



بررسی تاثیر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر ویژگی های تشریحی و بیوشیمیایی گیاه گل ناز یخی (*Aptenia cordifolia*) در مراحل مختلف تکوینی

Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles on the Anatomical and Biochemical Characteristics of *Aptenia cordifolia* at Different Developmental Stages

معصومه بهلی بهل^۱، هانیه محجل شجاع^{۲*}، سمیرا بهبودی^{۳*}، سعیده علیزاده سالطه^۴

Masoumeh Bohli-Bohl¹, Hanieh Mohajjel Shoja^{2*}, Samira Behboudi³, Saeideh Alizadeh-Salteh⁴

۱- دانشجوی دکتری، ۲- دانشیار، ۳- دانشجوی کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، ایران. ۴- دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، گرایش گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

1. Ph.D. student, 2. Assistant Professor, 3. M.Sc. student, Department of Plant Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Iran.

4. Associate Professor, Department of Plant Physiology, Department of Crop Physiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

* این مقاله حاصل پژوهشهای پایان نامه های کارشناسی ارشد نفر اول و نفر سوم می باشد و هر دو به یک میزان در انجام پژوهش سهم دارند.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: *Corresponding Author, Email:

mohajelh@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۲/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۵/۱۷ - تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۶/۲۹)

Received: 2025/05/06 | Accepted: 2025/08/08 | Published: 2025/09/20

Abstract

Titanium dioxide nanoparticles (TiO₂) have gained attention for their photocatalytic properties and broad applications in life sciences and agriculture. However, their impact on plant growth and development remains a topic of ongoing debate. This study, utilizing a completely randomized design, investigated the effects of foliar-applied TiO₂ at concentrations of 0, 0.03%, and 0.05% on the growth, morphology, and biochemical traits of *Aptenia cordifolia* during its vegetative and reproductive stages. The results indicated that TiO₂ treatments reduced growth parameters, such as stem length, root length, and leaf area, during both vegetative and reproductive stages compared to controls. However, plants treated with 0.03% TiO₂ exhibited significantly higher fresh and dry weights of roots and shoots, as well as greater stomatal density, compared to those treated with 0.05%, suggesting a potential inhibitory effect of the higher concentration. In the vegetative stage, the 0.03% treatment increased photosynthetic pigments (chlorophyll a, b, total chlorophyll, and carotenoids) and peroxidase activity, while in the reproductive stage, these increases were observed with the 0.05% treatment. Additionally, the 0.05% TiO₂ treatment led to an increase in protein content in both stages. These findings demonstrate that the effects of TiO₂ are concentration- and growth stage-dependent, with lower concentrations enhancing biochemical properties, while higher concentrations adversely affected plant growth and metabolism. Therefore, careful consideration of nanoparticle concentration and application methods is essential for optimizing their effectiveness in agricultural applications.

Key words: Antioxidant enzymes, growth parameters, photosynthetic pigments, reproductive stage, vegetative stage

چکیده

رفرنس دهی این مقاله Citation

Bohli Bohl M, Mohajjel Shoja H, Behboudi S, Alizadeh-Salteh S. (2025). Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles on the Anatomical and Biochemical Characteristics of *Aptenia cordifolia* at Different Developmental Stages. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 14 (1): 19-35. Doi: [10.61882/gebsj.14.1.2](https://doi.org/10.61882/gebsj.14.1.2) URL: <http://gebsj.ir/article-1-511-en.html>

Genetic Engineering and Biosafety Journal Volume 14, Number 1, 2025

خلاصه

در سال‌های گذشته، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) به دلیل خواص فتوکاتالیستی و کاربردهای گسترده در علوم زیستی و کشاورزی، مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته‌اند. با این حال، تاثیر آن‌ها بر رشد و تکوین گیاهان همچنان محل بحث است. مطالعه حاضر بر پایه یک طرح تصادفی به بررسی مقایسه‌ای تأثیر غلظت‌های مختلف TiO_2 (۰، ۰/۰۳ و ۰/۰۵ درصد) به صورت محلول‌پاشی برگ، بر پارامترهای رشدی، ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گل نازیخی (*Aptenia cordifolia*) در مراحل رشد رویشی و زایشی پرداخته است. نتایج نشان داد در مرحله رویشی و زایشی تیمار نانوذرات موجب کاهش پارامترهای رشدی شامل طول ساقه، طول ریشه و سطح برگ نسبت به گیاهان شاهد شد اما وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و تراکم روزنه‌ها در هر دو مرحله در تیمار ۰/۰۳ بیشتر از ۰/۰۵ درصد بود که به طور کلی تاثیر منفی تیمار ۰/۰۵ درصد را بر این پارامترها نشان می‌دهد. در مرحله رویشی تیمار ۰/۰۳ و در مرحله زایشی تیمار ۰/۰۵ درصد باعث افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوستتزی (کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید) و آنزیم آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز شد. همچنین افزایش محتوای پروتئین در غلظت ۰/۰۵ درصد در هر دو مرحله مشاهده شد. یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که اثر این نانوذرات وابسته به غلظت و مرحله رشدی گیاه بوده و در غلظت‌های پایین باعث بهبود ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه شد، در حالی که در غلظت‌های بالاتر تاثیر منفی بر رشد و متابولیسم گیاه مشاهده شد. پیشنهاد می‌شود در کاربرد نانوذرات، غلظت‌های بهینه، موثر و روش استفاده آن‌ها مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پارامترهای رشدی، رنگیزه‌های فتوستتزی، مرحله رویشی، مرحله زایشی

مقدمه

Introduction

نانوذرات (NPs) جرم‌های اتمی یا مولکولی با ابعاد کامل بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر مربع هستند که خواص فیزیکیوشیمیایی متفاوتی دارند (Nasrollahzadeh et al., 2019). در دهه‌های گذشته، نانومواد مهندسی‌شده به طور گسترده‌ای در حوزه‌های مختلف صنعتی، پزشکی، کشاورزی و مصرف روزمره وارد شده‌اند. این گسترش موجب ورود مقادیر زیادی از این مواد به محیط زیست از طریق خاک، آب و هوا شده که می‌تواند منجر به انتقال آن‌ها به گیاهان، زنجیره غذایی و در نهایت، اثرگذاری بر سلامت انسان شود. نگرانی‌ها در مورد پیامدهای بالقوه NPs بر محیط زیست و سلامت عمومی به طور چشمگیری افزایش یافته‌است (Leopold et al., 2022).

در بین NPs فلزی، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) به دلیل خواص منحصر به فردی مانند پایداری نوری، فعالیت فتوکاتالیستی بالا، سهولت دسترسی و قیمت پایین، کاربردهای فراوانی دارند (Kushwah et al., 2020). این نانوذرات یکی از پرمصرف‌ترین NPs در جهان محسوب می‌شوند که سالانه تا ۲ میلیون تن از آن‌ها در جهان تولید می‌شود. از جمله کاربردهای TiO_2 در صنایعی مانند خمیردندان، داروسازی، پوشش‌ها، کاغذ، جوهر، پلاستیک، محصولات غذایی، لوازم آرایشی و نساجی می‌توان نام برد (Waghmode et al., 2019).

پاسخ گیاهان به NPs فلزی با توجه به ویژگی‌های NPs (اندازه، شکل، غلظت و زمان قرار گرفتن در معرض NPs)، گونه گیاهی و مرحله رشد گیاهان متفاوت است (Dağhan, 2018). یکی از اثرهای مثبت TiO_2 افزایش رشد محصول از طریق افزایش فعالیت فتوستتزی و افزایش جذب مواد مغذی است (Ko and Hwang, 2019). TiO_2 اثر مطلوبی بر تولید ماده خشک و برخی خواص آنتی‌اکسیدانی و بیوشیمیایی گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus*) (Farahi et al., 2023) و همچنین رزماری (Gholami et al., 2020) داشت. افزایش عملکرد کاه و دانه، محتویات

کلروفیل، ارتفاع بوته و کاهش تنش اکسیداتیو تحت تنش کادمیوم با به کار بردن TiO_2 در گیاه گندم مشاهده شد (Irshad et al., 2021). تنش‌های محیطی، مانند خشکی در گندم (Mustafa et al., 2021) و سطوح بالای کادمیوم در ذرت (Lian et al., 2020) نیز با استفاده از TiO_2 به طور قابل توجهی کاهش یافتند.

با این حال، پژوهش‌های متعددی اثرهای منفی و سمی TiO_2 را نیز گزارش کرده‌اند. این اثرها به طور معمول در غلظت‌های بالا مشاهده می‌شوند و شامل افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، آسیب به ساختارهای سلولی، تخریب کلروفیل و اختلال در فرایندهای فتوسنتزی هستند (Gohari et al., 2020). استفاده از TiO_2 در گیاه گندم باعث اختلال در فازهای وابسته به نور و مستقل از فتوسنتز، کاهش محتوای کلروفیل a، سرعت تعرق، هدایت روزنه، غلظت CO_2 بین سلولی و محتوای نشاسته شده است (Dias et al., 2019). همچنین اثر سمی TiO_2 در گیاهان پیاز (Santos et al., 2019)، تنباکو (Hou et al., 2019)، گندم (Silva et al., 2019) و سورگوم (Daryabeigi Zand and Vaezi Heir, 2022) نیز گزارش شده است. با این حال، بسیاری از آزمایش‌ها در شرایط هیدروپونیک انجام شده است و آزمایشات کمی در شرایط خاک انجام شده است. همچنین محلول‌پاشی نانوذرات نسبت به اعمال از طریق خاک، در جذب نانوذرات در گیاهان مؤثرتر است (Hong et al., 2021). بیشتر مطالعات پیشین روی گیاهان زراعی رایج مانند ذرت، گندم و برنج متمرکز بوده و بررسی‌های محدودی در مورد گونه‌های با متابولیسم CAM انجام شده است. گیاه گل ناز یخی با نام علمی (*Aptenia cordifolia* L.) از تیره Aizoaceae، با سازگاری بالا به خشکی و کاربردهای دارویی (خاصیت ضدالتهابی، ضد میکروبی و خوشبوکننده) و زینتی، می‌تواند به عنوان مدلی مناسب برای ارزیابی اثر TiO_2 در محیط‌های دشوار زیستی مورد استفاده قرار گیرد (Said et al., 2019; Lahuf et al., 2018). با این حال، تاکنون مطالعه‌ای که به طور همزمان تأثیر محلول‌پاشی TiO_2 را در مراحل رویشی و زایشی این گونه بر پارامترهای رشدی، مورفولوژیکی و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی بررسی کند، گزارش نشده است. شناخت دقیق واکنش‌های گیاه به دوزهای متفاوت نانوذرات در مراحل رشد مختلف، می‌تواند راهنمای ارزشمند برای کاربرد ایمن و مؤثر فناوری نانو در کشاورزی باشد. در پژوهش پیشین، ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی این گیاه در شرایط هیدروپونیک بررسی شد (Mohajjel Shoja et al., 2021). بنابراین، در این پژوهش هدف ما بررسی اثر محلول‌پاشی TiO_2 از برگ *Aptenia cordifolia* در مراحل رویشی و زایشی با تأکید بر اندازه‌گیری پارامترهای رشدی و مورفولوژیکی و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی است.

مواد و روش‌ها

Materials and Methods

تهیه نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2): نانوذرات TiO_2 از شرکت بازرگانی نوترینو به مقدار ۲۵ گرم تهیه شد. مشخصات این نانوذرات به شرح زیر است. وضعیت ظاهری: پودر سفید، اندازه متوسط نانوذره: 30nm ، سطح ویژه: $200\text{m}^2/\text{g}$ ، درصد خلوص: ۹۹/۹ درصد.

تهیه سوسپانسیون در غلظت‌های مختلف TiO_2 : سوسپانسیون اصلی شامل نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با غلظت ۲ میلی گرم در میلی لیتر بود که از طریق پراکنده ساختن نانوذرات در آب مقطر با قرار دادن آهن ربا درون سوسپانسیون به مدت یک ساعت روی دستگاه همزن مغناطیسی تهیه شد تا مانع آگلومره شدن نانوذرات گردد. به منظور انجام آزمایشات، غلظت‌های مختلفی از نانوذرات (۰، ۰/۰۳، ۰/۰۵ درصد وزنی-حجمی) از سوسپانسیون اصلی تهیه گردید و با آب مقطر به حجم معین رسانده شد و مجدد همگن‌سازی انجام شد. هر بار قبل از محلول‌پاشی سوسپانسیون از قبل تهیه شده، با آهن ربا مجدد روی همزن مغناطیسی هم زده شد تا از ته نشین شدن نانوذرات جلوگیری شود.

کشت گیاهان و شیوه محلول‌پاشی: بذر گل ناز یخی از موسسه پاکان بذر اصفهان تهیه شد. دانه رست‌های گل ناز یخی به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۱ سانتی متر و ارتفاع ۷ سانتی متر که حاوی خاک با ترکیبات کوکوپیت، پرلیت و پیت ماس بودند منتقل شدند. تیمار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بعد از رسیدن گیاهان به مرحله ۸ برگی در یک طرح به طور کامل تصادفی در سه تکرار و سه غلظت (۰، ۰/۰۳، ۰/۰۵،

۰/۰۵ درصد وزنی-حجمی) هر سه روز یک بار بر سطح رویی و پشتی برگ‌ها اسپری شد. در محلول‌پاشی گیاهان شاهد از اسپری آب مقطر استفاده شد. آبیاری با آب مقطر در حد ظرفیت مزرعه‌ای هر روز یک بار، به منظور حفظ رطوبت خاک، انجام شد. مطالعات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی بعد از گذشت ۲۱ روز پس از اعمال تیمار در مرحله رویشی و ۶۳ روز پس از اعمال تیمار در مرحله زایشی انجام گرفت.

بررسی پارامترهای رشدی و ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه: در بررسی پارامترهای رشدی مؤلفه‌هایی از قبیل طول اندام هوایی و ریشه، سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و در بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی تعداد روزنه‌ها و سلول‌های ذخیره‌کننده آب اندازه‌گیری شد و از هر تیمار سه تکرار برداشته شد. طول ساقه از ناحیه یقه تا نوک جوانه انتهایی و طول ریشه از ناحیه یقه تا نوک ریشه به وسیله خط‌کش اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری سطح برگ، از روش ترسیم برگ بر روی کاغذ میلی‌متری و شمارش تعداد خانه‌ها استفاده شد. برای مشاهده و شمارش تعداد روزنه‌ها و تراکم سلول‌های ذخیره‌کننده آب از لاک شفاف استفاده شد. به طوری که بعد از زدن مقداری لاک بر روی سطح اپیدرم رویی و زیرین و قرار دادن لاک‌های جدا شده از سطح برگ روی لام تعداد روزنه‌ها و تعداد سلول‌های ذخیره‌کننده آب در هر دو سطح رویی و زیرین برگ گیاه توسط میکروسکوپ نوری با عدسی X10 مشاهده و شمارش شد (Sun et al., 2020).

بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه: مطالعات بیوشیمیایی شامل سنجش رنگیزه‌ها (کلروفیل a, b، کلروفیل کل و کاروتنوئید)، سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز) و محتوای پروتئین کل تحت تاثیر تیمار TiO_2 می‌باشد. تمامی این سنجش‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (METASH مدل UV-5100) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید: اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید به روش (Dere et al., 1998) انجام شد. مقدار ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی در ۲ میلی‌لیتر استون ۱۰۰ درصد در یک هاون چینی سابیده شد و به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی در یخچال نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ، انجام شد و فاز رویی را برداشته و جذب محلول در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از ۲ میلی‌لیتر استون به عنوان شاهد استفاده شد. غلظت کلروفیل طبق فرمول‌های زیر محاسبه شده و براساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد. میزان کاروتنوئید برای هر عصاره با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$C_a = 11.75 A_{662} - 2.35 A_{645}$$

$$C_b = 18.61 A_{645} - 3.96 A_{662}$$

$$C_{X+C} = 1000 A_{470} - 2.27 C_a - 81.4 C_b / 227$$

که در آن‌ها C_a : میزان کلروفیل a، C_b : میزان کلروفیل b، C_{X+C} : میزان کاروتنوئید A_{662} : جذب در طول موج ۶۶۲

A_{645} : جذب در طول موج ۶۴۵ A_{470} : جذب در طول موج ۴۷۰ که مربوط به کاروتنوئید کل می‌باشد.

تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: ۰/۱ گرم بافت برگ تازه با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار) با pH ۷ در هاون چینی سابیده شد، عصاره در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول در فاز بالایی قرار گرفت که برای سنجش آنزیمی استفاده شد (De Azevedo Neto et al., 2006).

تعیین فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX): فعالیت APX از کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به دلیل اکسیداسیون آسکوربات در واکنش تعیین شد. مخلوط واکنش شامل ۳۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار)، ۲۰۰ میکرولیتر آسکوربات، ۲۰۰ میکرولیتر EDTA، ۲۰۰ میکرولیتر BSA، ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. از لوله آزمایش فاقد آسکوربات و عصاره آنزیمی به عنوان شاهد استفاده شد. کاهش جذب آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر هر ۳۰ ثانیه با اسپکتروفتومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد. H_2O_2 آخرین ماده برای شروع واکنش اضافه شد، برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی $2/8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ استفاده شد و فعالیت آنزیم بر حسب $\text{U mg}^{-1} \text{ protein}$ محاسبه شد (Sairam et al., 2002).

تعیین فعالیت پراکسیداز (POD): گایاکول به عنوان بستر استفاده شد. فعالیت POD در یک مخلوط واکنش که حاوی ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۳۰۰ میکرولیتر H_2O_2 و ۳۰۰ میکرولیتر محلول گایاکول (۱۵۳ میکرولیتر گایاکول در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۳۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، PH ۷ بود، اندازه‌گیری شد از لوله آزمایش فاقد عصاره آنزیمی به عنوان شاهد استفاده شد. در سراسر پلیمریزاسیون گایاکول، افزایش جذب در ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه هر ۳۰ ثانیه ثبت شد، برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی $25/5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد. فعالیت آنزیم بر حسب $U \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ محاسبه شد (MacAdam *et al.*, 1992).

اندازه‌گیری میزان پروتئین: از روش سنجش پروتئین برادفورد استفاده شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی برداشته و به آن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف برادفورد اضافه شد و بعد از مخلوط کردن و طی زمان ۱۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد از لوله آزمایش فاقد عصاره بعنوان شاهد استفاده شد. داده‌ها بر حسب $U \text{ mg}^{-1} \text{ FW}$ محاسبه شد (Bradford *et al.*, 1976).

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌های آماری بر اساس طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SPSS 16 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال آماری $P < 0/05$ انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار EXCEL رسم شدند.

Results and Discussion

نتایج و بحث

تاثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر پارامترهای رشدی و ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه گل نازیخی

نتایج آزمون اختلاف معنی‌داری را در میان گیاهان مورد بررسی در مولفه‌های طول اندام هوایی ($P < 0/05$) در مرحله رویشی و $P < 0/01$ در مرحله زایشی، طول ریشه ($P < 0/01$)، سطح برگ ($P < 0/01$)، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه ($P < 0/01$) نشان داد. طول اندام هوایی در مرحله رویشی و زایشی در گیاهان شاهد بیشترین مقدار را داشت (به ترتیب ۹/۳۱ و ۱۷/۰۱ سانتی‌متر)، در حالی که تیمارهای ۰/۰۳ و ۰/۰۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و نسبت به شاهد کاهش یافتند (شکل ۱- A). بنابراین بیشترین مقدار طول اندام هوایی در هر دو مراحل رویشی و زایشی مربوط به گیاهان شاهد است و با قرار گرفتن گیاه در معرض TiO_2 این پارامتر کاهش پیدا کرده است. این نتایج با یافته‌های پژوهشگران در گیاه گندم (Amirjani *et al.*, 2016) و همچنین گونه‌های لوبیا، کلزا و کاهو (Song *et al.*, 2013) همخوانی دارد. در مقابل، برخی مطالعات نشان داده‌اند که TiO_2 -NPs در گوجه‌فرنگی (Raliya *et al.*, 2015b)، برنج (Zhang *et al.*, 2020) و ماش (Raliya *et al.*, 2015a) باعث افزایش ارتفاع گیاه شده‌اند. همچنین گزارش شده است که مهار رشد ساقه توسط TiO_2 در گیاهان بسیار متفاوت است و به غلظت نانوذات بستگی دارد. به طوری که مطالعه بر روی گیاه عدسک آبی نشان داده است که TiO_2 رشد گیاه را در غلظت‌های پایین تحریک کردند، اما در غلظت‌های بالا مهار کردند (Song *et al.*, 2012). این احتمال وجود دارد در صورتی که در محلول‌پاشی غلظت NPs بیشتر باشد می‌تواند به سطوح سمی در ساقه و برگ رسیده باشد و ارتفاع گیاه را کاهش دهد (Raliya *et al.*, 2015b). همچنین علت کاهش طول ساقه تحت تاثیر TiO_2 می‌تواند با کاهش شدید زیست توده اندام هوایی ارتباط داشته باشد (Samadi *et al.*, 2014).

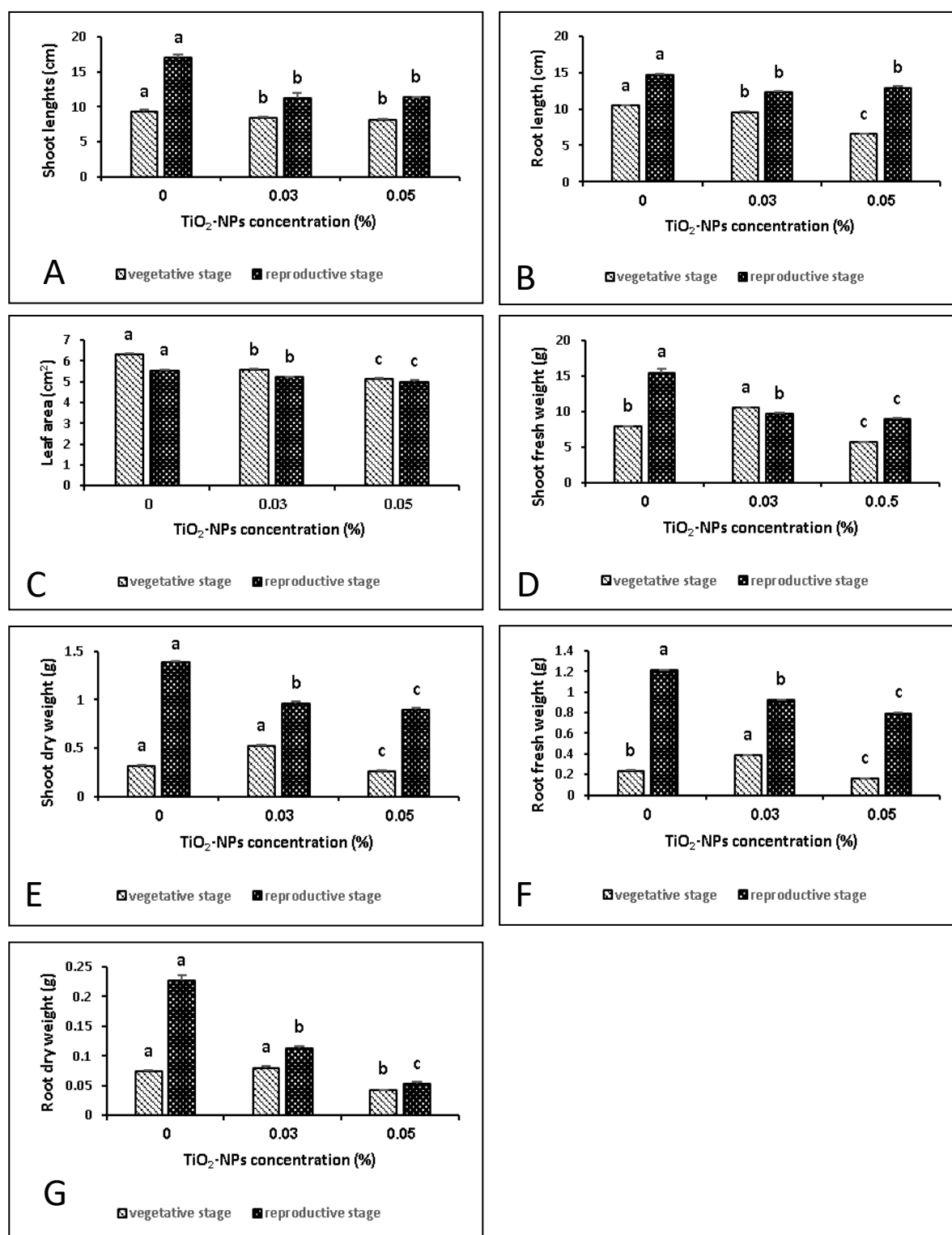
طول ریشه نیز در گیاهان شاهد در هر دو مرحله رویشی و زایشی بیشترین مقدار را داشت (به ترتیب ۱۰/۵۱ و ۱۴/۷۴ سانتی‌متر) و با افزایش غلظت نانوذرات کاهش یافت. در مرحله رویشی، کمترین مقدار طول ریشه در تیمار ۰/۰۵ درصد (۶/۵۵ سانتی‌متر) مشاهده شد (شکل ۱- B). این نتایج با یافته‌های انجام شده بر روی جو (Mattiello *et al.*, 2015) و گوجه‌فرنگی (Raliya *et al.*, 2015b) مطابقت دارد، اما در نخود (Hajra and Mondal, 2017) و ماش (Raliya *et al.*, 2015a) افزایش طول ریشه در مواجهه با TiO_2 گزارش شده است. مطالعات نشان

داده‌اند که غلظت نانوذرات تأثیر تعیین‌کننده‌ای بر طول ریشه دارد به طوری که در گیاه نعنا فلفلی تمام غلظت‌های TiO_2 باعث کاهش طول ریشه شدند درحالی‌که غلظت کمتر TiO_2 به طور معنی‌داری طول ریشه را افزایش داد (Samadi *et al.*, 2014). کاهش رشد ریشه می‌تواند ناشی از مسدود شدن منافذ ریشه، کاهش جذب آب و مواد مغذی و یا سمیت سلولی باشد (Castiglione *et al.*, 2011; Samadi *et al.*, 2014). از دلایل احتمالی دیگر کاهش شاخصه‌های رشدی، تمایز زودرس و چوبی‌شدن دیواره سلول‌های واقع در منطقه رشد طولی سلول است (Fusconi *et al.*, 2007).

سطح برگ در مراحل رویشی و زایشی بیشترین مقدار را در گیاهان شاهد داشت (به ترتیب $6/31$ و $5/54$ سانتی‌متر مربع)، درحالی‌که تیمار $0/05$ درصد کمترین مقدار را نشان داد (به ترتیب $5/12$ و $4/99$ سانتی‌متر مربع) (شکل ۱-C). این کاهش با نتایج حاصل از مطالعات در گیاه اسفناج همسو است (Nejatie Zadeh *et al.*, 2018). همچنین مطالعه بر روی گیاه ذرت که در معرض تولیدات TiO_2 صنعتی قرار گرفتند کاهش سریع رشد برگ را نشان داده است (Asli and Neumann, 2009). با این حال، در برخی مطالعات، افزایش سطح برگ در غلظت‌های پایین TiO_2 گزارش شده است، مانند پژوهش در گیاه باقلا (Abdel Latef *et al.*, 2018). کاهش سطح برگ ممکن است ناشی از تأثیر نانوذرات بر دیواره سلولی و فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه باشد، زیرا مطالعات گذشته نشان داده‌اند که TiO_2 با پر کردن فضای بین میکروفیبریل‌های سلولزی، تأثیر منفی بر رشد برگ، تعرق و فعالیت هیدروکسی ریشه دارند (Asli and Neumann, 2009; Feizi *et al.*, 2011). در مطالعه‌ای که قبلاً در محیط هیدروپونیک بر روی گل ناز یخی انجام دادیم نیز کاهش پارامترهای رشدی در گیاهان تحت تیمار TiO_2 نشان داده شده است (Mohajjel Shoja *et al.*, 2021).

درمورد وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه در مرحله رویشی بیشترین میزان مربوط به تیمار $0/03$ درصد نانوذرات با مقادیر به ترتیب $10/58$ ، $0/53$ ، $0/38$ و $0/08$ گرم و کمترین میزان مربوط به تیمار $0/05$ درصد نانوذرات با مقادیر به ترتیب $5/69$ ، $0/26$ ، $0/15$ و $0/043$ گرم است. اما در مرحله زایشی بیشترین میزان وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه مربوط به گیاهان شاهد به ترتیب با مقادیر $15/49$ ، $1/39$ ، $1/21$ و $0/22$ گرم و کمترین میزان مربوط به تیمار $0/05$ درصد نانوذرات با مقادیر به ترتیب $8/92$ ، $0/89$ ، $0/79$ و $0/05$ گرم است (شکل ۱-D,E,F,G). این یافته‌ها نشان می‌دهد که TiO_2 در یک غلظت مشخص می‌تواند موجب افزایش وزن گیاه شوند، اما در غلظت‌های بالاتر ممکن است اثر منفی بر رشد داشته باشند. در مطالعه‌ای روی گیاه ذرت، استفاده از TiO_2 موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه شد (Dağhan *et al.*, 2018)، در حالی که در گیاهان گل ماهور (Ghasemlou *et al.*, 2019) و نعنا فلفلی (Ahmad *et al.*, 2018)، این نانوذرات به طور قابل توجهی وزن تر و خشک گیاهان تیمار شده را افزایش دادند. افزایش وزن تر می‌تواند به تأثیر TiO_2 در تحریک رشد ریشه، افزایش توانایی جذب آب و مواد مغذی و در نتیجه افزایش زیست‌توده اندام هوایی مرتبط باشد. همچنین، TiO_2 با افزایش نرخ فتوسنتز و کارایی تثبیت کربن، باعث افزایش ماده خشک اندام هوایی و ریشه می‌شوند (Rezaizad *et al.*, 2019) با این حال، در غلظت $0/05$ درصد، کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه مشاهده شد که احتمال دارد به سمیت ناشی از تجمع این نانوذرات در بافت‌های گیاهی مربوط باشد (Raliya *et al.*, 2015b).

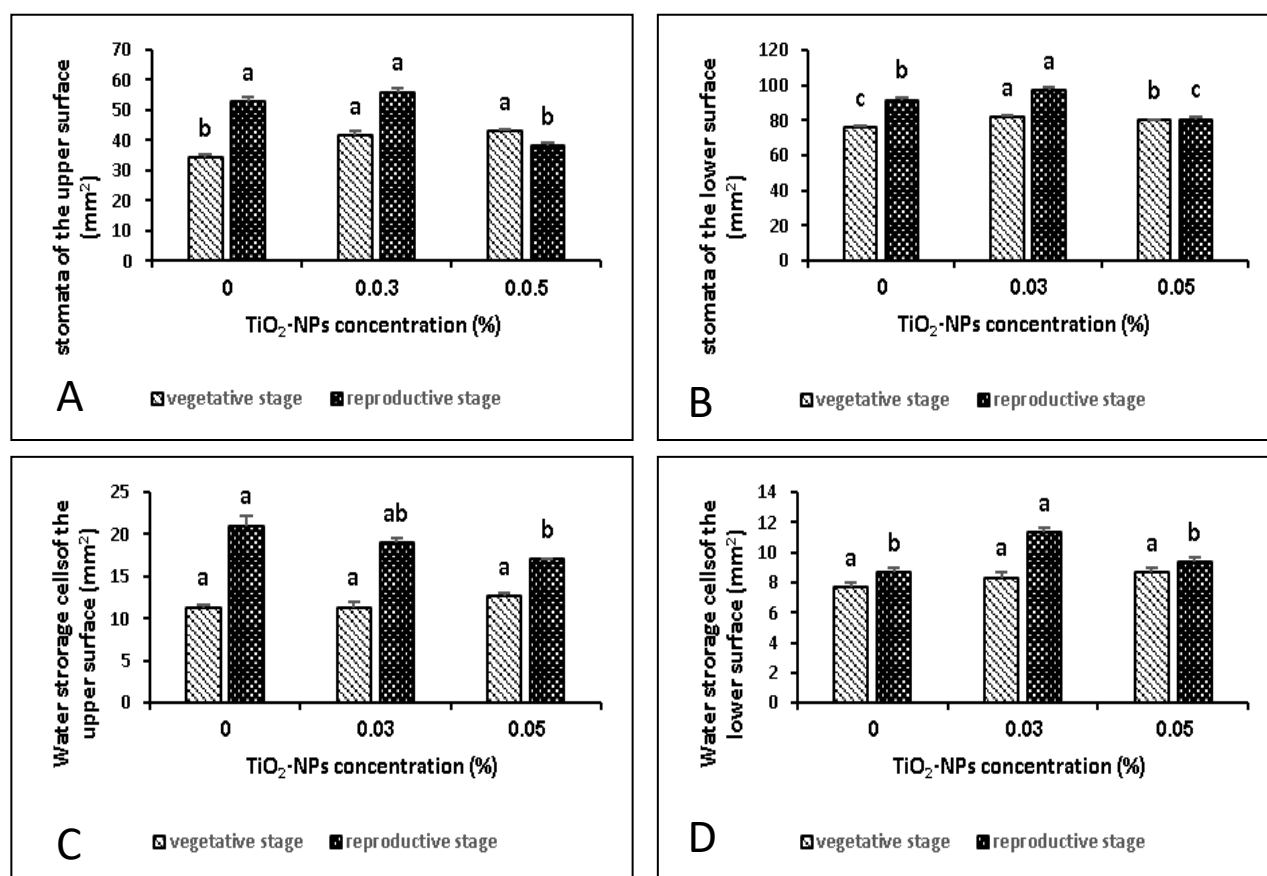
بررسی تعداد روزنه‌ها در سطح رویی و پشتی برگ در مرحله رویشی نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در سطح رویی، تیمارهای $0/03$ و $0/05$ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند اما نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان دادند، درحالی‌که گیاهان شاهد کمترین تعداد روزنه (34 عدد) را داشتند. در سطح پشتی، بیشترین تعداد روزنه در تیمار $0/03$ درصد (82 عدد) و کمترین تعداد در گیاهان شاهد (76 عدد) مشاهده شد. در مرحله زایشی، در سطح رویی تیمار $0/03$ درصد با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، اما تیمار $0/05$ درصد کاهش معنی‌داری در تعداد روزنه‌ها نسبت به شاهد نشان داد (38 در مقابل 53 عدد). در سطح پشتی، بیشترین تعداد روزنه‌ها مربوط به تیمار $0/03$ درصد (97 عدد) و کمترین مقدار مربوط به تیمار $0/05$ درصد (81 عدد) بود (شکل ۲-A,B و شکل ۳). در مورد تعداد سلول‌های ذخیره‌کننده آب، در مرحله رویشی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.



شکل ۱- اثر سطوح مختلف تیمار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر پارامترهای رشدی A: طول اندام هوایی، B: طول ریشه، C: سطح برگ، D: وزن تر اندام هوایی، E: وزن خشک اندام هوایی، F: وزن تر ریشه، G: وزن خشک ریشه در مرحله رویشی و مرحله زایشی در گیاه گل ناز یخی. حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

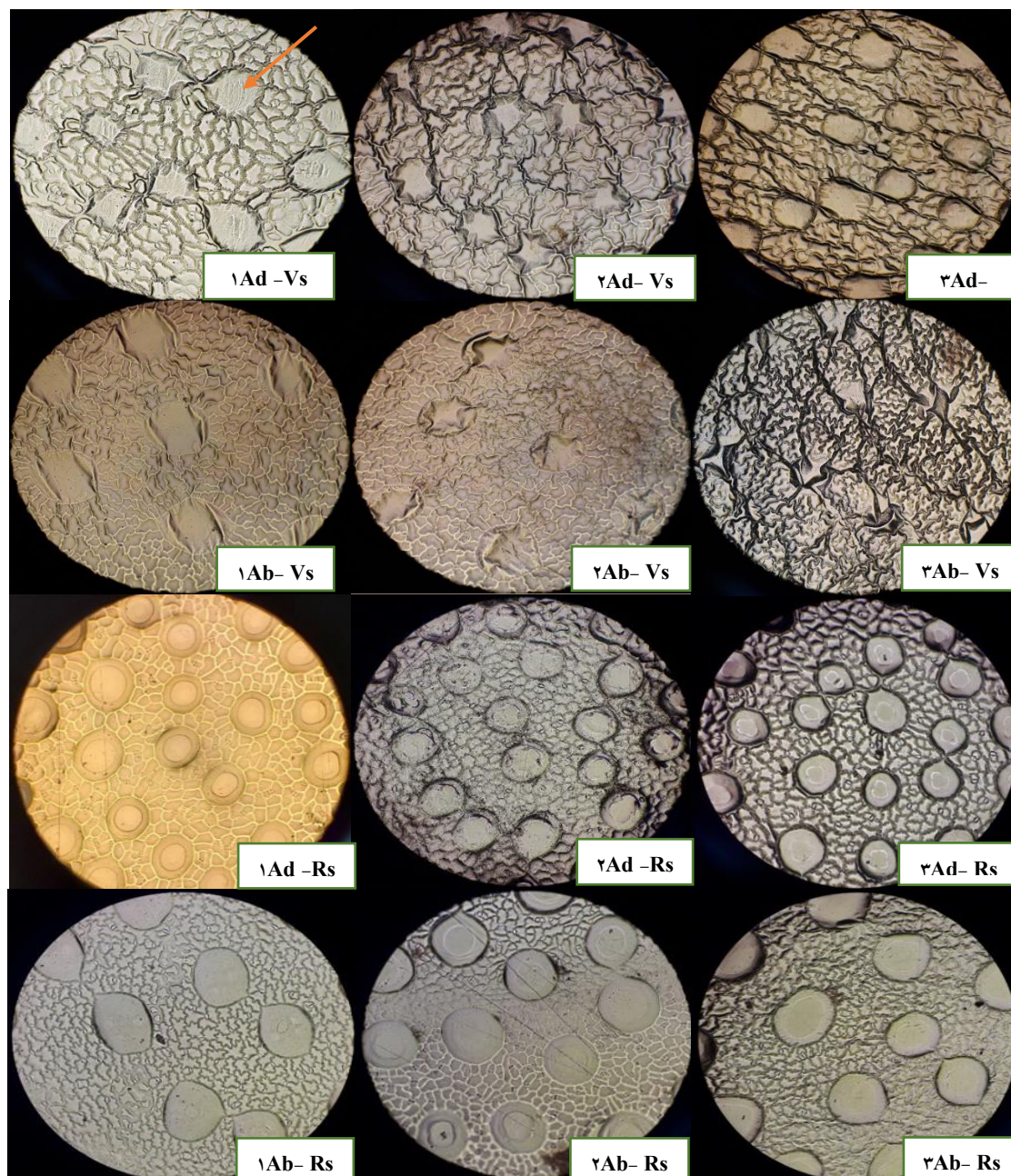
Fig1. Effect of different levels of titanium dioxide nanoparticles treatment on growth parameters A: shoot length, B: root length, C: leaf area, D: shoot fresh weight, E: shoot dry weight, F: root fresh weight, G: root dry weight in the vegetative and reproductive stages of the *Aptenia cordifolia*. Non-similar letters indicate a significant difference at the 0.05 probability level

اما در مرحله زایشی، در سطح رویی بیشترین تعداد سلول‌های ذخیره‌کننده آب در گیاهان شاهد (۲۱ عدد) و کمترین مقدار در تیمار ۰/۰۵ درصد (۱۷ عدد) ثبت شد. تیمار ۰/۰۳ درصد اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت. در سطح پشتی، بیشترین تعداد سلول‌های ذخیره‌کننده آب در تیمار ۰/۰۳ درصد (۱۱ عدد) مشاهده شد، در حالی که بین تیمار ۰/۰۵ درصد و شاهد تفاوت معنی‌داری ثبت نشد (شکل ۲-C, D و شکل ۳). نانوذرات تأثیر مثبتی بر افزایش تعداد روزنه‌ها در سطح رویی و پشتی برگ‌های گل ناز یخی نشان داد. این یافته با نتایج پژوهشی که نشان دادند نانوذرات سلینیوم موجب بهبود تشکیل و توسعه روزنه‌های ژبر می‌شود، مطابقت دارد (Khai et al., 2022). تجمع نانوذرات روی سطح فتوسنتزی می‌تواند باعث افزایش دمای برگ و تغییر در تبادل گاز به دلیل انسداد روزنه‌ها شود (Aslani et al., 2014). همچنین، حضور نانوذرات ممکن است منجر به بزرگ‌تر شدن یا القای منافذ جدید شود که این امر به افزایش انتقال نانوذرات در برگ کمک می‌کند (Nair et al., 2012). گزارش شده است که در گیاه سویا، نانوذرات به کندی حرکت کرده و در اندام‌های تیمار شده تأثیر بیشتری دارند (Nair and Chung, 2014). بنابراین احتمال دارد حضور نانوذرات روی برگ باعث القای منافذ جدید شده باشد (El-Shetehy et al., 2021). در رابطه با پلاسمولیز سلول‌های ذخیره‌کننده آب در تیمارهای نانوذرات، برخی مطالعات نشان داده‌اند که افزایش غلظت فلزات سنگین تعادل آب درون‌سلولی را مختل کرده و موجب پلاسمولیز می‌شود (Prasad, 1995). بنابراین ممکن است این پلاسمولیز مربوط به تجمع TiO_2 باشد.



شکل ۲- اثر سطوح مختلف تیمار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر A: تعداد روزنه‌ها در سطح رویی، B: تعداد روزنه‌ها در سطح پشتی برگ، C: تعداد سلول‌های ذخیره‌کننده آب در سطح رویی، D: تعداد سلول‌های ذخیره‌کننده آب در سطح پشتی برگ در گیاه گل ناز یخی در مرحله رویشی و مرحله زایشی. حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

Fig2. Effect of different levels of titanium dioxide nanoparticles treatment on A: Number of stomata on the upper surface, B: Number of stomata on the dorsal surface of the leaf, C: Number of water-storing cells on the upper surface, D: Number of water-storing cells on the dorsal surface of the leaf in the *Aptenia cordifolia* in the vegetative and reproductive stages. Different letters indicate a significant difference at the 0.05 probability level.



شکل ۳- مقایسه تغییرات روزنه و سلول‌های ذخیره‌کننده آب سطح رویی و زیرین برگ گیاه گل ناز یخی در اثر محلول‌پاشی نانوذرات TiO_2 ۱- اپیدرم برگ گیاه شاهد، ۲- اپیدرم برگ گیاه تیمار ۰/۰۳ درصد نانوذرات، ۳- اپیدرم برگ گیاه تیمار ۰/۰۵ درصد نانوذرات. Ad مخفف Adaxial (سطح رویی) و Ab مخفف Abaxial (سطح زیرین). Vs مخفف vegetative stage (مرحله رویشی)، Rs مخفف reproductive stage (مرحله زایشی) را نشان می‌دهد. فلش آبی نشان‌دهنده روزنه و فلش نارنجی نشان‌دهنده سلول ذخیره‌کننده آب

Fig3. Comparison of changes in stomata and water-storing cells on the upper and lower surfaces of the leaves of the *Aptenia cordifolia* as a result of foliar spraying with TiO_2 nanoparticles: 1- Epidermis of the leaf of the control plant, 2- Epidermis of the leaf of the treated plant with 0.03% nanoparticles, 3- Epidermis of the leaf of the treated plant with 0.05% nanoparticles. Ad stands for Adaxial (upper surface) and Ab stands for Abaxial (lower surface). Vs stands for vegetative stage, Rs stands for reproductive stage. The blue arrow indicates the stomata and the orange arrow indicates the water storage cell.

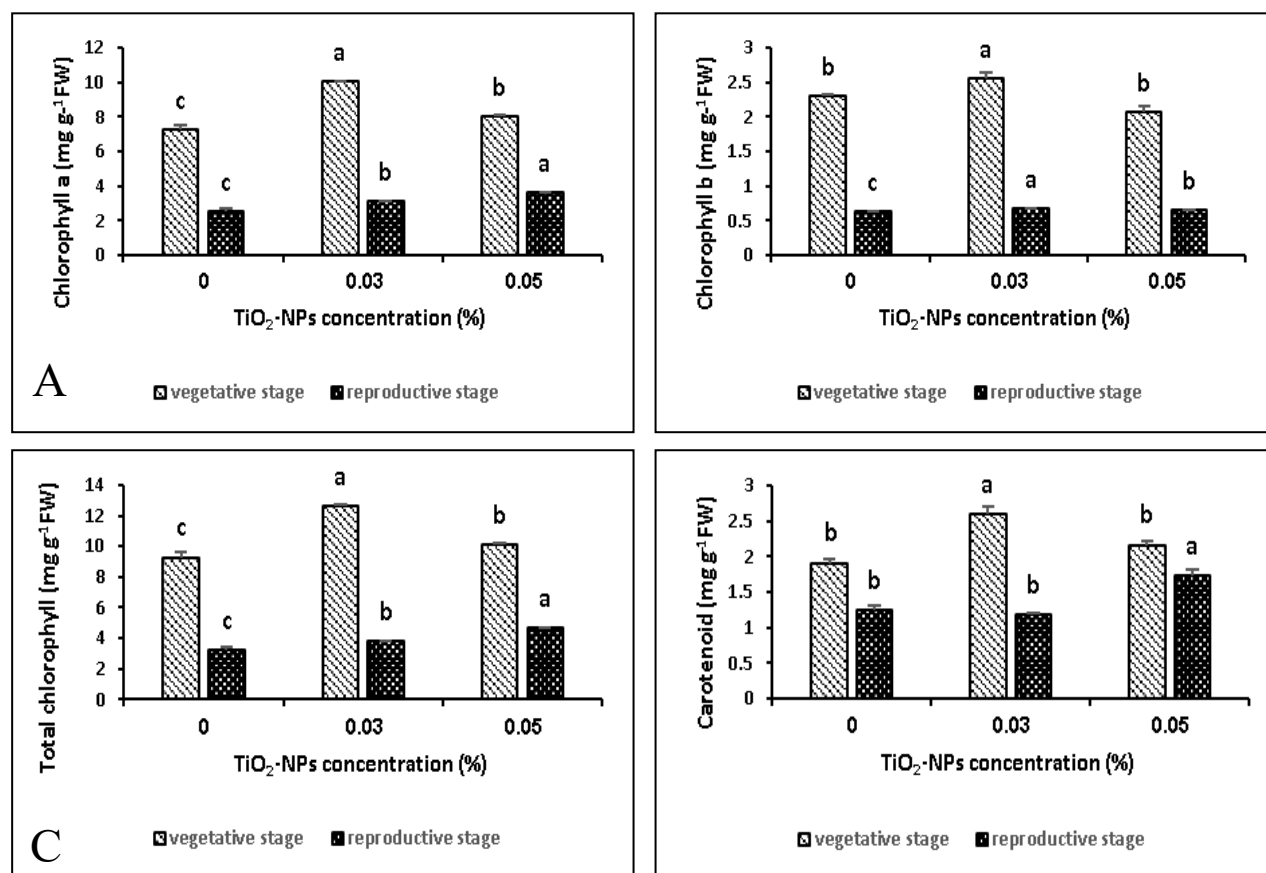
تاثیر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر محتوای کلروفیل و کارتنوئید گیاه گل نازیخی

نتایج این مطالعه نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌دار ($P < 0.01$) است و میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید در مرحله رویشی در تیمار ۰/۰۳ درصد و در مرحله زایشی در تیمار ۰/۰۵ درصد افزایش یافت. بیشترین میزان کلروفیل a در مرحله رویشی در تیمار ۰/۰۳ درصد (۱۰/۰۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) و در مرحله زایشی در تیمار ۰/۰۵ درصد (۳/۶۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد، درحالی‌که کمترین میزان آن در گیاهان شاهد (به ترتیب ۷/۲۵ و ۲/۵۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) ثبت شد. کلروفیل b در مرحله رویشی و زایشی بیشترین مقدار را در تیمار ۰/۰۳ درصد (به ترتیب ۲/۵۵ و ۰/۶۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) نشان داد و کمترین مقدار در مرحله زایشی مربوط به گیاهان شاهد با مقدار ۰/۶۳ میلی گرم بر گرم وزن تر ثبت شد. در حالی که اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۰/۰۵ درصد و گیاهان شاهد در مرحله رویشی ثبت نشد. کلروفیل کل رفتاری همانند کلروفیل a را نشان داد به طوری که بیشترین مقدار در مرحله رویشی در تیمار ۰/۰۳ درصد (۱۲/۶۰ میلی گرم بر گرم وزن تر) و در مرحله زایشی در تیمار ۰/۰۵ درصد (۴/۶۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار مربوط به گیاهان شاهد (با مقادیر به ترتیب ۹/۲۸ و ۳/۱۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد، همچنین در مرحله رویشی، تیمار ۰/۰۳ درصد به طور معنی‌داری میزان کارتنوئید را افزایش داد (۲/۵۹ میلی گرم بر گرم وزن تر)، درحالی‌که تیمار ۰/۰۵ درصد اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت. در مرحله زایشی، بیشترین میزان کارتنوئید در تیمار ۰/۰۵ درصد (۱/۷۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد، درحالی‌که تیمار ۰/۰۳ درصد تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد. این افزایش بیانگر اثر مثبت TiO_2 بر بهبود رنگدانه‌های فتوسنتزی است. یافته‌های این پژوهش با مطالعات پیشین که افزایش محتوای کلروفیل و کارتنوئید را در گیاهان تحت تیمار TiO_2 گزارش کرده‌اند، همخوانی دارد. از جمله نعنای (Felfly et al., 2018) و گشنیز (Sardar et al., 2022). در مطالعه‌ای که قبلاً در محیط هیدروپونیک بر روی گل نازیخی انجام دادیم نیز افزایش رنگیزه‌های کلروفیل a و b در گیاهان تحت تیمار TiO_2 نشان داده شده است (Mohajjel Shoja et al., 2021) با این حال، برخی پژوهش‌ها بر روی گندم (Dağhan, 2020)، ذرت (Dağhan et al., 2018)، نخود (Hajra and Mondal, 2017) و *Spirodela polyrhiza* (Movafeghi et al., 2018) کاهش محتوای کلروفیل را در گیاهان تیمار شده با TiO_2 گزارش کرده‌اند. TiO_2 به دلیل توانایی جذب نور، می‌تواند نقش مهمی در بهبود فتوسنتز ایفا کند (Ghasemlou et al., 2019) همچنین، با کاهش تخریب کلروپلاست‌ها، مدت‌زمان فتوسنتز را افزایش می‌دهند (Hong et al., 2005). میزان کلروفیل در گیاهان در ابتدای گلدهی به حداکثر می‌رسد و نقش مهمی در فرایند اندام‌زایی دارد (Bojovic and Stojanovic, 2005). بهبود شرایط رشد در این مرحله و افزایش طول دوره گلدهی می‌تواند موجب تولید تعداد بیشتری گل و افزایش عملکرد گیاه شود. علاوه بر این، TiO_2 با بهبود جذب آب و عناصر غذایی، به ویژه نیتروژن، باعث افزایش سرعت فتوسنتز و تولید بذرها می‌شود (Xuming et al., 2008). کارتنوئیدها نیز به عنوان نقش کلیدی در محافظت از مرکز واکنش فتوسنتزی در برابر اکسیداسیون خودکار، به ویژه در شرایط استرس غیرزیستی شناخته شده‌اند (Gururani et al., 2015). به طور کلی، تأثیر افزایشی TiO_2 بر محتوای کلروفیل احتمال دارد با افزایش جذب نیتروژن، تقویت فعالیت آنزیمی و محافظت از دستگاه فتوسنتزی مرتبط باشد (Ze et al., 2011).

تاثیر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گیاه گل نازیخی

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در پاسخ به TiO_2 در گیاه مورد مطالعه نشان داد که تفاوت‌های معنی‌داری ($P < 0.01$) در مراحل رویشی و زایشی وجود دارد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) در مرحله رویشی تغییر معنی‌داری نداشت، اما در مرحله زایشی، بیشترین فعالیت APX مربوط به گیاهان شاهد (۰/۲۵ $U\ mg^{-1}\ protein$) بود. در حالی که تیمارهای نانوذرات ۰/۰۳ و ۰/۰۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در مقابل آنزیم پراکسیداز (POD) در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت. در مرحله رویشی بیشترین فعالیت POD در تیمار ۰/۰۵ درصد (۰/۹۳ $U\ mg^{-1}\ protein$) و کمترین آن در گیاهان شاهد (۰/۳۵ $U\ mg^{-1}\ protein$) مشاهده شد، و در مرحله زایشی تیمار ۰/۰۳ درصد با ۰/۹۰ $U\ mg^{-1}\ protein$ بیشترین مقدار را نشان داد. در راستای نتایج ما مطالعه بر روی گیاه ماشک برگ

پهن نشان داد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دارای الگوی نامنظمی بود، و به استثنای POD، روند U شکل را نشان داد و POD به طور قابل توجهی بالاتر از کنترل بود (Castiglione *et al.*, 2014).



شکل ۴- اثر سطوح مختلف تیمار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر رنگیزه‌ها A: کلروفیل a، B: کلروفیل b، C: کلروفیل کل و D: کارتنوئید در مرحله رویشی و مرحله زایشی، در گیاه گل ناز یخی. حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

Fig4. Effect of different levels of titanium dioxide nanoparticles treatment on pigments A: chlorophyll a, B: chlorophyll b, C: total chlorophyll and D: carotenoids in the vegetative and reproductive stages of the *Aptenia cordifolia*. Different letters indicate a significant difference at the 0.05 probability level

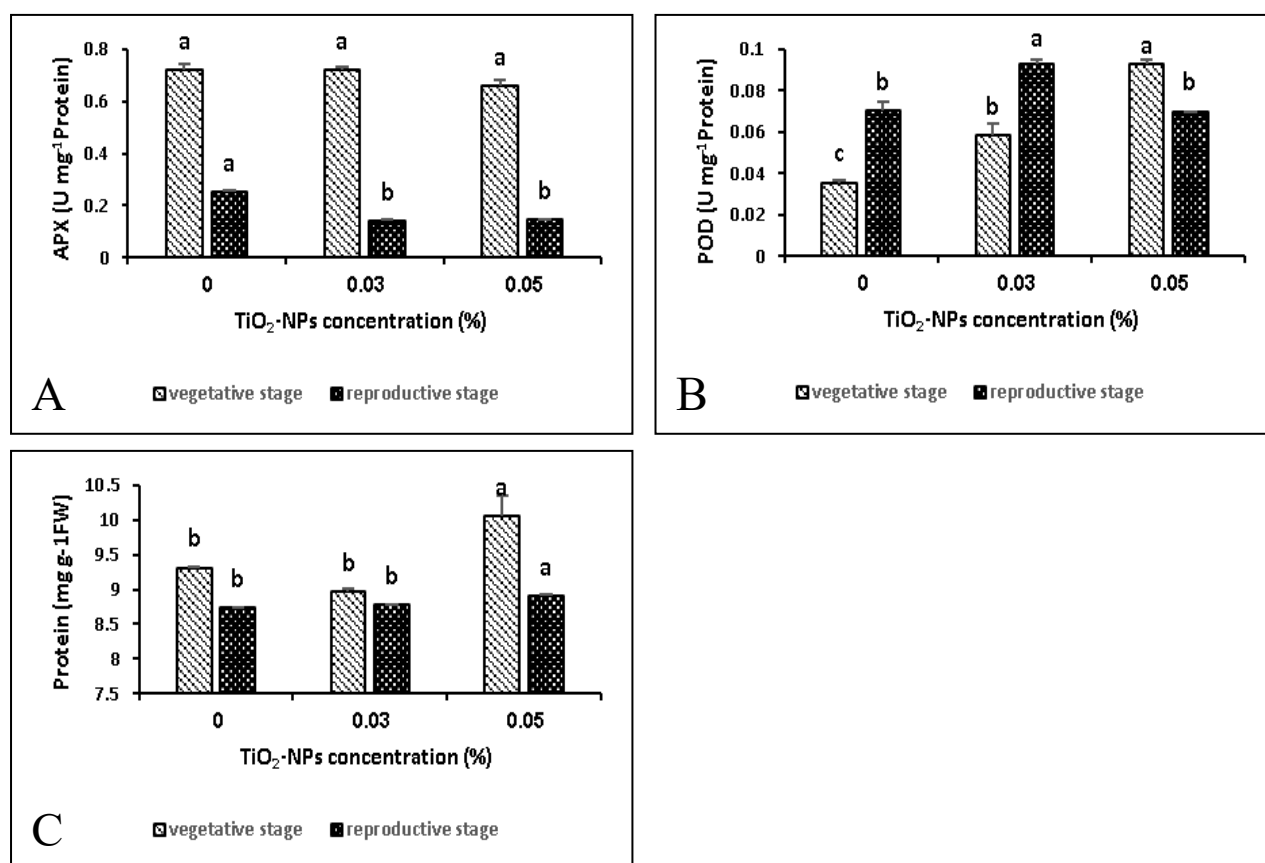
بررسی اثر TiO_2 بر فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه فلفل نشان داد که TiO_2 باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، نیترات ردوکتاز و POD شده است (Martínez-Sánchez *et al.*, 1993). همچنین بیشترین فعالیت آنزیم CAT، POD، APX به ترتیب در تیمارهای ۰/۰۳، ۰/۰۴ و ۰/۰۵ درصد TiO_2 در گیاه عدس و در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌دهی و کمترین اثر در مرحله ۵۰ درصد گلدهی گزارش شد (Soltanieh *et al.*, 2013). در گیاه مریم‌گلی نیز روند افزایشی این آنزیم‌ها تحت تاثیر افزایش غلظت TiO_2 ثبت شده است (Mazarie *et al.*, 2019). همچنین افزایش فعالیت پراکسیداز به دلیل کاربرد نانوذرات مس در سویا گزارش شده است (Nair and Chung, 2014). این تفاوت‌ها به نوع گیاه، مرحله رشد، شدت و مدت تنش بستگی دارد (Salama, 2012) هنگامی که فعالیت CAT رو به کاهش است، فعالیت آنزیم‌های دیگر حذف کننده ROS از طریق یک مسیر جبرانی رو به افزایش است (Malecka *et al.*, 2012). افزایش H_2O_2 در شرایط تنش موجب برجسته شدن نقش POD در حذف آن می‌شود (Sharma *et al.*, 2012). POD آنزیم اصلی (ستون فقرات) در سیستم حفاظت آنتی‌اکسیدانی است (Farahi *et al.*, 2023). این موضوع در مطالعه (Samart *et al.*, 2018) نیز مورد تأیید قرار گرفته که در آن، افزایش POD و کاهش CAT در گیاه برنج موجب بهبود تحمل به سمیت ROS ناشی از TiO_2 شد. می‌توان پیش‌بینی کرد کاربرد TiO_2 در گیاه و ورود آن به بافت برگ، باعث ایجاد سمیت در گیاهان می‌شود، در عین حال میزان اکسیدان‌ها در گیاهان افزایش می‌یابد. در نهایت، گیاه مقدار و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها را برای مقابله با اثر نامطلوب

ROS افزایش می‌دهد (Ebrahimi *et al.*, 2016). همچنین تیتانیوم بر فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاه اثر دارد و باعث افزایش فعالیت POD می‌شود. دلیل افزایش فعالیت این آنزیم تحت تاثیر TiO_2 احتمال دارد ناشی از افزایش جذب آهن باشد (Martinez-Sanchez *et al.*, 1993). همچنین اثر مضر ROS و محصولات پراکسیداسیون لیپیدی توسط یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی خشی می‌شود (Pejic *et al.*, 2008).

تاثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر محتوای پروتئین گیاه گل نازیخی

بر اساس تحلیل آماری، در مراحل رویشی و زایشی تفاوت معنی‌داری ($P < 0.01$) بین تیمارهای مختلف از نظر محتوای پروتئین کل مشاهده شد. تیمار ۰/۰۵ درصد TiO_2 در هر دو مرحله رویشی و زایشی اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت و بالاترین میزان پروتئین را به ترتیب با مقادیر ۱۰/۰۵ و ۸/۹۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر نشان داد. در مقابل، تیمار ۰/۰۳ درصد تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. در راستای نتایج ما مطالعه بر روی نخود بیان کرد که سطح پروتئین بالاتر در دوز بالاتر TiO_2 (ppm ۱۰۰۰) ثبت شد. اما دوز میانی (۵۰۰ ppm) TiO_2 سطح پروتئین کمتری در گیاهان را نشان داد (Hajra and Mondal, 2017). در مطالعه‌ای *in vitro* که بر روی گیاه سویا تحت تاثیر دو نوع نانوذره TiO_2 و ZNO انجام شد هر دو تیمار منجر به افزایش پروتئین کل شدند (Leopold *et al.*, 2022). اثر محلول دی‌اکسید تیتانیوم و اکسیدتیتانیوم در گیاه ذرت نشان داد بیشترین میزان پروتئین در غلظت (۰/۰۲ درصد) و کمترین آن در غلظت (۰/۰۱ درصد)، نسبت به شاهد مشاهده شد (Moghaddam and Madani, 2018). در معرض قرار دادن گیاهان با فلزات سنگین موجب القای پاسخ‌های زیادی در سطح فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌شود (Tabatabaee *et al.*, 2014). در مورد افزایش میزان پروتئین نسبت به شاهد پژوهشگران قبلاً ثابت کرده بودند که TiO_2 -NPs جذب نیتروژن، متابولیسم و فعالیت آنزیم نترات ردوکتاز را افزایش می‌دهند. بنابراین میزان آمونیم در گیاه نیز افزایش می‌یابد. از یک سو، TiO_2 میزان جذب آمونیم و آنزیم‌های درگیر را افزایش می‌دهد. این آنزیم‌ها باعث می‌شوند که آمونیم به سرعت به نیتروژن آلی مانند پروتئین، اسیدهای آمینه و کلروفیل تبدیل شود (Yang *et al.*, 2006). همچنین از سوی دیگر می‌تواند به علت افزایش میزان آنزیم‌های تعدیل‌کننده شرایط تنش شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و آنزیم‌هایی که در بیوستز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نقش دارند باشد (Yousefi *et al.*, 2015).

نتیجه‌گیری کلی: بیشتر مطالعات پیشین روی گیاهان زراعی رایج مانند ذرت، گندم و برنج متمرکز بوده و بررسی‌های محدودی در مورد گونه‌های با متابولیسم CAM و همچنین در دو مرحله رویشی و زایشی انجام شده است. بنابراین تا به حال تاثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) بر روی گیاه *Aptenia cordifolia* مشخص نشده و پژوهش حاضر نوآوری دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که TiO_2 بسته به غلظت مصرفی و مرحله تکوینی گیاه *Aptenia cordifolia*، می‌تواند به طور معنی‌داری ویژگی‌های رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه را تحت تاثیر قرار دهند. غلظت پایین‌تر (۰/۰۳ درصد) در برخی شاخص‌های بیوشیمیایی از جمله محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، تراکم روزنه‌ها و فعالیت آنزیم پراکسیداز، تأثیرات مثبتی داشت، در حالی که غلظت بالاتر (۰/۰۵ درصد) اغلب با کاهش رشد و بروز علائم سمیت همراه بود. این یافته‌ها تأکید می‌کنند که کاربرد TiO_2 باید به صورت کنترل شده و با در نظر گرفتن مرحله رشد، ویژگی‌های گونه گیاهی و شرایط زیستی انجام پذیرد. در همین راستا، پیشنهاد می‌شود مطالعات آتی در شرایط مزرعه‌ای و بر پایه دوره‌های طولانی‌تر، با هدف ارزیابی پایداری، ایمنی زیستی و بهره‌وری کاربرد نانوذرات در مقیاس واقعی صورت گیرد. همچنین، بررسی سازوکارهای مولکولی دخیل در پاسخ گیاهان به این نانوذرات و تحلیل اثرهای ترکیبی آنها با سایر نهادهای کشاورزی، می‌تواند در تدوین دستورالعمل‌های علمی برای بهره‌برداری ایمن و مؤثر از فناوری نانو در کشاورزی پایدار نقش‌آفرین باشد.



شکل ۵- اثر سطوح مختلف تیمار نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر A: آسکوربات پراکسیداز، B: پراکسیداز، C: پروتئین در مرحله رویشی و مرحله زایشی در گیاه گل ناز یخی. حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

Fig5. Effect of different levels of titanium dioxide nanoparticles treatment on A: ascorbate peroxidase, B: peroxidase, C: protein in the vegetative and reproductive stages of the *Aptenia cordifolia*. Different letters indicate a significant difference at the 0.05 probability level.

References

منابع

- Abdel Latef, A. A. H., Srivastava, A. K., El-sadek, M. S. A., Kordrostami, M., & Tran, L. S. P. (2018). Titanium dioxide nanoparticles improve growth and enhance tolerance of broad bean plants under saline soil conditions. *Land Degradation & Development*, 29(4), 1065-1073. <https://doi.org/10.1002/ldr.2780>
- Ahmad, B., Shabbir, A., Jaleel, H., Khan, M. M. A., & Sadiq, Y. (2018). Efficacy of titanium dioxide nanoparticles in modulating photosynthesis, peltate glandular trichomes and essential oil production and quality in *Mentha piperita* L. *Current Plant Biology*, 13, 6-15. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2018.04.002>
- Amirjani, M. R., Askary Mehrabadi, M., & Azizmohamadi, F. (2016). Effect of ZnO nanoparticles on vegetative factors, elements content and photosynthetic pigments of wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Plant Biological Sciences*, 8(27), 33-48. doi: 10.22108/ijpb.2016.20692 [In Persian]
- Aslani, F., Bagheri, S., Muhd Julkapli, N., Juraimi, A. S., Hashemi, F. S. G., & Baghdadi, A. (2014). Effects of engineered nanomaterials on plants growth: an overview. *The Scientific World Journal*, <https://doi.org/10.1155/2014/641759>
- 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 & environment*, 32(5), 577-584. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01952.x>
- Bojovic, B. M., & Stojanovic, J. (2005). Chlorophyll and carotenoid content in wheat cultivars as a function of mineral nutrition. *Archives of Biological Sciences*, 57(4), 283-290. <https://doi.org/10.2298/ABS0504283B>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical*

- biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Dağhan, H. A. T. İ. C. E. (2018). Effects of TiO₂ nanoparticles on maize (*Zea mays* L.) growth, chlorophyll content and nutrient uptake. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16. doi: 10.15666/aeer/1605_68736883
- Dağhan, H., Gülmezoğlu, N., Köleli, N., & Karakaya, B. (2020). Impact of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂-NPs) on growth and mineral nutrient uptake of wheat (*Triticum vulgare* L.). *Biotech Studies*, 29(2), 69-76. <https://doi.org/10.38042/biost.2020.29.02.03>
- Daryabeigi Zand, A., & Vaezi Heir, A. (2022). The Effect of Different Levels of Titanium Dioxide Nanoparticles in Soil on Sorghum Growth Characteristics. *Journal of Soil and Plant Interactions-Isfahan University of Technology*, 13(3), 47-61. doi: 10.47176/jspi.13.3.20601 [in Persian]
- De Azevedo Neto, A.D., Prisco, J.T., Eneas-Filho, J., de Abreu, C.E.B., & Gomes-Filho, E. (2006). Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, 56(1), 87-94. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.01.008>
- Dere, Ş., Gunes, T., & Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22(1), 13-18. <https://journals.tubitak.gov.tr/botany/vol22/iss1/3>
- Dias, M. C., Santos, C., Pinto, G., Silva, A. M., & Silva, S. (2019). Titanium dioxide nanoparticles impaired both photochemical and non-photochemical phases of photosynthesis in wheat. *Protoplasma*, 256, 69-78. <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1281-6>
- Ebrahimi, A., Galavi, M., Ramroudi, M., & Moaveni, P. (2016). Effect of TiO₂ nanoparticles on antioxidant enzymes activity and biochemical biomarkers in pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Molecular Biology Research*, 6(1), 58. doi:10.5539/jmbr.v6n1p58, 1925-4318 1925-430X
- El-Shetehy, M., Moradi, A., Maceroni, M., Reinhardt, D., Petri-Fink, A., Rothen-Rutishauser, B., ... & Schwab, F. (2021). Silica nanoparticles enhance disease resistance in Arabidopsis plants. *Nature Nanotechnology*, 16(3), 344-353. doi: 10.1038/s41565-020-00812-0.
- Farahi, S. M. M., Yazdi, M. E. T., Einafshar, E., Akhondi, M., Ebadi, M., Azimipour, S., ... & Iranbakhsh, A. (2023). The effects of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on physiological, biochemical, and antioxidant properties of Vitex plant (*Vitex agnus-Castus* L.). *Heliyon*, 9(11). doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e22144_
- Feizi, H., Rezvani Moghadam, P., Fotovat, A., & Shah Tahmasbi, N. (2011). Reaction of wheat seed to different concentrations of titanium dioxide nanoparticles in comparison with non-nano-particles. In *Proc. Of 2th congress on science and technology seed*. Nov (pp. 4-5).
- Fusconi, A., Gallo, C., & Camusso, W. (2007). Effects of cadmium on root apical meristems of Pisum sativum L.: cell viability, cell proliferation and microtubule pattern as suitable markers for assessment of stress pollution. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 632(1-2), 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.03.012>
- Ghasemlou, F., Amiri, H., Karamian, R., & Mirzaie-asl, A. (2019). Alleviation of the effects of on drought stress *Verbascum nudicaule* by methyl jasmonate and titanium dioxide nanoparticles. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 9(4), 2911-2920. <https://doi.org/10.22034/IJPP.2019.668857>
- Gohari, G., Mohammadi, A., Akbari, A., Panahirad, S., Dadpour, M. R., Fotopoulos, V., & Kimura, S. (2020). Titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. *Scientific reports*, 10(1), 912. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57794-1>
- Gholami, A., Abbaspour, H., Gerami, M., & HASHEMI, M. H. (2020). The effect of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂) on photosynthetic pigments and some biochemical and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 17(105), 123-134. SID. <https://sid.ir/paper/373938/en> [in Persian]
- Gururani, M. A., Venkatesh, J., & Tran, L. S. P. (2015). Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Molecular plant*, 8(9), 1304-1320. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2015.05.005>
- Hajra, A., & Mondal, N. K. (2017). Effects of ZnO and TiO₂ nanoparticles on germination, biochemical and morphoanatomical attributes of *Cicer arietinum* L. *Energy, Ecology and Environment*, 2(4), 277-288. <https://doi.org/10.1007/s40974-017-0059-6>
- Hong, F., Zhou, J., Liu, C., Yang, F., Wu, C., Zheng, L., & Yang, P. (2005). Effect of nano-TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. *Biological trace element research*, 105(1), 269-279. <https://doi.org/10.1385/BTER:105:1-3:269>
- Hong, J., Wang, C., Wagner, D. C., Gardea-Torresdey, J. L., He, F., & Rico, C. M. (2021). Foliar application of nanoparticles: mechanisms of absorption, transfer, and multiple impacts. *Environmental Science: Nano*, 8(5), 1196-1210. doi: 10.1039/D3NR05012B
- Hou, J., Wang, L., Wang, C., Zhang, S., Liu, H., Li, S., & Wang, X. (2019). Toxicity and mechanisms of action of titanium dioxide nanoparticles in living

- organisms. *Journal of environmental sciences*, 75, 40-53. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.06.010>
- Irshad, M. A., ur Rehman, M. Z., Anwar-ul-Haq, M., Rizwan, M., Nawaz, R., Shakoor, M. B., ... & Ali, S. (2021). Effect of green and chemically synthesized titanium dioxide nanoparticles on cadmium accumulation in wheat grains and potential dietary health risk: A field investigation. *Journal of Hazardous Materials*, 415, 125585. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125585>
- Khai, H. D., Mai, N. T. N., Tung, H. T., Luan, V. Q., Cuong, D. M., Ngan, H. T. M., ... & Nhut, D. T. (2022). Selenium nanoparticles as in vitro rooting agent, regulates stomata closure and antioxidant activity of gerbera to tolerate acclimatization stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 150(1), 113-128. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02250-3>
- Ko, J. A., & Hwang, Y. S. (2019). Effects of nanoTiO₂ on tomato plants under different irradiances. *Environmental pollution*, 255, 113141. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113141>
- Kushwah, K. S., & Patel, S. (2020). Effect of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) on Faba bean (*Vicia faba* L.) and induced asynaptic mutation: a meiotic study. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39, 1107-1118. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-10046-7>
- Lahuf, A. A., Jaafar, O. H., Al-mosoy, M., Hameed, Z. L., & Li, J. (2018). First record of the crown rot fungus *Fusarium equiseti* affecting *Triticum aestivum* L. and *Aptenia cordifolia* in Iraq. *AJAB. Asian Journal of Agriculture and Biology*, 6(4), 543-548. <https://doi.org/10.35495/>
- Leopold, L. F., Coman, C., Clapa, D., Oprea, I., Toma, A., Iancu, S. D., ... & Coman, V. (2022). The effect of 100–200 nm ZnO and TiO₂ nanoparticles on the in vitro-grown soybean plants. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 216, 112536. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112536>
- Lian, J., Zhao, L., Wu, J., Xiong, H., Bao, Y., Zeb, A., ... & Liu, W. (2020). Foliar spray of TiO₂ nanoparticles prevails over root application in reducing Cd accumulation and mitigating Cd-induced phytotoxicity in maize (*Zea mays* L.). *Chemosphere*, 239, 124794. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124794>
- MacAdam, J. W., Nelson, C. J., & Sharp, R. E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3), 872-878. <https://doi.org/10.1104/pp.99.3.872>
- Malecka, A., Piechalak, A., Mensinger, A., Hanć, A., Baralkiewicz, D., & Tomaszewska, B. (2012). Antioxidative defense system in *Pisum sativum* roots exposed to heavy metals (Pb, Cu, Cd, Zn). *Polish Journal of Environmental Studies*, 21(6), 1721-1730.
- Martínez-Sánchez, F., Nunez, M., Amoros, A., Gimenez, J. L., & Alcaraz, C. F. (1993). Effect of titanium leaf spray treatments on ascorbic acid levels of *Capsicum annuum* L. fruits. *Journal of plant Nutrition*, 16(5), 975-981. <https://doi.org/10.1080/01904169309364586>
- Mattiello, A., Filippi, A., Pošćić, F., Musetti, R., Salvatici, M. C., Giordano, C., ... & Marchiol, L. (2015). Evidence of phytotoxicity and genotoxicity in *Hordeum vulgare* L. exposed to CeO₂ and TiO₂ nanoparticles. *Frontiers in Plant Science*, 1043. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01043>
- Mazarie, A., Mousavi-nik, S. M., Ghanbari, A., & Fahmideh, L. (2019). Effect of different spraying concentrations of jasmonic acid and titanium dioxide nanoparticles on some physiological traits and antioxidant system activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Plant Biological Sciences*, 11(1), 1-22. doi: 10.22108/ijpb.2018.110510.1092 [In Persian]
- Moghaddam, H. T., & Madani, A. (2016). Influence of titanium foliar application on antioxidant enzyme activity and some biochemical attributes of corn. *Maydica electronic publication*, 61 ~ M23.
- Mohajjel Shoja, H., Ahmadi, L., Kolahi, M., & Mohajel Kazemi, E. (2021). Effect of TiO₂ NPs on the growth, anatomic features and biochemistry parameters of Baby sun rose (*Aptenia cordifolia*). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27, 2071-2081. <https://doi.org/10.1007/s12298-021-01050-x>
- Movafeghi, A., Khataee, A., Abedi, M., Tarrahi, R., Dadpour, M., & Vafaei, F. (2018). Effects of TiO₂ nanoparticles on the aquatic plant *Spirodela polyrrhiza*: Evaluation of growth parameters, pigment contents and antioxidant enzyme activities. *Journal of Environmental Sciences*, 64, 130-138. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.12.020>
- Mustafa, H., Ilyas, N., Akhtar, N., Raja, N. I., Zainab, T., Shah, T., ... & Ahmad, P. (2021). Biosynthesis and characterization of titanium dioxide nanoparticles and its effects along with calcium phosphate on physicochemical attributes of wheat under drought stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223, 112519. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112519>
- Nair, P. M. G., & Chung, I. M. (2014). A mechanistic study on the toxic effect of copper oxide nanoparticles in soybean (*Glycine max* L.) root development and lignification of root cells. *Biological trace element research*, 162, 342-352. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0106-5>
- Nair, R., Mohamed, M. S., Gao, W., Maekawa, T., Yoshida, Y., Ajayan, P. M., & Kumar, D. S. (2012). Effect of carbon nanomaterials on the germination and growth of rice plants. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 12(3), 2212-2220. <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.5775>

- Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S. M., Sajjadi, M., & Issaabadi, Z. (2019). An introduction to nanotechnology. In *Interface Science and Technology* (Vol. 28, pp. 1-27). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813586-0.00001-8>
- Nejatie Zadeh, S., Malekzadeh Shafaroudi, S., Astaraci, A. R., & Moshtaghi, N. (2018). Effects of Titanium Dioxide (TiO₂) and EDTA on Growth and Biochemical Properties of Spinach (*Spinacia oleracea*). *Journal Of Horticultural Science*, 32(3), 419-427. <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v32i3.67146> [In Persian]
- Pejic, S., Todorović, A., Stojiljković, V., Kasapović, J., & Pajović, S. B. (2009). Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in endometrium of patients with polyps, myoma, hyperplasia and adenocarcinoma. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 7(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-149>
- Prasad, M. N. V. (1995). Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. *Environmental and Experimental Botany*, 35(4), 525-545. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(95\)00024-0](https://doi.org/10.1016/0098-8472(95)00024-0)
- Raliya, R., Biswas, P., & Tarafdar, J. C. (2015a). TiO₂ nanoparticle biosynthesis and its physiological effect on mung bean (*Vigna radiata* L.). *Biotechnology Reports*, 5, 22-26. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.10.009>
- Raliya, R., Nair, R., Chavalmane, S., Wang, W. N., & Biswas, P. (2015b). 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>
- Rezaizad, M., Hashemi-Moghaddam, H., Abbaspour, H., Gerami, M., & Mueller, A. (2019). Photocatalytic effect of TiO₂ nanoparticles on morphological and photochemical properties of stevia plant (*Stevia rebaudiana Bertoni*). *Sugar Tech*, 21(6), 1024-1030. <https://doi.org/10.1007/s12355-019-00726-9>
- Ruffini Castiglione, M., Giorgetti, L., Cremonini, R., Bottega, S., & Spanò, C. (2014). Impact of TiO₂ nanoparticles on *Vicia narbonensis* L.: potential toxicity effects. *Protoplasma*, 251(6), 1471-1479. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0649-5>
- Ruffini Castiglione, M., Giorgetti, L., Geri, C., & Cremonini, R. (2011). The effects of nano-TiO₂ on seed germination, development and mitosis of root tip cells of *Vicia narbonensis* L. and *Zea mays* L. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(6), 2443-2449. <https://doi.org/10.1007/s11051-010-0135-8>
- Said, A. A. E., Attia, E. Z., Abdelmohsen, U. R., & A Fouad, M. A. (2019). Natural products potential of the genus *Aptenia*. *Journal of Advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 59-62. doi: 10.21608/jabps.2019.6908.1032
- Sairam, R. K., Rao, K. V., & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant science*, 163(5), 1037-1046. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00278-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00278-9)
- Salama, H. M. (2012). Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *International Research Journal of Biotechnology*, 3(10), 190-197. <http://www.interesjournals.org/IRJOB>
- Samadi, N., Yahyaabadi, S., & Rezayatmand, Z. (2014). Effect of TiO₂ and TiO₂ nanoparticle on germination, root and shoot length and photosynthetic pigments of *Mentha piperita*. *International Journal of Plant & Soil Science*, 3(4), 408-418. doi: 10.9734/IJPSS/2014/7641
- Samart, S., Phakamas, N., & Chutipaijit, S. (2018). Assessment of antioxidant enzymes in response to exogenous titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in Chainat 1 rice cultivar. *Materials Today: Proceedings*, 5(6), 14160-14165. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2018.02.083>
- Santos Filho, R. D., Vicari, T., Santos, S. A., Felisbino, K., Mattoso, N., Sant'Anna-Santos, B. F., ... & Leme, D. M. (2019). Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles and triggering of defense mechanisms in *Allium cepa*. *Genetics and molecular biology*, 42(2), 425-435. <https://old.scielo.br/scielo.php?script=sci-arttext&pid=S1415-47572019000300425>
- Sardar, R., Ahmed, S., & Yasin, N. A. (2022). Titanium dioxide nanoparticles mitigate cadmium toxicity in *Coriandrum sativum* L. through modulating antioxidant system, stress markers and reducing cadmium uptake. *Environmental Pollution*, 292, 118373. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118373>
- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K., & Arora, S. (2012). Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 167(8), 2225-2233. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9759-8>
- Silva, S., de Oliveira, J. M. P. F., Dias, M. C., Silva, A. M., & Santos, C. (2019). Antioxidant mechanisms to counteract TiO₂-nanoparticles toxicity in wheat leaves and roots are organ dependent. *Journal of hazardous materials*, 380, 120889. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120889>
- Soltanieh, M., Mavaouni, P., & Nouri, H. (2013). The effect of foliar application of titanium dioxide nanoparticles on yield, yield components, and antioxidant enzyme activities in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Plant Environmental Physiology*, 77-88. [In Persian]
- Song, G., Gao, Y., Wu, H., Hou, W., Zhang, C., & Ma, H. (2012). Physiological effect of anatase TiO₂ nanoparticles on *Lemna minor*. *Environmental*

- Toxicology and Chemistry*, 31(9), 2147-2152. <https://doi.org/10.1002/etc.1933>
- Song, U., Shin, M., Lee, G., Roh, J., Kim, Y., & Lee, E. J. (2013). Functional analysis of TiO₂ nanoparticle toxicity in three plant species. *Biological trace element research*, 155, 93-103. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9765-x>
- Sun, L., Song, F., Zhu, X., Liu, S., Liu, F., Wang, Y., & Li, X. (2021). Nano-ZnO alleviates drought stress via modulating the plant water use and carbohydrate metabolism in maize. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 67(2), 245-259. <https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1723003>
- Tabatabaee, Z., Razavizadeh, R., Rostami, F. (2014). Changes occurring in canola (*Brassica napus* L.) in response silver nanoparticles treatment under in vitro conditions, *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 4 (S3), 797-807. www.cibtech.org/sp.ed/jls/2014/03/jls.htm
- Waghmode, M. S., Gunjal, A. B., Mulla, J. A., Patil, N. N., & Nawani, N. N. (2019). Studies on the titanium dioxide nanoparticles: Biosynthesis, applications and remediation. *Discover Applied Sciences*, 1(4), 310. doi: <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0337-3>
- Xuming, W., Fengqing, G., Linglan, M., Jie, L., Sitao, Y., Ping, Y., & Fashui, H. (2008). Effects of nano-anatase on ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase mRNA expression in spinach. *Biological trace element research*, 126(1), 280-289. <https://doi.org/10.1007/s12011-008-8203-y>
- Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C., & Yang, P. (2006). Influence of nano-anatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological trace element research*, 110(2), 179-190. <https://doi.org/10.1385/BTER:110:2:179>
- Yousefi, K., Riahi, A., & Baghizadeh, A. (2015). Investigation of the effects of Ag and Cu elicitors on flavone synthase 1 gene expression and some biochemical parameters on *Cuminum cyminum* L. endemic from Iran. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 28(1), 210-223. doi: 28120 [In Persian]
- Ze, Y., Liu, C., Wang, L., Hong, M., & Hong, F. (2011). The regulation of TiO₂ nanoparticles on the expression of light-harvesting complex II and photosynthesis of chloroplasts of *Arabidopsis thaliana*. *Biological trace element research*, 143(2), 1131-1141. <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8901-0>
- Zhang, W., Long, J., Geng, J., Li, J., & Wei, Z. (2020). Impact of titanium dioxide nanoparticles on Cd phytotoxicity and bioaccumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *International journal of environmental research and public health*, 17(9), 2979. <https://doi.org/10.3390/ijerph17092979>