تاثیر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر تحمل به سرمای گل‌های هلو رقم ولد آبادی

حسنا کیافر[۱*]، موسی موسوی[۲]، علی عبادی[۳] ، نورا... معلمی[٤] و محمد رضا فتاحی مقدم[٥]

[۱]دانش‌آموخته دکتری، گروه باغبانی، دانشگاه شهید چمران اهواز ، اهواز

[۲]استادیار، گروه باغبانی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز،

[۳]استاد، گروه باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

[۴]استاد، گروه باغبانی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

[۵]استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

* ایمیل نویسنده مسئول: hosnakia@yahoo.com

چکیده

در مناطق معتدله همواره سرمای دیررس بهاره باعث ایجاد خسارات جبران ناپذیری می‌گردد. امروزه با توسعه علوم مختلف استفاده از مواد جدید همانند نانوذرات مورد توجه قرار گرفته است. لذا در این تحقیق به بررسی تأثیر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم برتغییرات آنزیمی هلو (رقم ولدآبادی) تحت تنش سرما پرداخته شد. پژوهش حاضر در طی سال‌های زراعی (۱۳۹۴ الی۱۳۹۶) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در باغ تجاری واقع در هشتگرد کرج اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل سه غلظت ۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بود که در زمان قبل از تورم کامل جوانه گل‌ها و در مرحله باز شدن شکوفه‌ها بر روی درختان هلو محلول‌پاشی گردید. سپس شاخه‌ها به مدت ۵ ساعت در دمای ۴-درجه سانتی-گراد قرار داده شدند. به منظور بررسی تاثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم میزان پروتئین کل، پرولین کل، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و میزان آنتی‌اکسیدان کل در گل اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش میزان پروتئین، پرولین‌کل، میزان آنزیم‌های‌کاتالاز و پر اکسیداز گردید و با افزایش غلظت میزان تأثیر آن افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: اکسیداسیون‌غشا سلولی، تنش سرمایی، سرمازدگی بهاره، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، هلو.

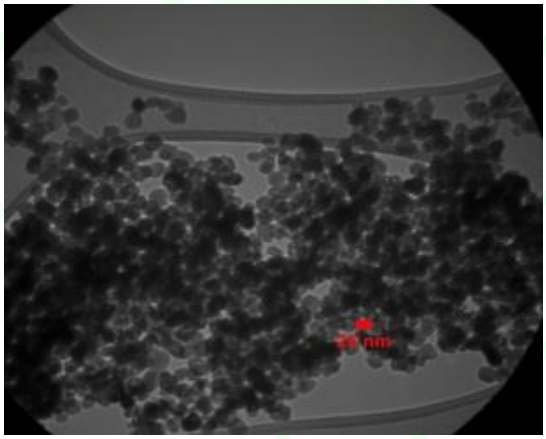
مقدمه

سرمازدگی یکی از فاکتورهای اصلی محدودکننده در کشت و کار درختان میوه است و انواع صدمات ناشی از یخزدن می‌تواند در اثر یخبندان‌های بی‌موقع در بهار، پاییز و یا در اواسط زمستان باشد(Faust *et al.*, 1997). میوه هلو به دلیل جذابیت ظاهری و طعم عالی یکی از میوه‌های پرطرفدار در سراسر دنیا است. در سال‌های اخیر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به دلیل ویژگی‌های خاص خود مورد توجه قرار گرفته است. نانو ذرات تیتانیوم تمام خصوصیات TiO_2 را دارار بوده و همچنین به واسطه کوچکی اندازه ذرات سطح تماس آن با مواد افزایش یافته و کارایی و اثر بخشی بیشتری دارند (Karimi and Mirjalili, 2009) طی سال‌های اخیر استفاده از نانو ذرات اکسید تیتانیوم روند رو به افزایش را نشان داده است. تصور بر این است که تیتانیوم یکی از عناصر سودمند جهت رشد گیاه است و بر جذب برخی عناصر مانند نیتروژن، کلسیم، منگنز و آهن و روی نیز اثر گذاشته و جذب آن‌ها را تحریک می‌نماید. (Gao *et al.*, 2007). از آنجا که تنش سرمایی همانند سایر تنش‌ها باعث فعال شدن چرخه اکسیداتیو می‌شود که با تولید گونه اکسیژن فعال شروع می‌شود و به صورت غیر اختصاصی با خیلی از مواد درون سلولی واکنش می‌دهد و واکنش‌های پر اکسیداتیوی را فعال نموده و به صورت مشخص خسارات رویت می‌شوند به طور عمده به ملکول‌های بزرگی مانند رنگدانه‌های دخیل در فتوسنتز، پروتئین، اسید های نوکلیک، چربی‌ها و به طور عمده به تراوایی غشای سلولی آسیب می‌زنند در این میان نانو ذرات تیتانیوم باعث حفظ کلروفیل و کارتنوئید در زمان تنش سرمایی می‌شوند و از این طریق باعث افزایش تحمل گیاه (نخود) به تش سرمایی می‌شوند و میزان خسارت را کاهش داده و توان سیستم دفاعی گیاه را افزایش می‌دهند (Mohamadi *et al.*, 2013). نانو ذرات باعث فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانتی می‌گردند و

مانع تجمع مالون دی آلدهید می‌شوند(Lei *et al.*, 2008) . تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذارت تیتانیوم بر شاخص‌های نشت یونی و مالون دی آلدهید روی دو نوع ژنوتیپ نخود حساس به سرما و غیر حساس به سرما را مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که در زمان تنش سرما ژنوتیپ حساس نفوذپذیری بیشتری به نانو ذرات تیتانیوم داشته است و حضور نانو ذرات در زمان تنش بیشتر از زمان عادی بدون تنش بوده است (Mohamadi *et al.*, 2013). با توجه به مزایای ذکر شده درباره دی‌اکسید تیتانیوم و نانوذرات در این تحقیق به بررسی تاثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر میزان تحمل به سرما در هلو رقم ولد آبادی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در هشتگرد کرج در مختصات جغرافیایی ۳۵ درجه شمالی و۵۰ درجه شرقی و ارتفاع از سطح دریا۱۲۰۰ متر روی درختان هلو چهار ساله پایه بذری انجام گرفت. به منظور اجرای آزمایش از هر درخت ۴ شاخه مشابه از نظر قطر، طول و تعداد گل نسبتا برابر انتخاب گردید و برای هر غلظت از هر رقم ۳ درخت به عنوان تکرار انتخاب گردید و سپس با غلظت صفر (آب مقطر)، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم با سایز ذره ۲۵ نانومتر شکل۱ خریداری شده از شرکت مهرگان شیمی در زمان قبل از تورم کامل جوانه گل‌ها و در مرحله باز شدن کامل تمام جوانه های گل محلول‌پاشی گردید و سپس شاخه‌ها به منظور تیمار سرمایی مصنوعی به آزمایشگاه انتقال یافتند و به مدت ۵ ساعت در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد تیمار گردیدند (بلانیان، ۱۳۹۴). میزان پروتئین کل، پرولین کل، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسداز و ظرفیت انتی‌اکسیدانی کل محاسبه گردید.



شکل۱- تصویر SEM نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تولید شده توسط شرکت مهرگان شیمی.

برای اندازه‌گیری میزان پروتئین کل از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده گردید. برای این منظور ۱ سی‌سی محلول بردفورد داخل تیوب‌های ۱/۵ سی‌سی ریخته شد و سپس ۵۰ میکرولیتر به آن عصاره اضافه شد و پس از ۲۰ دقیقه جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان پرولین با استفاده از ماده ناین هیدرین اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۲ گرم از بافت چوانه‌های گل در هاون چینی همراه با ۳ میلی‌لیترسولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد مخلوط گردید به مدت ۱۵ دقیقه (۱۸۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ گردید و در مرحله بعد دو میلی‌لیترمعرف ناینن هیدرین و دو میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال اضافه گردید. سپس لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قارد داده شد و بعد از سرد شدن آن چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه سپس روشناورکه حاوی پرولین بود به کمک سمپلر برداشته و همراه با نمونه‌های استاندارد در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Girija *et al.*, 2002). فعالیت آنزیم کاتالاز (EC 1.11.1.6) از طریق اندازه‌گیری میزان کاهش جذب ناشی از تجزیه سوبسترای پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. یک واحد یا یونیت فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تجزیه 1 میلی مول سوبسترای پراکسید هیدروژن در یک دقیقه در نظر گرفته می‌شود. فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز به صورت یونیت بر میلی گرم پروتئین بیان شد (Obinger *et al.*, 1997). فعالیت آنزیم پراکسیداز (EC 1.11.1.7) از طریق اندازه‌گیری میزان افزایش جذب ناشی از

تشکیل تتراگایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. محلول آزمایش حاوی بافر سیترات فسفات بورات۰/۱ مولار، گایاکول با غلظت 15 میلی‌مولار، عصاره گیاهی (حاصل از گل‌ها) و H_2O_2 با غلظت 3 میلی‌مولار مورد استفاده قرار گرفت .یک یونیت فعالیت آنزیم پراکسیداز به عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تشکیل 1 میلی‌مول تتراگایاکول در یک دقیقه در نظر گرفته می‌شود. فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز به صورت یونیت بر میلی‌گرم پروتئین ثبت شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش DPPHتعیین گردید (Williams *et al*., 1995). به این منظور ۲۵میکرولیتر از عصاره متاتولی با ۲۵ میکرولیتر آب مقطر مخلوط گردید و در مرحله بعدی ۱۹۵۰ میکرولیتر محلول تازه DPPH (۹۸/۸ میکرومول در متانول) به آن اضافه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه و در شرایط تاریکی تا زمان یکنواختی محلول نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. جهت ثبت داده‌ها، نرم‌افزار Excel مورد استفاده قرار گرفت و پس از آزمون نرمال بودن توزیع کلیه داده‌ها، تجزیه تحلیل واریانس به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار با نرم‌افزار (SAS) انجام گرفت.

نتایج و بحث

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است بین تیمارهای اعمال شده در سطح ۱ درصد تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. نتایج نشان داد با افزایش میزان غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم میزان پروتئین کل، پرولین، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آنتی اکسیدان کل در گل افزایش یافت. تنش‌های محیطی با افزایش تولید انواع اکسیژن فعال به بیومولکول‌های حیاتی سلول نظیر لیپیدها، DNA، پروتئین‌ها و برخی نقاط کلیدی آسیب وارد کرده و در نهایت متابولیسم سلول را مختل می‌نمایند (Habibi *et al*., 2004). گیاهان برای مقابله با تنش‌های محیطی دارای سیستم دفاعی با کارایی بالایی هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه قادرند اکسیژن‌های رادیکال آزاد را حذف و یا خنثی کنند فعالیت این آنزیم‌ها در گیاه در مواجهه با تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد و از این طریق مقاومت گیاه را به این شرایط افزایش می‌دهد (Bartels and Sunkar, 2005). بررسی اثر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی و رشد دانهال اسفناج بیانگر تأثیر آن بر بهبود جذب نور و تحریک فعالیت آنزیم روبیسکو و افزایش رشد اسفناج می‌باشد. تاثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به طور کلی با کاهش تجمع رادیکال‌های سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن، افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز می‌باشد (Li *et al*., 2007) که این نتایج با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. تیمار با نانوذرات‌دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تا ۱/۵ برابر در غلظت ۱۰۰ قسمت در میلیون بر روی گیاه گلابی وحشی می‌گردد (Zarafshar *et al*., 2015). تیتانیوم بر فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاهان اثر گذار می‌باشد و باعث فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، نیترات ردکتاز و پراکسیداز می‌شود. آنزیم کاتالاز یکی دیگر از مهمترین آنزیم‌های دفاعی است که نقش بسیار مهمی در تبدیل پراکسید هیدروژن به آب بازی می‌کند و تاثیر نامطلوب آن را از بین می‌برد که در نتیجه بالا بودن فعالیت انزیم کاتالاز میزان پراکسید هیدروژن درون سلول را کاهش می‌دهد که در نتیجه کاهش خسارت به غشاها و انجام متعادل فعالیت‌های سلولی از قبیل فتوسنتز می‌باشد. اسپری نانوذرات‌دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۰/۰۳ درصد باعث افزایش فعالیت انزیم کاتالاز گردید که در نتیجه آن میزان پراکسید هیدروژن به شدت کاهش یافت بالانس سلولی (آنزیم‌های چرخه کالوین به شدت به تجمع پراکسید هیدروژن حساس هستند) حفظ گردیده است (Moaveni *et al*., 2011) که این نتایج با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد.

جدول ۱- جدول تجزیه مرکب برخی خصوصیات بیوشیمایی تحت تیمار با نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم.

	درجه آزادی df	پروتئین کل	کاتالاز	پرولین	پراکسیداز	ظرفیت آنتی اکسیدان کل
سال	۱	ns۰/۰۰۸	ns۰/۰۸	ns۰/۱۷	ns۰/۰۴	ns۰/۰۷
سال×تکرار	۴	ns۰/۱۰	ns۰/۰۷	ns۰/۱۶	ns۰/۰۴	ns۱/۵۲
غلظت	۲	**۴۱/۹۷	**۲۶۳/۱۴	**۲۶۳/۱۶	**۹۶	**۸۶/۳
سال×غلظت	۲	ns۰/۰۰۲	ns۰/۰۴	ns۰/۱۶	ns۰/۰۰۰۰۰۰۱	ns۰/۰۰۰۰۰۰۱
خطا آزمایش	۸	۰/۱۲	۰/۱۰۲	۰/۰۸۳	۰/۰۰۰۰۰۰۱	۰/۱۴

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

منابع

بلانیان، ح. ۱۳۹۴. بررسی برخی از شاخص‌های مرتبط با مقاومت به یخ زدگی در تعدادی از ارقام و ژنوتیپ های انار. دانشگاه تهران. تهران. رساله دکتری.

Bartels, D., Sunkar, R. 2005. Drought and salt tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences, 24:23–58.

Faust, M., Erez, A., Rowland, L. J., Wang, S.Y., Norman, H.A. 1997. Bud dormancy in perennial fruit trees: Physiological basis for dormancy induction, maintenance and release. Horticulture Science, 32: 623-629.

Gao, F., Chao, I., Zheng, L., Yang, F., Cheng, W., Ping, Y. 2007. Mechanism of nano anataz TiO_2 on promoting photosynthetic carbon reaction of spinach. Biological Trace Element Research, 11: 239-245.

Habibi, D., M. Mashdi Akbar Boojar, A. Mahmoudi, M. R. Ardakani., Taleghani, D. 2004. Antioxidative enzyme in sunflower subjected to drought stress. 4 th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, 26 September- 1 Octobr. 1-4.

Karimi, L., Mirjalili, M. 2009. Titanium dioxide. Journal of Nanotechnology, 8: 23-25.

Lei, Z., Su, M. Y., Wu, X., Liu, C., Qu, C.X., Chen, L., Huang, H., Liu, XQ., Hong, F.S. 2008. Antioxidant stress is promoted by nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-Beta radiation. Biological Trace Element Research, 121: 69-79.

Moaveni, P., Aliabadi Farahani, H., Maroufi, K. 2011. Effect of TiO_2 nanoparticles spraying on wheat (*Triticum Aestivum* L.) under field condition. Advances in Environmental Biology, 5: 2208-2210.

Mohammadian, M.A., Khosravi Largani, Z., Hasan Sajedi, R. 2013. Quantitative and qualitative comparison of antioxidant activity in the flavedo tissue of three cultivars of citrus fruit under cold stress. Australian journal of Crop schience, 6: 402-406.

Zarafshar, M., Akbarinia, M., Asgari, H., Hosaini, S., rahaee, M. 2015. Physiological and Biochemical properties of wild pear seedlings (Pyrus biosseriana) in response to different watering regimes. Applied Biology, 28: 59-78.

The effect of titanium dioxide nanoparticles on cold tolerance of peach flower (Valadabadi cultivar)

Hosna Kiafar[1]*, Mousa Mousavi[2]*, Ali Ebadi [3], Noorollah Moallemi [4] and Mohamad Reaz Fattahi Moghadam [5]

[1] PhD Student, Department of Horticultural Science , Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz

[2] Assistant Professor, Horticultural Science , Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz

[3] Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran

[4] Professor, Horticultural Science , Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz

[5] Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran

[*]*Corresponding Author: hosnakia@yahoo.com*

Abstract

In temperate regions, late spring frosts always cause irreparable damage. Today, with the development of various sciences, use of new materials such as nanoparticles has been considered. Therefore, in this study, the effect of titanium dioxide nanoparticles on peach (flower) enzymatic changes (Voldabadi cultivar) under cold stress was investigated. The present study was carried out during the cropping years (2015-2017) in a factorial form in a randomized complete block design with three replications in the commercial garden located in Hashtgerd, Karaj. Experimental factors included three concentrations of (0, 10 and 20 mg/l) titanium dioxide nanoparticles that were sprayed on trees in popcorn and full bloom. then branches were kept at -4 °C for 5 hours. In the next step, the amount of total protein, total proline, catalase activity and total antioxidant were measured. The results showed that titanium dioxide nanoparticles increased the amount of protein, total proline, the amount of catalase enzymes and total antioxidants.

***Keywords*:** Cell membrane oxidation, Cold tolerance, Peach, spring frost tolerance, Titanium dioxide nanoparticles**.**