



علوم و تحقیقات بذر ایران

سال یازدهم / شماره اول / ۱۴۰۳ (۸۷ - ۶۹)

مقاله پژوهشی

DOI: 10.22124/jms.2024.8039



ارزیابی بهبود جوانه‌زنی بذر سان‌همپ (*Crotalaria juncea*) با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO₂) در تنش شوری

فاطمه احمدنیا^{۱*}، علی عبادی^۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲۷

چکیده

شوری یکی از تنش‌های محدودکننده تولید محصولات کشاورزی است. پتانسیل بالای سان‌همپ (*Crotalaria juncea*) به عنوان گیاهی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری و کاربردهای بسیار آن در علم و صنعت سبب بررسی پتانسیل جوانه‌زنی آن در شرایط شوری و بررسی بهبود جوانه‌زنی آن با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم شد. آزمایشی در سال ۱۴۰۲ در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۰/۵ و یک میلی‌مولار) و سطوح تنش شوری (صفر، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲-مگاپاسگال) با استفاده از نمک سدیم کلراید بود. نتایج نشان داد که پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲-مگاپاسگال سبب کاهش درصد جوانه‌زنی (۱۰/۵۶، ۲۰/۴۹ و ۳۱/۲۶ درصد)، طول ریشه‌چه (۶۸/۰۰، ۸۸/۵۲ و ۹۱/۲۴ درصد) و طول ساقه‌چه (۴۶/۹۲، ۸۲/۵۹ و ۸۹/۸۷ درصد) گردید. نانوپرایمینگ بذر در غلظت یک میلی‌مولار سبب افزایش طول ریشه‌چه (۲۵/۴۰ درصد) و طول ساقه‌چه (۲۴/۸۷ درصد) در مقایسه با عدم پرایمینگ شد. همچنین نانوپرایمینگ سبب افزایش ۱۵/۹۲، ۱۰/۱۸ و ۱/۳۵ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز و ۱۷/۸۱، ۶/۲۶ و ۸/۴۰ درصدی محتوی پروتئین در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲-مگاپاسگال شد. نانوپرایمینگ در غلظت یک میلی‌مولار سبب کاهش ۳۰/۹۲، ۴۱/۵۹ و ۳۶/۷۴ درصدی پراکسیداسیون لیپیدی در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲-مگاپاسگال شد. نتایج این مطالعه علاوه بر گزارش توان جوانه‌زنی بذر سان‌همپ در تنش شوری ۱/۲-مگاپاسگال بر بهبود جوانه‌زنی و سایر مؤلفه‌های رشدی وابسته به آن با استفاده از پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت یک میلی‌مولار تاکید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل اسمزی، پراکسیداسیون لیپیدی، سدیم کلراید، کاتالاز

۱- دانش آموخته دکتری، فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. F.ahmadnia@uma.ac.ir

۲- استاد، فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ebadi@uma.ac.ir

*نویسنده مسئول: F.ahmadnia@uma.ac.ir

مقدمه

شوری یک چالش بزرگ برای سیستم‌های کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک است که باعث جلوگیری از رشد، توسعه گیاه و کاهش تولید محصولات کشاورزی می‌شود (Johnson and Puthur, 2021). گیاهان تحت تنش شوری، در معرض تداخل در جذب یون‌ها و تنش اکسیداتیو قرار می‌گیرند (Tahjib-Ul-Arif et al., 2018). پاسخ به این تنش در هر مرحله از رشد نه تنها در بین گونه‌های گیاهی، بلکه در بین ارقام نیز متفاوت است (Bojović et al., 2010). بیشتر گونه‌های گیاهی در مراحل اولیه رشد، از جمله مراحل جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه، به تنش شوری حساس هستند (Wang et al., 2009). شدت تنش شوری اغلب با اندازه‌گیری شاخص‌های رشد گیاهچه تعیین می‌شود، زیرا سبز شدن سریع و یکنواخت گیاهچه یک پیش‌نیاز حیاتی برای دستیابی به پتانسیل عملکرد بالا و در نهایت حداکثر سودآوری در محصولات یکساله است (Sadeghi and Robati, 2015). اهمیت ارائه راهکارهایی مبنی بر افزایش آستانه تحمل گیاهان در شرایط تنش شوری موجب استفاده روزافزون از نانوذرات در کشاورزی شده است. نانوذرات، ذره‌های کوچکی هستند که اندازه آن بین یک تا ۱۰۰ نانومتر متغیر است و این ذرات به عنوان یک پیوند بین دنیای اتمی ماکروسکوپی و میکروسکوپی عمل می‌کنند (Gharpure et al., 2022). دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) یک نانوذره نیمه‌رسانا است (Mathew et al., 2021). دی‌اکسید تیتانیوم در طبیعت به شکل TiO_2 عمدتاً در سه نوع ساختار کریستالی بروکیت^۱، آناتاز^۲ و روتیل^۳ سازماندهی می‌شود (Sant'as-Miguela et al., 2023). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم کاربردهای گسترده‌ای در فرآیندهای تولید لوازم آرایشی، غذا و دارو و کشاورزی دارند (Grand and Tucci, 2016; Sant'as-Miguela et al., 2021; Sharif et al., 2023). نتایج مطالعات در خصوص اثرات نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهان حاکی از آن است که غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند پراکسیداز، کاتالاز، نیترات رداکتاز و محتوی پروتئین سبب افزایش عملکرد گیاهان مختلف می‌شوند (Mathew et al., 2021). گزارش شده است که

نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۲۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث تقویت جوانه‌زنی و رشد گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea*) شدند (Zheng et al., 2005). همچنین گزارش شده است که استفاده از غلظت‌های مناسب نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش جوانه‌زنی بذر، رشد و زودرسی گیاهان دارویی و معطر نسبت به تیمارهای دیگر شده است (Amooaghaie et al., 2021). استفاده از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم درصد جوانه‌زنی، طول ریشه و رشد گیاهچه را افزایش داد (Hatami et al., 2014). به طور کلی پذیرفته شده است که نانوذرات قادر به نفوذ به بذر می‌باشند و در نتیجه با افزایش جذب آب و مواد معدنی باعث بهبود جوانه‌زنی بذر می‌شوند (Cox et al., 2016). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در میزان کم باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی پیاز (*Allium cepa*) می‌شوند به طوری که، آنزیم‌های کلیدی هیدرولیزکننده‌ای مانند آمیلاز و پروتئاز در جوانه پیاز افزایش می‌یابد (Marambe and Ando, 1992). همچنین گزارش شده است که همبستگی مثبتی بین جذب آب و فعالیت آلفا-آمیلاز برای تجزیه نشاسته و افزایش قند در بذر سورگوم (*Sorghum bicolor* L. Moench) وجود داشته و نانوذرات می‌توانند به صورت آهسته به درون بذر نفوذ کرده و سازوکار جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار دهند (Navarro et al., 2008). سان‌همپ (*Crotalaria juncea*) گیاهی از خانواده *Fabaceae* است که بخش‌های مختلف آن در جوامع مختلف به عنوان غذا و دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد (Samuel and Sornakumar, 2020; Kamireddy et al., 2013). خاستگاه سان‌همپ کشورهایی مانند هند، چین، کره، پاکستان، بنگلادش، رمانی، برزیل، نپال و روسیه است که سالانه در حدود ۲۰۰ هزار تن فیبر از سان‌همپ در این کشورها تولید می‌شود (Sengupta and Debnath, 2018; Chaudhary et al., 2016). سان‌همپ گیاهی یک‌ساله با ارتفاع یک الی ۲/۵ متر، برگ‌های کشیده و گل‌هایی به رنگ زرد، غلاف استوانه‌ای، کوتاه با پوششی کرک‌دار (مخملی) است و قابلیت تولید ۱۲ بذر در هر غلاف را دارد (Samuel and Sornakumar, 2020). این گیاه بیشتر با هدف تولید الیاف، کود سبز و مصارف دارویی کشت می‌شود (Parenti et al., 2021; Skinner)

^۱Brookite^۲Anatase^۳Rutile

مواد و روش‌ها

بهن منظور بررسی اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر بهبود جوانه‌زنی بذر سان‌همپ (*Crotalaria juncea*) در سطوح مختلف تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه تکنولوژی بذر گروه آموزشی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل غلظت‌های مختلف پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۰/۵ و یک میلی‌مولار) و سطوح مختلف تنش شوری (صفر، ۰/۴، ۰/۸، و ۱/۲ - مگاپاسگال) با استفاده از نمک سدیم کلراید (NaCl) بود. برای محاسبه و اعمال سطوح تنش شوری از معادله وانت هوف^۱ رابطه (۱) استفاده شد (JahanBakhsh et al., 2019).

$$\pi = -mirt \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه m بیانگر غلظت مولی، i بیانگر ضریب ثابت یونیزاسیون ماده حل شونده، r عدد ثابت گازها (۰/۰۸۳)، t دما بر حسب کلوین و π پتانسیل اسمزی محلول براساس مگاپاسگال بود.

سنتز نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم: به منظور سنتز نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، محلول تیتانیوم تترا ایزوپروپوکساید (TTIP) از شرکت Merck با خلوص ۹۸ درصد تهیه شد. سنتز نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با استفاده از روش سل ژل انجام شد. در این روش ۵۵ میلی-لیتر اتانول با ۱۳۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر اسید استیک مخلوط شد. سپس ۱۸/۵ میلی‌لیتر تیتانیوم تترا ایزوپروپوکساید به آن افزوده و به مدت ۴۸ ساعت با استفاده از همزن مغناطیسی مخلوط شد. با گذشت زمان، رسوب تولید شده جمع آوری و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون آزمایشگاهی خشک شد. سپس در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت در کوره دمای بالا کلسینه شد (شکل ۱- الف) (Pazhouhan et al., 2016). همچنین شناسایی نوع پیوندها و ترکیبات شیمیایی موجود در نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سنتز شده با استفاده از دستگاه FTIR (Perkin Elmer) FTIR، Spectrum RX I (طیف‌سنجی تبدیل فوریه فرسرخ انجام شد. غلظت‌های مختلف نانوذرات مورد بررسی پس از توزین

(et al., 2012; Garzon et al., 2020). سان‌همپ یک گیاه غیربومی در کشور ایران است که در سال‌های اخیر به عنوان یک گیاه پوششی مناسب به منظور کنترل علف‌های-هرز، بهبود عملکرد محصولاتی کشاورزی از جمله کلم قمری (*Brassica oleracea* var. *Gongylodes*) و کاهوی آیسبرگ (*Lactuca sativa* var. *Ice berg*) مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Ahmadnia et al., 2021; Gudarzi et al., 2021) و سازگاری بالایی به شرایط اقلیمی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری داشته اما تحمل کم تا متوسطی به خاک‌های شور دارد (Sheahan et al., 2012). گزارش شده است اثر نمک سدیم کلراید بر جوانه‌زنی بذر سان‌همپ بیشتر از نمک پتاسیم کلراید است؛ به طوری که افزایش شدت تنش شوری منجر به کاهش و عدم جوانه‌زنی بذر سان‌همپ می‌شود (Nunes et al., 2009). در بررسی دیگر توقف کامل جوانه‌زنی بذر سان‌همپ در غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نمک سدیم کلراید گزارش شده است (Demiroglu Topçu et al., 2024). مطالعات بسیاری در زمینه بهبود شرایط جوانه‌زنی بذرهای گیاهان در شرایط نامطلوب شوری صورت گرفته است؛ با این حال مشکلات ناشی از تنش شوری همچنان باعث کاهش سطح تولید محصولات کشاورزی و کاهش بازده اقتصادی در تولید می‌شود. از سوی دیگر بخش عظیمی از زمین‌های زراعی ایران در مناطق خشک و نیمه خشک قرار دارند و تنش‌های محیطی بسیاری از جمله شوری بر رشد و نمو و تولید محصول تأثیرگذارند. گسترش افق‌های حفظ امنیت غذایی در سال‌های آتی، باعث توجه به تولید و تکثیر گیاهان جدید از جمله سان‌همپ (*Crotalaria juncea*) در شرایط تنش‌های محیطی می‌گردد. با توجه به تحقیقات انجام یافته پیشین مبنی بر تقلیل اثر تنش شوری با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در گیاهان مختلف، مطالعه حاضر با فرضیه اثر مثبت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی بذر سان‌همپ در شرایط تنش شوری اجرا شد. اهداف کلی این پژوهش تعیین آستانه تحمل بذر سان‌همپ در برابر تنش شوری و بررسی میزان بهبود جوانه‌زنی بذر سان‌همپ در اثر پرایمینگ با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و بررسی برخی از فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهچه آن بود.

^۱Van't Hoff

شدند. آزمون زیست‌سنجی با استفاده از ۲۰ عدد بذر سان-همپ در هر تکرار انجام شد. بذرها بر روی کاغذ صافی در پتری‌دیش‌هایی به قطر نه سانتی‌متر قرار داده شدند. پتری-دیش‌ها در پاکت‌های پلاستیکی شفاف به ژرمیناتور مدل GROUC. GC.400 (IRAN) به منظور جوانه‌زنی منتقل شدند. شمارش بذرها به صورت روزانه با احتساب خروج ریشه‌چه به طول دو میلی‌متر در ساعت معین به مدت ۱۴ روز انجام شد (Nunes et al., 2009; Perry, 1991). طول ساقه‌چه، ریشه‌چه و وزن تر و خشک گیاهچه پس از اتمام دوره جوانه‌زنی با استفاده از خط‌کش و تراوزی با دقت ۰/۰۰۰۱ مدل Satorius (SECURA124-1A, Germany) اندازه‌گیری شدند.

به وسیله تراوزی با دقت ۰/۰۰۰۱ مدل Satorius (SECURA124-1A, Germany) در حجم مشخص از آب مقطر (یک لیتر) تحت تأثیر امواج التراسوند با استفاده از دستگاه التراسونیک مدل Bandelin DT 255 H همگن شدند. بذر سان‌همپ (*Crotalaria Juncea*) با نام تجاری Global Sunn brand Sunn hemp از ایالات متحده آمریکا، دانشگاه ماساچوست، امهرست تهیه شد (شکل ۱-ب). بذرها پس از استریلیزه شدن سطحی توسط هیپوکلریت سدیم یک درصد و شست‌شو با آب مقطر، به مدت شش ساعت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم قرار گرفتند. پس از اعمال پرایمینگ، بذرها به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط 21 ± 2 خشک



شکل ۱- نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) سنتز شده (الف) و بذر سان‌همپ (*Crotalaria juncea*) (ب) - Ahmadnia et al., 2023

Figure 1. Synthesized titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles (a) and sunn hemp seed (*Crotalaria juncea*) (b)-Ahmadnia et al., 2023

$$MGT = \frac{\sum(nd)}{\sum n} \quad \text{رابطه (۴)}$$

در این رابطه MGT بیانگر میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی، d بیانگر تعداد روزهای شمارش از زمان شروع آزمایش و n تعداد بذر جوانه‌زده در روز d می‌باشد.

ضریب سرعت جوانه‌زنی^۴: ضریب سرعت جوانه‌زنی بذر با استفاده از رابطه (۵) محاسبه شد (Scott et al., 1984).

$$CVG = \frac{G_1 + G_2 + \dots + G_n}{(1 \times G_1) + (2 \times G_2) + \dots + (n \times G_n)} \quad \text{رابطه (۵)}$$

در این رابطه CVG بیانگر ضریب سرعت جوانه‌زنی و $G_1 - G_n$ بیانگر تعداد بذر جوانه‌زده از روز اول تا انتهای آزمون زیست‌سنجی می‌باشد.

شاخص جوانه‌زنی بذر^۵: شاخص جوانه‌زنی بذر با استفاده از رابطه (۶) محاسبه شد (Tekrony and Egli, 1991).

درصد جوانه‌زنی^۱: درصد جوانه‌زنی بذر با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد (Scott et al., 1984).

$$GP = \frac{S}{T} \times 100 \quad \text{رابطه (۲)}$$

در این رابطه GP بیانگر درصد جوانه‌زنی، S بیانگر تعداد بذرهای جوانه‌زده و T بیانگر تعداد کل بذرهای نمونه آزمایشی می‌باشد.

سرعت جوانه‌زنی بذر^۲: سرعت جوانه‌زنی بذر با استفاده از رابطه (۳) محاسبه شد (Maguire, 1962).

$$GR = \frac{\text{Number of normal seedlings}}{\text{Days to final count}} + \dots \frac{\text{Number of normal seedlings}}{\text{Days to final count}}$$

میانگین زمان جوانه‌زنی^۳: میانگین زمان جوانه‌زنی با استفاده از رابطه (۴) محاسبه شد (Ellis, 1992).

^۴Coefficient of velocity of germination (CVG)

^۵Germination index (GI)

^۱Germination percentage (GP)

^۲Germination rate (GR)

^۳Mean germination time (MGT)

سانتی‌گراد نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل شد. نمونه‌ها مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. میزان تغییرات جذب پراکسیداسیون لیپیدی در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر مدل UV 2100 ساخت امریکا قرائت شد (Stewart and Bewley, 1980).

محتوی پرولین: سنجش محتوی پرولین با استفاده از روش بیتز و همکاران (Bates *et al.*, 1973) انجام شد. براساس این روش یک گرم بافت تازه گیاهی در ۱۰ میلی-لیتر سولفوسالسیلیک اسید سه درصد ساییده شده و با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. به میزان دو میلی-لیتر از عصاره حاصل، دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین که ۱/۲۵ گرم پودر نین‌هیدرین را در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال حل نموده و سپس دو میلی‌لیتر اسید فسفریک شش مولار و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص به آن اضافه شد. لوله‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار داده شد و سپس چهار میلی‌لیتر تولوئن به هر یک از لوله‌ها اضافه و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه توسط دستگاه ورتکس مخلوط شدند. فاز رنگی بالایی با دقت جدا و تغییرات جذب آن‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل UV 2100 ساخت امریکا در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. غلظت پرولین براساس میلی‌گرم بر گرم وزن تازه گیاهی با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده با پرولین تعیین شد.

تجزیه آماری: تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم-افزار آماری SAS^{9.4}، مقایسه میانگین‌ها با LSD %5 و ترسیم شکل‌ها با استفاده از Excell²⁰¹⁹ انجام شد. نتایج طیف‌سنجی تبدیل فوریه فرورسرخ با نرم‌افزار Origin²⁰²² رسم شد.

نتایج

طیف‌سنجی تبدیل فوریه فرورسرخ: تجزیه طیف‌سنجی تبدیل فوریه فرورسرخ (FTIR) یک روش مؤثر برای شناسایی نوع پیوندها و ترکیبات شیمیایی موجود در نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌باشد. نتایج طیف‌سنجی تبدیل فوریه فرورسرخ حاصل از سنتز نانوذرات دی‌اکسید

$$GI = \sum \frac{Ni}{Ti} \quad \text{رابطه (۶)}$$

در این رابطه GI بیانگر شاخص جوانه‌زنی بذر، Ni بیانگر تعداد کل بذرهای جوانه زده و Ti بیانگر تعداد روزها پس از شروع جوانه‌زنی می‌باشد.

شاخص وزنی بنیه گیاهچه^۱: شاخص وزنی بنیه گیاهچه با استفاده از رابطه (۷) محاسبه شد (Abdul-Baki and Anderson, 1973).

$$SVI = GP \times SD \quad \text{رابطه (۷)}$$

در این رابطه SVI بیانگر شاخص وزنی بنیه گیاهچه، GP بیانگر درصد جوانه‌زنی و SD بیانگر وزن خشک گیاهچه می‌باشد.

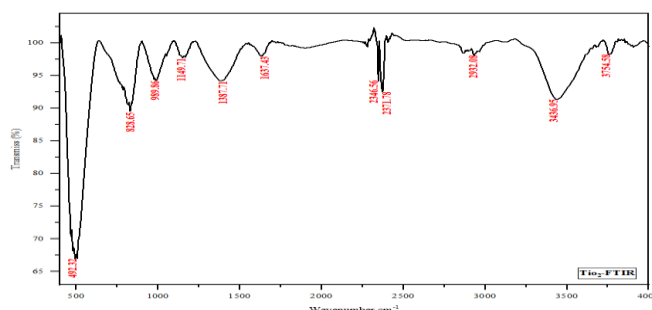
فعالیت آنزیم کاتالاز: به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز ۰/۲ گرم بافت تازه از گیاهچه حاصل از بذرهای جوانه‌زده در مجاورت نیتروژن مایع پودر شده و با یک میلی‌لیتر بافر تریس-کلریدریک ۰/۵۰ مولار با اسیدیته ۷/۵ هموزن گردید. همگنای حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول شفاف رویی برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. سپس ۲/۵ میلی-لیتر بافر تریس (۵۰ میلی‌مولار، اسیدیته هفت) و ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه (پنج میلی‌مولار) تهیه شده و ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حمام یخ به آن اضافه شد. میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. برای نمونه شاهد از بافر تریس-کلریدریک ۰/۵۰ مولار استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز براساس تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل UV 2100 ساخت امریکا محاسبه شد (Sudhakar *et al.*, 2001).

میزان پراکسیداسیون لیپیدی: به منظور سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی در حدود ۰/۵ گرم از گیاهچه سان-همپ در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک اسید همگن و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. دو میلی‌لیتر از محلول روشن‌آور حاصل با چهار میلی‌لیتر از محلول ۲۰ درصد تری‌کلرواستیک اسید محتوی ۰/۵ درصد تیوباربی‌توریک اسید مخلوط شد. کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه

^۱ -Seedling vigor index (SVI)

۱۶۲۳/۵۰ به آب جذب شده در سطح TiO_2 نسبت داده می‌شود (Antic *et al.*, 2012). همچنین این نتایج با مشاهدات پیشین مطابقت دارد (Chougala *et al.*, 2017).

تیتانیوم نشان داد که حالت خمشی Ti-O و حالت کششی Ti-OH به ترتیب در $492/32 \text{ cm}^{-1}$ و $1637/43 \text{ cm}^{-1}$ ثبت شد (شکل ۲). همچنین ارتعاشات کششی نامتقارن و متقارن گروه هیدروکسیل ($-\text{OH}$) در محدوده cm^{-1} ۳۴۳۶/۹۵ مشاهده شد (شکل ۲). نوارها در محدوده cm^{-1}



شکل ۲- نتایج تجزیه طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2)
Figure 2. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis results of titanium dioxide nanoparticles (TiO_2)

از عدم پرایمینگ به دست آمد (جدول ۳). پرایمینگ بذری با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی-مولار در مقایسه با عدم پرایمینگ سبب افزایش به ترتیب ۱۱/۵۸ و ۲۵/۴۰ درصدی طول ریشه‌چه شد (جدول ۳). همچنین تشدید تنش اسمزی طول ریشه‌چه را کاهش داد، به طوری که در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴، -۰/۸، و -۱/۲ مگاپاسگال طول ریشه‌چه (به ترتیب ۲/۲۳، ۰/۸۰ و ۰/۶۱ سانتیمتر) بود (جدول ۳). تنش شوری در سطوح ۰/۴، -۰/۸ و -۱/۲ مگاپاسگال در مقایسه با عدم تنش شوری باعث کاهش به ترتیب ۶۸/۰۰، ۸۸/۵۲ و ۹۱/۲۴ درصدی طول ریشه‌چه گردید (جدول ۳). بیشترین طول ساقه‌چه (۵/۹۵ سانتیمتر) در اثر پرایمینگ با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت یک میلی‌مولار و کمترین طول ساقه‌چه (۴/۴۷ سانتیمتر) از عدم پرایمینگ حاصل شد (جدول ۳). افزایش غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب افزایش طول ساقه‌چه شد؛ به طوری که در غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مقایسه با عدم پرایمینگ به ترتیب ۱۲/۲۶ و ۲۴/۸۷ درصد طول ساقه‌چه افزایش یافت (جدول ۳). همچنین تشدید تنش شوری سبب کاهش طول ساقه‌چه شد، به طوری که در سطوح ۰/۴، -۰/۸ و -۱/۲ مگاپاسگال در مقایسه با عدم تنش شوری به ترتیب ۴۶/۹۲، ۸۲/۵۹ و ۸۹/۸۷ درصدی کاهش طول ساقه‌چه ثبت شد (جدول ۳).

آزمون‌های زیست‌سنجی: نتایج نشان داد که جوانه‌زنی بذری سان‌همپ تحت تأثیر پرایمینگ بذری با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش شوری قرار گرفت (جدول ۱). همچنین نتایج نشان داد که اثر متقابل پرایمینگ بذری با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و سطوح تنش شوری بر سرعت جوانه‌زنی بذری، میانگین زمان جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی بذری، شاخص جوانه‌زنی بذری، وزن خشک گیاهچه، شاخص وزنی بنیه گیاهچه و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲).

درصد جوانه‌زنی بذری: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اثر اصلی پرایمینگ بذری با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های صفر، ۰/۵ و یک میلی‌مولار از نظر درصد جوانه‌زنی تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند (جدول ۳). تنش شوری اثر قابل توجهی بر درصد جوانه‌زنی بذری داشت، به طوری که با تشدید تنش اسمزی، درصد جوانه‌زنی بذری سان‌همپ کاهش یافت. درصد جوانه‌زنی بذری در اثر سطوح تنش شوری صفر، ۰/۴، -۰/۸ و -۱/۲ مگاپاسگال به ترتیب ۱۰۰/۰۰، ۸۹/۴۴، ۷۱/۱۱ و ۴۸/۸۸ درصد ثبت شد (جدول ۳). این نتایج نشان‌دهنده کاهش ۱۰/۵۶، ۲۰/۴۹ و ۳۱/۲۶ درصدی جوانه‌زنی بذری در پتانسیل‌های ۰/۴، -۰/۸ و -۱/۲ مگاپاسگال در مقایسه با عدم تنش شوری بود (جدول ۳).
طول ریشه‌چه و ساقه‌چه: بیشترین طول ریشه‌چه بذری (۳/۰۷ سانتیمتر) از غلظت یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و کمترین طول ریشه‌چه (۲/۲۹ سانتیمتر)

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی بذر سان‌همپ

Table 1. Analysis of variance of the effect of seed priming with titanium dioxide nanoparticles of Sunn hemp seed germination

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	ضریب سرعت جوانه‌زنی Coefficient of velocity of germination	شاخص جوانه‌زنی Germination index
پرایمینگ بذر Seed priming (Sp)	2	171.52*	24.98**	0.38**	171.96**	24.98**
تنش شوری Salinity stress (Ss)	3	4524.76**	201.41**	3.49**	1179.02**	201.41**
تنش شوری × پرایمینگ بذر (Ss) × (Sp)	6	28.93 ^{ns}	4.44**	0.12**	57.93**	4.44**
خطای آزمایشی Error	24	38.88	0.52	0.01	9.63	0.52
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	8.06	7.94	5.89	6.64	7.94

***، ** و * به ترتیب معنی‌داری در ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌داری می‌باشد.

***, **, and ns are significant at 1% and 5% and non-significant, respectively.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر مؤلفه‌های رشدی و فعالیت‌های فیزیولوژیکی

Table 2. Analysis of variance of growth components and physiological activity as affected by seed priming with titanium dioxide nanoparticles

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	طول ریشه‌چه Radicle length	طول ساقچه Plumule length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity	پراکسیداسیون لیپیدی Lipid peroxidation	محتوی پرولین Proline content
پرایمینگ بذر Seed priming (Sp)	2	1.87**	6.60**	833.03**	108.657**	0.00194**	24.696**
تنش شوری Salinity stress (Ss)	3	79.16**	202.82**	1188.40**	494.469**	0.00149**	23.232**
تنش شوری × پرایمینگ بذر (Ss) × (Sp)	6	0.12 ^{ns}	0.32 ^{ns}	11.68**	10.912**	0.000124**	0.911**
خطای آزمایشی Error	24	0.08	0.18	2.79	0.0994	0.0000106	0.0010
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	10.95	8.27	4.23	0.57	5.44	0.35

***، ** و * به ترتیب معنی‌داری در ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌داری می‌باشد.

***, **, and ns are significant at 1% and 5% and non-significant, respectively.

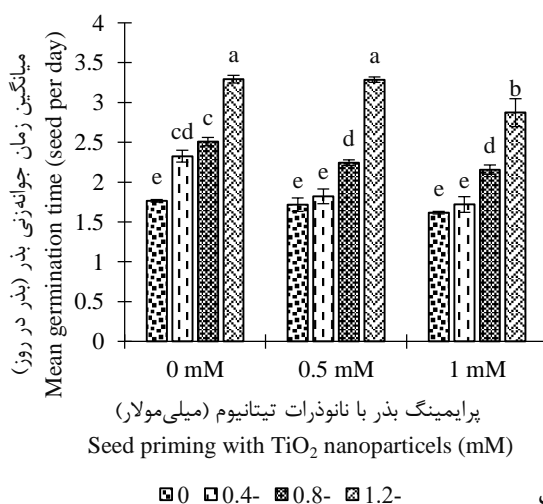
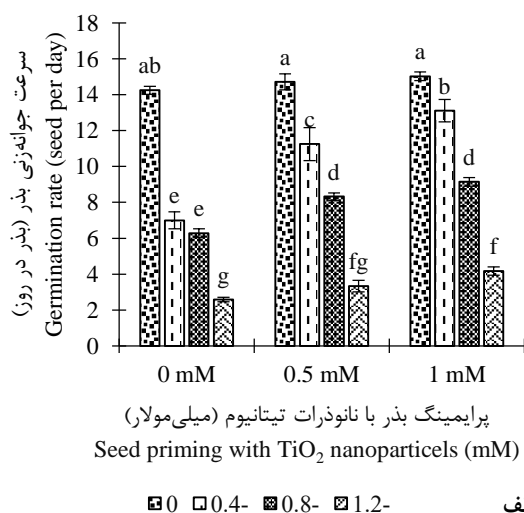
جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین اثرات پرایمینگ با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر برخی ویژگی های جوانه زنی بذر سان همپ (*Crotalaria juncea*) در تنش شوری

Table 3. Mean comparison of some germination characteristics of Sunn hemp (*Crotalaria juncea*) seeds as affected by priming with titanium dioxide nanoparticles under salinity stress

تیمارها Treatments	غلظت ها Concentrations	میانگین مربعات Mean of squares		
		درصد جوانه زنی Germination percentage	طول ریشه چه (سانتیمتر) Radicle length (cm)	طول ساقه چه (سانتیمتر) Plumule length (cm)
پرایمینگ بذر (میلی مولار) Seed priming (mM)	0	73.33 _b	2.29 _c	4.47 _c
	0.5	77.91 _{ab}	2.59 _b	5.22 _b
	1	80.83 _a	3.07 _a	5.95 _a
LSD _{5%}	-	5.52	0.24	0.36
تنش شوری (مگاپاسگال) Salinity stress (MPa)	0	100.00 _a	6.97 _a	11.55 _a
	-0.4	89.44 _b	2.23 _b	6.13 _b
	-0.8	71.11 _c	0.80 _c	2.01 _c
	-1.2	48.88 _d	0.61 _c	1.17 _d
LSD _{5%}	-	6.06	0.28	0.42

دی اکسید تیتانیوم سبب جلوگیری از کاهش سرعت جوانه زنی بذر گردید (شکل ۳-الف). مقایسه پرایمینگ بذر با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با عدم پرایمینگ بذر در سطوح مختلف تنش شوری نشان داد که کاربرد ۰/۵ میلی مولار (به ترتیب ۳۷/۷۷، ۲۴/۵۶ و ۲۲/۵۰ درصد) و یک میلی مولار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (به ترتیب ۴۶/۶۱، ۳۱/۳۴ و ۳۸/۰۸ درصد) در پتانسیل های اسمزی ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲- مگاپاسگال سبب افزایش سرعت جوانه زنی بذر می شود (شکل ۳-الف).

سرعت جوانه زنی بذر: نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که بیشترین سرعت جوانه زنی بذر از عدم تنش شوری × غلظت صفر، ۰/۵ و یک میلی مولار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (به ترتیب ۱۴/۲۵، ۱۴/۷۲ و ۱۵/۰۲ بذر در روز) و پتانسیل اسمزی ۰/۴- مگاپاسگال × پرایمینگ با یک میلی-مولار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۱۳/۱۱ بذر در روز) به دست آمد (شکل ۳-الف). تشدید شوری باعث کاهش سرعت جوانه زنی بذر شد، با این حال استفاده از نانوذرات



شکل ۳- اثر متقابل پرایمینگ بذر با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و تنش شوری بر سرعت جوانه زنی (الف) و میانگین زمان جوانه زنی (ب) بذر سان همپ (*Crotalaria juncea*)

Figure 3. The interaction effects of seed priming with titanium dioxide nanoparticles and salinity stress on germination rate (a) and mean germination time (b) of sunn hemp (*Crotalaria juncea*) seeds

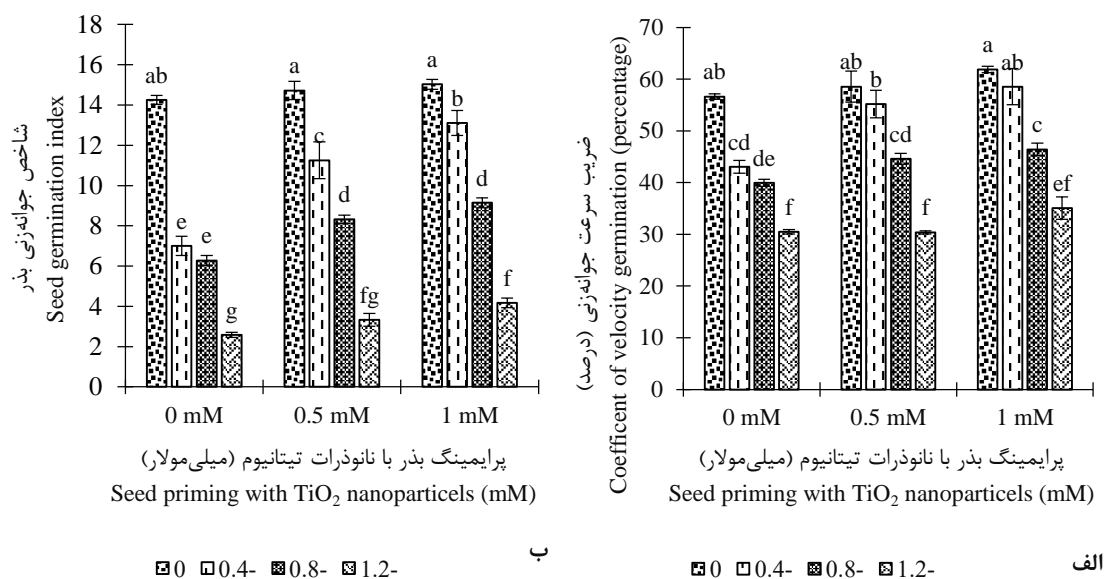
میانگین زمان جوانه‌زنی بذر: بیشترین میانگین زمان جوانه‌زنی بذر (به ترتیب ۳/۲۹، ۳/۲۸ بذر در روز) به ترتیب از پتانسیل اسمزی ۱/۲- مگاپاسگال × عدم پرایمینگ و پرایمینگ با ۰/۵ میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به- دست آمد (شکل ۳-ب). نتایج بیانگر آن بود که تشدید شوری باعث افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی بذر گردید، به طوری که در عدم پرایمینگ بذر میانگین زمان جوانه‌زنی در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال به- ترتیب ۲/۳۲، ۲/۵۰ و ۳/۲۹ بذر در روز ثبت شد (شکل ۳-ب). این در حالی است که استفاده از غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی بذر شد (شکل ۳-ب). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال سبب کاهش به ترتیب ۲۱/۶۶، ۱۰/۵۳، ۰/۲۰، ۲۶/۰۳، ۱۳/۹۹ و ۱۲/۷۴ درصدی میانگین زمان جوانه‌زنی بذر شد (شکل ۳-ب).

ضریب سرعت جوانه‌زنی: بیشترین ضریب سرعت جوانه‌زنی بذر سان‌همپ بدون اختلاف آماری معنی‌داری از برهمکنش عدم پرایمینگ × عدم تنش شوری (۵۸/۶۱ درصد) و پرایمینگ با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار × عدم تنش شوری به- ترتیب ۵۸/۵۴ و ۵۵/۱۶ درصد و پتانسیل اسمزی ۰/۴- مگاپاسگال به ترتیب ۶۱/۸۶ و ۵۸/۵۳ درصد به دست آمد (شکل ۴-الف). نتایج نشان داد که علیرغم کاهش ضریب سرعت جوانه‌زنی بذر با تشدید شوری، استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش ضریب سرعت جوانه‌زنی می‌شود (شکل ۴-الف). همچنین نتایج نشان داد که استفاده از ۰/۵ میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال ضریب سرعت جوانه‌زنی بذر را (به ترتیب ۲۱/۹۴، ۱۰/۴۰ و ۰/۴۱ درصد) افزایش داد (شکل ۴-الف). پرایمینگ بذر با یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مقایسه با عدم پرایمینگ در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال سبب افزایش ۵/۷۶، ۳/۹۶ و ۱۳/۴۵ درصدی ضریب سرعت جوانه‌زنی بذر شد (شکل ۴-الف).

شاخص جوانه‌زنی بذر: بیشترین شاخص جوانه‌زنی بذر سان‌همپ از برهمکنش عدم پرایمینگ بذر × عدم تنش

شوری (۱۴/۲۵)، پرایمینگ با ۰/۵ میلی‌مولار نانوذرات دی-اکسید تیتانیوم × عدم تنش شوری (۱۴/۷۲) و پرایمینگ با یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم × عدم تنش شوری و پتانسیل اسمزی ۰/۴- مگاپاسگال (به ترتیب ۱۵/۰۲ و ۱۳/۱۱) حاصل شد (شکل ۴-ب). همچنین نتایج نشان داد که کمترین شاخص جوانه‌زنی بذر از عدم پرایمینگ و پرایمینگ با ۰/۵ و یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در پتانسیل اسمزی ۱/۲- مگاپاسگال به- ترتیب ۲/۵۸، ۳/۳۳ و ۴/۱۷ به دست آمد (شکل ۴-ب). شاخص جوانه‌زنی بذر با تشدید شوری مانند بسیاری از صفات مورد بررسی کاهش یافت. با این حال استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مانع از افت قابل توجه شاخص جوانه‌زنی بذر شد، به طوری که با استفاده از ۰/۵ میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴- و ۰/۸- مگاپاسگال، شاخص جوانه‌زنی بذر در مقایسه با عدم پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به ترتیب ۳۷/۷۷ و ۲۲/۵۶ درصد افزایش یافت (شکل ۴-ب). همچنین استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به میزان یک میلی‌مولار باعث افزایش ۴۶/۶۱ و ۳۱/۳۴ درصدی شاخص جوانه‌زنی بذر در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴- و ۰/۸- مگاپاسگال شد (شکل ۴-ب).

وزن خشک گیاهچه: نتایج نشان داد که بیشترین وزن خشک گیاهچه (۵۸/۸۸ میلی‌گرم) از برهمکنش پرایمینگ با یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم × عدم تنش شوری حاصل شد (شکل ۵-الف). پرایمینگ بذر با ۰/۵ و یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مقایسه با عدم پرایمینگ در شرایط عدم تنش شوری، موجب افزایش به ترتیب ۱۴/۷۱ و ۲۳/۱۸ درصدی وزن خشک گیاهچه شد (شکل ۵-الف). نتایج نشان داد که تشدید شوری ناشی از نمک سدیم کلراید، وزن خشک گیاهچه سان‌همپ را کاهش داد؛ به طوری که در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال به ترتیب ۳۲/۵۳، ۲۶/۳۳ و ۱۶/۴۶ میلی‌گرم وزن خشک گیاهچه ثبت شد (شکل ۵-الف). این در حالی است که پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار (به ترتیب ۳۱/۱۳، ۳۳/۰۷ و ۴۳/۷۰ درصدی) و در غلظت یک میلی‌مولار (۳۸/۶۸، ۳۶/۴۲ و ۴۷/۰۹ درصدی) باعث بهبود وزن خشک گیاهچه سان‌همپ و مقاومت آن در برابر پتانسیل‌های اسمزی بالا شد (شکل ۵-الف).

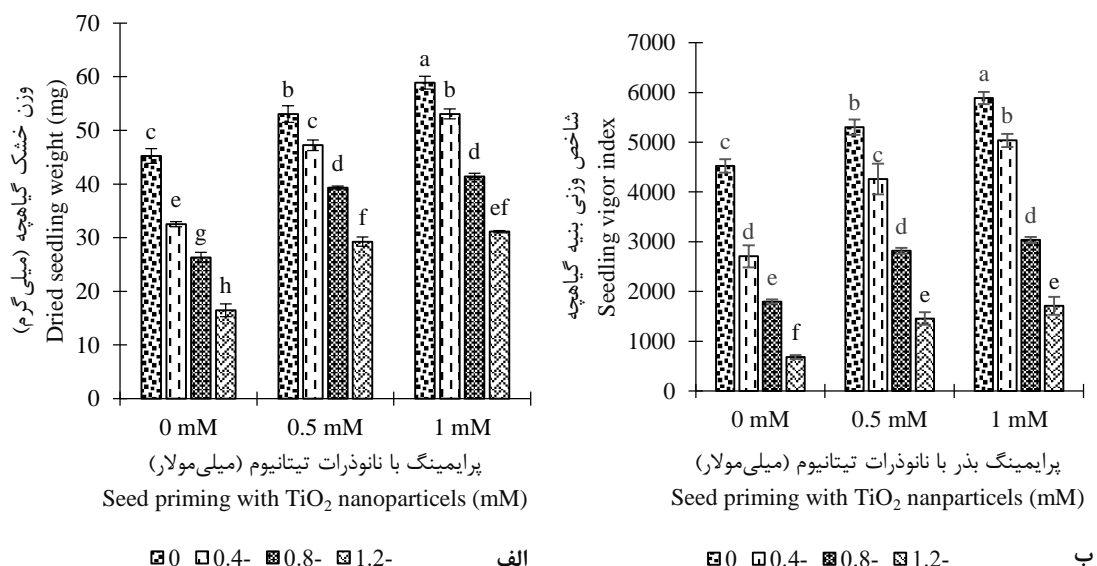


شکل ۴- اثر متقابل پرایمینگ بذری با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر ضریب سرعت جوانه زنی (الف) و شاخص جوانه زنی (ب) بذری سان همپ (*Crotalaria juncea*) در شرایط تنش شوری

Figure 4. The interaction effect of seed priming with titanium dioxide nanoparticles on the coefficient of germination velocity (a) and germination index (b) of sunn hemp (*Crotalaria juncea*) seeds under salinity stress

گردید، به طوری که در شرایط عدم تنش شوری، غلظت های ۰/۵ و یک میلی مولار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در مقایسه با عدم پرایمینگ بذری شاخص وزنی بنیه گیاهچه را ۲۳/۱۸ و ۱۴/۷۱ درصد افزایش داد (شکل ۵-ب). همچنین نتایج نشان داد که شاخص وزنی بنیه گیاهچه که تابعی از

شاخص وزنی بنیه گیاهچه: بیشترین شاخص وزنی بنیه گیاهچه (۵۸۸۸/۶۷) در برهمکنش پرایمینگ بذری با یک میلی مولار × عدم تنش شوری ثبت شد (شکل ۵-ب). نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش شاخص وزنی بنیه گیاهچه



شکل ۵- تأثیر پرایمینگ بذری با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و سطوح تنش شوری بر وزن خشک گیاهچه (الف) و شاخص وزنی بنیه گیاهچه (ب) سان همپ (*Crotalaria juncea*)

Figure 5. The effect of seed priming with titanium dioxide nanoparticles on the seedling dry weight (a) and seedling vigor index (b) of Sunn hemp (*Crotalaria juncea*) seeds under salinity stress

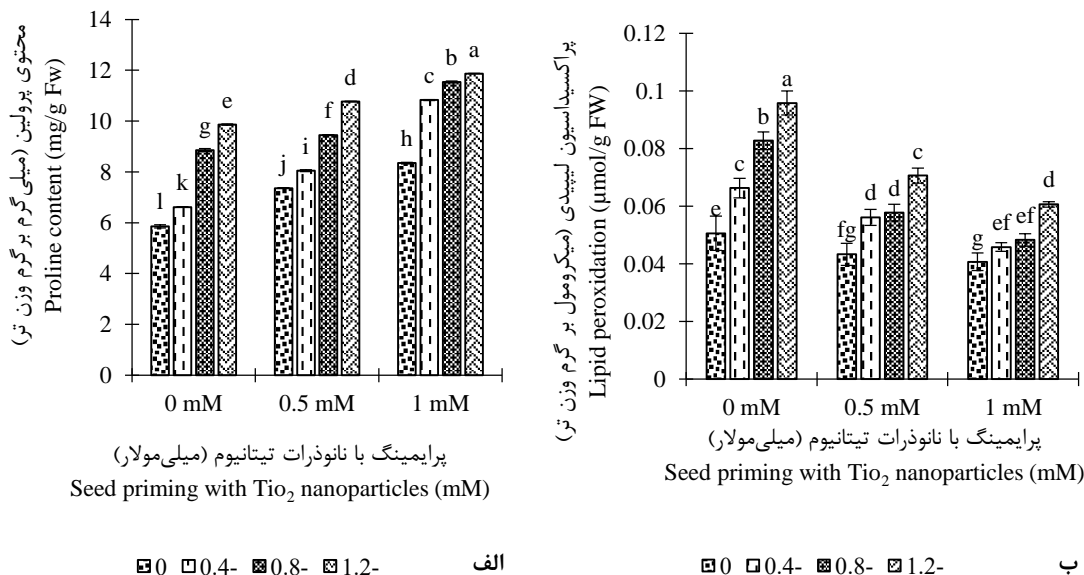
ثبت شد (شکل ۶-الف). پرایمینگ بذر با نانوذرات دی-اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار باعث تعدیل تنش شوری و افزایش محتوی پرولین شد. نتایج نشان داد که در عدم تنش شوری، نانوپرایمینگ بذر با دی-اکسید تیتانیوم در غلظت ۰/۵ و یک میلی‌مولار در مقایسه با عدم پرایمینگ سبب افزایش ۲۰/۴۶ و ۲۹/۸۵ درصدی محتوی پرولین می‌شوند (شکل ۶-الف). مقایسه سطوح تنش شوری در عدم پرایمینگ و پرایمینگ با نانوذرات دی-اکسید تیتانیوم نشان‌دهنده افزایش ۳۸/۸۹، ۲۳/۲۰ و ۱۶/۸۹ درصد محتوی پرولین در یک میلی‌مولار و ۱۷/۸۱، ۶/۲۶ و ۸/۴۰ درصد در ۰/۵ میلی‌مولار بود (شکل ۶-الف).

پراکسیداسیون لیپیدی: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان پراکسیداسیون لیپیدی از تنش شوری حاصل از پتانسیل اسمزی ۱/۲- مگاپاسگال × عدم پرایمینگ به‌دست آمد (شکل ۶-ب). پرایمینگ با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در شرایط عدم تنش سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی شد، این کاهش در غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار برابر با ۲۳/۶۸ و ۱۴/۴۲ درصد بود (شکل ۶-ب). تشدید تنش شوری سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهچه سان‌همپ شد؛ به‌طوری‌که در پتانسیل-های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال، افزایش ۲۳/۶۸، ۳۸/۸۱ و ۴۷/۱۸ درصد پراکسیداسیون لیپیدی

درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه است؛ مانند این صفات با تشدید شوری، افت قابل توجهی یافت. شاخص وزنی بنیه گیاهچه در سطوح ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال تنش شوری برابر با ۴۵۲۳/۳۳، ۲۷۰۷/۵۰ و ۱۷۹۷/۰۰ بود (شکل ۵-ب). این در حالی است که پرایمینگ بذر با غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌ترتیب ۳۶/۴۲، ۳۶/۲۶، ۵۳/۰۸، ۴۶/۲۵، ۴۰/۸۲ و ۶۰/۰۶ درصدی شاخص وزنی بنیه گیاهچه در پتانسیل-های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال در مقایسه با عدم پرایمینگ بذر افزایش دادند (شکل ۵-ب).

فرایندهای فیزیولوژیکی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش شوری بر محتوی پرولین، پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۲).

محتوی پرولین: بیشترین میزان پرولین (۱۱/۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه گیاهچه) در اثر پرایمینگ بذر با یک میلی-مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در پتانسیل اسمزی ۱/۲- مگاپاسگال به‌دست آمد (شکل ۶-الف). تنش شوری محتوی پرولین را افزایش داد، به‌طوری‌که در پتانسیل‌های اسمزی ۱/۲-، ۰/۸- و ۰/۴- در مقایسه با عدم تنش شوری افزایش ۴۰/۶۴، ۳۳/۹۱ و ۱۱/۵۱ درصدی محتوی پرولین



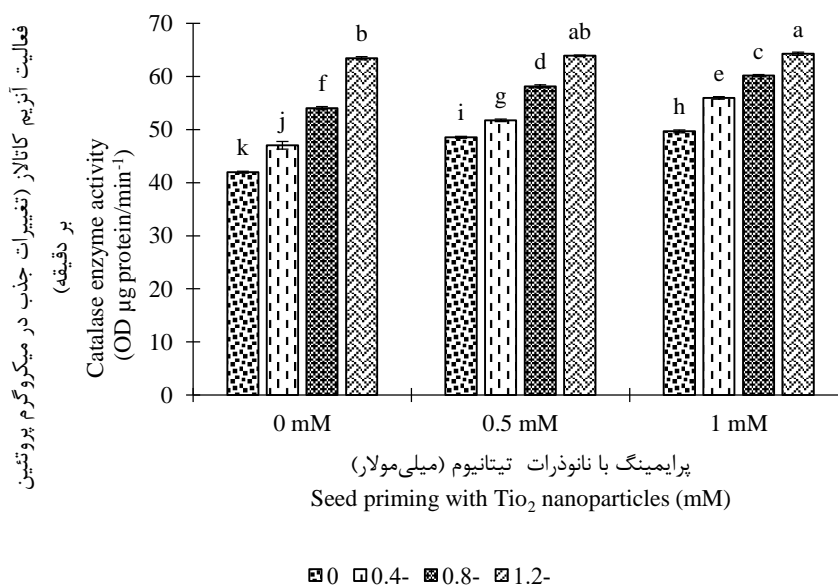
شکل ۶- برهمکنش پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش شوری بر محتوی پرولین (الف) و پراکسیداسیون لیپیدی (ب)

Figure 6. Interaction of seed priming with titanium dioxide nanoparticles and salinity stress on proline content (a) and lipid peroxidation (b)

پروتئین بر دقیقه) از پتانسیل اسمزی ۱/۲- مگاپاسگال در عدم پرایمینگ و پرایمینگ با غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی-مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم حاصل شد (شکل ۷). تشدید تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه سان‌همپ شد. نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم کاتالاز در سطوح ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال در مقایسه با عدم تنش شوری ۱۰/۷۴، ۲۲/۳۱ و ۳۳/۸۱ درصد افزایش یافت. پرایمینگ با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در عدم تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد؛ که این افزایش در غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار نانوذرات دی-اکسید تیتانیوم به ترتیب ۱۳/۵۶ و ۱۵/۴۹ درصد ثبت شد (شکل ۷). پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت یک میلی‌مولار در مقایسه با عدم پرایمینگ در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال سبب افزایش ۱۵/۹۲، ۱۰/۱۸ و ۱/۳۵ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز شد (شکل ۷).

ثبت شد (شکل ۶-ب). پرایمینگ با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار سبب تعدیل اثرات تنش شوری و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهچه سان‌همپ شد؛ به طوری که کاربرد ۰/۵ میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب کاهش ۱۵/۳۸، ۳۰/۱۰ و ۲۶/۳۰ درصدی پراکسیداسیون لیپیدی در مقایسه با عدم پرایمینگ به ترتیب در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال شد (شکل ۶-ب). همچنین نتایج پرایمینگ با یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نشان داد که در مقایسه با عدم پرایمینگ، در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال پراکسیداسیون لیپیدی را ۳۰/۹۲، ۴۱/۵۹ و ۳۶/۷۴ درصد کاهش داد (شکل ۶-ب).

فعالیت آنزیم کاتالاز: بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز ۶۴/۲۹، ۶۳/۹۰ و ۶۳/۴۲ تغییرات جذب در میکروگرم



شکل ۷- تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در شرایط تنش شوری
Figure 7. Catalase enzyme activity as affected by seed priming with titanium dioxide nanoparticles under salinity stress

این مطالعه تنش شوری در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۴-، ۰/۸- و ۱/۲- مگاپاسگال درصد جوانه‌زنی بذر، طول ریشه-چه و طول ساقه‌چه را تحت تأثیر قرار داد. نتایج این آزمایش به وضوح نشان داد که تشدید تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذر سان‌همپ شد؛ به طوری که در پتانسیل اسمزی ۱/۲- مگاپاسگال (۴۹ درصد جوانه‌زنی

بحث

جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه از مراحل حیاتی استقرار گیاهان است. تنش شوری یکی از تنش‌های محیطی است که به دلیل ایجاد سمیت یونی و جلوگیری از جذب آب، جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Parida and Das, 2005; Shah et al., 2021).

بذر) کاهش تقریبی ۵۰ درصدی جوانه‌زنی بذر در مقایسه با عدم تنش شوری ثبت شد. این در حالی است که پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذر، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه شد. پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مقابل عدم پرایمینگ سبب بهبود جوانه‌زنی بذر، رشد طولی ریشه‌چه و ساقه‌چه گردید. بیشترین طول ساقه‌چه (۵/۹۵ سانتیمتر)، طول ریشه‌چه (۳/۰۷) و درصد جوانه‌زنی بذر (۸۰/۸۳ درصد) از غلظت یک میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم حاصل شد. نتایج این آزمایش در بررسی اثر تنش شوری بر بذر سان‌همپ با نتایج پژوهش نونس و همکاران (Nunes et al., 2009) مطابقت دارد. آن‌ها بیان کردند که تنش شوری با نمک سدیم کلراید باعث کاهش درصد جوانه‌زنی بذر سان‌همپ به دلیل ایجاد سمیت یونی می‌شود (Nunes et al., 2009). با توجه به این که جذب آب توسط بذر، اولین مرحله و خروج ریشه‌چه، مرحله نهایی جوانه‌زنی بذر محسوب می‌شود (Borna and Heidari, 2022) و از سوی دیگر میزان نمک و آب در محیط دو عامل تعیین‌کننده در شدت جذب مواد توسط بذر و ریشه گیاهان محسوب می‌گردند؛ تنش شوری می‌تواند از طریق ایجاد تغییر در توازن اسمزی، سمیت یونی و تنش اکسیداتیو بر جوانه‌زنی بذر تأثیرگذار باشد (Uçarli, 2020). تغییر در توازن اسمزی از طریق افزایش جذب یون سدیم و افزایش نسبت سدیم به پتاسیم ایجاد می‌گردد که در نهایت باعث سمیت یونی می‌شود. علاوه بر این عدم تعادل یونی می‌تواند بر جذب و انتقال سایر یون‌های ضروری و مهم به سلول هدف، تأثیرگذار باشد و فرآیندهای حیاتی مرتبط با رشد را مختل می‌کند (Arif et al., 2020). بنابراین می‌توان گفت که افزایش شدت تنش شوری باعث ایجاد اختلال در فرآیند جذب آب توسط بذر می‌شود. همچنین در مطالعات دیگر، کاهش میزان تنظیم‌کننده‌های رشد مانند جیبرلین و سایتوکینین، افزایش بازدارنده‌های رشد مانند ابسیزیک اسید، تغییر در نفوذپذیری غشاء و جذب آب در سلول‌های بذر ناشی از تنش شوری به عنوان عوامل مؤثر در کاهش یا توقف جوانه‌زنی بذر گزارش شده‌اند (Miransari and Smith, 2014). همچنین می‌توان گفت که تأثیر مثبت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی بذر می‌تواند ناشی از تسریع تکمیل فرآیندهای متابولیکی در مرحله پیش از جوانه‌زنی بذر در طول دوره پرایمینگ باشد (Farooq et al., 2017).

نتایج حاصل از بررسی فعالیت‌های فیزیولوژیک نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نشان داد که اثر مثبت پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در تنش شوری در مقایسه با عدم پرایمینگ باعث بهبود فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهچه سان‌همپ مانند محتوی پرولین، پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود. به‌طور کلی سه سازوکار اصلی برای توضیح اثر مثبت و منفی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم گزارش شده است که شامل (۱) اثر واسطه نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر سیگنال‌دهی رادیکال‌های فعال اکسیژن است که به فعالیت پرواکسیدانی و آنتی-اکسیدانی گیاه پذیرنده وابسته است؛ به‌طوری که جذب ترجیحی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در کلروپلاست گیاهان و جلبک‌ها می‌تواند بر سطوح رادیکال‌های فعال اکسیژن مؤثر باشد (Li et al., 2015; Mattiello et al., 2015)، (۲) سازوکار دوم وابسته به بهبود متابولیسم نیتروژن گیاهی است که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌توانند بر تبدیل نیتروژن اتمسفری به نیترات تحت تابش اشعه ماوراءبنفش یا نور خورشید و همچنین بر فعالیت آنزیم

تیتانیوم تأثیر فزاینده‌ای بر میزان پرولین داشت (Mazarie *et al.*, 2019). اگرچه گزارش شده است که پاسخ گیاهان به نانوذرات وابسته به نوع گونه، مرحله رشد، سن و ماهیت نانوذرات متفاوت است اما اثرات مثبت دی‌اکسید تیتانیوم بر افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو (Mingyu *et al.*, 2007)، افزایش جذب نیترات (Yang *et al.*, 2006)، افزایش فتوسنتز (Chao and Choi, 2005) و افزایش زیست توده (Nair *et al.*, 2010) گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان‌دهنده کاهش قابل توجه جوانه‌زنی و مؤلفه‌های وابسته به آن در سطوح مختلف تنش شوری بود. همچنین علیرغم تشدید تنش شوری، پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از طریق بهبود فرایندهای فیزیولوژیک توانست آستانه تحمل به تنش را در بذر سان-همپ افزایش دهد و موجب افزایش جوانه‌زنی و مؤلفه‌های وابسته به آن گردد. سان‌همپ یک گیاه مفید چندمنظوره و غیربومی در ایران است، نتایج این بررسی علاوه بر گزارش توان جوانه‌زنی بذر در تنش شوری ۱/۲- مگاپاسگال و بهبود جوانه‌زنی آن با کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت یک میلی‌مولار می‌تواند برای مطالعات مرتبط با سازگاری اکولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی دانشجویان (طرح پژوهشی نوع سه) مصوب ۱۴۰۲/۰۵/۳۰ در شورای پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی است. نویسندگان مقاله مراتب سپاسگزاری خود را از حمایت‌های مالی دانشگاه محقق اردبیلی، دوستان و همکارانی که در این طرح پژوهشی ما را یاری نمودند، اعلام می‌نمایند.

نیترات رداکتاز به عنوان آنزیم کلیدی در جذب نیتروژن مؤثر باشد (Yuan *et al.*, 2013)؛ (۳) سازوکار سوم مربوط به تغییرات اندازه و ویژگی‌های سطحی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم است که تعیین‌کننده میزان دسترسی گیاهان پذیرنده به آن را مشخص می‌کند (Zhang *et al.*, 2015). نتایج حاصل از بررسی فعالیت‌های فیزیولوژیکی در این آزمایش نشان داد که تشدید تنش شوری باعث افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و تولید محصولات نهایی مانند مالون دی‌آلدئید می‌شود (Tripathy and Oelmuller, 2012). افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی سبب فعال شدن سیستم سم‌زدایی مانند فعالیت آنزیم کاتالاز برای کنترل رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌شود (Mittler, 2002). نتایج نشان داد که پرایمینگ با غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با عدم پرایمینگ می‌گردد. افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند ناشی از کافی نبودن فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی برای کنترل رادیکال‌های فعال اکسیژن و یا ناهماهنگی بین زمان فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن باشد (Abdel Latef *et al.*, 2018). با این حال در مقایسه پرایمینگ بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مقابل عدم پرایمینگ، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب بهبود پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم کاتالاز شده‌اند. همچنین نتایج نشان داد که پرایمینگ با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثر مثبتی بر محتوی پرولین در گیاهچه سان‌همپ داشت. پرولین به عنوان یک آمینواسید محافظت‌کننده از تایلکونیدهای کلروپلاست و سیستم‌های غشایی می‌تواند از طریق تأثیر بر حلالیت پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلف از تغییر ماهیت آن‌ها جلوگیری کند (Mazarie *et al.*, 2019). برای مثال در پژوهشی گزارش شده است که محلولپاشی با نانوذرات

منابع

- Abdel latef, A.A.H., Srivastvs, A.K., Abd El-sadek, M.S., Kordrostami, M. and Phan Tran, L.S. 2018. Titanium dioxide nanoparticles improve growth and enhance tolerance of broad bean plants under saline soil conditions. *Land Degradation and Development*, 29: 1065-1073.
DOI: 10.1002/ldr.2780 (Journal)
- Abdul-Baki, 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> (Journal)

- Ahmadnia, F., Ebadi, A., Hashemi, M. and Nabati, L. 2021. Investigating the effectiveness of sunn hemp (*Crotalaria juncea*) and rye (*Secale cereal L.*) in weed suppression and yield of kohlrabi (*Brassica oleracea* var. Gongyloides). *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 31(2):43-56. DOI: 10.22034/SAPS.2021.13090 **(In Persian)(Journal)**
- Ahmadnia, F., Ebadi, A., Hashemi, M., Ghavidel, A. and Alebrahim, M.T. 2023. Investigating the effect of aqueous extracts of sunn hemp (*Crotalaria juncea*) and oats (*Avena sativa L.*) on the germination of wild mustard weed (*Sinapis arvensis*). *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 10(2): 1-19. DOI: 10.22124/jms.2023.7605 **(In Persian)(Journal)**
- Amooaghaie, R., Majidi, M. and Farhadian, S. 2021. Impact of nano -TiO₂ on salt stress tolerance of *Carum copticum*. *Journal of Plant Process and Function Iranian Society of Plant Physiology*, 11(48): 19-33. <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1560-fa.html> **(In Persian)(Journal)**
- Antic, Z., Krsmanovic, R.M., Nikolic, M.G., Marinovic-Cincovic, M., Mitric, M., Polizzi, S. and Dramicanin, M.D. 2012. Multisite luminescence of rare earth doped TiO₂ anatase nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*, 135(2012): 1064-1069. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2012.06.0> **(Journal)**
- Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A. and Hayat, S. 2020. Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: anomic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156(2020): 64-77. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.08.042. **(Journal)**
- Bates, L.S., Walderen, R.D., and Taere, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207. DOI: 10.1007/BF00018060. **(Journal)**
- Bojović, B., Đelić, G., Topuzović, M. and Stanković, M. 2010. Effects of NaCl on seed germination in some species from families *Brassicaceae* and *Solanaceae*. *Kragujevac Journal Science*, 32(2010): 83-87. <https://scindeks.ceon.rs/article.aspx?artid=1450-96361032083B&lang=en> **(Journal)**
- Borna, F. and Heidari, M. 2022. Evaluation of seed germination and seedling growth indices of *Drimia maritima L.* under salinity and temperature stress. *Journal of Seed Research*, 12 (1): 11-23. DOI: 10.30495/jsr.2022.1962102.1236. **(In Persian) (Journal)**
- 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.p. **(HandBook)**
- Chaudhary, B., Tripathi, M.K., Bhandari, H.R., Pandey, S.K., Meena, D. and Prajapati S.P. 2016. Problems and prospects of sunn hemp cultivation in rural areas. In: Pant, H., Singh, M.K., (eds) *Natural resource management for sustainable agriculture and rural development*, 108-119Pp. **(Book)**
- Chougala, L.S., Yatnatti, M.S., Linganagoudar, R.K., Kamble, R.R. and Kadaevamath, J.S. 2017. A simple approach on synthesis of TiO₂ nanoparticles and its application in dye sensitized solar cells. *Journal of Nano-And Electronic Physics*, 9(4): 1-6. DOI: 10.21272/jnep.9(4).04005 **(Journal)**
- 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>. **(Journal)**
- Demiroğlu Topçu, G., Tenikecier, H.S. and Ateş, E. 2024. MacroMineral uptake, relative water content, retention capability, and tolerance index of Sunn Hemp (*Crotalaria juncea L.*) under salinity stress at early seedling. *Agronomy*, 14, 823, 1-12. <https://doi.org/10.3390/agronomy14040823> **(Journal)**
- Ellis, K.E. and Barbercheck, M.E. 2015. Management of overwintering cover crops influences floral resources and visitation by native bees. *Environmental Entomology*, 44:999-1010. <https://doi.org/10.1093/ee/nvv086> **(Journal)**
- Ellis, R.H. 1992. Seed and seedling vigor in relation to crop growth and yield. *Plant Growth Regulation*, 11 (1992): 249-255. DOI: 10.1007/BF00024563 **(Journal)**
- Farooq, M., Irfan, M., Aziz, T., Ahmad, I. and Cheema, S.A. 2013. Seed priming with ascorbic acid improves drought resistance of wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199:12-22. DOI 10.1111/j.1439-037x.2012. 00521.x **(Journal)**
- Garzon, J., Vendramini, J.M.B., Silveira, M.L., Moriel, P., De Silva, H.M.S., Dubeux Jr, J.C.B., Keaneko, M., Canelos, C.C. and Mamede, P.A. 2020. Harvest management and genotype effects on sunn hemp forage characteristics. *Agronomy Journal*, 113(2021): 298-307. DOI: 10.1002/agj2.20465 **(Journal)**

- Gharpure, S., Yadwade, R. and Ankamwar, B. 2022. Non-antimicrobial and non-anticancer properties of znon nanoparticles biosynthesized using different plant parts of *Bixa Orellana*. ACS Omega, 2022(7): 1914-1933. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05324> **(Journal)**
- Grand, F. and Tucci, P. 2016. Titanium dioxide nanoparticles: a risk for human health? Mini-Review in Medicinal Chemistry, 16: 762-769. <https://doi.org/10.2174/1389557516666160321114341>. **(Journal)**
- Gudarzi, M., Ebadi, A., Ahmadnia, F., Hashemi, M. and Ghahremani, S. 2021. Effect of cover crops on yield and weeds control of Lettuce Icebergs (*Lactuca sativa* var. Ice berg). Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 30(4): 173-184. DOI: 10.22034/SAPS.2020.12310 **(In Persian)(Journal)**
- Hatami, M., Ghorbanpour, M. and Salehjarjomand, H. 2014. Nano-anatase TiO₂ modulates the germination behavior and seedling vigourity of some commercially important medicinal and aromatic plants. Journal of Biological Environment, 8(22): 53-59. <http://jbes.uludag.edu.tr/PDFDOSYALAR/22/mak06.pdf> **(Journal)**
- JahanBakhsh, S., Parmoon, Gh., Azad, H. and Ghatei, A. 2018. Modeling hydro time and threshold tolerance to salinity and drought on germination different species Basil (*Ocimum basilicum*). Iranian Journal of seed Science and Technology, 7(2): 119-142. DOI: 10.22034/ijssst.2019.109228.1056 **(In Persian)(Journal)**
- Johnson, R. and Puthur, J.T. 2021. Seed priming as a cost-effective technique for developing plants with cross tolerance to salinity stress. Plant Physiology and Biochemistry, 162(2021): 247-257. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.02.034> **(Journal)**
- Kamireddy, S.R., Li, J., Abbina, S., Berti, M., Tucker, M. and Ji, Y. 2013. Converting forage sorghum and sunn hemp into biofuels through dilute acid pretreatment. Industrial Crop Products, 49 (2013): 598-609. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.018>. **(Journal)**
- Li, F., Liang, Z., Zheng, X., Zhao, W., Wu, M. and Wang, Z. 2015. Toxicity of nano-TiO₂ on algae and the site of reactive oxygen species production. Aquatic Toxicology, 158: 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.10.014>. **(Journal)**
- Maguire, J.D. 1962. Speed of germination, aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. Crop Science, 2(2):176-177. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x> **(Journal)**
- Mahmodzadeh, H., Nabavi, M. and Kashefi, H. 2013. Effect of nanoscale titanium dioxide particles on the germination and growth of canola (*Brassica napus*). Journal of Ornamental and Horticultural Plants, 3(1): 25-32. <https://sanad.iau.ir/en/Journal/jornamental/Article/513414?jid=513414> **(Journal)**
- 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> **(Journal)**
- 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, 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108485> **(Journal)**
- Mattiello, A., Filippi, A., Poscic, F., Musetti, R., Salvatici, MC., Giordano, C., Vischi, M., Bertolini, A. and Marchiol, L. 2015. Evidence of phytotoxicity and genotoxicity in *Hordeum vulgare* L. exposed to CeO₂ and TiO₂ nanoparticles. Frontiers in Plant Science, 6: 1043. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01043>. **(Journal)**
- Mazarie, A., Mousavi-nik, S. M., Ghanbari, A. and Fahmideh, L. 2019. Effect of different spraying concentrations of jasmonic acid and titanium dioxide nanoparticles on some physiological traits and antioxidant system activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). Iranian Journal of Plant Biology, 11(29): 1-22. DOI:10.22108/ijpb.2018.110510.1092 **(In Persian)(Journal)**
- Mingyu, S., Hong, F., Liu, C., Wu, X., Liu, X. and Chen, L. 2007. Effects of nano anatase TiO₂ on absorption, distribution of light and photo reduction activities of chloroplast membrane of spinach. Biological Trace Element Research, 118: 120-130. DOI:10.1007/s12011-007-0006-z **(Journal)**

- Miransari, M. and Smith, D.L. 2014. Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99(2014): 110-121. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.005> **(Journal)**
- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7:405-410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9). **(Journal)**
- 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: 154-163. DOI:10.1016/j.plantsci.2010.04.012 **(Journal)**
- 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> **(Journal)**
- Nunes, A.D.S., Lourenção, A.L.F., Pezarico, C.R., Scalón, S.P.Q. and Gonçalves, M.C. 2009. Fontes e níveis de salinidade na germinação de sementes de *Crotalaria juncea* L. *Ciência e Agrotecnologia*, 33(3): 753-757. **(Journal)**
http://old.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542009000300013 **(Journal)**
- Parenti, A., Cappelli, G., Zegada-Lizarazu, W., Sastre, C.M., Christou, M., Monti, A. and Ginaldi, F. 2021. SunnGro: A new crop model for the simulation of sunn hemp (*Crotalaria juncea* L.) grown under alternative management practices. *Biomass and Bioenergy*, 146(2021): 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.105975> **(Journal)**
- Parida, A.K. and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3): 324-349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010> **(Journal)**
- Pazhouhan, I., Jalali, S.Gh.A., Atabati, H., Zarafshar, M. and Sattarian, A. 2016. Comparison of carbon nanotubes with chemical and physical treatments to break seed dormancy of *Myrtus communis* L. *Journal of Botany Research*, 29(2): 300-308. DOI: 20.1001.1.23832592.1395.29.2.6.0 **(In Persian)(Journal)**
- Perry, D.A. 1991. Methodology and application of vigor tests. International Seed Testing Association. Zurich. Switzerland. 275p. **(Book)**
- Sadeghi, H. and Robati, Z. 2015. Response of *Cichorium intybus* L. to eight seed priming methods under osmotic stress conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4: 443-448. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.08.003> **(Journal)**
- Samuel, P.N.K.J. and Sornakumar, R.S.A. 2020. Antioxidant, antimicrobial, haemolytic, germination and growth promoting properties of *Crotalaria juncea* L. *Plant Science Today*, 7(2):201-205. <https://doi.org/10.14719/pst.2020.7.2.653> **(Journal)**
- Sant'as-Miguel, V., Arias-Estevéz, M., Rodriuez-Seijo, A. and arenas-Lago, D. 2023. Use of metal nanoparticles in agriculture. A review on the effects on plant germination. *Environmental Pollution*, 334(2023), 122222: 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122222> **(Journal)**
- Scott, S.J., Jones, R.A. and Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*, 24(6): 1192-1199. <https://doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400060043x> **(Journal)**
- Sengupta, S. and Debnath, S. 2018. Development of sunn hemp (*Crotalaria juncea*) fibre based unconventional fabric. *Industrial Crops and Products*, 116(2018): 109-115. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.059> **(Journal)**
- Shah, T., Latif, S., Khan, H., Munsif, F. and Nie, L. 2019. Ascorbic acid priming enhances seed germination and seedling growth of winter wheat under low temperature due to late sowing in Pakistan. *Agronomy*, 9(11), 757: 1-21. Available from <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy9110757>. DOI 10.3390/agronomy9110757. **(Journal)**
- Shah, T., Latif, S., Saeed, F., Ali, I., Ullah, S., Alsahli, A.A., Jan, S. and Ahmad, P. 2021. Seed priming with titanium dioxide nanoparticles enhances seed vigor, leaf water status, and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. *Journal of King Saud University - Science*, 33(2021), 101207: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.10.004> **(Journal)**
- Sharif, H., Mehmood, A., Ulfat, A., Ahmad, K.S., Hussain, I. and Khan, R.T. 2021. Environmentally sustainable production of silver nanoparticles and their effect on *Glycine max* L. Seedlings. *Gesunde Pflanzen*, 73(2021): 95-103. <https://doi.org/10.1007/s10343-020-00532-4>. **(Journal)**

- Sheahan, C.M. 2012. Plant Guide for Sunn Hemp (*Crotalaria juncea*); USDA-Natural Resources Conservation Service, Cape May Plant Materials Center: Cape May, NJ, USA, 1-4. **(Journal)**
- Siddiqi, K.S. and Husen A. 2017. Plant response to engineered metal oxide nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, 12:92: 1-18. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-1861-y>. **(Journal)**
- Singh, A., Singh, N.B., Hussain, I., Singh, H., Singh, S.C. 2015. Plant-nanoparticle interaction: An approach to improve agricultural practices and plant productivity. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 4 (8): 25-40. DOI:27.6718/0480025040 **(Journal)**
- Skinner, E.M., Diaz-Perez, J.C. and Phatak, Sh.C. 2012. Allelopathic effects of sunn hemp (*Crotalaria juncea* L.) on germination of vegetables and weeds. *HortScience*, 47(1):138-142. DOI:10.21273/HORTSCI.47.1.138 **(Journal)**
- Stewart, R.C. and Beweley, J.D. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, 65(2): 245248. DOI: 10.1104/pp.65.2.245 **(Journal)**
- Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridara Kumar, S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, 167(3): 613-619. DOI: 10.1016/S0168-9452(01)00450-2 **(Journal)**
- Tahjib-Ul-Arif, M., Roy, P.R., Sohag, A.A.M., Afrin, S., Rady, M.M. and Hossain, M.A. 2018. Exogenous calcium supplementation improves salinity tolerance in *BRR1 Dhan28*; a salt susceptible high-yielding *Oryza sativa* cultivar. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 21 (4): 383-394. DOI No. 10.1007/s12892-018-0098-0 **(Journal)**
- Tekrony, D.M. and Egli, D.B. 1991. Relationship of seed vigor to crop yield: A review. *Crop Science*, 31(3):816-822. <https://doi.org/10.2135/cropsci1991.0011183X003100030054x> **(Journal)**
- Tripathy, BC. and Oelmuller, R. 2012. Reactive oxygen species generation and signaling in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 7: 1621-1633. <https://doi.org/10.4161/psb.22455>. **(Journal)**
- Uçarlı, C. 2020. Effects of salinity on seed germination and early seedling stage. In: *Abiotic stress in plants*. (Ed. Fahad, S., Saud, S., Chen, Y., Wu, C. and Wang, D.). 1-20 Pp. DOI:10.5772/intechopen.93647 **(Chapter)**
- Wang, K.H., Sipes, B.S. and Schmitt, D.P. 2002. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management: A review. *Nematropica*, 32 (2002): 35-57. <http://journals.fcla.edu/nematropica/article/view/69643> **(Journal)**
- Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P. and Kwak, S.S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(7):570-577. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.02.009> **(Journal)**
- Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C. and Yang, P. 2006. Influence of nano anatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research*, 110(2): 179-189. DOI: 10.1385/bter:110:2:179. **(Journal)**
- Yuan, SJ., Chen, JJ., Lin, ZQ., Li, WW., Sheng, GP. and Yu, HQ. 2013. Nitrate formation from atmospheric nitrogen and oxygen photocatalyzed by nano-sized titanium dioxide. *Nature Communications*, 4: 2249. <https://doi.org/10.1038/ncomms3249>. **(Journal)**
- Zhang, X., Li, W. and Yang, Z. 2015. Toxicology of nanosized titanium dioxide: an update. *Archives of Toxicology*, 89: 2207-2217. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1594-6>. **(Journal)**
- 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> **(Journal)**



Evaluation of improving Sunn hemp (*Crotalaria juncea*) seed germination with titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles under salinity stress

Fatemeh Ahmadnia^{*1}, Ali Ebadi²

Received: June 16, 2024

Accepted: August 4, 2024

Abstract

Salinity is one of the limiting stresses on agricultural production. The high potential of Sunn hemp (*Crotalaria juncea*) as a tropical and semi-tropical plant and its scientific and industrial uses caused to investigate its germination potential under saline condition and improving it by titanium dioxide nanoparticles. An experiment conducted in 2023 in the Faculty of Agriculture and Natural Resources of Mohaghegh Ardabili University as factorial based on randomized complete design with three replications. Experimental treatments included different concentrations of seed priming with titanium dioxide nanoparticles (0, 0.5, and 1mM) and salinity stress (0, -0.4, -0.8, and -1.2 MPa) using sodium chloride. The results indicated that the osmotic potentials of -0.4, -0.8, and -1.2 MPa significantly reduced the germination percentage (10.56, 20.49, and 31.26%), radicle length (68.00, 88.52, and 91.24%), and plumule length (46.92, 82.59, and 89.87%). Nano priming of seeds by 1 mM increased radicle (25.40%) and plumule length (24.87%) compared to no priming. Also, nano priming enhanced catalase activity by 15.92, 10.18, and 1.35% and proline content by 17.81, 6.26, and 8.40% at osmotic potentials of -0.4, -0.8 and -1.2 MPa. Nano priming at a concentration of 1 mM decreased lipid peroxidation by 30.92, 41.59, and 36.74% at -0.4, -0.8 and -1.2 MPa osmotic potentials. The results of this study, in addition to reporting the germination ability of Sunn hemp seeds under salinity stress of 1.2 MPa, emphasized the improvement of germination and related indices by using seed priming with titanium dioxide nanoparticles at a 1mM.

Keyword: Catalase; Lipid peroxidation; Osmotic potential; Sodium chloride

How to cite this article

Ahmadnia, F. and Ebadi, A. 2024. Evaluation of improving Sunn hemp (*Crotalaria juncea*) seed germination with titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles under salinity stress. Iranian Journal of Seed Science and Research, 11(1): 69-87. (In Persian)(**Journal**)
DOI: [10.22124/jms.2024.8039](https://doi.org/10.22124/jms.2024.8039)

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit <http://jms.guilan.ac.ir/>

Ph.D Graduated, Crop Physiology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. F.ahmadnia@uma.ac.ir

Professor, Crop Physiology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. ebadi@uma.ac.ir

*Corresponding author: F.ahmadnia@uma.ac.ir