



اثر ذرات دی اکسید تیتانیوم نانو و غیر نانو بر گلدهی و صفات مورفوفیزیولوژیک اطلسی ایرانی (*Petunia x hybrida*) تحت تنش شوری

مریم کمالی^۱ - محمود شور^{۲*} - حسن فیضی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۹

چکیده

تیتانیوم دارای اثرات سودمندی بر رشد، مورفولوژی، فیزیولوژی و همچنین فعالیت‌های متابولیسمی گیاهان دارد. از طرفی امروزه فناوری نانو دارای موارد استفاده‌ی گسترده‌ای در بخش کشاورزی است. به منظور بررسی اثر نانو ذرات تیتانیوم بر رشد و گلدهی اطلسی آزمایشی بر پایه طرح کاملاً تصادفی طراحی و اجرا شد.

فاکتور اول (A)، آبیاری با سه سطح شوری کلرید سدیم (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار) بود. فاکتور دوم (B) به صورت دو سطح دی اکسید تیتانیوم و نانو دی اکسید تیتانیوم (وجود و عدم وجود نانو ذرات در دی اکسید تیتانیوم) و فاکتور سوم (C) به صورت شش غلظت ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۴۰ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم و در ۳ تکرار تعریف شد (شش غلظت ذکر شده هم در سطوح دی اکسید تیتانیوم و هم نانو دی اکسید تیتانیوم در نظر گرفته شد). نتایج نشان داد برهمکنش شوری، غلظت‌های دی اکسید تیتانیوم و وجود یا عدم وجود نانو ذرات بر مقدار کلروفیل و کارتنوئید، وزن اجزای گیاه، سطح برگ و تعداد گل اثر معنی‌داری داشته است. بیشترین مقدار کلروفیل کل در شاهد تنش و به ترتیب در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم و ۵ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم مشاهده شد. بیشترین سطح برگ در تیمار ۱۵ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم به مقدار ۶۰۸ سانتیمترمربع بود. ضمن اینکه اطلسی‌های تیمار شده با ۵ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم و در شرایطی که با آب مقطر آبیاری می‌شدند نسبت به سایر گیاهان قطر گل بیشتری (۵۴/۳ میلی‌متر) داشتند. به طور کلی محلول پاشی برگی دی اکسید تیتانیوم (در بیشترین سطح استفاده شده - ۴۰ پی پی ام) و نانو دی اکسید تیتانیوم (در کمترین غلظت‌های استفاده شده - ۵، ۱۰ و ۱۵ پی پی ام) بر بهبود اثرات حاصل از تنش موثر بود.

واژه‌های کلیدی: تعداد گل، سطح برگ، کلروفیل، وزن تر

مقدمه

نقاط جهان خطر جدی برای رشد گیاهان و تولید محصول است (۱۰). در سال‌های اخیر بارندگی کم و برداشت بی‌رویه از منابع آبی زیر زمینی در کشور و به دنبال آن افزایش میزان شوری آب‌های زیر زمینی به مشکل عمده برای کشاورزی تبدیل شده است، که علاوه بر کاهش منابع آب شیرین، افزایش شوری خاک را نیز به دنبال داشته است، این عوامل مشکلات فراوانی را برای کشت گیاهان ایجاد کرده است و در نتیجه آن رشد و نمو گیاهان تحت تاثیر همزمان تنش خشکی و شوری قرار گرفته است. تأمین آب با کیفیت خوب در بسیاری از نقاط دنیا، به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک، با محدودیت‌های فراوان همراه است. در این مناطق، سطح آب آبخوان‌ها به دلیل بهره برداری‌های بیش از حد برای مصارف شرب، کشاورزی، صنعت و فضای سبز به شدت کاهش یافته است که منجر به بالا رفتن میزان شوری این آب‌ها گشته است. به همین دلیل در نگهداری فضای سبز تمایل و گرایش به سمت استفاده از آب‌های

گل اطلسی به دلیل سهولت پرورش، کم توقع بودن و داشتن رنگ‌های بسیار متنوع و زیبا یکی از رایج‌ترین گل‌های فضاهای سبز شهری می‌باشد. اطلسی با نام علمی *Petunia spp.* گیاهی دائمی از خانواده سیب زمینی بومی آمریکای جنوبی می‌باشد (۲). نوع بومی آن در ایران که به اطلسی ایرانی (*Petunia hybrida*) معروف است از عطر دلپذیری برخوردار است. این گیاه مناسب کاشت در فصول گرم سال است و به طور وسیعی در سطح فضای سبز کشت می‌شود (۲۷). شوری از جمله عوامل تنش‌زای محیطی بوده، که در بسیاری از

۱ و ۲ - دانشجوی دکتری و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: shoor@um.ac.ir)

* - نویسنده مسئول:

۳ - استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

شور برای آبیاری گیاهان افزایش یافته است. اثرهای مضر و مخرب تنش شوری بر گیاهان اثبات شده است. به طوری که میزان شوری زیاد، مرگ گیاه را به همراه خواهد داشت (۲۰). فورنس و همکاران (۱۴) گزارش کردند که تنش شوری با غلظت ۱۰۰ میلی مولار باعث کاهش رشد گیاه، وزن تر و خشک شاخساره، اندازه ریشه و تعداد برگ در گیاه اطلسی (*Petunia hybrida cv. Costa Rosa*) نسبت به شاهد شد. در خاکهای شور و قلیایی حلالیت عناصر کم نیاز نظیر آهن، منگنز، مس، روی، تیتانیوم و مولیبدن به دلیل باند شدن پایین بوده و در این خاکها گیاهان اغلب از نظر عناصر فوق دچار کمبود می باشند (۹). تغذیه برگگی از راههای موثر در رفع نیاز غذایی گیاهان به عناصر کم مصرف است (۳۵). مصرف عناصر کم نیاز از طریق کاهش اثرات منفی یونهای سمی می تواند مقاومت گیاهان را در برابر تنش افزایش دهد (۱۲).

از طرفی اگرچه بهره گیری از فناوریهای پیشرفته راهکارهای جدید و موثری بر این مشکل فراهم نموده است ولی هزینه زیاد، کاربرد آن را برای بعضی از کشاورزان این گونه مناطق که با تنشهای شدید محیطی مواجه هستند، ناممکن ساخته است (۱). از جمله این فناوریهای پیشرفته استفاده از نانو ذرات است. فناوری نانو دارای موارد استفاده گسترده ای در بخش کشاورزی است. نانوذرات مجموعه ای اتمی یا ملکولی با حداقل ابعاد بین ۱-۱۰۰ نانومتر هستند که خواص فیزیکی شیمیایی متفاوتی در مقایسه با توده مواد خود دارند (۳۱). بدون شک با بهره گیری از مزایای فناوری نانو به عنوان یک فناوری پیشرفته نوظهور در بخش کشاورزی، می توان به نتایج مطلوبی از جمله تضمین امنیت غذایی و توسعه کشاورزی پایدار و سازگار با محیط زیست در کشورها و نواحی در حال توسعه جهان دست یافت (۸). در طی ۵۰ سال گذشته، پیشرفت فناوری تولید مواد شیمیایی انقلابی را در تولید محصولات کشاورزی به وجود آورده است (۳۶).

تیتانیوم به عنوان یک عنصر سودمند باعث افزایش و تحریک رشد می شود (۲۹). علاوه بر افزایش رشد، تیتانیوم باعث افزایش کیفیت محصولات نیز می گردد. طبق گزارش مارتینز (۲۵) کاربرد تیتانیوم به صورت محلولپاشی روی برگهای فلفل باعث افزایش اسید اسکوربیک و کاپسانتین (مسئول ایجاد رنگیزه قرمز) در میوه فلفل شد (۲۶). تیتانیوم بر فعالیتهای بیوشیمیایی گیاه نیز اثر دارد و باعث افزایش فعالیت آنزیمهای کاتالاز، نیترات ردکتاز و پراکسیداز می شود. این محققین، دلیل افزایش فعالیت این آنزیمها تحت تأثیر تیمار تیتانیوم را ناشی از افزایش جذب آهن دانستند (۲۶). اثر ذرات نانوتیتانیوم بر جوانه زنی برخی از گیاهان و رشد درخت بید بررسی شده است. نانوذرات اکسید تیتانیوم بر رشد بید اثری نداشت، هرچند سریعاً توسط ریشه جذب شد (۲۳). اثر مثبت نانوتیتانیوم بر جوانه زنی و رشد گیاهچه اسفناج و متابولیسیم بهتر نیتروژن نیز گزارش شده است

(۳۷). اما همچنان اطلاعات کافی در خصوص اثر و تغییرات فیزیولوژی ناشی از این عنصر مفید بر گیاهان مختلف محدود است. شاه و بلوزروا (۳۴) نشان دادند که نانوذرات فلزی باعث افزایش نسبت اندام هوایی به ریشه در کاهو شدند. در آزمایشی لو و همکاران (۲۳) مشاهده نمودند ترکیبی از ذرات فعالیت نیترات ردکتاز را در سویا افزایش داد و دی اکسید تیتانیوم و دی اکسید سیلیسیم نانو توانایی جذب و استفاده از آب و کود را تشدید نمود. گائو و همکاران نشان دادند که فعالیت آنزیم روبیسکو در اسفناج تیمار شده با دی اکسید تیتانیوم نانو ۲ برابر فعالیت روبیسکو در شاهد (دی اکسید تیتانیوم غیر نانو) بود. در مطالعه ای که بر اثر نانو ذرات روی و اکسیدروی بر جوانه زنی بذور و طول ریشه آزمایش شد، نتایج نشان داد نانو ذره اکسید روی باعث کاهش معنی دار جوانه زنی و رشد ریشه شد (۲۱). نانو ذره تیتانیوم (۴۰-۲/۵) گرم بر کیلو گرم رشد اسفناج را بهبود داد و فتوسنتز و تثبیت نیتروژن در برگها و ریشه را افزایش داد (۳۸). در مطالعه دیگر بر سمیت پنج نانو ذره متفاوت (نانو لوله کربنی چند دیواره، نقره، مس، اکسید روی، سیلیسیم) بر گیاه کدو سبز به این نتیجه رسیدند که استفاده به صورت توده ای نمی تواند سمیت مشترکی با اشکال نانو ذره آنها مشاهده نمود (۱۷). محققان دیگری اعلام نمودند که ترکیب نانو اکسید سیلیسیم و تیتانیوم نانو در مقادیر پایین فعالیت آنزیم نیترات ردکتاز را در ریزوسفر سویا افزایش می دهد و در نتیجه جوانه زنی و رشد سویا را سرعت می بخشد (۲۲). نانو ذرات فلزی مس بر دو گیاه زراعی ماش و گندم اثر کاهنده بر سرعت رشد نشان داد (۲۲). تحقیقات حاکی از گزارشاتی در مورد اثرات مثبت، منفی و حساسیتهای گیاهان به نانوذره دی اکسید تیتانیوم دارد (۱۹). مطالعات اصلی و نیومن (۲۰۰۹) نشان داده که نانو دی اکسید تیتانیوم به وسیله پر کردن فضای بین میکرو فیبریل های سلولزی در دواره سلولی، اثر منفی بر رشد برگ، فعالیت هیدورکسی ریشه و تعرق در گیاهچه ذرت دارد (۳). در مقایسه فیضی و همکاران (۲۰۱۱)، تأثیر مثبت دی اکسید تیتانیوم نانو را بر جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای غیر نانویی آن گزارش نمودند (۱۳). با توجه به اهمیت گل و گیاهان زینتی، مدیریت تغذیه ای این گیاهان نقش مهمی در افزایش تولید و کیفیت گیاهان زینتی دارد. استفاده از نانو ذرات عناصر غذایی در خاک و گیاه، باعث افزایش حاصلخیزی و کیفیت خاک و همچنین بهبود عملکرد و مقاومت بیشتر گیاهان به تنش های محیطی می شود. تا کنون هیچ تحقیقاتی در زمینه نانوذرات و اثرات آن بر تحمل به شوری گیاهان زینتی انجام نشده است لذا هدف از این آزمایش بررسی اثرات نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و مقایسه با دی اکسید تیتانیوم غیر نانو بر تغییرات کمی و کیفی اطلسی ایرانی تحت شرایط تنش شوری می باشد.

مواد و روش

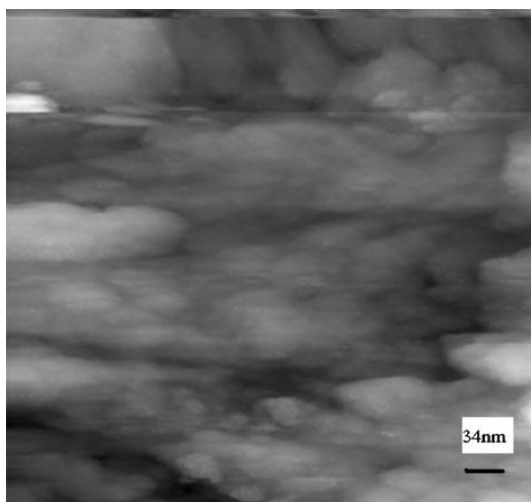
شده هم در سطوح دی اکسید تیتانیوم و هم نانو دی اکسید تیتانیوم در نظر گرفته شد. گیاهان پس از استقرار داخل گلدان در مرحله حدود شش برگی تحت تنش شوری قرار گرفتند و با آب حاوی مقادیر متفاوت از نمک کلرید سدیم آبیاری شدند. میزان آب آبیاری با توجه به ظرفیت زراعی خاک گلدان در هر روز ۳۰۰ سی سی در نظر گرفته شد. به منظور جلوگیری از تجمع نمک، هدایت الکتریکی آب زهکش گلدانها مرتب اندازه گیری شده و زمانی که مقدار هدایت الکتریکی آب زهکش خروجی از ته گلدان، ۱/۵ برابر هدایت الکتریکی آب آبیاری وردی به داخل گلدان می شد آبیاری صورت می گرفت. تیمارهای دی اکسید تیتانیوم نیز به صورت محلول پاشی برگی در غلظت های ذکر شده در ۵ نوبت با فواصل هفت روز (سه نوبت قبل از آغاز تنش شوری و دو نوبت بعد شروع تیمار تنش شوری) اعمال شد. خصوصیات خاک استفاده شده در آزمایش در جدول ۱ آمده است.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در گلخانه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در بهار و تابستان سال ۹۴ اجرا شد. بذره های گل اطلسی در بستر کوکوپیت-پیت ماوس کشت شده و در مرحله چهار برگی به گلدان های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۰ سانتیمتر و طول ۱۸ سانتی متر شامل مخلوطی از ماسه، خاک رس و کود دامی به نسبت (۱:۱:۰/۵) منتقل شدند. دمای شب و روز به ترتیب در حد ۱۸ و ۲۷ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی در محدوده ۶۰-۷۰ درصد حفظ شد. فاکتور اول (A)، سه سطح شوری کلرید سدیم (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار) بود. فاکتور دوم (B) به صورت دو سطح دی اکسید تیتانیوم و نانو دی اکسید تیتانیوم (وجود و عدم وجود نانو ذرات در دی اکسید تیتانیوم) و فاکتور سوم (C) به صورت شش غلظت ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۴۰ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم و در ۳ تکرار تعریف شد (شش غلظت ذکر

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

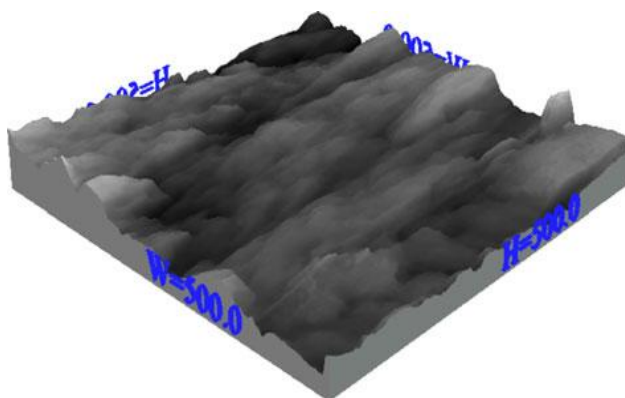
Table 1- Some physical and chemical traits of the soil used in the experiment

بافت خاک Soil Texture	اسیدیته pH	قابلیت هدایت الکتریکی EC (dS m-1)	نیترژن کل Total nitrogen (%)	فسفر قابل جذب Phosphorus (mg/kg)	پتاسیم قابل جذب Available potassium (mg/kg)	غلظت تیتانیوم Titanium concentration (mg/kg)
لومی Loamy	7.1	5.5	15	28	190	1.9



شکل ۱- تصویر نانو ذرات تیتانیوم گرفته شده با میکروسکوپ STM

Figure 1- Image of nanosized TiO₂ by STM



شکل ۲- تصویر توپوگرافی نانو ذرات تیتانیوم گرفته شده با میکروسکوپ STM
Figure 2- Topographic image of nanosized TiO₂ by STM

برای رسم نمودارها از نرم افزار EXCEL استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید

نتایج تجزیه واریانس حاصل از جدول ۲ نشان داد اثرات ساده تنش شوری و غلظت‌های مختلف دی اکسید تیتانیوم و همچنین برهمکنش شوری و تیمار وجود یا عدم وجود نانو ذرات، برهمکنش شوری و غلظت‌های دی اکسید تیتانیوم، برهمکنش غلظت‌های دی اکسید تیتانیوم و تیمار وجود یا عدم وجود نانو ذرات و برهمکنش سه گانه تیمارهای استفاده شده در این آزمایش بر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید معنی دار شد. در تیمار وجود یا عدم وجود نانو ذرات نیز در صفات کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید اختلاف معنی داری مشاهده شد. با افزایش سطوح شوری از ۰ به ۱۵۰ میلی مولار در شرایط عدم استفاده از دی اکسید تیتانیوم و نانو دی اکسید تیتانیوم میزان کلروفیل a کاهش یافت. با توجه به نتایج مقایسه میانگین جدول ۳ بیشترین مقادیر کلروفیل a در شرایط عدم اعمال تنش شوری (سطح ۰ میلی مولار نمک) و در سطوح ۱۰ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم و ۵ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم مشاهده شد. با اعمال سطوح شوری میزان کلروفیل b نیز کم شد. نتایج حاصل از اعمال تیمارهای دی اکسید و نانو دی اکسید تیتانیوم در شرایط بدون تنش شوری در جدول ۳ نشان داده شده است. این نتایج نشان داد میزان کلروفیل b در تیمار شاهد (تیمار بدون تنش

دی اکسید تیتانیوم (نانو و غیر نانو) استفاده شده از شرکت Evonik Degussa GmbH آلمان تهیه شد. سطح ویژه نانو ذرات تیتانیوم ۵۰ m²/g، متوسط اندازه ذرات نانو تیتانیوم ۲۱ nm و با خلوص ۹۹/۵ درصد بود. سائز و توپوگرافی نانو ذرات تیتانیوم با میکروسکوپ تونلی روبشی (STM) در آزمایشگاه تعیین شد (شکل ۱ و ۲).

در انتهای آزمایش و پس از اعمال تنش شوری تعداد شاخه‌های جانبی و تعداد برگ اندازه گیری شده. در طی مرحله گلدهی تعداد گل به صورت پیوسته شمارش و قطر گل و طول جام گل با استفاده از کولیس دیجیتال ثبت شد. در پایان آزمایش یعنی هفت هفته پس از اعمال تنش شوری سطح برگ با استفاده از دستگاه سطح برگ سنج (Li-Cor, Model Li-1300, USA) اندازه گیری شد. به منظور استخراج کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید برگ تازه به میزان ۰/۲ گرم را کاملاً خرد کرده و آنرا در یک هاون چینی با ۱۰ میلی لیتر متانول ۹۶ درصد ساییده تا به صورت توده یکنواختی درآید (عمل ساییدن و له کردن در محیط خنک و در نور کم انجام گرفت). مخلوط حاصل از کاغذ صافی رد شده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت (۱۱). بلافاصله محلول روشنر را برداشته و با استفاده از اسپکتروفوتومتر ساخت شرکت Bio Quest انگلستان، مدل CE 2502، میزان جذب نور در طول موجهای ۶۶۶ و ۶۵۳ نانومتر قرائت گردید (۱۱)، و نهایتاً غلظت کلروفیل با استفاده از روابط زیر بدست آمد.

$$1. \text{Chl a } (\mu\text{g/ml}) = 15.65 \text{ A666} - 7.340 \text{ A653}$$

$$2. \text{Chl b } (\mu\text{g/ml}) = 27.05 \text{ A653} - 11.21 \text{ A666}$$

$$3. \text{Chl (total)} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

$$4. \text{Cx+c} = 1000 \text{ A470} - 2.860 \text{ Ca} - 129.2 \text{ Cb}/245$$

وزن تر شاخساره، برگ و گل با ترازوی دیجیتال مدل GF-300

ساخت ژاپن با دقت ۰/۰۰۱ توزین شد.

تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار MSTAT-C انجام شد و

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر دی اکسید و نانو دی اکسید تیتانیوم و سطوح دی اکسید تیتانیوم بر کلروفیل a، b، کل، کارتنوئید، سطح و تعداد شاخه جانبی در گل اطلسی در شرایط شوری
 Table 1- ANOVA of nanosized and bulk titanium dioxide and titanium dioxide levels on chlorophyll a, b, total chlorophyll, carotenoid, leaf area, leaf and lateral shoot number in petunia under salt stress

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	تعداد شاخه فرعی Lateral shoot Number	تعداد برگ Leaf Number	سطح برگ Leaf Area	کارتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a
A تنش شوری Salt stress	2	17.36**	28851.81**	317154.17**	1.55**	25.88**	8.18**	4.60**
وجود و عدم وجود نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم B	1	3.34*	4760.08**	77038.05**	0.24**	0.42ns	1.12*	0.88**
Nanosized and bulk titanium dioxide A×B	2	0.84ns	484.77**	392.70ns	0.007ns	3.15**	1.51**	1.32**
C سطوح دی اکسید تیتانیوم Titanium dioxide leveles	5	7.66**	3084.94**	87287.63**	0.26**	5.25**	3.93**	0.87**
A×C	10	1.87**	608.52**	16820.48**	0.13**	1.70**	1.64**	1.20**
B×C	5	1.36*	1748.52**	40996.49**	0.21**	2.42**	2.76**	0.65**
A×B×C	10	0.66ns	290.22**	6441.60ns	0.04**	0.62**	0.95**	2.63**
خطا Error	72	0.50	112.01	3723.04	0.01	0.15	0.23	0.12
ضریب تغییرات CV(%)		11.23	10.59	11.24	16.05	14.36	13.66	14.93

** و * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ns بیانگر عدم معنی داری
 ** and * significant at 1% and 5% respectively and ns indicates no significant

جدول ۳- برهمکنش سه گانه تنش شوری × وجود و عدم وجود نانو ذرات × سطوح دی اکسید تیتانیوم بر کلروفیل a، b، کل، کارتنوئید، سطح و تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی در گل اطلسی

Table 3- Triple interaction effects of salinity × anosized and bulk titanium dioxide × levels of titanium dioxide on chloropyll a, b, total chloropyll, cartenoid, leaf area, leaf and lateral shoot number in petunia

شوری Salinity (mM)	وجود و عدم وجود نانو ذرات nanosized and bulk titanium dioxide	غلظت های دی اکسید تیتانیوم TiO2 concentration (ppm)	تعداد شاخه جانبی Lateral shoot Number	تعداد برگ Leaf Number	سطح برگ Leaf Area (cm ²)	کارتنوئید Cartenoid (μg/0.2g fw)	کلروفیل کل Total Chloropyll l (μg/0.2g fw)	کلروفیل b Chloropyll b (μg/0.2g fw)	کلروفیل a Chloropyll a (μg/0.2g fw)
0	0	0	2.66fgh	59.66jkl	236.56h-k	1.18bc	2.27k-n	2.96ab	1.34g-j
0	0	5	3.33d-g	103.66cde	361.06c-f	0.98c-g	3.70cdef	2.12cde	1.57efg
0	0	10	5.33ab	120.33bc	429.56bcd	1.52a	4.19bc	1.01h-l	3.18a
0	0	15	4.33bcd	83.00fgh	349.80d-g	1.12cd	3.92b-e	1.37e-j	2.54bc
0	0	20	4.33bcd	94.33def	271.68f-i	0.53k-n	4.03abc	0.89i-m	1.38ghi
0	0	40	5.00abc	106.66cd	489.85b	1.10cde	4.45ab	1.41e-j	2.38bcd
0	1	5	3.33d-g	100.66de	435.09bcd	1.35ab	4.84a	1.65d-i	3.18a
0	1	10	3.66def	105.33cd	316.78e-h	1.05c-f	3.49d-g	2.93ab	0.55no
0	1	15	5.00abc	125.66b	608.67a	0.57j-n	2.74h-k	1.78c-h	0.96h-o
0	1	20	6.00a	148.33a	451.70bc	0.73h-k	4.10bcd	3.55a	0.54 no
0	1	40	4.33bcd	93.66def	450.20bc	0.81ghi	2.98g-j	0.78-n	2.20 bcd
75	0	0	2.00h	38.00nop	152.18kl	0.62i-m	1.33qrs	2.36bcd	1.01 g-n
75	0	5	2.33gh	51.33k-n	215.25ijk	0.64i-m	2.53i-l	1.10-l	0.42o
75	0	10	3.33d-g	43.66l-p	395.00b-e	0.96d-g	1.80n-r	1.26f-k	0.54no
75	0	15	3.33d-g	39.00nop	257.46g-j	0.67ijkl	2.44j-n	2.36bcd	2.07cde
75	0	20	3.33d-g	46.33l-p	149.50kl	0.52lmn	3.37efgh	0.68j-n	0.64no
75	0	40	3.66def	65.66ijk	323.56e-h	0.89fgh	2.45-m	0.20mn	2.24bcd
75	1	5	2.66fgh	68.00h-k	206.20ijk	0.60ijk-n	3.82b-e	0.42lmn	1.40fgh
75	1	10	4.00cde	78.00f-hi	279.95f-i	0.62ij-n	3.71c-f	1.07h-l	2.64ab
75	1	15	4.33bcd	73.00g-j	469.01b	0.42n	3.84b-e	2.57bc	1.27g-l
75	1	20	4.33bcd	87.33efg	214.18ijk	0.78ghi	3.98b-e	1.91c-f	2.07cde
75	1	40	3.66def	60.00jkl	428.13bcd	0.74hij	1.83m-r	0.39lmn	1.43fgh
150	0	0	2.00h	33.66opq	151.37kl	0.75hij	2.09l-o	1.08h-l	1.09g-n
150	0	5	2.66fgh	54.00k-n	191.81ijk	0.57-n	1.32rs	0.52k-n	0.80jk-o
150	0	10	2.66fgh	44.00l-p	248.00h-k	0.90e-h	1.96l-q	1.67d-i	1.95def
150	0	15	3.00e-h	40.33m-p	149.04kl	0.80ghi	1.51o-s	0.81jk-n	0.69mno
150	0	20	2.00h	40.33m-p	74.04l	0.53k-n	2.18k-n	0.79jk-n	1.30g-k
150	0	40	2.00h	67.66h-k	244.24h-k	0.46mn	2.35-n	1.62d-i	0.73l-o
150	1	5	3.33d-g	40.66m-p	159.93jkl	0.47lmn	1.96l-r	1.09g-l	0.86h-o
150	1	10	3.00e-h	57.33j-m	203.20ijk	0.66i-m	2.10l-p	0.78jk-n	1.23g-m
150	1	15	3.00e-h	47.66l-o	235.63h-k	0.56j-n	1.40p-s	0.63jk-n	0.76k-o
150	1	20	3.33d-g	58.00jkl	185.40ijk	0.56j-n	3.10f-i	1.88c-g	1.22g-m
150	1	40	3.00e-h	66.33h-k	363.75c-f	0.57j-n	0.94s	0.08n	0.85i-o

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، اختلاف معنی داری با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level using LSD test.

رسید و بعد از آن در غلظت ۴۰ پی‌پی‌ام (بیشترین غلظت استفاده شده برای دی اکسید تیتانیوم)، رو به افزایش گذاشت. به این ترتیب بیشترین مقدار کلروفیل b در سطح صفر تنش و در تیمار ۲۰ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم بود. بیشترین مقدار کارتنوئید در غلظت ۱۰

شوری و بدون دی اکسید تیتانیوم) ۲/۹۶ میکروگرم در ۰/۲ گرم وزن تر برگ اطلسی بوده است. تحت تاثیر تیمارهای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم مقدار کلروفیل b به تدریج کم شد. به طوریکه در تیمار ۲۰ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم به ۰/۸۹ میکروگرم

سطح برگ و تعداد شاخه فرعی نداشت. مقایسه میانگین برهمکنش سه عامل شوری، وجود و عدم وجود نانو ذرات و سطوح متفاوت دی اکسید تیتانیوم نشان داد شوری منجر به کاهش مقادیر سه صفت سطح برگ، تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی در گل اطلسی شد. کاهش سطح برگ اطلسی بر اثر تنش شوری در نتایج بیات و همکاران (۴) نیز مشاهده شد. کاهش سطح برگ در اثر شوری، یا در نتیجه کاهش تعداد برگ در اثر کاهش مقدار فتوسنتز و یا کاهش اندازه برگ در اثر کاهش فشار تورژسانس است. همچنین کاربرد دی اکسید تیتانیوم و نانو دی اکسید تیتانیوم در تمام غلظت های استفاده شده منجر به بهبود اثرات سوء شوری بر سطح برگ، تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی شد. به این ترتیب در غلظت ۷۵ میلی مولار تنش شوری، با کاربرد غلظت های ۵ و ۱۰ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم سطح برگ از ۱۵۲ سانتیمتر مربع در هر بوته، به ۲۱۵ و ۳۹۵ سانتیمتر مربع و با کاربرد غلظت های ۵ و ۱۰ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم از ۱۵۲ به ۲۰۶ و ۲۷۹ سانتیمتر مربع در هر بوته رسید (جدول ۳). در تنش شدید ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، در شرایط عدم استفاده از دی اکسید تیتانیوم نانو و غیر نانو ۳۳ برگ در هر بوته وجود داشت. با اعمال غلظت های ۵، ۱۰ و ۱۵ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم و غلظت های ۵، ۱۰ و ۱۵ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم این مقدار به ترتیب ۶۰، ۳۰، ۲۰، ۳۲، ۷۰ و ۴۱ درصد افزایش یافت. میانگین تعداد شاخه جانبی در هر بوته در شرایط شاهد تنش ۲/۶۶ بود که پس از اعمال غلظت های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۴۰ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم به ۳/۳۳، ۴/۳۳، ۵/۳۳، ۴/۳۳ و ۴/۳۳ شاخه در هر بوته و پس از اعمال غلظت های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۴۰ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم به ۳/۳۳، ۳/۶۶، ۵، ۶ و ۴/۳۳ شاخه در هر بوته رسید. با توجه به نتایج فوق بکار گیری عنصر تیتانیوم به عنوان یک ریز مغذی در تمام سطوح استفاده شده در این آزمایش نسبت به شاهد (عدم کاربرد دی اکسید تیتانیوم نانو و غیر نانو) بر رشد و صفات مورفولوژیک نظیر سطح برگ، تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی اثر بهینه داشته است. به عبارتی تیتانیوم از طریق کاهش اثرات سمی عناصر دیگر باعث افزایش رشد شده است (۱۸). کراواجال و همکاران (۶) گزارش کرد کاربرد تیتانیوم در محلول غذایی و یا محلول پاشی روی برگ های گیاه باعث افزایش زیست توده و رشد گونه های مختلف گیاهی شده است. تیتانیوم با افزایش جذب نیتروژن منجر به افزایش فتوسنتز و در نتیجه افزایش طول بوته های لفل شد (۶).

وزن تر برگ، شاخساره و گل

مطابق با نتایج جدول ۴ تنش شوری بر وزن تر اجزای بوته (برگ، شاخساره و گل) اثر معنی دار داشت. وجود و عدم وجود ذرات نانو در ترکیب دی اکسید تیتانیوم استفاده شده در آزمایش به جز وزن

پی پی ام دی اکسید تیتانیوم مشاهده شد. منطبق با نتایج جدول ۳ با افزایش شوری از ۰ به ۷۵ میلی مولار میزان کلروفیل کل از ۲/۲۷ به ۱/۳۳ میکروگرم کاهش یافت و با افزایش شوری از ۷۵ به ۱۵۰ میلی مولار مقدار کلروفیل کل از ۱/۳۳ به ۲/۰۹ رسید. کاربرد دی اکسید تیتانیوم به دو صورت نانو و غیر نانو مقدار کلروفیل کل در شرایط تنش شوری را تحت تاثیر قرار داد. در تنش متوسط ۷۵ میلی مولار کلرید سدیم با کاربرد غلظت ۵ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم به دو صورت نانو و غیر نانو مقدار کلروفیل کل به ترتیب ۲/۸ و ۱/۹ برابر نسبت به عدم استفاده از دی اکسید تیتانیوم در همین سطح از تنش افزایش یافت. نتایج فوق با گزارش کراواجال و همکاران (۶) مبنی بر تاثیر مثبت تیتانیوم بر میزان کلروفیل منطبق است. به عبارتی تیتانیوم با افزایش میزان کلروفیل (۹) و فتوسنتز، خصوصاً از طریق افزایش انتقال الکترون از فتوسیستم ۲ به ۱ (۳۰)، افزایش فعالیت نوری فتوسنتز (۲۸) و همچنین جذب عناصر مؤثر در تولید کلروفیل و فتوسنتز نظیر آهن (۹)، منیزیم (۹) و نیتروژن (۲۶)، باعث افزایش رشد می شود. ضمن اینکه بیشترین میزان کلروفیل کل در شرایط عدم اعمال تنش شوری و غلظت ۵ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم و کمترین مقدار این صفت در شوری ۱۵۰ میلی مولار و بیشترین غلظت دی اکسید تیتانیوم استفاده شده در این آزمایش یعنی ۴۰ پی پی ام و به صورت نانو مشاهده شد. مارتینز و سانچز (۲۶) نیز در بررسی خود بر گیاه لفل گزارش کردند اعمال تیمار تیتانیوم در افزایش کلروفیل و به دنبال آن افزایش قند و در نتیجه بهبود کیفیت لفل موثر است. در مطالعه ای ژنگ و همکاران (۳۸)، افزایش جوانه زنی، وزن خشک گیاه، تشکیل کلروفیل، فعالیت آنزیم روبسکو و سرعت فتوسنتز را در اسفناج در اثر تیمار با دی اکسید تیتانیوم نانو مشاهده نمودند.

سطح برگ، تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی:

اثر ساده سه تیمار شوری، ذرات نانو (وجود یا عدم وجود نانو ذرات) و سطوح مختلف دی اکسید تیتانیوم اثر معنی داری بر سطح برگ، تعداد برگ و تعداد شاخه فرعی به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ و ۱ درصد داشت. برهمکنش دو تیمار A و B در سطح برگ و تعداد شاخه فرعی معنی دار نشد. برهمکنش دو تیمار A و C و اثر ساده سه تیمار شوری، ذرات نانو (وجود یا عدم وجود نانو ذرات) و سطوح مختلف دی اکسید تیتانیوم اثر معنی داری بر سطح برگ، تعداد برگ و تعداد شاخه فرعی به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ و ۱ درصد داشت. برهمکنش دو تیمار A و B در سطح برگ و تعداد شاخه فرعی معنی دار نشد. برهمکنش دو تیمار A و C و دو تیمار B و C در هر سه صفت سطح و تعداد برگ و تعداد شاخه فرعی اختلاف معنی داری داشت. برهمکنش سه گانه تیمارهای فوق نیز بر صفت تعداد برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد و اثر معنی داری بر دو صفت

تر برگ، بر وزن تر شاخساره و گل معنی دار شد.

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر دی اکسید تیتانیوم و سطوح دی اکسید تیتانیوم بر وزن تر شاخساره و صفات وابسته به گل در گل اطلسی تحت در شرایط شوری
 Table 4- ANOVA of nanosized and bulk titanium dioxide and titanium dioxide leveles on leaf and shoot weighth and some traits related to flower in *Petunia* under salt stress

منابع تغییر	درجه آزادی	فطر گل	طول جام گل	تعداد گل	وزن گل	وزن تر شاخساره	وزن تر برگ
Source of variation	df	Flower Diameter	Corolla Length	Flower Number	Flower Fresh Weight	Shoot Fresh Weight	Leaf Fresh Weight
تنش شوری (A) salt stress	2	856.29**	324.81**	243.10**	0.123**	275.16**	581.82**
وجود و عدم وجود ناو ذرات دی اکسید تیتانیوم (B) nanosized and bulk titanium dioxide	1	16.18ns	48.73**	8*	0.009**	40.35**	3.76ns
A×B	2	6.11ns	46.59**	6.32*	0.004**	7.407ns	46.98ns
تیمارهای دی اکسید تیتانیوم (C) titanium dioxide leveles	5	69.23**	259.37**	28.47**	0.009**	37.37**	280.39**
A×C	10	72.60**	50.58**	4.31*	0.004**	8.16*	117.49**
B×C	5	37.62**	27.50**	3.08ns	0.008**	23.14**	32.32ns
A×B×C	10	24.81*	38.31*	4.50*	0.009**	8.18*	40.43ns
خطا	72	10.72	9.87	2.20	0.001	4.21	24.05
Error							
ضریب تغییرات CV(%)		7.37	8.40	8.28	6.32	10.86	10.93

** و * significant at 1% and 5% respectively and ns indicates no significant

** و * significant at 1% and 5% respectively and ns indicates no significant

جدول ۵- برهمکنش سه گانه تنش شوری × وجود و عدم وجود نانو ذرات × سطوح دی اکسید تیتانیوم بر وزن تر ساقه و برگ و صفات وابسته به گل در گل اطلسی

Table 5- Triple interaction effects of salinity × nanosized and bulk titanium dioxide × levels of titanium dioxide on leaf and shoot weight and some traits related to flower in *Petunia*

شوری Salinity (mM)	وجود و عدم وجود نانو ذرات nanosized and bulk titanium dioxide	غلظت های دی اکسید تیتانیوم TiO2 concentration (ppm)	قطر گل Flower Diameter (mm)	طول جام گل Corolla Length (mm)	تعداد گل Flower Number	وزن تر گل Flower Fresh Weight (g)	وزن تر شاخساره Shoot Fresh Weight (g)
0	0	0	49.40a-f	31.87opq	7.66e-j	11.676.e-j	13.28a-d
0	0	5	48.00c-h	44.89bc	8.00e-i	12.00e-i	11.95a-f
0	0	10	48.87b-g	40.73e-h	10.00cde	14.00c-e	12.86a-e
0	0	15	54.00ab	43.41cd	11.33bcd	15.33b-d	14.86a
0	0	20	51.27a-d	38.66f-k	12.33abc	16.33a-c	14.55a
0	0	40	46.00d-j	41.95de	11.66bcd	16.67b-d	14.31ab
0	1	5	54.33a	40.90efg	13.00ab	18.33a	10.22d-j
0	1	10	50.23a-e	47.95a	10.00cde	17.00ab	11.17b-g
0	1	15	47.16c-i	38.66f-k	13.33ab	14.00c-e	12.39a-e
0	1	20	46.50c-j	32.70nop	11.66bcd	17.33ab	7.42ijkl
0	1	40	46.43c-j	47.29ab	14.33a	15.67b-d	15.25a
75	0	0	41.48d-j	30.00qr	5.66ijk	9.67i-k	8.74fg-k
75	0	5	44.41j-n	34.35mn	6.66h-k	10.67h-k	8.00g-k
75	0	10	46.39fg-k	37.41jkl	7.46f-j	11.33f-k	9.76e-j
75	0	15	48.00c-h	41.00ef	9.33d-g	13.33d-g	10.52c-i
75	0	20	43.00h-l	38.77f-k	7.66e-j	13.67e-j	13.70abc
75	0	40	43.40h-l	42.00de	8.66e-h	12.67e-h	12.28a-e
75	1	5	51.81abc	37.14jkl	7.66e-j	14.00c-e	10.43c-i
75	1	10	43.37h-l	39.42f-j	5.66ijk	11.67e-j	11.05b-h
75	1	15	48.14c-h	46.47ab	8.00e-i	9.67i-k	7.78hijk
75	1	20	36.53no	40.96ef	9.66def	12.00e-i	6.23kl
75	1	40	44.98e-k	38.50g-l	10.00cde	13.67d-f	10.23d-j
150	0	0	32.67o	28.66r	5.00k	9.00k	5.64kl
150	0	5	38.63lmn	36.25lm	6.86h-k	10.67h-k	5.44kl
150	0	10	42.63i-m	33.38no	5.33jk	9.33jk	4.37l
150	0	15	40.00k-n	28.12r	5.66ijk	9.67i-k	7.05jkl
150	0	20	43.86gh-l	31.48opq	5.00k	9.00k	7.53ijkl
150	0	40	44.51fghijk	38.09i-l	7.00g-k	11.00g-k	13.26a-d
150	1	5	32.43o	30.47pqr	6.00ijk	9.67i-k	4.33l
150	1	10	45.82e-j	36.65klm	5.33jk	10.00i-k	8.53g-k
150	1	15	40.3k-n	39.33f-j	5.66ijk	9.33ojk	6.97jkl
150	1	20	37.54mno	38.30i-l	6.79h-k	9.67i-k	6.25kl
150	1	40	43.40h-l	38.33h-l	5.66ijk	10.67h-k	10.18d-j

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، اختلاف معنی داری با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level using LSD test.

تیتانیوم و غلظت ۴۰ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم مشاهده شد. وزن تر گل در گلدان‌های شاهد ۱۱/۶۷ گرم در هر بوته بود و با افزایش سطوح تنش به ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار به ۹/۶۷ و ۹ کاهش یافت. در تنش ۷۵ میلی مولار با اعمال ۵ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم وزن تر گل ۱۰/۳ درصد و با اعمال ۵ پی پی ام نانو دی اکسید تیتانیوم ۴۴/۷ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. به همین ترتیب در همین سطح از تنش شوری (۷۵ میلی مولار)، با کاربرد غلظت ۴۰ پی پی ام دی اکسید تیتانیوم به دو صورت نانو و بدون نانو وزن تر گل به ترتیب ۴۱ و ۳۱ درصد نسبت به عدم کاربرد دی اکسید تیتانیوم

برهمکنش دو تیمار شوری و نانو ذرات نیز فقط در وزن تر گل اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد. اثر ساده استفاده از سطوح مختلف دی اکسید تیتانیوم و همچنین برهمکنش آن با تیمار شوری معنی دار بود. برهمکنش سطوح دی اکسید تیتانیوم و ذرات نانو در وزن تر برگ اختلاف معنی دار نداشت و برهمکنش اثرات سه گانه سه تیمار مورد بررسی نیز به جز وزن تر برگ، در وزن تر شاخساره و وزن تر گل در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. با توجه به نتایج جدول ۵ بیشترین وزن تر شاخساره در شرایط عدم اعمال تنش شوری و در غلظت‌های ۱۵ و ۲۰ پی پی ام دی اکسید

افزایش یافت.

نتایج نشان داد در شرایط عدم تنش در تمامی غلظت‌های دی‌اکسید و نانو دی‌اکسید تیتانیوم وزن اجزای گیاه (رویشی و زایشی) افزایش داشته است. منطبق با نتایج فوق چاو و همکاران (۷)، گزارش کرد اکسید تیتانیوم از طریق افزایش فتوسنتز و کاهش خسارت ناشی از آفات و بیماری‌ها تا ۳۰ درصد باعث افزایش محصول شده است (۷). افزایش میزان محصول لوبیا چشم بلبلی تحت تیمار ۱۲۵ پی‌پی‌ام در هکتار تیتانیوم توسط اوولاد و همکاران (۲۸) گزارش شده است. این محققین، دلیل افزایش محصول لوبیا چشم بلبلی را نقش تیتانیوم در فعالیت نوری فتوسنتز دانستند. صابر و همکاران (۳۲)، گزارش کردند نانو TiO_2 با افزایش جذب و اسمیلاسیون نیتروژن، سنتز کلروفیل را افزایش داده و متعاقب آن فتوسنتز نیز افزایش می‌یابد که به دنبال آن وزن گیاه و صفات رشدی نیز افزایش خواهد داشت (۳۲). نانو TiO_2 باعث افزایش فعالیت روبیسکو (آنزیم دخیل در فتوسنتز) می‌شود که دلیل افزایش فعالیت این آنزیم، به تاثیر TiO_2 در افزایش فعالیت روبیسکو اکتیواز نسبت داده می‌شود. نانو TiO_2 باعث افزایش جذب و انتقال نور، تسریع چرخه انتقال الکترون، فتولیز آب و تکمیل چرخه اکسیژن گردیده و سنتز ATP را تسریع می‌کند. علاوه بر این نانو TiO_2 باعث کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن ROS و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در کلروپلاست اسفناج شده و نفوذپذیری غشای کلروپلاست را کاهش می‌دهد و در نتیجه باعث افزایش استحکام غشا در برابر نور شدید می‌گردد (۳۲). با توجه به نتایج تحقیق حاضر شوری منجر به کاهش وزن تر شاخساره، برگ و گل شد. این نتایج با گزارشات فورنس و همکاران (۱۵)، مطابقت دارد. فورنس و همکاران (۱۵) گزارش کرد که تنش شوری با غلظت ۱۰۰ میلی مولار باعث کاهش رشد گیاه، وزن تر و خشک شاخساره، اندازه ریشه و تعداد برگ در گیاه اطلسی) نسبت به شاهد شد.

تعداد گل، طول و قطر گل

میانگین مربعات حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۴)، نشان داد شوری بر تعداد گل، طول جام و قطر گل اثر معنی دار دارد. اثر ساده وجود و عدم وجود ذرات نانو و بر همکنش شوری و ذرات نانو نیز بر تعداد گل (سطح ۵ درصد) و طول جام گل (سطح ۱ درصد) معنی دار شد. اثر ساده سطوح دی‌اکسید تیتانیوم و همچنین برهمکنش آن با شوری بر صفات ذکر شده (تعداد گل، طول جام و قطر گل) اختلاف معنی دار نشان داد. برهمکنش سطوح دی‌اکسید تیتانیوم و نانو ذرات بر تعداد گل اثر معنی دار نداشت. اثرات متقابل سه تیمار مورد آزمایش (شوری، وجود و عدم وجود ساختار نانو در ترکیب دی‌اکسید تیتانیوم و سطوح دی‌اکسید تیتانیوم) نیز در صفات تعداد گل، طول جام گل و قطر گل به ترتیب در سطح ۵، ۱ و ۵

درصد معنی دار بود.

در شاهد اطلسی (در شرایط عدم تنش شوری و محلول پاشی با آب مقطر) تعداد گل به طور میانگین ۷/۶۶ بود. محلول پاشی برگی اطلسی در تمام غلظت‌های استفاده شده در شرایط عدم تنش، تعداد گل را افزایش داد. ضمن اینکه اطلسی‌های تیمار شده با ۴۰ پی‌پی‌ام نانو دی‌اکسید تیتانیوم و در شرایطی که با آب مقطر آبیاری می‌شدند نسبت به سایر گیاهان پر گل تر (با میانگین تعداد گل ۱۴/۳۳ در هر بوته) بودند. اثرات مثبت تیتانیوم بر افزایش تعداد گل در گیاهان تحت تنش نیز مشاهده شد (جدول ۵). در شوری ۷۵ میلی مولار به طور میانگین ۵/۶ گل در هر بوته اطلسی تیمار نشده با تیتانیوم وجود داشت، که با محلول پاشی غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام دی‌اکسید تیتانیوم این تعداد به ترتیب به ۶/۶، ۷/۴، ۹/۳، ۷/۶ و ۸/۶ رسید. دو صفت طول جام گل و همچنین قطر گل به عنوان معیاری از درشتی گل در نظر گرفته شد. تنش شوری منجر به کاهش طول جام و قطر گل شد. به طوریکه با افزایش شوری تا سطح ۱۵۰ میلی‌مولار در شرایط عدم محلول پاشی با تیمارهای حاوی تیتانیوم، طول جام گل از ۳۱/۸ به ۲۸/۶ و قطر گل از ۴۹/۴ به ۳۲/۶ میلیمتر رسید. کاهش تعداد گل اطلسی و قطر گل در نتیجه تنش شوری در نتایج بیات و همکاران (۴)، نیز مشاهده شد و تنش شوری در غلظت ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم تعداد گل روی بوته و قطر گل را به ترتیب به میزان ۱۰۰ و ۱۲ درصد کاهش داد.

در بین تیمارهای مورد آزمایش گل‌های تیمار شده با ۱۰ پی‌پی‌ام دی‌اکسید تیتانیوم به صورت ذرات نانو و آبیاری با آب مقطر طول جام گل بیشتر و گل‌های تیمار شده با ۵ پی‌پی‌ام نانو دی‌اکسید تیتانیوم و ۱۵ پی‌پی‌ام دی‌اکسید تیتانیوم و آبیاری با آب مقطر قطر گل بیشتری داشتند. حقیقی و دانشمند (۱۶) گزارش نمودند تاکنون اثر تیتانیوم بر رشد زایشی گیاه بررسی نشده است. اگرچه در آزمایش انجام شده تیمارهای تیتانیوم تاثیر مثبتی بر تعداد و اندازه گل داشت در گوجه فرنگی مشاهده شد که تیتانیوم بر زمان ظهور اولین گل و ورود گیاه به فاز زایشی اثری ندارد. ضمن اینکه تعداد گل را در غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر کاهش داد و در غلظت ۲ میلی‌گرم بر لیتر و همچنین نانوتیتانیوم بر تعداد گل بی اثر بود.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی، استفاده از تیتانیوم و نانوتیتانیوم در گل اطلسی باعث تحریک صفات رشدی نظیر تعداد گل و وزن گیاه نسبت به شاهد در شرایط شوری شد. ضمن اینکه تیمارهای حاوی نانو تیتانیوم به خصوص در غلظت‌های کمتر نسبت به تیتانیوم در بهبود صفات مورفولوژیک نقش موثرتری داشتند.

منابع

- 1- Ahmad M.S.A., Ali Q., Ashraf M., Haider M. Z. and Abbas Q. 2009. Involvement of polyamines, abscisic acid and anti-oxidative enzymes in adaptation of Blue Panicgrass (*Panicum antidotale* Retz.) to saline environments. *Environmental and Experimental Botany*, 66: 409-417.
- 2- Armitage A. M. 1985. *Petunia*. PP. 41-46. In: Halevy, A. H. (Ed.), *Handbook of flowering*, CRC Press, Boca Raton ,Florida. 52-59.
- 3- Asli S. and Neumann PM. 2009. Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant cell environ*, 32:577-584.
- 4- Bayat H, Namati S, Tehranifar A, Vahdati N, Selahvarzi Y. 2012. Effects of salicylic acid on growth and ornamental characteristics of Persian petunia (*Petunia hybrida*) under salt stress. *Journal of Greenhouse Culture Science and Technology*, 3 (11) :43-51
- 5- Carvajal M. and Alcaraz C. F. 1998. Why titanium is a beneficial element for plants. *Journal of Plant Nutrition*, 21(4): 655-664.
- 6- Carvajal M., Martínez-Sánchez F. and Alcaraz C. F. 1994. Effect of Ti (IV) on some physiological activity indicators of *Capsicum annuum* L. plants *Horticulture Science*, 69: 427-432.
- 7- Chao S. H. L. and Choi H. S. 2005. Method for Providing Enhanced Photosynthesis. Korea Research Institute of Chemical Technology, Jeonju, South Korea, 10 p
- 8- Chinnamuthu C.R. and Murugesu Boopathi P. 2009. Nanotechnology and Agroecosystem. *The Madras Agricultural Journal*, 96 (1-6): 17-31.
- 9- Cramer G. R., Lauchl J., Lauchl A. and Epstein E. 1987. Influx of Na, K and Ca into roots of salt stressed cotton seedlings: Effects of Supplemental Ca. *Plant Physiology*, 83, 510-516.
- 10- Dadashi MR, Majidi Hervan I. and Noorinia AA., 2007. Evaluation different genotypes of barley to salinity stress. *Journal of Agricultural Science*, 1: 181-190.
- 11- Dere S., Gunes T. and Sivaci R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Journal of Botany*, 22: 13-17.
- 12- El-Fouly M. M., Mobarak Z. M. and Salama Z. A. 2011. Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum aestivum* L. *African Journal of Plant Science*, 5, 314- 322.
- 13- Feizi H, Rezvani Moghadam P, Fotovat A, Shah Tahmasbi N. 2011. Reaction of wheat seed to different concentrations of titanium dioxide nanoparticles in comparison with nonnano-particles. *Proc. Of 2th congress on science and technology seed*. Nov. 4-5, Mashhad, Iran. pp. 565-569
- 14- Fornes F., Maria Belda R., Carrion C., Noguera V., Garcia-Agustin P. and Abad M. 2007. Pre-conditioning germination of lettuce seeds. *Water Air and Soil Pollution*, 97:143-148
- 15- Fornes F., Maria Belda R., Carrion C., Noguera V., Garcia-Agustin P. and Abad M. 2007. Pre-conditioning ornamental plants to drought by means of saline water irrigation as related to salinity tolerance. *Scientia Horticulturae*, 113:52-59.
- 16- Haghghi M., and Daneshmand B. 2012. Comparison of titanium and titanium nanoparticles on growth and photosynthesis of tomato in hydroponic system. *Science and Technology of greenhouse cultures*, 4(13): 73-79.
- 17- Hawthorne J, Musante C, Sinha S K. and White J C. 2012. Accumulation and phytotoxicity of engineered nanoparticles to Cucurbita Pepo. *Inter. Journal of Phytoremediation*, 14: 429-442
- 18- Inman O. L., Barclay G. and Hubbard M. 1935. Effect of titanium chloride on the formation of chlorophyll in *Zea mays*. *Journal of Plant Physiology*, 10: 821-822.
- 19- Klancnik K, Drobne D, Valant J. and Dolenc Koce J. 2011. Use of a modified Allium test with nanoTiO₂. *Ecotoxicology and Environmental Safety*.74:85-92.
- 20- Kumar P. A. and Bandhu D. A. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
- 21- Lee W, An Y, Yoon H. and Kweon H. 2008. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles terrestrial plants smung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant uptake for water insoluble nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry*; 27(9):1915 – 21.
- 22- Lu C. M., Zhang C. Y., Wen J. Q., Wu G. R. and Tao M. X. 2002. Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of Glycine max and its mechanism. *Soybean Science*, 21: 168-172.
- 23- Lu CM, Zhang CY, Wen JQ, Wu GR. and Tao MX. 2002. Research of the effect of nanometer Materials on germination and grow the enhancement of Glycine max and its Mechanisms. *Soybean Science*; 21:168– 72
- 24- Lutts S., Kinet J. M. and Bouharmont J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.)

- ornamental plants to drought by means of saline water irrigation as related to salinity tolerance. *Annals of Botany*, 8: 389-398.
- 25- Martínez-Sánchez F., Gimenez J. L., Martínez-Canadas M. A., Pastor J. J. and Alcaraz C. F. 1990. Micronutrient composition in several portions of *Capsicum* plants and their relation with red fruit color. *Acta Aliment*, 19:177-185.
- 26- Martínez-Sánchez F., Nunez M., Amoros A., Gimenez J. L. and Alcaraz C. F. 1993. Effect of titanium leaf spray treatments on ascorbic acid levels of *Capsicum annuum* L. fruits. *Journal Plant Nutrition*, 16(5): 975-981.
- 27- Mojalali h. 1995. Salt and sodium soils (principles, dynamics, modeling). 284 p.
- 28- Owolade O. F., Ogunleti D. O. and Adenekan M. O. 2008. Titanium dioxide affects diseases, development and yield of edible cowpea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 7(5): 2942-2947.
- 29- Pais I. 1983. The biological importance of titanium. *Journal of Plant Nutrition*, 6(1): 3-131.
- 30- Ram N., Verloo, M. and Cottenie A. 1983. Response of bean (*Phaseolus vulgaris*) to foliar spray of titanium. *Journal of Plant and Soil*, 73: 285-290.
- 31- Ruffini Castiglione M. and Cremonini R. 2009. Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*. 2: 161-165.
- 32- Saberi S., Ghasimi hagh Z., Mostafavi sh. 2012. Impact and mechanisms of Nano Titanium Dioxide on physiological processes spinach. Second National Conference on Sustainable Agricultural Development healthy environment. 16 Page
- 33- Seeger, E. M., Baun A., Kästner M. and Trapp S. 2008. Insignificant acute toxicity of TiO₂ nanoparticles to willow trees. *Journal of Soils and Sediments*, 9(1): 46-53.
- 34- Shah V. and Belozerovala I. 2009 Influence of Metal Nanoparticles on the Soil Microbial Community and Germination of Lettuce Seeds, Water, Air, and Soil Pollution, 197(1):143-148.
- 35- Swiader, J. M. 2000. Micronutrient fertilizer recommendation for vegetable crop, *Hortic facts*, pp 21-35.
- 36- Vasilevski G. 2003. Perspectives of the application of biophysical methods in sustainable agriculture. *Bulgarian Journal of Plant Physiology, SPECIAL ISSUE 2003*, 179–186.
- 37- Yang F, Hong F., You W., Liu C., Gao F., Wu C. and Yang P. 2006. Influences of nano-anatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Journal of Trace Elements Research*, 110(2): 179-190.
- 38- Zheng L, Hong F, Lu S. and Liu C. 2005. Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of Spinach. *Biological Trace Element Research*, 105:83-91.



Impacts of Nanosized and Bulk Titanium Dioxide on Flowering and Morpho-physiological Traits of *Petunia (Petunia hybrida)* under Salinity Stress

M. Kamali¹- M. Shoor^{2*}- H. Feizi³

Received: 10-05-2016

Accepted: 09-01-2018

Introduction: Titanium is the ninth most abundant element and the second most transition metal found in the earth's crust (about 6.320 ppm). There has been a rising demand for nanotechnology-based products in recent years, particularly in areas directly related to humans. Nanotechnology has many applications in agricultural research, such as in reproductive science and technology, the transfer of agricultural and food waste to energy and other helpful by-products through enzymatic nanobioprocessing.

An important effect of titanium compounds on plants used for improvement of yield (about 10–20%) in various crops. Other effects of titanium on plants are increasing contents of some essential elements in plant tissue; an increase in enzyme activity such as peroxidase, catalase, and nitrate reductase activities in plant tissue, and research has shown increased chlorophyll content in paprika (*Capsicum anuum* L.) and green alga (*Chlorella pyrenoidosa*). Nanotechnology application is now widely distributed throughout life, and especially in agricultural systems. Nano particles, because of their physicochemical characteristics, have been considered the potential candidates for modulating the redox status and changing in seed germination, growth, performance, and quality of plants. nano-TiO₂ has shown to be potential for agricultural application because of its photocatalytic disinfection and photobiological effects. Also, salinization of soils or waters is one of the world's most serious environmental problems in agriculture. During initial exposure to salinity, plants experience water stress, which in return reduces leaf expansion. during long-term exposure to salinity, plants experience to ionic stress, which can lead to premature senescence of adult leaves, which led to a reduction in the photosynthetic area available to support plants growth. However, a few studies have been done on the effects of nanoparticles on ornamental plants. Nanosized TiO₂ is a frequently used nanoparticle, consequently there has been an exponential increase in data collection on the effects of TiO₂ nanoparticles on different species. There is much less information on the effects of nanoparticles on plants compared to animals. Studies of the effects of TiO₂ nanoparticles on plants provide information about the positive and stimulating effects as well as any negative impact. In this study, we aimed to find out the phytotoxicity or positive effects of different concentrations of Bulk TiO₂ and nanosized TiO₂ on plant growth of *Petunia hybrida* in salinity stress.

Material and Method: experiments were done to assess the effect of different concentrations of bulk and nanosized TiO₂ on petunia growth in salinity stress in a factorial test based on completely randomized design with 3 replications in agriculture faculty of Ferdowsi University, Mashhad. There were 3 factors, including 1- three concentrations (0, 75 and 150 mM) of NaCl, 2- bulk and Nanosized titanium dioxide and 3- six concentrations (0, 5, 10, 15, 20 and 40 ppm) of TiO₂. Titanium dioxide treatments for foliar application was applied 5 times with intervals of seven days (three times before, and twice after starting salinity stress). The experiment was performed at the College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. during the flowering, flower number, corolla length, flower diameter and flower fresh weight were measured. At the end of the flowering phase, parameters such as leaf area, shoot and leaf fresh weight, lateral shoot number, leaf number, chlorophyll a, b, total and carotenoid were measured. The data were subjected to Analysis of Variance, was done using Mstat-C statistical. The means were separated, using LSD test.

Results and Discussion: Results showed that interaction of salinity, bulk and nanosized titanium dioxide and titanium dioxide concentrations were significant on total chlorophyll, carotenoides, biomass, leaf area and flower number. The highest amount of total chlorophyll concentrations was measured in 20 and 40 ppm TiO₂ and 5 ppm Nano treatments, respectively. The highest leaf area (608 cm²) was in 15 ppm Nano treatment. Among levels of nano TiO₂, foliar application with 5 ppm had the best flower diameter in general, foliar application of nano titanium dioxide and titanium dioxide have been effective in improving the effects of salinity stress. In addition,

1 and 2- Ph.D. student and Associate Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(*- Corresponding Author Email: Shoor@um.ac.ir)

3- Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Torbat Heydarieh, Iran

the use of titanium dioxide in the highest level (40 ppm) and use of nano titanium dioxide in less concentration in Petunia plant had better effect on morphological traits. An important effect of titanium compounds on plants used for various crops is yield improvement. The positive effects of TiO₂ could be probably due to the antimicrobial properties of engineered nanoparticles, which can enhance strength and resistance of plants to stress.

Keywords: Chlorophyll, Fresh weight, Flower number, Leaf Area