

مقاله کوتاه پژوهشی

بررسی خصوصیات جوانه‌زنی نخود (*Cicer arietinum*) در پاسخ به پیش تیمار با نانو ذرات
دی‌اکسید تیتانیوم و تنش خشکی

رؤیا قربانی^۱، علی موافقی^۲، علی گنجعلی^۳، جعفر نباتی^۴

چکیده مبسوط

مقدمه: تنش خشکی، به‌عنوان یک تنش غیرزنده و چندبعدی، اثرات شدیدی بر رشد و نمو گیاهان دارد. یکی از راه‌کارهای جدید در مدیریت تنش خشکی استفاده از نانو ذرات عناصر است. نانو ذرات با نفوذ در بذر باعث افزایش جذب آب مواد مغذی و در نهایت باعث بهبود جوانه‌زنی می‌شوند. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم در تعدیل اثرات منفی تنش خشکی بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاه نخود انجام شده است.

مواد روش‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار روی بذر نخود رقم آرمان در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۸ انجام شد. بذرها با غلظت‌های صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسید تیتانیوم به مدت ۲۴ ساعت پرایمینگ شدند. سپس بذرها درون ظروف پتری سترون کشت گردید. تنش خشکی با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ با پتانسیل اسمزی صفر، ۲-، ۴- و ۸- بار اعمال شد.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش تنش خشکی و کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، طول گیاهچه، طول ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه معنی‌داری شد. تمامی صفات مرتبط با جوانه‌زنی تحت اثرات بازدارنده تنش خشکی قرار گرفتند، از طرفی حضور نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم توانست تا حدودی در بعضی صفات این اثر بازدارندگی را کاهش دهد. درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد گیاهچه‌های نرمال، شاخص بنیه بذر، شاخص جوانه‌زنی، طول محور زیر لپه، طول ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه با اعمال تنش کاهش یافتند.

نتیجه‌گیری: در تمام سطوح تنش خشکی، غلظت نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، صفاتی مانند درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، طول ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه را به‌صورت معنی‌داری افزایش داد. به نظر می‌رسد نانو ذرات می‌توانند با افزایش تحریک فعالیت‌های سلولی باعث افزایش تبدیل مواد ذخیره‌ای به مواد قابل‌انتقال و در نهایت بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی گردند؛ بنابراین در شرایط تنش خشکی، کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تا غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند تا حدودی اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را بر صفات جوانه‌زنی نخود کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل اسمزی، پلی‌اتیلن گلیکول، درصد گیاهچه نرمال، شاخص بنیه بذر، متوسط زمان جوانه‌زنی

جنبه‌های نوآوری:

۱- درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر نخود با کاربرد نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در تمام سطوح تنش خشکی افزایش یافت.

۲- طول ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه بذر نخود با کاربرد نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم افزایش یافت.

۳- اثرات منفی تنش خشکی بر جوانه‌زنی بذر نخود با کاربرد نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم کاهش یافت.

^۱ دکتری، زیست‌شناسی فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه تبریز

^۲ استاد گروه زیست‌شناسی، دانشگاه تبریز

^۳ دانشیار گروه زیست‌شناسی و پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه

فردوسی مشهد

^۴ استادیار گروه بقولات، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی

مشهد

مقدمه

اصطلاح "نانو" را می‌توان به‌عنوان اتم یا مولکول‌هایی با حداقل یک بعد بین یک تا ۱۰۰ نانومتر تعریف کرد (ریکو^۱ و همکاران، ۲۰۱۳). نانو مواد مهندسی شده کاربردی متنوعی در زمینه لوازم آرایشی، دارویی، انرژی، کشاورزی و غیره دارند (کاستگلیونه^۲ و همکاران، ۲۰۱۱؛ اوگانکونل^۳ و همکاران، ۲۰۲۰). نانو ذرات در سراسر جهان استفاده می‌شوند و اثرات قابل‌توجهی بر محیط‌زیست و موجودات زنده دارند. گیاهان به‌عنوان اندام‌های زنده همیشه در معرض تغییرات قابل‌توجهی از غلظت نانو ذرات در هوا، آب و خاک هستند. نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم موجب بهبود جوانه‌زنی در بذر ماش شدند (ماتیو^۴ و همکاران، ۲۰۲۱). در سطح جهانی، استفاده از فناوری نانو در بخش کشاورزی در حال افزایش است. علوم نانو به توسعه طیف وسیعی از برنامه‌های کاربردی منجر به افزایش رشد گیاه شده است (ناری^۵ و همکاران، ۲۰۱۰). کشت نخود در کشور اغلب در اواخر زمستان یا اوایل بهار به‌صورت دیم انجام می‌شود، لذا این گیاه در طول دوره رشد خود به‌خصوص در طول دوره زایشی با افزایش درجه حرارت و تنش خشکی مواجه می‌گردد که در اغلب موارد این امر به کاهش عملکرد منتهی می‌شود (سینگ و ساکسینا^۶، ۱۹۹۹).

نتایج مطالعات در خصوص اثرات نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهان حاکی از آن است که ترکیب‌های دی‌اکسید تیتانیوم با بهبود برخی از عناصر اساسی مانند پروتئین‌ها و فعالیت‌های پراکسیداز، کاتالاز و نیترات ردوکتاز در بافت گیاهان باعث افزایش عملکرد گیاهان مختلف می‌شود (اوگانکونل و همکاران، ۲۰۲۰؛ دولت‌آبادی^۷ و همکاران، ۲۰۱۵؛ ماتیو و همکاران، ۲۰۲۱). نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۲۵۰-۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث تقویت جوانه‌زنی و رشد گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea*)

شدند (زنگ^۸ و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین استفاده از غلظت مناسب نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش جوانه‌زنی بذر، رشد و زودرسی گیاهان دارویی و معطر نسبت به تیمارهای شاهد و توده‌ای شد. استفاده از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم درصد جوانه‌زنی، طول ریشه و رشد گیاهچه‌ها را افزایش داده است (حاتمی^۹ و همکاران، ۲۰۱۴). به‌طور کلی پذیرفته شده است که نانو ذرات قادر به نفوذ به بذر می‌باشند و در نتیجه با افزایش جذب آب و مواد مغذی باعث بهبود جوانه‌زنی می‌شوند (حاتمی و همکاران، ۲۰۱۴؛ زنگ^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۵؛ کوکس^{۱۱} و همکاران ۲۰۱۶). تنش خشکی، به‌عنوان تنش غیرزنده چندبعدی، اثرات شدیدی بر رشد و نمو گیاهان دارد (ماهاجان و تاتیجا^{۱۲}، ۲۰۰۵). در شرایط خشک‌سالی، گیاهان دو راهبرد برای بقا دارند که شامل اجتناب یا تحمل است؛ این استراتژی‌ها شامل تنظیمات مورفولوژیکی و یا فیزیولوژیکی هستند (باست^{۱۳} و همکاران، ۲۰۱۳). نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم در میزان کم باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی پیاز (*Allium cepa*) گردید و آنزیم‌های کلیدی هیدرولیز کننده مانند آمیلاز و پروتئاز در جوانه پیاز افزایش پیدا کرد اما در غلظت‌های بالاتر نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم بازدارندگی مشاهده شد (راسکار و لاواری^{۱۴}، ۲۰۱۴). مطالعات پیشین نشان داد که همبستگی مثبت بین جذب آب و فعالیت آلفا‌آمیلاز برای تجزیه نشاسته و افزایش قند در بذر سورگوم (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) وجود دارد (مارامبی و آندو^{۱۵}، ۱۹۹۲) و نانو ذرات می‌توانند به‌صورت آهسته به درون بذر نفوذ کنند و متابولیسم آن را تحت تأثیر قرار دهند (ناوارو^{۱۶} و همکاران، ۲۰۰۸). هرچند این احتمال هم دور از ذهن نیست که تجمع نانو ذرات آنتاز باعث القاء بیشتر تنش

⁸ Zheng

⁹ Hatami

¹⁰ Zhang

¹¹ Cox

¹² Mahajan and Tuteja

¹³ Bassett

¹⁴ Raskar and Laware

¹⁵ Marambe and Ando

¹⁶ Navarro

¹ Rico

² Castiglione

³ Ogunkunle

⁴ Mathew

⁵ Nair

⁶ Singh and Saxena

⁷ Dolatabadi

رابطه (۱)

$$\psi_s = -(1/18 \times 10^{-2})C - (1/18 \times 10^{-4})C^2 + (2/67 \times 10^{-4})CT + (8/39 \times 10^{-7})C^2T$$

در این رابطه C غلظت پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ بر حسب گرم بر کیلوگرم آب، T دما بر حسب سلسیوس و Ψ_s پتانسیل اسمزی بر مبنای بار بود (میشل و کافمن^۳ ۱۹۷۳).

بذرها به مدت ۱۲ ساعت در آب دو بار تقطیر (شاهد) و در سطوح مختلفی از سوسپانسیون‌های دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) خیسانده شدند (آچارپا^۴ و همکاران، ۲۰۲۰). سپس سپس در مجاورت هوا به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند بذرها پس از دو دقیقه قرارگیری در محلول هیپوکلریت سدیم (NaOH) یک درصد ضد عفونی و پنج مرتبه با آب مقطر شستشو شدند. سپس بذرها در پتری‌های سترون ۱۵×۱۰۰ میلی‌متری کشت گردیدند. برای این منظور کف پتری‌ها با استفاده از کاغذ صافی تک برگی اتوکلاو شده به‌عنوان بستر کشت (قاسمی گل‌عزانی و دلیلی^۵، ۲۰۱۱) پوشیده شد و سپس بذرها به این بستر منتقل شدند. برای اعمال تیمارهای تنش خشکی پنج میلی‌لیتر از محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ به پتری دیش‌ها اضافه گردید. برای جلوگیری از تبخیر محلول در پتری‌ها با استفاده از پارافیلیم مسدود گردید. پتری‌ها در ژرمیناتور (مدل GC1200 ساخت ایران) با دمای ۲۰ درجه سلسیوس و رطوبت ثابت در تاریکی قرار گرفتند روزانه به مدت هشت روز تعداد بذرهای جوانه‌زده شمارش گردید (ایستا^۶، ۲۰۰۸). سپس خصوصیات مربوط به جوانه‌زنی و گیاهچه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش بذر با خروج ریشه‌چه به طول حداقل دو الی سه میلی‌متر، به‌عنوان بذر جوانه‌زده شمارش شد (لین و زینگ^۷، ۲۰۰۷) و پس از هشت روز روز سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرها مطابق (رابطه ۳) مورد محاسبه قرار گرفت.

رطوبتی و جذب آب و اکسیژن شده و در نهایت باعث کاهش میزان جوانه‌زنی شود (راسکار و اوری، ۲۰۱۴).

با توجه به مطالعات پیشین ابهام‌های زیادی در رابطه با اثر کاربرد نانو ذرات در مرحله جوانه‌زنی بذر گیاهان وجود دارد. بر همین اساس این مطالعه با اهداف: کاهش اثرات تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی بذر نخود با نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تعیین غلظت مناسب نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در کاهش اثرات تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی نخود انجام شد.

مواد روش‌ها

به‌منظور بررسی اثرات غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی بذر نخود رقم آرمان آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۸ انجام شد.

پودر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم با اندازه کم‌تر از ۵۰ نانومتر و خلوص ۹۷ درصد از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان مشهد تهیه گردید و اندازه و شکل آن با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری TEM مدل Leo912AB (Made in Germany) مورد بررسی قرار گرفت. مشخصات نانوذره توسط (تفرق اشعه ایکس) XRD، مدل Expolar Company:GNR Italy (ولتاژ ۴۰ کیلووات، جریان نشر ۳۰ میلی‌آمپر و آنودمس) اندازه‌گیری گردید.

برای تهیه سوسپانسیون نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ابتدا محلول مادری اولیه از یک گرم نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم در یک لیتر آب دو بار تقطیر معلق شد (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) سپس سایر غلظت‌ها از محلول اولیه تهیه شد (طراحی^۱ و همکاران، ۲۰۱۷). محلول‌های اولیه تحت امواج فراصوت مدل (PARASONIC) ساخت ایران قرار گرفته‌اند تا ذرات در محیط مایع متفرق گردند. سطوح مختلف تنش خشکی شامل (صفر، ۲-، ۴- و ۸- بار) با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول (۶۰۰۰) و بر اساس رابطه (۱) تهیه شد (جوانمرد^۲ و همکاران، ۲۰۱۳).

³ Michel and Kaufmamnn

⁴ Acharya

⁵ Ghasemi Golazani and Dalil

⁶ ISTA

⁷ Lin and Xing

¹ Tarrahi

² Javanmard

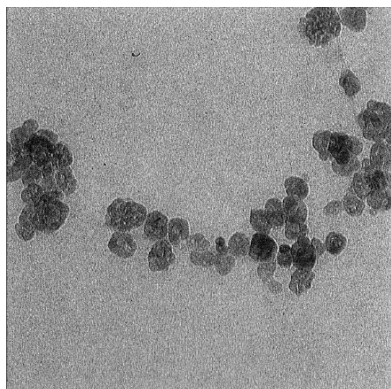
نتایج و بحث

بررسی‌های انجام‌شده با استفاده از TEM نشان داد که نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم فاز آناتاز دارای ساختار چهاروجهی است (شکل ۱). تصاویر به‌دست‌آمده از TEM اندازه ذرات قید شده توسط شرکت سازنده (کمتر از ۲۵ نانومتر) را تأیید نمود. تجزیه XRD به‌منظور تعیین ساختار بلوره‌ای و بلوری نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم صورت گرفت (شکل ۱). طبق پیک‌های به‌دست‌آمده 2θ معادل $23/5$ ، $37/8$ و $41/8$ ، فلز دی‌اکسید تیتانیوم تأیید شد. میانگین اندازه بلوره‌ای بر اساس رابطه دبای-شرر (رابطه ۶) نانو ذرات ۱۳ نانومتر به دست آمد. فاز آناتاز دارای ساختار چهاروجهی است که به علت ظرفیت پایین‌تر و جذب اکسیژن و درجه هیدروکسیلاسون بیشتر دارای خصوصیات پایداری بالاتری است. نتایج نشان داد که ذرات آناتاز می‌تواند به‌طور مؤثرتری وارد سلول شود و تغییرات متابولیکی بیشتری را در پی داشته باشد.

رابطه (۶)

$$D = 0.9 \lambda / \beta \cos \theta$$

در این رابطه، D نمایانگر قطر ذره برحسب نانومتر، λ طول موج اشعه X به کار گرفته‌شده برحسب نانومتر، β پهنای قوی‌ترین پیک مربوط به گونه مربوطه در نصف ارتفاع آن برحسب رادیان و θ زاویه‌ای است که پیک در آن ظاهر می‌گردد. خصوصیات نانوذره سطح حجم ذرات در جدول شماره ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که



شکل ۱. تصویر نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم (دی‌اکسید تیتانیوم-NPs) با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM).

Fig. 1. Image of titanium dioxide (dioxide) nanoparticles

رابطه (۲) $GP = \sum n/N \times 100$ در این رابطه GP درصد جوانه‌زنی، n تعداد کل بذرهای جوانه‌زده و N تعداد کل بذرهای می‌باشد.

طول گیاهچه و ریشه اولیه جوانه‌ها اندازه‌گیری و طبیعی بودن و غیرطبیعی بودن جوانه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بلافاصله پس از شمارش وزن تر و پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در دمای 70° درجه سلسیوس وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه اندازه‌گیری شد. درصد جوانه‌زنی به روش (آگراوال^۱، ۱۹۹۷) و سرعت جوانه‌زنی با استفاده از رابطه (۳) محاسبه گردید.

$$GS = \sum n/D \quad \text{رابطه (۳)}$$

در این رابطه GS سرعت جوانه‌زنی، n تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر بار شمارش، D تعداد روز پس از آغاز آزمایش.

جهت تعیین متوسط زمان جوانه‌زنی از (رابطه ۴) استفاده شد (ماتیوس و خواجه حسینی^۲، ۲۰۰۷).

رابطه (۴)

$$MGT = \frac{\sum F.X}{\sum F}$$

در این رابطه MGT متوسط زمان جوانه‌زنی (روز)، F تعداد بذر جدید جوانه‌زده در روز X و X روز می‌باشد.

جهت تعیین بنیه بذر بر مبنای وزن خشک گیاهچه از (رابطه ۵) استفاده شد (عبدل‌باقی و آندرسون^۳، ۱۹۷۳).

رابطه (۵)

قوه نامیه (%)/ \times وزن خشک گیاهچه (گرم) = بنیه بذر بر مبنای وزن خشک گیاهچه

برای تجزیه و تحلیل‌های آماری، مقایسه میانگین‌ها، تعیین روابط بین صفات و رسم نمودارها، از نرم‌افزارهای Minitab 17 و Excel استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

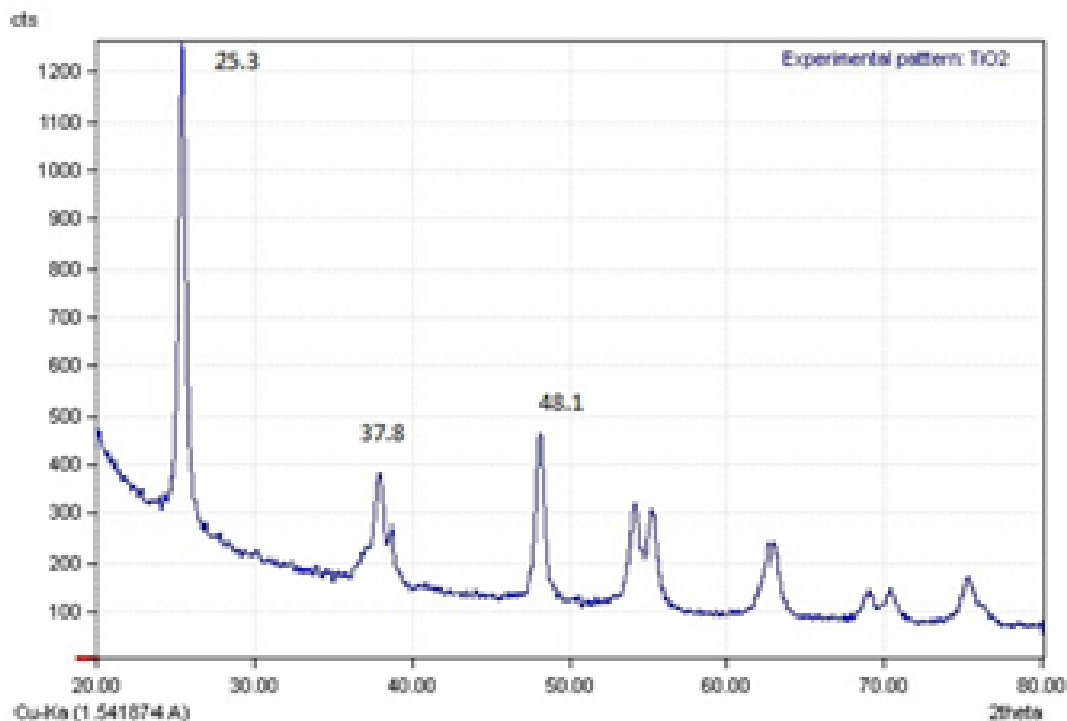
¹ Agrawal

² Matthews and Khajeh Hosseini

³ Abdul-Baki and Anderson

جوانه‌زنی مشاهده شد. در این سطح تنش کاربرد غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره درصد جوانه‌زنی به ترتیب ۳/۶، ۲/۵، ۲/۸ و ۴/۰ برابر افزایش داد (جدول ۳).

درصد جوانه‌زنی نخود به صورت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) تحت تأثیر سطوح تنش خشکی و برهمکنش نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۲). در تیمار تنش خشکی ۸- بار پایین‌ترین درصد



شکل ۲. الگوی XRD گرفته‌شده از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم با استفاده از X-ray diffractometer
Fig. 2. XRD pattern from titanium dioxide nanoparticles using X-ray diffractometer

جدول ۱. خصوصیات نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم

Table 1. Characteristics of titanium dioxide nanoparticles

اندازه نانوذرات	نوع بلوره	مساحت سطح	چگالی محاسبه شده	چگالی ساختاری	وزن مولکولی
Size (nm)	Crystal type	Area (m ² .g)	Calculated density (g.cm ⁻³)	Structural density (g.cm ⁻³)	Molecule weight (g.mol)
13	Tetragonal	240-200	31.9	3.91	79.9

جدول ۲. میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش خشکی بر درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، متوسط زمان جوانه‌زنی و طول گیاهچه نخود

Table 2. Mean squares for the effect of different concentrations of titanium dioxide nanoparticles and drought stress on germination percentage, seed vigor index, mean germination time and seedling length of chickpea seedling

S.O.V	منبع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر	متوسط زمان جوانه‌زنی	طول گیاهچه
		df.	Germination percentage	Seed vigor index	Mean germination time	Seedling length
Drought stress(D)	تنش خشکی	3	4850.20**	40.90**	3.16**	0.067**
TiO ₂ nanoparticles(N)	نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم	4	713.70 ^{ns}	40.40**	0.07 ^{ns}	0.235**
D×N	نانوذره×تنش	12	631.20*	15.45**	0.61 ^{ns}	0.126**
Error	خطا	60	413.30	4.28	0.49	0.001

^{ns}, * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ns, * and ** are not significant, significant at 5% probability level and significant at 1% probability level, respectively

سطح تنش خشکی ۸- بار باعث افزایش ۱۹ درصدی نسبت به عدم استفاده از آن گردید. همچنین کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره در شاهد (فاقد تنش) نسبت به عدم کاربرد آن سبب افزایش ۲/۲ برابری در بنیه بذر گردید. به‌طورکلی نتایج دلالت بر این داشت که کاربرد ۲۰ میلی‌گرم نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم در سطوح مختلف تنش خشکی باعث افزایش بنیه بذر می‌گردد. فقط در ۴- بار اثر ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم سبب افزایش ۳/۵ درصدی گردید (جدول ۵). بنیه بذر به دلیل این‌که جوانه‌زنی و یکپارچگی سبز شدن بذر را در شرایط محیط برای ما تعیین می‌کند، دارای اهمیت ویژه‌ای است. کاهش پتانسیل آب محلول اطراف بذر، تقسیم سلولی را کاهش می‌دهد. افت پتانسیل آب سبب کاهش بنیه استفاده جنین از اندام ذخیره‌ای می‌شود و متعاقب آن قدرت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (مسعودی^۳ و همکاران، ۲۰۱۲). نانو ذرات می‌توانند باعث توسعه بهتر مولکول‌ها، فعالیت آنزیم‌ها، پروتئین‌های حرکتی و نسخه‌برداری DNA و پیام‌رسانی سلول در واکنش‌های متابولیکی شوند (لی^۴ و همکاران، ۲۰۰۸).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در شرایط تنش خشکی کاهش ۱/۷ برابری جوانه‌زنی نسبت به عدم تنش صورت می‌گیرد. کاهش جذب آب متعاقب آن کاهش فعالیت‌های آنزیمی مربوط به فرآیندهای بیوشیمیایی و جوانه‌زنی علت اصلی کاهش سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی است (مالیک^۱ و همکاران، ۲۰۱۵). در فرآیند جوانه‌زنی پس از جذب آب و آماس ترشح هورمون جیبرلین به‌وسیله جنین و سنتز آنزیم‌های هیدولیز کننده صورت می‌گیرد که با فعالیت آنزیم‌های لیپاز و پروتئاز مواد ذخیره‌ای به مواد قابل انتقال (ساکارز و گلوکز) تبدیل و به جنین انتقال می‌یابد. عامل اصلی انتقال ترکیب‌های محلول حلالیت آن‌ها در آب است که با کاهش میزان رطوبت، انتقال آن‌ها به جنین صورت نمی‌گیرد و کاهش سرعت جوانه‌زنی رخ می‌دهد. نتایج مشابهی در گیاه خرفه (*Ortulaca oleracea*) گزارش گردید (کافی و رحیمی^۲، ۲۰۱۱).

شاخص بنیه بذر به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) تحت تأثیر تنش خشکی، کاربرد نانو ذرات و برهمکنش نانوذره و تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۲). کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم در

³ Masoudi

⁴ Lei

¹ Malik

² Kafi and Rahimi

کم‌ترین میزان سرعت جوانه‌زنی مربوط به عدم استفاده از نانو ذره و پتانسیل اسمزی در ۸- بار تعلق داشت. با افزایش غلظت نانوذره از شاهد به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر سرعت جوانه‌زنی ۲۴ درصد افزایش یافت. برهمکنش سطوح تنش خشکی و غلظت‌های مختلف نانوذره نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره در تمام سطوح تنش سرعت جوانه‌زنی افزایش می‌یابد (جدول ۵).

نتایج نشان داد که تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره و سطوح مختلف تنش خشکی و برهمکنش آن‌ها بر شاخص جوانه‌زنی معنی‌دار ($P \leq 0/05$) نبود (جدول ۴).

درصد گیاهچه‌های نرمال به‌صورت معنی‌داری ($P \leq 0/01$) تحت تأثیر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم قرار گرفت (جدول ۴). با افزایش غلظت نانوذره به ۱۵ میلی‌گرم در لیتر درصد گیاهچه‌های نرمال به حداقل رسید درحالی‌که درصد گیاهچه‌های نرمال در شاهد ۱۷/۵ درصد بیشتر بود (جدول ۵).

نتایج نشان داد که وزن خشک ریشه‌چه به صورت معنی‌داری ($P \leq 0/01$) تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی و کاربرد غلظت‌های مختلف نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم و برهمکنش آن‌ها قرار گرفت (جدول ۴). در تیمار بدون تنش خشکی با افزایش غلظت نانوذره تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، وزن خشک ریشه‌چه روند افزایشی داشت. در سطح تنش خشکی ۲- و ۴- بار کاربرد نانوذره تا ۱۵ میلی‌گرم در لیتر، وزن خشک ریشه‌چه را افزایش داد (جدول ۵).

نتایج نشان داد طول ریشه‌چه به‌صورت معنی‌داری ($P \leq 0/01$) تحت تأثیر برهمکنش نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم و سطوح مختلف تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۴). در تیمارهای ۲- و ۸- بار تنش خشکی با کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره افزایش ۱/۵ و ۱/۸ برابری در طول ریشه‌چه دیده شد. ولی در تیمار ۴- بار، به‌کارگیری ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره سبب افزایش ۱/۲ برابری طول ریشه‌چه گردید (جدول ۵). نانوذره سیلیکون باعث تنظیم ژن‌های فرادست در گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) شامل CRK1, TAS14, AREB, و ژن‌های فرودست شامل RBOH1, MAPK2, MAPK3 و DDF2 می‌شود که باعث کاهش اثرات منفی روی جوانه‌زنی و افزایش

در پژوهش حاضر اثر کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم نسبت به عدم کاربرد آن باعث افزایش درصد جوانه‌زنی گردید که نشان‌دهنده نقش مثبت نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت کم بر جوانه‌زنی نخود می‌باشد. تحریک افزایش فعالیت‌های سلولی باعث افزایش مواد ذخیره‌ای به مواد قابل انتقال و ساکارز و گلوکز می‌شود و این افزایش در دسترس بودن این مواد، درصد جوانه‌زنی در حضور نانو ذرات نسبت به عدم حضور آن‌ها را بالا می‌برد (زو^۱ و همکاران، ۲۰۰۸). جوانه‌زنی دانه‌های اسفناج (*Spinacia oleracea*) در غلظت‌های پایین نانوذرات ۴۰۰۰-۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش داشت، درحالی‌که غلظت‌های بالای نانو ذرات ۸۰۰۰ تا ۶۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش جوانه‌زنی اسفناج شد (زنگ و همکاران، ۲۰۰۵).

متوسط زمان جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0/01$) تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین میزان متوسط زمان جوانه‌زنی در ۸- بار مشاهده شد که نسبت به شاهد (عدم تنش) ۰/۸۲ روز متوسط زمان جوانه‌زنی بیشتری داشت. بالاترین متوسط زمان جوانه‌زنی در تنش خشکی ۸- بار با کاربرد ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده شد که نسبت به عدم استفاده از نانوذره افزایش دو برابری در پی داشت هرچند اثر نانوذره و برهمکنش نانوذره و تنش خشکی معنی‌دار نبود (جدول ۳).

طول گیاهچه به‌صورت معنی‌داری ($P \leq 0/01$) تحت تأثیر برهمکنش نانوذره و سطوح مختلف تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۲)، به‌طوری‌که بالاترین طول محور زیر لپه در شاهد (بدون تنش خشکی) و عدم حضور نانو ذره مشاهده شد. در سطح تنش خشکی ۴- بار با افزودن ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره به ترتیب افزایش ۳۸ و دو میلی‌متری در طول محور زیر لپه نسبت به تیمار عدم کاربرد نانوذره در این سطح از تنش خشکی مشاهده شد (جدول ۳).

نتایج نشان داد که سرعت جوانه‌زنی به‌صورت معنی‌داری ($P \leq 0/05$) تحت تأثیر سطوح تنش خشکی و نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم قرار گرفت (جدول ۴).

¹ Zhu

جدول ۳. تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، متوسط زمان جوانه‌زنی و طول محور زیر لپه نخود تحت تنش خشکی

Table 3. The effect of different concentrations of titanium dioxide nanoparticles on germination percentage, seed vigor index, mean germination time and seedling length of chickpea under drought stress

صفات Traits	تنش خشکی (بار) Drought stress (bar)	دی‌اکسید تیتانیوم (میلی‌گرم در لیتر) TiO ₂ nanoparticles (mg L ⁻¹)					میانگین Mean
		0	5	10	15	20	
درصد جوانه‌زنی Germination percentage	0	77.50 ^a	52.50 ^{ab}	65.00 ^{ab}	72.50 ^a	82.50 ^a	70.50 ^A
	-2	87.50 ^a	55.00 ^{ab}	65.00 ^{ab}	77.50 ^a	62.50 ^{ab}	70.00 ^A
	-4	82.50 ^a	65.00 ^{ab}	72.70 ^a	70.00 ^a	70.00 ^a	76.00 ^A
	-8	15.00 ^b	55.00 ^{ab}	37.50 ^{ab}	42.50 ^{ab}	60.00 ^{ab}	41.50 ^B
	Mean	65.60 ^(A)	56.80 ^(A)	63.10 ^(A)	61.80 ^(A)	75.00 ^(A)	
شاخص بنیه بذر Seed vigor index	0	3.58 ^{b-f}	1.11 ^{ef}	5.96 ^{a-f}	3.90 ^{a-f}	7.84 ^{ab}	4.48 ^A
	-2	2.90 ^{b-f}	1.70 ^{c-f}	6.87 ^{a-c}	9.22 ^a	6.66 ^{a-c}	5.47 ^A
	-4	6.25 ^{a-f}	2.10 ^{c-f}	3.01 ^{b-f}	6.40 ^{a-e}	3.65 ^{b-f}	4.28 ^A
	-8	3.23 ^{b-f}	0.93 ^f	1.29 ^{d-f}	1.10 ^{ef}	3.85 ^{a-f}	2.08 ^B
	Mean	3.99 ^(A)	1.46 ^(B)	4.28 ^(A)	5.16 ^(A)	5.50 ^(A)	
متوسط زمان جوانه‌زنی (روز) Mean germination time (day)	0	1.63 ^a	1.79 ^a	1.31 ^a	1.56 ^a	1.40 ^a	1.54 ^B
	-2	1.69 ^a	1.47 ^a	2.01 ^a	1.44 ^a	1.22 ^a	1.56 ^B
	-4	1.94 ^a	2.18 ^a	1.80 ^a	1.51 ^a	1.71 ^a	1.83 ^{AB}
	-8	1.81 ^a	3.01 ^a	2.18 ^a	3.22 ^a	1.75 ^a	2.36 ^A
	Mean	1.77 ^(A)	2.11 ^(A)	1.82 ^(A)	1.93 ^(A)	1.52 ^(A)	
طول گیاهچه (سانتی‌متر) Seedling length (cm)	0	0.586 ^a	0.000 ^c	0.031 ^{cb}	0.013 ^c	0.03 ^c	0.132 ^A
	-2	0.550 ^a	0.000 ^c	0.000 ^c	0.000 ^c	0.011 ^c	0.112 ^A
	-4	0.010 ^c	0.000 ^c	0.000 ^c	0.387 ^b	0.021 ^c	0.084 ^B
	-8	0.000 ^c	0.000 ^c	0.000 ^c	0.000 ^c	0.000 ^c	0.000 ^C
	Mean	0.287 ^(A)	0.000 ^(C)	0.008 ^(C)	0.100 ^(B)	0.016 ^(C)	

حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد براساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند. حروف بزرگ نشانگر اثرات ساده خشکی، حروف بزرگ داخل پرانتز نشانگر اثرات ساده غلظت نانوذره، حروف کوچک نشانگر اثرات متقابل خشکی و غلظت نانوذره

Similar letters do not differ significantly at the 5% probability level based on the Duncan test. Uppercase letters indicate the effects of drought, uppercase letters in parentheses indicate the effects of nanoparticle concentration, and lowercase letters indicate the interaction effects

غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره دی‌اکسید سیلیسیوم نسبت، به شاهد اثر سویی بر جوانه‌زنی نداشته است. نتایج بررسی نانوذره بر بذر جو نشان داد که نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم تأثیری بر میزان درصد جوانه‌زنی بذر جو ندارد که این نتایج با یافته‌های این مطالعه همخوانی دارد (آدهیکاری^۳ و همکاران، ۲۰۱۳).

طول و وزن تر جوانه می‌گردد (حقیقی و دانشمند^۱، ۲۰۱۳).

جوانه‌زنی در گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) مربوط به تیمار شاهد و نانوذره دی‌اکسید سیلیسیوم ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر بوده است و کمترین درصد جوانه‌زنی با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است (مورارو^۲ و همکاران، ۲۰۰۳).

³ Adhikari

¹ Haghghi and Daneshmand
² Moraru

جدول ۴. میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش خشکی بر سرعت جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، درصد گیاهچه‌های نرمال، طول ریشه‌چه و وزن خشک گیاهچه نخود

Table 4. Mean squares for the effect of different concentrations of titanium dioxide nanoparticles and drought stress on germination rate, germination index, normal seedlings percentage, radicle dry weight and radicle length

S.O.V	منبع تغییر	درجه آزادی	سرعت جوانه‌زنی	شاخص جوانه‌زنی	درصد گیاهچه نرمال	وزن خشک ریشه‌چه	طول ریشه‌چه
		df.	Germination rate	Germination index	Normal seedlings	Radicle dry weight	Radicle length
Drought stress (D)	تنش خشکی	3	64.90**	0.281 ^{ns}	314 ^{ns}	53.30**	0.458**
TiO ₂ nanoparticles(N)	نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم	4	10.70*	0.061 ^{ns}	705**	63.50**	0.970**
D×N	نانوذره×تنش خشکی	12	3.47 ^{ns}	0.501 ^{ns}	170 ^{ns}	35.40**	0.340**
Error	خطا	60	3.71	0.291	119	5.66	0.005

ns, * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد ns, * and ** are not significant, significant at 5% probability level and significant at 1% probability level, respectively

نتیجه‌گیری

بذر، افزایش طول ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه گردید؛ بنابراین با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، می‌توان گفت در شرایط تنش خشکی، کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تا غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند تا حدودی اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را بر صفات جوانه‌زنی نخود کاهش دهد.

نتایج آزمایش حاضر مؤید آن است که با افزایش شدت خشکی، اثرات منفی آن بر تمام خصوصیات بذر افزایش یافت. از سوی دیگر کاربرد غلظت نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در تمام سطوح تنش خشکی، موجب افزایش درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه

جدول ۵. تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر سرعت جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، درصد گیاهچه‌های نرمال، وزن خشک گیاهچه و طول ریشه‌چه نخود رقم آرمان تحت تأثیر سطوح مختلف خشکی

Table 5. The effect of different concentrations of titanium dioxide nanoparticles on germination rate, germination index, normal seedlings percentage, roots dry weight and root length of chickpea under drought stress

صفات Traits	تنش خشکی (بار) Drought stress (bar)	دی‌اکسید تیتانیوم (میلی‌گرم در لیتر) TiO ₂ nanoparticles (mg.L ⁻¹)				میانگین	
		0	Mean	10	15		20
سرعت جوانه‌زنی (روز) Germination rate (day)	0	6.50 ^{a-c}	4.33 ^{a-d}	5.60 ^{a-d}	6.26 ^{a-c}	7.45 ^{ab}	6.02 ^A
	-2	7.00 ^{a-c}	5.42 ^{a-d}	5.95 ^{a-c}	5.42 ^{a-d}	8.13 ^a	6.38 ^A
	-4	5.80 ^{a-d}	3.55 ^{a-d}	5.06 ^{a-d}	5.79 ^{a-d}	5.06 ^{a-d}	5.05 ^A
	-8	0.77 ^d	2.72 ^{bd}	2.06 ^{cd}	2.03 ^{cd}	4.40 ^{a-d}	2.39 ^B
	Mean	5.02 ^(AB)	4.00 ^(B)	4.67 ^(AB)	4.87 ^(A)	6.26 ^(A)	
شاخص جوانه‌زنی Germination index	0	1.27 ^a	0.85 ^a	0.90 ^a	1.10 ^a	1.150 ^a	1.05 ^A
	-2	1.47 ^a	0.97 ^a	1.62 ^a	0.85 ^a	1.075 ^a	1.20 ^A
	-4	1.60 ^a	1.22 ^a	1.32 ^a	1.05 ^a	1.175 ^a	1.27 ^A
	-8	0.42 ^a	1.65 ^a	0.80 ^a	1.15 ^a	1.100 ^a	1.02 ^A
	Mean	1.19 ^(A)	1.17 ^(A)	1.16 ^(A)	1.03 ^(A)	1.12 ^(A)	
درصد گیاهچه نرمال Normal seedlings%	0	17.50 ^a	12.50 ^a	17.50 ^a	0.00 ^a	25.00 ^a	14.50 ^A
	-2	35.00 ^a	12.50 ^a	20.00 ^a	7.50 ^a	15.00 ^a	18.00 ^A
	-4	25.00 ^a	10.00 ^a	15.00 ^a	0.00 ^a	12.50 ^a	12.50 ^A
	-8	5.00 ^a	5.00 ^a	7.50 ^a	7.50 ^a	17.50 ^a	8.50 ^A
	Mean	20.60 ^(A)	10.00 ^(AB)	15.00 ^(A)	3.75 ^(B)	17.5 ^(A)	
وزن خشک ریشه‌چه (میلی‌گرم در گیاهچه) Radicle dry weight (mg.plant ⁻¹)	0	5.52 ^{b-e}	1.62 ^e	6.90 ^{a-e}	5.68 ^{b-e}	9.91 ^{a-c}	5.93 ^{BC}
	-2	4.49 ^{c-e}	2.27 ^{de}	12.30 ^a	12.13 ^a	8.35 ^{a-d}	7.97 ^A
	-4	11.40 ^{ab}	4.64 ^{c-e}	5.12 ^{c-e}	9.79 ^{a-c}	6.28 ^{a-e}	7.44 ^{AB}
	-8	6.62 ^{a-e}	3.18 ^{de}	2.62 ^{de}	2.90 ^{de}	6.22 ^{a-e}	4.31 ^C
	Mean	7.01 ^(AB)	2.93 ^(C)	6.75 ^(B)	7.69 ^(A)	7.69 ^(A)	
طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Radicle length (cm)	0	1.39 ^a	0.04 ^g	1.01 ^{cd}	1.22 ^{ab}	1.23 ^{ab}	0.98 ^A
	-2	0.87 ^{de}	0.49 ^f	1.01 ^{cd}	0.50 ^f	1.35 ^a	0.84 ^B
	-4	0.97 ^{de}	0.61 ^f	0.84 ^{de}	1.17 ^{bc}	0.80 ^e	0.80 ^B
	-8	0.56 ^f	0.54 ^f	0.56 ^f	0.52 ^f	0.91 ^{de}	0.62 ^C
	Mean	0.95 ^(B)	0.42 ^(D)	0.86 ^(C)	0.85 ^(C)	1.07 ^(A)	

حروف یا حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند. حروف بزرگ نشانگر اثرات ساده خشکی، حروف بزرگ داخل پرانتز نشانگر اثرات ساده غلظت نانوذره، حروف کوچک نشانگر اثرات متقابل خشکی و غلظت نانوذره

Similar letters do not differ significantly at the 5% probability level based on the Duncan test. Uppercase letters indicate effects of drought, uppercase letters in parentheses indicate effects of nanoparticle concentration, lowercase letters indicate the interaction effects

منابع

Abdul-Baki, A.A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean by multiple criteria. *Crop Science*, 13(6): 630-633. <https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x>

- Acharya, P., Jayaprakasha, G.K., Crosby, K.M., Jifon, J.L. and Patil, B.S. 2020. Nanoparticle-mediated seed priming improves germination, growth, yield, and quality of watermelons (*Citrullus lanatus*) at multi-locations in Texas. *Scientific Reports*, 10(1): 1-16. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61696-7>
- Adhikari, T., Kundu, S. and Rao, A.S. 2013. Impact of SiO₂ and Mo nano particles on seed germination of rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Agricultural Science and Technology*, 4(8): 809-816.
- Agrawal, R.L. 1997. *Seed Technology*. Oxford and IBH Publishing Co, PUT.LTD, New Delhi. 552p.
- Bassett, A.R., Tibbit, C., Ponting, C.P. and Liu, J.L. 2013. Highly efficient targeted mutagenesis of *Drosophila* with the CRISPR/Cas9 system. *Cell Reports*, 4(1): 220-228. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.06.020>
- Castiglione, M.R., Giorgetti, L., Geri, C. and Cremonini, R. 2011. The effects of nano- TiO₂ on seed germination, development and mitosis of root tip cells of (*Vicia narbonensis* L.) and (*Zea mays* L.). *Journal of Nanoparticle Research*, 13(6): 2443-2449. <https://doi.org/10.1007/s11051-010-0135-8>
- Cox, J.D., Silveiro, I. and Garcia de Abajo, F.J. 2016. Quantum effects in the nonlinear response of *Graphene plasmons*. *ACS Nano*, 10(2): 1995-2003. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b06110>
- Dolatabadi, A., Sani, B. and Moaveni, P. 2015. Impact of nanosized titanium dioxide on agronomical and physiological characteristics of annual medic (*Medicago scutellata* L.). *Cercetari Agronomice in Moldova*, 48(3): 53-61. <https://doi.org/10.1515/cerce-2015-0041>
- Ghasemi Golazani, K. and Dalil, B. 2011. Germination and seed vigor tests. *Publications Jahad Daneshgahi of Mashhad*. 104p. [In Persian].
- Haghighi, M. and Daneshmand, B. 2013. Comparing the effects of titanium and nano-titanium on growth and photosynthetic changes of tomato in hydroponic culture. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 4(13): 73-80. [In Persian with English Summary].
- Hatami, M., Ghorbanpour, M. and Salehjarjomand, H. 2014. Nano-anatase TiO₂ modulates the germination behavior and seedling vigority of some commercially important medicinal and aromatic plants. *Journal of Biological Environment*, 8(22): 53-59.
- ISTA. 2008. *International Rules for Seed Testing Edition*. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- Javanmard, Z., Tabari Koochaksaraee, M. and Ahmadloo, F. 2013. Effect of osmopriming on germination and physiological qualitative characteristic of *Pinus eldarica* Medw seed under drought stress. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 27(3): 395-405. [In Persian with English Summary].
- Kafi, M. and Rahimi, Z. 2011. Effect of salinity and silicon on root characteristics, growth, water status, proline content and ion accumulation of purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Soil Science and Plant Nutrition*, 57(2): 341-347. [In Persian with English Summary]. <https://doi.org/10.1080/00380768.2011.567398>
- Lei, R., Wu, C., Yang, B., Ma, H., Shi, C., Wang, Q., Wang, Q., Yuan, Y. and Liao, M. 2008. Integrated metabolomic analysis of the nano-sized copper particle-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats: A rapid invivo screening method for nanotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 232 (2): 292-301. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2008.06.026>
- Lin., D. and Xing, B. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150(2): 243-253. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.01.016>

- Mahajan, S. and Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. Archives of Biochemistry and Biophysics, 444(2):139-158. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018>
- Malik, S., Ashraf, M., Arshad, M. and Malik, T.A. 2015. Effect of ascorbic acid application on physiology of wheat under drought stress. Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 52(1): 209-217
- Marambe, B. and Ando, T. 1992. Phenolic acids as potential seed germination-inhibitors in animal-waste composts. Soil Science and Plant Nutrition, 38(4): 727-733. <https://doi.org/10.1080/00380768.1992.10416703>
- Masoudi, A., Hosseini, H.R.M., Shokrgozar, M.A., Ahmadi, R. and Oghabian, M.A. 2012. The effect of poly ethylene glycol coating on colloidal stability of superparamagnetic iron oxide nanoparticles as potential MRI contrast agent. International Journal of Pharmaceutics, 433(1-2):129-141. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.04.080>
- Mathew, S.S., Sunny, N.E. and Shanmugam, V. 2021. Green synthesis of anatase titanium dioxide nanoparticles using *Cuminum cyminum* seed extract; effect on Mung bean (*Vigna radiata*) seed germination. Inorganic Chemistry Communications, 126: 108485. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108485>
- Matthews, S. and Khajeh Hosseini, M. 2007. Length of the lag period of germination and metabolic repair explain vigour differences in seed lots of maize (*Zea mays* L.). Seed Science and Technology, 35: 200-212. <https://doi.org/10.15258/sst.2007.35.1.18>
- Michel, B.E. and Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology, 51(5): 914-916. <https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914>
- Moraru, C.I., Panchapakesan, C.P., Huang, Q., Takhistov, P., Liu, S. and Kokini, J.L. 2003. Nanotechnology: a new frontier in food science understanding the special properties of materials of nanometer size will allow food scientists to design new, healthier, tastier, and safer foods. Nanotechnology, 57(12): 24-29.
- Nair, R., Varghese, S.H., Nair, B.G., Maekawa, T., Yoshida, Y. and Kumar, D.S. 2010. Nanoparticulate material delivery to plants. Plant Science, 179(3): 154-163. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.04.012>
- Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N. and Behra, R. 2008. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. Environmental Science and Technology, 42(23): 8959-8964. <https://doi.org/10.1021/es801785m>
- Ogunkunle, C.O., Gambari, H., Agbaje, F., Okoro, H.K., Asogwa, N.T., Vishwakarma, V. and Fatoba, P.O. 2020. Effect of low-dose nano titanium dioxide intervention on Cd uptake and stress enzymes activity in Cd-stressed cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] plants. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 104(5):619-626. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02824-x>
- Raskar, S.V. and Laware, S.L. 2014. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. International Journal of Current Microbial Applied Science, 3(2): 467-473.
- Rico, C.M., Morales, M.I., McCreary, R., Castillo-Michel, H., Barrios, A.C., Hong, J. and Peralta-Videa, J.R. 2013. Cerium oxide nanoparticles modify the antioxidative stress enzyme activities and macromolecule composition in rice seedlings. Environmental Science and Technology, 47(24): 14110-14118. <https://doi.org/10.1021/es4033887>
- Singh, K.B. and Saxena, M.C. 1999. Chickpeas (The Tropical Agriculturalist). MacMillan Education Ltd., London. 134p.

-
- Tarrahi, R., Khataee, A., Movafeghi, A., Rezanejad, F. and Gohari, G. 2017. Toxicological implications of selenium nanoparticles with different coatings along with Se_4^+ on *Lemna minor*. *Chemosphere*, 181: 655-665. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.142>
- Zhang, R., Cheng, X., Hou, P. and Ye, Z. 2015. Influences of nano-TiO₂ on the properties of cement-based materials: Hydration and drying shrinkage. *Construction and Building Materials*, 81: 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2015.02.003>
- 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*, 104(1): 83-91. <https://doi.org/10.1385/BTER:104:1:083>
- Zhu, H., Han, J., Xiao, J.Q. and Jin, Y. 2008. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. *Journal of Environmental Monitoring*, 10(6): 713-717. <https://doi.org/10.1039/b805998e>

Short Research Paper

Investigating the germination characteristics of Chickpea (*Cicer arietinum*) in response to titanium dioxide nanoparticles priming and drought stressRoya Ghorbani¹, Ali Movafeghi², Ali Ganjeali^{3, *}, Jafar Nabati⁴**Extended Abstract**

Introduction: Drought stress, as abiotic and multidimensional stress, has severe effects on plant growth. One of the new approaches in the management of drought stress is the use of nanoparticles. Nanoparticles infiltrate the seeds and increase nutrient and water uptake and ultimately, improve germination. The present research was conducted to evaluate the effects of titanium dioxide nanoparticles on chickpea plant germination factors to modify the negative effects of drought stress.

Materials and Methods: A factorial experiment was conducted in a completely randomized design with four replications on chickpea seeds of Arman cultivar in the Plant Sciences Research Institute of the Ferdowsi University of Mashhad in 2019. Seeds were primed with concentrations of 0, 5, 10, 15, and 20 mg L⁻¹ titanium dioxide for 24 hours. The seeds were cultured in sterilized Petri dishes. Drought stress was applied using polyethylene glycol 6000 with 0, -2, -4 and -8 bar osmotic potentials.

Results: The analysis of variance results showed that the interaction effect of drought stress and titanium dioxide nanoparticles was significant on germination rate, the number of normal seedlings, seed vigor index, germination index, length of seedling, radicle length, and radicle dry weight. All germination traits were inhibited as a result of drought stress. On the other hand, the presence of titanium dioxide nanoparticles partially decreased this inhibition in some traits. Germination percentage, germination rate, normal seedling percentage, seed vigor index, germination index, epicotyl length, radicle length and radicle dry weight decreased as a result of stress.

Conclusion: At all drought stress levels, the concentration of titanium dioxide nanoparticles up to 20 mg L⁻¹ significantly improved traits such as germination percentage, seed vigor index, epicotyl length, and epicotyl dry weight. It seems that nanoparticles can stimulate cell activity and increase the transformation of reserves to translocatable material and consequently, improve germination characteristics. Thus, the application of titanium dioxide nanoparticles up to a concentration of 20 mg L⁻¹ can partially reduce the negative effects of drought stress on the germination characteristics of chickpeas.

Keywords: Mean germination time, Normal seedling, Osmotic potential, Polyethylene glycol, Seed vigor index

Highlights:

- 1- Germination percentage and seed vigor index of chickpea increased with the application of titanium dioxide nanoparticles up to 20 mg l⁻¹ at all drought stress levels.
- 2- The radicle length and dry weight of chickpea increased by titanium dioxide nanoparticles.
- 3- The negative effects of drought stress on chickpea seed germination decreased by titanium dioxide nanoparticles.

¹ Ph.D. Plant Physiology Biology, Tabriz University, Tabriz, Iran

² Professor of Biology Department, Tabriz University, Tabriz, Iran

³ Associate Professor, Department of Biology and Research Institute of Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

⁴ Assistant Professor of Legumes Department, Research Institute of Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

