



## تأثیر نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر برخی ویژگی های مورفولوژیکی نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت شرایط تنش خشکی

رویا قربانی<sup>۱</sup>، علی موافقی<sup>۲</sup>، علی گنجعلی<sup>۳\*</sup>، جعفر نباتی<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری، زیست شناسی فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه تبریز

۲. استاد گروه زیست شناسی دانشگاه تبریز

۳. دانشیار گروه زیست شناسی و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

۴. استادیار گروه بقولات، پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۱۲

### چکیده

خشکی از مهم ترین تنش های محیطی است که رشد و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می دهد. استفاده از نانو ذرات می تواند به عنوان راه کاری در تعدیل اثرات تنش خشکی مؤثر واقع شود. در همین راستا، تأثیر محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در شرایط تنش خشکی روی نخود به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه در دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۶ مورد بررسی قرار گرفت. سطوح مختلف تنش خشکی شامل ۴۰، ۶۰ و ۹۰ (به عنوان شاهد) درصد ظرفیت زراعی و محلول پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در پنج سطح صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم در لیتر بود. افزایش غلظت نانوذره دی اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی گرم در لیتر در هر سه سطح تنش خشکی، موجب افزایش شاخص کلروفیل، هدایت روزنه ای، تعداد برگ، سطح برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک کل اندام هوایی، مجموع طول ریشه، متوسط قطر ریشه، سطح ریشه و حجم ریشه نخود شد و با افزایش بیشتر غلظت نانو ذرات این ویژگی ها روند کاهشی نشان دادند. در سطوح تنش خشکی مصرف نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم سبب افزایش مقدار پتانسیل اسمزی برگ در مقایسه با ۹۰ درصد ظرفیت زراعی شد. در سه سطح ۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی با افزایش غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم از تیمار شاهد به ۲۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب ۴۶، ۲۷ و ۶۸ درصد وزن خشک کل اندام هوایی و ۲۳، ۴۹ و ۵۴ درصد وزن خشک ریشه افزایش یافت. به طور کلی نتایج نشان داد که در شرایط تنش خشکی، کاربرد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر می تواند اثرات منفی ناشی از تنش خشکی در گیاه نخود به صورت چشمگیری کاهش دهد.

واژه های کلیدی: ریشه، سطح برگ، ظرفیت زراعی، شاخص کلروفیل، هدایت روزنه ای

### مقدمه

هستند (Takallu et al., 2013) و نقش بسزایی در حاصلخیزی خاک دارند (Hamzei and Seyedi, 2014). نخود (*Cicer arietinum* L.) سومین محصول در بین حبوبات در جهان و اولین محصول در غرب آسیا و شمال آفریقا به شمار می رود (FAO, 2017). نخود گیاهی متحمل به خشکی است، اما خشکی به عنوان عاملی محدودکننده،

خشکی از مهم ترین تنش های محیطی در سرتاسر دنیا است که در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه شامل جوانه زنی، استقرار گیاهچه و تولید محصولات زراعی از جمله حبوبات را تحت تأثیر قرار می دهد (Bacelar et al., 2007). حبوبات با داشتن ۲۵ درصد پروتئین از مهم ترین منابع پروتئین گیاهی در رژیم غذایی بسیاری از مردم در کشورهای در حال توسعه

تنش خشکی توسط نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ارائه شده است. غالب این یافته‌ها بر نقش نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، کاهش سنتز رادیکال‌های آزاد اکسیژن و مالون دی‌آلدئید در راستای کاهش اثرات مخرب تنش خشکی تأکید دارند. در گیاهان تحت تنش خشکی، گزارش‌ها مؤید نقش مثبت نانو ذرات در القای رشد رویشی و تسهیل در جذب عناصر کم‌مصرف و متعاقب آن افزایش رشد گیاهان می‌باشند (Zheng et al., 2005).

نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌عنوان یکی از بلورهای نیمه‌هادی‌اکسید فلزی جایگاه خاصی در نانوفناوری پیدا کرده است. این نانوذره به سه شکل آنتاز، روتایل و بروکلیت موجود است (Ahmad et al., 2005). اثر نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم در گیاهان مختلف بستگی به غلظت روش‌های مورد استفاده و اندازه نانوذره دارند (Akkerman et al., 2017). نانوذره اکسید تیتانیوم کلیه خواص دی‌اکسید تیتانیوم را دارد ولی اثربخشی و کارایی آن به علت سطح تماس و کوچکی اندازه ذرات به مراتب بیشتر است (Qi et al., 2013). نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم به دلیل اندازه کوچک بودن به‌طور سریع در ریشه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L) نفوذ نمود و ویژگی‌های رشدی گیاه را بهبود داد (Haghighi and Daneshmand, 2013). در گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* L) بیشترین میزان جوانه‌زنی با غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد. از طرف دیگر غلظت‌های مختلف دی‌اکسید تیتانیوم باعث کاهش درصد جوانه‌زنی نسبت به عدم کاربرد نانوذره شد (Feizi et al., 2013). همچنین غلظت‌های مختلف نانو ذرات تیتانیوم در ذرت (*Zea mays* L) باعث افزایش عملکرد گردید (Moaveni et al., 2011). با توجه به اثرات مثبت نانوذرات مختلف بر ویژگی‌های رشدی گیاهان زراعی به نظر می‌رسد بهبود شرایط رشد در محیط‌های تحت تنش موجب کاهش اثرات مخرب تنش گردد. همچنین با توجه به کشت دیم نخود و احتمال وقوع تنش خشکی در این محصول منظور پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر مثبت محلول‌پاشی نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم در تعدیل اثرات منفی تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های رشدی گیاه نخود انجام شد.

عملکرد آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تنش خشکی در نخود سبب کاهش طول دوره گل‌دهی و تسریع در تکمیل دوره رشد آن می‌شود (Anwar et al., 2003). راه‌کارهای مختلفی برای تعدیل تنش خشکی مطرح است که در این رابطه فناوری نانو در سال‌های اخیر در علوم گیاهی مورد توجه خاصی قرار گرفته است (Mamyandi et al., 2014; Mansori et al., 2017).

نانو ذرات (Nps)<sup>۱</sup> مجموعه‌های اتمی یا مولکولی با ابعاد ۱-۱۰۰ نانومتر هستند (Navarro et al., 2008). پاسخ گیاهان به نانو ذرات بر حسب نوع، گونه، مرحله رویشی و ماهیت نانوذره متفاوت است (Nair et al., 2010). کاربرد انواع نانوذره در گونه‌های گیاهی گوناگون حاکی از اثرات مثبت آن‌ها بر رشد و نمو گیاهان است. به‌عنوان مثال گزارش شده است که نانوذره عنصر روی در بهبود جوانه‌زنی و نمو گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) (Ajouri et al., 2004)، افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی، سطح برگ و طول ریشه گندم (*Triticum aestivum* L.) (Azizi et al., 2011) و افزایش رشد گیاه نخود (Pandey et al., 2010) نقش مثبتی دارد. همچنین نقش مثبت محلول‌پاشی نانوذره آهن در گیاه چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) بهبود رشد در اندام‌های هوایی ساقه و برگ (افزایش طول و عرض برگ) در تمام مراحل رشد و افزایش زیست‌توده خشک و تر در گیاه گردید (Mamyandi et al., 2014) و کاربرد نانو اکسید آهن در بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) گزارش شده است (Liu et al., 2005). در گیاه زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) تنش خشکی باعث کاهش عملکرد محصول شد ولی کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثرات منفی تنش خشکی را بهبود داد، به‌طوری‌که کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله رشد زایشی ۱۷ درصد و در مرحله رشد رویشی نه درصد افت عملکرد را جبران کرد (Mansori et al., 2017). همچنین در درخت گلابی وحشی (*Pyrus boissieriana* Buhse) با افزایش تنش خشکی میزان فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و تعرق کاهش یافت. در این آزمایش استفاده از نانو ذرات تیتانیوم با تأثیر بر سلول‌های اپیدرمی روزنه و ایجاد محدودیت برای خروج آب به‌صورت تعرق، از اثرات منفی خشکی جلوگیری کرد (Zarafshar et al., 2018). گزارش‌های متعدد حاکی از کاهش اثرات مخرب

<sup>1</sup> Nanoparticles

## مواد و روش‌ها

مؤسسه بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ایکاردا) دریافت شد، دارای تیپ بوته ایستاده و مناسب برداشت مکانیزه است. رنگ بذر کرم و مقاومت مناسبی به برق‌زدگی دارد. در ابتدا بذرها به مدت ۲۰ دقیقه با هیپوکلرید سدیم (NaClO) با غلظت یک درصد ضدعفونی شدند. بذرها پس از جوانه‌زنی به گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۲۰ سانتی‌متر و حجم سه لیتر حاوی خاک و ماسه به نسبت ۱:۱ (ضدعفونی شده توسط اتوکلاو) منتقل شده‌اند. قبل از کاشت آزمون خاک انجام شد (جدول ۱). تعداد گیاهچه نهایی در هر گلدان چهار عدد بود. گلدان‌ها پس از کشت در گلخانه تحت شرایط نوری (۸:۱۶) تاریکی / نوری رطوبت نسبی  $50 \pm 20$  درصد و دمای  $23 \pm 5$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

این پژوهش روی گیاه نخود به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. تیمارها شامل سه سطح تنش خشکی (۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان شاهد) و محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم آناناز (TiO<sub>2</sub>) در پنج سطح (صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. (Khater et al., 2015; Hashemi e al., 2016; Mansori et al., 2017; Nori et al., 2016; Rasouli et al., 2016) بذر مورد استفاده رقم آرمان بود که از بانک بذر پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. رقم آرمان با نام FLIP90-96C از

جدول ۱. خصوصیات فیزیکوشیمیایی بستر کشت.

Table 1. Physicochemical properties of soils culture.

کربن آلی C (%)	هدایت الکتریکی Electrical conductivity (dS.m <sup>-1</sup> )	کربنات کلسیم CaCO <sub>3</sub> (%)	فسفر P (mg.kg <sup>-1</sup> )	پتاسیم K (mg.kg <sup>-1</sup> )	نیتروژن N (%)	بافت خاک Soil texture Loamy sand شنی لومی
3.5	2.12	13.00	7.00	151	0.05	

یونیزه حل و به مدت ۴۰ دقیقه در حمام الوتراسونیک مدل PARSONI 15 50Hz 220V قرار گرفت. پس از پراکنده شدن کامل نمونه محلول‌های با غلظت صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شدند.

در مرحله غلاف دهی ارتفاع بوته ثبت و شاخص کلروفیل با دستگاه SPAD مدل OPI.SCINESCOM 200 و هدایت روزنه‌ای با دستگاه پرومتر POROMETER AP4 در جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه یافته اندازه‌گیری شد. پتانسیل اسمزی برگ با استفاده از دستگاه اسمومتر مدل OM802.D شرکت Wgel برای پایه روش نقطه انجماد و بر اساس فرمول وانت هوف اندازه‌گیری (معادله ۱) شد (Voet et al., 2001).

$$Os = (-Op/RT) * (WC/(1-WC)) \quad [1]$$

که در این معادله Os مقدار اسمولیت برحسب میلی مول بر گرم ماده خشک، R ثابت گاز معادل  $0.083$  و T درجه حرارت محیط برحسب کلونین و Op پتانسیل اسمزی برگ برحسب بار و WC مقدار آب برگ هستند.

اندازه‌گیری سطح برگ با استفاده از دستگاه Leaf area meter مدل Dela areameter (Made in England) انجام شد. در ادامه پس از خارج کردن ریشه‌ها از خاک و شستشوی

دو هفته پس از جوانه‌زنی تیمارهای تنش خشکی به صورت وزنی اعمال شد. به این ترتیب که سه نمونه خاک به طور تصادفی از توده خاک برداشته و به وسیله دستگاه صفحات فشاری نقطه پژمردگی (۱۵ بار) اندازه‌گیری شد. برای تعیین ظرفیت زراعی نیز سه عدد گلدان با وزن و اندازه مشابه کاملاً اشباع گردید، سپس اجازه داده شد تا آب ثقی از گلدان‌ها خارج گردد. پس از ثابت شدن وزن گلدان درصد ظرفیت زراعی تعیین شد (Moshtaghi Niaki, 2008). در ادامه ۱۰ روز پس از اعمال تنش خشکی تیمارهای محلول‌پاشی با نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم هر دو هفته یکبار تا زمان تشکیل غلاف انجام شد (Rasouli et al., 2016; Yusefzaei et al., 2017).

نانوذره آناناز از شرکت US Resarch Nanomaterials تهیه شد. مشخصات نانوذره توسط XRD، مدل Expolar Italy Company: GNR (ولتاژ ۴۰ کیلووات، جریان نشر ۳۰ میلی‌آمپر و آنود مس) و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری TEM مدل Leo912AB (Made in Germany) و پتانسیل نمونه (TiO<sub>2</sub>-NPs) توسط CAD (Zeta Compact, France) مورد ارزیابی قرار گرفتند. محلول مادر ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم که در آب

بود. میانگین اندازه بلوره‌ای بر اساس رابطه دبی-شرر (معادله ۱) نانو ذرات ۱۳ نانومتر به دست آمد (Scherrer, 1912).

$$D = 0.9 \lambda / \beta \cos \theta \quad [2]$$

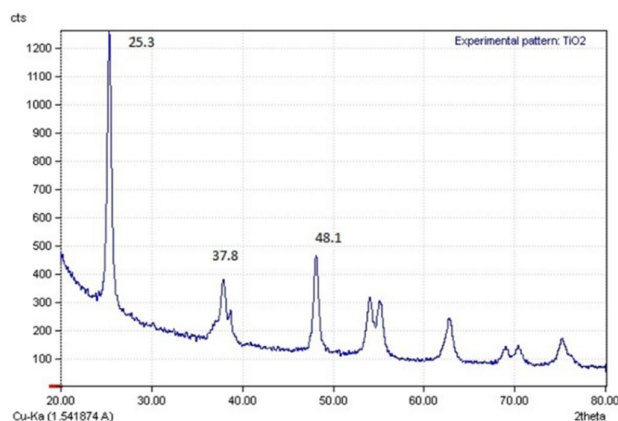
در این رابطه، D نمایانگر قطر ذره برحسب نانومتر،  $\lambda$  طول موج اشعه X به کار گرفته شده برحسب نانومتر،  $\beta$  پهنای قوی‌ترین پیک مربوط به گونه مربوطه در نصف ارتفاع آن برحسب رادیان و  $\theta$  زاویه‌ای است که پیک در آن ظاهر می‌گردد. خصوصیات نانوذره سطح حجم ذرات در جدول شماره ۲ ارائه شده است. نتیجه پتانسیل زتا کلویدهای تشکیل شده در نمونه برابر با  $13/96 \pm 6/67$  mV است و این عدد می‌تواند حضور یون‌های نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم موجود در سطح را ارائه دهد. افزایش این عدد نشان‌دهنده توانایی بالای سوسپانسیون نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم است. پتانسیل الکتریکی موجود در حدفاصل جامدات و مایعات، پتانسیل زتا نام دارد و در نقطه ایزوالکتریک به سمت صفر میل می‌نماید. در این نقطه ذرات به صورت ناپایداری قرار می‌گیرند. در شرایطی که پتانسیل زتا صفر تا مثبت و یا منفی پنج میلی ولت باشد کلوئیدها دارای پایداری ضعیفی هستند و تمایل به تشکیل رسوب و توده‌ای شدن دارند و هنگامی که پتانسیل زتا بین  $\pm 10$  تا  $\pm 30$  میلی ولت باشند پایداری کم است (Navarro et al., 2008).

کل با استفاده از اسکنر متصل به کامپیوتر (Made in Englamd) CB50EJ خصوصیات ریشه شامل متوسط قطر، سطح و مجموع طول ریشه اندازه‌گیری شد. حجم ریشه با استفاده از استوانه مدرج تعیین و در انتها وزن تر و خشک ریشه، ساقه و برگ مورد ارزیابی قرار گرفت.

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 توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

## نتایج

تجزیه XRD به منظور تعیین ساختار بلوره‌ای و بلوری نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم آاناتاز صورت گرفت (شکل ۱). طبق پیک‌های به دست آمده ۲۰ معادل  $2\theta$ ،  $37/5$ ،  $37/8$  و  $41/8$  فلز دی‌اکسید تیتانیوم تأیید شد. فاز آاناتاز دارای ساختار چهاروجهی است که به علت ظرفیت پایین تر و جذب اکسیژن و درجه هیدروکسیلاسیون بیشتر، دارای خصوصیات پایداری بالاتری است. نتایج نشان داد که ذرات آاناتاز می‌تواند به طور مؤثرتری وارد سلول شود و تغییرات متابولیکی بیشتری را در پی داشته باشد که از نظر ساختاری مطابق با اهداف این پروژه



شکل ۱. الگوی XRD گرفته شده از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم آاناتاز با استفاده از X-ray diffractometer  
Fig 1. Image of XRD Pattern of Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>-NPs) by using a X-ray diffractometer

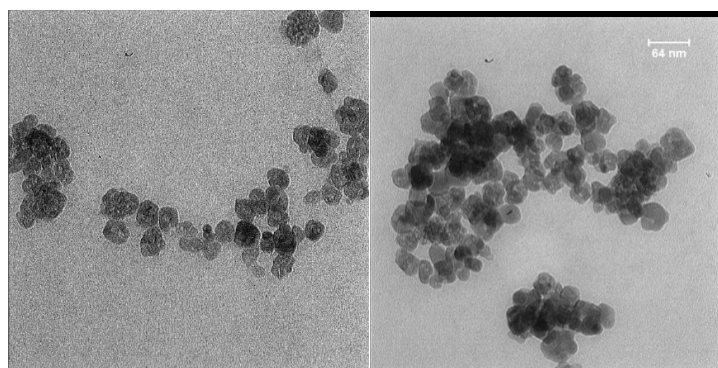
جدول ۲. خصوصیات نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO<sub>2</sub>-NPs).

Table 2. Characteristics of Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>-NPs).

اندازه نانو ذرات	نوع بلوره	مساحت سطح	چگالی محاسبه شده	چگالی ساختاری	وزن مولکولی
Crystalline mean size	Crystalline phase	Surface area	True density	Bulk density	Molecular weight
(nm)		(m <sup>2</sup> .g)	(g.cm <sup>-3</sup> )	(g.cm <sup>-3</sup> )	(g.mol)
13	تتراگونال	200-240	3.91	3.91	79.9

در لیتر در هر دو سطح تنش خشکی و همچنین شاهد، موجب افزایش شاخص کلروفیل شد (جدول ۴). کاربرد ۴۰ میلی گرم در لیتر نانوذره دی اکسید تیتانیوم، موجب کاهش شاخص کلروفیل در هر دو سطح تنش خشکی و شاهد گردید (جدول ۴). بیشترین و کمترین شاخص کلروفیل به ترتیب در تیمارهای ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و کاربرد ۲۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات و در ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم کاربرد نانو ذرات مشاهده شد (جدول ۴).

تصاویر گرفته شده با TEM، کوچکی نانو ذرات را تأیید می کند (شکل ۲). بیشترین تجمع نانو ذرات در گیاه زمانی است که اندازه نانو ذرات بین ۱۴-۲۲ nm باشد (Larue et al., 2014). با توجه به جدول ۲ اندازه نانوذره در این مطالعه ۱۳ nm بوده که مناسب برای جذب است. نتایج آزمایش نشان داد که شاخص کلروفیل به طور معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر برهمکنش نانوذره دی اکسید تیتانیوم و سطوح تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۳). افزایش غلظت نانوذره دی اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی گرم



شکل ۲. تصویر نانوذره دی اکسید تیتانیوم (TiO<sub>2</sub>-NPs) با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM).

Fig. 2. Image of Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>-NPs) prepared by transmission electron microscope (TEM).

جدول ۳. میانگین مربعات، منابع تغییر و درجه آزادی، صفات مورفولوژیک نخود تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و تنش خشکی.

Table 3. Mean squares, source of variation and degree freedom of morphologic characteristics of chickpea under different concentration of TiO<sub>2</sub>-NPs and drought stress.

		Source of variation		منبع تغییر		CV% ضریب تغییرات %
		Field capacity(FC) ظرفیت زراعی	Nanoparticles TiO <sub>2</sub> (TiO <sub>2</sub> -NPs) نانوذره دی اکسید تیتانیوم	FC×TiO <sub>2</sub> (TiO <sub>2</sub> -NPs) نانوذره × ظرفیت زراعی	Error خطا	
df	درجه آزادی	2	4	8	30	
Spad	شاخص کلروفیل	262**	26.0**	2.68**	0.441	2.62
Conductive stoma	هدایت روزنه	222**	50.7**	4.04*	1.53	8.8
Potential osmotic	پتانسیل اسمزی	1.049**	0.046**	0.012**	0.002	5.02
Plant height	ارتفاع بوته	148**	4.78 <sup>ns</sup>	1.17 <sup>ns</sup>	4.93	7.05
Number of leaves	تعداد برگ	49.9**	8.39**	1.49*	0.531	4.86
Leaves area	سطح برگ	27722**	15355**	2353**	213	3.3
Dry Leaf weight	وزن خشک برگ	0.118**	0.036**	0.003**	0.0009	8.43
Dry stem weight	وزن خشک ساقه	0.070**	0.021**	0.009**	0.0003	7.07
Leaf/shoot	نسبت برگ ساقه	0.040**	0.059**	0.100**	0.004	5.045
Dry shoot weight	وزن خشک کل اندام هوایی	0.037**	0.011**	0.019**	0.0015	6.41

ns, \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

Ns, \* and \*\*: non-significant, significant at 5% and 1% level of probability, respectively

جدول ۴. تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر محتوای نسبی کلروفیل، هدایت روزنه‌ای، پتانسیل اسمزی، ارتفاع بوته، تعداد و سطح برگ نخود تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری.

Table 4. Effect of different concentrations of TiO<sub>2</sub>-NPs on relative chlorophyll content, stoma conductivity, osmotic potential, high stem, leaf number and leaf area under different field capacity.

ظرفیت زراعی Field capacity (%)	نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم Nanoparticles Titanium dioxide (mg)	شاخص کلروفیل Spad	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance (Mmol.m <sup>-2</sup> .s)	پتانسیل اسمزی Osmotic potential (Mpa)	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد برگ Number of leaves	سطح برگ Leaf area (cm.plant <sup>-1</sup> )
90	0	28.0 <sup>bc</sup>	16.8 <sup>bc</sup>	0.50 <sup>h</sup>	33.4 <sup>a</sup>	16.5 <sup>bc</sup>	561 <sup>ab</sup>
	5	27.7 <sup>b-d</sup>	16.5 <sup>bc</sup>	0.66 <sup>fg</sup>	34.5 <sup>a</sup>	16.1 <sup>b-d</sup>	572 <sup>ab</sup>
	10	28.7 <sup>b</sup>	16.6 <sup>bc</sup>	0.78 <sup>ef</sup>	36.4 <sup>a</sup>	16.3 <sup>b-d</sup>	555 <sup>bc</sup>
	20	33.2 <sup>a</sup>	23.5 <sup>a</sup>	0.65 <sup>fg</sup>	35.8 <sup>a</sup>	19.1 <sup>a</sup>	602 <sup>a</sup>
	40	27.4 <sup>b-e</sup>	15.4 <sup>b-d</sup>	0.56 <sup>gh</sup>	34.5 <sup>a</sup>	15.0 <sup>b-f</sup>	497 <sup>d</sup>
60	0	26.0 <sup>c-f</sup>	12.7 <sup>d-f</sup>	0.90 <sup>de</sup>	29.6 <sup>a</sup>	15.0 <sup>b-f</sup>	506 <sup>d</sup>
	5	25.7 <sup>d-g</sup>	13.7 <sup>c-e</sup>	0.97 <sup>cd</sup>	31 <sup>a</sup>	15.5 <sup>b-e</sup>	513 <sup>cd</sup>
	10	25.6 <sup>e-g</sup>	15.0 <sup>b-d</sup>	1.01 <sup>b-d</sup>	31 <sup>a</sup>	14.3 <sup>c-g</sup>	480 <sup>d</sup>
	20	27.6 <sup>b-e</sup>	18.3 <sup>b</sup>	0.82 <sup>e</sup>	31.8 <sup>a</sup>	16.7 <sup>b</sup>	472 <sup>d</sup>
	40	25.4 <sup>fg</sup>	11.3 <sup>e-g</sup>	1.01 <sup>b-d</sup>	30.6 <sup>a</sup>	15.1 <sup>b-f</sup>	414 <sup>e</sup>
40	0	18.8 <sup>i</sup>	9.5 <sup>fg</sup>	1.05 <sup>bc</sup>	28.4 <sup>a</sup>	13.0 <sup>f-h</sup>	279 <sup>f</sup>
	5	20.3 <sup>hi</sup>	9.3 <sup>fg</sup>	1.25 <sup>a</sup>	29.1 <sup>a</sup>	12.0 <sup>h</sup>	288 <sup>f</sup>
	10	21.4 <sup>h</sup>	10.7 <sup>eg</sup>	1.20 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>	13.3 <sup>f-h</sup>	310 <sup>f</sup>
	20	23.9 <sup>g</sup>	12.2 <sup>dg</sup>	1.13 <sup>ab</sup>	28.1 <sup>a</sup>	14.1 <sup>d-h</sup>	377 <sup>e</sup>
	40	19.3 <sup>i</sup>	8.6 <sup>g</sup>	1.13 <sup>ab</sup>	28.3 <sup>a</sup>	12.6 <sup>gh</sup>	207 <sup>g</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر صفت در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

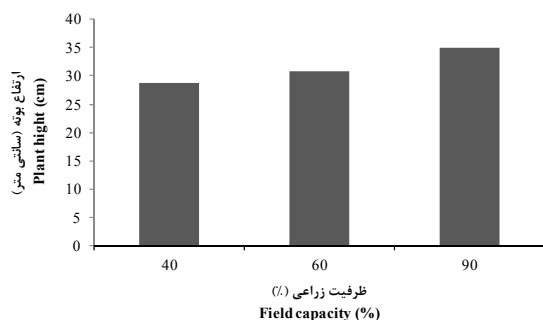
Mean with common letter(s) in each column are not statistically significant at 5% probability levels.

2016). در مطالعه حاضر کاربرد ۲۰ میلی‌گرم نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم، شاخص کلروفیل را نسبت به گیاهان شاهد (عدم کاربرد نانوذره) در هر سطح تنش خشکی به‌صورت معنی‌داری افزایش داد (جدول ۴).

با افزایش غلظت نانوذره از عدم کاربرد تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، هدایت روزنه‌ای در هر یک از سطوح تنش خشکی روند افزایشی نشان داد همچنین با افزایش سطح تنش خشکی میزان هدایت روزنه‌ای کاهش یافت (جدول ۴). در رژیم رطوبتی ۶۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی، هدایت روزنه‌ای به مقدار ۴۴ درصد و در رژیم رطوبتی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، ۲۸ درصد افزایش در نتیجه کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم نسبت به عدم کاربرد آن مشاهده شد. به‌طور کلی نتایج نشان این آزمایش نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی که منجر به کاهش هدایت روزنه‌ای شده بود، کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر توانست کاهش را تعدیل و موجب افزایش هدایت روزنه‌ای

یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد نانو ذرات قدرت نفوذپذیری بالای آن‌ها است. لذا نانو ذرات به راحتی می‌توانند از روزنه‌ها با محدوده میکرون به راحتی عبور کنند. از سوی دیگر، اگرچه دیواره سلول گیاهی به مثابه یک سد از ورود عوامل خارجی جلوگیری می‌کند، نانو ذرات با قطر کمتر از ۲۰ نانومتر می‌توانند از حفرات دیواره سلولی عبور کنند و وارد فضای داخلی سلول و غشای پلاسمایی شوند (Lei et al., 2007). ورود نانو ذرات به علت ویژگی فتوکاتالیستی و افزایش فتوسنتز و آنزیم نیترات ردوکتاز دارای اثرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی بر رشد گیاه است (Lu et al., 2002). در گیاه بادمجان (*Solanum melongena* L.) اثر خشکی و محلول‌پاشی نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم بر مقدار کلروفیل معنی‌دار بود. به طوری که با افزایش غلظت نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم به مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر در طی روند تنش خشکی میزان مقدار کلروفیل در مقایسه با گیاهان شاهد به مقدار چهار برابر افزایش یافت (Rasouli et al.,

محللول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم به مقدار ۰/۰۵ درصد در همان مرحله کمترین تأثیر را روی ارتفاع گیاه داشت (Nori and Movaeni., 2016). ارتفاع بوته گندم نیز در پاسخ به تیمارهای مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم افزایش یافت (Zheng et al., 2005). نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم همراه با نانو ذرات دی‌اکسید سیلیسیوم باعث افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز شد (Zheng et al., 2005).



شکل ۳. اثر رژیم‌های مختلف رطوبتی بر ارتفاع بوته نخود.

Fig. 3. Effect of different moisture regimes on plant height of chickpea.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر تنش خشکی بر تعداد برگ و سطح برگ نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، تعداد برگ‌های گیاه در هر سه رژیم رطوبتی روند افزایشی نسبت به شاهد دارد (جدول ۴). تنها در رژیم رطوبتی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، به کار بردن پنج میلی‌گرم در لیتر از نانو ذرات موجب کاهش هشت درصدی تعداد برگ نسبت به شاهد گردید. در هر سه رژیم رطوبتی، کاربرد ۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم موجب کاهش تعداد برگ نسبت به غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر گردید. به‌طور کلی کاربرد نانو ذرات تیتانیوم تا غلظت ۲۰ میلی‌گرم در هر سه رژیم رطوبتی باعث افزایش تعداد برگ شد که بالاترین آن به رژیم رطوبتی ۹۰ درصد ظرفیت زراعی مربوط بود (جدول ۴).

با افزایش غلظت نانو ذرات تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، سطح برگ در هر سطح تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و تیمار شاهد رژیم رطوبتی روند افزایشی نشان داد اما در تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی با افزایش غلظت نانوذره به بیشتر از پنج میلی‌گرم در لیتر سطح برگ کاهش یافت (جدول ۴). در

گیاه نخود شود (جدول ۴). یکی از راه‌های افزایش تحمل به خشکی در گیاهان کاهش تبادلات گازی عنوان شده است (Javadi and Bahramnejad, 2010). در نهال‌های گلایی وحشی با گذشت زمان افزایش شدت خشکی میزان هدایت روزنه‌ای کاهش یافته است (Zarafshar et al., 2014) ولی نانو ذرات با حضور روی سلول‌های اپیدرم و روزنه‌ها به‌عنوان سد فیزیکی از اثرات منفی خشکی جلوگیری کردند (Chaves and Olivera, 2004).

بر اساس نتایج حاصله از جدول ۴، بیشترین میزان پتانسیل اسمزی در شرایط ۴۰ درصد ظرفیت زراعی با مصرف ۵ و ۱۰ میلی‌گرم از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده شد و بین سطوح ۴۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر این رژیم رطوبتی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در تمامی رژیم‌های رطوبتی عدم کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم کمترین میزان پتانسیل اسمزی را ایجاد کرد؛ به‌عبارت‌دیگر مصرف نانو ذرات سبب افزایش میزان پتانسیل اسمزی در مقایسه با عدم کاربرد آن شد (جدول ۴). تنظیم اسمزی در شرایط کمبود آب به حفظ آماس سلولی، نگهداری آب، تجمع مواد محلول در سلول و نهایتاً باعث بهبود توانایی جذب آب می‌شود (Zare meherjerdi et al., 2016).

بر اساس مطالعات قبلی استفاده از نانو ذرات سیلیکون (SiO<sub>2</sub>-nanoparticles) قادر است موجب تعدیل پتانسیل آب آوند چوب گلایی وحشی در شرایط تنش کم و حتی در شرایطی شود که گیاه با تنش مواجه نیست شود (Zarafshar et al., 2018) که این اثر با تغییر مقاومت هیدرولیکی آوند چوب در ارتباط است (Gao et al., 2008).

نتایج نشان داد که ارتفاع بوته به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۳)، به‌طوری‌که ارتفاع بوته در رژیم رطوبتی ۹۰ درصد ظرفیت زراعی در مقایسه با ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، ۱۷ درصد افزایش یافت (شکل ۳). افزایش تعداد و بزرگ شدن سلول‌ها مهم‌ترین علت رشد و طویل شدن ساقه است که در شرایط کمبود آب این فرآیند کند می‌شود (Burnett et al., 2005). کاهش آب قابل‌دسترس به‌خصوص در ابتدای دوره گلدهی در نخود ضمن کاهش سرعت رشد رویشی و کوتاه کردن دوره رشد زایشی به‌طور غیرمستقیم روی ارتفاع اثر منفی دارد (Azizi et al., 2011). کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد در مرحله ساقه رفتن، بیشترین اثر را در ارتفاع بوته عدس (*Lens culinaris* Medik.) داشت درحالی‌که

به دنبال افزایش وزن خشک برگ و ساقه با افزایش غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم، نسبت برگ به ساقه نیز افزایش یافت با این تفاوت که در رژیم رطوبتی ۹۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات تیتانیوم آناز موجب افزایش ۲۲ درصدی و در دو تیمار ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش ۲۸ و ۵۷ درصدی نسبت برگ به ساقه گردید (جدول ۵).

برآیند اجزای بوته نخود، وزن خشک اندام هوایی است که به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر رژیم رطوبتی و نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم قرار گرفت (جدول ۳). برهمکنش رژیم رطوبتی و کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات تیتانیوم از صفر تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، وزن خشک کل اندام هوایی گیاه نخود در هر سه رژیم رطوبتی، روند افزایشی نشان داد اما افزایش بیش از ۴۰ میلی‌گرم در لیتر، سبب کاهش وزن خشک کل اندام هوایی شد (جدول ۵). وزن خشک اندام هوایی در سه سطح رژیم آبیاری ۴۰، ۶۰ و ۹۰ ظرفیت زراعی در گیاهان تیمار شده با ۲۰ میلی‌گرم در لیتر مقایسه با شاهد به ترتیب ۴۶، ۲۷ و ۶۸ درصد افزایش داشت (جدول ۵). با توجه به این نتایج می‌توان بیان کرد که در سطوح شدیدتر تنش خشکی کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثر مثبت بیشتری بر تولید ماده خشک داشته است (جدول ۵).

محلول‌پاشی دی‌اکسید تیتانیوم آناز روی برگ‌های فلفل (*Capsicum annuum* L.) اثر مثبتی بر رشد این گیاه داشته است (Baura-Penda et al., 1991). در یک آزمایش نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم با تحریک ریشه سبب افزایش توانایی جذب آب و مواد غذایی شده است که به دنبال آن وزن تر و خشک گیاه افزایش یافته است (Zhu et al., 2008). در گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) محلول‌پاشی برگی و خاک کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در بستر رشد گیاه باعث افزایش جذب عناصر غذایی به‌خصوص نیتروژن شد. در این آزمایش فعالیت آنزیم نترات ردوکتاز، سنتز اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها و همچنین مقدار فتوسنتز و زیست‌توده گیاه افزایش یافت (Yang et al., 2013; Zhu et al., 2006). محلول‌پاشی سه‌درصدی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش عملکرد گیاه جو نسبت به شاهد شد (Moaveni et al., 2011).

هر سه رژیم رطوبتی، کاربرد ۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره تیتانیوم، موجب کاهش سطح برگ نسبت به کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر گردید (جدول ۴). کاهش برگ به‌عنوان اولین فرآیند دفاعی برای مقابله با تنش خشکی شناخته شده است (Shao et al., 2008). در بررسی اثر تنش خشکی بر گیاه کاسنی (*Cichorium intybus* L.) بیشترین و کمترین تعداد برگ مربوط به سطح آبیاری ۹۰ و ۴۵ درصد ظرفیت زراعی تعلق داشت (Jazi zadeh et al., 2016). در شرایط تنش خشکی، برگ‌ها کوچک‌تر و تعداد آن‌ها کمتر می‌شود، دلیل این امر کاهش سطح برگ در زمان تنش است که می‌تواند به علت پیری زودرس و عاملی برای کاهش تعرق و رسیدگی زودتر گیاه در شرایط تنش خشکی باشد (Leport et al., 1999). همچنین کاهش سطح برگ در شرایط تنش خشکی به علت پایین آمدن محتوای نسبی آب برگ و بسته شدن روزنه‌ها امری اجتناب‌ناپذیر است (Neumann, 2008). نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد ۲۰ میلی‌گرم نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند نسبت به عدم کاربرد آن سطح برگ در گیاهان تحت تنش خشکی را افزایش دهد (جدول ۴).

اثر تنش خشکی و نانو ذره تیتانیوم و برهم‌کنش آن‌ها بر وزن خشک برگ معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش غلظت نانو ذرات تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، وزن خشک برگ در هر دو رژیم رطوبتی روند افزایشی نشان داد و پس از آن کاهش یافت (جدول ۵). در تیمارهای ۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی با افزایش غلظت نانو ذرات تیتانیوم از صفر به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب وزن خشک برگ ۵۰، ۴۷ و ۵۳ درصد افزایش یافت (جدول ۵).

همانند وزن خشک برگ وزن خشک ساقه نیز به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۳). در تمام سطوح رژیم رطوبتی با افزایش کاربرد نانو ذرات تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر وزن خشک ساقه افزایش و پس از آن کاهش یافت (جدول ۵). در بین تیمارهای مختلف، بالاترین وزن خشک ساقه در شرایط ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده شد. در تیمارهای ۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی با افزایش غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم از صفر به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، به ترتیب وزن خشک ساقه ۲، ۷ و ۸۶ درصد نسبت به عدم کاربرد آن افزایش یافت (جدول ۵).



تغییرات مجموع طول ریشه‌ها به ترتیب ۳/۱ و ۲/۳ برابر ۳۹ درصد افزایش یافت (جدول ۷). نتایج این آزمایش تأیید می‌کند که با افزایش شدت تنش خشکی، مجموع طول ریشه‌ها افزایش و کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم نیز افزایش فوق را تشدید می‌نماید (جدول ۷).

متوسط قطر ریشه با افزایش سطح تنش خشکی کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۶). افزایش کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش متوسط قطر ریشه شد و افزایش بیشتر از این مقدار موجب کاهش قطر ریشه گردید (جدول ۷). کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در هر سه رژیم رطوبتی ۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی، متوسط قطر ریشه را به ترتیب به مقدار ۸۳، ۷۹ و ۵۵ درصد افزایش داد (جدول ۷). بر اساس نتایج این پژوهش کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در شرایط تنش خشکی می‌تواند کاهش قطر ریشه در اثر تنش خشکی را جبران نماید. به نظر می‌رسد کاربرد نانوذره موجب افزایش قطر ریشه شده تا سطح جذب آب را افزایش دهد.

بر اساس نتایج این پژوهش کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم فتوسنتز و تولید ماده خشک گیاه را به صورت معنی‌داری افزایش داد. در یک آزمایش تفاوت معنی‌داری بین کاربرد تیتانیوم غیر نانو و نانو و زمان مصرف آن‌ها در شرایط تنش خشکی و آبیاری در گندم گزارش شده است (Jaberzadeh et al., 2010). آن‌ها نشان دادند که تیمار نانو ذرات تیتانیوم در زمان ساقه دهی قادر است عملکرد را در شرایط تنش نسبت به شرایط غیر تنش افزایش دهد.

تنش خشکی و کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر مجموع طول ریشه معنی‌دار بود (جدول ۶). با افزایش سطح تنش خشکی، میزان طول ریشه افزایش یافت (جدول ۷). افزایش غلظت کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم از صفر تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش مجموع طول ریشه گردید و با افزایش غلظت به بیشتر از ۲۰ میلی‌گرم در لیتر این ویژگی کاهش یافت (جدول ۷). میزان افزایش طول ریشه با افزایش کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم از صفر تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در رژیم‌های مختلف رطوبتی متفاوت بود، به نحوی که در ظرفیت زراعی ۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد، میزان

جدول ۵. تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، نسبت برگ به ساقه و وزن خشک کل اندام هوایی نخود تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری.

Table 5. Effect of different concentrations of TiO<sub>2</sub>-NPs on leaf dry weight, stem dry weight, leaf/shoot and shoot dry weight of chickpea under different field capacity.

ظرفیت زراعی Field capacity (%)	نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم Nanoparticles Titanium dioxide (mg)	وزن خشک برگ Leaf dry weight (g)	وزن خشک ساقه Stem dry weight (g)	نسبت برگ به ساقه	
				ساقه Leaf/Shoot	وزن کل اندام هوایی Shoot dry weight (g)
90	0	0.38 <sup>cd</sup>	0.29 <sup>bc</sup>	1.32 <sup>c-e</sup>	0.67 <sup>c-e</sup>
	5	0.42 <sup>bc</sup>	0.28 <sup>bc</sup>	1.49 <sup>ab</sup>	0.70 <sup>b-d</sup>
	10	0.49 <sup>ab</sup>	0.32 <sup>b</sup>	1.62 <sup>a</sup>	0.81 <sup>b</sup>
	20	0.58 <sup>a</sup>	0.54 <sup>a</sup>	1.07 <sup>g</sup>	1.13 <sup>a</sup>
	40	0.38 <sup>cd</sup>	0.28 <sup>bc</sup>	1.24 <sup>c-f</sup>	0.66 <sup>c-e</sup>
60	0	0.30 <sup>d-g</sup>	0.27 <sup>bc</sup>	1.14 <sup>e-g</sup>	0.58 <sup>ef</sup>
	5	0.32 <sup>d-f</sup>	0.26 <sup>b-d</sup>	1.20 <sup>d-g</sup>	0.59 <sup>d-f</sup>
	10	0.38 <sup>cd</sup>	0.26 <sup>b-d</sup>	1.38 <sup>b-d</sup>	0.65 <sup>c-e</sup>
	20	0.44 <sup>bc</sup>	0.29 <sup>bc</sup>	1.46 <sup>a-c</sup>	0.74 <sup>bc</sup>
	40	0.28 <sup>e-g</sup>	0.26 <sup>b-d</sup>	1.10 <sup>fg</sup>	0.56 <sup>e-g</sup>
40	0	0.24 <sup>fg</sup>	0.19 <sup>ef</sup>	1.21 <sup>d-g</sup>	0.43 <sup>h</sup>
	5	0.23 <sup>g</sup>	0.17 <sup>f</sup>	1.30 <sup>c-e</sup>	0.40 <sup>h</sup>
	10	0.25 <sup>fg</sup>	0.20 <sup>ef</sup>	1.22 <sup>d-g</sup>	0.45 <sup>gh</sup>
	20	0.36 <sup>c-e</sup>	0.24 <sup>c-e</sup>	1.55 <sup>ab</sup>	0.61 <sup>d-f</sup>
	40	0.30 <sup>d-g</sup>	0.21 <sup>d-f</sup>	1.32 <sup>c-e</sup>	0.51 <sup>f-h</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر صفت در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Mean with common letter(s) in each column are not statistically significant at 5% probability levels.

جدول ۶. میانگین مربعات، منابع تغییر و درجه آزادی صفات مورفولوژیک ریشه نخود تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش خشکی.

Table 6. Mean squares, source of variation and and degree freedom of root characteristics of chickpea under different concentration of TiO<sub>2</sub>-NPs and drought stress.

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع طول ریشه	قطر ریشه	سطح ریشه	حجم ریشه	وزن خشک ریشه
Source of variation	df	Total length root	Root diameter	Root area	Root volume	Root dry weight
ظرفیت زراعی	2	1909935**	0.0009**	16309**	25.9**	0.074**
Nanoparticles TiO <sub>2</sub> (TiO <sub>2</sub> -NPs) FC×TiO <sub>2</sub>	4	6391298**	0.0002**	11055**	0.53**	0.032**
نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم	8	1075740**	3.80**	2489**	0.175**	0.006*
FC×TiO <sub>2</sub> (TiO <sub>2</sub> -NPs)	30	6.32	8.83	56.25	0.0125	0.002
ظرفیت زراعی×نانوذره						
Erorr	خطا	6.32	8.83	56.25	0.0125	0.002
C.V%	ضریب تغییرات %	0.094	3.73	5.12	4.47	12.43

\*\* Significant at 1% level of probability

\*\* معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

جدول ۷. تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم مجموع طول، متوسط قطر، سطح، حجم و وزن خشک ریشه نخود تحت تأثیر سطوح مختلف ظرفیت زراعی.

Table 7. Effect of different concentrations of TiO<sub>2</sub>-NPs on total root length, average root diameter, root volume, and root dry weight of chickpea under different field capacity.

ظرفیت زراعی	نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم	مجموع طول ریشه	متوسط قطر ریشه	سطح ریشه	حجم ریشه	وزن خشک ریشه
Field capacity (%)	Nanoparticles titanium dioxide (mg)	Total root length (mm.plant <sup>-1</sup> )	Root diameter (mm)	Root area (cm.plant <sup>-1</sup> )	Root volume (cm <sup>3</sup> .plant <sup>-1</sup> )	Root dry weight (g.plant <sup>-1</sup> )
90	0	2281 <sup>h</sup>	0.029 <sup>c</sup>	107 <sup>f-h</sup>	3.75 <sup>b</sup>	0.39 <sup>b-e</sup>
	5	2055 <sup>j</sup>	0.029 <sup>c</sup>	109 <sup>f-h</sup>	3.70 <sup>b</sup>	0.39 <sup>b-e</sup>
	10	2807 <sup>f</sup>	0.035 <sup>b</sup>	125 <sup>d-f</sup>	4.12 <sup>a</sup>	0.45 <sup>b-e</sup>
	20	3181 <sup>e</sup>	0.045 <sup>a</sup>	143 <sup>d</sup>	4.20 <sup>a</sup>	0.60 <sup>a</sup>
	40	2084 <sup>i</sup>	0.024 <sup>de</sup>	98 <sup>gh</sup>	3.18 <sup>c</sup>	0.53 <sup>ab</sup>
60	0	1761 <sup>m</sup>	0.019 <sup>f</sup>	103 <sup>gh</sup>	2.43 <sup>ef</sup>	0.35 <sup>de</sup>
	5	1987 <sup>i</sup>	0.022 <sup>e</sup>	116 <sup>e-g</sup>	2.15 <sup>f</sup>	0.38 <sup>c-e</sup>
	10	2527 <sup>g</sup>	0.024 <sup>de</sup>	126 <sup>d-f</sup>	2.68 <sup>de</sup>	0.41 <sup>b-e</sup>
	20	4006 <sup>c</sup>	0.034 <sup>b</sup>	185 <sup>c</sup>	2.81 <sup>d</sup>	0.52 <sup>a-c</sup>
	40	1767 <sup>m</sup>	0.025 <sup>d</sup>	137 <sup>de</sup>	2.72 <sup>de</sup>	0.47 <sup>a-d</sup>
40	0	1383 <sup>n</sup>	0.012 <sup>h</sup>	91.6 <sup>h</sup>	1.08 <sup>h</sup>	0.30 <sup>e</sup>
	5	2044 <sup>k</sup>	0.017 <sup>fg</sup>	142 <sup>d</sup>	1.06 <sup>h</sup>	0.34 <sup>de</sup>
	10	4232 <sup>b</sup>	0.017 <sup>fg</sup>	219 <sup>b</sup>	1.12 <sup>h</sup>	0.35 <sup>de</sup>
	20	4302 <sup>a</sup>	0.022 <sup>e</sup>	250 <sup>a</sup>	1.56 <sup>g</sup>	0.37 <sup>c-e</sup>
	40	3341 <sup>d</sup>	0.015 <sup>gh</sup>	199 <sup>bc</sup>	1.00 <sup>h</sup>	0.31 <sup>e</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر صفت در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Mean with common letter (s) in each column are not statistically significant at 5% probability levels.

ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در تمام رژیم‌های رطوبتی از نظر سطح ریشه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، اما با

با افزایش شدت تنش خشکی سطح ریشه افزایش معنی‌داری پیدا کرد (جدول ۶ و ۷). تیمار بدون کاربرد نانو

طول ریشه‌ها به علت کمبود آب در لایه‌های سطحی افزایش می‌یابد (Qian and Fry, 1996). افزایش طول ریشه در شرایط تنش خشکی با کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در نهال‌های گلایی وحشی گزارش شده است (Zarafshar et al., 2014). همچنین افزایش سطح ریشه با افزایش شدت تنش خشکی در گیاه نخود گزارش شده است (Hossinzadeh et al., 2012) که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (جدول ۷). از طرف دیگر در این پژوهش کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم نیز سطح ریشه را در شرایط تنش خشکی افزایش داد که تا حدودی دسترسی بیشتر به رطوبت را فراهم کند. باوجود افزایش نسبی بسیاری از ویژگی‌های ریشه در شرایط تنش خشکی، کاهش میزان ماده خشک تولیدشده در شرایط تنش خشکی به دلیل محدودیت مواد فتوسنتزی همچنین به علت کمبود آب و انتقال مواد غذایی از برگ به ریشه رخ داده است (Ganjeali and Kafi, 2007) که با استفاده از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌توان تا حدی اثرات تنش خشکی را تعدیل کرد.

#### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی افزایش غلظت نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در هر سه رژیم رطوبتی مورداستفاده در این مطالعه، موجب افزایش شاخص کلروفیل، هدایت روزنه‌ای، تعداد برگ، سطح برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک کل اندام هوایی، مجموع طول ریشه، متوسط قطر ریشه، سطح ریشه و حجم ریشه نخود شد و با افزایش بیشتر غلظت نانو ذرات این ویژگی‌ها روند کاهشی نشان دادند؛ بنابراین در شرایط تنش خشکی، کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را بر صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه نخود به‌صورت چشمگیری کاهش دهد.

افزایش شدت تنش خشکی و کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر سطح ریشه افزایش و با کاربرد بیشتر از این مقدار نانو ذرات سطح ریشه کاهش یافت (جدول ۷). سطح ریشه در ظرفیت‌های زراعی ۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد با افزایش غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم از صفر تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب ۲/۷ برابر، ۸۰ و ۳۴ درصد افزایش یافت (جدول ۷).

حجم ریشه تحت تأثیر تنش خشکی روند کاهشی معنی‌داری نشان داد (جدول ۶ و ۷). از سوی دیگر کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش حجم ریشه در تمام سطوح رطوبتی گردید (جدول ۷). میزان افزایش حجم ریشه با افزایش غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم از صفر تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در ظرفیت‌های زراعی ۹۰، ۶۰ و ۴۰ درصد به ترتیب ۴۴، ۱۶ و ۱۲ درصد افزایش یافت (جدول ۷).

وزن خشک ریشه تحت تأثیر تنش خشکی کاهش معنی‌داری پیدا کرد (جدول ۶ و ۷). تیمار بدون کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در تمام رژیم‌های رطوبتی از نظر وزن خشک ریشه تفاوت معنی‌داری نداشتند، اما با افزایش شدت تنش خشکی و کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر وزن خشک ریشه افزایش و با کاربرد بیشتر از این مقدار نانو ذرات وزن خشک ریشه کاهش یافت (جدول ۷). در ظرفیت‌های زراعی ۴۰، ۶۰ و ۹۰ درصد افزایش غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم از صفر تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب ۲۳، ۴۹ و ۵۴ درصد وزن خشک ریشه افزایش یافت (جدول ۷).

به‌طور کلی بررسی ویژگی‌های ریشه شامل مجموع طول، متوسط قطر، سطح و حجم در شرایط تنش خشکی نشان داد که افزایش غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش بیشتر این ویژگی‌ها در شرایط تنش خشکی شدیدتر نسبت به شرایط بدون تنش و تنش ملایم گردید (جدول ۷). در شرایط تنش شدید خشکی،

#### منابع

- Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M.I., Kumar, R., Sastry, M., 2005 Extra-intracellular biosynthesis of gold nanoparticles by an alkalotolerant fungus, *Trichothecium* sp. Journal of Biomedical Nanotechnology. 1(1), 47-53.
- Ajouri, A., Asgedom, H., Becker, M., 2004. Seed priming enhances germination and seedling growth of barley under conditions of P and Zn

- deficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 167(5), 630-636.
- Akkerman, Q.A., Gandini, M., Di Stasio, F., Rastogi, P., Palazon, F., Bertoni, G., Ball, J.M., Prato, M., Petrozza, A., Manna, L., 2017. Strongly emissive perovskite nanocrystal inks for high-voltage solar cells. *Nature Energy*. 2(2), 16942.
- Anwar, M.R., McKenzie, B.A., Hill, G.D., 2003. Phenology and growth response to irrigation and sowing date of Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) in a cool-temperate subhumid climate. *The Journal of Agricultural Science*. 141(3-4), 273-284.
- Ashkanvand, P., Tabari, M., Zarafshar, M., 2015. Applied of Nanoparticle in botany, from [www.nano.ir](http://www.nano.ir).
- Azizi, Kh., Norozian, A., Yaghoobi, S., 2011. Effect of foliar application of zinc and bore elements on the grain yield, yield components, some indicators of growth, protein and oil content of rapeseed seed in climate Khorramabad. *Journal of Agricultural Science*. 4, 1-16. [In Persian with English Summary].
- Bacelar, E.A., Santos, D.L., Moutinho-Pereira, J.M., Lopes, J.I., Gonçalves, B.C., Ferreira, T.C., Correia, C.M., 2007. Physiological behaviour, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under different irrigation regimes. *Plant and Soil*. 292(2-1), 1.
- Baura-Pena, M.P., Martínez-Lope, M.J., García-Clavel, M.E., 1991. Synthesis and characterization of a hydrated titanium (IV) oxide. *Thermochimica Acta*. 179, 89-97.
- Burnett, S., Paul T., Iersel, M.V., 2005. Postgermination drenches with PEG-8000 reduce growth of salvia and marigolds. *Horticultural Science*. 40, 675-790.
- Chaves, M.M., Oliveira, M.M., 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany*. 55(407), 2365-2384.
- FAO, 2017. FAO Hunger map. ([www.fao.org](http://www.fao.org))
- Feizi, H., Kamali, M., Jafari, L., Moghaddam, P.R., 2013. Phytotoxicity and stimulatory impacts of nanosized and bulk titanium dioxide on fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *Chemosphere*. 91(4), 506-511.
- Ganjeali, A., Kafi, M., 2007. Genotypic differences for allometric relationships between root and shoot characteristics in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Pakistan Journal of Botany*. 21, 1523-1531.
- Gao, W.R., Wang, X.S., Liu, Q.Y., Peng, H., Chen, C., Li, J.G., Zhang, J.S., Hu, S.N., Ma, H., 2008. Comparative analysis of ESTs in response to drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 367(3), 578-583.
- Haghighi, M., Daneshmand, B., 2013. Comparing the effects of titanium and nanotitanium 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].
- Hamzei, J., Seyedi, M., 2014. Study of canopy growth indices in mono and intercropping of chickpea and barley under weed competition. *Journal of Sustainable Agriculture and Production*. 24, 75-90. [In Persian with English Summary].
- Hashemi, D.E., Mousavi, M., Moallem, N., Ghafariyan, M.M.H., 2016. Effect of nanoparticles of titanium dioxide (anatase) on physiological characteristics of strawberry (*Fragaria ananassa* cv queen elisa) in hydroponic condition. *Journal of Plant Process and Function*. 1-8. (In Persian with English Summary).
- Hossinzadeh, S.R., Ganjeali, A., Salami, A., Ahmadpour, R., 2012. Effects of foliar application of methanol on growth and root characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *European Journal of Experimental Biology*. 12, 2.
- Jaberzadeh, A., Moaveni, P., Tohidi Moghadam, H.R., Modari, A., 2010. Effects of TiO<sub>2</sub> NPs foliar spraying on the wheat under drought stress, *Iranian Journal of Plant Eco-Physiology*. 4, 295-301. [In Persian with English Summary].
- Javadi, T., Bahramnejad, B., 2010. Effect of water stress on growth and some biochemical traits of three pear genotypes from kudrestan province. *Iranian Horticultural Science*. 24(2), 327-335. [In Persian with English Summary].
- Jazizadeh, E., Mortezaejhad, F., 2016. Effects of drought stress on physiological indices on cannabis *Chcorium intybus* L. *Journal of Plant Process and Function*. 6(21), 279-290. [In Persian with English Summary].

- Khater, M.S., Osman, Y.A.H., 2015. Influence of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on growth, chemical constituents and toxicity of fennel plant. Arab Journal of Nuclear Sciences and Applications. 48(4), 178-186.
- Larue, C., Castillo-Michel, H., Sobanska, S., Cécillon, L., Bureau, S., Barthès, V., Ouerdane, L., Carrière, M., Sarret, G., 2014. Foliar exposure of the crop *Lactuca sativa* to silver nanoparticles: evidence for internalization and changes in Ag speciation. Journal of Hazardous Materials. 246, 98-106.
- Lei, Z., Mingyu, S., Chao, L., Liang, C., Hao, H., Xiao, W., Xiaoqing, L., Fan, Y., Fengqing, G., Fashui, H., 2007. Effects of nanoanatase TiO<sub>2</sub> on photosynthesis of spinach chloroplasts under different light illumination. Biological Trace Element Research. 119(1), 68-76.
- Leport, L., Turner, N.C., French, R.J., Barr, M.D., Duda, R., Davies, S.L., Tennant, D., Siddique, K.H.M., 1999. Physiological responses of chickpea genotypes to terminal drought in a Mediterranean-type environment. European Journal of Agronomy. 11(3-4), 279-291.
- Liu, X.M., Zhang, F.D., Zhang, S.Q., He, X.S., Fang, R., Feng, Z., Wang, Y.J., 2005. Effects of nano-ferric oxide on the growth and nutrients absorption of peanut. Plant Nutrition and Fertilizer Science. 11, 14-18.
- Lu, C., Zhang, C., Wen, J., Wu, G., Tao, M., 2002. Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism. Soybean Science. 21(13), 171-178.
- Mamyandi, M.M., Pirzad, A., Zardoshti, M.R., 2012. Effect of Nano-iron spraying at varying growth stage of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) on the size of different plant parts. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 2(4), 740-745.
- Mansori, M., Akbari, G., Mortazavian, S.M.M., 2017. The effect of nanoparticles of titanium dioxide sprayed on yield and yield components of different ecotype cumin in drought stress. Journal of Crops Improvement. 19(2), 461-473. (In Persian with English Summary).
- Moaveni, P., Farahani, H.A., Maroufi, K., 2011. Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles spraying on barley (*Hordeum vulgare* L.) under field condition. Advances in Environmental Biology. 5(8), 2220-2224.
- 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.
- Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N.B., Filser, J., Miao, A.J., Quigg, A., Santschi, P.H., Sigg, L., 2008. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. Ecotoxicology. 17(5), 372-386.
- Neumann, P.M., 2008. Coping mechanisms for crop plants in drought-prone environments. Annals of Botany. 101(7), 901-907.
- Nori, M., and Movaeeni, P., 2016. Effect of titanium dioxide spraying on chlorophyll, yield and yield components of lentil. Research Journal of Legume. 8, 68-57.
- Pandey, A.C., S. Sanjay, S., S. Yadav, R., 2010. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. Journal of Experimental Nanoscience. 5(6), 488-49
- Qi, M., Liu, Y., Li, T., 2013. Nano-TiO<sub>2</sub> improve the photosynthesis of tomato leaves under mild heat stress. Biological trace Element Research. 156(1-3), 323-328.
- Qian, Y.L., Fry, J.D., Wiest, S.C., Upham, W.S., 1996. Estimating turfgrass evapotranspiration using atmometers and the Penman-Monteith model. Crop Science. 36(3), 699-704.
- Rasouli, F., Abedini, F., Zahdi, M., 2016. The effect of Titanium nano dioxide on physiological particular and chlorophyll fluorescence parameters in Egg plant (*Solanum melongena* L.) under water deficit stress. Journal of Vegetable Science. (4)2, 51-37. [In Persian with English Summary].
- Scherrer, P., 1912. Bestimmung der inneren Struktur und der Größe von Kolloidteilchen mittels Röntgenstrahlen. In Kolloidchemie Ein Lehrbuch (pp. 387-409). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Shao, H.B., Chu, L.B., Jaleel, C.A., Zho, C.H., 2008. Water-deficit stress-induced anatomical change in higher plants. Compect Rendus Biologis. 331(3), 215-225.
- Takallu, S., Davodi, D., Omidi, M., Ebrahimi, MA., Rouzbeh, F., Rasulnia, AR., 2013. The effect of titanium dioxide nanoparticles on barley cytogenetical index. Journal of

- Agricultural Biotechnology. 5(1), 13-26. [In Persian with English Summary].
- Voet, D., Voet, J.G., Pratt, C.W., 2001. Fundamentals of Biochemistry Upgrade. New York, Wiley.
- Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C., Yang, P., 2006. Influence of nano-anatase TiO<sub>2</sub> on the nitrogen metabolism of growing spinach. Biological Trace Element Research. 110(2), 179-190.
- Yusefzaei, F., Poorakbar, L., Farhadi, Kh., Molaei, R., 2017. The Effect of copper nanoparticles and copper chloride solution on germination and solution some morphological and physiological factors *Ocimum basilicum* L. Journal of Plant Science Research. 30(1), 221-231. [In Persian with English Summary].
- Zarafshar, M., Akbarinia, M., Askari, H., Hosseini, S.M., Rahaie, M., Struve, D., Gustavo G.S., 2014. Morphological, physiological and biochemical responses to soil water deficit in seedlings of three populations of wild pear (*Pyrus boissieriana*). Biotechnology, Agronomy, Society and Environment. 18, 353-366.
- Zarafshar, M., Akbarinia, M., Askari, H., Hosseini, S.M., Satarian, A., Niakan, N., 2018. Comparative effect of TiO<sub>2</sub> and SiO<sub>2</sub> nanoparticles on some morphological, physiological and biochemical responses to soil water deficit in seedlings of wild pear (*Pyrus boissieriana*). Journal of Applied Biology. 31(2), 101-118. [In Persian with English Summary].
- Zare Meherjerdi, M., Bagheri, A., Bahrami, A.R., Nabati, J., Masoumi, A., 2016. Effect of drought stress on osmotic adjustment, proline and soluble sugars in root and shoot and relationship with drought tolerance in 12 genotypes of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Iran Agronomy Science. 47(3), 451-462. [In Persian with English Summary].
- Zheng, L, Hong, F., Lu, S., Liu, C., 2005. Effect of nano-TiO<sub>2</sub> on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. Biological trace element research. 104, 83-91.
- Zhu, H., Han, J., Xiao, J.Q., Jin, Y., 2008. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. Journal of Environmental Monitoring. 10, 713-717.