"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد پنجم، شماره ۲، پائیز و زمستان ۹۵
شماره صفحه: ۱۶۷- ۱۵۷
DOI: 10.22034/ijsst.2017.108219

بهبود صفات و شاخص‌های جوانه‌زنی بذر چغندر قند با استفاده از پرایمینگ با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره

فرانک روزبه[۱]، داریوش داودی[۲*] و سمر خیامیم[۳]

۱- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی
۲- عضو هیات علمی بخش تحقیقات نانوتکنولوژی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی
۳- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی

چکیده

در این تحقیق، اثر نانوهیدروپرایمینگ با نانولوله‌کربنی چند دیواره بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد یک رقم منوژرم چغندرقند در مقایسه با هیدروپرایمینگ مورد مطالعه قرار گرفت. هیدروپرایمینگ با آب و نانوهیدروپرایمینگ با سه غلظت کلوئید نانولوله کربنی بر پایه آب به عنوان چهار غلظت نانولوله کربنی (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ پی پی ام)، چهار مدت زمان پرایمینگ و دو مدت زمان نگهداری بذر پس از پرایمینگ، به عنوان تیمارهای آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار برای چغندرقند رقم پارس، در شرایط آزمایشگاه انجام شد. صفات سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه، طول ساقه‌چه، وزن تر، وزن خشک، و بنیه جوانه اندازه‌گیری و محاسبه شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اختلاف بین تیمارها برای کلیه صفات مورد مطالعه در سطح ۱٪ معنی دار بود. نتایج مقایسه میانگین گروه‌های تیماری نشان داد که نانوهیدروپرایمینگ به شکل معنی‌داری باعث بهبود صفات سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و بنیه جوانه رقم پارس چغندرقند در مقایسه با هیدروپرایمینگ شده است. علاوه براین، نتایج مربوط به گروه‌بندی داده‌ها در گروه نانولوله کربنی چند دیواره نشان داد که غلظت ۴۰ پی‌پی‌ام نانولوله کربنی در زمان پرایمینگ ۱۸ ساعت و ۶۰ روز پس از پرایمینگ به طور معنی‌داری باعث بهبود صفات جوانه‌زنی بذرها شدند.

کلمات کلیدی: بذر منوژرم، چغندرقند، نانوتیوب کربنی، نانوهیدروپرایمینگ.

مقدمه

نانومواد مهندسی شده[1] به عنوان مهمترین شاخص حوزه فناوری نانو در همه عرصه‌های زندگی انسان امروز وارد شده و کاربردهای متنوع این مواد با توجه به ویژگی‌های جدیدی که نسبت به مواد متناظرشان در مقیاس ماکرو و میکرو بدست می‌آورند به سرعت در حال گسترش هستند. اثرات متقابل این نانومواد با اجزاء زیستی اکوسیستم‌ها علیرغم این که یکی از دغدغه‌های ایمنی آنهاست اما گزارشات بسیاری وجود دارد که در آن‌ها، با استفاده از نانومواد موجب بهبود فرآیندهای زیستی شده‌اند (Husen and Siddiqi, 2014; Ke and Qiao, 2007). فرآیندهای زیستی که در طول دوره جوانه‌زنی و استقرار گیاه زراعی رخ می‌دهند در سرنوشت گیاه و در نهایت بر عملکرد مزرعه اثرات قابل توجهی دارند. به همین دلیل از دیرباز به منظور جوانه‌زنی و استقرار بهتر بذرها در مزرعه، قبل از کاشت یک مرحله آماده سازی بذرها

1. Engineered Nanomaterials

*نویسنده مسئول: داریوش داودی، نشانی: کرج، بلوار شهید فهمیده، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی
E-mail: ddavoodi@abrii.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۲۸
تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۰۹/۰۲

Archive of SID
www.SID.ir

تحت عنوان پرایمینگ[1] انجام می‌گرفته است. زمانی- که بذرها در خاک کشت می شوند، مدت زیادی را صرف جذب آب می‌کنند که اگر این زمان از طریق پیش تیمار بذرها کاهش یابد جوانه‌زنی سریع‌تر انجام شده و گیاه زراعی حاصل قوی‌تر خواهد بود (Hossini and Koochaki, 2007). فرآیند جذب آب در جوانه‌زنی بذر و استقرار آن از اهمییت خاصی برخوردار است و لذا این فرآیند در همه روش‌های پرایمینگ به نوعی مورد توجه می باشد به طوری که پرایمینگ بذر را به طور کلی روشی برای آبگیری کنترل شده بذر قلمداد می‌کنند. معمولا به منظور تسهیل آبگیری کنترل شده بذر و خشک کردن آن همراه با آب، موادی مانند مانیتول[2] (Mannitol)، نیترات پتاسیم، کلرید پتاسیم، و مواد مشابه مورد استفاده قرار می گیرند (Basra *et al*., 2004; Foti *et al*., 2008; Xiao-fang *et al*., 2000). جباری و همکاران (Jabbari *et al*., 2010) اثر مدت زمان و روش پرایمینگ را بر جوانه‌زنی بذر زیره سبز[3] مورد بررسی قرار دادند و با اعمال تیمارهای هیدرو پرایمینگ، اسموپرایمینگ، و هورموپرایمینگ به این نتیجه رسیدند که هیدروپرایمینگ به مدت ۲۴ ساعت به دلیل افزایش درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه، هزینه کمتر و سادگی کاربرد آن در مقایسه با هورمو پرایمینگ و اسموپرایمینگ برای بهبود جوانه‌زنی و تولید گیاهچه قوی‌تر توصیه می‌شود. در یک تحقیق، اسموپرایمینگ بذرهای چغندرقند با پلی‌اتیلن‌گلیکول درصد و سرعت جوانه‌زنی را نسبت به شاهد کاهش داد اما هالو پرایمینگ این صفات را نسبت به شاهد، و صفات وزن تر و وزن خشک گیاهچه را نسبت به پیش‌تیمار اسمزی با پلی‌اتیلن‌گلیکول افزایش داد (Durrant *et al*., 1993). نتایج آزمایشات مربوط به پرایمینگ بذرهای چغندر قند در دو محیط آبی و خاک اره نشان داد که حداکثر طول دوره مورد نیاز برای پرایمینگ بذرهای درشت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک روز و در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو روز می‌باشد. علاوه‌براین، پرایمینگ موجب افزایش درصد جوانه‌زنی شد و توانست جوانه‌زنی در خاک را تا سه روز جلو بیندازد (Chegini and Yousef-Abadi, 2006). محققین با اضافه کردن تنظیم‌کننده‌های رشد استیل‌سالیسیلیک- اسید و متیل‌جاسمونات به محلول پرایمینگ بذر چغندرقند نتیجه گرفتند که سریعترین و بیشترین میزان جوانه‌زنی برای بذرهای مورد مطالعه در تیمارهای حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد اتفاق می‌افتد (Govahi *et al*., 2007). در بررسی اثر هیدرو پرایمینگ بر بذر چغندر قند، بهترین نتایج در کیفیت بذر با سه دوره هیدراتاسیون ودهیدراتاسیون ۴ ساعته به دست آمد (Sliwinska and Jendrzejczak, 2002). جلیلیان و توکل افشاری (Jalilian and Tavakol-Afshari, 2004) بذرهای دو رقم منوژرم چغندرقند با استفاده از محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG 8000) در غلظت‌های متفاوت و در تیمارهای زمانی مختلف را پرایم کردند. نتایج نشان داد که بهترین غلظت PEG برای پرایمینگ بذر چغندرقند ۱/۲- مگاپاسکال و بمدت پنج روز می‌باشد که باعث افزایش جوانه‌زنی در حدود ۸٪ و ۱٪ در ارقام گردید. همچنین پرایمینگ بذر باعث کاهش مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی گردید. علوی وهمکاران (Alavi *et al*., 2012) به منظور بررسی اثر هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ

1. Seed Priming
2. Mannitol
3. *Cuminum cyminum*

Archive of SID

www.SID.ir

بر جوانه‌زنی بذر چغندرقند، آزمایشی بر روی چهار ژنوتیپ چغندرقند با تیمارهای نیترات پتاسیم ۰/۵ درصد و نیترات پتاسیم ۰/۱ درصد انجام دادند. نتایج آنها نشان داد که اسموپرایمینگ در مقایسه با هیدروپرایمینگ، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه-زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و شاخص بنیه بذر را افزایش داد. در تحقیقی که در سال ۲۰۱۴ در زمینه اسمو، هالو و هیدرو پرایمینگ بذرهای چغندر ریشه‌ای انجام شد، نتایج اثر بخشی این پرایم‌ها بر بذر چغندرقند، حتی بعد از گذشت شش ماه را نشان داده و در بین تیمارها هیدروپرایمینگ ۱۲ ساعته با ۰/۳۱ افزایش جوانه‌زنی بهترین نتایج را داشت (Kuppusamy and Ranganathan, 2014). در سال‌های اخیر استفاده از نانولوله‌های کربنی در علوم بیولوژی و دارویی افزایش چشمگیری داشته است. توانایی منحصر به فردی که نانولوله‌های کربنی دارند این است که به آسانی به داخل غشای سلولی نفوذ کرده و اثر سمیت پایینی از خود نشان داده‌اند. از کاربردهای امیدبخش نانولوله‌ها استفاده به عنوان ناقل برای انتقال بیومولکول به درون سلول‌های زیستی است (Srinivasan and Saraswathi, 2010). البته استفاده از نانولوله‌های کربنی به عنوان ناقل مولکولی برای سلول‌های گیاهی هنوز به طور کامل مورد مطالعه قرار نگرفته و مکانیسم آن کاملا روشن نشده است. خداکوفسکایا و همکاران (Khodakovskaya *et al*., 2009) و مورلا و همکاران (Morla *et al*., 2011) در تحقیقات جداگانه به تاثیر مثبت نانولوله کربنی بر جوانه‌زنی بذرهای گوجه فرنگی و رشد بهینه گیاهچه‌های حاصل پی بردند. آنها دریافتند، نانولوله کربنی چند دیواره با تاثیر بر فعالیت ژنهای مسئول رشد سلول و هچنین فعال کردن کانالهای انتقال آب به داخل سلول به تقسیم و رشد سلول کمک می‌کنند. همچنین نتایج یک تحقیق دیگر نیز بیانگر اثرافزایشی نانولوله های کربنی چند دیواره بر درصد جوانه‌زنی و افزایش رشد در گونه‌های سویا، جو و ذرت می‌باشد (Torre-Roche *et al*., 2013). آگراوال و راتور (Agrawal and Rathore, 2014) گزارش کردند که نانولوله کربنی باعث افزایش رشد سلولی در بعضی از گونه‌های گیاهی می‌گردد و به نظر می‌رسد نانولوله‌های کربنی چند جداره می‌توانند به‌عنوان کانال، مسیر عبور آب به درون سلول را فراهم آورده که این کار موجب رشد سریع‌تر و تقسیم سلول می‌شود. تحقیقات انجام شده در زمینه نانوپرایمینگ بذرهای گیاهی محدود است و بیشتر فعالیت‌های انجام شده در مورد بررسی اثر نانومواد در زمان جوانه‌زنی بوده‌اند. در بررسی مقایسه‌ای روش پرایمینگ و اثر نانوسیلور بر جوانه-زنی و رشد گیاه کلزا، تأثیر پرایمینگ بر در صد جوانه‌زنی معنی‌دار بود. پرایمینگ بر درصد و سرعت جوانه‌زنی اثر مثبت داشت ولی بر رشد گیاهچه تأثیری نداشت (Salehi and Tamaskony, 2009). اثر غلظت-های مختلف نانولوله کربنی، نانوتیتانیوم و نانوذرات مس روی جنبه‌های رشد و نموی گیاهچه‌های پیاز بررسی شد. نانوتیتانیوم در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله کربن موجب افزایش ویژگی‌های رشد این گیاهچه‌ها شد. نانو مس و غلظت‌های ۴۰ میلی‌گرم در لیتر نانولوله کربن و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوتیتانیوم اثر سمّیت داشتند و موجب کاهش رشد شدند (Haghighi and Afifi-Pour, 2011). با توجه به خصوصیات جدید نانومواد و گزارشات موجود از اثرات مثبت آنها بر فرآیندهای زیستی، برای مطالعه اثر نانولوله‌های

Archive of SID

www.SID.ir

کربنی چند دیواره در فرآیند آبگیری کنترل‌شده و خشک کردن بذر، اثر نانوهیدروپرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی یک رقم بذر منوژرم چغندرقند مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۳ در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند کرج و در چهارچوب یک طرح پژوهشی مصوب انجام شد. مواد گیاهی مورد استفاده، بذر رقم پارس چغندرقند به عنوان یک رقم منوژرم بود که از محل ایستگاه تحقیقاتی مهندس مطهری مؤسسه چغندرقند تامین شد.

نانومواد: رفتار و عملکرد نانومواد تحت تاثیر اندازه و شکل آنها قرار می‌گیرد بنابراین مشخص بودن این فاکتورها در پژوهش‌هایی که با نانومواد صورت می‌پذیرد از اهمییت خاصی برخوردار است. مشخصات نانولوله کربنی مورد استفاده از شرکت نانو استار تک (Nano Star Tech) به شرح ذیل بود:

Carbon Nanotubes, multiwalled
Carbon purity: min. 95 %
Number of walls: 3-15
Outer diameter: 5-20 nm; Inner diameter: 2-6 nm;
Length: 1-10 μm
Apparent density: 0.15-0.35 g/cm3
Loose agglomerate size: 0.1-3 mm

تیمارها: تیمارهای مورد نظر شامل: ۱- دو سطح نوع ماده (آب و نانولوله کربنی)، ۲- سه سطح غلظت برای نانو لوله کربنی (۱۰، ۲۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام)، ۳- چهار سطح زمان پرایمینگ (پنج دقیقه، ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت)، و ۴- دو سطح مدت زمان نگهداری بذر بعد از پرایمینگ (۷ روز و ۶۰ روز) بود. در مجموع تعداد تیمارها شامل ۳۲ تیمار بود. تیمارهای هیدرو پرایمینگ (آب در چهار زمان پرایمینگ در دو مدت زمان نگهداری پس از پرایمینگ) به عنوان کنترل برای سایر تیمارهای نانوهیدروپرایمینگ مورد استفاده قرار گرفتند. توده بذری رقم مورد آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه وارد دستگاه ضدعفونی کننده بذر شده که حاوی محلول دو و نیم در هزار کربوکسین تیرام بود. بعد از این مرحله بذرها روی کاغذ صافی بمدت ۲۴ ساعت برای رطوبت‌گیری قرار داده شدند و پس از خشک شدن، به طور کاملا تصادفی ۳۲ توده ۵۰ گرمی با دستگاه مقسم از آنها جدا گردید و به صورت جداگانه در کیسه توری‌های مناسب ریخته شدند. ۴ ظرف حاوی آب و سه غلظت ۱۰، ۲۰ و ۴۰ پی پی ام نانولوله کربنی چند دیواره تهیه شد و در هر ظرف ۸ کیسه توری حاوی بذرهای فوق قرار داده شدند. ظرف‌ها و کیسه‌ها طی مدت زمان پرایمینگ هوادهی شدند. به منظور اعمال سطوح فاکتور مدت زمان پرایمینگ، در زمان های پنج دقیقه، ۶ ساعت، ۱۲ ساعت و ۱۸ ساعت به ترتیب از هر ظرف دو کیسه بذر خارج کرده و پس از آبکشی با آب جاری بذرها از کیسه‌ها خارج و روی کاغذ خشک‌کن در فضای آزمایشگاه به صورت تک لایه به مدت حد اقل ۴۸ ساعت قرار داده شدند. در هر زمان پرایمینگ، یکی از کیسه ها برای نگهداری ۷ روزه و کیسه دوم برای نگهداری ۶۰ روزه در نظر گرفته شدند. آزمایش جوانه‌زنی پس از پرایمینگ: بعد از ۷ و ۶۰ روز پس از پرایمینگ به منظور اندازه‌گیری صفات مورد نظر شامل سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، بنیه جوانه، طول ریشه چه و طول ساقه چه، وزن تر، و وزن خشک، کشت بذرهای پرایم شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. به این ترتیب که بذرها شمارش و پس از ضدعفونی بر روی کاغذ صافی کشت شدند. پس از اضافه کردن ۱۰ میلی لیتر آب، کاغذ به آرامی رول شده و داخل لوله پولیکا به

Archive of SID

www.SID.ir

ارتفاع ۱۳ سانتی متر قرار داده شد تا کاغذها از هم باز نشوند. این لوله‌ها به همراه کاغذها درون ظرف پلاستیکی استوانه‌ای شفاف درب‌دار چهار لیتری گذاشته شده و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل ظروف ریخته شد. سپس نمونه‌ها در ژرمیناتور با درجه حرارت ۲۲-۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۰-۹۰ درصد قرار گرفتند. طی ۱۴ روز داده‌برداری-ها انجام شد و صفات سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه، طول ساقه‌چه، وزن تر، وزن خشک و بنیه جوانه مورد اندازه‌گیری و محاسبه قرار گرفتند. محاسبه ضریب سرعت جوانه‌زنی: با شروع جوانه‌زنی هر روز شمارش انجام و ضریب سرعت جوانه‌زنی (Coefficient of Velocity) ازطریق رابطه شماره ۲-۱ محاسبه شد (Campbell and Enz, 1991; Phartyal *et al.*, 2003).

$$CV = 100[\sum N_i / \sum N_i T_i] \qquad (۱-۲)$$

که N_i تعداد بذر های سبز شده در روز i ام و T_i روزهای بعد از شروع آزمایش می باشد.

برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS 16.0و تجزیه واریانس یک طرفه بر اساس مدل ریاضی کاملا تصادفی و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نمودارها نیز در محیط SPSS رسم شدند.

نتایج و بحث

همان طور که اشاره شد، جهت بررسی تاثیر پرایمینگ با نانولوله‌های کربنی چند دیواره و مقایسه آن با هیدروپرایمینگ بر صفات مرحله جوانه‌زنی بذر منوژرم چغندرقند، تیمارهایی شامل نوع و غلظت نانومواد مذکور در چند مدت زمان و دو فاصله بین پرایمینگ تا کشت اعمال شدند و صفات سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه، طول ساقه چه، وزن تر، وزن خشک، و بنیه جوانه اندازه‌گیری شدند و پس از انجام آزمایشات مربوطه آنالیز داده های حاصل از این آزمایشات صورت گرفت.

نتایج تجزیه واریانس صفات طول ریشه، طول شاخه، وزن تر، وزن خشک، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و بنیه در جدول شماره ۱ آورده شده است. اختلاف بین تیمارها برای کلیه صفات مورد مطالعه بجز طول ریشه در سطح ۱٪ معنی دار بود.

مقایسات میانگین به روش دانکن نشان داد که برای هر کدام از صفات، تعدادی از تیمارها در یک کلاس قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری ندارند و علاوه بر این بالاترین میانگین‌ها در هر کدام از این صفات متعلق به تیمارهای متفاوتی می‌باشد لذا به منظور انتخاب مؤثرترین تیمارها، و با توجه به اینکه اثرات تصادفی تیمارهای اعمال شده مورد نظر بودند، گروه بندی داده ها و انواع مقایسات گروهی برای استخراج اطلاعات انجام شد.

به منظور آزمون معنی‌دار بودن اختلاف بین دو گروه تیمارهای هیدروپرایمینگ با گروه تیمارهای نانوهیدروپرایمینگ و مشخص نمودن اینکه میانگین اثرات ساده کدام گروه باعث بهبود نسبی صفات مرحله جوانه‌زنی می‌شود، گروه‌بندی داده‌ها و شاخص F برای مقایسه مورد استفاده قرار گرفتند (نتایج مشابه آزمون t استیودنت بود). نتایج تجزیه واریانس گروه تیمارهای هیدرو پرایمینگ در مقابل گروه تیمارهای نانو هیدرو پرایمینگ (جدول ۲) نشان داد اختلاف بین این دو گروه برای صفات طول شاخه، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و بنیه جوانه در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد اما از حیث

Archive of SID

www.SID.ir

طول ریشه، وزن تر و وزن خشک اختلاف معنی‌داری نشان ندادند و فرض صفر برای این سه صفت رد نشد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی بذر چغندرقند در تیمارهای مختلف پرایمینگ.

Table 1- ANOVA for seed germination indices under different treatments of seed priming in sugar beet.

	منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square	F	ضریب تغییرات CV(%)
طول ریشه Root Length	تیمارها Treatments	31	1.450	.933^{ns}	13.45
	خطای آزمایشی Error	64			
	کل Total	95	1.554		
طول شاخه Shoot Length	تیمارها Treatments	31	61.091	10.253**	38.18
	خطای آزمایشی Error	64			
	کل Total	95	5.958		
وزن تر Fresh Weight	تیمارها Treatments	31	.163	3.529**	15.47
	خطای آزمایشی Error	64			
	کل Total	95	.046		
وزن خشک Dry Weight	تیمارها Treatments	31	.001	2.246**	36.13
	خطای آزمایشی Error	64			
	کل Total	95	.0004		
سرعت جوانه زنی Speed of Germination	تیمارها Treatments	31	4.769	8.478**	13.44
	خطای آزمایشی Error	64			
	کل Total	95	.562		
درصد جوانه زنی Percent of Germination	تیمارها Treatments	31	151.349	4.036**	09.70
	خطای آزمایشی Error	64			
	کل Total	95	37.500		
بنیه Vigor	تیمارها Treatments	31	8133.225	17.846**	27.40
	خطای آزمایشی Error	64			
	کل Total	95	455.740		

ns: غیر معنی‌دار،* و** : به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد.

ns: Non-significant, *and**: Significant at % 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی در مجموعه تیمارهای هیدروپرایمینگ و نانوهیدروپرایمینگ بذر چغندرقند.

Table 2- ANOVA for seed germination indices in treatment groups of nanohydropriming and hydropriming of the sugar beet seed.

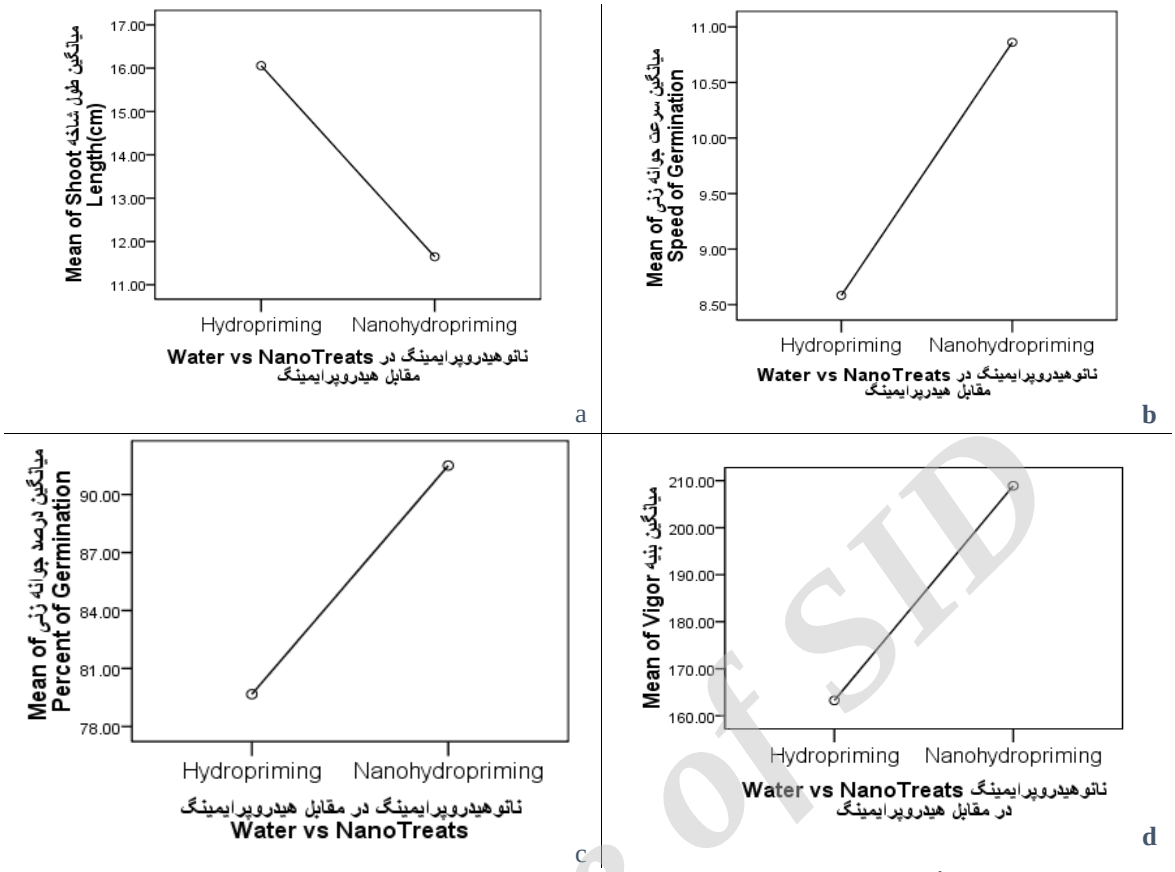
	منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square	F	ضریب تغییرات CV(%)
طول ریشه Root Length	تیمارها Treatments	1	.136	.088^{ns}	13.45
	خطای آزمایشی Error	94			
	کل Total	95	1.535		
طول شاخه Shoot Length	تیمارها Treatments	1	350.132	17.097**	38.18
	خطای آزمایشی Error	94			
	کل Total	95	20.479		
وزن تر Fresh Weight	تیمارها Treatments	1	.235	2.844^{ns}	15.47
	خطای آزمایشی Error	94			
	کل Total	95	.083		
وزن خشک Dry Weight	تیمارها Treatments	1	.000	.058^{ns}	36.13
	خطای آزمایشی Error	94			
	کل Total	95	.000		
سرعت جوانه زنی Speed of Germination	تیمارها Treatments	1	93.389	97.060**	13.44
	خطای آزمایشی Error	94			
	کل Total	95	.962		
درصد جوانه زنی Percent of Germination	تیمارها Treatments	1	2520.500	51.829**	09.70
	خطای آزمایشی Error	94			
	کل Total	95	48.631		
بنیه Vigor	تیمارها Treatments	1	37508.688	14.463**	27.40
	خطای آزمایشی Error	94			
	کل Total	95	2593.496		

ns: غیرمعنی‌دار،* و** : به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد.

ns: Non-significant, *and**: Significant at % 5 and 1% probability levels, respectively.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- مقایسه میانگین های طول شاخه (a)، سرعت جوانه‌زنی (b)، درصد جوانه‌زنی (c)، و بنیه جوانه (d) گروه تیمارهای هیدروپرایمینگ (سمت چپ) و نانوهیدروپرایمینگ (سمت راست). بجز صفت طول شاخه، میانگین بقیه صفات در نانوهیدروپرایمینگ بالاتر می‌باشد.

Figure 1- Mean comparison of the shoot length (a), germination speed (b), germination% (c), and vigor (d) groups hydropriming (left) and Nanohydropriming (right). Except for the shoot length, rest of the averages are higher in Nanohydropriming.

با توجه به یک درجه آزادی بین گروهها، از گراف های دو بعدی زیر که نشاندهنده موقعیت میانگین‌های این دو گروه از تیمارها نسبت به هم می‌باشند استفاده شد. همانطور که در گراف‌های شماره ۱ تا ۴ مشاهده می‌شود میانگین صفت طول شاخه در تیمارهای هیدرو پرایمینگ نسبت به تیمارهای نانو هیدرو پرایمینگ بالاتر بوده و بیانگر این مسئله هستند که در مجموعه تیمارهای هیدرو پرایمینگ، فرآیند رشد رویشی بهتر اتفاق افتاده است (گراف ۱)، اما گراف‌های شماره۲ تا ۴ نشان دادند که مجموعه تیمارهای نانو هیدرو پرایمینگ باعث بهبود صفات سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و بنیه جوانه رقم پارس چغندرقند در مقایسه با هیدروپرایمینگ شده‌اند. پرایمینگ بذر تکنیکی است که اصولا به منظور آماده کردن بذر برای جوانه زنی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگرچه اثرات مطلوب پرایمینگ از زمان جوانه‌زنی تا عملکرد گیاه در مزرعه و سرنوشت آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد اما برخی صفات مربوط به مرحله جوانه‌زنی از درجه اهمییت بالاتری نسبت به بقیه صفات برخوردار هستند. سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند را می توان مهم ترین صفات مرحله جوانه‌زنی قلمداد نمود. در بسیاری از گزارشات آورده شده است که تاثیر پرایمینگ بر

Archive of SID

www.SID.ir

جوانه‌زنی، باعث افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی و سبز شدن بذر می شود (Murungu *et al*., 2003). حسینی و کوچکی (Hossini and Koochaki, 2007) گزارش نمودند که اگر مدت زمان لازم برای جذب آب بذر در خاک با استفاده از پرایمینگ بذر کاهش داده شود، سرعت جوانه‌زنی و بنیه گیاه حاصل افزایش می‌یابد. درصد جوانه‌زنی بذر همراه با میزان سرعت جوانه‌زنی، میزان یکنواختی جوانه‌زنی و در نتیجه یکنواختی مزرعه را رقم می‌زنند. به عبارت دیگر، هدف اصلی از پرایمینگ بذور، افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی است. لذا در این مقایسه، میانگین اثرات ساده مجموعه تیمارهای نانو هیدرو پرایمینگ نسبت به تیمارهای هیدروپرایمینگ بذر چغندرقند رقم منوژرم پارس برتری دارند. با توجه به تاثیر غلظت و مدت زمان پرایمینگ بر صفات و شاخص های جوانه‌زنی در بذرهای پرایم شده، تجزیه واریانس و مقایسات میانگین تیمارهای غلظت نانولوله کربنی و مدت زمان پرایمینگ برای صفاتی که نانوهیدروپرایمینگ بر هیدروپرایمینگ برتری داشت انجام شد (جدول ۳).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات طول شاخه، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، و بنیه در تیمارهای غلظت نانولوله کربنی و مدت زمان پرایمینگ.

Table 3- ANOVA for shoot length, germination speed, germination%, and vigor under treatments of MWCNT concentrations and priming time.

	منبع تغییرات S.O.V		درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square	F	ضریب تغییرات CV(%)
طول شاخه Shoot Length	Treatments	تیمارها	11	40.704	2.993**	35.97
	Error	خطای آزمایشی	60	13.602		
	Total	کل	71			
سرعت جوانه زنی Speed of Germination	Treatments	تیمارها	11	4.662	11.041**	9.49
	Error	خطای آزمایشی	60	.422		
	Total	کل	71			
درصد جوانه زنی Percent of Germination	Treatments	تیمارها	11	111.091	2.944**	7.60
	Error	خطای آزمایشی	60	37.733		
	Total	کل	71			
بنیه Vigor	Treatments	تیمارها	11	13634.073	10.020**	27.14
	Error	خطای آزمایشی	60	1360.718		
	Total	کل	71			

ns: غیر معنی‌دار،* و**: به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد.

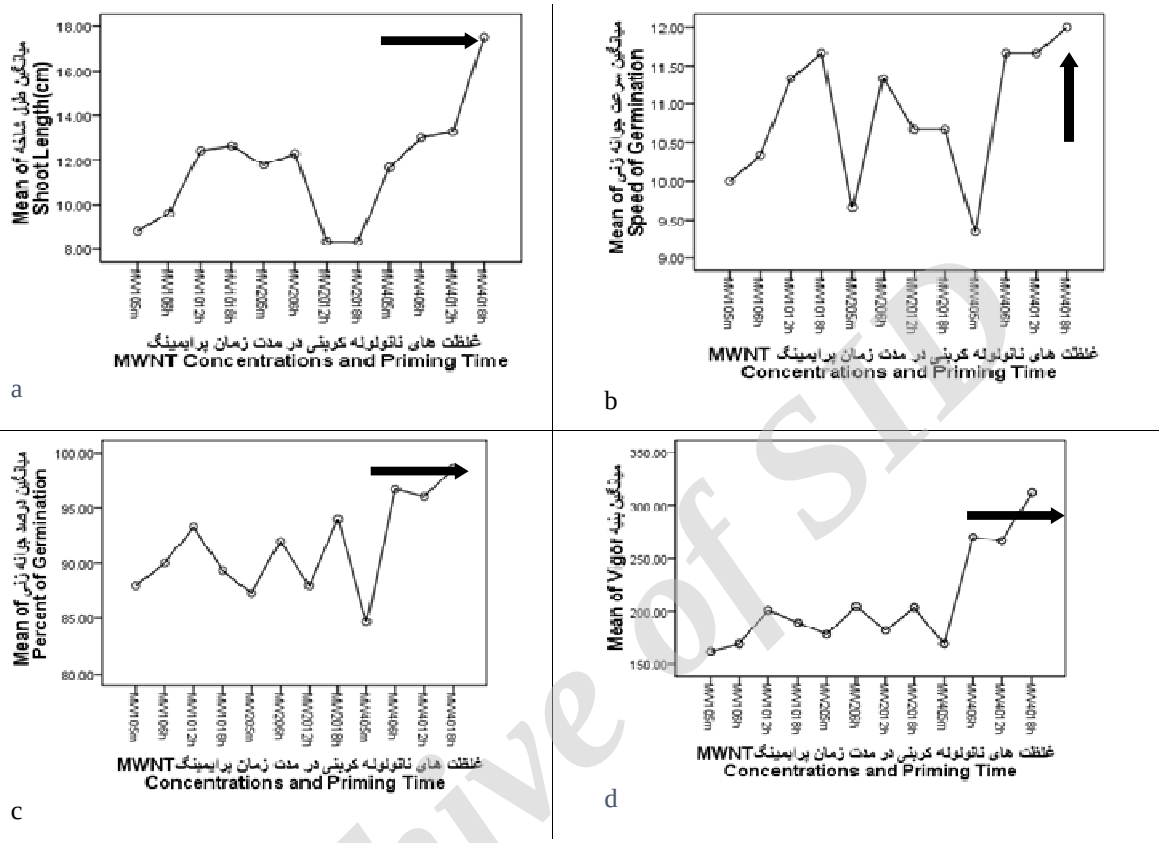
ns: Non-significant, *and**: Significant at % 5 and 1% probability levels, respectively.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف بین غلظت های مختلف نانولوله کربنی چند دیواره و مدت زمان پرایمینگ در صفات مذکور کاملا معنی دار (آلفا یک درصد) بود و با رسم نمودار های مقایسات میانگین (نمودارهای شکل ۲) مشخص گردید که تیمار ۴۰ پی پی ام با ۱۸ ساعت طول دوره پرایمینگ برای همه صفات جدول ۳ بالاترین میانگین را دارا بود. همان طور که قبلا ذکر شد فرآیند رشد طولی ریشه و شاخه در تیمارهای هیدروپرایمینگ نسبت به تیمارهای نانوهیدروپرایمینگ بهتر بود اما با توجه به معنی دار نشدن صفات وزن تر و وزن خشک بین این گروهها، علیرغم رشد طولی بیشتر در تیمارهای هیدروپرایمینگ، بیوماس یکسانی در مقایسه با گروههای نانوهیدروپرایمینگ تولید شده است. نکته مهم اینکه میانگین تیمار پنج دقیقه پرایمینگ در همه صفات فوق حداقل میانگین بود و

Archive of SID

www.SID.ir

در پایین ترین کلاس قرار داشت. بنابراین می توان نتیجه گیری نمود که عامل زمان از اهمییت خاصی در پرایمینگ برخوردار بوده و در شرایط آزمایش حاضر، افزایش زمان منجر به بهبود صفات مؤثر در دستیابی به اهداف پرایمینگ بوده است.



شکل ۲- مقایسه میانگین تیمارهای غلظت نانولوله کربنی چند دیواره و مدت زمان پرایمینگ برای صفات طول شاخه(a)، سرعت جوانه‌زنی (b)، درصد جوانه‌زنی (c)، و بنیه جوانه (d). فلش ها نشان دهنده موقعیت میانگین تیمار پرایمینگ با ۴۰ پی‌پی‌ام نانولوله کربنی به مدت ۱۸ ساعت می باشند.

Figure 2- Mean comparison of shoot length (a), speed of germination (b), germination%, and vigor under MWCNT concentrations and priming time treatments. Arrows indicate the position of the priming with 40 ppm MWCNT for 18 hours.

کوپوسامی و رانگاناتان (Kuppusamy and Ranganathan, 2014) نیز با مقایسه اسمو، هالو و هیدرو پرایمینگ بذور چغندر ریشه‌ای، نشان دادند که نتایج اثر بخش پرایمینگ بر بذر چغندر قند، حتی بعد از گذشت شش ماه قابل مشاهده بوده و در بین تیمارهای زمان، هیدروپرایمینگ ۱۲ ساعته با ۰/۳۱ افزایش جوانه زنی نسبت به شاهد بهترین نتایج را داشت. آزمون تی- استیودنت[1] گروه های ۷ روز و ۶۰ روز پس از ۱۸ ساعت پرایمینگ با ۴۰ پی پی ام نانولوله کربنی چند دیواره نشان داد که گروه های ۷ روز و ۶۰ روز نگهداری، از حیث طول ریشه و طول شاخه با هم اختلاف معنی دار داشتند اما برای سایر صفات اختلاف معنی داری مشاهده نشد. میانگین

1. t-student

Archive of SID

www.SID.ir

تیمار ۶۰ روز پس از پرایمینگ برای هر دو صفت طول ریشه و طول شاخه بیشتر از میانگین‌های متناظر در تیمار ۷ روز پس از پرایمینگ بودند. لذا براساس نتایج این تحقیق، پرایمینگ بذور رقم مونوژرم پارس چغندرقند با غلظت ۴۰ پی پی ام نانولوله کربنی چند دیواره به مدت ۱۸ ساعت و ۶۰ روز قبل از کشت توانست شاخص‌های جوانه زنی را نسبت به هیدرو پرایمینگ بهبود بخشد.

خداکوفسکایا و همکاران (Khodakovskaya *et al*., 2009) با مطالعه اثرات نانولوله کربنی چند دیواره بر جوانه‌زنی بذر گوجه فرنگی، اثرات مثبت این نوع نانولوله را بر جوانه‌زنی گزارش نمودند. نتایج تحقیق آنها نشان داد جذب آب بیشتر توسط بذر در حضور نانولوله کربنی چند دیواره، موجب افزایش فرآیند جوانه‌زنی می شود. در تحقیق دیگری، اثرات مثبت سوسپانسیون نانولوله کربنی چند دیواره بر جوانه‌زنی و رشد ریشه برای شش گونه متفاوت زراعی شامل *Raphanus sativus*, *Brassica napus*, *Lolium perenne*, *Lactuca sativa*, *Zea mays*, and *Cucumis sativus* گزارش شد (Nair *et al*., 2010). اگرچه تعداد گزارش های اثرات سمی نانولوله‌های کربنی چند دیواره نیز کم نیست (Lin *et al*., 2009; Tan and Fugetsu, 2007; Tan *et al*., 2009) اما بایستی توجه داشت که هنوز بسیاری از مکانیسم‌های اثرات متقابل گیاهان و نانوذرات شناخته شده نیست و هرگونه اثری از این نانوذرات نشان دهنده ورود و جابجایی و اثرگذاری آنهاست که به نوبه خود می‌توانند به صورت کنترل شده برای تنظیم رشد و توسعه گیاه بکارگرفته شوند. چگونگی جوانه زنی بذر در مزرعه از اهمییت خاصی در سرنوشت مزرعه برخوردار است. سرعت جوانه زنی و درصد جوانه زنی که به صورت مستقیم بر یکنواختی مزرعه و به صورت غیر مستقیم بر بروز یک گیاه در مزرعه در طول دوران داشت و برداشت اثرگذار هستند از جمله عوامل تعیین کننده چگونگی جوانه‌زنی بذر در مزرعه هستند. لذا هر اقدامی که بتواند موجب ارتقاء این عوامل شود می تواند به عنوان یک اقدام به زراعی مورد توجه قرار گیرد. براین اساس، آزمایش مزرعه-ای نتایج بدست آمده از این تحقیق بایستی انجام شود تا در صورت تایید نتایج آزمایشگاهی، بتوان به عنوان یک اقدام به زراعی آنرا توصیه نمود.

منابع مورد استفاده References

Agrawal, S. and P. Rathore, 2014. Nanotechnology Pros and Cons to Agriculture: A review. Int. J. of Curr. Microbiol. and Appl. Sci. 3(3):43-55.

Alavi, Z.S., H. Roushanfekr, P. Hasibi, and M. Mesgarbashi. 2012. Effect of Osmo and Hydro-priming on the rate and percent of germination of sugar beet genotypes under salt stress. Proc. Second Conf. Seed Sci. Technol.- Mashhad (In Persian).

Basra, S.M.A., M. Farooq. K. Hafeez and N. Ahmad, 2004. Osmohardening: a new technique for rice seed invigoration. Int. Rice. Res. Notes, 29: 80-81.

Campbell, L.G., and J.W. Enz. 1991. Temperature effects on sugar beet seedling emergence. J. of Sugar Beet Res. 28:129-140.

Chegini, M.A., and V. Yousef-Abadi, 2006. The effect of processing (priming) on the quality of sugar beet seed. Final report. Sugar Beet Seed Inst. (In Persian).

Durrant, M.J., S.J. Mash, and K.W. Jaggard. 1993. Effects of seed advancement and sowing date on establishment, bolting and yield of sugar beet. J. Agric. Sci. Cambridge. 121: 333-341.

Foti, R., K. Abureni. A. Tigere. J. Gotosa and J. Gerem, 2008. The efficacy of different seed priming osmotica on the establishment of maize (*Zea mays* L.) caryopses. J. Arid. Environ. 72: 1127-1130.

Archive of SID

www.SID.ir

Govahi, M., M.J. Arvin, and G. Safari. 2007. Incorporation of plant growth regulators into the priming solution improves sugar beet germination, emergence and seedling growth at low-temperature. Pak. J. Biol. Sci., 10(19): 3390-3394.

Haghighi, M., and Z. Afifi Pour. 2011. The effect of priming with carbon nanotubes, nano-titanium and copper nanoparticles on germination characteristics of onion, First National Congress of Science and New Technologies of Agriculture, Zanjan, Zanjan Univ. (In Persian).

Hossini, A., and A. Koochaki. 2007. The effect of different priming treatments on germination rate and percentage of four varieties of sugar beet seed. J. Iranian Agric. Res., No. 9, pp. 69-76 (In Persian).

Husen, A. and K.S. Siddiqi. 2014. Carbon and fullerene nanomaterials in plant system. J. Nanobiotechnol. 12:16.

Jabbari, R., M. Amini Dahaghi, F. Ganji Arjanki, and K. Agahi. 2010. The effects of priming time and method on germination of cumin (*Cuminum cyminum* L). School. Agric. Sci., Issue 4, pp. 23-30 (In Persian).

Jalilian, A., and R. Tavakol-Afshari, 2004. Osmopriming effect on sugar beet seed germination under drought stress. J. Agric. 27 (2): 23-36 (In Persian).

Ke, P.C., and R. Qiao. 2007. Carbon nanomaterials in biological systems. J. Phys. Condense Matter, 19:373101–373125.

Khodakovskaya, M., E. Dervishi, M. Mahmood, Y. Xu, Z. Li, F. Watanabe, and A.S. Biris. 2009. Carbon Nanotubes Are Able To Penetrate Plant Seed Coat and Dramatically Affect Seed Germination and Plant Growth. ACS Nano, 3 (10), pp 3221–3227.

Kuppusamy, N. and U. Ranganathan. 2014. Storage potential of primed seeds of okra (*Abelmoschus esculentus*) and beet root (*Beta vulgaris*). Aust. J. Crop Sci. 8(9) 1290-1297.

Lin, C., B. Fugetsu, Y. Su, F. Watari. 2009. Studies on toxicity of multi-walled carbon nanotubes on Arabidopsis T87 suspension cells. J. Hazard. Mater. 170, 578-583.

Morla, S., C.S.V. Ramachandra, R. Chakrapani. 2011. Factors Affecting Seed Germination and Seedling Growth of Tomato Plants cultured in Vitro Condition. J. Chem. Biol. Phy. Sci. Vol.1, N0.2, Sec. B.328-334.

Murungu, F.S., P. Nyamugafata, C. Chiduza, L.J. Clark, and W.R. Whalley. 2003. Effects of seed priming aggregate size and soil matric potential on emergence of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and Maize (Zea mays L.). Soil and Tillage Res. 74: 161- 168.

Nair, R., S.H. Varghese, B.G. Nair, T. Maekawa, Y. Yoshida, D.S. Kumar. 2010. Nanoparticulate material delivery to plants. Plant Sci. 179, 154-163.

Phartyal, S.S., R.C. Thapliyal, J.S. Nayal, M.S. Rawat, G. Joshi. 2003. The influences of temperature on seed germination rate in Himalayan elm (*Ulmus Wallichiana*). Seed Sci. Technol. 31:83-93.

Salehi M., and F. Tamaskony. 2009. Effect of priming on germination and seedling growth of canola compared with nanosilver under salt stress. J. Plant Sci. Res. Number 16, No. 4. pp 57-52 (In Persian).

Sliwinska, E, E. Jendrzejczak. 2002. Sugar-beet seed quality and DNA synthesis in the embryo in relation to hydration–dehydration cycles. Seed Sci. Technol. ;30:597–608.

Srinivasan, C. and R. Saraswathi. 2010. Nano-agriculture – carbon nanotubes enhance tomato seed germination and plant growth. Curr. Sci., vol. 99, No. 3, 10.

Tan, X., B. Fugetsu. 2007. Multi-walled carbon nanotubes interact with cultured rice cells: evidence of a self-defence response. J. Biomed. Nanotechnol. 3, 285-288.

Tan, X., C. Lin, B. Fugetsu. 2009. Studies on toxicity of multi-walled carbon nanotubes on suspension rice cells. Carbon: 47, 3479-3487.

Torre-Roche, R., J. Hawthorne, Y. Deng, B. Xing, W. Cai, L.A. Newman, Q. Wang, X. Ma, H. Hamdi, J.C. White. 2013. Multiwalled carbon nanotubes and C60 fullerenes differentially impact the accumulation of weathered pesticides in four agricultural plants. Environ. Sci. Technol., Volume 47(21), pp 12539-12547.

Xiao-fang, S., Z. Qingsong and L. Youlinag, 2000. Regulation of salt tolerance of cotton plants at seedling emergence stage by soaking seeds in pix (DPC) and CaCl solutions. Jaingsu J. Agric. Sci., 16: 204-207.

Archive of SID

www.SID.ir