

تأثیر نانو پرایمینگ و بیوپرایمینگ بر مولفه‌های رشد *Onobrychis sativa* Lam. در شرایط آزمایشگاهیمهدی معمری<sup>۱\*</sup>، الهام علی جعفری<sup>۲</sup>، معصومه عباسی خالکی<sup>۳</sup> و اردوان قربانی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۰۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۱۲/۲۰

## چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر نانوسیلیکات پتاسیم (در غلظت‌های ۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، نانوتیتانیوم (در غلظت‌های ۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و ریزموجودات مفید (EM<sup>۵</sup>) (در غلظت یک و دو درصد) بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه گونه *Onobrychis sativa* Lam. بر پایه طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. در پایان دوره جوانه‌زنی؛ شاخص‌های ضریب آلومتری (CA)، سرعت جوانه‌زنی (VG)، درصد جوانه‌زنی (GP)، شاخص بنیه گیاهچه (VI) و محتوی آب بافتی گیاهچه (TWC) محاسبه شدند. نتایج نشان داد که تأثیر تیمارها بر سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه، ضریب آلومتری، وزن تر گیاهچه، طول ساقه‌چه و محتوی آب بافتی معنی‌داری بود. در حالی که تأثیر تیمارها بر وزن خشک گیاهچه و طول ریشه‌چه معنی‌دار نبود. به‌طور کلی نتایج نشان داد که بیشترین مقدار طول ساقه‌چه (۶/۷۶ سانتی‌متر) و ضریب آلومتری (۱/۵) در تیمار نانوسیلیکات پتاسیم (۱۰۰۰ mg/li) بیشترین مقدار درصد جوانه‌زنی (۸/۵ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۴۶) تحت تیمار نانوتیتانیوم (۱۰۰۰ mg/li) و بیشترین مقدار وزن تر گیاهچه (۳/۳۷ گرم)، شاخص بنیه بذر (۰/۴۵) و محتوای آب بافتی گیاهچه (۹۱/۶) در تیمار EM دو درصد مشاهده شد. نتایج این تحقیق می‌تواند در راستای بهبود جوانه‌زنی و مولفه‌های رویشی *O. sativa* در مراحل اولیه رشد، در عملیات مختلف مرتعکاری مانند بذرکاری و بذرپاشی، موفقیت این طرح‌های اصلاحی را افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: پرایمینگ، خصوصیات رشد، ریزموجودات مفید، نانوذرات، جوانه‌زنی.

۱- استادیار دانشگاه محقق اردبیلی

\* نویسنده مسئول: moameri@uma.ac.ir

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد مرتعداری، دانشگاه محقق اردبیلی

۳- دانشجوی دکتری مرتعداری، دانشگاه محقق اردبیلی

۴- دانشیار دانشگاه محقق اردبیلی

## مقدمه

فعالیت‌های متابولیکی درون جنین می‌باشد. برای مثال، هنگام جذب آب، همانندسازی DNA، تحریک فعالیت RNA و در نتیجه پروتئین‌سازی، ترمیم غشای سلولی و افزایش هورمون‌های محرک جوانه‌زنی از جمله اتیلن صورت گرفته است که مجموعه این عوامل مقدمات جوانه‌زنی را فراهم می‌آورند (۴ و ۸). فناوری استفاده از EM اولین بار در دهه ۱۹۷۰ توسعه داده شد. ابتدا میکروب‌ها از اکوسیستم‌های مختلف جدا شده و سپس مجدداً مورد استفاده قرار گرفتند (۱۶). اوله و ویلیامز<sup>۲</sup> (۲۰۱۵) گزارش کردند که EM می‌تواند کیفیت و عملکرد گیاهان را بهبود بخشد و با کاهش شیوع آفات و بیماری‌ها و محافظت در مقابل علف‌های هرز، به این ترتیب به کشاورزی پایدار کمک می‌شود. همچنین ایشان بیان کردند میکروارگانیسم باعث افزایش رشد و کاهش میزان نیترات پیوندهای خیار (*Cucumis sativus*) و کدو (*Cucurbita pepo*) می‌شود.

همچنین فناوری نانو بر بهبود عملکرد گیاهان برای جذب مواد غذایی، بهبود جوانه‌زنی، تولید گیاه، دفع آفات و امراض گیاه، ایجاد بستر کاشت گیاه و غیره تاثیر دارد (۸ و ۳۳). نانوذرات با رخنه در بذور باعث افزایش جوانه‌زنی از طریق افزایش قدرت جذب آب توسط دانه می‌شوند. همچنین (۶). دی اکسید تیتانیوم، یک اکسید معدنی غیرسیلیکاتی طبیعی است که در اشکال مختلف (آناناز، روتیل و بروکایت) وجود دارد. این نانوذره دارای کاربردهای بسیار گسترده‌ای در علوم مختلف می‌باشد. در سال‌های اخیر استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به دلیل ویژگی‌های خاص بیولوژیک مورد توجه متخصصان فیزیولوژی گیاهی قرار گرفته است (۳۲ و ۴۴). نانوذره نانو اکساید تیتانیوم کلیه خصوصیات  $TiO_2$  را دارا بوده و همچنین به واسطه کوچکی اندازه ذرات، سطح تماس آن با مواد افزایش یافته و کارایی و اثر بخشی بیشتری دارد (۲۲). تیتانیوم یکی از عناصر سودمند گیاه است و می‌تواند جاذب برخی عناصر نظیر نیتروژن، فسفر، کلسیم، منیزیم، آهن، منگنز و روی را تحریک نماید. نانوذرات اثرات مختلفی بر گیاهان دارند که ممکن است این اثرات مثبت و یا منفی باشند (۲۰ و ۲۶). کمالی و صادقی‌پور (۲۰۱۵) در مطالعه تاثیر اثرات نانودی اکسید تیتانیوم بر جوانه‌زنی و رشد پنج

جوانه‌زنی نامطلوب بذر برخی از گیاهان مرتعی در عملیات اصلاح مرتع مانند بذرکاری، کپه‌کاری و بذرپاشی به‌عنوان یک عامل نامطلوب در نظر گرفته می‌شود. بنابراین پژوهشگران تلاش می‌نمایند تا با بررسی دلایل آن، به روش‌هایی مناسب برای شکست خواب و افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرها دست یابند (۳۸). استقرار ضعیف گیاه مشکل عمده تولید گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌باشد (۱۵). مرحله جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه اهمیت ویژه‌ای در تعیین تراکم نهایی بوته در واحد سطح دارد و از مهمترین مراحل بحرانی در چرخه زندگی گیاه می‌باشد (۴۳). جوانه‌زنی بذر، به سبب نقش آن در سیستم‌های زراعی و تولیدی، همواره یکی از مهم‌ترین موضوعات مهم در فیزیولوژی گیاهی می‌باشد. بنابراین به‌منظور بهبود جوانه‌زنی بذرها از تکنیک‌های مختلف پرایمینگ بذر استفاده می‌شود. پرایمینگ فناوری است که به‌واسطه آن بذرها پیش از قرار گرفتن در بستر کشت از لحاظ فیزیولوژیکی و بیولوژیکی، آمادگی جوانه‌زنی را به‌دست می‌آورند. این امر سبب تغییرات زیستی و فیزیولوژیکی زیادی در بذرها و همچنین گیاه حاصل از آن می‌گردد، به‌طوری که نتیجه آن جوانه‌زنی بهتر و استقرار مناسب گیاهچه است (۵ و ۱۹). فواید پرایمینگ بذر شامل افزایش درصد جوانه‌زنی، افزایش سرعت و میزان جوانه‌زنی، جوانه‌زنی در محدوده وسیعی از شرایط محیطی، بهبود رشد و بنیه گیاهچه می‌باشد (۱۵ و ۴۰). بیوپرایمینگ بذر نیز یک روش‌های پیشرفته تیمار بذر است که شامل استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید بر روی سطح بذر و هیدراتاسیون بذر است (۴۲). به‌عبارت دیگر، عوامل بیولوژیک یا ریزموجودات مفید ( $EM^1$ )، در بهبود جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهان موثر می‌باشد. در این روش که به‌عنوان بیوپرایمینگ یا پیش‌تیمار زیستی شناخته می‌شود، از ریزجانداران مفید و عوامل زیستی مانند قارچ‌ها (از جمله میکوریزا و تریکودرما) و باکتری‌های محرک رشد گیاهی استفاده می‌گردد که می‌توانند سازگاری و پایداری گیاهان را افزایش دهند. بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی در اثر پرایمینگ‌هایی مانند ریز موجودات مفید به دلیل تحریک

<sup>1</sup>- Effective microorganisms

<sup>2</sup>- Olle and Williams

بیان کردند که نانوسیلیکا باعث افزایش ارتفاع ساقه، عرض ساقه، تعداد برگ و مقدار سیلیسیم در گیاه ذرت (*Zea Mays L.*) شد. گونه *Onobrychis sativa* Lam. یکی از گیاهان با ارزش مرتعی است که گونه‌های مختلف آن کاربردهای فراوانی مانند حفاظت خاک و کاهش فرسایش و ارزش علوفه‌ای در مراتع دارند. *O. sativa* یکی از بهترین و سازگارترین گونه‌های مرتعی برای کشت دیم، احداث مراتع دست‌کاشت و اصلاح مراتع در مناطق استپی سرد است و در کشت بهاره و پاییزه دوره فنولوژی خود را به‌طور کامل طی می‌کند (۳ و ۶). با توجه به اینکه این گونه از بارزترین گیاهان مرتعی بوده و در عملیات اصلاحی مراتع و همچنین ایجاد چراگاه‌های مرتعی نقش مهمی دارد. همچنین، بذره‌های این گیاه دارای پوسته سخت بوده و ممکن است جذب رطوبت و جوانه‌زنی اولیه را در عملیات مختلف مرتعکاری کاهش دهد. قابل ذکر است که در این زمینه تاکنون مطالعات چندانی انجام نشده است. بنابراین این مطالعه با هدف تاثیر تیمارهای نانوسیلیکات پتاسیم، نانوسولفات تیتانیوم و ریزموجودات مفید بر بهبود جوانه‌زنی و خصوصیات رویشی این گونه تحت شرایط آزمایشگاهی انجام شد تا در صورت مفید بودن این مواد در جوانه‌زنی و رشد این گیاه، بتوان در مراحل اولیه آماده‌سازی بذر برای عملیات مختلف مرتعکاری و احداث چراگاه‌های دست‌کاشت از آنها استفاده نمود.

## مواد و روشها

### گونه مورد مطالعه

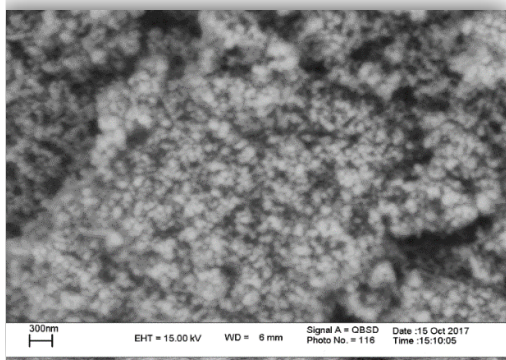
اسپرس علوفه‌ای (*Onobrychis sativa* Lam.) گیاهی از تیره Fabaceae می‌باشد. گیاهی علفی، پایا به ارتفاع ۸۰-۴۰ سانتی‌متر و ساقه افراشته است. اسپرس علوفه‌ای در رویشگاه‌های طبیعی متوسط بارندگی ۴۵۰-۳۰۰ میلی‌متر در بسیاری از رویشگاه‌ها سهم زیادی از ریزش‌ها از نوع برف رشد می‌کند. از جمله امتیازات این گیاه عدم ایجاد نفخ در دام، مقاومت به آفات نظیر سرخ‌ورطومی ساقه، مقاومت به سرما، بهبود کیفیت فیزیکی و شیمیایی خاک می‌باشد (۳۲). بذر گیاه مورد مطالعه در زمان رسیدگی کامل از شهرستان سرعین استان اردبیل از مناطق علوفه‌کاری شده

گونه مرتعی *Nitraria schoberi*, *Eurotia ceratoides*، *Kochia prostrata* و *Salsola rigida* *Halothamnus glaucus* بیان کردند که در اکثر این گیاهان، غلظت‌های پایین نانودی اکسیدتیتانیوم تاثیر معنی‌داری بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه نداشت ولی در غلظت بالا (۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) با ایجاد سمیت موجب کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شد. بنابراین در کاربرد نانوذرات، توجه به میزان مصرفی که هم موثر باشد و هم سمیت ایجاد نکند بسیار حائز اهمیت است. در مطالعه‌ای دیگر کمالی و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که غلظت بالای نانواکسید آهن سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه دو گونه *Agropyron elongatum* و *Agropyron desertorum* شد. در حالیکه محمودزاده و عقیلی (۲۰۱۴) در بررسی غلظت‌های مختلف دی‌اکسیدتیتانیوم (۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰، ۱۲۰۰، ۱۵۰۰ و ۱۷۰۰) بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد اولیه گندم (*Triticum aestivum* L.) بیان کردند که غلظت‌های بالای دی‌اکسیدتیتانیوم باعث افزایش جوانه‌زنی گندم می‌شود. همچنین افزودن نانو ذرات دیگر مانند نانوسیلیکات پتاسیم به محلول غذایی گیاهان به‌عنوان کود به دلیل داشتن اثرهای بی‌نظیر مانند نفوذ سریع‌تر و راحت‌تر به درون غشای سلولی، افزایش مقاومت بذور گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی، افزایش جوانه‌زنی، افزایش فتوسنتز و عملکرد گیاهان نیز توجه زیادی را در بین تولیدکنندگان به خود جلب کرده است (۱۳). لو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکا سبب افزایش درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، شاخص ویگوریت و میانگین طول ساقه‌چه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) شد. عباسی خالکی و همکاران (۲۰۱۶) نیز بیان کردند که نانوذرات سیلیس و نانوذرات نقره در دو غلظت ۲۰ و ۶۰ درصد، باعث بهبود جوانه‌زنی گیاه *Thymus kotschyanus* شدند. البته ایشان بیان کردند که غلظت ۶۰ درصد نانونقره باعث کاهش خصوصیات جوانه‌زنی این گیاه شد. معمري و همکاران (۲۰۱۸) نیز بیان کردند که کاربرد نانوسیلیسیم در محیط کشت *Stipa hohenackeriana* سبب کاهش خصوصیات رشد و عملکردی آن شد. یوواکومار<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۱) نیز

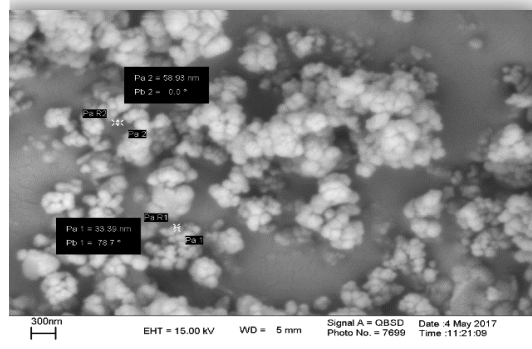
<sup>۱</sup> - Lu

<sup>۲</sup> - Yuvakkumar

هیپوکلرید سدیم ۱۰ درصد برای به‌مدت ۳۰ ثانیه شستشو شدند (۲۸). تیمارهای آزمایشی شامل؛ شاهد (بدون اعمال تیمار)، تیمارهای نانوپرایمینگ با استفاده از نانوسیلیکات پتاسیم با غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، نانو تیتانیوم با غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۲۵)، ۲۷، ۳۰ و ۴۴) و بیوپرایمینگ با استفاده از ریز موجودات مفید با غلظت ۱ و ۲ درصد بودند (۴۰). برای تهیه محلول‌های نانوپرایمینگ، مواد نانو در آب مقطر حل شد برای تهیه محلول همگن در دستگاه شیکر به‌مدت نیم ساعت قرار گرفتند. سپس برای انجام عمل پرایم، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در درون محلول‌های تهیه‌شده قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت بذرها پرایم‌شده مجدداً با آب مقطر شستشو داده شدند. بذرها تیمار شده برای رسیدن به وزن اولیه در دمای اتاق و شرایط تاریکی خشک شدند تا فرآیند پرایمینگ پایان یابد.



شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از نانوتیتانیوم



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از نانوسیلیکات پتاسیم

گیاهچه‌ها و اندازه‌گیری‌های موردنظر شروع شدند. بذریابی جوانه‌زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آنها دو میلی‌متر یا بیشتر بود (۱ و ۲۳). در پایان روز دهم شمارش بذرها جوانه‌زده در هر تیمار به عدد ثابت رسیدند. طول ساقچه‌چه از یقه تا جوانه انتهایی و طول ریشه‌چه از یقه تا نوک ریشه اصلی بر حسب میلی‌متر با خط‌کش دقیق اندازه‌گیری شد. همچنین، وزن تر ریشه‌چه و اندام هوایی و وزن خشک گیاه (بعد از خشک شدن نمونه‌ها در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت) با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شدند. سپس

جمع‌آوری شد. بذرها در موقعیت جغرافیایی ۳۸°۰۸' شمالی و ۵۹° ۴۷' شرقی و ارتفاع ۱۹۲۰ متری از سطح دریا جمع‌آوری شدند. سپس خالص‌سازی فیزیکی انجام شد و بقایای گیاهی، بذرها پوک، معیوب و خار و خاشاک آن تفکیک شد.

#### روش کار

به‌منظور بررسی تاثیر پرایمینگ بذر با نانوسیلیکات پتاسیم (شکل ۱)، نانوتیتانیوم (شکل ۲) و EM بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه گونه *O. sativa* آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در زمستان ۱۳۹۵ اجراء شد. مواد نانو مربوط به شرکت سیگما الدریج بوده و از شرکت مینا تجهیز آریا تهیه شدند. همچنین ماده EM از شرکت امکان‌پذیر پارس تهیه شد. قبل از شروع آزمایش، بذرها با استفاده از محلول

قبل از شروع آزمایش پتری‌دیش‌ها نیز با استفاده از آب مقطر و محلول هیپوکلرید سدیم ۲۰ درصد ضدعفونی شدند (۲۹). سپس یک لایه کاغذ واتمن به‌عنوان بستر کشت داخل آنها قرار گرفت. در گام بعد، درون هر پتری‌دیش، ۲۵ عدد بذر *O. sativa* (بذور پرایم‌شده و پرایم نشده) بر پایه طرح آزمایشی کاملاً تصادفی، با پراکنش یکنواخت در ۴ تکرار قرار داده شد. به هریک از پتری‌دیش‌ها، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. این امر تا پایان دوره آزمایش ادامه یافت. به‌منظور ارزیابی خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاه، دو روز بعد از ظهور ریشه‌چه شمارش

به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. برای بررسی اثر تیمارهای مورد مطالعه بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گونه *O. sativa* از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

### نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مورد بررسی (نانوسیلیکات پتاسیم، ریزموجودات مفید و نانو تیتانیوم) بر روی طول گیاهچه، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، وزن تر گیاهچه، شاخص بنیه گیاهچه، ضریب آلومتري و محتوی بافتی گیاهچه اسپرس در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار است. در حالی که اثر این تیمارها بر وزن خشک گیاهچه و طول ریشه‌چه اسپرس معنی‌دار نیست (جدول ۱).

شاخص‌های ضریب آلومتري ( $Ac$ )<sup>۱</sup> (۱۷)، سرعت جوانه‌زنی ( $VG$ )<sup>۲</sup> درصد جوانه‌زنی ( $GP$ )<sup>۳</sup> (۱۸). شاخص بنیه بذر ( $VI$ )<sup>۴</sup> (۲) و محتوی آب بافتی گیاهچه ( $TWC$ )<sup>۵</sup> (۴۱) محاسبه شدند.

$$GP = \sum(Ni/Ti) \times 100$$

$$VG = \sum(Ni/Di) \times 100$$

$Ni$  = مجموع بذرهاى جوانه‌زده در آخرین روز شمارش

$Di$  = تعداد بذرهاى جوانه‌زده در روز شمارش

$Di$  = روز شمارش

$Ti$  = تعداد کل بذرها

$$\text{ضریب آلومتريک} = \frac{\text{میانگین وزن خشک ریشه‌چه}}{\text{میانگین وزن خشک ساقچه}}$$

$$\times 100 = \frac{(\text{وزن خشک گیاهچه} - \text{وزن تر گیاهچه})}{\text{وزن تر گیاهچه}}$$

گیاهچه

درصد جوانه‌زنی  $\times$  میانگین طول ریشه‌چه + میانگین

طول ساقچه‌چه) = شاخص طول

تجزیه و تحلیل آماری

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد *Onobrychis sativa*

متغیر	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
طول گیاهچه (cm)	بین گروه‌ها (اثر تیمار)	۶	۹/۷۲۹	۵۱/۳۹۲**
	درون گروه‌ها (اثر خطا)	۲۱	۰/۱۹۰	
طول ریشه‌چه (cm)	بین گروه‌ها (اثر تیمار)	۶	۲/۳۳۰	۲ <sup>ns</sup>
	درون گروه‌ها (اثر خطا)	۲۱	۱/۱۶۵	
وزن تر گیاهچه (mg)	بین گروه‌ها (اثر تیمار)	۶	۲۰۱۱۴۷۴/۴۱۵	۵/۱۳۵**
	درون گروه‌ها (اثر خطا)	۲۱	۳۹۱۷۰۶/۹۷۹	
وزن خشک گیاهچه (mg)	بین گروه‌ها (اثر تیمار)	۶	۷۹۴۱/۳۸۲	۱/۱۵۹ <sup>ns</sup>
	درون گروه‌ها (اثر خطا)	۲۱	۶۸۴۹/۰۵۹	
سرعت جوانه‌زنی (تعداد در روز)	بین گروه‌ها (اثر تیمار)	۶	۹/۲۲۱	۲/۹۳۵**
	درون گروه‌ها (اثر خطا)	۲۱	۳/۱۴۱	
درصد جوانه‌زنی	بین گروه‌ها (اثر تیمار)	۶	۲۰۰/۵۷۱	۳/۵۸۲**
	درون گروه‌ها (اثر خطا)	۲۱	۵۶	
شاخص بنیه گیاه	بین گروه‌ها (اثر تیمار)	۶	۲۴۹۲۷/۱۷۹	۴/۹۱۴**
	درون گروه‌ها (اثر خطا)	۲۱	۵۰۷۳/۰۱۸	
ضریب آلومتري	بین گروه‌ها (اثر تیمار)	۶	۰/۴۹۱	۱۴/۸۸۲**
	درون گروه‌ها (اثر خطا)	۲۱	۰/۰۳۱	
محتوی آب بافتی گیاهچه	بین گروه‌ها (اثر تیمار)	۶	۴۵/۷۴۱	۲/۸۴۹**
	درون گروه‌ها (اثر خطا)	۲۱	۱۵/۹۶۳	

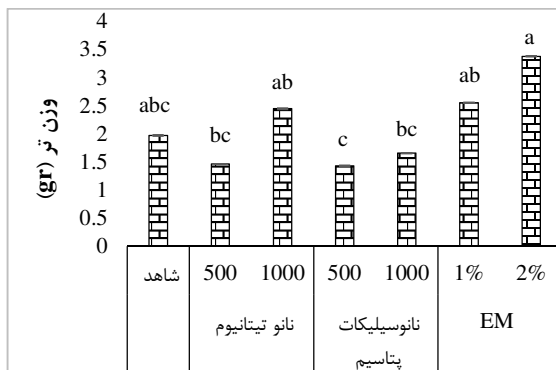
\*\* معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، \* معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، NS: عدم معنی‌داری

4- Vigor index  
5- Tissue water content

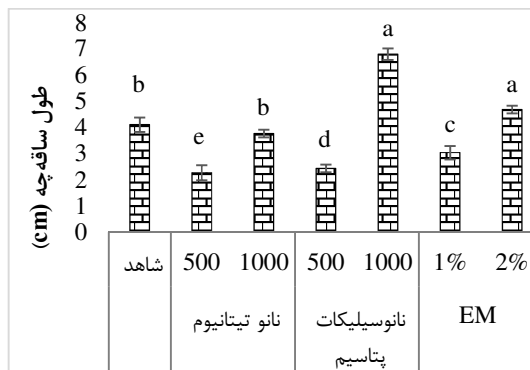
1- Allometric coefficient  
2- Velocity germination  
3- Germination percent

(بدون تیمار) مشاهده شد (شکل ۶). نانوسیلیکات پتاسیم ۱۰۰۰ میلی‌گرم و EM دو درصد بیشترین تأثیر و بیش تیمار نانوتیتانیوم ۵۰۰ میلی‌گرم کمترین اثر را بر شاخص ضریب آلومتری داشتند (شکل ۷). مقدار شاخص بینه بذر در تیمار EM دو درصد بیشترین و در تیمار نانوسیلیکات پتاسیم ۵۰۰ کمترین مقدار را داشت (شکل ۸). تأثیر بیش تیمارها بر محتوی آب بافتی گیاهچه در تیمار EM دو درصد بیشترین و در نانو تیتانیوم ۵۰۰ میلی‌گرم کمترین مقدار را داشت (شکل ۹).

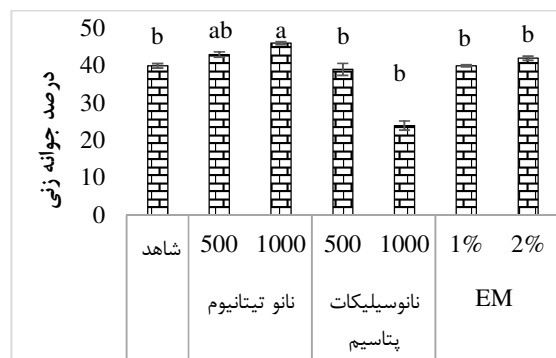
نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر تیمارهای مورد بررسی بر شاخص‌های رشد اسپرس در شکل ۳ تا ۹ ارائه شده است. بیشترین و کمترین مقدار طول گیاهچه به ترتیب در تیمارهای نانوسیلیکات پتاسیم ۱۰۰۰ و نانو تیتانیوم ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، مشاهده شد (شکل ۳). وزن تر گیاهچه تحت تیمار EM دو درصد، بیشترین و تحت تیمار نانوسیلیکات پتاسیم ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کمترین مقدار را داشت (شکل ۴). بیشترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار نانوتیتانیوم ۱۰۰۰ میلی‌گرم و کمترین مقدار آن در تیمار نانوسیلیکات پتاسیم ۱۰۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد (شکل ۵). بیشترین مقدار درصد جوانه‌زنی در بیش تیمار نانوتیتانیوم ۱۰۰۰ میلی‌گرم و کمترین مقدار برای شاهد



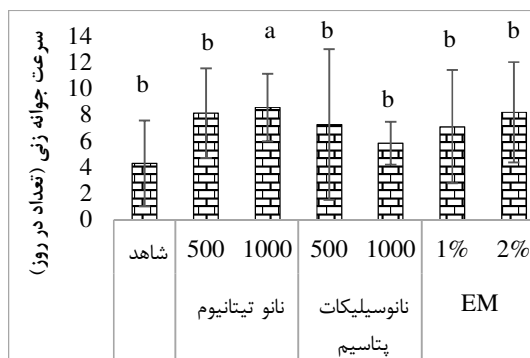
شکل ۴- نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای مورد مطالعه بر وزن تر (نانوسیلیکات پتاسیم و نانو تیتانیوم بر حسب میلی‌گرم در لیتر).



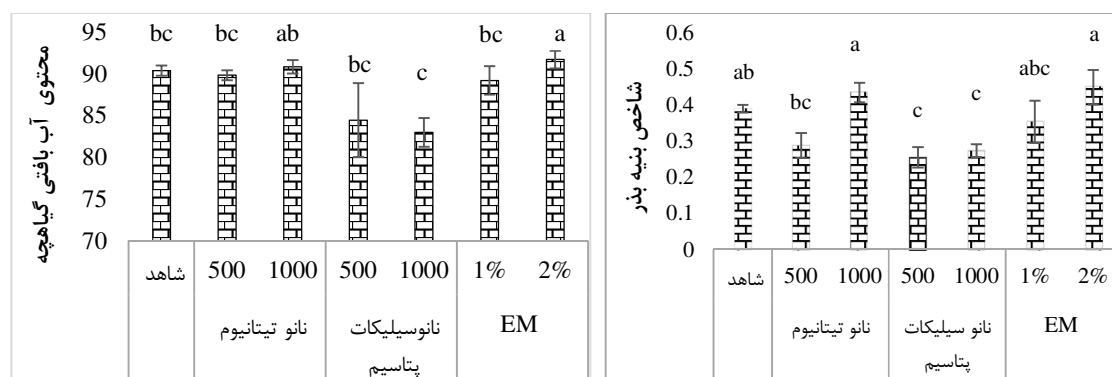
شکل ۳- نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای مورد مطالعه بر طول ساقچه (نانوسیلیکات پتاسیم و نانو تیتانیوم بر حسب میلی‌گرم در لیتر).



شکل ۶- نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای مورد مطالعه بر درصد جوانه‌زنی (نانوسیلیکات پتاسیم و نانو تیتانیوم بر حسب میلی‌گرم در لیتر).

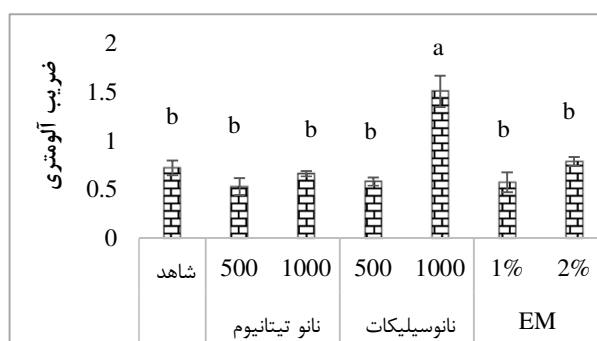


شکل ۵- نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای مورد مطالعه بر سرعت (نانوسیلیکات پتاسیم و نانو تیتانیوم بر حسب میلی‌گرم در لیتر).



شکل ۸- نتایج مقایسه میانگین اثر تیماهای مورد مطالعه بر محتوی بافتی گیاهچه (نانوسیلیکات پتاسیم و نانو تیتانیوم بر حسب میلی گرم در لیتر).

شکل ۷- نتایج مقایسه میانگین اثر تیماهای مورد مطالعه بر شاخص بنیه بذر (نانوسیلیکات پتاسیم و نانو تیتانیوم بر حسب میلی گرم در لیتر).



شکل ۹- نتایج مقایسه میانگین اثر تیماهای مورد مطالعه بر ضریب آلودتری (نانوسیلیکات پتاسیم و نانو تیتانیوم بر حسب میلی گرم در لیتر)

اشاره شده است. عباسی خالکی و همکاران (۲۰۱۶) نیز بیان کردند که نانوذرات سیلیس و نانوذرات نقره در دو غلظت ۲۰ و ۶۰ درصد، باعث بهبود جوانه زنی گیاه *Thymus kotschyanus* شدند. البته ایشان بیان کردند که غلظت ۶۰ درصد نانونقره باعث کاهش خصوصیات جوانه زنی این گیاه شد. معماری و همکاران (۲۰۱۸) نیز بیان کردند که کاربرد نانوسیلیسیم در محیط کشت *Stipa hohenackeriana* سبب کاهش خصوصیات رشد و عملکردی آن شد. در حالیکه یوواکومار و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند نانوسیلیکا باعث افزایش ارتفاع ساقه، عرض ساقه، تعداد برگ و مقدار سیلیسیم در گیاه ذرت (*Zea Mays L.*) شد. همچنین فخریه و شهریاری (۲۰۱۴) در تحقیق خود بیان کردند که استفاده از غلظت‌های بالاتر نیترات پتاسیم در مواردی باعث کاهش جوانه زنی می‌شود. به نظر می‌رسد یکی از

## بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق تاثیر پرایمینگ و بیوپرایمینگ بر ویژگی‌های جوانه زنی بذر گونه *O. sativa* بررسی شد. نتایج نشان داد که خصوصیات جوانه زنی و رشد گیاهچه جز در مورد ضریب آلودتری و طول ساقه‌چه در بین غلظت‌های نانوسیلیکات پتاسیم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در تحقیق حاضر، با افزایش غلظت نانوسیلیکات پتاسیم درصد و سرعت جوانه زنی کاهش یافت. بر اساس نتایج منابع مختلف، غلظت‌های مختلف نانوذرات پتاسیم اثرات مختلف افزایشی و کاهش بر ویژگی‌های جوانه زنی بذور گیاهان دارد. بنابراین به نظر می‌رسد این ماده در غلظت‌های پایین‌تر می‌تواند سبب بهبود خصوصیات جوانه زنی گیاهان شود، ولی در غلظت‌های بالاتر می‌تواند سبب کاهش مولفه‌های جوانه زنی گیاه شود. در مطالعات مختلف به این موضوع

نکند بسیار حائز اهمیت است. در مطالعه‌ای دیگر کمالی و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که غلظت بالای نانوآکسید آهن سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه دو گونه *Agropyron elongatum* و *Agropyron desertorum* شد.

به‌علاوه نتایج نشان داد که خصوصیات جوانه‌زنی بذر *O. sativa* تحت تاثیر پیش تیمار ریزموجودات مفید (EM) در سطح یک درصد نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. در حالی که غلظت دو درصد آن باعث افزایش نسبی خصوصیات جوانه‌زنی و مولفه‌های رشد گیاهچه اسپرس شد. تاثیر ریزموجودات مفید (EM) در سطح ۱ درصد می‌تواند به‌دلیل عملکرد پایین آنها باشد. ریزموجودات مفید در شرایط تنش خشکی عملکرد مناسبی ندارند چون شرایط برای فعالیت آنها مناسب نیست (۴۰). در نتیجه ممکن است رطوبت در نظر گرفته شده در آزمایش به میزانی نبوده باشد که باعث عملکرد مناسب ریزموجودات و بهبود جوانه‌زنی بذر گیاهان شود. ریزموجودات مفید علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر اصلی پرمصرف و ریزمغذی مورد نیاز گیاه با سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاه و همچنین ترشح اسیدهای آمینه مختلف و انواع آنتی‌بیوتیک، موجب رشد و توسعه ریشه و اندام هوایی شده که این مسئله سبب تولید اسیمیلات بیشتر و انتقال آنها به سایر اندام‌های گیاه می‌شوند (۱۴). علت افزایش طول ساقچه توسط ریزموجودات مفید ممکن است به این دلیل باشد که این نوع پرایمینگ برخی هورمون‌های محرک رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین را تولید می‌کنند که باعث افزایش رشد می‌شود (۳۵ و ۳۶). عرب و همکاران (۱۳۸۷) تولید فیتوهورمون‌ها از جمله اکسین توسط باکتری آروسپیریولوم را یکی از دلایل افزایش عملکرد گیاهان تلقیح‌شده با باکتری آروسپیریولوم عنوان کردند. همچنین شکوهیان و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که کاربرد EM سبب افزایش رشد گیاه، تعداد برگ، سطح برگ، وزن خشک و تر گیاه و مقدار کلرفیل بادم (*Prunus dulcis* Mill) شد.

به‌طورکلی نتایج نشان داد که از میان تیمارهای پرایمینگ مورد استفاده در این تحقیق، EM دو درصد و

دلایل اثر مثبت محرک‌های شیمیایی مانند نانوذرات پتاسیم بر درصد جوانه‌زنی بذور، احتمالاً به‌دلیل به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارنده رشد مانند آپسیزیک اسید (ABA) باشد. در این ارتباط لو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که استفاده از نانوسیلیکات باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذر گوجه فرنگی شد.

نتایج نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف نانوتیتانیوم بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر معنی‌دار بود. این در حالی است که غلظت بالاتر نانوتیتانیوم تاثیر بیشتری بر خصوصیات رشد و جوانه‌زنی بذر گیاه *O. sativa* داشت. نانوتیتانیوم جذب برخی عناصر نظیر نیتروژن، فسفر، کلسیم، منیزیم، آهن، منگنز و روی را توسط بذر تحریک می‌کند، میزان این تحریک به برخی عوامل مثل گونه و رقم گیاه، pH، رطوبت و وضعیت عناصر غذایی در خاک بستگی دارد (۴۵). همچنین تیتانیوم از طریق افزایش توانایی گیاهان در جذب و استفاده از آب و مواد غذایی باعث بهبود در ویژگی‌های جوانه‌زنی می‌شود. نتایج تحقیق محمودزاده و عقیلی (۲۰۱۴) نیز تایید می‌کند که نانوتیتانیوم با غلظت زیاد باعث افزایش وزن تر، وزن خشک، وزن دانه و جوانه‌زنی گندم شد. بوزیا و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که نانوتیتانیوم سبب افزایش شاخص بنبه بذر و وزن تر ذرت نسبت به شاهد شد. اگرچه نتیجه تحقیق ژینگ<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که نانوآکسیدتیتانیوم با غلظت پایین نیز باعث افزایش وزن تر و خشک و طول ساقچه در دانه‌های اسفناج شد. این در حالی است که بعضی محققان به اثرات سمی نانوتیتانیوم در غلظت‌های بالاتر اشاره کرده‌اند. البته قابل ذکر است که ممکن است این ماده بر روی خصوصیات جوانه‌زنی و رشد بعضی گیاهان اثر مثبت و بر سایر گیاهان اثر منفی داشته باشد. کمالی و صادقی‌پور (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای بیان کردند که غلظت‌های کم نانودی اکسیدتیتانیوم تاثیر معنی‌داری بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گونه‌های *Eurotia ceratoides*، *Salsola Halothamnus glaucus*، *Nitraria schoberi*، *rigida* و *Kochia prostrata* نداشت ولی در غلظت بالا (۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) با ایجاد سمیت موجب کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شد. بنابراین در کاربرد نانوذرات، توجه به میزان مصرفی که هم موثر باشد و هم سمیت ایجاد

<sup>۱</sup>-Lu

<sup>۲</sup>-Zheng

اندازه کافی در خاک وجود داشته باشد (۱۲). بنابراین استفاده از تیمارهای مختلف در راستای بهبود جوانه‌زنی و رشد سریع‌تر گیاهچه در مراحل اولیه، در عملیات مختلف مرتعکاری مانند بذرکاری، بذرپاشی و کپه‌کاری، می‌تواند موفقیت این طرح‌های اصلاحی را افزایش دهد. از جمله اینکه بسیاری از نانوذرات در سرعت جوانه‌زنی مؤثر بوده و رشد گیاه را افزایش می‌دهند. کلید افزایش سرعت جوانه‌زنی بذور توسط نانوذرات‌ها، در نفوذ این ذرات به داخل بذرها است (۲۴). نتایج این تحقیق می‌تواند در راستای بهبود جوانه‌زنی و مولفه‌های رویشی گونه *O. sativa* در مراحل اولیه رشد، در عملیات مختلف مرتعکاری مانند بذرکاری و بذرپاشی، موفقیت این طرح‌های اصلاحی را افزایش دهد.

نانوتیتانیوم (ppm) ۱۰۰۰ بیشترین تاثیر را در بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی و خصوصیات رشد اولیه *O. sativa* داشتند. البته نتایج نشان می‌دهد که تیمار مؤثر بر هر یک از شاخص‌های رشد اسپرس متفاوت می‌باشد. مولفه‌های وزن تر، شاخص بنیه بذر و محتوی آب بافتی گیاهچه بیشتر تحت تاثیر تیمار EM دو درصد، طول ساقه‌چه بیشتر تحت تأثیر نانوسیلیکات پتاسیم ۱۰۰۰ (ppm) و EM دو درصد، سرعت و درصد جوانه‌زنی بیشتر تحت تأثیر نانوتیتانیوم (ppm) ۱۰۰۰ و ضریب آلومتری تحت تأثیر نانوسیلیکات (ppm) ۱۰۰۰ قرار گرفتند. بذرهاى گیاه *O. sativa* دارای غلاف و پوسته سخت بوده و پس از رسیدگی کامل زمانی که بذرها روی خاک می‌ریزند مانع رسیدن رطوبت به بذر شوند. این ویژگی همراه با سازوکار سختی بذر باعث می‌شود که فقط زمانی برای جوانه‌زنی تحریک شوند که رطوبت به

## References

1. Abbasi Khalaki, M., A. Ghorbani & M. Moameri, 2016. Effects of Silica and Silver Nanoparticles on Seed Germination Traits of *Thymus kotschyanus* in Laboratory Conditions. Journal of Rangeland Science, 6(3): 221-231.
2. Abdual-baki, A. & D. Anderson., 1973. Relationship between decarboxilation of glutamic acid and vigor in soybean seed. Crop Science, (13): 222-226.
3. Akbarzadeh, M. & A. Salariya., 1996. Comparison of forage production of Onobrychis varieties in rainfed conditions of Urmia. Research Institute of Forests and Rangelands, Iran.
4. Arab, M., H. Ali Khan & M. Dashi, 2008. Investigating the ability of auxin production by native Azospirillum isolate bacteria and evaluating the effects of superior growth isolate on Corn. Crop Research. 6 (2): 217- 225. (In Persian).
5. Ashraf, M. & R. Foolad., 2005. Pre-sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. Advances in agronomy, 88: 223-271.
6. Azarnivand, H. & M.A. Zare Chahouki., 1390. Range Improvement. Tehran University Press. 354 p.
7. Bagheri, H., Z. Eshaghi & A. Aghakhani, 2012. Reinforced polydiphenylamine nanocomposite for microextraction in packed syringe of various pesticides. Journal of Chromatography, 1222: 13-21.
8. Bennett, J., A. Mead & M. Whipps, 2009. Performance of carrot and onion seed primed with beneficial microorganisms in glasshouse and field trials. Biological Control, 51(3): 417-426.
9. Buzea, C., I. Blandino & K. Robbie, 2007. Nanomaterials and nanoparticles sources and toxicity. Biointerphases, 2(4): 17-71.
10. Fakhire, S. & A. Shahriari., 2014. The influence of pretreatment Potassium nitrate KNO<sub>3</sub> on germination improvement *Cynodon dactylon* under stress allelopathic compounds *Atriplex lentiformis*. The First Electronic Conference on New Findings in the Environment and Agricultural Ecosystems.
11. Ghanavati, F. & H. AmirabadiZadeh., 2012. Eco-geographical distribution of perennial species of Onobrychis in khorasan-e-Razavi province. Seed and Plant Production Journal, 28(2): 19-34. (In Persian).
12. Haghghi, M. & M. Mozaffarian., 2014. Study changes of the vegetative, morphological and photosynthesis *Solanum lycopersicum* due to the addition of silicon to food solution. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture. 5(19): 37- 47.
13. Han, S. & D. Lee., 2006. Effect of in oculare on with phosphate and potassium co-in solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Plant, Soil and Environment, 52:130-136.
14. Harris, D., B. Raghuvenshi & J. Gangwar, 2001. Participatory evaluation by farmers of on-farm seed priming in wheat in India Nepal and Pakistan. Experimental Agriculture, 37(3): 403-415.
15. Higa, T., 2012. Kyusei Nature arming and Environmental Management Through Effective Microorganisms - The Past, Present and Future. Department of Horticulture, University of the Ryukyus Okinawa, Japan.
16. Hussain, F., 1989. Field and laboratory manual of plant ecology. Islamabad, Pakistan: National Academy of Higher Education, University Grants Commission. 422 pp.
17. ISTA., 2005. International rules for seed testing edition, International Seed Testing Association.

18. Joshi, A.K & N.C. Singhal., 2013. Seed Science and Technology, Kalyani Publishers. 237pp.
19. Kamali, N. & A. Sadeghipoor, 2015. Effects of different concentrations of nano TiO<sub>2</sub> on germination and early growth of five range plant species. Journal of Rangeland, 9(2): 170-181.
20. Kamali, N., A. Sadeghipour & M. Soori, 2017. Study the toxicity effect of nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> on germination and early growth of *Agropyron desertorum* and *Agropyron elongatum*. Journal of Rangeland. 11(3): 321-330.
21. Karimi, L. & M. Mirjalil., 2009. Titanium dioxide. Journal of Nanotechnology, 8: 23-25.
22. Kaya, M. & S. Day., 2008. Relationship between seed size and NaCl on germination. seed vigor and early seedling growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.). African journal of agricultural research, 3(11): 787-791
23. Khot, L.R., S. Sankaran., JM. Maja., R. Ehsani & EW. Schuster, 2012. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. Crop Protection, 35: 64-70.
24. Le, VN., Y. Rui., X. Gui., X. Li., S. Liu & Y. Hang, 2014. Uptake, transport, distribution and bio-effects of SiO<sub>2</sub> nanoparticles in Bt-transgenic cotton. Journal of Nanobiotechnol, 12(1):1-15.
25. Lombi, E., Nowack, B., Baun, A. & S.P. McGrath, 2012. "Evidence for effects of manufactured nanomaterials on crops is inconclusive," Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 109 (49): ID E3336.
26. Lu, M.M.D., DMR. De Silva., EK. Peralta., AN. Fajardo and MM. Peralta, 2015. Effects of Nanosilica Powder from Rice Hull Ash on Seed Germination of Tomato (*Lycopersicon esculentum*). Philippine e-Journal for Applied Research and Development, 5:11-22.
27. Mahmoodzadeh, H. & R. Aghili., 2014. Effect on germination and early growth characteristics in wheat plants (*Triticum aestivum*. L) seeds exposed to TiO<sub>2</sub> nanoparticles. Journal of Chemical Health Risks, 4(1):1-10.
28. Moameri, M. & M. Abbasi Khalaki., 2017. Capability of *Secale montanum* trusted. for phytoremediation of lead and cadmium in soils amended with nano-silica and municipal solid waste compost. Environment Science and Pollution Research, First Online.
29. Moameri, M., M. Abbasi-Khalaki & A Tavili. 2011. Effects of *Haloxylon aphyllum* (Minkw.) Ljin extract on seeds germination and seedlings growth of *Agropyron elongatum* (Host.) and *Agropyron desertorum* (Fisch.). Research Journal of Seed Science, 4(1): 40-50.
30. Moameri, M., M. Jafari., Ali Tavili., B. Motasharezadeh., M.A. Zare Chahouki & Fernando Madrid DIAZ. 2018. Investigating lead and zinc uptake and accumulation by *Stipa hohenackeriana* trin and rupr. In field and pot experiments. Bioscience Journal, 34(1): 138-150.
31. Moore, N., 2006. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment. Environment International, 32(8): 967-976.
32. Mozafarian, V., 2006. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser Press, 671 pp.
33. Nevius, BA. & YP. Chen., JL. Ferry & AW. Decho. 2012. Surface-functionalization effects on uptake of fluorescent polystyrene nanoparticles by model biofilms. Ecotoxicology, 21(8): 2205-2213.
34. Olle, M. & H. Williams., 2013. Effective microorganisms and their influence on vegetable production - a review. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 88(4): 380-386.
35. Olle, M. & Williams, I., 2015. The Influence of Effective Microorganisms on the Growth and Nitrate Content of Vegetable Transplants. Journal of Advanced Agricultural Technologies, 2(1): 25-28.
36. Qi, M., Y. Liu & T. Li, 2013. Nano-TiO<sub>2</sub> improve the photosynthesis of Tomato leaves under Mild heat stress. Biological trace element research, 156(1-3):323-328.
37. Rajabiyani, T., A. Saboora., B. Hassani & B. Hosseini, 2007. Effects of GA<sub>3</sub> and chilling on seed germination of *Ferula assa-foetida*, as a medicinal plant. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 23(3): 391-404.
38. Seyed Sharifi, R. & K. Khavazi., 2012. Effect of Growth Stimulating Bacteria on Germination Components and Maize Seedling Growth (*Zea mays* L). Agriculture Ecology, 3(4): 506-513.
39. Shokoohian, A.A., Gh.H. Davarinejad., A. Imani & A. RasoulZadeh, 2013. Effect of effective microorganisms in water stress conditions on formation of flower buds of two *Prunus dulcis* genotypes. Journal of Horticulture Science, 27(2): 217-226.
40. Tsonev, T.D., G.N. Lazova., Z.G. Stoinova & L.P. Popova, 1998. A possible role for Jasmonic acid in adaptation of Barley seedlings to salinity stress. Journal of Plant Growth Regulation, 17(3): 153-159.
41. Vivek, S., R. Upadhyay., B. Sarma & H.B. Singh, 2016. Seed bio-priming with *Trichoderma asperellum* effectively modulate plant growth promotion in pea. International Journal of Agriculture, Environment & Biotechnology, 9(3): 361-365.
42. Windauer, L., A. Altuna & R. Benech-Arnold, 2007. Hydrottime analysis of *Lesquerella fendleri* seed germination response to priming treatments. Industrial Crops and Products, 25(1): 70-74.
43. Xie, Y., B. Wang., F. Li., L. Ma., M. Ni., W. Shen., F. Hong & B. Li B, 2014. Molecular Mechanisms of Reduced Nerve Toxicity by Titanium Dioxide Nanoparticles in the Phoxim-Exposed Brain of *Bombyx mori*. Plos One, 9(6):1-10.
44. Yuvakkumar, R., V. Elango., V. Rajendran., N.S. Kannan & P. Prabu, 2011. Influence of Nanosilica Powder on the Growth of Maize Crop (*Zea Mays* L.). International Journal of Green Nanotechnology, 3:180-190.
45. Zheng, L., F. Hong., Sh. Lu & Ch. Liu, 2005. Effect of nano-TiO<sub>2</sub> on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. Biological Trace Element Research, 104(1): 83-92.