

## بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر عملکرد و اجزای عملکرد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه عدس (*Lens culinaris Medik*)

میلاذ سلطانی<sup>۱</sup>، پیام معاونی<sup>۲</sup>، حسین نوری<sup>۳\*</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان، تاکستان

<sup>۲</sup> استادیار، دانشگاه آزاد واحد شهر قدس

<sup>۳</sup> کارشناس ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱/۲۲

### چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در سال ۱۳۹۰ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ۶ سطح محلول پاشی با نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴ و ۰/۰۵ درصد) و دو زمان محلول پاشی (۶۰ درصد ساقه‌روی و ۵۰ درصد گلدهی) بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل محلول پاشی غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله رشدی روی صفات عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، وزن صد دانه، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و شاخص برداشت معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میانگین وزن صد دانه از غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک از غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی و شاخص برداشت از غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۵ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی بدست آمد. همچنین بیشترین میانگین فعالیت کاتالاز از تیمار ۰/۰۵ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۴ درصد در مرحله گلدهی و فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز در غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۳ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی حاصل شد.

**واژگان کلیدی:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ساقه‌روی، عدس، عملکرد، گلدهی، نانو دی‌اکسید تیتانیوم

### مقدمه

محصولات صورت گرفت، که البته در کنار آن استفاده بی‌رویه از منابع مشکلاتی را نیز در پی داشت. اکنون با گذشت سال‌ها از وقوع انقلاب سبز و کاهش مجدد نسبت رشد تولیدات کشاورزی به جمعیت جهان لزوم به کارگیری فناوری جدید در صنعت کشاورزی پیش از هر زمانی دیگری آشکار است (جابرزاده و همکاران، ۱۳۸۹). در این بین فناوری نانو به‌عنوان یک

ورود نسل اول فناوری‌ها به عرصه کشاورزی، در چند دهه گذشته منجر به وقوع انقلاب سبز و گذار از کشاورزی سنتی به کشاورزی صنعتی گردید. در این دوره افزایش چشم‌گیری در کیفیت و کمیت

\* نویسنده مسئول: hossein\_nouri2010@yahoo.com

موجب ایجاد نگرانی در مورد اثرات بالقوه آنها روی محیط زیست شده است. طی سال‌های اخیر استفاده از نانو اکسید تیتانیوم روند رو به افزایشی را نشان داده است. اظهار شده است که تیتانیوم یکی از عناصر سودمند جهت گیاه است و می‌تواند جذب برخی عناصر نظیر نیتروژن، فسفر، کلسیم، منیزیم، آهن، منگنز و روی را تحریک نماید (Pais, 1983). که این امر به برخی عوامل بیولوژیک و خاک مثل گونه و رقم گیاه، pH، رطوبت و وضعیت عناصر غذایی در خاک بستگی دارد.

عدس (*Lens culinaris Medik*) یکی از قابل هضم‌ترین حبوبات محسوب می‌شود که دارای منبع پروتئین با ارزش ۲۵ درصد است. کاه و کلش، پوسته غلاف آن دارای ارزش غذایی بالایی است که به مصرف دام می‌رسد (Majnoun hosseini, 2008). میزان پروتئین موجود در دانه‌های حبوبات ۲-۳ برابر میزان پروتئین غلات و ۱۰-۲۰ برابر بیشتر از پروتئین گیاهان غده‌ای است (Munir et al., 2004).

تاکنون مطالعات مختلفی در مورد محلول‌پاشی ذرات نانو روی صفات کمی و کیفی گیاهان مختلف انجام شده است (Lu et al., 2002). در این خصوص Moaveni و همکاران (۲۰۱۱) طی تحقیقاتی که بر روی گیاه (*Calendula officinalis*) انجام دادند گزارش کردند اثر نانو ذرات تیتانیوم در شرایط تنش روی شاخص‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود و بیشترین میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمیوتاز برای نانو ذرات ۰/۰۲ درصد و کمترین میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمیوتاز برای تیمار شاهد، بیشترین میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز برای تیمار ۰/۰۳ درصد و کمترین میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز برای تیمار شاهد به دست آمد. همچنین طی تحقیقی بر روی گیاه ذرت گزارش شد اثر نانو ذرات تیتانیوم بر روی

فناوری بین رشته‌ای و پیش‌تاز رفع مشکلات و کمبودها در بسیاری از عرصه‌های علمی، به خوبی جایگاه خود را در علوم کشاورزی و صنایع وابسته آن به اثبات رسانده است. فناوری نانو کاربردهای وسیعی در بخش کشاورزی از جمله افزایش تولیدات زراعی، کم کردن سموم و کودها و در کنار حفظ محیط زیست و منابع کره زمین دارد (Montano et al., 1986). به‌طور کلی مزایای استفاده از نانوکودها عبارتند از: ۱) افزایش راندمان و کیفیت منابع غذایی به واسطه‌ی سرعت جذب بالاتر؛ ۲) عدم اتلاف کودها توسط آبشویی و جذب کامل کود توسط گیاه به دلیل رهاسازی عناصر غذایی کود با سرعت مطلوب در تمام طول فصل رشد؛ ۳) کاهش قابل توجه آلودگی خاک، ذخایر آبی و محصولات غذایی به واسطه کاهش آبشویی کودها؛ ۴) کاهش میزان فشردگی خاک و سرعت از دست رفتن کیفیت آن؛ ۵) کاهش مسمومیت گیاهی و تنش ناشی از وجود غلظت‌های بسیار بالای موضعی نمک در خاک؛ ۷) افزایش عملکرد به واسطه وضعیت تغذیه‌ای مطلوب گیاه و ۸) بهبود خواص انبارداری و سهولت جابجایی کود (Cui et al., 2006). نانو ذره  $TiO_2$  به‌عنوان یکی از نانو بلورهای نیمه‌هادی اکسید فلزی، جایگاه ویژه‌ای در جهان صنعتی امروز یافته و توجه بسیاری از دانشمندان را به خود جلب کرده است:  $TiO_2$  به سه شکل بلوری شامل آناتاز (چهاروجهی با ۳/۸۹۴ گرم بر سانتی‌متر مکعب)، روتایل (چهاروجهی با ۴/۲۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب) و بروکیت (بی‌شکل با چگالی ۴/۱۲ گرم بر سانتی‌متر مکعب) موجود است (Salari et al., 2007; Ahmad et al., 2007). نانو ذره نانو اکسید تیتانیوم کلیه خصوصیات  $TiO_2$  را دارا بوده و همچنین به واسطه کوچکی اندازه ذرات، سطح تماس آن با مواد افزایش یافته و کارایی و اثر بخشی بیشتری دارد (Karimi and Mirjalili, 2009) به‌طوری‌که خواص غیر معمول،

گلدھی در تاریخ ۸ تیرماه ۹۰) به عنوان عامل B انجام شد. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم از شرکت نانو پارس لیما تهیه شد که مشخصات نانو دی اکسید تیتانیوم به شرح جدول ۱ است. بذور عدس مورد مطالعه رقم محلی زنجان بود. همچنین بر اساس نتایج آزمون خاک، به دلیل نیاز خاک به کود، قبل از کاشت مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود دی فسفات آمونیوم و کود سوپر پتاس به میزان ۱۲۱ کیلوگرم در هکتار به طور یکنواخت در زمین پخش شد. برای آماده سازی بستر کشت، ابتدا زمین مورد نظر در پاییز شخم زده شد. سه هفته قبل از کشت محل آزمایش با علف کش ترفلان به منظور مبارزه با بانک بذر علف های هرز موجود در خاک در فروردین ماه سم پاشی شد و سپس یک دیسک سطحی زده شد. عملیات کاشت در اواسط اردیبهشت ماه ۱۳۹۰ انجام شد. برای تهیه غلظت های نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم به میزان لازم از پودر نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم توزین گردید و با آب مقطر به حجم رسانده و با دستگاه هم زن به خوبی حل گردید که میزان محلول نانو ذرات دی کسید تیتانیوم جهت محلول پاشی در هر کرت ۱/۵ لیتر (برای هر دوز ۶ لیتر) مصرف شد. محلول پاشی در صبح زود قبل از طلوع آفتاب به کل عدس ها به ساقه و برگ های بالایی و برگ های پایینی انجام شد.

کرت های آزمایشی به صورت جوی و پشته تهیه شدند، که هر یک دارای ۶ خط کاشت، به طول ۴ متر به فاصله ۵۰ سانتی متر از هم بودند و بذور به فاصله ۱۰ سانتی متر از هم روی پشته ها کشت شدند. مبارزه با علف های هرز به دلیل رشد مجدد برخی از گونه های علف هرز به صورت دستی و در دو مرحله انجام گرفت. برداشت محصول پس از رسیدگی فیزیولوژیک انجام گرفت و از هر کرت آزمایشی ۱۰ بوته به صورت تصادفی با رعایت حاشیه، برداشت گردید و صفات تعداد شاخه در بوته، تعداد بوته، وزن

شاخص های سوپر اکسید دیسمیوتاز، کاتالاز و در سطح ۱ درصد معنی دار بود و بیشترین میانگین فعالیت آنزیم های سوپر اکسید دیسمیوتاز و کاتالاز در محلول پاشی نانو ذرات تیتانیوم ۰/۰۳ درصد به دست آمد (Moaveni et al., 2011b).

از طرفی نتایج تحقیقات Lu و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد  $\text{SiO}_2$  و  $\text{TiO}_2$  فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز را در سویا و محلول پاشی  $\text{TiO}_2$  عملکرد دانه سویا را افزایش داد. نانو ذرات آهن در غلظت ۰/۷۵ گرم در لیتر باعث افزایش سطح برگ، وزن غلاف و عملکرد گردید (Reynolds, 2002). Salehi (۲۰۰۸) گزارش کرد محلول پاشی نانو ذرات نیترات نقره سبب افزایش ترکیبات پلی فنولی در گیاه گل گاو زبان می شود. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم روی عملکرد و اجزای عملکرد و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاه عدس انجام گرفت.

#### مواد و روش ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان با عرض ۳۵ درجه و ۲۵ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی، طول ۴۷ درجه و ۱ دقیقه تا ۴۹ درجه و ۵۲ دقیقه شرقی انجام شد. این مکان در ارتفاع ۱۶۳۴ متر از سطح دریا قرار دارد و دارای متوسط بارندگی حدود ۲۹۳/۵ میلی متر، که معمولاً از اواخر آبان شروع و تا اواسط بهار ادامه می یابد می باشد، خاک محل آزمایش لوم رسی بود. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح نانو ذرات تیتانیوم در شش سطح (شاهد، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴، ۰/۰۵ درصد) به عنوان عامل A و در طی دو مرحله (۶۰ درصد ساقه روی در تاریخ ۱۳ و ۱۴ خردادماه و ۵۰ درصد

بوته، عملکرد دانه (براساس ۱۴ درصد رطوبت)، گردید.  
عملکرد بیولوژیک و درصد شاخص برداشت محاسبه

جدول ۱: مشخصات نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم مصرف شده

TiO <sub>2</sub> P25	درصد	ظاهر نانو ذرات	میانگین اندازه نانو ذرات	محدوده سطح مخصوص	وزن	کشور تولید
	خلوص	دی اکسید تیتانیوم	دی اکسید تیتانیوم	نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم	خالص	کننده
	۹۹/۵	پودر سفید	۲۱ نانومتر	> ۵۰ m <sup>2</sup> /g	۵۰ گرم	آلمان

اسکوربات پراکسیداز به صورت تعداد میکرومول آب اکسیژنه تجزیه شده در ۲ دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید.

تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد همچنین مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح ۵ درصد با نرم‌افزار Mstat-c انجام گرفت و ترسیم شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 انجام گرفت.

### نتایج

**عملکرد دانه:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در مرحله رشدی روی صفت عملکرد دانه در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین بین تیمارهای اثر متقابل نشان داد که غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی دارای بیشترین عملکرد دانه بود و غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در مرحله گلدهی دارای کمترین عملکرد دانه بود (جدول ۳).

**عملکرد بیولوژیک:** عملکرد بیولوژیک یکی از شاخصه‌هایی است که با در نظر گرفتن آن می‌توان اثر عوامل محیطی بر عملکرد گیاهان زراعی را مورد بررسی قرار داد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در مرحله

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ: بر طبق روش Ghanati و همکاران (۲۰۰۲) تعیین شد. فعالیت آنزیمی با افزودن مقادیر مناسب از عصاره آنزیمی به مخلوط بافر گایاکول با غلظت ۵ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت ۵ میلی‌مولار که در ظرف مخصوص دستگاه طیف‌سنج ریخته شد آغاز گردید و به مدت ۲ دقیقه تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز برگ:** سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Horst و Cakmak (۱۹۹۱) انجام شد. ۰/۲ گرم نمونه منجمد در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات در ظرف کوارتزی دستگاه طیف‌سنج ریخته شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب اکسیژنه با غلظت ۱۰ میلی‌مولار به آن اضافه شد و عصاره‌گیری انجام شد. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش در جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه پیگیری شد و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید.

**سنجش فعالیت اسکوربات پراکسیداز در برگ:** سنجش فعالیت اسکوربات پراکسیداز به روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) انجام شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر سدیم فسفات در ظرف کوارتزی دستگاه طیف‌سنج ریخته شد سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر آب اکسیژنه با غلظت ۱۰ میلی‌مولار به آن اضافه گردید و عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش فعالیت ویژه آنزیم

بیشترین عملکرد بیولوژیک و غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در مرحله گلدهی کمترین عملکرد بیولوژیک را داشته اند (جدول ۳).

رشدی روی صفت عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد در صفت عملکرد بیولوژیک غلظت های نانوذرات دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه روی

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه اثر کود و مرحله رشدی

میانگین مربعات									
منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیک	شاخص برداشت	وزن صد دانه	تعداد شاخه در بوته	فعالیت کاتالاز	فعالیت پراکسیداز	فعالیت آسکوربات پراکسیداز
تکرار	۳	۰/۴۶ <sup>ns</sup>	۵/۳۵ <sup>**</sup>	۱۰/۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۹۳ <sup>ns</sup>	۲۱/۵ <sup>ns</sup>	۰/۲۳	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۵ <sup>ns</sup>
غلظت (A)	۵	۷۷/۳۱ <sup>**</sup>	۵۷۲/۰۵ <sup>**</sup>	۳/۴۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۹۶ <sup>ns</sup>	۲۱/۶ <sup>ns</sup>	۷/۲ <sup>**</sup>	۰/۱۵ <sup>**</sup>	۰/۲۵ <sup>**</sup>
مرحله رشدی (B)	۱	۱۱۵۳/۴۶ <sup>**</sup>	۸۳۹۹/۷۱ <sup>**</sup>	۲/۲۸ <sup>ns</sup>	۰/۴۸ <sup>**</sup>	۴/۵ <sup>ns</sup>	۳/۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۶ <sup>ns</sup>
A*B	۵	۱۶۶/۶۷ <sup>**</sup>	۱۲۷۵/۹ <sup>**</sup>	۱۰/۶۵ <sup>*</sup>	۰/۲۸۵ <sup>**</sup>	۶/۵ <sup>ns</sup>	۶/۱۴ <sup>**</sup>	۰/۰۶ <sup>**</sup>	۰/۰۶ <sup>**</sup>
خطا	۳۳	۱/۵۶	۷/۵۳	۴/۳۶	۱/۰۴۳	۱۲/۵	۰/۴۶	۰/۰۰۲	۰/۰۲
ضریب تغییرات		۱۳/۲۷	۱۰/۶۸	۵/۶۸	۱۳/۱۹	۲۹	۵۹	۲۳	۳۳

\*\* و \* به ترتیب معنی داری در سطح یک و پنج درصد و ns غیر معنی داری را نشان می دهد.

محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه روی و کمترین شاخص برداشت مربوط به تیمار با غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۴ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه روی بود (جدول ۳).  
تعداد شاخه در بوته: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم × مرحله رشدی روی صفت تعداد شاخه در بوته در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار نبود (جدول ۲).

**شاخص برداشت:** شاخص برداشت یکی از شاخص های مهم فیزیولوژیکی است که بیانگر درصد انتقال مواد فتوسنتزی از اندام های رویشی گیاه به دانه هاست. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در مرحله رشدی روی صفت شاخص برداشت در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد بیشترین شاخص برداشت مربوط به تیمار با غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۵ درصد و

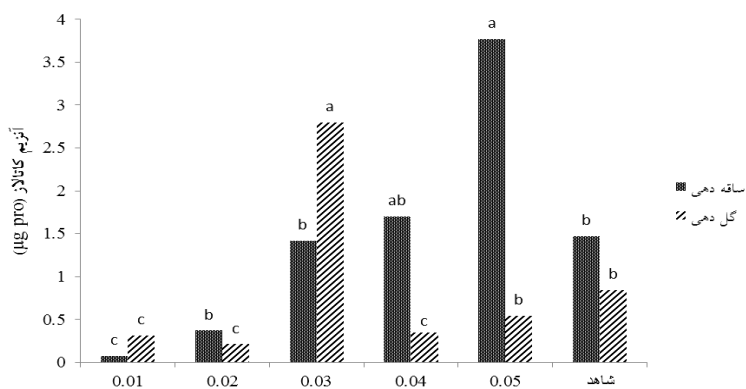
جدول ۳: مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری تحت تاثیر سطوح مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و مرحله رشدی

مرحله رشدی	تیمار نانو تیتانیوم (درصد)	عملکرد دانه (گرم در بوته)	عملکرد بیولوژیک (گرم در بوته)	شاخص برداشت (درصد)	وزن ۱۰۰ دانه (g)
مرحله ۶۰ درصد ساقه‌دهی	شاهد	۵/۳def	۱۴/۲۹fg	۳۷/۲۴abc	۱۵/۷۵bc
	۰/۰۱	۲۱/۴۸a	۵۶/۰۱b	۳۸/۲۸ab	۲۱/۷۵a
	۰/۰۲	۲۳/۱۰a	۶۵/۱۵a	۳۵/۵۸bc	۱۶/۵۰bc
	۰/۰۳	۱۸/۱۷b	۴۸/۷c	۳۷/۲۸abc	۱۳/۲۵c
	۰/۰۴	۱۱c	۳۱/۷۲d	۳۴/۶۰c	۱۵/۲۵bc
۵۰ درصد گلدهی	۰/۰۵	۶/۸۷ode	۱۷/۵۷ef	۳۸/۹۴a	۱۸/۲۸ab
	شاهد	۵/۳def	۱۴/۲۹fg	۳۷/۲۴abc	۱۵/۷۵bc
	۰/۰۱	۳/۳f	۹/۰۳۳gh	۳۶/۹۲abc	۱۳/۲۵c
	۰/۰۲	۲/۶۲of	۷/۰۳h	۳۷/۳۶abc	۱۴/۰۰bc
	۰/۰۳	۳/۹۵f	۱۱/۱۳gh	۳۵/۶۹bc	۱۵/۷۵bc
	۰/۰۴	۴/۵۷ef	۱۲/۳۱fgh	۳۶/۹۷abc	۱۵/۰۰bc
	شاهد	۵/۳def	۱۴/۲۹fg	۳۷/۲۴abc	۱۵/۷۵bc

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشند.

کاتالاز در تیمار ۰/۰۵ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم محلول‌پاشی در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌رویی و کمترین مقدار فعالیت در تیمار ۰/۰۱ نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم محلول‌پاشی شده در مرحله گلدهی به دست آمد (جدول ۳).

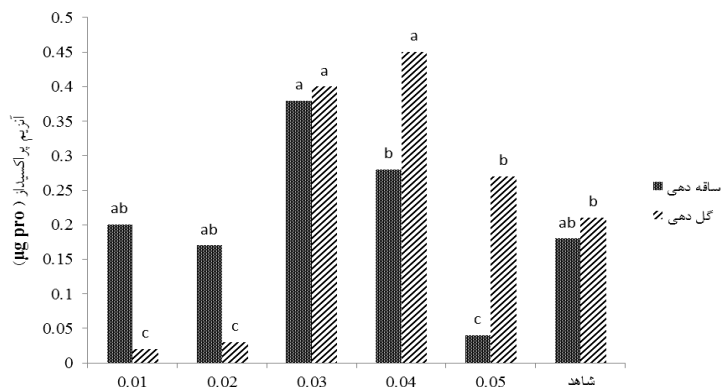
فعالیت آنزیم کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله رشدی روی فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد بیشترین میانگین فعالیت آنزیم



شکل ۱: اثرات متقابل نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و مرحله رشدی بر فعالیت آنزیم کاتالاز

پراکسیداز در تیمار ۰/۰۴ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم محلول‌پاشی در مرحله گلدهی و کمترین مقدار فعالیت در تیمار ۰/۰۱ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم محلول‌پاشی در مرحله گلدهی به دست آمد (جدول ۳)

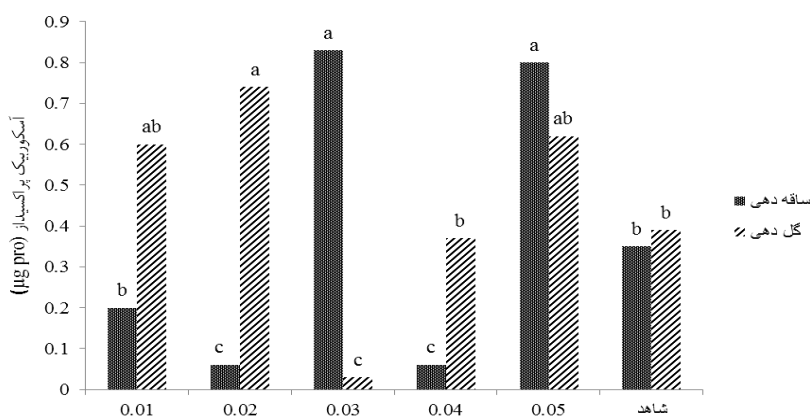
فعالیت آنزیم پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله رشدی روی صفت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد بیشترین میانگین فعالیت آنزیم



شکل ۲: اثرات متقابل نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و مرحله رشدی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

پراکسیداز مربوط به تیمار ۰/۰۳ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه دهی و کمترین میانگین مربوط به تیمار ۰/۰۳ درصد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در مرحله گلدهی بود.

فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز: با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهده شد که غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در مرحله رشدی در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار بود. (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد بیشترین مقدار فعالیت آسکوربیک



شکل ۳: اثرات متقابل نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و مرحله رشدی بر آنزیم اسکوربات پراکسیداز

دانه بسیاری از گیاهان رابطه بسیار نزدیک با تولید کل بیوماس در مقایسه با شاخص برداشت دارد (Abid et al., 2004). کاهش فرآورده های فتوسنتزی از جمله عواملی است که تولید بیوماس را به سبب جلوگیری از رشد گیاه، محدود می کند (Sandor et al., 2006). محققین نشان دادند اثر نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر روی جو عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود و بیشترین میانگین (۲۱۴۸۱/۴) تن در هکتار) برای عملکرد بیولوژیک را برای نانو ذرات

### بحث

نتایج این تحقیق نشان داد احتمالاً با کاربرد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم رشد گیاه تحت تاثیر کود نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم قرار گرفته و شاخص سطح برگ و فتوسنتز گیاه افزایش و در نهایت موجب ازدیاد عملکرد دانه شده است. این نتایج با نتایج Moaveni و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت داشت. این محققین بیان کردند محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم منجر به افزایش عملکرد دانه در گیاه جو می شود. عملکرد

دی‌اکسید تیتانیوم و کمترین میانگین را برای شاهد (Moaveni et al., 2011a). همچنین نتایج نشان داد کود نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش عملکرد بیولوژیک شد. به نظر می‌رسد محلول‌پاشی در مرحله ساقه‌روی باعث افزایش رشد رویشی شده است که سبب بهبود پتانسیل تولید برای اندام‌های زایشی و در نتیجه باعث افزایش عملکرد دانه می‌شود. در بعضی تیمارهای کودی به علت طولانی شدن فصل رشد، مدت استفاده از منابع محیطی نظیر انرژی خورشیدی و مواد غذایی خاک افزایش می‌یابد که منجر به افزایش بیوماس گیاه شده و بر مقدار مواد فتوسنتزی افزوده می‌شود. همچنین بدلیل مناسب بودن شرایط محیطی تعداد پرایموردیای گل و غلاف بیشتر و تسهیم مواد فتوسنتزی به نحو مطلوب باعث افزایش عملکرد دانه و شاخص برداشت می‌شود. Zecevic و Knezevic (۲۰۰۵) بیان کردند که صفت شاخص برداشت توسط عوامل ژنتیکی و محیطی کنترل می‌شود اما نقش عوامل ژنتیکی در کنترل این صفت به مراتب بیشتر است.

نتایج نشان داد که تعداد شاخه در بوته تحت تاثیر تیمارهای نانو قرار نگرفت. از مهمترین عواملی که در معنی‌دار نشدن این صفت در سطوح مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم نقش داشته می‌توان به این دلیل اشاره کرد که عدس گیاهی است با توانایی رشد نامحدود که می‌تواند همواره شاخه‌های فرعی ایجاد کند، در نتیجه اعمال تیمار کودی در مرحله‌ای از رشد این گیاه نمی‌تواند تاثیر معنی‌داری بر این صفت اعمال کند. Clarke و Simpson (۱۹۷۸) گزارش کردند شاخه‌های فرعی در کلزا به ندرت تحت تاثیر تیمار آبیاری قرار می‌گیرد. با این حال اعمال تیمار کودی نانو باعث افزایش تعداد شاخه‌های فرعی شده و در نتیجه عملکرد را تحت تاثیر قرار می‌دهد به طوری که

تیمار ۰/۰۵ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بیشترین تعداد شاخه فرعی را داشت. با این حال این افزایش در شاخه فرعی منجر به افزایش در عملکرد نشد که می‌توان دلیل این را افزایش میزان غلاف‌های پوک دانست.

آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز نقش موازی و مشابهی را در سیستم دفاعی گیاه ایفا می‌نمایند. به طوری که وظیفه هر سه آنزیم، سم‌زدایی و تجزیه پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول‌ها می‌باشد (Ariano et al., 2005).

از سوی دیگر یکی از علت‌های مهم آسیب بافتی در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی یا کودی قرار می‌گیرند، ایجاد تنش اکسیداتیو است. رادیکال‌های اکسیژن عمدتاً در کلروپلاست و میتوکندری تولید می‌شوند و با ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو بر چربی‌ها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها سبب اختلال در متابولیسم طبیعی سلول، اختلال فرآیندهای مهم تنفس و فتوسنتز و کاهش رشد می‌شوند (Mishra et al., 2006).

تحت شرایط تنش‌های محیطی گیاهان برای جمع‌آوری انواع اکسیژن واکنش‌گر (ROS) تولید شده در کلروپلاست و میتوکندری، از طریق مکانیسم آنزیمی، سنتز آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهند (Tuna et al., 2008) و این آنزیم‌ها نیز رادیکال‌های اکسیژن را جمع‌آوری و به  $H_2O_2$  تبدیل می‌کنند، سپس پراکسید هیدروژن توسط آنزیم‌هایی مانند آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز جمع‌آوری می‌گردد (Sairam and Tyagi, 2004). بر طبق این تحقیق فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز تحت تیمار کودی نانو افزایش یافت که با افزایش میزان فعالیت آسکوربات، میزان آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز تعدیل شدند. اختلاف بسیار اندکی که بین تیمارهای نانو دیده شد نشان داد که غلظت‌های مختلف



کلی می توان گفت که استفاده از کودهای نانو در غلظت پایین منجر به افزایش عملکرد و در سطوح بالا می تواند اثرات بازدارنده داشته باشد. با توجه به افزایش روزافزون میزان مصرف کودهای شیمیایی در عرصه کشاورزی، می توان از کودهای نانو به عنوان یک جایگزین مناسب که هم کیفیت محصولات را افزایش می دهد و هم می تواند امنیت غذایی را در سال های آتی تامین کند نام برد.

### منابع

جابرزاده، ا.، معاونی، پ.، توحیدی مقدم، ح.ر.، مرادی، ا. (۱۳۸۹). بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر روی برخی خصوصیات زراعی در گندم تحت شرایط تنش خشکی. فصلنامه علمی- پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، دوره ۲، شماره ۴، صفحات ۳۰۱-۲۹۵.

Abid, H., Chadhary, M.R., Wajid, A., Ahmad, A., Ibrahim, M.R.M., and Goheer, A.R. (2004). Influence of water stress on growth, yield and radiation use efficiency of various wheat cultivars. International Journal Agriculture Biology. 6(6): 1074-1079.

Ahmad A., Awan, G.H. and Aziz, S. (2007). Synthesis and applications of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. Pakistan Engineering Congress. 676:405-407.

Ariano, S., Bartolomeo, D., Cristos X. and Andras, M. (2005). Antioxidant defenses in Olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. Functional Plant Biology. 32: 45-53.

Badawi, G.H., Yamauchi, Y., Shimada, E., Sasaki, R., Kawano, N., Tanaka, Ku. and Tanaka, K. (2003). Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. Plant Science. 166: 919-928.

Cakmak, I. and Horst, W. (1991). Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). Plant Physiology. 83:463-468.

Clarke, J. and Simpson, G. (1978). Influence of irrigation and seeding rates on yield and

استفاده شده در این پژوهش نتوانست به خوبی اثرات تنش های کودی را تعدیل کند. افزایش میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسیددیسموتاز (Tuna et al., 2008). آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز در گیاهان تحت تنش های محیطی توسط پژوهشگران زیادی نشان داده شده است (Sairam and Tyagi, 2004). اسیدآسکوربیک یک آنتی اکسیدان مهم است که چندین نقش بیولوژیک را در گیاه بر عهده دارد که از آن جمله می توان به کوفاکتور آنزیمی و یک دهنده/گیرنده در انتقال الکترون غشا پلاسمایی یا در کلروپلاست ها اشاره کرد که همه در جهت جلوگیری از استرس های اکسیداتیو هستند (Sakr and Arafa, 2009). هم سو با این یافته ها Shalata و Neuman (۲۰۰۱) گزارش کردند که با استفاده از آسکوربات خارجی توانستند مقاومت به شوری را در گیاهان افزایش داده، تنش اکسیداتیو را کاهش دهند در گیاهان مختلف فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی تحت اثرات شوری تغییر کرده و افزایش می یابد. از طرفی گزارش شده که کاتالاز یک آنتی اکسیدان قوی است که اولین ماده تولید شده از احیاء یک ظرفیتی اکسیژن، یعنی رادیکال سوپر اکسید را از بین می برد، بنابراین به کاتالاز دفاع اولیه در مقابل رادیکال های آزاد اکسیژن اطلاق می شود. اطلاعات و بررسی های مختلف نیز نشان می دهد که فعالیت آنزیم کاتالاز در سلول ها، در پاسخ به تنش های مختلف محیطی و تنش های غیرزیستی مانند پاراکوات (Badawi et al., 2003) شدت نور بالا (Mittler, 2002)، شوری (Sairam, 2002) و خشکی (Badawi et al., 2003) افزایش پیدا می کند.

### نتیجه گیری نهایی

طبق نتایج بدست آمده استفاده از کود نانوذرات دی اکسید تیتانیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و افزایش عملکرد عدس شد. در حالت

- Montano P.A., Shenoy G.K., Alp, E.E., Schulze, W., and Urban, J. (1986).** Lett Nanomaterials Toxicity. Health and Environmental. 56: 2076.
- Munir, A., Turk, A.R., Tawaha, M., and Lee, K.D. (2004).** Seed germination and seedling of three lentil cultivars under moisture stress. Asian Journal of Plant Science 3(3): 394-397.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981).** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology. 22(5): 867-880.
- Pais, I.(1983).** The biological importance of titanium. Journal of Plant Nutrition. 6:3-131.
- Reynolds, G. H. (2002).** Forward to the future nanotechnology and regulatory policy. Pacific Research Institute. 24:1-23.
- Sairam, R.K., Veerabhadra Rao, K. and 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.
- Sairam, R. and Tyagi, A. (2004).** Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science. 86(3): 407-421.
- Sakr, M. and Arafa, A., (2009).** Effect of some antioxidants on canola plants growth under soil salt stress condition. Pakistan Journal of Biological Sciences. 33(1-2):97-106.
- Salari, M., Rezae, M., Mosavi Khuei, S. M., Marashi, P. and Moshefi, Z. (2007).** Methods of synthesis of Titanium dioxide nanoparticles. Journal of Iranian Ceramics 10: 36-44.
- Salehi, M. (2008).** Pretreatment effect of nanosilver on germination and seedling growth of wheat under salt stress. Proceeding of 1 Iranian Congress in Seed Sciences and Technology. Gorgan, Iran. 358 p.
- Yazdi Sammadi, B. (2008).** Waste reduction in wheat production and consumption. Proceeding of 10 Iranian Cong. of Crop Sciences. Karaj, Iran. 519 p.
- Sandor, D., Istvan, M., Judit, P., Agota, C., Réka, T., and Marta, 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 Szegediensishttp://www.sci.u.szeged.hu/ABS. 50(1-2): 11-17.
- Shalata, A. and Neumann, P.M. (2001).** Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces yield components of Brassica napus cv. Tower. Canadian Journal of Plant Science. 58: 731-737.
- Cui, H., Sun, C., Liu, Q., Jiang, J. and Gu, W. (2006).** Applications of nanotechnology in agrochemical formulation, perspectives, challenges and strategies. P. 1-6. Institute of environment and sustainable Development in Agriculture. Chinese Academy of Agricultural Sciences. Beijing. China.
- Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. (2002).** Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cells. Soil Science and Plant Nutrition. 48: 357-364.
- Karimi, L. and Mirjalili, M. (2009).** Titanium dioxide. Journal of Nanotechnology 8: 23-25.
- Lu C.M., Zhang C.Y., Wu J.Q. and Tao M.X. (2002).** Research of the effect of nanometer on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism. Soybean Science. 21:168-172.
- Majnoun Hosseini, N. (2008).** Grain legume production. Jahad Daneshgahi of Tehran University.Tehran, 283p (In Persian).
- Mishra S., Srivastava S. and Tripathi P.D. (2006).** Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Baccopa monnieri* L. Plant Physiology and Biochemistry. 44:25-37.
- Mittler, R. 2002.** Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Annals Revoltion Plant Science. 7: 405-415.
- Moaveni, P., Aliabadi Farahani, H. and Maroufi, K., (2011a).** Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles spraying on wheat (*Triticum Aestivum* L.) under field condition. Advances in Environmental Biology. 5(8): 2208-2210.
- Moaveni, P., Lotfi, M., Aliabadi Farahani, H. and Maroufi, K., (2011a).** Effect of spraying TiO<sub>2</sub> nano particles on some of physiological and chemical parameters in maize (*Zea mays* L.). International Journal of Biosciences. 1(4): 63-67.
- Moaveni, P., Talebi, R., Farahani, H.A. and Maroufi, K. (2011b).** Study of TiO<sub>2</sub> nano particles spraying effect on the some physiological parameters in barley (*Hordeum Vulgare* L.). Advances in Environmental Biology. 5(7): 1663-1667.
- Moaveni, P., Valadabadi, S.A., Aliabadi Farahani, H. and Maroufi, K. (2011c).** Nanoparticles TiO<sub>2</sub> spraying affected on calendula (*Calendula Officinalis* L.) under field condition. Advances in Environmental Biology. 5(8): 2242-2244.

**Nakano, Y. and Asada, K. (1981).** Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*. 22(5): 867-880.

**Zecevic, V., and Knezevic, D. (2005).** Variability and components of variance for harvest index in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Genetica*. 37:173-179.

lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*. 52:2207-2211.

**Tuna, A., Kaya, C., Dikilitas, M. and Higgas, D.(2008).** The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. *Environmental and Experimental Botany*. 62: 1-9.