

## تأثیر محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر پاسخ‌های بیوشیمیایی، رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه زنیان (*Carum copticum*) تحت تنش شوری

ریحانه عموآقایی<sup>۱\*</sup> و مینا مجیدی

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۳۰)

### چکیده

شوری یکی از تنش‌های زیستی بسیار متداول است که رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بنابراین، در این پژوهش تأثیر دو بار محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر ویژگی‌های زراعی و میزان اسانس گیاه زنیان (*Carum copticum*) تحت تنش شوری، در یک آزمایش گلخانه‌ای بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. فاکتورها شامل سه سطح شوری (۰، ۵۰، و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در پنج سطح (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند. تیمار شوری با افزودن نمک به آب آبیاری و ۳ بار در هفته آبیاری گلدان‌های حاوی خاک رسی اعمال شد. نتایج نشان داد که آبیاری درازمدت با آب با شوری ملایم به‌طور معنی‌داری باعث کاهش کلروفیل کل، ارتفاع، عملکرد ماده خشک، تعداد دانه در گیاه، وزن صد دانه و عملکرد دانه و افزایش پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد. تنش شوری در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، تأثیر معنی‌داری بر درصد و عملکرد اسانس نداشت اما در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان اسانس در گیاه زنیان را ۳۳/۰۵ درصد کاهش داد. محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر بیش‌ترین تأثیر مثبتی بر بهبود رشد و عملکرد دانه داشت و تحت تنش شوری با تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور معنی‌داری پراکسیداسیون لیپید را کاهش داد. تحت شوری ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، محلول پاشی با ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، سبب بهبود محتوای اسانس (۴۳/۳ درصد) و عملکرد اسانس (۵۹/۷ درصد)، در مقایسه با شاهد این گروه شد. اثر محلول پاشی غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر بیش‌تر ویژگی‌های ذکر شده و میزان اسانس گیاه کم‌تر از اثر غلظت ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات بود. بنابراین استفاده از غلظت مناسب نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، تحمل گیاه و عملکرد دانه و اسانس تحت تنش شوری را بهبود می‌بخشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، آنزیم آنتی‌اکسیدان، تنش شوری، زنیان، عملکرد دانه و اجزای آن، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم

### مقدمه

مصرف می‌شود. بذور زنیان عطر و طعم خاصی دارد و در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این، برگ و بذر زنیان در طب سنتی به‌عنوان تقویت‌کننده معده، بادشکن،

زنیان با نام علمی (*Carum copticum*) یکی از گیاهان دارویی تیره چتریان است که در مصر، هند و ایران کاشته شده و

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rayhanehamooghaie@yahoo.com

برگ، مساحت برگ، رشد برگ، ارتفاع گیاه، عملکرد ماده خشک و همچنین موجب کاهش تعداد گل آذین‌ها در هر گیاه، قطر گل آذین جوانه اصلی، تعداد گل‌ها، تعداد شاخه‌ها، وزن تازه و خشک گل‌ها و طول ساقه اصلی می‌شود (۳۵).

سمیت یونی و تنش اسمزی ناشی از تنش شوری موجب اختلال در فرآیندهای تنفسی و فتوسنتزی گیاه می‌شود و در نتیجه، الکترون‌ها از زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی منحرف شده و توسط اکسیژن دریافت می‌شوند که منجر به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود. این گونه‌های فعال اکسیژن به لیپیدها، پروتئین‌ها، کلروفیل و بسیاری از آنزیم‌ها آسیب می‌رسانند (۳۵ و ۳۹). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری، سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی مانند کاتالاز و پراکسیدازها را فعال می‌کنند (۵، ۸ و ۲۵). علاوه بر این، در برخی از گیاهان تولید متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنلی و اسانس‌ها افزایش می‌یابد. اکثر متابولیت‌های ثانویه ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی داشته و با از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن، آثار منفی تنش‌ها را تعدیل می‌کنند (۱۴ و ۳۹).

تاکنون راهکارهای زیادی برای افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش شوری پیشنهاد شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به روش‌های اصلاح نژاد و مهندسی ژنتیک برای معرفی گونه‌های مقاوم به شوری اشاره کرد. اما این روش‌ها پرهزینه و زمان‌بر بوده و برای گیاهان دارویی کم‌تر مورد توجه قرار گرفته‌اند. به‌تازگی استفاده از نانوذرات به‌عنوان یک شیوه نوین و ساده برای بهبود تحمل تنش‌های مختلف در گیاهان مورد توجه قرار گرفته است. یکی از نانوذرات پرکاربرد در حوزه کشاورزی و صنعت، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم است. هر چند، بر اساس معیارها برای عناصر ضروری، تیتانیوم، یک عنصر ضروری برای تغذیه گیاه نیست و گیاهان می‌توانند چرخه زندگی‌شان را بدون تیتانیوم کامل کنند، اما پژوهش‌ها نشان داده است که کاربرد محلول پاشی برگ‌ها یا تیمار ریشه گیاهان با مقادیر کم تیتانیوم، با تحریک فعالیت آنزیم‌های مشخص،

اشتهاآور، و کاهش‌دهنده کلسترول خون معرفی می‌شود. ترکیبات شیمیایی زنیان شامل پروتئین، چربی و کاتیون‌ها شامل سدیم، پتاسیم، آهن، کلسیم، منیزیم، روی، مس و کبالت و اسانس است. اهمیت گیاه زنیان به‌علت اسانس و ترکیب‌های موجود در اسانس آن است. میزان اسانس حاصل از بذر گیاه زنیان بیش‌تر از برگ آن است. مهم‌ترین ترکیبات آن تیمول، پاراسیمن، آلفاپنین، دی‌پنتن، گاماترپنین، بتاپنین، میرسن و کارواکرول هستند (۱۳).

نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که عملکرد دانه و میزان اسانس در گیاهان دارویی تا حد زیادی به ژنوتیپ گیاه، کیفیت خاک، مکان کشت، مدیریت زراعی، میزان آبیاری و مصرف آفت‌کش‌ها و تنش‌های محیطی بستگی دارد (۳۵). برای نمونه چندین پژوهش نشان داد که شوری عملکرد دانه و میزان اسانس گیاه زنیان را به‌طور منفی تحت تأثیر قرار می‌دهد. رضانی و همکاران (۳۳) گزارش کردند که عملکرد بذر و اسانس گیاه زنیان در اثر تنش شوری کاهش یافت. در برابر پژوهش دیگری نشان داد که تحت تنش شوری، عملکرد بذر و عملکرد بیولوژیک گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، اما درصد و کیفیت اسانس تغییر معنی‌دار و محسوسی نداشت (۱۸). به‌نظر می‌رسد نوع و رقم گیاه، غلظت و شیوه و زمان اعمال تنش باعث ایجاد پاسخ‌های متفاوتی در میزان اسانس گیاهان می‌شود.

شوری یکی از تنش‌های محیطی در بسیاری از نقاط جهان است که اثر بازدارنده بر رشد و عملکرد گیاهان دارد (۶ و ۳۵). از جمله آثار تنش شوری بر گیاهان می‌توان به سمیت یونی، تنش اسمزی، عدم تعادل عناصر غذایی و تغییرات وسیع در سنتز ترکیبات بیوشیمیایی اشاره کرد. تجمع نمک‌های محلول (به‌ویژه یون‌های کلرید و سدیم) در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک باعث کاهش پتانسیل آب خاک و در نتیجه کاهش توان جذب آب گیاه می‌شود و اختلال در جذب برخی عناصر غذایی، رشد و عملکرد محصولات زراعی را محدود می‌کند (۹ و ۳۵). در بسیاری از گیاهان دارویی، شوری باعث کاهش تعداد

گیاهی تحت تأثیر قرار می‌دهد و همین امر موجب می‌شود برخی آثار آن‌ها بر گیاهان نیز متفاوت از اثر عناصر معمولی باشد (۸، ۱۰ و ۱۵). برای مثال درحالی که معمولاً برای سطوح زیاد تیتانیوم در گیاه سمیّتی گزارش نشده است؛ البته برخی منابع آثار سمّی سطوح بالای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم را گزارش کردند (۲۷). ابعاد کوچک‌تر نانوذرات و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوت آن‌ها نسبت به یون‌های معمولی رها شده از نمک‌ها، ممکن است منجر به نفوذ و تجمع شدیدتر آن‌ها در گیاه شود و سمیّت ایجاد کند (۱۶). علاوه بر این، گزارش شده است که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت زیاد دارای آثار سمّی بر ژن‌ها هستند (۲۱). پژوهش‌های دیگر نیز آثار منفی غلظت‌های زیاد نانوذرات نقره، روی و دی اکسید روی را در سیاهدانه، خردل سیاه، گندم و گوجه‌فرنگی گزارش کرده‌اند (۷، ۹ و ۱۰). به هر حال اثر نانوذرات بر تحمل تنش و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی کم‌تر مورد بررسی قرار گرفته است.

کشور ایران پس از هند و پاکستان با دارا بودن ۶/۸ میلیون هکتار زمین‌های شور در صدر کشورهای آسیایی در معرض تهدید از نظر تنش شوری قرار گرفته است (۳۴). معمولاً زمین‌های شور کم‌تر تحت کشت گیاهان زراعی اصلی قرار می‌گیرند و اغلب برای کشت سایر گیاهان و از جمله گیاهان دارویی استفاده می‌شوند. بنابراین یافتن روش‌های کارآمد و نو برای بهبود تحمل تنش و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی در خاک‌های شور ضروری است. بنابراین در پژوهش حاضر اثر محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر رشد، عملکرد دانه و میزان اسانس گیاه زنیان در سطوح مختلف شوری بررسی شد.

### مواد و روش‌ها

برای این آزمایش گلدان‌های ۲ کیلوگرمی با مخلوط خاک و کود حیوانی به نسبت حجمی ۴ به ۱ پر شدند. خاک مورد استفاده دارای بافت رسی با pH برابر ۷/۵ و رسانایی الکتریکی

افزایش مقدار کلروفیل و فتوستتیز، بهبود جذب عناصر غذایی و افزایش مقاومت در برابر تنش موجب افزایش عملکرد و کیفیت محصول در گیاهان مختلف می‌شود (۲۹). مکانیسم اثر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم مشابه با آثار ذکر شده برای تیتانیوم است (۱۵). علاوه بر این، یک مطالعه ترانس کریپتوم نشان داد که در پاسخ به تیمار به نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، بسیاری از ژن‌های درگیر در فرآیند فتوستتیز و همچنین ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ‌های دفاعی در گیاهان فعال می‌شوند که بهبود رشد و مقاومت به تنش القا شده توسط این نانوذرات را توجیه می‌کند (۳۸).

نتایج پژوهش‌های مختلف آثار مثبت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در بهبود تحمل تنش‌های مختلف از جمله تنش شوری و خشکی را نیز نشان داده‌اند (۱۳). امینیان و همکاران (۴) گزارش کردند که تنش خشکی عملکرد دانه و اجزای آن را در گیاه گلرنگ کاهش داد و محلول پاشی با غلظت کم نانوذرات دی اکسید تیتانیوم قطر طبق، شاخص برداشت و عملکرد دانه را بهبود داد. پژوهش دیگری نشان داد (۳۶) که محلول پاشی با غلظت کم نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و و چند نوع نانوذرات دیگر با تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تجمع پرولین در گیاهان کتان، محتوای پراکسید هیدروژن و میزان پراکسیداسیون لیپید را تحت تنش شوری کاهش داد و محتوای کلروفیل، رشد و تثبیت کربن و سایر عناصر را در گیاه افزایش داد. در برابر آثار سمّی غلظت‌های زیاد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در برخی جلبک‌ها (۲۷) و گیاه تنباکو (۱۹) گزارش شده است. آثار نانوذرات بر گیاهان ممکن است به دو ویژگی آن‌ها مرتبط باشد: یکی عناصر پایه موجود در ساختار نانوذرات (مثلاً تیتانیوم موجود در نانوذرات دی اکسید تیتانیوم) و دیگری تنش یا تحریک ایجاد شده بر اساس ماهیت نانویی و خواص ویژه نانوذرات. در واقع، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانوذرات از نظر حلالیت، اندازه یا شکل نانوذرات، بار سطحی، آثار کواتومی، تجمع‌پذیری و سطح ویژه زیاد با یون‌های معمولی عناصر متفاوت است و نفوذ آن‌ها را به درون بافت‌های

جلوگیری شود. اولین مرحله محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم ۲۴ ساعت پس از شروع اعمال شوری، انجام شد. مرحله دوم محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نیز پیش از گلدهی انجام گرفت و آبیاری گیاه در سه سطح شوری نیز تا پایان آزمایش ادامه یافت.

پس از گلدهی در گیاه ارتفاع گیاه اندازه گیری شد. با رسیدن بذرها و زرد شدن گیاه عملیات برداشت بذر انجام گرفت. سپس میوه ها جدا شد و پس از خشک شدن تعداد بذر موجود در هر گلدان شمارش شد و وزن کل آن ها به عنوان عملکرد دانه و نیز وزن ۱۰۰ دانه آن ها اندازه گیری شد. علاوه بر این، گیاهان برداشت شده و وزن خشک یا همان عملکرد ماده خشک بخش هوایی گیاهان اندازه گیری شد. شاخص برداشت از نسبت عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیک (عملکرد ماده خشک گیاه) در هر گلدان محاسبه شد.

#### اندازه گیری ویژگی های بیوشیمیایی

برای اندازه گیری کلروفیل کل ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه پهنک برگ در هاون به کمک استون ۸۰ درصد سائیده شد و با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شد و حجم عصاره با افزودن استون ۸۰ درصد به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. جذب محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر اندازه گیری شد. سپس محتوای کلروفیل a و b بر اساس فرمول پیشنهادی آرنون (۱۲) محاسبه شد و میزان کلروفیل کل از جمع دو کلروفیل تعیین شده و برحسب میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت گیاهی گزارش شد.

برای اندازه گیری غلظت مالون دی آلدئید (MDA)، ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر اسید تری کلرو استیک (TCA)، ۰/۱ درصد سائیده شد و با استفاده از تیوباریتوریک (TBA) طی مراحل یک کمپلکس قرمز رنگ حاصل شد. شدت جذب این محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین شده و از این مقدار کسر شد. با استفاده از ضریب خاموشی برابر  $1 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1} 155$  غلظت مالون دی آلدئید محاسبه شد (۲۳).

در عصاره اشباع ۳/۱۱ دسی زیمنس بر متر بود. بذر زنیان از شرکت پاکان بذر خریداری شد و پس از ضد عفونی سطحی، ۲۰ بذر در هر گلدان کاشته شده و آبیاری با آب شهری انجام شد. گیاهان در گلخانه پژوهشی دانشگاه شهرکرد، تحت رطوبت نسبی ۵۷ درصد، دمای روز/ شب ۲۸ و ۲۰ درجه سلسیوس و دوره نوری ۸/۱۴ روز/ شب رشد کردند.

در ابتدا برای جوانه زنی بذر و تا استقرار اولیه گیاهچه دو برگی از آب معمولی با رسانایی الکتریکی ۵/۰ دسی زیمنس بر متر استفاده شد. سپس تعداد گیاهان همه گلدان ها به ۶ عدد رسانده شد و تیمار شوری در سه سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر) با افزودن نمک کلرید سدیم به آب آبیاری گلدان ها و به میزان سه بار در هفته اعمال شد. لازم به ذکر است که بر اساس بررسی منابع، تحمل شوری زنیان اغلب در سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار بررسی شده است. اگرچه در این آزمایش، شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) آب کم تر بوده اما باید در نظر داشت که: ۱) خاک رسی و رسانایی الکتریکی اولیه آن هم زیاد بوده است، ۲) تیمار با آب شور ۳ بار در هفته در تمام دوره رشد انجام و معمولاً آب زیادی از گلدان خارج نمی شده است، و ۳) شرایط گلخانه نسبتاً گرم و خشک بوده و احتمالاً تبخیر آب از سطح خاک زیاد بوده است. بنابراین احتمال تجمع نمک در خاک زیاد بوده است و در عمل گیاه با سطوح شوری بالاتر از غلظت های اسمی فوق مواجه بوده است.

نانوذرات دی اکسید تیتانیوم دارای میانگین اندازه ۲۵ نانومتر بود. مخلوط نانوذرات با آب، پیش از استفاده به مدت ۶۲۰ ثانیه به وسیله امواج اولتراسوند با قدرت ۹۰-۸۰ هرتز و دور ۱۰۰ سونیکیت شدند تا مخلوط سوسپانسیونی تهیه شود که نانوذرات به آسانی قابل جذب برای گیاه باشد و از به هم چسبیدن آن ها جلوگیری شود. محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با غلظت های (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم بر لیتر) برای هر گلدان جداگانه و در حدی که سطح تمام برگ های گیاهان کاملاً خیس شود، انجام شد. در مدت محلول پاشی، سطح خاک هر گلدان با پلاستیک پوشانده شد تا از ریختن نانوذرات در خاک

## نتایج

تأثیر تنش شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر ارتفاع،

عملکرد ماده خشک و محتوای کلروفیل کل برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مستقل شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و برهم کنش شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر ارتفاع و عملکرد ماده خشک گیاه زنیان در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی-گرم بر لیتر کلرید سدیم، ارتفاع و عملکرد ماده خشک گیاه زنیان به طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد (غلظت صفر شوری و نانوذرات) کاهش یافت (شکل ۱).

در شرایط عدم تنش شوری، با کاربرد ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، ارتفاع گیاه در مقایسه با تیمار شاهد (بدون محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم) به طور معنی داری (۷/۲ درصد) افزایش یافت. در سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر، در اثر کاربرد تمامی سطوح نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم بر لیتر) ارتفاع گیاه در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی داری افزایش یافت. بیشترین افزایش مربوط به کاربرد سطوح ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر بود (شکل ۱A). در مورد عملکرد ماده خشک هم روند مشابه با ارتفاع برای آثار سطوح مختلف شوری و غلظت‌های نانوذرات دی اکسید تیتانیوم مشاهده شد. تنها در حضور ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کلرید سدیم، کاربرد غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نسبت به شاهد این گروه تأثیر معنی داری بر عملکرد ماده خشک گیاه نداشت (شکل ۱A).

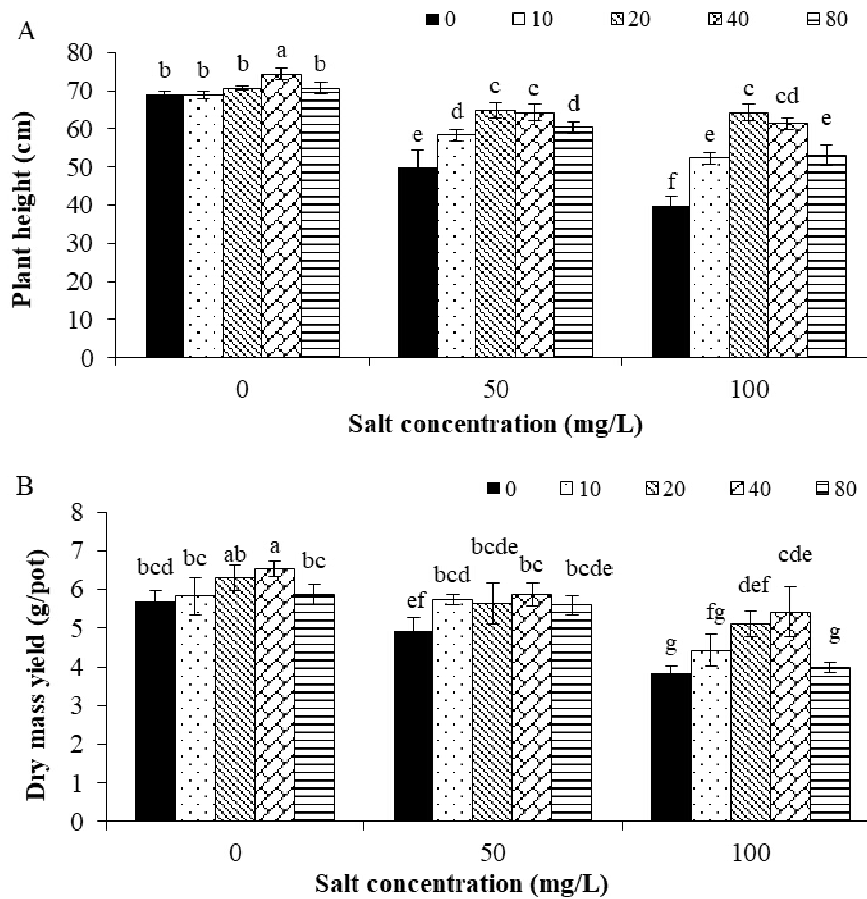
با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر مستقل غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و شوری بر محتوای کلروفیل کل برگ گیاه زنیان در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود اما برهم کنش آن‌ها معنی دار نبود (جدول ۱). چون همان طور که در شکل (۲) مشهود است روند تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات در هر سه سطح شوری مشابه بود.

برای استخراج عصاره آنزیمی برگ، از محلول بافر استخراج شامل EDTA، Tris، DTT، Triton، در دمای ۴ درجه سلسیوس استفاده شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با روش پیشنهادی لین و کائو (۲۸) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۳/۳۵ میکرولیتر گایاکول، ۳ میلی لیتر بافر فسفات، ۵۰ میکرولیتر عصاره گیاهی حاوی آنزیم و ۴/۵ میکرولیتر هیدروژن پراکسید بود. سپس تغییرات جذب نوری محلول در طول موج ۴۷۰ نانومتر در طی دو دقیقه (با فواصل ۳۰ ثانیه) خوانده شد که مبین مصرف  $H_2O_2$  بود. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی  $mm^{-1} cm^{-1}$  ۲۶/۶۱ محاسبه شد. اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز با استفاده از مخلوط واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی، ۳ تا ۵ میلی لیتر از بافر فسفات و ۴/۵ میلی لیتر از  $H_2O_2$  انجام شد (۲). تغییرات جذب نوری محلول در طول موج ۲۴۰ نانومتر در طی دو دقیقه بر مبنای میزان مصرف  $H_2O_2$  برآورد شد و فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی  $mm^{-1} cm^{-1}$  ۳۹/۴ محاسبه شد. برای هر دو آنزیم، میزان فعالیت ویژه آنزیم‌ها بر اساس واحد آنزیم (یونیت) بر گرم وزن تازه محاسبه و بیان شد.

برای اندازه‌گیری درصد اسانس، گیاهان جمع‌آوری شده در سایه خشک شدند. سپس با استفاده از کلونجر استخراج اسانس از بخش هوایی گیاهان انجام شد. همچنین عملکرد کل اسانس هر گلدان از حاصلضرب عملکرد ماده خشک در میزان اسانس به دست آمد.

## طرح و تجزیه آماری

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار به صورت گلدانی و در گلخانه دانشگاه شهرکرد اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل سه سطح شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) و پنج سطح نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم در لیتر) بودند. تجزیه واریانس داده‌ها با نرم افزار SAS نسخه ۲۰ و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شد.



شکل ۱. مقایسه میانگین تأثیر برهمکنش سطوح شوری (۰، ۵۰، و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) و غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، و ۸۰ میلی گرم در لیتر) بر ارتفاع (A) و عملکرد ماده خشک (B) گیاه زنیان؛

ستون‌های (± خطای معیار) دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری با هم ندارند.

**Fig. 1.** Mean comparisons of the interactive effect of salinity levels (0, 50, and 100 mg L<sup>-1</sup>) and nano-TiO<sub>2</sub> concentration (0, 10, 20, 40, and 80 mg L<sup>-1</sup>) on the height (A) and dry matter yield (B) of ajowan; Bars (± standard error) with similar letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ .

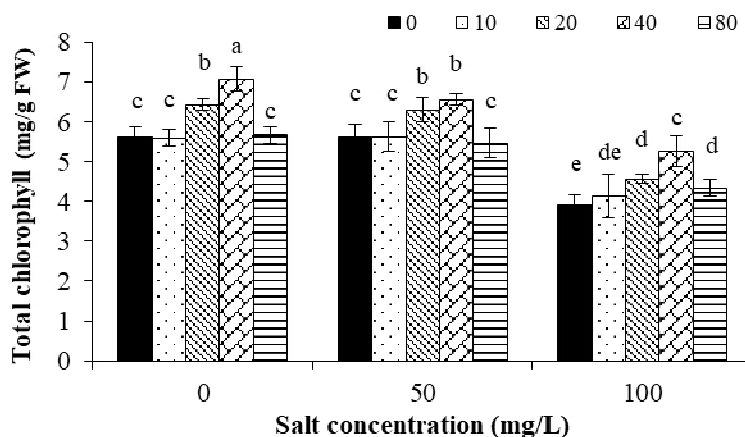
جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اثر غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و شوری بر ارتفاع و عملکرد ماده خشک، میزان کلروفیل کل، محتوای مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ در گیاه زنیان.

**Table 1.** The result of analysis of variance related to the effect of salinity and concentration of nano-TiO<sub>2</sub> on height, dry matter yield (DM yield), total chlorophyll content (Chl. T), malonaldehyde (MDA) content and the activities of antioxidant enzymes.

Variables	Df	DM yield	Height	Chl. T	MDA content	CAT activity	POX activity
متغیرها	درجه آزادی	عملکرد ماده خشک	ارتفاع	میزان کلروفیل کل	محتوای مالون دی آلدئید	فعالیت کاتالاز	فعالیت پراکسیداز
Salinity	2	8.58**	166.15**	12.26**	392.01**	248.82**	711.74**
Nano-TiO <sub>2</sub>	4	1.73**	118.58**	2.62**	37.38**	188.79**	270.89**
Salinity × Nano-TiO <sub>2</sub>	8	0.24*	52.57**	0.08 <sup>ns</sup>	5.85**	157.77**	76.86**
Error	30	0.14	4.13	0.07	0.59	9.84	1.36

\*, \*\* and <sup>ns</sup> mean significant effect at the probability levels of 5 and 1 %, and non-significant effect, respectively.

\*, \*\* and <sup>ns</sup> mean significant effect at the probability levels of 5 and 1 %, and non-significant effect, respectively.



شکل ۲. مقایسه میانگین تأثیر برهم کنش سطوح شوری (۰، ۵۰، و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) و غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، و ۸۰ میلی گرم در لیتر) بر محتوای کلروفیل کل در برگ زینان؛

ستون های (± خطای معیار) دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری با هم ندارند.

**Fig. 2.** Mean comparisons of the interactive effect of salinity levels (0, 50, and 100 mg L<sup>-1</sup>) and nano-TiO<sub>2</sub> concentration (0, 10, 20, 40, and 80 mg L<sup>-1</sup>) on the total chlorophyll content in the leaves of ajowan;

Bars (± standard error) with similar letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ .

۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (به ترتیب ۲۲/۳۹ و ۴۹/۰۹ درصد) نسبت به شاهد به طور معنی داری افزایش یافت (شکل ۳A). محلول پاشی با غلظت های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانو-ذرات دی اکسید تیتانیوم محتوای مالون دی آلدئید را در هر دو سطح شوری به طور معنی داری کاهش داد. بیشترین کاهش در محتوای مالون دی آلدئید با کاربرد ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در حضور شوری ۵۰ (۳۰/۷۳ درصد) و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (۳۲/۶۸ درصد) نسبت به شاهد هر گروه حاصل شد. به هر حال در هر دو سطح شوری با کاربرد غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم محتوای مالون دی آلدئید، به طور معنی داری بیش تر از تیمارهای ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم اما کم تر از شاهد هر گروه بود (شکل ۳A).

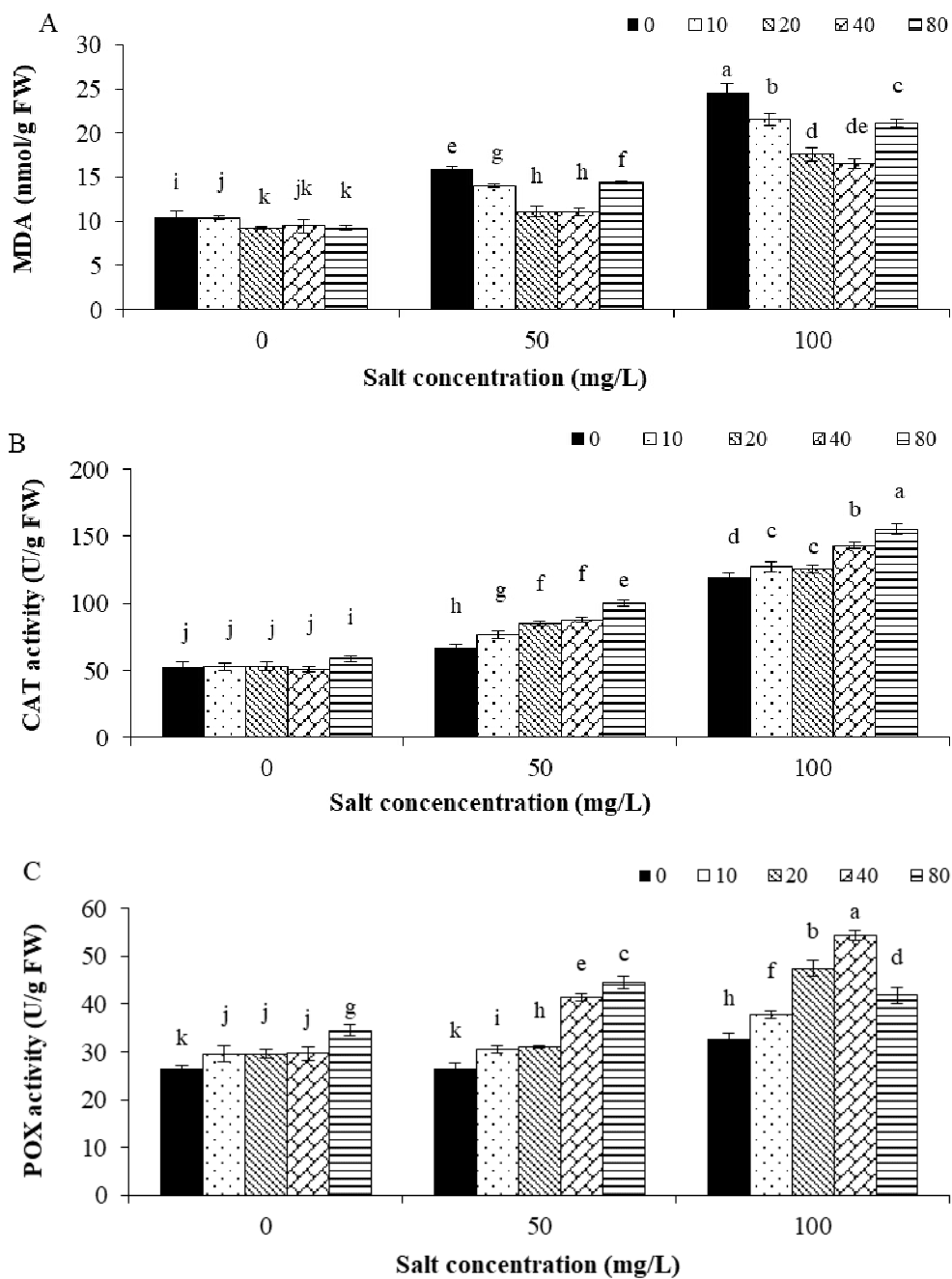
نتایج همچنین نشان داد که با افزایش غلظت کلرید سدیم، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت (شکل ۳B, C). در شرایط عدم تنش شوری، با محلول پاشی ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر روی گیاه، فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با تیمار شاهد این گروه به طور معنی داری (۱۱/۶۱ درصد) افزایش یافت. ولی سایر

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده ها، شوری ۵۰ میلی گرم بر لیتر تأثیر معنی داری بر محتوای کلروفیل کل نداشت اما در شوری ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر این صفت در حد معنی داری (۲۷ درصد) کاهش یافت. با محلول پاشی غلظت های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، محتوای کلروفیل کل در شرایط عدم تنش شوری (به ترتیب ۱۲/۵ و ۲۰/۳ درصد)، در شوری ۵۰ میلی گرم بر لیتر (به ترتیب ۱۰/۶۳ و ۱۴/۲۶ درصد) و در شوری ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (به ترتیب ۱۴/۵۹ و ۲۵/۹۴ درصد) در حد معنی داری نسبت به شاهد گروه خود افزایش یافت (شکل ۲).

#### تأثیر تنش شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر محتوای مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مستقل شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و نیز برهم کنش شوری در نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر محتوای مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۱).

نتایج نشان داد محتوای مالون دی آلدئید در شوری ۵۰ و



شکل ۳. مقایسه میانگین تأثیر برهم‌کنش سطوح شوری (۰، ۵۰، و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) بر محتوای مالون دی‌آلدئید (A)، فعالیت آنزیم کاتالاز (B) و پراکسیداز (C) در برگ زنیان؛

ستون‌های ( $\pm$  خطای معیار) دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

**Fig. 3.** Mean comparisons of the interactive effect of salinity levels (0, 50, and 100 mg L<sup>-1</sup>) and nano-TiO<sub>2</sub> concentration (0, 10, 20, 40, and 80 mg L<sup>-1</sup>) on malon dealdehyde content

(A) and the activities of CAT (B) and POX (C) enzymes in the leaves of ajowan;

Bars ( $\pm$  standard error) with similar letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ .



جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس داده های حاصل از اثر غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و شوری بر اجزای عملکرد دانه، درصد و عملکرد کل اسانس گیاه زنیان.

**Table 2.** The result of analysis of variance related to the effect of salinity and concentration of nano-TiO<sub>2</sub> on essential oil yield and seed yield components in ajowan.

Variables متغیرها	Df درجه آزادی	Number of seeds/plant تعداد دانه در گیاه	Weight of 100 seeds وزن ۱۰۰ دانه	Seed yield عملکرد دانه	Harvest index شاخص برداشت	Essential oil percentage درصد اسانس	Essential oil yield عملکرد اسانس
Salinity	2	6254.42**	0.03**	0.52**	0.0002 <sup>ns</sup>	4.08**	242.58**
Nano-TiO <sub>2</sub>	4	3613.35**	0.06**	0.14**	0.0007 <sup>ns</sup>	1.24**	60.49**
Salinity × Nano-TiO <sub>2</sub>	8	902.50**	0.0007 <sup>ns</sup>	0.01*	0.001 <sup>ns</sup>	۰.31*	8.05 <sup>ns</sup>
Error	30	90.6	0.0008	0.008	0.0005	0.14	5.80

ns, \*\*, \* به ترتیب بیانگر اثر معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد و اثر غیر معنی دار است.

ns, \*\*, \* and <sup>ns</sup> mean significant effect at the probability levels of 5 and 1 %, and non-significant effect, respectively.

یافت (شکل ۴).

در شرایط غیرشور و همچنین تحت شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر، با محلول پاشی غلظت های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، تعداد دانه در گیاه، وزن صد دانه و عملکرد دانه نسبت به شاهد هر گروه در حد معنی داری افزایش یافت. به هر حال تعداد دانه در گیاه، وزن صد دانه و عملکرد دانه در شرایط شور و غیر شور با کاربرد ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، به طور معنی داری کم تر از تیمارهای ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بود و اغلب با شاهد هر گروه تفاوت معنی داری نداشت (شکل ۴A-C).

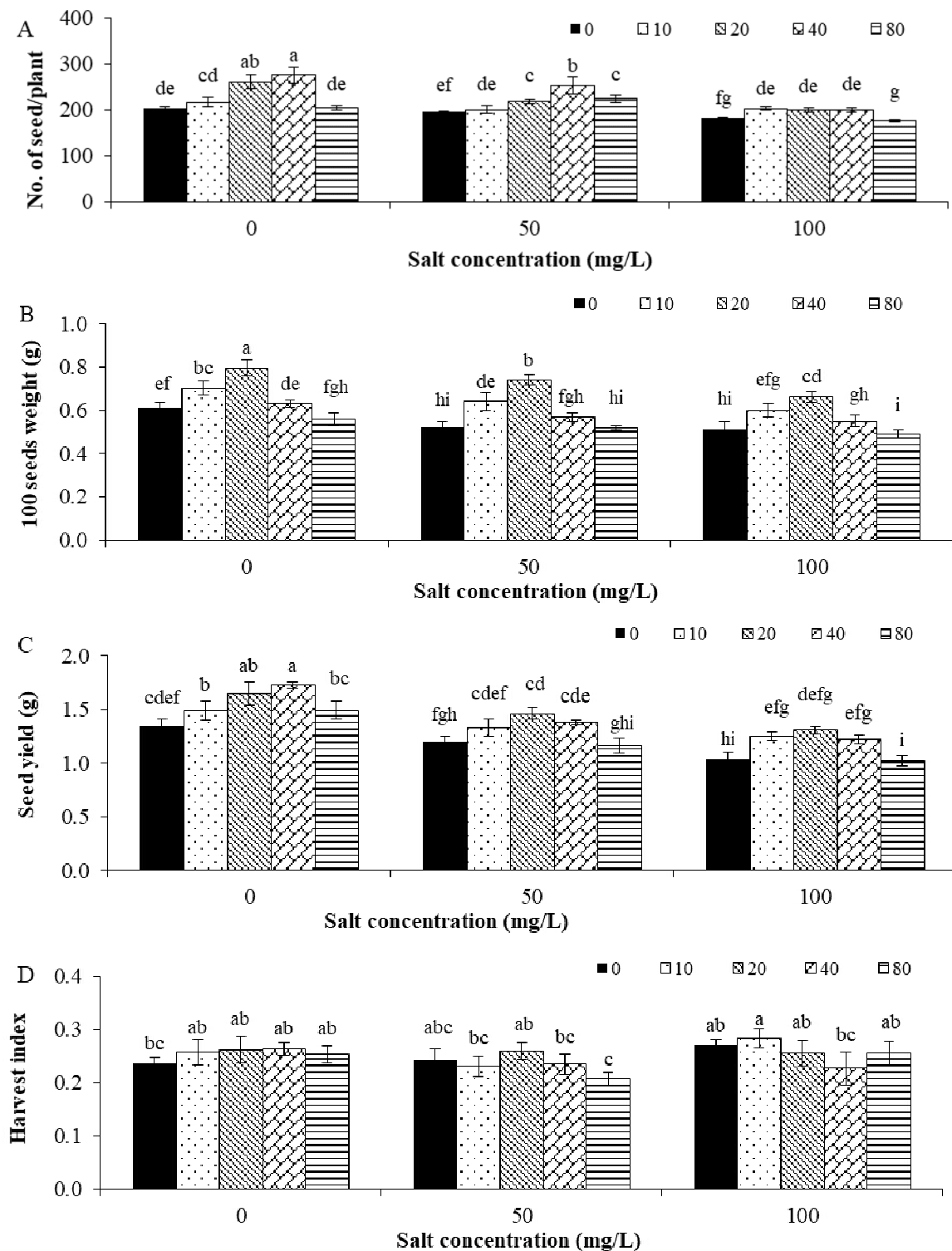
نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر مستقل شوری و نانو-ذرات دی اکسید تیتانیوم و برهم کنش آن ها بر شاخص برداشت معنی دار نبود (جدول ۲). بررسی برهم کنش شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نشان داد که در شرایط عدم تنش شوری و نیز با کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کلرید سدیم، هیچ کدام از غلظت های نانوذرات دی اکسید تیتانیوم تفاوت معنی داری در شاخص برداشت نسبت به شاهد گروه خود ایجاد نکردند (شکل ۴ D).

غلظت های نانوذرات دی اکسید تیتانیوم تفاوت معنی داری در فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد ایجاد نکردند (شکل ۳B). در حضور ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کلرید سدیم، محلول پاشی همه غلظت های نانوذرات دی اکسید تیتانیوم افزایش معنی داری در فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز نسبت به شاهد هر گروه ایجاد کرد. بیش ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو سطح شوری، و برای پراکسیداز در شوری ۵۰ میلی گرم بر لیتر با محلول پاشی ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاصل شد اما بیش ترین میزان فعالیت پراکسیداز در شوری ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر، با غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به دست آمد (شکل ۳C).

#### تأثیر تنش شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه زنیان

با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثر مستقل شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و برهم کنش آن ها بر تعداد دانه در گیاه، وزن صد دانه و عملکرد دانه گیاه زنیان در سطح احتمال ۱ یا ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۲).

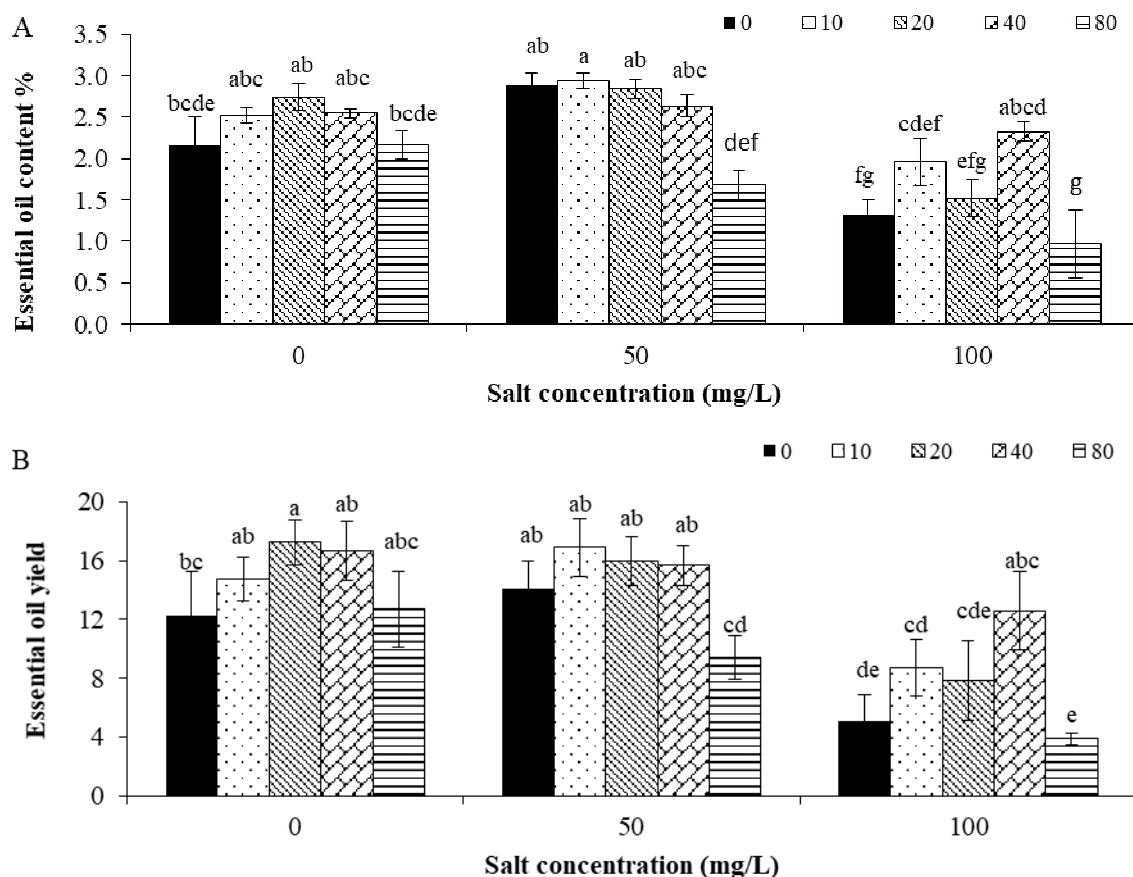
نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کلرید سدیم، تعداد دانه در گیاه، وزن صد دانه و عملکرد دانه در حد معنی داری کاهش



شکل ۴. مقایسه میانگین تأثیر برهمکنش سطوح شوری (۰، ۵۰، و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) بر تعداد دانه (A)، وزن صد دانه (B)، عملکرد دانه (C) و شاخص برداشت (D) در گیاه زنیان؛

ستون‌های (± خطای معیار) دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

**Fig. 4.** Mean comparisons of the interactive effect of salinity levels (0, 50, and 100 mg L<sup>-1</sup>) and nano-TiO<sub>2</sub> concentration (0, 10, 20, 40, and 80 mg L<sup>-1</sup>) on number of seeds (A) weight of 100 seeds (B) seed yield (C) and harvest index (D) of ajowan; Bars (± standard error) with similar letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at *P* < 0.05.



شکل ۵. مقایسه میانگین تأثیر برهم کنش سطوح شوری (۰، ۵۰، و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) و غلظت نانوذرات

دی اکسید تیتانیوم (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، و ۸۰ میلی گرم در لیتر) بر محتوای اسانس (A) و عملکرد اسانس (B) گیاه زنیان؛

ستون های (± خطای معیار) دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری با هم ندارند.

**Fig. 5.** Mean comparisons of the interactive effect of salinity levels (0, 50, and 100 mg L<sup>-1</sup>) and nano-TiO<sub>2</sub> concentration (0, 10, 20, 40, and 80 mg L<sup>-1</sup>) on essential oil percentage (A) and essential oil yield (B) of ajowan;

Bars (± standard error) with similar letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ .

افزایش نسبت به شاهد از نظر آماری معنی دار نبود. در شوری ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر محتوای اسانس (۳۳/۰۵ درصد) و عملکرد اسانس (۴۸/۳۳ درصد) گیاه زنیان در حد معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۵). در شرایط غیرشور اگر چه با کاربرد غلظت های مختلف نانوذرات دی اکسید تیتانیوم تغییراتی در درصد اسانس مشاهده شد اما هیچ یک از این نوسانات نسبت به شاهد این گروه معنی دار نبود. در شرایط غیر شور، فقط غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، عملکرد کل اسانس را در حد معنی داری (۲۸/۹۲ درصد) افزایش داد. در حضور ۵۰ میلی گرم بر لیتر کلرید

تأثیر تنش شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر میزان

اسانس گیاه زنیان

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مستقل شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر درصد اسانس و عملکرد اسانس گیاه زنیان در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. اثر برهم کنش شوری و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد اسانس غیر معنی دار و بر محتوای اسانس گیاه در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شد (جدول ۲).

نتایج نشان داد که در شوری ۵۰ میلی گرم بر لیتر، محتوای اسانس و عملکرد کل اسانس اندکی افزایش یافت اما این

محلول پاشی یا غلظت ۲۰ و ۴۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر گیاه زنیان نه تنها در شرایط بدون تنش، بلکه تحت تنش شوری نیز باعث افزایش عملکرد ماده خشک و ارتفاع (شکل ۱) گیاه زنیان نسبت به شاهد شد. به طور مشابهی اثر مثبت محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر ارتفاع گیاه زیره (۳۲) تحت شرایط بدون تنش و افزایش ارتفاع و وزن تر و خشک بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) تحت تنش شوری (۲۰) گزارش شده است. پژوهش‌ها نشان داده است که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم سبب افزایش جذب و متابولیسم نیتروژن و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز شده و همین امر موجب تسریع مصرف نیتروژن برای ساخت ترکیبات آلی مانند پروتئین، اسیدهای آمینه و کلروفیل می شود (۴۰). علاوه بر این، ثابت شده است که تیمار با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، ژن‌های درگیر در سنتز کلروفیل و فرآیند فتوسنتز را فعال می کند (۳۸). بنابراین ممکن است محلول پاشی با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با افزایش میزان کلروفیل کل (شکل ۲) باعث تقویت فتوسنتز و افزایش دسترسی به مواد کربنی مورد نیاز برای رشد گیاه و در نتیجه افزایش ارتفاع و عملکرد ماده خشک گیاه زنیان در این تیمارها شده باشد.

احتمالاً کاهش میزان کلروفیل (شکل ۲) تحت تنش شوری با اختلال در فرآیندهای فتوسنتزی موجب تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و در نتیجه پراکسیداسیون چربی‌های غشای سلول شده و به همین دلیل، شوری محتوای مالون دی-آلدئید برگ را به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید افزایش داد (شکل ۳A). در پاسخ به این پدیده، فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز در گیاه زنیان افزایش یافت (شکل ۳B, C) تا آثار اکسیداتیو ناشی از شوری را تعدیل کند اما این سطح از افزایش فعالیت آنزیم‌ها کافی نبود و در نتیجه محتوای مالون دی‌آلدئید به‌ویژه در شوری ۱۰۰ میلی گرم در لیتر به‌طور چشمگیری نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۳A). آثار اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش

سدیم، کاربرد غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم اثر معنی داری بر محتوای اسانس و عملکرد اسانس نسبت به شاهد این گروه نداشت اما محلول پاشی با غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، محتوای اسانس (۴۱/۶۶ درصد) و عملکرد اسانس (۳۳/۴۳ درصد) را به‌طور معنی داری نسبت به شاهد این گروه کاهش داد (شکل ۵).

در حضور ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کلرید سدیم، محلول پاشی با غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم محتوای اسانس (۴۳/۲۶ درصد) و عملکرد اسانس (۵۹/۶۶ درصد) را به‌طور معنی داری نسبت به شاهد این گروه افزایش داد.

## بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که آبیاری در تمام دوره کشت با آب شور با غلظت ملایم ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نمک، می تواند موجب کاهش معنی دار ارتفاع (شکل ۱A) و عملکرد ماده خشک (شکل ۱B) گیاه زنیان نسبت به گیاهان شاهد شود. با توجه به رسی بودن خاک و تبخیر زیاد در شرایط نسبتاً گرم و خشک گلخانه و همچنین دفعات زیاد آبیاری با آب شور در مدت کل دوره رشد گیاه، احتمالاً تجمع نمک در خاک رخ داده است و عملاً گیاه با سطح شوری بیش تر از این غلظت‌های اسمی مواجه بوده است. تحت تنش شوری خاک، احتمالاً کاهش ظرفیت فتوسنتزی به دلیل کاهش میزان کلروفیل در برگ‌ها (شکل ۲) و همچنین تخصیص بیش تر مواد فتوسنتزی برای مقابله با تنش، موجب کاهش عملکرد ماده خشک گیاه زنیان شده است. علاوه بر این، در گیاهان تحت تنش شوری، کاهش دریافت آب و عدم تورژسانس مناسب سلول‌ها می تواند مانع از توسعه عادی سلول‌ها و در نتیجه کاهش ارتفاع گیاه شود. به‌طور مشابهی دوازده امامی و همکاران (۱۷) نیز گزارش کردند که تنش شوری باعث کاهش ارتفاع گیاه و عملکرد ماده خشک گیاه زنیان شد. کاهش میزان کلروفیل تحت تنش شوری در زرین گیاه (۳۹)، و کلزا (۵) هم گزارش شده است.

مرتبط باشد. پژوهشگران دیگر نیز گزارش کرده‌اند که تأثیر مثبت تیتانیوم در جذب عناصری مانند روی و آهن که در سنتز کلروفیل نقش دارند و همچنین اثر مثبت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از طریق فعال‌سازی سیستم دفاعی، بهبود جذب نور و فعالیت آنزیم رویسکو و عملکرد فتوسیستم II، موجب بهبود فرایند فتوسنتز و به تبع آن افزایش عملکرد دانه گیاهان به‌ویژه تحت شرایط تنش می‌شود (۱۵). مشابه با نتایج این پژوهش، اثر مثبت محلول پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر عملکرد دانه و اجزای آن در عدس (۳۷) تحت شرایط بدون تنش و در گیاه زیره (۳۰) و گندم (۲۴) تحت تنش خشکی گزارش شده است. در این پژوهش، شوری اثر معنی‌داری بر شاخص برداشت نداشت (شکل ۴D) که نشانگر آن است که شوری عملکرد بیولوژیک (عملکرد ماده خشک) و عملکرد دانه گیاه زنیان را در حد مشابهی کاهش داده است. پژوهش دیگری نشان داد که با افزایش شوری آب آبیاری تا ۱۲۰ میلی‌مول بر لیتر وزن تازه و خشک گیاه ساقه، ریشه و عملکرد بذر زنیان کاهش یافت اما اثر بازدارندگی شوری بر عملکرد بذر (۵۰ درصد) بیش از تأثیر بر عملکرد رویشی (۲۷ درصد) بود (۱۱). احتمالاً این تضاد نتایج ناشی از تفاوت در سطوح شوری آب آبیاری استفاده شده توسط پژوهشگران فوق (۱۲۰ میلی‌مولار) نسبت به سطوح به‌کار برده شده در این پژوهش (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بوده است. بررسی اثر برهم‌کنش شوری و نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نشان داد که در سطوح مختلف شوری، هیچ‌کدام از غلظت‌های نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم تفاوت معنی‌داری در شاخص برداشت نسبت به شاهد گروه خود ایجاد نکردند (شکل ۴D). برخلاف نتایج این پژوهش، در پژوهش‌های دیگری اثر مثبت محلول پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر شاخص برداشت در عدس تحت شرایط بدون تنش (۳۷) و در گندم تحت تنش خشکی (۲۴) گزارش شده است. ممکن است این اختلاف نتایج ناشی از تفاوت شرایط آزمایش، نوع گیاه یا خاک مورد استفاده در این آزمایش‌ها نسبت به پژوهش حاضر باشد. به هر حال باید در نظر داشت که برای ارزیابی این

شوری در یونجه (۸)، نخود (۲۵) و زرین گیاه (۳۹) نیز گزارش شده است. محلول پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر گیاه زنیان تحت تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) نسبت به شاهد شد و در نتیجه آثار اکسیداتیو ناشی از شوری را تعدیل کرد و پراکسیداسیون لیپید کاهش یافت (شکل ۳) که این نتایج با یافته‌های گوهری و همکاران (۲۲) در گیاه بادرشبو و نتایج عدل لاتف و همکاران (۱) در گیاه باقلا مشابهت دارد. پیشنهاد شده است که ماهیت ویژه نانوذرات بر سطح تولید پراکسید هیدروژن تأثیر می‌گذارد و پراکسید هیدروژن یک مولکول پیام‌رسان است که در غلظت کم بر سطح بیان ژن و فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اثر می‌گذارد (۳۸).

کاهش محتوای کلروفیل (شکل ۲) و در نتیجه افت فتوسنتز از یکسو و کاهش پایداری و عملکرد غشاهای سلول در اثر پراکسیداسیون لیپید (شکل ۳A) از سوی دیگر، باعث شد که با افزایش سطح شوری آب آبیاری، نه تنها عملکرد ماده خشک (شکل ۱B)، بلکه تعداد دانه در گیاه، وزن صد دانه و عملکرد دانه گیاه زنیان نسبت به شاهد کاهش یابد (شکل ۴). به‌طور مشابهی دوازده امامی و همکاران (۱۷) گزارش کردند که تنش شوری با کاهش طول دوره رشد و افت فتوسنتز موجب کاهش انتقال مواد حاصل از فتوسنتز به دانه در حال پر شدن، کاهش سهم انتقال مجدد مواد ذخیره شده ساقه به دانه و در نهایت کاهش تعداد دانه در گیاه، وزن صد دانه، عملکرد دانه و شاخص برداشت گیاه زنیان تحت تنش شوری شد. بر اساس نتایج این پژوهش، محلول پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با غلظت ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش تعداد دانه در گیاه، وزن صد دانه، و به تبع آن عملکرد دانه گیاه زنیان هم در شرایط بدون تنش و هم تحت تنش شوری شد (شکل ۴) که ممکن است با اثر نانوذرات بر افزایش محتوای کلروفیل (شکل ۲) و در نتیجه بهبود فتوسنتز و کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از شوری به‌دلیل تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (شکل ۳)

احتمال وجود دارد که تنش شدید اکسیداتیو ناشی از غلظت ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم، پروتئین‌های آنزیمی درگیر در سنتز اسانس را تخریب کرده باشد و کاهش کلروفیل و مصرف بیش از حد انرژی برای کنترل تنش یونی و اسمزی ناشی از شوری، نیز فتوسنتز را به شدت کاهش داده و از این طریق، تنش شوری فراهمی پیش‌سازهای کربنی و فعالیت آنزیم‌های درگیر در سنتز اسانس را محدود کرده است.

نتایج این پژوهش نشان داد که تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کلرید سدیم، محلول پاشی غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، درصد اسانس برگ را نسبت به شاهد این گروه (یعنی گیاهان فقط تیمار شده با شوری ۱۰۰) افزایش داد و با توجه به اینکه محلول پاشی با نانوذرات هم ماده خشک و هم درصد تولید اسانس را افزایش داد، عملکرد کل اسانس گیاه زنیان در این تیمار نیز زیاد شد (شکل ۵). احتمالاً نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با تأثیر مثبت بر کلروفیل (شکل ۲) و در نتیجه فتوسنتز و همچنین با فعال‌سازی سیستم دفاعی و تعدیل آثار اکسیداتیو (شکل ۳A) تنش شوری باعث ارسال بیش‌تر فرآورده‌های فتوسنتزی به مسیرهای بیوسنتزکننده اسانس در گیاه زنیان می‌شوند. به‌طور مشابهی اثر مثبت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر میزان اسانس در شرایط بدون تنش در مریم گلی (۲۰) و در گیاهان زیره (۳۲) و همچنین در گیاه بادرشبو تحت تنش شوری (۲۲) نیز گزارش شده است. احمد و همکاران (۳) هم گزارش کردند که نانوذرات با داشتن ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاص خود می‌توانند به‌عنوان تحریک‌کننده‌های رشد گیاه عمل کنند و از این‌رو حتی در شرایط بدون تنش هم، موجب افزایش پارامترهای فتوسنتزی و کرک‌های ترشحي مولد اسانس و میزان اسانس در برگ‌های نعنای شدند.

نتایج این پژوهش نشان داد تحت محلول پاشی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر بر گیاه زنیان تحت تنش شوری، عملکرد دانه و اجزای آن و همچنین غلظت و عملکرد کل اسانس نسبت به تیمار ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانو-

صفات زراعی، آزمایش گلخانه‌ای به اندازه کافی دقیق نیست و باید آزمایش در شرایط مزرعه تکرار شود.

در این پژوهش به دلیل محدودیت تولید بذر در گلدان، میزان اسانس در بخش رویشی گیاه سنجش شد. لیکن باید توجه داشت که تغییرات اسانس دانه در این گیاه معمولاً مشابه تغییرات میزان اسانس در بخش رویشی گیاه است. برای مثال دوازده امامی و همکاران (۱۷) گزارش کردند که تحت تنش شوری، میزان اسانس بذر گیاه زنیان از ۳/۵ تا ۴/۱ میلی لیتر و مقدار اسانس بخش هوایی از ۰/۲۵ تا ۰/۳۵ میلی لیتر تغییر کرد. به هر حال، نتایج این پژوهش نشان داد که با کاربرد ۵۰ میلی گرم بر لیتر کلرید سدیم، محتوا و عملکرد اسانس گیاه زنیان افزایش یافت که البته نسبت به شاهد معنی دار نبود. اما با کاربرد ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کلرید سدیم، محتوا و عملکرد اسانس گیاه زنیان به‌طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۵). خراسانی نژاد و همکاران (۲۶) نیز گزارش کردند که درصد اسانس در گیاه اسطوخودوس در سطح شوری ملایم، افزایش و با افزایش بیش‌تر سطح شوری کاهش یافت. تنش شوری ممکن است از طریق تأثیر بر فتوسنتز خالص یا تسهیم مواد فتوسنتزی در بین فرآیندهای مختلف رشد و متابولیسم، بر تجمع اسانس تأثیر بگذارد. بر اساس فرضیه تعادل بین رشد و دفاع، انرژی و کربن جذب شده توسط فتوسنتز در درجه اول برای حفظ و نگهداری سلول و رشد گیاه مصرف می‌شود و باقیمانده آن برای سنتز مواد شیمیایی دفاعی استفاده می‌شود. تنش‌های غیرزیستی مانند شوری با محدود نمودن رشد بیش‌تر از فتوسنتز، باعث ارسال بیش‌تر فرآورده‌های فتوسنتزی به مسیرهای بیوسنتزکننده متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (۱۴ و ۳۹). شاید افزایش مقدار اسانس در برخی گیاهان تحت تنش ملایم را بتوان به کاهش مصرف متابولیت‌های اولیه برای رشد تحت تنش شوری و در نتیجه مصرف بیش‌تر آن‌ها برای تولید متابولیت ثانویه نسبت داد. به هر حال سطوح بیش‌تر شوری میزان اسانس گیاه زنیان را کم کرد (شکل ۵) که همسو با کاهش شدید شاخص‌های رشد و محصول گیاه (شکل‌های ۱ و ۴) در این گیاهان بود. این

### نتیجه گیری

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد در تمام دوره رشد گیاه تنش شوری ملایم (۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کلرید سدیم) با ایجاد تنش اکسیداتیو و کاهش میزان کلروفیل، به طور معنی داری رشد، عملکرد دانه و اسانس گیاه زنیان را کاهش داد. محلول پاشی با سطوح ۲۰ و ۴۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با تشدید فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز سیستم دفاعی گیاه را تقویت کرد و آثار منفی تنش شوری و تخریب کلروفیل در گیاه را کاهش داد و احتمالاً با تقویت فتوسنتز، امکان بهبود رشد، عملکرد دانه و اجزای آن و همچنین افزایش تولید اسانس را فراهم کرد. بنابراین، ممکن است با استفاده از محلول پاشی با غلظت مناسب نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بتوان عملکرد دانه و تولید اسانس این گیاه در مناطق شور را افزایش داد. به هر حال برای توصیه نهایی استفاده از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، لازم است آزمایش در شرایط مزرعه با سطوح شوری بیش تر و با ژنوتیپ های بیش تری تکرار شود.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از دانشگاه شهرکرد برای پشتیبانی مالی و در اختیار گذاشتن گلخانه و سایر تجهیزات برای اجرای عملیات آزمایشگاهی تقدیر می شود.

ذرات دی اکسید تیتانیوم کم تر بود و در اغلب موارد با شاهد هر گروه تفاوت معنی داری نداشت (شکل های ۱، ۴ و ۵). مشابه با نتایج این پژوهش، عبدال لاتف و همکاران (۱) نیز گزارش کردند در حالی که محلول پاشی با غلظت کم نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به طور چشمگیری رشد و محتوای کلروفیل گیاه باقلا را تحت تنش شوری افزایش داد، غلظت زیاد نانوذرات اثر معنی داری بر این صفات نداشت و بیش ترین تجمع پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در این غلظت مشاهده شد. تحت غلظت زیاد نانوذرات روی و اکسید روی، نیز افزایش تنش اکسیداتیو و تشدید فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گندم و گوجه فرنگی گزارش شده است (۹). به تازگی نظریه ای پیشنهاد شده است مبنی بر اینکه نانوذرات مسیلهای پیام رسانی وابسته به پراکسید هیدروژن را در گیاهان فعال می کنند. پراکسید هیدروژن یک مولکول ویژه است که در غلظت کم به منزله یک سیگنال عمل کرده و مسیلهای دفاعی و سنتز متابولیت های ثانویه در گیاهان را فعال می کند اما در غلظت زیاد مخرب بوده و کلروفیل و فتوسنتز و آنزیم های دفاعی و غیردفاعی را تخریب می کند (۳۱). بنابراین احتمالاً غلظت های کم نانوذرات دی اکسید تیتانیوم منجر به تولید مقادیر کم پراکسید هیدروژن می شود که با نقش سیگنالی خود تولید اسانس و عملکرد دانه را بهبود می دهد. اما غلظت های زیاد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم منجر به تولید بیش از حد پراکسید هیدروژن می شود که با نقش مخرب خود منجر به افت تولید اسانس و عملکرد دانه گیاه زنیان می شود. به هر حال ضروری است این فرضیه در پژوهش های بعدی بیش تر بررسی شود.

### منابع مورد استفاده

1. Abdel Latef, A.A.H., Srivastava, A.K., Abd El-sadek, M.S., Kordrostami, M., Tran, L.S.P. 2018. Titanium dioxide nanoparticles improve growth and enhance tolerance of broad bean plants under saline soil conditions. *Land Degradation and Development* 29: 1065–1073
2. Aebi, H., 1984. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology* 105: 121–126.
3. Ahmad, B., Shabbir, A., Jaleel, H., Khan, M.M. Sadiq, Y., 2018. Efficacy of titanium dioxide nanoparticles in modulating photosynthesis, peltate glandular trichomes and essential oil production and quality in *Mentha piperita* L. *Current Plant Biology* 13(1): 6–15.
4. Aminian, R., Paknejad, M., Hoseini, S.M. 2017. Effect of nano titanium dioxide on yield and yield components of safflower under normal and low irrigation. *Environmental Stresses in Crop Science*. 10(3): 377–390. (in Persian with English abstract)

5. Amooaghaie, R., Ghorbannejad, H., Mostajeran, A., 2014. The effect of salinity on seedling growth, chlorophyll content, relative water content and membrane stability in two canola cultivars. *Journal of Plant Research* 27(2): 256–268. (in Persian with English abstract)
6. Amooaghaie, R., Mostajeran, A., Emtiazi, G., 2003. Effect of *Azospirillum* inoculation on some growth parameters and yield of three wheat cultivars. *Journal of Water and Soil Science* 7(2): 127–139 (in Persian with English abstract) <http://jstnar.iut.ac.ir/article-1-469-en.html>
7. Amooaghaie, R., Saeri, M.R., Azizi, M., 2015. Synthesis, characterization and biocompatibility of silver nanoparticles synthesized from *Nigella sativa* leaf extract in comparison with chemical silver nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 120: 400–408.
8. Amooaghaie, R., Tabatabaei, F., 2017. Osmopriming-induced salt tolerance during seed germination of alfalfa most likely mediates through H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signaling and upregulation of heme oxygenase. *Protoplasma* 254(4): 1791–1803 doi: 10.1007/s00709-016-1069-5.
9. Amooaghaie, R., Norouzi, M., Saeri, M., 2017. Impact of zinc and zinc oxide nanoparticles on the physiological and biochemical processes in tomato and wheat. *Botany* 95(5): 441–445.
10. Amooaghaie, R., Tabatabaei, F., Ahadi, A., 2018. Alterations in *HO-1* expression, heme oxygenase activity and endogenous NO homeostasis modulate antioxidant responses of *Brassica nigra* against nano silver toxicity. *Journal of Plant Physiology* 228: 75–84. doi.org/10.1016/j.jplph.2018.01.012.
11. Ashraf, M., Orooj, A., 2006. Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant Ajwain (*Trachyspermum ammi* [L.] Sprague). *Journal of Arid Environments* 64(2): 209–220. (in Persian with English abstract)
12. Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24: 1–15.
13. Boskabady, M.H., Alitaneh, S., Alavin, E. 2014. *Carum copticum* L.: A herbal medicine with various pharmacological effects. *BioMed Research International* Article ID 569087. doi.org/10.1155/2014/569087.
14. Caretto, S., Linsalata, V., Colella, G., Mita, G., Lattanzio, V., 2015. Carbon fluxes between primary metabolism and phenolic pathway in plant tissues under stress. *International Journal of Molecular Sciences* 16: 26378–26394.
15. Chaudhary, I.J., Sing, V., 2020. Titanium dioxide nanoparticles and its impact on growth, biomass and yield of agricultural crops under environmental stress: A review. *Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 10 (1): 1–8 doi: 10.3923/rjnn.2020.1.8
16. Cox, A., Venkatachalam, P., Sahi, S., Sharma, N. 2016. Silver and titanium dioxide nanoparticle toxicity in plants: a review of current research. *Plant Physiology and Biochemistry* 107: 147–163.
17. Davazdah Emami, S., Sefidkon, F., Jahansooz, M.R. and Mazaheri, D., 2010. Evaluation of water salinity effects on yield and essential oil content and composition of *Carum copticum*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 25(4): 504–512. (in Persian with English abstract)
18. Davazdahemami, S., Enteshari, Sh., Allahdadi, M., Yasamani Sh., 2021. Effect of salinity stress on some mineral contents and biochemical parameters of ajowan. *Journal of Crops Improvement* 23(1): 127–139. (in Persian with English abstract)
19. Frazier, T.P., Burklew, C.E., Zhang, B., 2014. Titanium dioxide nanoparticles affect the growth and microRNA expression of tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Functional & Integrative Genomics* 14: 75–83.
20. Ghorbanpour, M., 2015. Major essential oil constituents, total phenolics and flavonoids content and antioxidant activity of *Salvia officinalis* plant in response to nano-titanium dioxide. *Indian Journal of Plant Physiology* 20(3): 249–256.
21. Ghosh, M., Bandyopadhyay, M., Mukherjee, A., 2010. Genotoxicity of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles at two trophic levels: plant and human lymphocytes. *Chemosphere* 81: 1253–1262.
22. Gohari, G., Mohammadi, A., Akbari, A., Panahirad, S., Dadpour, M.R., Fotopoulos, V., Kimura, S., 2020. Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. *Scientific Reports* 10: Article 912 doi.org/10.1038/s41598-020-57794-1.
23. Heath, R.L., Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189–198.
24. Jaberzadeh, A., Moaveni, P., Tohidi Moghadam, H.R., Moradi, O., 2010. Assessment of particular of nano titanium in wheat agricultural characterization on the drought stress. *Journal of Crop Ecophysiology* 2: 295–301. (in Persian with English abstract)
25. Khodabakhsh, F., Amooaghaie, R., Mostajeran, A., 2014. Effect of hydro- and osmo-priming on membrane deterioration, proline accumulation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging enzymes in two salt- stressed chickpea cultivars. *Environment and Engineering Management Journal (EEMJ)* 13: 619–626.
26. Khorasaninejad, S., Soltanloo, H., Hadian, J., Atashi, S., 2016. The effect of salinity stress on the growth, quantity and quality of essential oil of Lavender (*Lavandula angustifolia* Miller). *Journal of Horticultural Science* 30 (2): 209–216.



27. Li, F., Liang, Z., Zheng, X., Zhao, W., Wu, M., Wang, Z., 2015. Toxicity of nano-TiO<sub>2</sub> on algae and the site of reactive oxygen species production. *Aquatic Toxicology* 158: 1–13.
28. Lin, C. C., Kao, C.H., 1999. NaCl induced changes in ionically bound peroxidase activity in roots of rice seedling. *Plant and Soil* 216: 147–153.
29. Lyu, Sh., Wei, X., Chen, J., Wang, C., Wang, X., Pan, D., 2017. Titanium as a beneficial element for crop production. *Frontiers in Plant Science* 8: Article 597. doi: 10.3389/fpls.2017.00597.
30. Mansori, M., Akbari, G. A., Mortazavian, S.M.M., 2017. The effect of nano-particles of titanium dioxide on yield and yield components of different ecotypes of cumin in drought stress conditions. *Journal of Crops Improvement* 19(2): 461–473. (in Persian with English abstract)
31. Marslin, G., Sheeba, C.J., Franklin, G., 2017. Nanoparticles alter secondary metabolism in plants via ROS Burst. *Frontiers in Plant Science* 8:832. doi: 10.3389/fpls.2017.00832.
32. Morteza, E., Morteza, T., Saemi, H., Joorabloo, A., 2016. Effect of nano titanium dioxide spraying on essential oil yield and traits of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)* 8(6): 101–108.
33. Ramezani, M., Seghatoleslami, M., Sayyari Zohan, M., Moosavi, S., 2017. Effect of salinity and foliar application of Zn and Fe on yield and morphological and quality traits of *Carum copticum*. *Environmental Stresses in Crop Sciences* 10(4): 595–604, doi: 10.22077/escs.2017.634. (in Persian with English abstract)
34. Ranjbar, Gh., Pirasteh-Anosheh, H. 2015. A glance to the salinity research in Iran with emphasis on improvement of field crops production. *Iranian Journal of Crop Sciences* 17(2): 165–178. (in Persian with English abstract)
35. Said-Alahl, H.A.H., Omer, E.A., 2011. Medicinal and aromatic plants production under salt stress. *National Research Center DOKKI. 12622, Giza, Egypt.* 1(1):57.
36. Singh, P., Arif, Y., Siddiqui, H., Sami, F., Zaidi, R., Azam, A., Alam, P., Hayat, S., 2021. Nanoparticles enhance the salinity toxicity tolerance in *Linum usitatissimum* L. by modulating the antioxidative enzymes, photosynthetic efficiency, redox status and cellular damage. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 213: Article 112020
37. Soltani, M., Moaveni, P., Noori, H., 2013. The effect of foliar application of nanoparticles of titanium dioxide on yield and antioxidant enzyme activities in lentil (*Lens culinaris* Medik). *Journal of Plant Ecophysiology Research*. Special Issue. 78–88.
38. Tumburu, L., Andersen, C.P., Rygiewicz, P.T., Reichman, J.R., 2017. Molecular and physiological responses to titanium dioxide and cerium oxide nanoparticles in Arabidopsis. *Environmental Toxicology and Chemistry* 36: 71–82.
39. Vafadar, F., Amooaghaie, R., Ehsanzadeh, P., Ghanadian, M., 2020. Salinity stress alters ion homeostasis, antioxidant activities and the production of rosmarinic acid, luteolin and apigenin in *Dracocephalum kotschy* Boiss. *Biologia* 75: 2147–2158. doi.org/10.2478/s11756-020-00562-3
40. Yang, F., Hong, S., 2006. Influence of nano anatase TiO<sub>2</sub> on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research* 110: 179–190.



## The Effect of Foliar Spraying TiO<sub>2</sub> Nanoparticles on Biochemical Responses, Growth, Yield and Essential Oil Content of Ajowan (*Carum copticum*) under Salinity Stress

R. Amooaghaie<sup>1\*</sup> and M. Majidi

(Received: 26 July 2021; Accepted: 21 September 2021)

### Abstract

Salinity is one of the most common abiotic stresses that affects growth and secondary metabolism in medicinal plants. In this study, the effects of two times foliar application of nano titanium dioxide on some agronomic traits of ajowan (*Carum copticum*) under salinity stress was investigated in a pot experiment. This study was conducted as a factorial experiment with completely randomized design and three replications. The factors included three levels of salinity (0, 50, and 100 mg L<sup>-1</sup>) and 5 concentrations of TiO<sub>2</sub> nanoparticles (0, 10, 20, 40, and 80 mg L<sup>-1</sup>). Salinity treatments were implemented by adding NaCl to irrigation water of pots containing clay soil three times per week. The results showed that long-term irrigation with slightly saline water significantly decreased dry matter yield, height, total chlorophyll, weight of 100 seeds, number of seeds per plant, and seed yield and increased lipid peroxidation and the activities of catalase (CAT) and peroxidase (POX). Impact of 50 mg L<sup>-1</sup> salt was not significant on essential oil percentage and essence yield; but 100 mg L<sup>-1</sup> salt significantly (33.1%) decreased essential oil content. Foliar spraying of plants with 20 and 40 mg L<sup>-1</sup> nano titanium dioxide had the most positive impact on growth and seed yield and significantly lowered lipid peroxidation via enhancing the activities of antioxidant enzymes under salt stress. Foliar spraying with 40 mg L<sup>-1</sup> nano titanium dioxide significantly improved essential oil concentration (43.3%) and total essential oil yield (59.7%) under 100 mg L<sup>-1</sup> salinity condition. The effect of foliar spraying with 80 mg L<sup>-1</sup> nano titanium dioxide on some of the measured attributes was less than the impact of applying 20 and 40 mg L<sup>-1</sup> nano titanium dioxide. These results suggest that foliar application of nano titanium dioxide with appropriate concentration improves salt tolerance, seed yield and essential oil content in ajowan.

**Keywords:** Essential oil, Antioxidant enzymes, Salinity stress, Ajowan, Yield and its components, Nano-TiO<sub>2</sub>.

**Background and Objective:** Salinity causes osmotic stress and an ionic imbalance in plants due to the accumulation of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions. In addition, salinity increases the production of reactive oxidative species (ROS) and evokes oxidative stress in plants. To mitigate salt-driven oxidative stress, plants activate antioxidant enzymes such as catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), guaiacol peroxidase (POX), and ascorbate peroxidase (APX). Furthermore, salt stress alters primary and secondary metabolisms in plants (3,4).

1- Biology Department, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

\* Corresponding Author, Email: rayhanehamooaghaie@yahoo.com

Literature review suggests that application of nanoparticles may help to cope with stress condition and preserve crops' yield (1). Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles (NPs) render profound effects on morphological, physiological and biochemical attributes of some plant species (1). Ajowan (*Carum copticum*) is an aromatic and medicinal plant that its yield and essential oil is influenced by salinity stress (2). Thus, in the present study, impacts of different concentrations of TiO<sub>2</sub> NPs on growth parameters and biochemical characteristics as well as essential oil yield were investigated in ajowan plants grown under salinity stress.

**Methods:** Seeds of ajowan (*Carum copticum*) were planted in pots containing clay soil (electrical conductivity = 3.11 dS/m) and organic manure and irrigated with tap water. The seedlings at 2-leaves stage were irrigated with various concentrations of NaCl (0, 50, and 100 mg L<sup>-1</sup>) and foliar sprayed with nano titanium dioxide (0, 10, 20, 40, and 80 mg L<sup>-1</sup>) two times (onset of vegetative phase and pre-flowering stage). Salinity treatments were implemented by adding NaCl to water and irrigation of pots was done 3 times per week. The nanoparticles with 25 nm size were suspended in deionized water (DI-water) and sonicated (100 W, 80 kHz for 620 s) before use. After maturity, plants were harvested and several growth parameters were measured. Essential oil content of aerial parts was measured using Clevenger apparatus. SAS software was used for the analysis of variance and means were compared using Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ .

**Results:** Although the salt concentration of irrigation water was low, but numerous applications of saline water during four months of growing period, likely increased the salt accumulation in clay soil of pots and plants well experienced salinity stress. This was evident as the individual effect of salinity was significant on plant dry matter yield, plant height, total chlorophyll, weight of 100 seeds, number of seeds per plant, seed yield, malonaldehyde content, the activities of CAT and POX, essential oil percentage and essential oil yield. In addition, interactive effect of nano-TiO<sub>2</sub> and salinity was significant on all traits with the exception for total chlorophyll, harvest index, essential oil percentage and essential oil yield. According to the results, applying nano-TiO<sub>2</sub> at 20 and 40 mg L<sup>-1</sup> positively and significantly increased the seed yield and essential oil content of ajowan in comparison with the other examined concentrations and the control treatment. These concentrations of this nanoparticle may be suggested for gaining the highest seed and essential oil yield of ajowan.

**Conclusions:** Our results suggested that the application of appropriate concentrations of titanium dioxide nanoparticles under salinity stress can increase yield and essential oil content of ajowan. However, further research is needed to confirm these effects at field level.

#### References:

1. Chaudhary, I.J., Sing, V., 2020. Titanium dioxide nanoparticles and its impact on growth, biomass and yield of agricultural crops under environmental stress: A Review. *Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 10 (1): 1–8 doi: 10.3923/rjnn.2020.1.8
2. Davazdahemami, S., Enteshari, Sh., Allahdadi, M., Yasamani, Sh., 2021. Effect of salinity stress on some mineral contents and biochemical parameters of ajowan. *Journal of Crops Improvement* 23(1): 127–139. (in Persian)
3. Said-Alahl, H.A.H., Omer, E.A., 2011. Medicinal and aromatic plants production under salt stress. *National Research Center DOKKI. 12622, Giza, Egypt.* 1(1): 57.
4. Vafadar, F., Amooaghaie, R., Ehsanzadeh, P., Ghanadian, M., 2020. Salinity stress alters ion homeostasis, antioxidant activities and the production of rosmarinic acid, luteolin and apigenin in *Dracocephalum kotschyi* Boiss. *Biologia.* 75: 2147–2158. doi.org/10.2478/s11756-020-00562-3.