱ درصد (پلی‌وینیل پیرولیدون) همگن شد. سپس عصاره به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و از محلول رویی به‌دست‌آمده به‌عنوان عصارهٔ آنزیمی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استفاده شد (Esfandiari *et al.*, 2007).

کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز در ۳ میلی‌لیتر بافر واکنش به‌صورت ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیمی با pH=۷، ۱۰میلی‌مولار آب اکسیژنه و ۴۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی براساس روش Aebi (1984) اندازه‌گیری شد. پس از افزودن آب اکسیژنه، فعالیت آنزیم در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه طیف‌سنج (HITACHI u-1800) اندازه‌گیری شد.

سوپراکسید دسموتاز

به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز از روش Nishikimi *et al.* (1972) استفاده شد. برای تهیهٔ ترکیب واکنش از ۱۳ میلی‌مول متیونین، ۲۵ میکرومول نیتروبلوتترازولیوم، ۶ میکرومول محلول ۰/۵مولار EDTA، ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول ۱ مولار فسفات بافر (pH= ۷/۸)، ۶۰ میکرومول ریبوفلاوین ۱میلی‌مولار و

۵۰ میلی‌مول سدیم بیکربنات استفاده شد. سپس ۲/۹ میلی‌لیتر از مخلوط حاصل داخل تیوپ استریل ریخته شد و بی‌درنگ پس از افزودن ۲ میکرومول ریبوفلاوین و ۰/۱ میلی‌لیتر عصارهٔ آنزیمی، به‌مدت ۱۵ دقیقه زیر نور لامپ فلورسانس قرار داده شد. برای تعیین فعالیت آنزیم SOD، مخلوط حاصل در طول موج ۵۶۰ نانومتر طیف‌سنجی شد.

آسکوربات پراکسیداز

برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم از روش Nakano & Asad (1981) استفاده شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در یک میلی‌لیتر بافر واکنش به‌صورت ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم با pH=۷، ۰/۵ میلی‌مولار اسکوربیک اسید، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۱/۲۵ میلی‌مولار آب اکسیژنه و ۶۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی اندازه‌گیری شد. سپس فعالیت APX در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد. شایان ذکر است که EC آسکوربات پراکسیداز برابر ۲/۸ $mM^{-1}cm^{-1}$ در نظر گرفته شد.

محتوای مالون دآلدئید

برای اندازه‌گیری محتوای مالون دآلدئید ابتدا ۰/۱ گرم برگ تازه در ۲/۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ساییده و به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۲/۲۵ میلی‌لیتر محلول تیوباربی‌تیوریک اسید اضافه و ۳۰ دقیقه روی حمام بن‌ماری با دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از آن به‌منظور متوقف شدن واکنش بلافاصله در یخ قرار گرفت. سپس نمونه‌ها سانتریفیوژ شد و مقدار جذب در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و محتوای مالون دآلدئید محاسبه شد (Hodges *et al.*, 1999). ضریب خاموشی به‌کاررفته برای محاسبهٔ غلظت مالون دآلدئید ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$ بود.

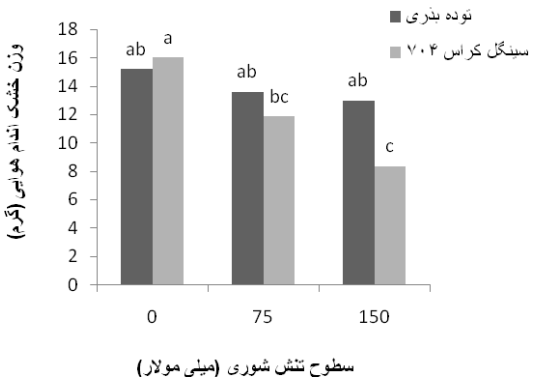
محتوای پرولین

محتوای پرولین با استفاده از روش Bates (1973) اندازه‌گیری شد. ۴۰۰ میلی‌گرم از برگ تازه به داخل هاون چینی انتقال یافت و با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد به آن در هاون کوبیده شد. سپس محلول حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده به همراه ۲ میلی‌لیتر محلول ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک درون یک لولهٔ آزمایش ریخته شد و به‌مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد در حمام بن‌ماری قرار گرفت. برای متوقف شدن واکنش، لوله‌های حاوی محلول بی‌درنگ در یخ قرار داده شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه و بعد از تکان دادن، محلولی دوفازی تشکیل شد که فاز بالایی برای اندازه‌گیری پرولین به‌کار گرفته شد. نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر طیف‌سنجی شدند. محتوای پرولین براساس میکرومول پرولین در گرم برگ تازه محاسبه شد.

نتایج

وزن خشک اندام هوایی

تأثیر رقم، شوری، محلول‌پاشی و اثر متقابل رقم و شوری بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار بود (جدول‌های ۲ و ۳). در شرایط غیرشور تفاوت بین دو رقم از نظر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار نبود، ولی در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار وزن خشک گیاه در تودهٔ بذری به‌طور معنی‌داری بیشتر از رقم سینگل کراس ۷۰۴ بود (شکل۱). در واقع کاهش وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای شور نسبت به تیمار غیرشور در تودهٔ بذری کمتر از رقم سینگل کراس ۷۰۴ بود (شکل ۱). نتایج بیانگر این نکته است که تودهٔ بذری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ در مراحل اولیهٔ رشد، در برابر شوری مقاومت بیشتری دارد.



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

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

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

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

عامل آزمایشی	وزن خشک اندام هوایی	پرولین	سوپراکسیددسموتاز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	مالون د آلدوید
شوری (میلی مولار)						
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 معنی‌دار در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

محتوای پرولین برگ

تأثیر رقم، شوری و اثر متقابل رقم و شوری بر محتوای پرولین در برگ‌ها معنی‌دار بود (جدول۲). در تیمار شاهد غیرشور، تفاوت بین دو رقم از نظر محتوای پرولین در برگ‌ها معنی‌دار نبود؛ ولی در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محتوای پرولین در تودهٔ بذری به‌طور معنی‌داری 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 تودهٔ بذری بیشتر از رقم سینگل کراس ۷۰۴ بود. تأثیر محلول‌پاشی اکسید روی بر محتوای پرولین از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲).

محتوای مالون دآلدئید برگ

تنها شوری تأثیر معنی‌داری بر محتوای مالون دآلدئید برگ‌ها (در سطح احتمال ۱درصد) داشت (جدول۲). غلظت مالون دآلدئید تحت سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به تیمار شاهد غیرشور افزایش نشان داد. تأثیر رقم، محلول‌پاشی و اثر متقابل عوامل آزمایشی بر محتوای مالون دآلدئید در برگ‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود.

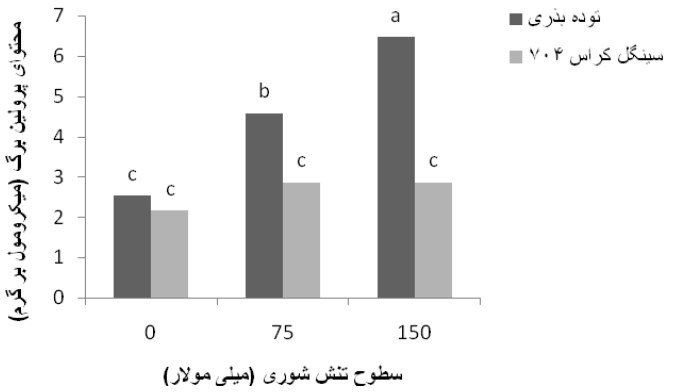
فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ

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

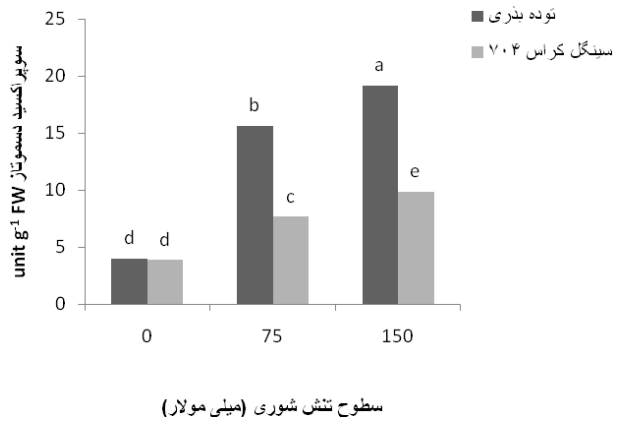
آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در شرایط غیرشور تفاوت معنی‌داری بین دو رقم تودهٔ بذری و سینگل کراس از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ وجود نداشت، hlh در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار، فعالیت این آنزیم‌ها در تودهٔ بذری به‌طور معنی‌داری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر بود. شوری سبب افزایش چشمگیر فعالیت آنزیم‌های یادشده در هر دو رقم ذرت شد، به‌طوری که این افزایش در تودهٔ بذری نسبت به رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر بود (شکل‌های ۳ تا ۵).

تأثیر محلول‌پاشی اکسید روی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). صرف نظر از رقم و تنش شوری، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در اثر محلول‌پاشی اکسید روی در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی افزایش یافت. فعالیت این آنزیم در تیمار محلول‌پاشی اکسید روی به فرم نانوذرات نسبت به تیمار شاهد عدم محلول‌پاشی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود، درحالی که تفاوت بین تیمار محلول‌پاشی اکسید روی به فرم معمول آن با شاهد از نظر آماری معنی‌دار نبود.

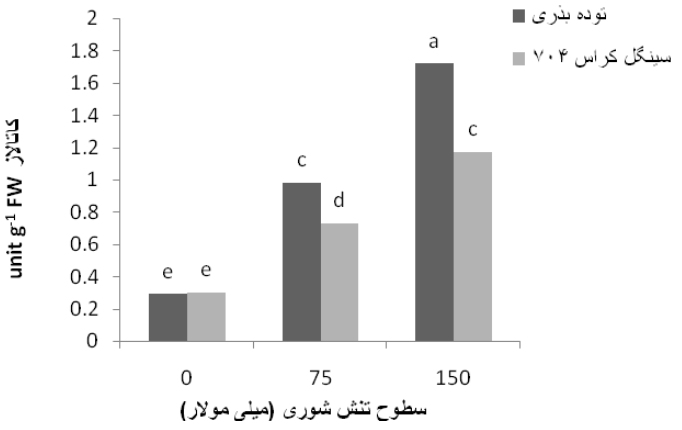
اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی اکسید روی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). صرف نظر از رقم، با افزایش سطوح شوری، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در محلول‌پاشی نانوذرات اکسید روی تحت تنش ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده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



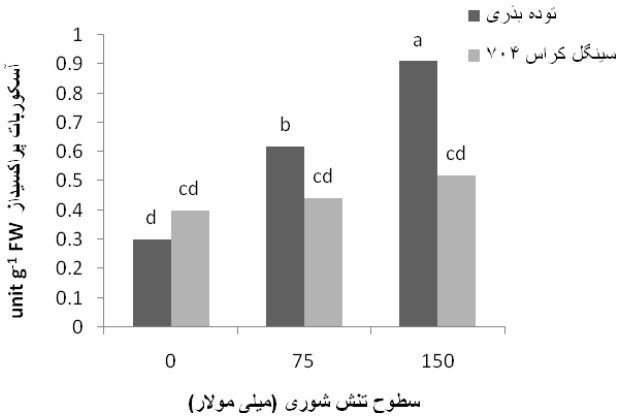
شکل ۲. تأثیر تنش شوری بر محتوای پرولین برگ دو رقم ذرت



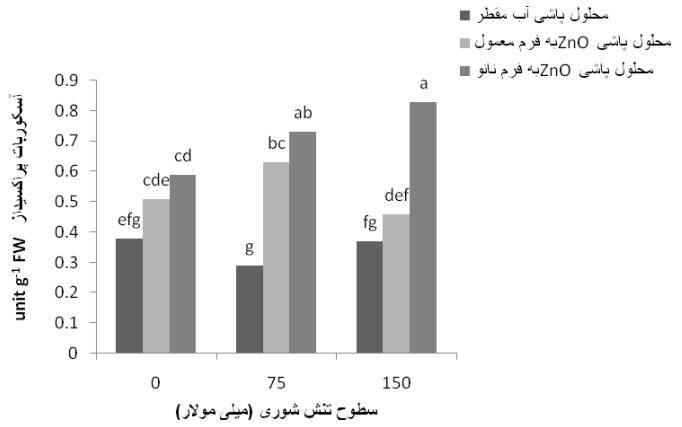
شکل ۳. تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز برگ دو رقم ذرت



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 محلول‌پاشی اکسید روی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری

بحث

با توجه به نتایج این آزمایش، وزن خشک اندام هوایی در اثر تنش شوری در هر دو سطح ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به تیمار شاهد غیرشور کاهش یافت و این کاهش در رقم سینگل کراس۷۰۴ به‌طور معنی‌داری بیشتر از تودهٔ بذری بود. این نتیجه بیانگر این است که تودهٔ بذری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ در مراحل اولیهٔ رشد، در برابر

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 مطالعهٔ حاضر، افزایش محتوای پرولین در تودهٔ بذری در مقایسه با رقم سینگل کراس ۷۰۴ بیشتر بود که به‌نظر می‌رسد این نتیجه بیانگر ارتباط بین افزایش محتوای پرولین در شرایط شور و تحمل بیشتر تودهٔ بذری است. همبستگی مثبت تجمع پرولین در گیاه با مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی گزارش شده است (Delauney, 1993). در آزمایشی با مطالعهٔ 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 صدمهٔ تنش شوری به غشای سلولی و در نتیجه تجمع مالون دآلدئید در برگ‌هاست. با این‌حال معنی‌دار نشدن اثر متقابل رقم و شوری بر محتوای مالون دآلدئید نشان‌دهندهٔ واکنش مشابه دو رقم مورد مطالعه از این نظر است. در مطالعهٔ Sairam *et al.* (2002) شوری در تمام سطوح سبب افزایش غلظت مالون دآلدئید در هر دو ژنوتیپ مقاوم و نیمه‌مقاوم مورد مطالعهٔ 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 مطالعهٔ ذرت شد. میزان افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در شرایط شور در رقم تودهٔ 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 گلوتاتیون ردوکتاز در 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 مادهٔ خشک در تیمار محلول‌پاشی روی افزایش چشمگیری نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی نشان داد (Peaslee *et al.*, 1981). در زمینهٔ تأثیر نانوذرات اکسید روی بر رشدونمو ذرت اطلاعاتی در دسترس نیست. در عین‌حال در آزمایشی نتایج مشابهی برای گیاه آفتابگردان به‌دست 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 مطالعهٔ حاضر اثر متقابل محلول‌پاشی اکسید روی و شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار شد. به‌عبارت دیگر، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط شور به‌خصوص 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 به‌دست‌آمده، ذرات نانو به‌دلیل نسبت سطح به حجم بیشتر، قابلیت جذب و انتقال بیشتری در مقایسه با فرم معمول داشت و در این آزمایش نیز

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 محلول‌پاشی نانوذرات روی و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دو نکته شایان بررسی است. اول اینکه ممکن است افزایش بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌دلیل اثرهای تنش‌زای 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 توجیه‌پذیر 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.

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 Wewstern 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. *Pakestanian 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. Esfandiar, 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 Elementolgy*, 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. & Khajehpour, 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., Sreeprasad, 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)