



علوم و تحقیقات بذر ایران  
سال پنجم/ شماره سوم/ ۱۳۹۷ (۶۱ - ۴۷)

DOI: 10.22124/jms.2018.2934

## تأثیر نانو دی اکسید تیتانیوم و نیترو پروساید سدیم بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر، بنیه و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه‌ی جو افضل تحت تنش شوری

افشین کریمی<sup>۱</sup>، علی سپهری<sup>۲\*</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱/۶

### چکیده

شوری از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی در بسیاری از مناطق دنیا است. به منظور بررسی اثر نانو دی‌اکسید تیتانیوم و نیترو پروساید سدیم بر شاخص‌های جوانه‌زنی و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه‌های جو رقم افضل تحت تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل ۱. نانو دی‌اکسید تیتانیوم در چهار سطح (۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، ۲. نیترو پروساید سدیم در دو سطح (۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و ۳. تنش شوری در سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بودند. تنش شوری شاخص‌های جوانه‌زنی بذر مانند درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، میانگین زمان جوانه‌زنی و محتوی رطوبت نسبی برگ در گیاهچه را کاهش و نشت الکترولیتی غشاء را افزایش داد. در حضور نانو دی‌اکسید تیتانیوم اکثر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و به ویژه سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) افزایش یافتند. کاربرد نیترو پروساید سدیم موجب تعدیل نشت الکترولیتی غشاء (EL) و اثرات منفی تنش شوری شد. برهمکنش نانو دی اکسید تیتانیوم (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نیترو پروساید سدیم (۱۰۰ میکرومولار)، میزان آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز را تحت تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب ۲۸، ۱۶/۸ و ۱۷/۹ درصد افزایش داد. به نظر می‌رسد نیترو پروساید سدیم در حضور نانو دی‌اکسید تیتانیوم از طریق تعدیل اثرات بازدارنده کلرید سدیم، بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه‌های جو تاثیر مناسب داشته باشد.

### واژه‌های کلیدی: تخفیف‌دهنده تنش، کلرید سدیم، نانو ذره

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

\*نویسنده مسئول: Sepehri110@yahoo.com

## مقدمه

گیاهان مفید باشند. در سال‌های اخیر، به نقش مفید نیتریک اکسید (NO) در افزایش سبزیگی، جوانه‌زنی بذر و بهبود تحمل به تنش گیاهان در شرایط تنش‌زا از جمله شوری، خشکی و فلزات سنگین اشاره شده است (Seabra *et al.*, 2015). در این میان نیترو پروساید سدیم (SNP) به عنوان یک ترکیب آزاد کننده نیتریک اکسید (NO)، نقش‌های متنوعی در رشد، توسعه و تحمل گیاهان به تنش ایفا می‌کند (Tan *et al.*, 2013). تاثیر NO به عنوان یک مولکول فعال زیستی بر روی بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و شیمیایی گیاهان از جمله تنظیم پاسخ‌های سازشی به تنش‌های زیستی و غیر زیستی به خوبی اثبات شده است (Besson-Bard *et al.*, 2008; Ghadi, 2014). اخیراً برخی محققین اظهار نموده‌اند نیتریک اکسید می‌تواند تاثیرات جالب توجه‌ای بر روابط رشدی گیاهان با نانو ذرات داشته باشد (Seabra *et al.*, 2015). در حال حاضر مطالعات محدودی بر روی تاثیر NO و نانو ذرات بر روی گیاهان زراعی از جمله جو به عنوان چهارمین غله مهم دنیا صورت گرفته است. هدف از این پژوهش، ارزیابی اثر نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم در حضور نیترو پروساید سدیم بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت جو تحت تنش شوری بوده است.

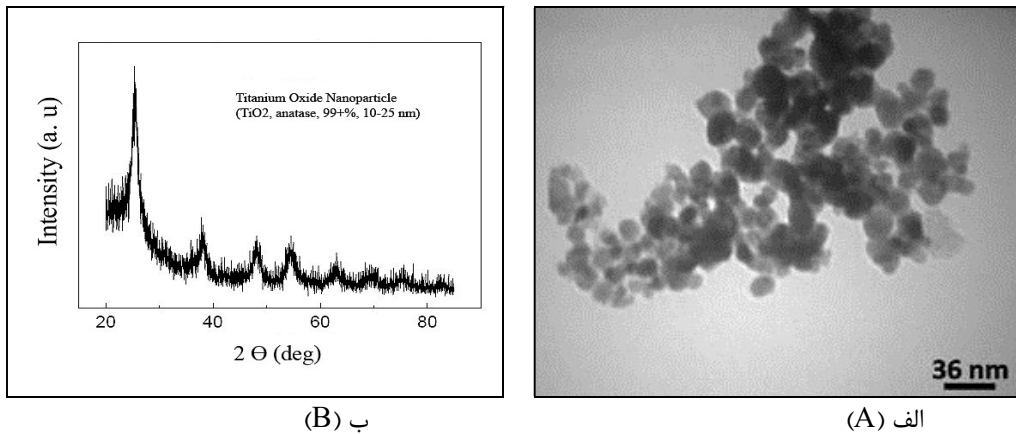
## مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار روی بذر جو رقم افضل در دانشگاه بوعلی سینا همدان و در سال ۱۳۹۵ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل نانو دی‌اکسید تیتانیوم در چهار سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نیترو پروساید سدیم در دو سطح (۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بود که تحت سطوح شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) مورد بررسی قرار گرفتند. نانو دی‌اکسید تیتانیوم (اندازه ذرات ۱۰ تا ۲۵ نانومتر و خلوص ۹۹ درصد) از کمپانی نانوسانی تهیه گردید (شکل ۱ الف). بر اساس طیف سنجی پراش پرتو ایکس (XRD) نانو ذرات تیتانیوم مورد بررسی به فرم آاناتاز بودند (شکل ۱ ب).

در سال‌های اخیر، محققین از پتانسیل‌های نانو-تکنولوژی به عنوان ابزاری در جهت افزایش عملکرد گیاهان زراعی استفاده کرده‌اند. در این خصوص استفاده از تأثیر نانو ذرات بر روابط رشدی گیاهان مورد تاکید قرار گرفته است (Misra *et al.*, 2016). در این صورت ورود نانو ذرات به محیط زیست و اکوسیستم‌های زراعی که در اثر مصرف آنها در تولیدات صنعتی به صورت کود، حشره-کش، آفت‌کش، قارچ‌کش، علف‌کش، مواد مغذی و محرک رشد و یا از طریق آبیاری با فاضلاب صورت می‌گیرد، مساله‌ای اجتناب ناپذیر است (Gogos *et al.*, 2012; Khot *et al.*, 2012; Siddiqui and Al-Wahaibi, 2014).

نانو دی‌اکسید تیتانیوم ( $n\text{-TiO}_2$ ) بیشترین مقدار تولید صنعتی و کاربرد در صنایع مختلف از جمله کشاورزی را در بین نانو ذرات به خود اختصاص داده است (Baiazidi Aghdam *et al.*, 2016). بر اساس مستندات موجود، نانو دی‌اکسید تیتانیوم پتانسیل تاثیرگذاری بر خصوصیات رشدی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاهان را دارد (Raliya *et al.*, 2015; Khot *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2015). محمودزاده و عقیلی (Mahmoodzadeh and Aghili, 2014) به تغییر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای گندم در اثر مصرف نانو دی‌اکسید تیتانیوم اشاره نموده‌اند. در آزمایشی دیگر نانو دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذر رازیانه شده است (Feizi *et al.*, 2013). برخی محققین اظهار داشتند که نانو دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند موجب بهبود رشد گیاهان تحت شرایط تنش‌های غیر زیستی همچون شوری و خشکی شود (Nasir Khan, 2016; Kiapour *et al.*, 2015).

شوری از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی در بسیاری از مناطق دنیا به‌شمار می‌آید. تنش شوری از مسیرهای مختلف از جمله تنش آب، سمیت یونی، اثرات اسمزی، تغییر فرآیندهای متابولیکی، به هم ریختگی غشاء و فرآیندهای غشایی، کاهش تقسیم سلولی و اختلال در تغذیه، بقا و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Djanaguiraman and Prasad, 2013). در شرایط تنش‌زا، استفاده از ترکیبات تخفیف دهنده‌ی تنش می‌تواند در بهبود شرایط رشدی



شکل ۱- (الف) عکس TEM مربوط به n-TiO<sub>2</sub> (ب) طیف سنجی XRD مربوط به n-TiO<sub>2</sub>  
**Figure 1. Transmission electron microscopy (TEM) images of n-TiO<sub>2</sub> (A). X-ray diffraction pattern of n-TiO<sub>2</sub> (B)**

که در آن Ni تعداد کل بذرهاى جوانه‌زده در روز آخر شمارش و N تعداد کل بذرها است. به منظور محاسبه سرعت جوانه‌زنى از رابطه دو استفاده گردید (Khan *et al.*, 1984).

$$GR = \sum(100 G_i) / n t_i \quad \text{رابطه (۲)}$$

که در آن G<sub>i</sub> تعداد بذرهاى جوانه‌زده در روز i ام، t<sub>i</sub> روز i ام و n تعداد بذرهاى به کار رفته در آزمایش است. محاسبه میانگین جوانه‌زنى از رابطه سه صورت گرفت (Ellis and Roberts, 1981).

$$MGT = \sum(n \times d) / N \quad \text{رابطه (۳)}$$

که در آن n تعداد روزها از شروع جوانه‌زنى، d تعداد بذور جوانه‌زده در هر روز و N تعداد کل بذور جوانه‌زده است شاخص بنیه (ویگور) از رابطه چهار محاسبه شد (Abdul-Baki and Anderson, 1973).

$$VI = GP (\%) \times SL (mm) \quad \text{رابطه (۴)}$$

که در آن GP درصد جوانه‌زنى و SL طول گیاهچه (میلی‌متر) است به منظور محاسبه محتوی رطوبت نسبی از رابطه پنج استفاده شد (Shalaby *et al.*, 1993).

$$RWC = (FW - DW / FW) \times 100 \quad \text{رابطه (۵)}$$

که در آن FW وزن تر گیاهچه و DW وزن خشک گیاهچه است. جهت اندازه‌گیری میزان نشت پذیری غشاء<sup>۱</sup>، ۰/۵ گرم بافت سبز برگ پس از شستشو با آب مقطر، به مدت ۶ ساعت در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در

جو افضل رقمی نیمه پاکوتاه، نیمه زودرس، متحمل به شوری با منشأ اردکان یزد است (Qazvin *et al.*, 2002). بذر گواهی شده جو افضل تولید سال ۱۳۹۴ بوده و از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. پیش از شروع آزمایش، بذور جو با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت یک دقیقه ضد عفونی شده و با آب مقطر شسته شدند. سپس در هر پتری ۲۵ بذر جو قرار داده شده و بذور تحت تیمار مربوطه قرار گرفتند. به منظور تهیه محلول یکنواخت از نانو دی-اکسید تیتانیوم علاوه بر شیکر معمولی، محلول مذکور به مدت ۳۰ دقیقه در حمام الکتروسونیک قرار داده شد و در نهایت در ترکیب با سطوح نیترو پروساید سدیم و شوری مربوطه به پتری‌ها اضافه شد. آزمایش جوانه‌زنى به مدت ۷ روز، در تاریکی و در دمای ۲۵±۱ درجه سانتی‌گراد، در محیط ژرمیناتور انجام گرفت (Sepehri and Ruhi, 2016) و شمارش بذرها به صورت روزانه انجام شد. معیار جوانه‌زنى خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر بود. در پایان آزمایش پس از اندازه‌گیری طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر بخش‌های مذکور تعیین گردید. سپس اندام گیاه به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و به منظور تعیین وزن خشک توزین شدند. برای محاسبه درصد جوانه‌زنى از رابطه یک استفاده شد (Bajji *et al.*, 2002).

$$GP = \left( \frac{Ni}{N} \right) \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

<sup>۱</sup> Electrolyte Leakage

گردید (جدول ۲). تیمار مذکور درصد جوانه‌زنی در سطوح تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار را نسبت به شاهد به ترتیب به میزان ۲۳/۸ و ۲۹/۲۲ درصد ارتقا داد (جدول ۲). کاهش اثرات منفی تنش شوری و خشکی با حضور نانو دی‌اکسید تیتانیوم قبلاً گزارش شده است (Nasir Khan, 2013; Jaberzadeh *et al.*, 2016). نانو دی‌اکسید تیتانیوم از طریق افزایش جذب آب و اکسیژن توسط بذر موجب بهبود درصد جوانه‌زنی بذر می‌گردد (Zheng *et al.*, 2005). با ورود ذرات نانو تیتانیوم به داخل سلول‌های بذر، واکنش‌های اکسیداسیون احیا از طریق رادیکال یون سوپر اکسید تشدید شده و منجر به دفع رادیکال‌های آزاد در بذرهای در حال جوانه‌زنی می‌شود، همچنین اکسیژن تولید شده در چنین فرآیندی می‌تواند صرف تنفس شده و جوانه‌زنی را تحریک نماید (Zheng *et al.*, 2005; Pais, 1983). البته گزارشاتی در خصوص اثرات منفی نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی برخی بذور وجود دارد (Frazier *et al.*, 2014). به نظر می‌رسد اثرات ترکیبات نانو در گیاهان بسته به نوع گیاه، مرحله رشدی، نوع نانو ذره، خصوصیات فیزیکی شیمیایی ذره و مقدار آن در شرایط مختلف متفاوت باشد (Baiazidi Aghdam *et al.*, 2016). بهبود جوانه‌زنی بذور جو در اثر نیتریک اکسید را می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز در بذر و تبدیل سریع‌تر نشاسته به قند نسبت داد، این مسئله موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذور و کاهش اثرات بازدارنده‌ی تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر می‌گردد (Zheng *et al.*, 2009).

در جدول ۲ نشان داده شده است که با افزایش میزان شوری سرعت جوانه‌زنی بذور کاهش یافت. تنش شوری با ایجاد خشکی فیزیولوژیک مانع جذب رطوبت کافی توسط بذر شده و سرعت جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد (Fathi *et al.*, 2012). در این آزمایش مشخص شد که در حضور نانو دی‌اکسید تیتانیوم، اثر بازدارنده شوری بر سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (جدول ۲). اثر مثبت نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر سرعت جوانه‌زنی بذور در تحقیقات دیگر نیز گزارش شده است (Feizi *et al.*, 2013). نیترو پروساید سدیم (۱۰۰ میکرومولار) نیز موجب کاهش اثر منفی شوری بر سرعت جوانه‌زنی بذر جو شد (جدول ۲). برهمکنش ۵۰۰ میلی‌گرم نانو دی‌اکسید تیتانیوم و ۱۰۰ میکرومولار نیترو پروساید سدیم سرعت

دمای اتاق شناور گردید و سپس هدایت الکتریکی آب توسط هدایت‌سنج در دمای اتاق سنجیده شد ( $EC_1$ ). سپس نمونه‌ها به بن‌ماری منتقل شده و به مدت ۲ ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از خنک شدن نمونه‌ها، مجدداً هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شد ( $EC_2$ ) و با استفاده از رابطه شش نشت پذیری غشاء محاسبه گردید (Nazar *et al.*, 2011).

$$\text{رابطه (۶)} \quad EL (\%) = (EC_1 / EC_2) \times 100$$

به‌منظور اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به ترتیب از روش‌های بولر و همکاران (Bowler *et al.*, 1991)، بریتون و همکاران (Britton *et al.*, 1955) و ناکانو و آداسا (Nakano and Asada, 1987) استفاده شد. تجزیه آماری داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام و نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم شدند.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با اثرات نانو دی‌اکسید تیتانیوم، نیترو پروساید سدیم و برهمکنش آن‌ها تحت تنش شوری بر صفات مورد بررسی در جدول ۱ نشان داده شده است. بر این اساس، تنش شوری اثر منفی و بازدارنده‌ای بر درصد جوانه‌زنی بذور جو داشته و با تشدید شوری درصد جوانه‌زنی کاهش یافته است. در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم درصد جوانه‌زنی به ترتیب ۱۶/۵ و ۳۷/۳ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد (جدول ۲). کاهش درصد جوانه‌زنی در چنین شرایطی می‌تواند به دلیل عدم تعادل اسمزی، کاهش جذب آب، ایجاد سمیت یونی و در نهایت آسیب به اندامک‌های سلولی باشد (Ibrahim, 2016). در این آزمایش کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم و نیترو پروساید سدیم سبب بهبود درصد جوانه‌زنی بذور جو گردید (جدول ۲). هر چند که تاثیر نیترو پروساید سدیم بر درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری بیشتر مشهود بود (جدول ۲). با توجه به معنی‌دار بودن برهمکنش نانو دی‌اکسید تیتانیوم × نیترو پروساید سدیم × شوری، بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم و ۱۰۰ میکرومولار نیترو پروساید سدیم در سطوح مختلف شوری حاصل

تخفیف‌دهنده در شرایط بدون تنش کمتر مشاهده شد (جدول ۲). بهبود رشد ریشه‌چه در اثر SNP را می‌توان به نقش نیتریک اکسید در افزایش فعالیت آنزیم‌های موثر در جوانه‌زنی و رشد ریشه ربط داد (Zheng *et al.*, 2009).

با توجه به معنی‌دار شدن اثر متقابل نیترو پروساید سدیم × شوری بر طول ساقه‌چه (جدول ۱)، مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد کاربرد نیترو پروساید سدیم (۱۰۰ میکرومولار) موجب افزایش ۱۱/۲ و ۹/۷ درصدی طول ساقه‌چه جو تحت تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شد (شکل ۲ الف). برخی محققین اظهار نموده‌اند نیترو پروساید سدیم با کاهش میزان آنزیم لیپوکسیژناز که تحت تنش شوری سنتز می‌شود از اکسیداسیون اسیدهای چرب جلوگیری و سبب حفاظت سلول‌های گیاهی می‌شود و از اثر سوء تنش بر طول ساقه‌چه می‌کاهد (He *et al.*, 2014). بر اساس نتایج برهمکنش نانو دی‌اکسید تیتانیوم × شوری، بیشترین طول ساقه‌چه در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم نانو دی‌اکسید تیتانیوم در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد (شکل ۲ ب). قابل ذکر است در شرایط عدم تنش شوری، بین غلظت‌های مختلف نانو دی‌اکسید تیتانیوم از نظر تأثیر بر طول ساقه‌چه اختلاف معنی‌داری دیده نشد (شکل ۲ ب). گزارش شده که نانو دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش تقسیم سلولی موجب طولی شدن اندام‌های گیاه از جمله ریشه و ساقه می‌گردد (Farahani *et al.*, 2012).

علاوه بر اثرات ساده‌ی نانو دی‌اکسید تیتانیوم، نیترو پروساید سدیم و تنش شوری، برهمکنش دوگانه فاکتورهای مذکور بر شاخص بنیه جو معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به اثر متقابل نیترو پروساید سدیم × تنش شوری مشاهده می‌شود که مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیترو پروساید سدیم در افزایش معنی‌دار شاخص بنیه جو تحت شرایط تنش شوری و عدم تنش موثر است (شکل ۲ ج). همچنین بر اساس برهمکنش نانو دی‌اکسید تیتانیوم × تنش شوری، بیشترین شاخص بنیه بذر در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم نانو دی‌اکسید تیتانیوم در لیتر تحت تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار حاصل شد. تیمار مذکور شاخص بنیه را ۳۶/۶ و ۴۳/۵ درصد تحت تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار ارتقاء بخشید (شکل ۲ د). از سوی دیگر در شرایط عدم تنش شوری (شاهد) بین غلظت‌های ۵۰۰ و

جوانه‌زنی در سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار را به ترتیب ۳۱/۱ و ۳۳/۹ درصد نسبت به شاهد بهبود داد (جدول ۲). اثر مثبت نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر سرعت جوانه‌زنی در شرایط شوری در حضور نیترو پروساید سدیم بیشتر قابل مشاهده بود. تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم نانو دی‌اکسید تیتانیوم + ۱۰۰ میکرومولار نیترو پروساید سدیم سرعت جوانه‌زنی را ۱۰ و ۱۰/۸ درصد نسبت به کاربرد انفرادی ۵۰۰ میلی‌گرم نانو دی‌اکسید تیتانیوم تحت شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار به ترتیب افزایش داد (جدول ۲). گزارش شده نیتریک اکسید از طریق تجمع اسمولیت‌های آلی و املاح سازگار، به تنظیم و حفظ فشار تورگور سلول و دسترسی به آب کمک نموده و موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر می‌شود (Guo *et al.*, 2009).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش، علاوه بر اثرات ساده نانو دی‌اکسید تیتانیوم، نیترو پروساید سدیم و سطوح شوری، اثر متقابل سه‌گانه‌ی فاکتورهای مذکور بر طول ریشه‌چه گیاه جو معنی‌دار بود (جدول ۱). در بین تیمارهای مورد بررسی، بیشترین طول ریشه‌چه (۱۸ سانتی‌متر) در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم + ۱۰۰ میکرومولار نیترو پروساید سدیم و در شرایط عدم تنش شوری حاصل گردید. تیمار مذکور در شوری‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیز بیشترین طول ریشه‌چه را داشت (جدول ۲). برای مثال، تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم + ۱۰۰ میکرومولار نیترو پروساید سدیم طول ریشه‌چه را ۳۰/۹ و ۳۴ درصد تحت تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار ارتقاء بخشید (جدول ۲). از دلایل کاهش طول ریشه‌چه در شرایط تنش شوری می‌توان به کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از لپه‌ها به جنین اشاره نمود. علاوه بر آن کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنش‌زا باعث کاهش ترشح هورمون‌ها، فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد ریشه‌چه می‌شود (Kafi *et al.*, 2009). همچنین مشخص شد که نانو دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش رشد ریشه‌چه جو می‌گردد (جدول ۲). در این رابطه افزایش متابولیسم گیاه برنج در اثر استفاده از n-TiO<sub>2</sub> گزارش شده است (Chutipajit, 2015). کاربرد نیترو پروساید سدیم به تنهایی یا همزمان با نانو دی‌اکسید تیتانیوم در بهبود طول ریشه‌چه در شرایط تنش شوری موثر بود. اما تأثیر این

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد بررسی جو تحت تاثیر نانو دی اکسید تیتانیوم، نیترو پروساید سدیم و تنش شوری.  
**Table 1. Analysis of variance (Mean square) for studied traits of barley under n-TiO<sub>2</sub>, SNP and Salinity stress**

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه زنی Germination %	سرعت جوانه زنی Germination rate	طول ریشه چه Radicle length	طول ساقه چه Plumule length	شاخص بنیه Vigor index	میانگین زمان جوانه زنی Mean germination time	محتوی رطوبت نسبی برگ water Relative leaf of content	سوپر اکسید دیسموتاز SOD	آسکوربات پراکسیداز APX	کاتالاز CAT	نشست الکترولیتی Electrolyte Leakage
شوری Salinity (S)	2	5018.46 **	6.06 **	164.54 **	46.48 **	9384024.30 **	6.04 **	5018.46 **	465.41 **	3.09 **	25075.60 **	2905.40 **
نانو دی اکسید تیتانیوم TiO <sub>2</sub> (N)	3	1364.81 **	1.49 **	38.40 **	34.52 **	2898292.64 **	1.42 **	1272.98 **	108.83 **	0.32 **	18531.94 **	678.55 **
نیترو پروساید سدیم SNP (T)	1	666.76 **	2.10 **	55.17 **	52.45 **	3208520.25 **	2.01 **	666.76 **	155.30 **	0.057 ns	28484.40 **	970.63 **
شوری × نانو دی اکسید تیتانیوم S×N	6	3.31 ns	0.59 **	17.91 **	8.80 **	232676.94 **	0.59 **	3.31 ns	50.41 **	0.24 **	4789.55 **	314.98 **
شوری × نیترو پروساید سدیم S×T	2	4.19 ns	0.23 **	5.66 **	4.97 **	293492.37 **	0.25 *	4.19 ns	16.05 **	0.019 ns	2640.28 *	100.34 **
نانو دی اکسید تیتانیوم × نیترو پروساید سدیم N×T	3	42.03 ns	0.26 **	7.57 **	0.45 ns	140264.74 *	0.27 **	42.03 ns	21.34 **	0.31 **	224.04 ns	133.40 **
شوری × نانو دی اکسید تیتانیوم × نیترو پروساید سدیم S×N×T	6	51.35 *	0.13 **	2.48 *	0.65 ns	60745.44 ns	0.12 *	51.35 *	6.97 *	0.11 **	340.86 ns	43.62 *
خطا Error	72	20.32	0.04	0.97	0.99	51468.91	0.055	20.32	3.23	0.025	642.16	15.58
ضریب تغییرات (%) CV (%)	-	5.94	8.41	7.38	9.87	12.42	9.41	6.34	8.00	10.32	10.83	6.99

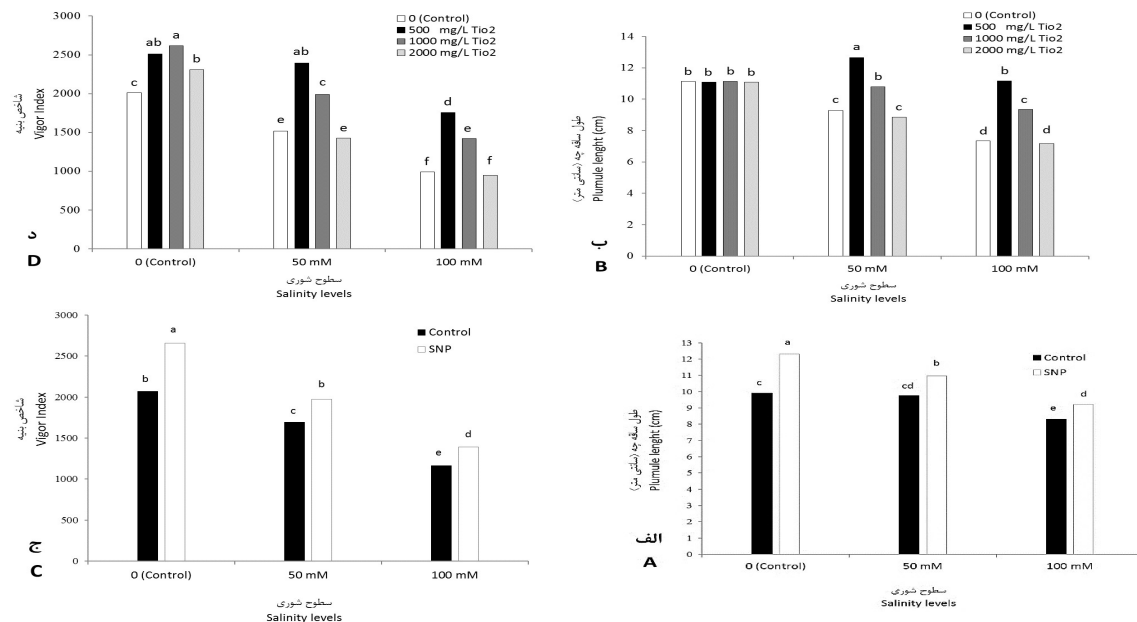
ns, \* و \*\* به ترتیب نشانگر عدم وجود اثر معنی دار و اثر معنی دار در سطوح ۵ و ۱ درصد می باشند.  
 ns, \* and \*\* are Non-significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل نانو ذره تیتانیوم، نیترو پروساید سدیم و تنش شوری بر صفات مورد بررسی در جو  
Table 2. Mean comparison of n-TiO<sub>2</sub>, SNP and Salinity stress interaction on barley studied traits

Treatments تیمارها			سرعت جوانه زنی (بذر بر روز) Germination Rate (Seed day <sup>-1</sup> )		
شوری (میلی مولار) Salinity (mM)	نانو دی اکسید تیتانیوم (میلی گرم بر لیتر) TiO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	نیترو پروساید سدیم (میکرو مولار) SNP (μM)	درصد جوانه زنی Germination %	طول ریشه چه (سانتی متر) Radicle Length (cm)	
0	0	0	80.25 ef	2.40 fgh	12.95 efg
		100	80.50 ef	2.70 de	14.60 d
	500	0	91.50 bc	2.22 ghij	11.99 ghi
		100	99.75 a	3.47 a	18.00 a
		0	87.50 cd	3.03 bc	16.40 bc
		100	97.25 ab	3.28 abc	17.71 ab
50	0	0	79.00 ef	3.11 bc	16.79 abc
		100	83.25 de	3.28 ab	17.75 ab
	500	0	67.00 hij	2.06 jk	11.15 hij
		100	76.00 fg	2.31 ghij	12.48 fgh
		0	83.50 de	2.69 e	14.20 de
		100	88.00 cd	2.99 cd	16.14 c
100	0	0	81.00 ef	2.42 efgh	13.06 efg
		100	83.75 de	2.51 efg	13.56 def
	500	0	69.50 hi	2.03 jkl	10.98 ij
		100	71.00 gh	2.18 hij	11.78 ghi
		0	50.25 l	1.77 lm	9.55 k
		100	64.00 ij	2.68 ef	10.17 jk
2000	0	0	70.00 ghi	2.39 fghi	12.90 efg
		100	71.00 gh	2.68 ef	14.49 d
	500	0	62.25 jk	2.10 ijk	11.34 hij
		100	70.75 gh	2.29 ghij	12.41 fgh
		0	56.00 kl	1.65 m	9.55 k
		100	55.75 l	1.84 klm	9.95 jk

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند

Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 5% level, according to LSD test.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل نیترو پروساید سدیم × شوری بر طول ساقه چه (الف) و شاخص بنیه (ج) مقایسه میانگین اثر متقابل نانو دی اکسید تیتانیوم × شوری بر طول ساقه چه (ب) و شاخص بنیه (د) در جو  
Figure 2. Mean comparison of SNP × Salinity Interaction on plumule length (A) and Vigor Index (C). Mean comparison of n-TiO<sub>2</sub> × Salinity Interaction on Plumule length (B) and Vigor Index (D) of barley

می‌رسد نانو دی‌اکسید تیتانیوم و نیترو پروساید سدیم با بهبود سرعت جوانه‌زنی در کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی بذر جو مفید واقع شده است.

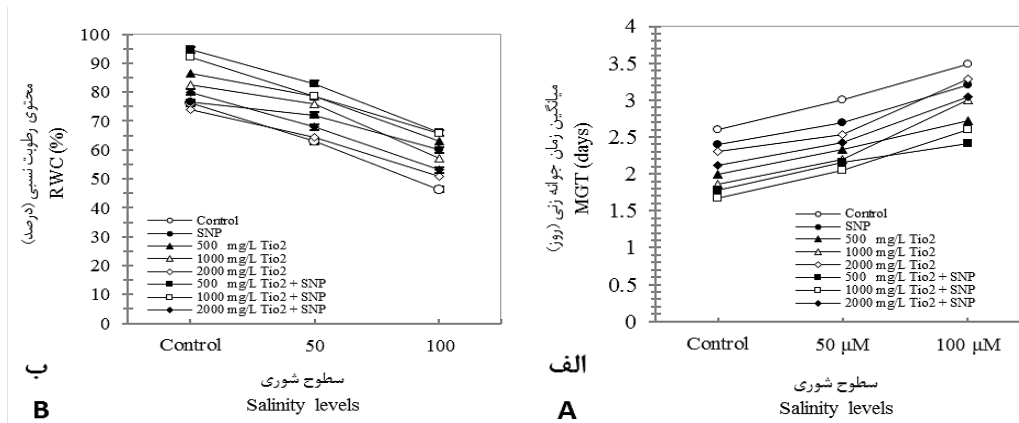
با توجه به نتایج بدست آمده، محتوی رطوبت نسبی برگ (RWC) در گیاهچه‌های جو به طور معنی‌داری تحت تأثیر هر سه فاکتور مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱). به طور کلی در گیاهان تحت تنش شوری، کاهش پتانسیل آب گیاه ناشی از کاهش آب سلول و از دست دادن تورژانس است. همچنین کاهش در میزان گلاسیسین بتائین کل در سطح بالای شوری ممکن است سبب کاهش محتوای آب بافت شود (Khan *et al.*, 2000). با توجه به معنی‌دار شدن برهمکنش سه جانبه نانو دی‌اکسید تیتانیوم × نیترو پروساید سدیم × تنش شوری بیشترین محتوی رطوبت نسبی برگ گیاهچه‌ی جو، در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم + نیترو پروساید سدیم تحت شوری ۵۰ میلی‌مولار و عدم تنش حاصل شد. از سوی دیگر در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار بین غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم + SNP اختلاف معنی‌داری دیده نشد و بیشترین محتوی رطوبت نسبی سطوح مذکور حاصل گردید (شکل ۳ ب). بر اساس یافته‌های حاصل از آزمایش به نظر می‌رسد کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم و نیترو پروساید سدیم در بهبود وضعیت محتوی رطوبت نسبی برگ گیاهچه‌ها مفید واقع شده است. در آزمایشی بر روی گیاه ریحان نیز استفاده از نانو دی‌اکسید تیتانیوم با بهبود محتوی رطوبتی گیاه موجب بهبود تحمل گیاه نسبت به تنش خشکی گردید (Kiapour *et al.*, 2015). تأثیر مثبت نیتریک اکسید بر محتوای رطوبت نسبی گیاهان تحت شرایط تنش‌زا نیز توسط دیگر محققین گزارش شده است (Seabra *et al.*, 2015). اثبات شده است که نیتریک اکسید با تأثیر بر پمپ پروتونی  $H^+$ -ATPase و  $H^+$ -Ppase بر روی تبادلات یونی سدیم و هیدروژن تأثیر گذاشته و موجب بهبود محتوی رطوبت گیاه در شرایط تنش شوری می‌شود (Zhang *et al.*, 2006).

برهمکنش سه‌گانه‌ی نانو دی‌اکسید تیتانیوم × نیترو پروساید سدیم × تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه‌ی میانگین داده‌های حاصل از آزمایش حاکی از آن

۱۰۰۰ میلی‌گرم نانو دی‌اکسید تیتانیوم اختلاف معنی‌داری دیده نشد که بیشترین شاخص بنیه را ایجاد نمودند (شکل ۲ د). به نظر می‌رسد هر یک از ترکیبات نانو دی‌اکسید تیتانیوم و نیترو پروساید سدیم با بهبود درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه‌ی جو موجب افزایش معنی‌دار شاخص بنیه جو گردیده است. برخی محققین بهبود فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و دیگر آنتی‌اکسیدانت‌ها را عامل موثر در بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذور تیمار شده با نانو دی‌اکسید تیتانیوم دانسته‌اند (Lu *et al.*, 2002). در آزمایشی بر روی بذر جعفری نیز فرم آنتاز نانو اکسید تیتانیوم موجب بهبود شاخص بنیه گردید (Hashemi, Dehkourdi and Mosavi Mousa, 2013) که نتیجه تحقیق حاضر با آن همخوانی دارد.

شوری موجب تاخیر در جوانه‌زنی بذور و افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی شد (شکل ۳ الف). در تنش شوری به علت کاهش پتانسیل آب محیط اطراف بذر، زمان بیشتری برای بدست آوردن آب کافی مورد نیاز است. در چنین شرایطی و در حضور نانو دی‌اکسید تیتانیوم با کاربرد نیترو پروساید سدیم میانگین زمان جوانه‌زنی کاهش یافت (شکل ۳ الف). بر اساس برهمکنش سه‌گانه نانو دی‌اکسید تیتانیوم × نیترو پروساید سدیم × تنش شوری، تیمار نانو دی‌اکسید تیتانیوم (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نیترو پروساید سدیم (۱۰۰ میکرومولار) کمترین میانگین زمان جوانه‌زنی را در شوری ۵۰ میلی‌مولار و عدم تنش به خود اختصاص داد. همچنین کاربرد ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم و نیترو پروساید سدیم کمترین میانگین زمان جوانه‌زنی را در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار داشت (شکل ۳ الف). تیمار نانو دی‌اکسید تیتانیوم (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) + نیترو پروساید سدیم میانگین زمان جوانه‌زنی را از ۳/۴۹ به ۲/۴۱ روز تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کاهش داد (شکل ۳ الف). در پژوهشی بر روی بذر رازیانه نشان داده شد که استفاده از ۴۰ پی‌پی‌ام نانو دی‌اکسید تیتانیوم میانگین زمان جوانه‌زنی را ۳/۱/۸ درصد کاهش داد (Feizi *et al.*, 2013). محمودزاده و همکاران (Mahmoodzadeh *et al.*, 2013) نیز گزارش نمودند که غلظت‌های ۱۰۰۰ تا ۱۷۰۰ میلی‌گرم نانو دی‌اکسید تیتانیوم در لیتر موجب کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی بذور کلزا می‌شود. از آنجایی که میانگین زمان جوانه‌زنی با سرعت جوانه‌زنی رابطه عکس دارد، به نظر





شکل ۳- تأثیر نانو دی اکسید تیتانیوم و نیترو پروساید سدیم بر میانگین زمان جوانه زنی (الف) و محتوای رطوبت نسبی (ب) جو تحت تنش شوری

Figure 3. Effect of n-TiO<sub>2</sub> and SNP on mean germination time (A) and relative water content (B) of barley under salinity stress

را ۱۰/۶ و ۱۹/۲ درصد تحت سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار افزایش داد (شکل ۴ ب).

بر اساس یافته های حاصل از آزمایش، میزان فعالیت آنزیم های SOD، APX و CAT گیاهچه ی جو در اثر تیمار با نانو دی اکسید تیتانیوم و نیترو پروساید سدیم افزایش یافته است. در این رابطه مطالعه بر روی گیاه گوجه فرنگی نشان داد نانو دی اکسید تیتانیوم با افزایش فعالیت آنزیم های SOD و POX موجب بهبود خصوصیات رشدی گیاه تحت شرایط تنش شوری می گردد ( Nasir Khan, 2016). محمدی و همکاران ( Mohammadi *et al.*, 2014) نیز اظهار نمودند که نانو دی اکسید تیتانیوم با تاثیر بر بیان ژن های آنزیم های آنتی اکسیدانت و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز موجب تعدیل اثر مخرب تنش بر گیاه نخود شده است. در آزمایشی دیگر بر روی کلزا مشاهده شد که غلظت های مختلف نانو دی اکسید تیتانیوم موجب افزایش فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز گردیده است (Li *et al.*, 2015). همچنین تاثیر مثبت SNP بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت اثبات شده است. در همین رابطه مانایی و همکاران ( Manai *et al.*, 2014) اظهار نمودند که نیتریک اکسید می تواند با فعال کردن آنتی اکسیدانت ها در گیاه سبب کاهش آسیب اکسیداتیو شده و منجر به بهبود صفات فیزیولوژیکی گیاه گوجه فرنگی تحت تنش شوری شود.

است که با تشدید شوری میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافته است (جدول ۳). علاوه بر شوری، میزان فعالیت آنزیم های SOD و APX تحت تاثیر ترکیبات n-TiO<sub>2</sub> و SNP قرار گرفتند. بر اساس برهمکنش سه گانه نانو دی اکسید تیتانیوم، نیترو پروساید سدیم و تنش شوری ملاحظه می شود در حضور n-TiO<sub>2</sub> (۵۰۰ میلی گرم) و مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیترو پروساید سدیم فعالیت آنزیم های SOD و APX به ترتیب ۲۸ و ۱۶/۸ درصد نسبت به تیمار شاهد در تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار افزایش یافته است (جدول ۳). در رابطه با آنزیم کاتالاز، علاوه بر اثرات ساده ی فاکتورهای نانو دی اکسید تیتانیوم، نیترو پروساید سدیم و تنش شوری، برهمکنش نانو دی اکسید تیتانیوم × شوری و برهمکنش نیترو پروساید سدیم × شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی دار بود (جدول ۱). تیمار ۵۰۰ میلی گرم در لیتر n-TiO<sub>2</sub> فعالیت آنزیم کاتالاز را در شرایط شوری ۵۰ میلی مولار و عدم تنش افزایش داد اما در شوری ۱۰۰ میلی مولار بین غلظت های مختلف نانو دی اکسید تیتانیوم اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۴ الف). همچنین برهمکنش نیترو پروساید سدیم × شوری بر آنزیم کاتالاز نشان داد که استفاده از نیترو پروساید سدیم تحت سطوح مختلف شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به تیمار شاهد شده است (شکل ۴ ب). برای مثال، کاربرد ۱۰۰ میکرومولار نیترو پروساید سدیم فعالیت آنزیم کاتالاز

آنزیم‌ها، آسیب به اندامک‌های سلولی، از بین بردن غشاء و نهایتاً منجر به مرگ سلولی در گیاهان شوند (Suzuki *et al.*, 2012). به نظر می‌رسد نانو دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز موجب کاهش آسیب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه کاهش نشت الکترولیتی غشاء شده است. در گیاه نخود نیز مشاهده شد استفاده از نانو دی‌اکسید تیتانیوم موجب استحکام غشاء سلول‌های ریشه با کاهش نشت الکترولیت و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها شده و افزایش مقاومت گیاه به تنش را به دنبال داشته است (Mohammadi *et al.*, 2013). شایان ذکر است تاثیر مثبت نیترو پروساید سدیم نیز در کاهش آسیب گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش سلامت غشاء توسط دیگر محققین منتشر شده است (He *et al.*, 2009; Nasibi *et al.*, 2014).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش، اثر متقابل سه جانبه نانو دی‌اکسید تیتانیوم × نیترو پروساید سدیم × تنش شوری بر درصد نشت الکترولیتی غشاء در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). درصد نشت الکترولیتی غشاء با تشدید تنش شوری افزایش یافت. در چنین شرایطی استفاده از نانو دی‌اکسید تیتانیوم و تخفیف دهنده‌ی نیترو پروساید سدیم موجب کاهش درصد نشت الکترولیتی غشاء گردید (جدول ۳). میزان کاهش در تیمار n-TiO<sub>2</sub> (به خصوص ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر) و SNP بیشتر از دیگر تیمارها در شرایط تنش شوری بود (جدول ۳). تیمار نانو دی‌اکسید تیتانیوم (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) + نیترو پروساید سدیم نشت الکترولیتی غشاء را ۱۸ درصد تحت تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کاهش داد (جدول ۳) این برتری در دیگر تیمارها نیز مشاهده شد. به طور کلی در تنش‌های محیطی و زنده گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند موجب غیر فعال کردن

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل نانو ذره تیتانیوم، نیترو پروساید سدیم و تنش شوری بر صفات مورد بررسی در جو

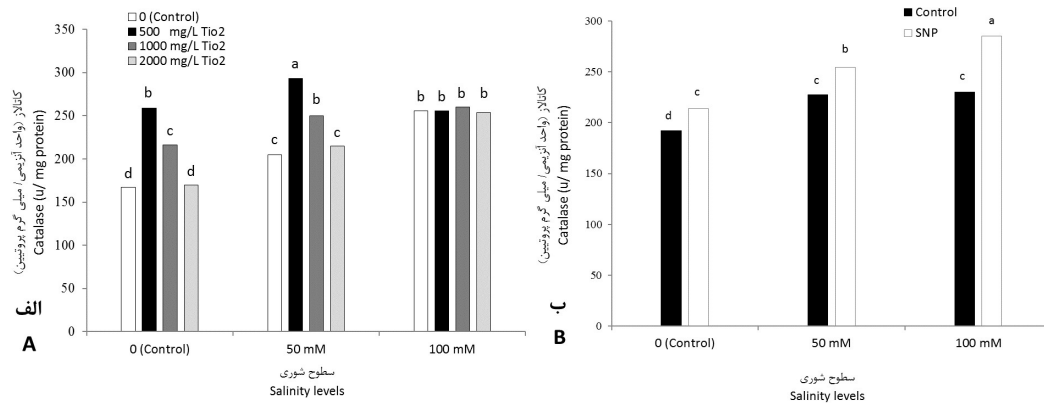
Table 3. Mean comparison of n-TiO<sub>2</sub>, SNP and Salinity stress interaction on barley studied traits

شوری (میلی‌مولار) Salinity (mM)	تیمارها Treatments		سوپر اکسید دیسموتاز (واحد بر میلی‌گرم پروتیین) SOD (u/ mg protein)	آسکوربات پراکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتیین) APX (u/ mg protein)	نشت الکترولیتی (درصد) Electrolyte Leakage (%)	
	نانو دی‌اکسید تیتانیوم (میلی‌گرم بر لیتر) TiO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	نیترو پروساید سدیم (میکرو مولار) SNP (µM)				
0	0	0	16.08 k	1.04 jk	43.18 klm	
		100	17.12 jk	1.44 defgh	40.53 m	
	500	0	21.72 fgh	1.62 cd	61.25 d	
		100	24.37 de	1.27 ghi	54.63 efg	
	1000	0	19.08 ij	1.39 efgh	52.53 fghi	
		100	20.88 ghi	1.07 ijk	48.01 hijk	
	2000	0	16.08 k	0.94 k	42.21 lm	
		100	16.76 jk	1.25 ghij	40.53 m	
	50	0	0	18.77 ij	1.40 efgh	52.83 fgh
			100	21.01 ghi	1.59 cde	47.23 ijkl
500		0	23.90 def	1.81 bc	68.20 c	
		100	27.15 c	1.46 defg	60.06 de	
1000		0	21.99 efgh	1.52 def	57.48 def	
		100	22.88 defg	1.23 hij	55.26 efg	
2000		0	18.50 ijk	1.32 fgh	49.88 ghij	
		100	19.82 hi	1.45 defgh	46.57 jkl	
100		0	0	21.80 fgh	1.63 cd	61.74 d
			100	24.57 d	1.34 fgh	54.81 efg
	500	0	20.20 hi	2.01 ab	76.03 a	
		100	30.28 a	1.96 ab	50.83 ghij	
	1000	0	27.61 bc	1.98 ab	74.78 ab	
		100	29.80 ab	1.88 b	69.30 bc	
	2000	0	28.25 abc	1.99 ab	74.97 a	
		100	29.86 ab	2.13 a	70.94 abc	

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند

Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 5% level, according to LSD.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 5% level, according to LSD.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل نانو دی‌اکسید تیتانیوم × شوری بر میزان آنزیم کاتالاز (الف). مقایسه

میانگین اثر متقابل نیترو پروساید سدیم × شوری بر میزان آنزیم کاتالاز (ب) در جو

**Figure 4. Mean comparison of n-TiO<sub>2</sub> × Salinity Interaction on Catalase enzyme content (A) Mean comparison of SNP × Salinity Interaction on Catalase enzyme content (B) in barley**

های نانو دی‌اکسید تیتانیوم، تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم تاثیر کمتری در مقایسه با سایر غلظت‌ها در شرایط بدون تنش داشت. کاربرد ۱۰۰ میکرومولار نیترو پروساید سدیم در شرایط تنش شوری اثرات منفی تنش بر روی مولفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه را تعدیل نمود ولی تاثیر آن در شرایط بدون تنش شوری بر اکثر صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود. بنابراین به نظر می‌رسد کاربرد نیترو پروساید سدیم در غلظت مذکور در حضور نانو دی‌اکسید تیتانیوم در محیط جوانه زنی با تعدیل اثرات بازدارنده کلرید سدیم طی تنش شوری، بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی گیاهچه‌های جو رقم افضل تاثیر مناسبی دارد.

#### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد افزایش غلظت کلرید سدیم در محیط جوانه زنی با کاهش جذب آب توسط بذور سبب کاهش محتوی رطوبت نسبی، آسیب به غشاء و در نتیجه افزایش میزان نشت الکترولیتی شد و به دنبال آن کاهش معنی‌دار در شاخص‌های جوانه‌زنی رخ داد. غلظت‌های مختلف نانو دی‌اکسید تیتانیوم تاثیر متفاوتی بر روی صفات مورد مطالعه در شرایط تنش شوری و عدم شوری داشت. حضور نانو دی‌اکسید تیتانیوم در محیط جوانه‌زنی به ویژه در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب بهبود صفات جوانه‌زنی، محتوی رطوبت نسبی برگ در گیاهچه و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به ویژه سوپر اکسید دیسموتاز در تنش شوری گردید. در بین غلظت-

#### منابع

- Abdul-Baki, A. A. and Anderson, J. D. 1973. Vigour determination in soybean by multiple criteria. *Crop Science*. 10: 4-31. **(Journal)**
- Baiazidi Aghdam, M. T., Mohammadi, H. and Ghorbanpour, M. 2016. Effects of nanoparticulate anatase titanium dioxide on physiological and biochemical performance of *Linum usitatissimum* (Linaceae) under well-watered and drought stress conditions. *Brazilian Journal of Botany*. 39: 139-146. **(Journal)**
- Bajji, M., Kinet, J. M. and Lutts, S. 2002. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae). *Canadian Journal of Botany*. 80: 297-304. **(Journal)**
- Besson-Bard, A., Courtois, C., Gauthier, A., Dahan, J., Dobrowolska, G., Jeandroz, S. and Wendehenne, D. 2008. Nitric oxide in plants: production and cross-talk with Ca<sup>2+</sup> signaling. *Molecular Plant*. 1: 218-228. **(Journal)**

- Bowler, C., Slooten, L., Vandenbranden, S., De Rycke, R., Botterman, J., Sybesma, C., Van Montagu, M. and Inzé, D. 1991. Manganese superoxide dismutase can reduce cellular damage mediated by oxygen radicals in transgenic plants. *The EMBO Journal*. 10: 1723-1732. **(Journal)**
- Britton, C. and Mehley, A. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*. 2: 764-775. **(Journal)**
- Chutipaijit, S. 2015. Establishment of condition and nano particle factors influencing plant regeneration from aromatic rice (*Oryza sativa*). *International Journal of Agriculture & Biology*. 17: 1049-1054. **(Journal)**
- Djanaguiraman, M. and Prasad, P. V. 2013. Effects of salinity on ion transport, water relations and oxidative damage. In *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*. Springer New York. pp: 89-114.
- Ellis, R. H. and Roberts, E. H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*. 9: 377-409. **(Journal)**
- Farahani, H. A., Sani, B. and Maroufi, K. 2012. The germination variations in fleawort (*Plantago psyllium* L.) by nano-particle. International conference on biotechnology, nanotechnology and its application. 17-18 March, Bangkok, Thailand. pp: 43-46. **(Journal)**
- Fathi Amirkhiz, K., Omid, H., Heshmati, S. and Jafarzadeh, L. 2012. Expedited review on the vigor of the herb black seed germination characteristics (*Nigella sativa* L.) under salt stress. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 10: 299-310. (In Persian) **(Journal)**
- Feizi, H., Kamali, M., Jafari, L. and Rezvani-Moghaddam, P. 2013. Phytotoxicity and stimulatory impacts of nanosized and bulk titanium dioxide on fennel (*Foeniculum vulgare*). *Chemosphere*. 91: 506-511. (In Persian) **(Journal)**
- Frazier, T. P., Burklew, C. E. and Zhang, B. 2014. Titanium dioxide nanoparticles affect the growth and microRNA expression of tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Funct Integr Genomics*, 14: 75-83.
- Ghadi, N. A. 2014. Invest age of effects of Sodium Nitroprusside on Plant (Review). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 7: 610-615. **(Journal)**
- Gogos, A., Knauer, K. and Bucheli, T. 2012. Nanomaterials in plant protection and fertilization: current state, foreseen applications, and research priorities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60: 9781-9792. **(Journal)**
- Guo, Y., Tian, Z., Yan, D., Zhang, J. and Qin, P. 2009. Effects of nitric oxide on salt stress tolerance in *Kosteletzkya virginica*. *Life Sciences Journal*. 6: 67-75. **(Journal)**
- Hashemi Dehkourdi, E. and Mosavi, M. 2013. Effect of anatase nanoparticles (TiO<sub>2</sub>) on parsley seed germination (*Petroselinum crispum*) In Vitro. *Biological Trace Element Research*. 155: 283-286. (In Persian) **(Journal)**
- He, J., Ren, Y., Chen, X. and Chen, H. 2014. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. *Ecotoxicology and environmental safety*. 108: 114-119. **(Journal)**
- Ibrahim, E. A. 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*. 192: 38-46. **(Journal)**
- Jaberzadeh, A., Moaveni, P., Moghadam, H. R. T. and Zahedi, H. 2013. Influence of bulk and nanoparticles titanium foliar application on some agronomic traits, seed gluten and starch contents of wheat subjected to water deficit stress. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 41: 201-207. (In Persian) **(Journal)**
- Kafi, M., Nezami, A., Hoseyni, H. and Masoomi, A. 2009. Physiological effects of drought stress by polyethylene glycol on germination of lentil (*Lens culinaris Medik* L.) genotypes. *Journal of Iranian Field Crop Research*. 1: 69-79. (In Persian) **(Journal)**
- Khan, M. A. and Ungar, I. A. 1984. The effect of salinity stress and temperature on the germination of polymorphic seeds and growth of *atriplex triangularis* willd. *American Journal of Botany*. 71: 481-489. **(Journal)**
- Khan, M. A., Ungar, I. A. and Showalter, A. M. 2000. The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. *Journal of Arid Environments*. 45: 73-84. **(Journal)**
- Khot, L. R., Sankaran, S., Maja, J. M., Ehsani, R. and Schuster, E. W. 2012. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. *Crop Protection*. 35: 64-70. **(Journal)**

- Kiapour, H., Moaveni, P., Habibi, D. and Sani, B. 2015. Evaluation of the application of gibberellic acid and titanium dioxide nanoparticles under drought stress on some traits of basil (*Ocimum basilicum* L.). International Journal of Agronomy and Agricultural Research. 6: 138-150. **(Journal)**
- Lu, C. M., Zhang, C. Y., Wen, J. Q., Wu, G. R. and Tao, M. X. 2002. Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism. Soya Bean Science. 21: 168-172. **(Journal)**
- Mahmoodzadeh, H. and Aghili, R. 2014. Effect on germination and early growth characteristics in wheat plants (*Triticum aestivum* L.) seeds exposed to TiO<sub>2</sub> nanoparticles. Journal of Chemical Health Risks. 4: 29-36. (In Persian) **(Journal)**
- Mahmoodzadeh, 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: 25-32. (In Persian) **(Journal)**
- Manai, J., Gouia, H. and Corpas, F. J. 2014. Redox and nitric oxide homeostasis are affected in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) roots under salinity-induced oxidative stress. Journal of plant physiology. 171: 1028-1035. **(Journal)**
- Misra, P., Shukla, P. K., Pramanik, K., Gautam, S. and Kole, C. 2016. Nanotechnology for crop improvement. Plant Nanotechnology. Springer International Publishing, pp: 219-256.
- Mohammadi, R., Maali-Amiri, R. and Abbasi, A. 2013. Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on chickpea response to cold stress. Biological Trace Element Research. 152: 403-410. (In Persian) **(Journal)**
- Mohammadi, R., MaaliAmiri, R. and Mantri, N. L. 2014. Effect of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles on oxidative damage and antioxidant defense systems in Chickpea seedlings during cold stress. Russian Journal of Plant Physiology. 61: 768-775. (In Persian) **(Journal)**
- Nakano, Y. and Asada, K. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydro ascorbate radical. Plant Cell Physiology. 28: 131-140. **(Journal)**
- Nasibi, F., Kalantari, K. M. and Khodashenas, M. 2009. The effect of sodium nitroprusside (SNP) pretreatment on some biochemical parameters in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum* L.) under drought stress. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 16: 121-133. (In Persian) **(Journal)**
- Nasir Khan, M. 2016. Nano-titanium dioxide (nano-TiO<sub>2</sub>) mitigates NaCl stress by enhancing antioxidative enzymes and accumulation of compatible solutes in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Journal of Plant Science. 11: 1-11. **(Journal)**
- Nazar, R., Iqbal, N., Syeed, S. and Khan, N. A. 2011. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. Journal of plant physiology, 168: 807-815.
- Pais, I. 1983. The biological importance of titanium. Journal of Plant Nutrition. 6: 3-131. **(Journal)**
- Qazvini, H. A., Yousefi, A. and Islam majidi, H. 2002. Afzal barley, suitable for planting in salty lands in temperate region of country. Technical Publications of vice-presidency of agricultural extension, pp: 1-2. (In Persian)
- Seabra, A. B., Rai, M. and Duran, N. 2015. Emerging role of nanocarriers in delivery of nitric oxide for sustainable agriculture. Nanotechnologies in Food and Agriculture. Springer International Publishing, pp: 183-207.
- Sepehri, A. and Rouhi, H. R. 2016. Enhancement of Seed Vigor Performance in Aged Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Seeds by Sodium Nitroprusside under Drought Stress. Philippine Agricultural Scientist. 99: 339-347. **(Journal)**
- Shalaby, E. E., Epstein, E. and Qualset, O. C. 1993. Variation in salt tolerance among some wheat and triticale genotypes. Journal of Agronomy and Crop Science. 171: 298-304. **(Journal)**
- Siddiqui, M. H. and Al-Whaibi, M. H. 2014. Role of nano-SiO<sub>2</sub> in germination of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Saudi Journal of Biological Sciences. 21: 13-17.
- Suzuki, N., Koussevitzky, S., Mittler, R. O. N. and Miller, G. A. D. 2012. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. Plant, Cell and Environment. 35: 259-270. **(Journal)**

- Tan, B. C., Chin, C. F. and Alderson, P. 2013. Effects of sodium nitroprusside on shoot multiplication and regeneration of *Vanilla planifolia* Andrews. In *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 49: 626-630. **(Journal)**
- Zhang, Y., Wang, L., Liu, Y., Zhang, Q., Wei, Q. and Zhang, W. 2006. Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport in the tonoplast. *Planta*, 224: 545–555. **(Journal)**
- Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Liu, W., Jing, Q. and Cao, W. 2009. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 67: 222-227. **(Journal)**
- Zheng, L., Hong, F., Lu, S. and Liu, C. 2005. Effect of nano-TiO<sub>2</sub> on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. *Biological Trace Element Research*, 105: 83-91. **(Journal)**



## Effect of Nano Titanium Dioxide and Sodium nitroprusside on seed germination, vigor index and antioxidant enzymes of Afzal barley seedling under salinity stress

Afshin Karami<sup>1</sup>, Ali Sepehri<sup>\*2</sup>

Received: March 26, 2017

Accepted: September 12, 2017

### Abstract

Salinity is the most important factor limiting growth and yield of crops in many area of the world. In order to study the effects of nano-TiO<sub>2</sub> (0, 500, 1000, 2000 mg/L) and sodium nitroprusside (0 and 100 μM) on seed germination and antioxidant content of barley (var. Afzal) under salinity stress (0, 50 and 100 mM Sodium chloride) a factorial experiment based on a completely randomized design with four replications was conducted. Salinity stress declined the germination indices such as, germination percentage, germination rate, radicle length, plumule length, vigor index, mean germination time, relative water content and increased the membrane electrolyte leakage. In the presence of nano-TiO<sub>2</sub>, most of germination indices improved and the content of CAT, APX and especially SOD enzymes increased. Use of Sodium nitroprusside diminished the adverse effects of salinity stress and decreased the membrane electrolyte leakage. Also the interaction effect of sodium nitroprusside and nano-TiO<sub>2</sub> was significant on the most studied traits. Nano-TiO<sub>2</sub> (500 mg/L) with SNP improved SOD, APX and CAT enzyme contents by about 28, 16.8 and 17.9 % under 100 Mm salinity stress. According to the results, it seems that sodium nitroprusside diminished the adverse effects of salinity stress and impressed the nano-TiO<sub>2</sub> performance on barley germination indices and antioxidant enzymes content.

**Keywords:** Nano particle, Sodium chloride, Stress ameliorator

### How to cite this article

Karami, A. and Sepehri, A. 2018. Effect of Nano Titanium Dioxide and Sodium nitroprusside on seed germination, vigor index and antioxidant enzymes of Afzal barley seedling under salinity stress. Iranian Journal of Seed Science and Research, 5(3): 47-61. (In Persian)(**Journal**)

DOI: [10.22124/jms.2018.2934](https://doi.org/10.22124/jms.2018.2934)

### 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/>

1. Ph.D Student in Agronomy, Crop Physiology, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

\*Corresponding author's Email: [Sepehri110@yahoo.com](mailto:Sepehri110@yahoo.com)