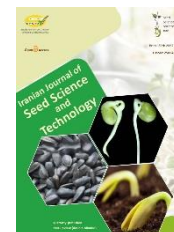




Iranian Journal of Seed Science and Technology



ISSN: 2588-4638

Research Article

Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles on Germination and Physiological Characteristics of Cowpea (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*) Seedling under Drought Stress

Ali Ebadi^{1*} , Fatemeh Ahmadnia²

1. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
2. Ph.D Graduate, Crop Physiology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Article Information

Received: 24 Jun. 2025

Revised: 06 Oct. 2025

Accepted: 12 Oct. 2025

Keywords:

Enzyme,
Germination rate,
Radicle length,
Scanning electron microscope
images,
Seedling.

Corresponding Author:

ebadi@uma.ac.ir

Abstract

One of the most critical limiting factors for cowpea seed germination (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*) is drought stress. This study aimed to examine the effect of seed priming with titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles (NPs) under drought stress conditions, using a factorial experiment in a completely randomized design with three replications. Treatments included seed priming with TiO₂ NPs at concentrations of 0, 25, and 50 mg L⁻¹ and drought stress levels at 0, -0.025, -0.050, -0.075, and -0.1 MPa induced by polyethylene glycol 6000. Results showed broad absorption peaks in the ranges of 800–500 cm⁻¹ and 3600–3200 cm⁻¹, corresponding to Ti-O-Ti and O-H stretching vibrations, respectively. The TiO₂ NPs exhibited a spherical shape. Increasing drought stress significantly decreased germination percentage and both length and weight indices of the seedlings. The lowest germination percentage was recorded at -0.1 MPa osmotic potential, with a 83% reduction compared to the control. Seed priming with TiO₂ NPs at 25 and 50 mg L⁻¹ did not significantly affect germination; however, the 50 mg L⁻¹ concentration had a negative impact on seed germination traits. Seed priming at 25 mg L⁻¹ increased seedling plumule length by 15%. Additionally, the seed vigor index increased at this concentration across all drought stress levels. Catalase enzyme activity and proline content at (-0.1 MPa) osmotic potential increased by 18% and 56%, respectively, compared to the control. These results demonstrate a concentration-dependent effect of TiO₂ NPs in enhancing germination and the length and weight indices of cowpea seedlings.

How to cite this paper: Ebadi, A., & Ahmadnia, F. (xxxx). Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles on Germination and Physiological Characteristics of Cowpea (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*) Seedling under Drought Stress. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, xx (x), XX-XX. <https://doi.org/10.22092/ijst.2025.369865.1564>



© Authors, Published by Iranian Journal of Seed Science and Technology. This is an open-access article distributed under the CC BY (license <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) is a plant with high nutritional value. It is widely cultivated in approximately 65 countries, particularly in the dry regions of tropical and subtropical areas. Cowpea is a relatively drought-resistant plant. However, the germination and initial vegetative growth of this plant determine the number of established plants per unit area and their yield. One method of improving seed germination is to prime seeds with nanoparticles, a process known as nano-priming. Titanium dioxide (TiO₂) is a nanoparticle that enhances abiotic stresses. Therefore, considering the irreversible effects of drought stress, this experiment was conducted to investigate the role of titanium dioxide nanoparticles in alleviating the severity of drought stress caused by polyethylene glycol.

Materials and Methods

The experiment was conducted in winter 2024 at the Seed Science and Technology Laboratory of the Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili. A factorial experiment was conducted based on completely randomized design with three replications. The experimental treatments included priming cowpea (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*) seeds with titanium dioxide nanoparticles at levels of 0, 25, and 50 mg L⁻¹, along with drought stress at osmotic potentials of 0, -0.025, -0.050, -0.075, and -0.1 MPa. Drought stress was calculated and applied using polyethylene glycol 6000 based on Michel & Kaufmann (1973). Titanium dioxide nanoparticles were synthesized by the sol-gel method. The identification of the types of bonds and functional groups in the synthesized nanoparticles was performed using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR, Perkin Elmer Spectrum RX I), and the structural morphology of the nanoparticles was investigated using scanning electron microscopy (SEM, LEO 1430VP). Cowpea seeds, were treated with a 1% sodium hypochlorite solution for one minute and immersed in nano-priming solutions for 3 hours. Then, the seeds were dried for 72 hours at an ambient temperature of 21±2°C. Twenty healthy seeds were placed in each Petri dish without filter paper; after applying drought stress, they were packaged in transparent plastic bags to prevent moisture loss. The Petri dishes were kept in a germinator at 25°C in the dark. Germinated seeds were counted for seven days based on the criterion of healthy root emergence from the seeds. Plumule length, radicle length, seedling fresh weight, and

seedling dry weight were measured at the end of the seventh day using a ruler and scale with an accuracy of 0.0001 gram. Proline content, catalase enzyme activity, and lipid peroxidation were also measured.

Results and discussion

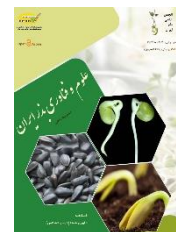
The results of the chemical structure and functional group analysis (FTIR) of the synthesized titanium dioxide nanoparticles showed that the broad absorption peaks in the region of 500-800 cm⁻¹ and 3200-3600 cm⁻¹ were related to the stretching vibrations of the Ti-O-Ti and O-H groups. Also, scanning electron microscope images (SEM) indicated that the titanium dioxide nanoparticles have a spherical structure. Increasing drought stress significantly decreased germination percentage and both length and weight indices of the seedlings. The lowest germination percentage was recorded at -0.1 MPa osmotic potential, with an 83% reduction compared to the control. Seed priming with TiO₂ NPs at 25 and 50 mg L⁻¹ did not significantly affect germination; however, the 50 mg L⁻¹ concentration had a negative impact on seed germination traits. Seed priming at 25 mg L⁻¹ increased seedling plumule length by 15%. Additionally, the seed vigor index increased at this concentration across all drought stress levels. Catalase enzyme activity and proline content at -0.1 MPa osmotic potential increased by 18% and 56%, respectively, compared to the control. Increasing the concentration of titanium dioxide nanoparticles caused a 14, 15, 50, and 25% decrease in germination, germination rate, radicle and plumule length, respectively, and a 5% increase in catalase enzyme activity compared to control.

Conclusion

Drought stress caused by polyethylene glycol significantly reduced the germination, length, and growth indices of cowpea seedlings. Concentrations of 25 mg L⁻¹ of titanium dioxide nanoparticles alleviated the severity of stress, and cowpea seedlings displayed better growth indices compared to those without seed priming. Increasing the concentration of titanium dioxide nanoparticles to 50 mg L⁻¹ resulted in synergistic effects under stress conditions and enhanced the activity of both enzymatic and non-enzymatic antioxidants. The effect of titanium dioxide nanoparticles in mitigating the severity of drought stress on cowpea seed germination was strongly dependent on the concentration of titanium dioxide nanoparticles.



نشریه علوم و فناوری بذر ایران



ISSN: 2588-4638

مقاله پژوهشی

اثر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر جوانه زنی و ویژگی های فیزیولوژیک گیاهچه لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*) تحت تنش خشکی

علی عبادی^{۱*}، فاطمه احمدنیا^۲

۱. استاد، فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه آموزشی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲. دانش آموخته دکتری، فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه آموزشی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۷/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۰

واژه های کلیدی:

آنزیم،
تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی،
سرعت جوانه زنی،
طول ریشه چه و گیاهچه.

نویسنده مسئول:

ebadi@uma.ac.ir



یکی از مهمترین عوامل محدودکننده جوانه زنی بذر لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*) تنش خشکی است. این تحقیق با هدف بررسی پیش تیمار بذر با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) در شرایط تنش خشکی، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل پیش تیمار بذر با نانوذرات TiO_2 (صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر) و تنش خشکی (صفر، ۰/۲۵-، ۰/۵۰-، ۰/۷۵- و ۱- مگاپاسگال با استفاده از پلی اتیلن گلاکول ۶۰۰۰) بود. نتایج نشان داد که پیک های جذبی پهن در ناحیه cm^{-1} ۵۰۰-۸۰۰ و cm^{-1} ۳۶۰۰-۳۲۰۰ مربوط به ارتعاشات کششی گروه های Ti-O-Ti و O-H بودند. نانوذرات TiO_2 شکل کروی داشتند. افزایش تنش خشکی به طور قابل توجهی درصد جوانه زنی و شاخص های طولی و وزنی را کاهش داد. کمترین درصد جوانه زنی بذر در پتانسیل اسمزی ۱- مگاپاسگال ثبت شد که در مقایسه با شاهد ۸۳ درصد کاهش یافت. پیش تیمار بذر با غلظت های ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر TiO_2 تفاوت معنی داری در افزایش جوانه زنی بذر نداشت، با این حال غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات TiO_2 اثر منفی بر ویژگی های جوانه زنی بذر داشت. پیش تیمار با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات TiO_2 سبب افزایش ۱۵ درصدی طول ساقه چه شد. همچنین شاخص بنبه بذر در این غلظت در تمام سطوح تنش خشکی افزایش یافت. فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوی پروتئین در پتانسیل اسمزی ۱- مگاپاسگال در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱۸ و ۵۶ درصد افزایش یافت. نتایج نشان دهنده اثر وابسته به غلظت نانوذرات TiO_2 در بهبود جوانه زنی و شاخص های طولی و وزنی گیاهچه لوبیا چشم بلبلی بود.

نحوه استناد به این مقاله:

Ebadi, A., & Ahmadnia, F. (xxxx). Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles on Germination and Physiological Characteristics of Cowpea (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*) Seedling under Drought Stress. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, xx (x), XX-XX. <https://doi.org/10.22092/ijssst.2025.369865.1564>

مقدمه

پیش‌بینی‌های انجام یافته براساس افزایش جمعیت و تغییرات اقلیمی نیاز به پایداری در عرضه جهانی غذا و افزایش بازده محصولات کشاورزی را تا سال ۲۰۵۰ آشکار کرده است (Olorunwa et al., 2021). تغییرات اقلیمی منجر به افزایش تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش خشکی و ایجاد محدودیت در تولیدات کشاورزی می‌شود (Gerland et al., 2014; Olorunwa et al., 2021). افزایش نوسانات محیطی در بسیاری از مناطق کشاورزی، فراوانی، شدت و مدت دوره‌های خشکی را افزایش داده است و این امری تهدیدآمیز برای پایداری در کشاورزی است (Cook et al., 2014; Cramer et al., 2011). تنش خشکی ناشی از کاهش رطوبت خاک، باعث کاهش قابل توجه عملکرد در بسیاری از محصولات کشاورزی از جمله لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) شده است (Osakabe et al., 2014). لوبیا چشم بلبلی که به عنوان لوبیای چشم سیاه^۱ یا لوبیا جنوبی^۲ شناخته می‌شود، یک محصول کشاورزی با کاربردی‌های متنوع برای انسان، دام، بهبوددهنده شرایط خاک و غیره است (da Silva et al., 2018). لوبیا چشم بلبلی به طور تقریبی حاوی ۲۵ درصد محتوی پروتئین با کیفیت بالا به شکل اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها، اسید فولیک، کلروفیل، کارتنوئیدها، فنول‌ها و مواد معدنی ضروری است (Carvalho et al., 2019). این گیاه به طور گسترده در حدود ۶۵ کشور، به ویژه در مناطق خشک کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری کشت می‌شود (Singh, 2020). فائو مساحت تخمینی جهانی برای تولید لوبیا چشم بلبلی را تقریباً ۱۲/۵ میلیون هکتار با تولید سالانه هفت میلیون تن و میانگین عملکرد ۵۸۹ کیلوگرم در هکتار گزارش کرده است (FAOSTAT, 2020). با این حال، میانگین عملکرد جهانی در مزارع کشاورزی غالباً کمتر از پتانسیل مطلوب عملکرد لوبیا چشم بلبلی است، که معادل ۶۰۰۰ کیلوگرم در هکتار تخمین

زده شده است (FAOSTAT, 2020). مطالعات پیشین، مهمترین دلیل کمبود عملکرد این گیاه را به تغییرات اقلیمی و تنش خشکی نسبت داده‌اند (Goufo et al., 2017; Nadeem et al., 2019). اگرچه لوبیا چشم بلبلی گیاهی مقاوم به خشکی است، اما گزارش شده است که کاهش شدید رطوبت خاک در اوایل رشد رویشی می‌تواند به طور قابل توجهی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک این گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Ravelombola et al., 2018). در بررسی دیگری پژوهشگران گزارش کرده‌اند که ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا چشم بلبلی با افزایش پتانسیل اسمزی ناشی از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ به آستانه ۰/۴- مگاپاسکال دچار اختلال در فرآیند جوانه‌زنی و مشخصه‌های وابسته به آن می‌شوند (Paiva et al., 2018).

پیش تیمار بذر یکی از روش‌های تحریک مقاومت در بذرهای گیاهی برای مقابله با تنش‌های زیستی و غیر زیستی است که پیش از کاشت بذر انجام می‌گیرد (Imtiaz et al., 2023; Nil et al., 2022). هیدروپرایمینگ^۳، اسموپرایمینگ^۴، پرایمینگ هورمونی^۵، بیوپرایمینگ^۶، هالوپرایمینگ^۷، مگنتوپرایمینگ^۸ و نانوپرایمینگ نمونه‌های از روش‌های پیش تیمار بذر هستند که غالباً با هدف افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر، رشد و نمو گیاهچه، افزایش تحمل به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، شکست خواب بذر و افزایش عملکرد محصول انجام می‌گیرند (Acharya et al., 2020; Imtiaz et al., 2023; Nil et al., 2022; Torr-Roche et al., 2020; Wagas et al., 2019).

پیش تیمار بذر با نانوذرات در مقایسه با سایر روش‌های ذکر شده، رویکرد جدیدی است که کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. در این روش بذر با نانوذراتی با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر، بیشتر به منظور افزایش تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی پیش تیمار می‌شود (Abbasi Khalaki et al., 2021; Chandrasekaran et al., 2020; Kandhol et al., 2022).

¹ Black eyed pea² Southern pea³ Hydro-priming⁴ Osmo-priming⁵ Hormonal priming⁶ Bio-priming⁷ Halo-priming⁸ Magneto-priming

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل براساس طرح کامل تصادفی با سه تکرار در زمستان ۱۴۰۳ در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده علوم و فناوری کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل پیش تیمار بذر لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در سطوح صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر و تنش خشکی در پتانسیل‌های اسمزی صفر، -۰/۰۲۵، -۰/۰۵۰، -۰/۰۷۵ و -۰/۱- مگاپاسکال بود. تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ براساس معادله میشل و کافمن (Michel & Kaufmann, 1973) محاسبه و اعمال شد.

$$\Psi_s = -(1.18 \times 10^{-2})C - (1.18 \times 10^{-4})C^2 + (2.67 \times 10^{-4})CT + (8.39 \times 10^{-7})C^2T \quad (۱) \text{ رابطه}$$

نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر اساس روش سل ژل سنتز شدند (Ebadi et al., 2025; Pazhouhan et al., 2016). شناسایی نوع پیوندها و گروه‌های عاملی در نانوذرات سنتز شده با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR, Perkin Elmer Spectrum RX I)، بررسی شکل ساختاری نانوذرات با استفاده از تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, LEO 1430VP) انجام شد. غلظت‌های مختلف نانوذرات دی اکسید تیتانیوم پس از توزین توسط ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم (Satorius, SECURA124-1A, Germany) با یک لیتر آب مقطر مخلوط شده و تحت تأثیر امواج التراسوند در دستگاه التراسونیک (Bandelin DT 255 H) همگن شدند.

بذر لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* subsp. unguiculata) از مرکز تحقیقات استان اردبیل (پارس آباد مغان) در سال ۱۴۰۳ تهیه شد. جهت ضد عفونی بذر ها از محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت یک دقیقه استفاده شد. بذر ها در محلول‌های نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به مدت سه ساعت غوطه‌ور شدند (Fabunmi et al., 2012). سپس بذر ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط 21 ± 2 درجه سلسیوس خشک

نانوذرات به دلیل خواص منحصر به فرد مانند سطح ویژه بالا و واکنش پذیری گروه‌های عاملی قادر به انتقال هدفمند عناصر غذایی و ترکیبات زیست فعال هستند (Khalifa et al., 2024). نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) یکی از نانوذراتی است که با هدف کاهش اثرات تنش‌های غیرزیستی از جمله خشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ahmadnia & Ebadi, 2024). دی اکسید تیتانیوم نانوذره‌ای نیمه‌رسانا است که در سه نوع ساختاری برکیت^۱، آاناتاز^۲ و روتیل^۳ در طبیعت یافت می‌شود و کاربردهای متنوعی در علوم و صنایع مختلف دارد (Noman et al., 2019; Santos-Miguel et al., 2023; Sharif et al., 2021). پژوهشگران بیان کرده‌اند که غلظت، اندازه، سطح ویژه و سایر خواص فیزیکی و شیمیایی نانوذرات از عوامل مؤثر در افزایش بهره‌وری اثرات هدفمند و مفید کاربرد آن‌ها در کشاورزی است (Ahmadnia et al., 2025; Ma et al., 2010). در مطالعات بسیاری بر اثر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی، رشد طولی و وزنی گیاهچه، بهبود سلامت گیاه از طریق افزایش محتوی کلروفیل، پروتئین و افزایش جذب عناصر غذایی اشاره شده است (Ahmadnia et al., 2025; Mathew et al., 2021; Raliya et al., 2015; Servin et al., 2015; Tan et al., 2018). با این حال، مطالعات محدودی اثر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر بهبود جوانه‌زنی بذر لوبیا چشم بلبلی در تنش‌های غیرزیستی را مستند کرده‌اند. بنابراین، براساس مطالعات پیشین و با توجه به اثربخشی قابل توجه نانوذرات در پیش تیمار بذرهای مختلف در مقایسه با سایر روش‌های پیش تیمار بذر و همچنین اثرات جبران‌ناپذیر تنش خشکی بر جوانه‌زنی لوبیا چشم بلبلی، ضرورت انجام تحقیق و ارائه غلظت‌هایی از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم که سبب بهبود جوانه‌زنی بذر می‌شود، آشکار می‌گردد. پژوهشگران در این تحقیق فرض کرده‌اند که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم می‌تواند در کاهش اثر شدیدترین تنش خشکی اعمال شده مؤثر باشد.

¹ Brookite

² Anatase

³ Rutile

چهار میلی لیتر از محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید محتوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید مخلوط شد. کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل شد. نمونه ها 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 & Bewley, 1980).

محتوی پرولین

به منظور اندازه گیری محتوی پرولین یک گرم از بافت تازه گیاهچه لوبیا چشم بلبلی 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 سلسیوس سانتریفیوژ شد. به میزان دو میلی لیتر از عصاره حاصل، دو میلی لیتر معرف نین هیدرین که ۱/۲۵ گرم پودر نین هیدرین را در ۳۰ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال حل نموده و سپس دو میلی لیتر اسید فسفریک شش مولار و دو میلی لیتر اسید استیک گلاسیال خالص به آن اضافه شد. لوله ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار داده شد و سپس چهار میلی لیتر تولوئن به هریک از لوله ها اضافه و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه توسط دستگاه ورتکس مخلوط شدند. فاز رنگی بالایی با دقت جدا و تغییرات جذب آن ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل UV 2100 ساخت امریکا در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. غلظت پرولین براساس میلی گرم بر گرم وزن تازه گیاهی با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده با پرولین، تعیین شد (Bates et al., 1973).

درصد جوانه زنی^۱

درصد جوانه زنی 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 جوانه زنی، S بیانگر تعداد بذرها و T بیانگر تعداد کل بذرها نمونه آزمایشی می باشد.

شدند. بیست عدد بذر سالم در هر پتری دیش بدون کاغذ صافی قرار داده شد و پس از اعمال تنش خشکی، برای جلوگیری از هدررفت رطوبت در داخل کیسه های پلاستیکی شفاف بسته بندی شدند. پتری دیش ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس (Paiva et al., 2018) و در شرایط تاریکی در ژرمنیاتور (GROUC. GC.400) (IRAN) نگهداری شدند. براساس معیار خروج ریشه چه سالم از بذرها به طول دو میلی متر (Perry, 1991)، بذرها جوانه زده به مدت هفت روز شمارش شدند (Arun et al., 2017). شاخص های طولی و وزنی از جمله طول ساقه چه، طول ریشه چه، وزن تر گیاهچه و وزن خشک گیاهچه در پایان روز هفتم با استفاده از خط کش و ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شدند.

فعالیت آنزیم کاتالاز

به منظور اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز ۰/۲ گرم بافت تازه از گیاهچه حاصل از بذرها جوانه زده در مجاورت نیتروژن مایع پودر شده و با یک میلی لیتر بافر تریس-کلریدریک ۰/۵۰ مولار با اسیدیته ۷/۵ هموژن گردید. همگنای حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول شفاف رویی برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. سپس ۲/۵ میلی لیتر بافر تریس (۵۰ میلی مولار، اسیدیته هفت) و ۰/۳ میلی لیتر آب اکسیژنه (پنج میلی مولار) تهیه شده و ۶۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی در حمام یخ به آن اضافه شد. میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر و دمای ۲۵ درجه سلسیوس اندازه گیری شد. برای نمونه شاهد از بافر تریس-کلریدریک ۰/۵۰ مولار استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز براساس تغییرات جذب در میکرو گرم 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، ۰/۵ گرم از گیاهچه لوبیا چشم بلبلی در ۱۰ میلی لیتر محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید همگن و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. دو میلی لیتر از محلول روشنار حاصل با

¹ Germination percentage (GP)

سرعت جوانه‌زنی بذر^۱

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

$$GR = \frac{\text{Number of normal seedlings}}{\text{Days to first count}} + \frac{\text{Number of normal seedlings}}{\text{Days to final count}} \dots \quad \text{رابطه (۳)}$$

حداکثر مقدار جوانه‌زنی^۲

حداکثر مقدار جوانه‌زنی با استفاده از رابطه (۴) محاسبه شد (Saeb et al., 2013).

$$PV = \frac{MDG_{\max}}{N_d} \quad \text{رابطه (۴)}$$

در این رابطه PV بیانگر حداکثر مقدار جوانه‌زنی، $MDG_{\max}$ بیانگر حداکثر میانگین جوانه‌زنی روزانه و N_d بیانگر تعداد روزهای پس از شروع جوانه‌زنی می‌باشد.

میانگین زمان جوانه‌زنی روزانه^۳

میانگین زمان جوانه‌زنی روزانه با استفاده از رابطه (۵) محاسبه شد (Tekrony & Egli, 1991).

$$\bar{G} = \frac{GP}{T_n} \quad \text{رابطه (۵)}$$

در این رابطه $\bar{G}$ نسبت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌نی تجمعی نهایی، T_n بیانگر تعداد کل روزهای مورد نیاز برای جوانه‌زنی نهایی می‌باشد.

سرعت ظهور تجمعی^۴

سرعت ظهور تجمعی با استفاده از رابطه (۶) محاسبه شد (Orchard, 1977).

$$CER = \frac{F_1}{D_1} + \dots + \frac{F_i}{D_i} \quad \text{رابطه (۶)}$$

در این رابطه، F_1 و F_2 تعداد گیاهچه‌های شمارش شده در شمارش نخست و آخر و D_1 و D_i به ترتیب تعداد روز تا شمارش نخست و آخر می‌باشند.

شاخص بنبه بذر^۵

شاخص بنبه بذر با استفاده از رابطه (۷) محاسبه شد (Vashisth & Nagarajan, 2010).

$$SVI = GP \times (rl + pl) \quad \text{رابطه (۷)}$$

در این رابطه SVI بیانگر شاخص بنبه بذر، GP بیانگر درصد جوانه‌زنی و $(rl+pl)$ به ترتیب بیانگر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه براساس سانتی‌متر می‌باشند.

تجزیه آماری

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS9.4، مقایسه میانگین‌ها با 5% LSD و ترسیم شکل‌ها با استفاده از Excell2019 انجام شد. نتایج طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ با استفاده از نرم‌افزار Origin2022 رسم شد.

نتایج

ویژگی‌های شیمیایی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

ساختار شیمیایی و گروه‌های عاملی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سنتز شده با استفاده از آزمون طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ بررسی شد. همانطور که در شکل (۱-a) نشان داده شده است، پیک‌های جذبی پهن در ناحیه $500-800 \text{ cm}^{-1}$ و $3200-3600$ مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های Ti-O-Ti و O-H می‌باشند (Pham et al., 2021; Yuan et al., 2021). همچنین تصاویر میکروسکوپ الکترونی در شکل (۱-b,c) نشان داد که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم دارای ساختار کروی بودند.

نتایج آزمون زیست‌سنجی بذر لویا چشم‌بلی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیش‌تیمار با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش خشکی بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، حداکثر میزان جوانه‌زنی، میانگین جوانه‌زنی روزانه، سرعت ظهور تجمعی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر گیاهچه و وزن خشک گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین

¹ Germination rate (GR)

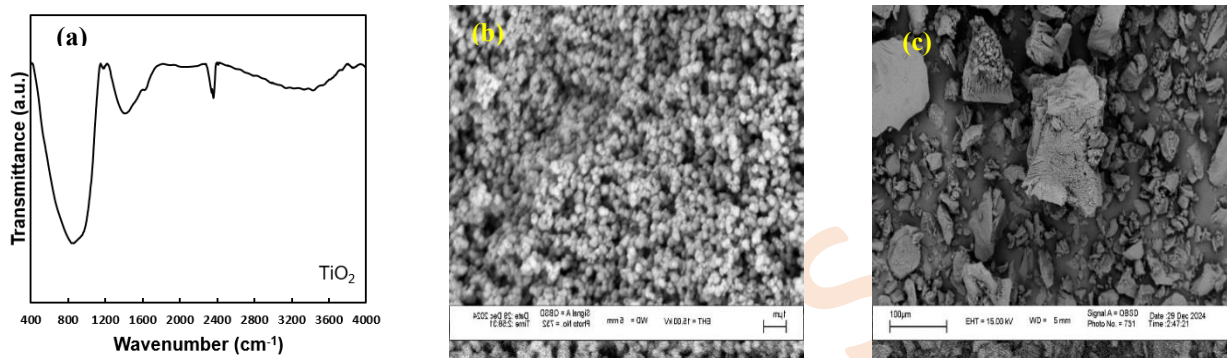
² Peak value germination (PV)

³ Mean daily germination time (MDGT)

⁴ Cumulative emergence rate (CER)

⁵ Seedling vigor index (SVI)

اثر متقابل پیش تیمار با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و تنش خشکی نیز بر شاخص بنبه بذر اثر معنی داری داشت (جدول ۱).



شکل ۱- نتایج طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (a) و تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (b-c)
Figure 1. Results of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) of TiO_2 nanoparticles (a), and scanning electron microscope (SEM) of TiO_2 nanoparticles (b-c)

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر پیش تیمار با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و تنش خشکی بر ویژگی های جوانه زنی بذر لوبیا چشم بلبلی

Table 1- Results of variance analysis of the effect of priming with titanium dioxide nanoparticles and drought stress on cowpea seed germination characteristics

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه زنی Germination percentage	حداکثر میزان جوانه زنی Peak value	سرعت جوانه زنی Germination rate	میانگین جوانه زنی روزانه Mean daily germination	سرعت ظهور تجمعی Cumulative emergence rate	طول ریشه چه Radicle length	طول ساقه چه Plumule length	وزن تر گیاهچه Seedling fresh weight	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص بنبه بذر Seed vigor index
پیش تیمار Priming (P)	2	960.00**	97.97**	1.56**	4.89**	0.195**	10.90**	2.84**	0.19**	0.20**	17.38**
تنش خشکی Drought stress (DS)	4	9418.88**	811.84**	15.48**	48.05**	1.92**	22.26**	19.85**	0.38**	0.39**	109.54**
پیش تیمار × تنش خشکی (P)×(DS)	8	57.22 ^{ns}	10.07 ^{ns}	0.043 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.011 ^{ns}	0.37 ^{ns}	0.42 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.0008 ^{ns}	2.70**
خطای آزمایش Error	30	122.22	11.21	0.191	0.62	0.024	0.21	0.19	0.015	0.003	0.48
ضرب تغییرات (درصد) CV (%)	-	19.97	20.55	20.07	19.97	19.97	19.98	23.25	17.85	22.87	21.98

*, * and ns denote significant at $p \leq 0.01$ and 0.05% and no significantly difference respectively.

به طوری که بیشترین و کمترین درصد جوانه زنی بذر (به ترتیب ۹۶/۶۶ ± ۷/۲۶ و ۱۵/۵۵ درصد) در پتانسیل های اسمزی صفر (شاهد) و ۰/۱- مگاپاسکال ثبت شد (جدول ۲). نتایج نشان دهنده اثر قابل توجه تنش خشکی بر جوانه زنی بذر لوبیا چشم بلبلی بود. درصد جوانه زنی بذر لوبیا چشم بلبلی در پتانسیل های

درصد جوانه زنی

بر اساس نتایج مقایسه میانگین تفاوت آماری معنی داری بین سطوح پیش تیمار بذر از نظر افزایش درصد جوانه زنی بذر مشاهده نشد (جدول ۲). با این حال، افزایش پتانسیل اسمزی ناشی از پلی اتیلن گلاکول ۶۰۰۰ سبب کاهش درصد جوانه زنی بذر شد،

میانگین جوانه‌زنی روزانه

میانگین جوانه‌زنی روزانه بذر لوبیا چشم بلبلی در پیش تیمار بذر با غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اختلاف آماری معنی‌داری با شاهد (عدم پیش تیمار بذر) نداشت. با این حال، غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب افزایش ۱۲/۶۳ درصدی و غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب کاهش ۱۴/۴۵ درصدی میانگین جوانه‌زنی روزانه بذر در مقایسه با شاهد (عدم پیش تیمار بذر) شد (جدول ۲). همچنین، بیشترین و کمترین میانگین درصد جوانه‌زنی روزانه (۰/۵۰ ± ۶/۹۰ و ۱/۱۱ ± ۰/۵۱ بذر در روز) به ترتیب از پتانسیل‌های اسمزی صفر (شاهد) و ۰/۱- مگاپاسکال به دست آمد (جدول ۲).

سرعت ظهور تجمعی

سرعت ظهور تجمعی بذر در غلظت‌های مختلف پیش تیمار بذر تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (جدول ۲). افزایش تنش خشکی سبب کاهش سرعت ظهور تجمعی شد. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین سرعت ظهور تجمعی (به ترتیب ۰/۱۰ ± ۳۸/۱ و ۰/۲۲ ± ۰/۱۰ بذر در روز) مربوط به پتانسیل‌های اسمزی صفر و ۰/۱- مگاپاسکال بود (جدول ۲).

طول ریشه‌چه

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که طول ریشه‌چه تفاوت آماری معنی‌داری در تیمار شاهد (عدم پیش تیمار بذر) و پیش تیمار با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نداشت. افزایش غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (۵۰ میلی گرم در لیتر) منجر به کاهش ۴۹/۹۹ و ۵۳/۴۰ درصدی طول ریشه‌چه در مقایسه با شاهد و غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم شد (جدول ۲). همچنین در ادامه نتایج نیز، افزایش تنش خشکی منجر به کاهش طول ریشه‌چه گردید. طول ریشه‌چه در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۲۵-، ۰/۵۰-، و ۰/۷۵- و ۰/۱- مگاپاسکال در مقایسه با شاهد (عدم تنش خشکی) به ترتیب ۵۵/۲۶، ۶۶/۴۴، ۶۹/۹۵ و ۷۶/۹۷ درصد کاهش یافت (جدول ۲).

طول ساقه‌چه

طول ساقه‌چه لوبیا چشم بلبلی در اثر پیش تیمار با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم افزایش یافت. نتایج

اسمزی ۰/۲۵-، ۰/۵۰-، و ۰/۷۵- و ۰/۱- مگاپاسکال در مقایسه با شاهد به ترتیب ۲۰/۶۸، ۴۴/۸۲، ۶۴/۳۶ و ۸۳/۹۰ درصد کاهش یافت (جدول ۲).

حداکثر میزان جوانه‌زنی

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که حداکثر میزان جوانه‌زنی بذر لوبیا چشم بلبلی از پیش تیمار با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. این غلظت در مقایسه با شاهد (عدم پیش تیمار بذر) حداکثر میزان جوانه‌زنی بذر را ۱۳/۲۷ درصد افزایش داد (جدول ۲). با این حال، افزایش غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب کاهش حداکثر میزان جوانه‌زنی بذر لوبیا چشم بلبلی شد؛ به طوری که در مقایسه با شاهد (عدم پیش تیمار بذر) و غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به ترتیب ۱۵/۹۸ و ۲۷/۱۳ درصد کاهش حداکثر میزان جوانه‌زنی بذر ثبت شد (جدول ۲). همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین پتانسیل‌های اسمزی نیز نشان داد که افزایش تنش خشکی منجر به کاهش حداکثر میزان جوانه‌زنی بذر شد. حداکثر میزان جوانه‌زنی بذر در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۲۵-، ۰/۵۰-، و ۰/۷۵- و ۰/۱- مگاپاسکال در مقایسه با شاهد به ترتیب ۲۲/۱۱، ۴۷/۷۵، و ۶۷/۳۰ و ۸۰/۷۶ درصد کاهش یافت (جدول ۲).

سرعت جوانه‌زنی بذر

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری در بین غلظت‌های مختلف پیش تیمار بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده نشد. با این حال سرعت جوانه‌زنی بذر در غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر در مقایسه با شاهد (عدم پیش تیمار بذر) ۱۲/۸۲ درصد افزایش یافت (جدول ۲). همچنین غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سرعت جوانه‌زنی بذر لوبیا چشم بلبلی را در مقایسه با شاهد (عدم پیش تیمار بذر) ۱۴/۸۵ درصد کاهش داد (جدول ۲). علاوه بر این، نتایج نشان داد که پتانسیل‌های اسمزی سبب کاهش سرعت جوانه‌زنی بذر لوبیا چشم بلبلی شدند. نتایج مقایسه پتانسیل‌های اسمزی با شاهد نشان‌دهنده کاهش به ترتیب ۲۱/۲۱، ۴۸/۷۶، ۶۵/۸۸ و ۸۳/۸۲ درصدی سرعت جوانه‌زنی بذر بود (جدول ۳). تغییرات سرعت جوانه‌زنی بذر همسو با نتایج درصد جوانه‌زنی بذر بود.

نشان داد که طول ساقه چه در این غلظت در مقایسه با شاهد (عدم پیش تیمار بذری) ۱۵/۵۱ درصد افزایش یافت (جدول ۲). همچنین بیشترین و کمترین طول ساقه چه در پتانسیل های اسمزی صفر (شاهد- عدم تنش خشکی) و ۰/۱- مگاپاسکال (۴/۱۰ ± ۰/۸۷ و ۰/۳۴ ± ۰/۳۳ سانتی متر) بود. افزایش تنش خشکی سبب کاهش طول ساقه چه لوبیا چشم بلبلی شد. علاوه بر این، پتانسیل های اسمزی ۰/۲۵-، ۰/۵۰-، ۰/۷۵- و ۰/۱- مگاپاسکال طول ساقه چه را به ترتیب ۳۸/۷۵، ۵۵/۵۵، ۸۰/۲۱ و ۹۱/۶ درصد در مقایسه با شاهد کاهش دادند (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین اثر پیش تیمار با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و تنش خشکی بر ویژگی های جوانه زنی بذری لوبیا چشم بلبلی

Table 2- Mean comparing cowpea seed germination characteristics as affected by priming with titanium dioxide nanoparticles and drought stress on cowpea seed germination characteristics

وزن خشک گیاهچه (گرم)	وزن تر گیاهچه (گرم)	طول ساقه چه (سانتی متر)	طول ریشه چه (سانتی متر)	سرعت ظهور تجمعی (بذری/روز)	میانگین جوانه زنی روزانه (بذری/روز)	سرعت جوانه زنی (بذری/روز)	حد اکثر میزان جوانه زنی	درصد جوانه زنی	تیمارها
Seedling dry weight (g)	Seedling fresh weight (g)	Plumule length (cm)	Radicle length (cm)	Cumulative emergence rate (Seed/Day)	Mean daily germination (Seed/Day)	Germination rate (Seed/Day)	Peak value	Germination percentage	Treatments
پیش تیمار با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (میلی گرم در لیتر)									
Priming with titanium dioxide (mg L ⁻¹)									
0.24±0.09 _a	0.74±0.22 _a	1.96±1.96 _b	2.73±2.73 _a	0.79±0.46 _{ab}	3.95±2.32 _a	2.18±1.34 _a	16.33±10.00 _b	55.33±32.48 _a	0
0.27±0.07 _a	0.78±0.17 _a	2.32±2.32 _a	2.93±2.93 _a	0.90±0.44 _a	4.52±2.20 _{ab}	2.50±1.28 _{ab}	18.83±10.07 _a	63.33±30.86 _a	25
0.20±0.05 _b	0.56±0.26 _b	1.46±1.46 _c	1.36±1.36 _b	0.67±0.44 _b	3.38±2.23 _b	1.85±1.18 _b	13.72±7.74 _c	47.33±31.27 _b	50
0.04	0.09	0.33	0.43	0.11	0.58	0.32	2.49	8.24	LSD 5%
تنش خشکی (مگاپاسکال)									
Drought stress (MPa)									
0.32±0.10 _a	0.91±0.07 _a	4.10±0.87 _a	5.06±1.40 _a	1.36±0.10 _a	6.90±0.50 _a	3.89±0.39 _a	28.88±4.71 _a	96.66±7.07 _a	0
0.28±0.05 _{ab}	0.87±0.11 _a	2.51±0.73 _b	2.26±0.76 _b	1.09±0.14 _b	5.47±0.71 _b	3.06±0.48 _b	22.50±5.36 _b	76.66±10.00 _b	-0.025
0.23±0.03 _{bc}	0.71±0.10 _b	1.82±0.17 _c	1.70±0.73 _c	0.76±0.21 _c	3.80±1.07 _c	1.99±0.53 _c	15.09±3.29 _c	53.33±15.00 _c	-0.050
0.20±0.03 _{cd}	0.51±0.17 _c	0.81±0.65 _d	1.52±0.65 _{cd}	0.49±0.25 _d	2.46±1.29 _d	1.32±0.61 _d	9.44±3.00 _d	34.44±18.10 _d	-0.075
0.15±0.03 _d	0.45±0.24 _c	0.34±0.33 _c	1.16±0.61 _d	0.22±0.10 _e	1.11±0.51 _e	0.62±0.31 _e	5.55±2.39	15.55±7.26 _e	-0.1
0.05	0.11	0.42	0.45	0.15	0.76	0.42	3.22	10.64	LSD 5%

میانگین های با یک حرف مشترک در آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

Means followed by same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$ by LSD multiple range test.

وزن تر و خشک گیاهچه

کاهش داد (جدول ۲). افزایش شدت تنش خشکی باعث کاهش وزن تر و خشک گیاهچه لوبیا چشم بلبلی شد. نتایج در ادامه نشان داد که پتانسیل های اسمزی ۰/۲۵-، ۰/۵۰-، ۰/۷۵- و ۰/۱- مگاپاسکال، وزن تر (به ترتیب ۴/۳۹، ۲۱/۹۷، ۴۳/۹۵ و ۵۰/۵۴ درصد) و وزن خشک (به ترتیب ۱۲/۵۰، ۲۸/۱۲، ۳۷/۵۰ و ۵۳/۱۲ درصد) را کاهش دادند (جدول ۲).

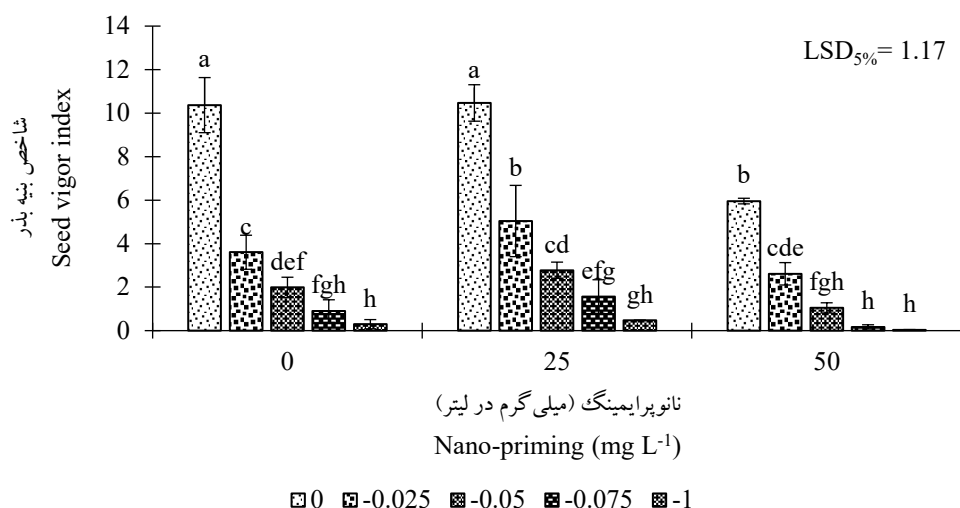
شاخص بیه بذری

با افزایش شدت تنش خشکی شاخص بیه بذری کاهش یافت (شکل ۲). با این حال، پیش تیمار بذری با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر

وزن تر و خشک گیاهچه لوبیا چشم بلبلی تفاوت آماری معنی داری در تیمار شاهد (عدم پیش تیمار بذری) و پیش تیمار با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نداشت (جدول ۲). با این حال، افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به ۵۰ میلی گرم در لیتر سبب کاهش وزن تر و خشک گیاهچه شد. پیش تیمار بذری با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در مقایسه با تیمار شاهد و پیش تیمار با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر وزن تر (به ترتیب ۲۴/۳۲ و ۲۸/۲۰ درصد) و وزن خشک (به ترتیب ۱۶/۶۶ و ۲۵/۹۲ درصد) را

را ثبت کرد، به طوری که حتی در تیمار شاهد (عدم تنش خشکی)، غلظت ۵۰ میلی گرم دی اکسید تیتانیوم سبب کاهش ۴۲/۵۴ درصدی شاخص بذر شد (شکل ۲).

نانوذرات دی اکسید تیتانیوم سبب افزایش شاخص بذر در تمام سطوح تنش خشکی شد. پیش تیمار با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در مقایسه با تیمار شاهد (عدم پیش تیمار بذر) در تمام سطوح تنش خشکی افت قابل توجه شاخص بذر



شکل ۲- اثر متقابل پیش تیمار با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و تنش خشکی بر شاخص بذر لوبیا چشم بلبلی

Figure 2- Interaction effect of priming with titanium dioxide nanoparticles and drought stress on cowpea seed vigor index

بود (جدول ۳). همچنین اثر متقابل پیش تیمار بذر با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و تنش خشکی بر پراکسیداسیون لیپیدی اثر معنی دار نشان داد (جدول ۳).

تغییرات فرآیندهای فیزیولوژیک در گیاهچه لوبیا چشم بلبلی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیش تیمار بذر با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوی پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی دار

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر پیش تیمار با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و تنش خشکی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاهچه لوبیا چشم بلبلی

Table 3- Results of variance analysis of physiological characteristics of cowpea seedlings as affected by priming with titanium dioxide nanoparticles and drought stress

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity	پراکسیداسیون لیپیدی Lipid peroxidation	محتوی پرولین Proline content
پیش تیمار Priming (P)	2	53.55**	0.0013**	0.0006**
تنش خشکی Drought stress (DS)	4	57.03**	0.0050**	0.0076**
پیش تیمار × تنش خشکی (P)×(DS)	8	0.70 ^{ns}	0.00007**	0.00004 ^{ns}
خطای آزمایش Error	30	1.74	0.00002	0.00009
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	3.99	3.26	10.65

***, * و ns به ترتیب معنی داری در سطح احتمال یک و پنج درصد و عدم وجود تفاوت معنی داری می باشد.

***, * and ns denote significant difference at $p \leq 0.01$ and 0.05% and no significant respectively.

پیش تیمار بذر با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم منجر به کاهش اثر تنش خشکی شد. افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم سبب افزایش شدت تنش و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با شاهد (عدم پیش تیمار بذر) شد (جدول ۴). همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کمترین و بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز $2/78 \pm 29/33$ و $1/49 \pm 89/35$ تغییرات جذب در میکرو گرم پروتئین بر دقیقه) به ترتیب از تیمار شاهد (عدم تنش خشکی) و پتانسیل اسمزی $-0/1$ مگاباسکال به دست آمد (جدول ۴).

محتوی پرولین در تیمار شاهد (عدم پیش تیمار بذر) و غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم تفاوت آماری معنی داری نداشت (جدول ۴). در حالی که، پیش تیمار بذر با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم سبب کاهش محتوی پرولین در گیاهچه لویا چشم بلبل شد (جدول ۴). همچنین کمتر بن و بیشتر بن محتوی پرولین: 0.057 ± 0.008

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین محتوی پراکسیداسیون لیپیدی (0.004 ± 0.174 و 0.004 ± 0.171 میکرومول بر گرم وزن تر) از پتانسیل اسمزی $1/0$ - مگاپاسکال از تیمار شاهد (عدم پیش تیمار بذر) و پیش تیمار بذر با غلظت 50 میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به دست آمد (شکل ۳). همچنین کمترین محتوی پراکسیداسیون لیپیدی (0.004 ± 0.109 ، 0.011 ± 0.101 و 0.004 ± 0.104 میکرومول بر گرم وزن تر) بدون تفاوت آماری معنی دار در تیمار شاهد (عدم پیش تیمار بذر)، پیش تیمار با غلظت های 25 و 50 میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در شرایط عدم تنش خشکی حاصل شد (شکل ۳).

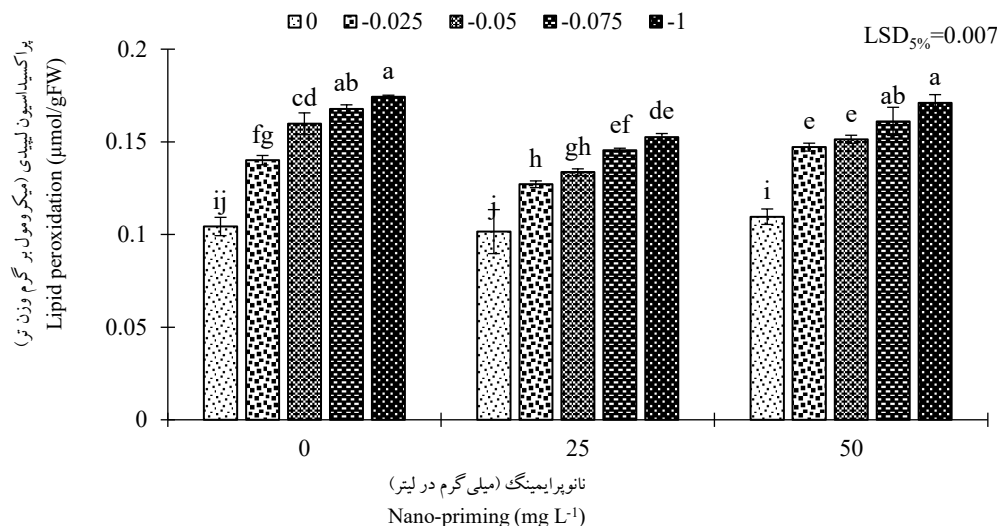
Table 6- Mean comparison of physiological characteristics of cowpea seedling as affected by priming with titanium dioxide nanoparticles under drought stress

تیمارها Treatments	فعالیت آنزیم کاتالاز (تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه) Catalase enzyme activity (OD $\mu\text{g protein/min}^{-1}$)	محتوی پروزلین (میلی گرم بر گرم وزن تر) Proline content (mg/g FW)
	پیش تیمار با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (میلی گرم در لیتر) Priming with titanium dioxide (mg L ⁻¹)	
0	33.11±2.92 _a	0.094±0.03 _a
25	31.22±2.50 _b	0.083±0.02 _b
50	35.00±2.98 _a	0.094±0.02 _a
LSD 5%		0.007
	تنش خشکی (مگاپاسگال) Drought stress (MPa)	
0	29.33±2.78 _d	0.057±0.008 _c
-0.025	32.14±1.66 _c	0.071±0.116 _d
-0.050	33.63±1.69 _b	0.087±0.009 _c
-0.075	34.56±2.21 _b	0.104±0.010 _b
-0.1	35.89±1.49 _a	0.132±0.012 _a
LSD 5%	1.27	0.009

Means followed by same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$ by LSD multiple range test.

لیتر و تیمار شاهد (عدم پیش تیمار بذر) سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در تمام سطوح تنش خشکی شد (شکل ۳).

سایر سطوح پتانسیل‌های اسمزی تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. پیش تیمار بذر با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مقایسه با غلظت ۵۰ میلی گرم در



شکل ۳- اثر متقابل پیش تیمار با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و تنش خشکی بر پراکسیداسیون لیپیدی

Figure 3- Interaction effect of priming with titanium dioxide nanoparticles and drought stress on lipid peroxidation

بحث

جوانه‌زنی بذر را در مقایسه با عدم پیش تیمار بذر ۱۲ درصد افزایش داد. همچنین غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم درصد جوانه‌زنی بذر را در مقایسه با عدم پیش تیمار بذر ۱۴ درصد کاهش داد. این نتایج نشان‌دهنده اثر وابسته به غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر بهبود جوانه‌زنی بذر لوبیا چشم بلبلی در شرایط تنش خشکی بود. پژوهشگران بیان کرده‌اند که اثر نانوذرات بر جوانه‌زنی بذر وابسته به غلظت، عوامل محیطی و تنوع گونه‌های گیاهی است (Wahid et al., 2020). گزارش شده است که پیش تیمار بذر سان‌همپ (*Crotalaria juncea*) با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم سبب بهبود جوانه‌زنی بذر شد (Ahmadnia and Ebadi, 2024). همچنین گزارش شده است که غلظت‌های مناسب نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم از طریق نفوذ به بذر و افزایش فرآیند جذب آب می‌توانند باعث بهبود جوانه‌زنی و افزایش سرعت جوانه‌زنی شوند (Asli and Neumann, 2009). با این حال، مطالعات دیگری بر اثرات سوء نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در غلظت‌های بالا اشاره کرده‌اند؛ که در بیشتر این مطالعات افزایش گونه‌های فعال اکسیژن مهمترین

تنش خشکی یکی از تنش‌های مهم محیطی است که مانع از رشد و نمو گیاهان می‌شود و اثرات مضر بر بهره‌وری محصولات کشاورزی از جمله لوبیا چشم بلبلی دارد (Ravelombola et al., 2018). اگرچه لوبیا چشم بلبلی به خوبی با تنش خشکی سازگار است اما عملکرد آن هنگامی که محصول در معرض تنش شدید خشکی قرار می‌گیرد به ویژه در مراحل جوانه‌زنی و رشد رویشی اولیه، به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (Ravelombola et al., 2020). نتایج این آزمایش نشان داد که تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلاکول ۶۰۰۰ اثر کاهشی معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین جوانه‌زنی روزانه، حداکثر میزان جوانه‌زنی، سرعت ظهور تجمعی و شاخص بنیه بذر داشت. افزایش شدت تنش خشکی منجر به کاهش شدید درصد جوانه‌زنی بذر (۸۳ درصد) در مقایسه با شاهد (عدم تنش خشکی) شد. اگرچه پیش تیمار بذر با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در سطوح مختلف تفاوتی با عدم پیش تیمار بذر نداشت؛ با این حال، غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم درصد

دلیل کاهش جوانه زنی و مؤلفه های وابسته به آن اعلام شده است (Rastogi et al., 2017; Rico et al., 2015; Paramo et al., 2020). سایر مؤلفه های وابسته به درصد جوانه زنی، همسو با کاهش درصد جوانه زنی بذر در تنش خشکی و بهبود آن ها با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بود. برای مثال پژوهشگران در بررسی غلظت های مختلف دی اکسید تیتانیوم (۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰، ۱۲۰۰، ۱۵۰۰ و ۱۷۰۰ قسمت در میلیون) بر خصوصیات جوانه زنی و رشد اولیه گندم (*Triticum aestivum* L.) گزارش کردند که غلظت های بالای دی اکسید تیتانیوم اثر مطلوبی بر جوانه زنی گندم داشت (Mahmoodzadeh and Aghili, 2018). در بررسی دیگری پژوهشگران گزارش کرده اند که غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم منجر به افزایش معنی دار درصد جوانه زنی، شاخص بنیه بذر، طول ریشه چه و وزن خشک ریشه چه شد. علت این افزایش، بهبود فعالیت های سلولی و تبدیل مواد ذخیره ای به آسیمیلات های انتقالی می باشد (Ghorbani et al., 2022). شاخص های طولی و وزنی گیاهچه لوبیا چشم بلبلی افت قابل توجهی در مقایسه با شاهد (عدم تنش خشکی) داشت. با این حال، پیش تیمار با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در مقایسه با عدم پیش تیمار بذر سبب افزایش طول ریشه چه (۶ درصد)، طول ساقه چه (۱۵ درصد)، وزن تر گیاهچه (۵ درصد) و وزن خشک گیاهچه (۱۱ درصد) شد. پژوهشگران گزارش کرده اند که نانوذرات از طریق کاهش پایداری دیواره سلولی می توانند بر انبساط سلولی و رشد گیاهچه در تنش خشکی مؤثر باشند (Mohammadi et al., 2016). همچنین بیان شده است که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم مشابه هورمون های سیتوکنین و جبرلین عمل کرده و سبب القای تقسیم سلولی و رشد سلولی می شوند (Sauret-Güeto et al., 2012). برای مثال در بررسی دیگر با کاربرد غلظت های ۱۵ و ۲۰ میلی گرم در لیتر نانوذره دی اکسید تیتانیوم در تنش خشکی ۴- بار، افزایش طول گیاهچه گزارش شده است (Ghorbani et al., 2022). اگرچه فرضیه آزمایشی بر این اساس بود که افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم می تواند منجر به کاهش اثرات مخرب تنش خشکی در جوانه زنی بذر شود، اما نتایج این پژوهش نشان داد که اثر مثبت و

منفی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم وابسته به غلظت است و در شدت های بالای تنش خشکی، هم افزایی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم منجر به کاهش مضاعف جوانه زنی و شاخص های وابسته به آن می شود. این احتمال وجود دارد که بالا بودن سطح ویژه نانوذرات، گروه های عاملی، واکنش پذیری و تمایل آن ها به تجمع گونه های فعال اکسیژن (Ahmadnia et al., 2025) در محیط منجر به افزایش اثرات منفی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت های بالا و تنش های شدید شده باشد (Kobayashi et al., 2019). همچنین افزایش اجتناب پذیر پراکسیداسیون لیپیدی، فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوی پرولین نشان دهنده سازوکار دفاعی گیاهچه لوبیا چشم بلبلی بود که همراه با افزایش تنش خشکی، افزایش یافت. پیش تیمار بذر با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در مقایسه با غلظت ۵۰ میلی گرم توانست محیط رشدی بهتری را برای گیاهچه لوبیا چشم بلبلی از طریق افزایش جوانه زنی بذر و شاخص های طولی و وزنی فراهم کند، به همین دلیل فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداسیون لیپیدی و محتوی پرولین در تمام سطوح تنش خشکی در مقایسه با عدم پیش تیمار بذر و پیش تیمار با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم کمتر بود. پژوهشگران گزارش کرده اند که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم تولید آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی را در باقلا (*Vicia faba* L.) در شرایط تنش خشکی افزایش دادند (Khan et al., 2020). همچنین پژوهشگران گزارش کرده اند که غلظت های بالا نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با سطوح بالای تنش خشکی منجر به افزایش محتوی پراکسیداسیون لیپیدی، محتوی پرولین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان از جمله کاتالاز می شود (Ramadan et al., 2022).

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش خشکی ناشی از کاربرد پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ سبب کاهش قابل توجه جوانه زنی و شاخص های وابسته به آن از جمله شاخص های طولی و وزنی گیاهچه لوبیا چشم بلبلی شد. در این پژوهش پیش تیمار بذر با غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در تمام سطوح تنش خشکی فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداسیون لیپیدی

Ahmadnia, F., Ebadi, A., Alebrahim, M.T., Parmoon, G., Feizpoor, S., & Hashemi, M. (2025). The efficacy of Sunn Hemp (*Crotalaria juncea*) and Fe₃O₄ nanoparticles in controlling weed seed germination. *Agronomy*, 15, 795, 1-21. <https://doi.org/10.3390/agronomy15040795>

Arun, M.N., Bhanuprakash, K., Shankar, S., & Senthivel, T. (2017). Effects of seed priming on biochemical parameters and seed germination in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]. *Legume Research*, 40(3), 562-570. <https://doi.org/10.18805/lr.v0i0.7857>

Asli, S., & Neumann, P.M. (2009). Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant, Cell and Environment*, 32(5), 577-584. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19210640>

Bates, L.S., Walderen, R.D., & Taere I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>

Carvalho, M., Castro, I., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., Egea-Cortines, M., Matos, M., Rosa, E., Carnide, V., & Lino-Neto, T. (2019). Evaluating stress responses in cowpea under drought stress. *Journal of Plant Physiology*, 241, 153001. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.153001>

Chandrasekaran, U., Luo, X., Wang, Q., & Shu, K. (2020). Are there unidentified factors involved in the germination of nano-primed seeds? *Frontiers in Plant Science*, 11, 832. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00832>

Cook, B.I., Smerdon, J.E., Seager, R., & Coats, S. (2014). Global warming and 21st century drying. *Climate Dynamics*, 43, 2607-2627.

Cramer, G.R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., & Shinozaki, K. (2011). Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biology*, 11, 163. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-163>

da Silva, A.C., da Costa Santos, D., Junior, D.L.T., da Silva, P.B., dos Santos, R.C., & Siviero, A. (2018). Cowpea: A Strategic Legume Species for Food Security and Health. In: *Legume Seed Nutraceutical Research*. IntechOpen. Chapter 3, 1-21. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79006>

Ebadi, A., Feizpoor, S., & Ahmadnia, F. (2025). Investigating the impact of sunflower (*Helianthus annuus*) allelopathic aqueous extract in the green synthesis by titanium dioxide nanoparticles on wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) seed germination. *Plant Process and Function*, 14 (66): 47-63. <https://doi.org/10.22034/14.66.47>

و محتوی پرولین را در مقایسه با عدم پیش تیمار بذر (عدم تنش خشکی) کاهش داد. همچنین اثر منفی افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به ویژه در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر ثبت شد، که نشان دهنده اثرات سمی و هم افزایی اثرات تنش خشکی بر افزایش فعالیت آنی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی بود. از نتایج به دست آمده در این پژوهش چنین استنباط می گردد که اثر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در کاهش شدت تنش خشکی در جوانه زنی بذر لوبیا چشم بلبلی به شدت وابسته به غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در پیش تیمار بذر است.

سپاسگزاری

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی مصوب ۱۴۰۳/۹/۳۷۰۱ در شورای پژوهشی دانشکده علوم و فناوری کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی است. نویسندگان مقاله مراتب سپاسگزاری خود را از حمایت های مالی دانشگاه محقق اردبیلی، دوستان و همکارانی که در این طرح پژوهشی ما را یاری نمودند، اعلام می نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تعارض منافی در رابطه با نگارش و یا انتشار این مقاله ندارند.

References

- Abbasi Khalaki, M., Moameri, M., Asgari Lajayer, B., & Astatkie, T. (2021). Influence of nano-priming on seed germination and plant growth of forage and medicinal plants. *Plant growth regulation*, 93(1), 13-28. <https://doi.org/10.1007/s10725-020-00670-9>
- Acharya, P., Jayaprakasha, G.K., Crosby, K.M., Jifon, J.L., & Patil B.S. (2020). Nanoparticle mediated seed priming improves germination, growth, yield, and quality of watermelons (*Citrullus lanatus*) at multi-locations in Texas. *Scientific Reports*, 19, 10(1):5037, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61696-7>
- Ahmadnia, F., & 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. <https://doi.org/10.22124/jms.2024.8039> [In Persian]

- Fabunmi, T. O., Gbadamosi, B. K., & Adigbo, S. O. (2012). Seed hydro-priming and early moisture stress impact on biomass production and grain yield of cowpea. *International Journal of Applied*, 2(10), 112-122. https://www.researchgate.net/publication/272795669_Seed_Hydro-Priming_and_Early_Moisture_Stress_Impact_on_Biomass_Production_and_Grain_Yield_of_Cowpea
- FAOSTAT, (2020). FAOSTAT: food and agriculture data. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>, Accessed date: 4 March 2021
- Gerland, P., Raftery, A.E., Sevickova, H., Li, N., Gu, D., Spoorenberg, T., Alkema, L., Fosdick, B.K., Chunn, J., Lalic, N., Bay, G., Buettner, T., Heilig, G.K., & Wilmoth, J. (2014). World population stabilization unlikely this century. *Science*, 346, 234-237. <https://doi.org/10.1126/science.1257469>
- Ghorbani, R., Movafeghi, A., Ganjeali, A., & Nabati, J. (2022). Investigating the germination characteristics of Chickpea (*Cicer arietinum*) in response to titanium dioxide nanoparticles priming and drought stress. *Iranian Journal of Seed Research*, 9(1), 189-202. <https://doi.org/10.52547/yujs.9.1.189> [In Persian]
- Goufo, P., Moutinho-Pereira, J.M., Jorge, T.F., Correia, C.M., Oliveira, M.R., Rosa, E.A.S., Antonio, C., & Trindade, H. (2017). Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) Metabolomics: Osmo protection as a physiological strategy for drought stress resistance and improved yield. *Frontiers in Plant Science*, 8:586, <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00586>
- Imtiaz, H., Shiraz, M., Mir, A.R., Siddiqui, H., & Hayat, A. (2023). Nano-Priming Techniques for Plant Physio-Biochemistry and Stress Tolerance. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(1), 1-21. <https://doi.org/10.1007/s00344-023-10981-6>
- Kandhol, N., Singh, V. P., Ramawat, N., Prasad, R., Chauhan, D. K., Sharma, S., Grillo, R., Shai, S., Peralta-Videa, J., & Tripathi, D. K. (2022). Nano-priming: Impression on the beginner of plant life. *Plant Stress*, 5, 100091, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100091>
- Khalifa, A.M., Safhi, F.A., & Elsherif, D.E. (2024). Green synthesis of a dual-functional sulfur nanofertilizer to promote growth and enhance salt stress resilience in faba bean. *BMC Plant Biology*, 24, 607, 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05270-7>
- Khan, MN., AlSolami, MA., Basahi, RA., Siddiqui, MH., Al-Huqail, AA., Abbas, ZK., Siddiqui, ZH., Ali, HM., & Khan, F. (2020). Nitric oxide is involved in nano-titanium dioxide-induced activation of antioxidant defense system and accumulation of osmolytes under water-deficit stress in *Vicia faba* L. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 190, 110152. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110152>
- Kobayashi, K., Kubota, H., Hojo, R., & Miyagawa, M. (2019). Effective dispersal of titanium dioxide nanoparticles for toxicity testing. *Journal of Toxicological Sciences*, 44(8), 515-521. <https://doi.org/10.2131/jts.44.515>
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., & Kolmakov, A. (2010). Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment*, 408(16), 3053-3061. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.031>
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2, 176-177. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>
- Mahmoodzadeh, H., & Aghili, R. (2018). Effect on germination and early growth characteristics in wheat plants (*Triticum aestivum* L.) Seeds Exposed to TiO₂ Nanoparticles. *Journal of Chemical Health Risks*, 4(1), 29-36.
- Mathew, S.S., Sunny, N.E., & 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>
- Michel, B.E., & Kaufmann, M.R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51(5), 914-916. <https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914>
- Mohammadi, H., Esmailpour, M., & Gheranpaye, A. (2016). Effects of TiO₂ nanoparticles and water-deficit stress on morpho-physiological characteristics of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) plants. *Acta Agriculturae Slovenica*, 107(2), 385-396. <https://doi.org/10.14720/aas.2016.107.2.11>
- Nadeem, M., Li, J., Yahya, M., Sher, A., Ma, C., Wang, X., & Qiu, L. (2019). Research progress and perspective on drought stress in legumes: a review. *International Journal of Molecular Science*, 23; 20(10): 2541. <https://doi.org/10.3390/ijms20102541>
- Nil, S.H., Thiruvengadam, M., Wang, Y., Samynathan, R., Shariati, M.A., Rebezov, M., Nile, A., Sun, M., Venkidasamy, B., Xiao, J. & Kai, G. (2022). Nano-priming as emerging seed priming technology for sustainable agriculture—recent developments and future perspectives. *Journal of Nanobiotechnology*, (2022)20, 254, 1-31. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01423-8>
- Noman, M.T., Ashraf, M.A., & Ali, A. (2019). Synthesis and applications of nano-TiO₂: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 3262-3291. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3884-z>

- Olorunwa, O. J., Shi, A., & Barickman, T.C. (2021). Varying drought stress induces morpho-physiological changes in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) genotypes inoculated with *Bradyrhizobium japonicum*. *Plant stress*, 2(2021), 100033, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2021.100033>
- Orchard, T. (1977). Estimating the parameters of plant seedling emergence. *Seed Science and Technology*, 5, 61-69.
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., Tran, L.S.P. (2014). Response of plants to water stress. *Frontiers Plant Science*. 5, 86. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00086>
- Paiva, E. P. D., Sá, F. V. D. S., Torres, S. B., Brito, M. E., Moreira, R. C., & Silva, L. D. A. (2018). Germination and tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars to water stress. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 22(6), 407-411. <https://doi.org/10.1590/1807-929/agriambi.v22n6p407-411>
- Paiva, E. P. D., Sá, F. V. D. S., Torres, S. B., Brito, M. E., Moreira, R. C., & Silva, L. D. A. (2018). Germination and tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars to water stress. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 22(6), 407-411. <https://doi.org/10.1590/1807-929/agriambi.v22n6p407-411>
- Paramo, LA., Feregrino-Pérez, AA., Guevara, R., Mendoza, S., & Esquivel, K. (2020). Nanoparticles in agroindustry: applications, toxicity, challenges, and trends. *Nanomaterials*, 10, 1654. <https://doi.org/10.3390/nano10091654>
- Pazhouhan, I., Jalali, S.Gh.A., Atabati, H., Zarafshar, M., & 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. [In Persian]
- Perry, D.A. (1991). Methodology and application of vigor tests. International Seed Testing Association. Zurich. Switzerland.
- Pham, X.N., Pham, D.T., Ngo, H.S., Nguyen, M.B., & Doan, H.V. (2021). Characterization and application of C-TiO₂ doped cellulose acetate nanocomposite film for removal of Reactive Red-195. *Chemical Engineering Communications*, 208(3), 304-317. <https://doi.org/10.1080/00986445.2020.1712375>
- Raliya, R., Nair, R., Chavalmane, S., Wang, W.N., & Biswas, P. (2015). Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plant. *Metallomics*, 7(12), 1584-1594. <https://doi.org/10.1039/c5mt00168d>
- Ramadan, T., Sayed, S.A., Abd-Elaal, A. K.A., & Amro, A. (2022). The combined effect of water deficit stress and TiO₂ nanoparticles on cell membrane and antioxidant enzymes in *Helianthus annuus* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28(2), 391-409. <https://doi.org/10.1007/s12298-022-01153-z>
- Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, HM., He, X., Mbarki, S., & Brestic, M. (2017). Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Frontiers in Chemistry*, 78:1-16. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00078>
- Ravelombola, W., Shi, A., Chen, S., Xiong, H., Yang, Y., Cui, Q., Olaoye, D., & Mou, B. (2020). Evaluation of cowpea for drought tolerance at seedling stage. *Euphytica*, 216, 123. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02660-4>
- Ravelombola, W., Shi, A., Qin, J., Weng, Y., Bhattarai, G., Zia, B., Zhou, W., & Mou, B. (2018). Investigation on various aboveground traits to identify drought tolerance in cowpea seedlings. *HortScience*, 53, 1757-1765
- Rico, CM., Peralta-Videa, JR., & Gardea-Torresdey, JL. (2015). Chemistry, biochemistry of nanoparticles, and their role in antioxidant defense system in plants. *Nanotechnology and Plant Science*, 2:1-17. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14502-0_1
- Saeb, H., Khayyat, M., Zarezadeh, A., Moradinezhad, F., Samadzadeh, A., & Safaei, M. (2013). Effects of NaCl stress on seed germination attributes of periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) and corn poppy (*Papaver rhoeas* L.) plants. *Plant Breeding and Seed Science*, 67, 115-123
- Sant'as-Miguela, V., Arias-Estevez, M., Rodriuez-Seijo, A., & 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>
- Sauret-Güeto, S., Calder, G., & Harberd, N.P. (2012). Transient gibberellin application promotes Arabidopsis thaliana hypocotyl cell elongation without maintaining transverse orientation of microtubules on the outer tangential wall of epidermal cells. *Plant Journal*, 69(4), 628-639. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04817.x>
- Scott, S., Jones, R., & Williams, W. (1984). Review of data analysis methods for seed germination 1. *Crop Science*, 24(6), 1192-1199. <https://doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400060043x>

- Servin, A., Elmer, W., Mukherjee, A., De la Torre-Roche, R., Hamdi, H., White, J.C., Bindrab, P., & Dimkpa, C.A. (2015). Review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(2): 1-21. <https://doi.org/10.1007/s11051-015-2907-7>
- Sharif, H., Mehmood, A., Ulfat, A., Ahmad, K.S., Hussain, I., & 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>
- Singh, B. (2020). Cowpea: The Food Legume of the 21st Century. John Wiley & Sons.
- Stewart, R.C., & Beweley, J.D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, 65(2), 245-248. <https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245>
- Sudhakar, C., Lakshmi, A., & 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. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00450-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00450-2)
- Tan, W., Peralta-Videa, JR., & Gardea-Torresdey, JL. (2018). Interaction of titanium dioxide nanoparticles with soil components and plants: current knowledge and future research needs—a critical review. *Environmental Science: Nano Journal* 5(8), 257–278. <https://doi.org/10.1039/C7EN00985B>
- Tekrony, D.M., & 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>
- Torre-Roche, RDL., Cantu, J., Tamez, C., Zuverza-Mena, N., Hamdi, H., Adisa, IO., Elmer, W., Gardea-Torresdey, J., & White, JC. (2020). Seed biofortification by engineered nanomaterials: A pathway to alleviate malnutrition? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(44), 12189-202. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04881>
- Vashisth, A., & Nagarajan, S. (2010). Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. *Journal of Plant Physiology*, 167(2), 149-156.
- Wahid, I., Kumari, S., Ahmad, R., Hussain, SJ., Alamri, S., Siddiqui, MH., & Khan, MIR. (2020). Silver nanoparticle regulates salt tolerance in wheat through changes in ABA concentration, ion homeostasis, and defense systems. *Biomolecules*, 10(11), 1506, 1-19. <https://doi.org/10.3390/biom10111506>
- Waqas, MA., Kaya, C., Riaz, A., Farooq, M., Nawaz, I., Wilkes, A., & Li, Y. (2019). Potential mechanisms of abiotic stress tolerance in crop plants induced by Thiourea. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1336. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01336>
- Yuan, X., Wang, X., Zhang, Sh., Dong, X., Zhang, Sh., Zhou, W., Zhang, Ch., & Luo, Y. (2021). Synergistic enhancement of photocatalytic performance of mesoporous TiO₂ enabled by tunable crystal phase and hybridization with graphene oxide. *Chemistry Select*, 6(23), 5791-5800. <https://doi.org/10.1002/slct.202100784>