Archive of SID

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال چهاردهم، شماره ۵۴، تابستان ۱۳۹۸ / صفحات: ۳۱-۲۱

اثر نانولوله‌های کربنی چند جداره بر تحریک ریشه‌زایی قلمه‌های به‌لیمو (*Lippia citriodora* L.)

ذبیح‌اله ریگی کاروانداری[۱]، محمدجمال سحرخیز[۱و۲]، فاطمه رئوف فرد[۱]، مهرداد زرافشار[۳*]

[۱]گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

[۲]مرکز تحقیقات فرآوری گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

[۳]گروه تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۸

چکیده

امروزه استفاده از نانولوله‌های کربن در علوم گیاهی جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده و اثرات قابل قبولی از آن گزارش شده است. به‌منظور مطالعه اثر نانولوله‌های کربنی چندجداره (۰، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر تحریک ریشه‌زایی قلمه‌های به‌لیمو (*Lippia citriodora* L.)، آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ٤ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شیراز انجام شد. نتایج نشان داد کاربرد نانولوله‌های کربنی چند جداره در غلظت‌های ۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری منجر به بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی ریشه در مقایسه با شاهد شد. بیشترین افزایش در وزن ریشه (حدود ۲۰۰٪ افزایش نسبت به تیمار شاهد) در پاسخ به کاربرد ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانولوله‌های کربن مشاهده شد. همچنین حجم ریشه در پاسخ به این غلظت از تیمار تا حدود ١٦٥٪ نسبت به شاهد ارتقاء یافت؛ درحالی‌که کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانولوله‌های کربنی حجم ریشه را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. پایین‌ترین تعداد ریشه‌ها در قلمه‌های تیمار شده با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانولوله‌های کربن مشاهده شد. اعمال نانولوله‌های کربنی به میزان ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تعداد ریشه‌های موجود در قلمه‌ها را به‌طور معنی‌داری (تا ۵۰ درصد) نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. از سوی دیگر، بالاترین طول ریشه در نمونه‌ها به‌دنبال اعمال این غلظت از تیمار مشاهده شد بطوری‌که ٦٥/٩٤ درصد افزایش نسبت به شاهد ثبت شد. تحقیق حاضر ضمن گزارش اثرات امیدبخش نانولوله‌های کربنی در ارتقاء ریشه‌زایی گونه به‌لیمو، مطالعات تکمیلی در رابطه با بهبود رشد اندام‌های بالازمینی این گونه دارویی را پیشنهاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: ریشه، قلمه، مورفولوژی، نانوتکنولوژی، وزن خشک.

مقدمه

گیاه به‌لیمو (*Lippia citrodora* L.) متعلق به خانواده Verbenaceae است (Campos et al., 2011). جنس *Lippia* دارای ۲۰۰ گونه از گیاهان علفی، بوته‌ها و درختچه‌ها است. از مهم‌ترین گونه‌های آن می‌توان به *Aloysia triphylla*، *L. citrodora*، *L.nodiflora*، *L. Alba*، *L. dulcis*، *L.sidoides* و *L.multiflora* اشاره کرد (Argyropoulou et al., 2007). برگ‌های این گیاه به‌عنوان بخش قابل استفاده دارای خواص ضدانقباض، تب‌بر، آرام‌بخش،

*نویسنده مسئول: M.zarafshar@aree.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

ضدتشنج، ضدنفخ، ضداسهال، ضدالتهاب، ضداسپاسم، ضدآسم، درمان بی‌خوابی، سردرد و سرماخوردگی است (Meshkatalsadat et al., 2011; Rao et al., 2013).

مواد مؤثره اصلی گیاه به‌لیمو اسانس است که در برگ‌ها و گل‌ها تجمع می‌یابد. میزان اسانس بسته به شرایط اقلیمی، تغذیه‌ای و روش‌های استخراج بین ۰/۹ تا ۱/۵ درصد متغیر است. رنگ اسانس زرد مایل به سبز روشن و با بویی مشابه لیمو است (Zavar, 2017). طبق نظر محققین اجزای اصلی اسانس به‌لیمو شامل لیمونن، ژرانیال و نرال، سینئول، سیترونلول، بتاکاریوفیلن، ایزومنتون، آلفا برگاموتن و پاراسیمن بوده که دارای خواص میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه می‌باشد (Gomes et al., 2006; Ali et al., 2008).

تکثیر جنسی به‌لیمو به علت عدم جوانه‌زنی بذر معمول نیست و تکثیر آن به روش‌های غیرجنسی صورت می‌گیرد. خوابانیدن، قلمه و کشت بافت مهم‌ترین روش‌های تکثیر به‌لیمو هستند. معمولاً، قلمه‌زنی یا خواباندن شاخه‌ها در زمین‌های قابل نفوذ و مرطوب در فصل بهار انجام می‌گیرد (Azarmi et al., 2012). بین گونه‌ها و ارقام مختلف از نظر قابلیت ریشه‌زایی قلمه‌هایی که از آن‌ها گرفته می‌شود، اختلاف زیادی وجود دارد. همچنین تفاوت در میزان ریشه‌زایی قلمه‌های تهیه شده از یک گونه نیز قابل انتظار است. پتانسیل ریشه‌زایی قلمه‌های به‌لیمو تحت تأثیر شرایط مختلف محیطی تغییر می‌کند. یکی از این عوامل مقدار آب موجود در قلمه‌ها است. با اینکه وجود برگ‌ها روی قلمه‌ها، محرکی قوی برای آغازیدن ریشه و جوانه نابجا است، از دست رفتن آب توسط برگ‌ها ممکن است از طریق کاهش محتوای آب درونی قلمه‌ها، باعث خشک شدن آن‌ها گردد. وضعیت آبی قلمه‌ها، توازنی بین آب جذب‌شده و ازدست‌رفته از طریق فرآیند تعرق است. به‌طورکلی جذب آب از برگ‌ها در بیشتر گونه‌ها کمک زیادی به توازن آب در قلمه‌ها نمی‌کند. ازاین‌رو ته قلمه‌ها راه اصلی ورود آب است. جذب آب در قلمه‌ها پس از قرارگیری در محیط کشت به علت بسته شدن آوندهای چوبی و آوندهای ناقص ته قلمه‌ها، کاهش می‌یابد. کاربرد نانوذرات می‌تواند در افزایش جذب آب توسط قلمه‌ها حائز اهمیت باشد (Khodakovskaya et al., 2009).

توسعه نانومواد می‌تواند برنامه‌های کاربردی جدیدی را در بیوتکنولوژی گیاهی و کشاورزی فراهم نماید (Scrinis and Lyons, 2007). مواد شیمیایی کشاورزی جهت مصرف گیاهان معمولاً به‌صورت اسپری یا پخش‌شده به کار می‌روند که غالباً غلظت کمی از آن‌ها در اختیار گیاه قرار می‌گیرد و یا از دسترس گیاهان خارج می شوند ولی در مقابل می‌توان از خواص منحصربفرد نانوذرات استفاده کرده و اثربخشی این مواد را افزایش داد (Green and Beestman, 2007; Moraru et al., 2003; Tsuji, 2001).

امروزه کاربرد نانومواد کربنی به دلیل خواص فیزیکوشیمیایی، مکانیکی، الکتریکی و حرارتی آن‌ها توجه گسترده‌ای را در برنامه‌های کاربردی نظیر الکترونیک، هوافضا، پزشکی و کشاورزی به خود جلب کرده‌اند (Tripathi et al., 2011). ساختمان نانولوله‌های کربن بر اساس گرافیت بنا شده و بر اساس نحوه کاربرد به دو دسته نانولوله‌های کربن تک جداره و چند جداره تقسیم‌بندی می‌شوند. نانولوله‌های کربن تک جداره در ساختار خود دارای یک صفحه گرافین پیچیده و ناهمگن هستند که قطر آن‌ها از یک تا چندین نانومتر و طول آن‌ها تا چندین میکرومتر گزارش شده است. نانولوله‌های کربن چند جداره حاوی بیش از یک صفحه گرافین لوله شده

www.SID.ir

Archive of SID

هم‌مرکز هستند. گزارش شده است که فاصله بین لایه‌های گرافین در نانولوله‌های کربن چند جداره به علت نیروی دافعه‌ی اتمی موجود، نمی‌تواند کمتر از ۰/۳٤ نانومتر باشد (Inagaki, 2000; Jackson et al., 2013).

در حال حاضر نقش مثبت نانولوله‌های کربن در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان مورد توجه قرار گرفته شده است (Lahiani et al., 2015). در همین راستا، نفوذ نانولوله‌های کربنی تک جداره و چند جداره در دیواره و غشای سلولی گوجه‌فرنگی و تنباکو گزارش شده است (Liu et al., 2009). یافته‌های پژوهشگران نشان می‌دهد نانولوله‌های کربن می‌توانند خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی سلول‌های گیاهی را تحت‌تأثیر قرار دهند (Haghighi and da Silva, 2014). یکی از مهم‌ترین اثرات نانولوله‌های کربن در بهبود ویژگی‌های رشدی گیاهان، نقش آن‌ها در تحریک جوانه‌زنی و ریشه‌زایی در مرحله آغازین رشد گیاه است (Srinivasan and Saraswathi, 2010). در پژوهش‌های پیشین افزایش رشد ریشه پیاز و خیار پس از کاربرد نانولوله‌های کربنی گزارش شده است (Yang et al., 2006). همچنین در پژوهشی مشابه کاربرد نانولوله‌های کربنی باعث افزایش طول ریشه، طول ساقه و مقاومت ریشه‌چه گیاه باقلا شد (Norouzi, 2012). افزایش کاربرد گیاه دارویی به‌لیمو طی سال‌های اخیر در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی، نیاز به افزایش سطح زیر کشت آن را ضروری می‌نماید. لذا این آزمایش به‌منظور بررسی اثر نانولوله‌های کربنی چند جداره در بهبود پتانسیل ریشه‌زایی قلمه‌های به‌لیمو (*Lippia citriodora* L.) انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش گلدانی در سال زراعی ۱۳۹٦ در مزرعه تحقیقاتی بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انجام شد. ارتفاع از سطح دریا در این منطقه ۱۸۱۰ متر بوده و اقلیم منطقه خشک و سرد می‌باشد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل بلوک تصادفی با ٦ تیمار در ٤ تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل شش سطح نانولوله‌های کربن ۰ (عدم کاربرد)، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. در این آزمایش از نانولوله‌های کربنی چند جداره (MWCNTs, OD 20-30 nm, L 10µm) دارای خلوص ۵۹ درصد، ساخت شرکت US Research Nanomaterials, Inc (ایالات متحده آمریکا) استفاده شد.

قلمه‌گیری از نمونه‌های به‌لیمو در مهرماه از مزرعه صورت گرفت. میانگین طول قلمه‌ها ۱۲-۱۰ سانتی‌متر و قطر آنها ۸-٦ میلی‌متر بود. به‌منظور تهیه سوسپانسیون مورد نظر، پودر نانولوله‌های کربنی چند جداره به‌طور مستقیم در آب مقطر معلق و با استفاده از ارتعاشات اولتراسونیک با ارسال سیگنال‌های موج ٤۰ کیلوهرتز به‌مدت ۲۰ دقیقه پراکنده شدند. سپس سوسپانسیون کلوئیدی بر اساس غلظت‌های مورد استفاده برای هر تیمار اعمال شد. در مرحله بعد، نمونه‌های قلمه به‌لیمو در درون بشر حاوی محلول ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر قرار داده شدند. سپس غلظت‌های مختلف نانولوله‌های کربنی چند جداره (۰، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به محلول‌ها اضافه گردید. نمونه‌ها به‌مدت ٦ ساعت و با دور ۱۰۰ دور در دقیقه بر روی شیکر قرار گرفتند. پس از اعمال تیمارها، قلمه‌های به‌لیمو به محیط ریشه‌زایی انتقال داده شدند. قلمه‌ها به مدت ٤۰ روز در محیط ریشه‌زایی قرار گرفتند. محیط ریشه‌زایی شامل گلدان نایلونی حاوی پرلایت و ماسه رودخانه، با نسبت سه به یک، در فضای باز بود. همچنین شرایط گرمایش برای گلدانها از طریق سیستم لوله‌های گرم در کف

www.SID.ir

Archive of SID

زمین فراهم شد. به منظور کاهش شدت نور آفتاب و ایجاد نور الک شده از تور سبز رنگ استفاده شد. در طول مدت آزمایش آبیاری گلدان‌ها هفته‌ای دوبار انجام گرفت. پس از این مدت قلمه‌ها از گلدان خارج و جهت اندازه‌گیری صفات مورد بررسی به آزمایشگاه منتقل شدند.

به‌منظور تهیه تصاویر از سلول‌های ریشه در قلمه‌های به‌لیمو از میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning Electron Microscopy) مدل TESCAN-Vega 3ساخت شرکت TESCAN سازنده کشور جمهوری چک استفاده شد. همچنین در این آزمایش از دستگاه پوشش‌دهنده طلا (Sputtering coating) مدل Q150R-ES ساخت شرکت Quorum Technologies انگلستان استفاده شد.

صفات مورد ارزیابی در این آزمایش شامل وزن تر و خشک ریشه، تعداد ریشه، حجم ریشه، طول ریشه و درصد ریشه‌زایی قلمه‌ها بود. در این راستا بعد از خارج کردن قلمه‌ها از گلدان های تیمار شده به انضمام نهال‌های شاهد، بطور کامل شستشو شدند. در ابتدا درصد ریشه‌زایی ثبت و طول ریشه‌ها با دقت میلی‌متر ثبت شد و در ادامه تعداد دقیق ریشه‌های ایجاد شده شمارش گردید. حجم ریشه‌ها توسط قرار دادن نمونه‌ها در ظرف مندرج و یادداشت حجم آب بالا آمده اندازه‌گیری شد. وزن تر نمونه‌ها توسط ترازوی دیجیتال ثبت و بعد از قرار دادن نمونه‌ها در آون با دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت، وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS ver. 9.4 انجام شد. میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند. همچنین برای رسم نمودارها، از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

نتایج

مطالعه میکروسکوپیک: تصاویر تهیه شده از اپیدرم ریشه در قلمه‌های به‌لیمو توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره در شکل ۱ ارایه شده است. این تصاویر حاکی از حضور نانولوله‌های کربن در غلظت‌های بالا بر روی اپیدرم ریشه‌های موجود در قلمه‌ها بود. قطعا در رابطه با کنترل و زمانی که از غلظت‌های پایین نانولوله‌های کربن استفاده شد، این ترکیبات بر روی سطح خارجی ریشه نمایان نشدند.

تاثیر تیمارهای نانولوله کربن بر صفات رویشی ریشه: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تمامی صفات مورد اندازه‌گیری تحت تاثیرات معنی‌دار تیمارهای این تحقیق قرار گرفت (جدول ۱). همچنین اثر بلوک در هیچ‌یک از صفات معنی‌دار نبود. در ادامه هر صفت به‌طور جداگانه مورد نظر قرار گرفته است.

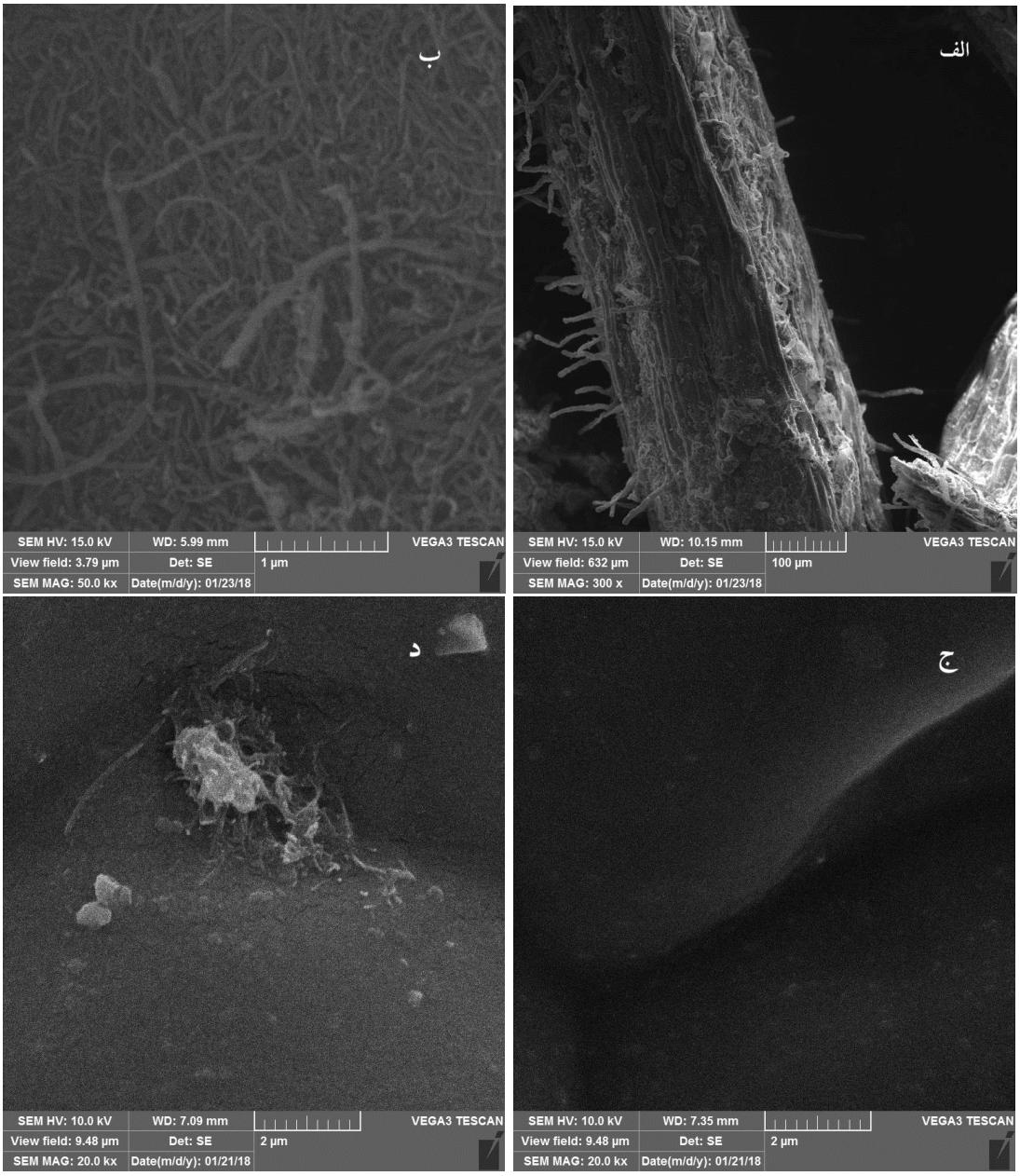
جدول ۱: نتایج آنالیز واریانس صفات مورد بررسی تحت تیمارهای نانولوله های کربنی

منبع تغییر	درجه آزادی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	تعداد ریشه	حجم ریشه	ارتفاع ریشه
تیمار	۵	۰/۱۵۸**	۰/۰۰۵**	۳۷/۵٤۱**	۰/۲٦۳**	۳۱/۱۷۸**
بلوک	۳	۰/۰۰۰٤۱٦^{ns}	۰/۰۰۰۰۲^{ns}	۰/۹۳^{ns}	۰/۰۰۰۳۱^{ns}	۲/۱۸۳^{ns}
خطا	۱۵	–	–	–	–	–

** نشان از اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد و ns نشان از عدم اختلاف معنی‌دار آماری است

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: تصاویر تهیه شده از میکروسکوپ الکترونی نگاره سلول‌های ریشه در قلمه‌های بهلیمو: الف) سلول‌های ریشه قبل از اعمال تیمارهای نانولوله‌های کربن چند جداره؛ ب) نانولوله‌های کربن چند جداره مورد استفاده؛ ج) عدم حضور نانولوله‌های کربن چند جداره در غلظت‌های پایین در مقیاس ذکر شده؛ د) حضور نانولوله‌های کربن چند جداره در غلظت‌های بالا در مقیاس ذکر شده.

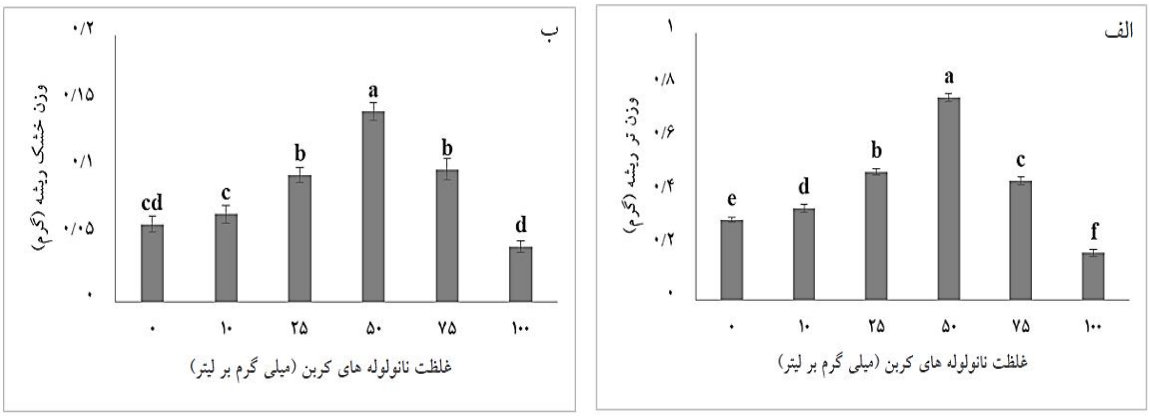
وزن تر ریشه: نتایج این پژوهش نشان داد با افزایش غلظت نانولوله‌های کربن چند جداره تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، وزن تر ریشه به‌طور قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا کرد. کاربرد این غلظت باعث افزایش ۱۵۰/۹۹ درصدی وزن تر ریشه نسبت به تیمار شاهد شد. با این حال غلظت‌های بالای نانولوله‌های کربن مورد استفاده، اثر بازدارندگی داشته و وزن تر ریشه را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (شکل ۲-الف).

وزن خشک ریشه: اثر سطوح مختلف نانولوله‌های کربن چند جداره بر تغییرات وزن خشک ریشه در شکل ۲-ب ارائه شده است. نتایج نشان داد که کاربرد

www.SID.ir

Archive of SID

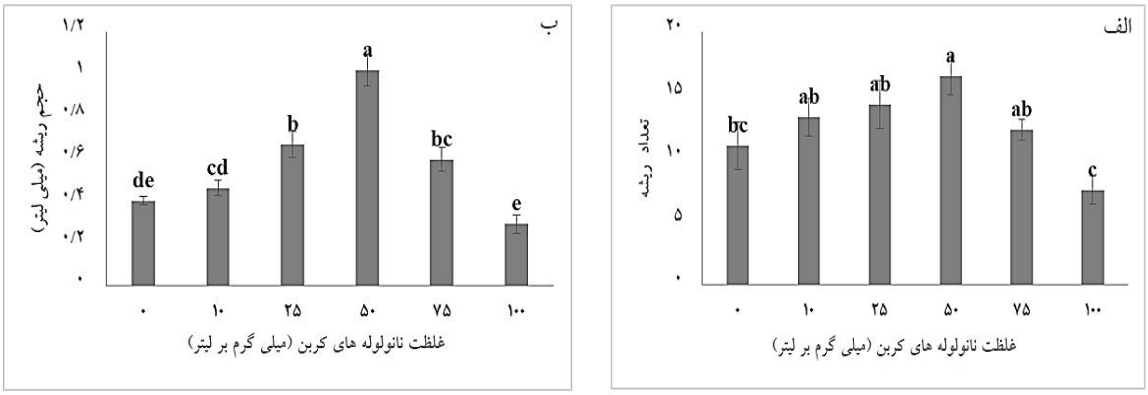
۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانولوله‌های کربن چند جداره وزن خشک ریشه را در مقایسه با سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری افزایش داد. بالاترین وزن خشک ریشه با میانگین ۰/۱۴۳ گرم پس از کاربرد این غلظت مشاهده شد.



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف نانولوله‌های کربن چند جداره بر تغییرات وزن تر (الف) و خشک (ب) ریشه به‌لیمو. اعداد گزارش شده شامل میانگین ± خطای معیار (تعداد ٤ تکرار) می‌باشد.

تعداد ریشه: با افزایش غلظت نانولوله‌های کربن چند جداره مورد استفاده تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، تعداد ریشه‌های موجود در قلمه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. غلظت بالای نانولوله‌های کربن (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث کاهش تعداد ریشه‌ها گردید. کاربرد غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از نانولوله‌های کربن، تعداد ریشه‌ها را به میزان ۳۱/۸۱ درصد نسبت به شاهد کاهش داد (شکل ۳-الف).

حجم ریشه: در این آزمایش، حجم ریشه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر کاربرد نانولوله‌های کربن چند جداره قرار گرفت (شکل ۳-ب). بالاترین و پایین‌ترین حجم ریشه به‌ترتیب با میانگین‌های ۱/۰۲ و ۰/۲۹ میلی‌لیتر پس از کاربرد غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. نتایج نشان داد کاربرد غلظت بالای نانولوله‌های کربن نه‌تنها حجم ریشه را افزایش نداده، بلکه باعث کاهش آن نیز گردید.

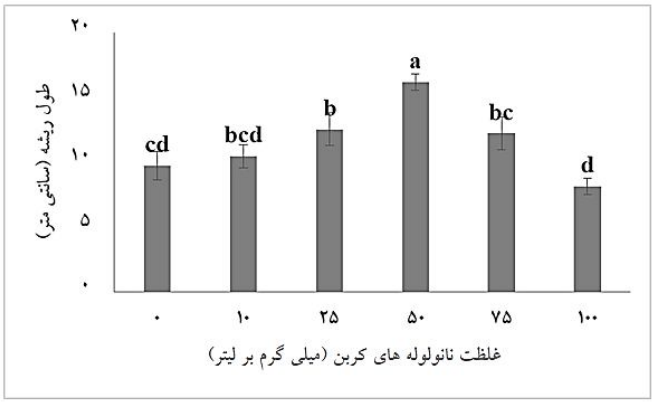


شکل ۳: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف نانولوله‌های کربن چند جداره بر تعداد (الف) و حجم (ب) ریشه به‌لیمو اعداد گزارش شده شامل میانگین± خطای معیار (تعداد ٤ تکرار) می‌باشد.

www.SID.ir

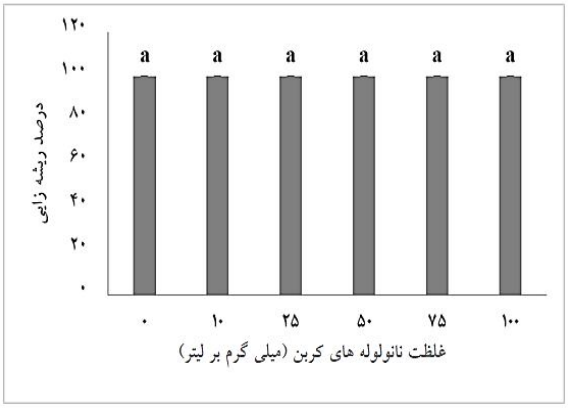
Archive of SID

طول ریشه: نتایج این پژوهش نشان داد طول ریشه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر کاربرد نانوتیوب‌های کربن قرار گرفت. کاربرد غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانولوله‌های مورد استفاده بیش‌ترین اثر را از این جهت نشان داد (شکل ٤). کاربرد این غلظت طول ریشه را نسبت به شاهد به میزان ٦٥/٩٤ درصد افزایش داد.



شکل ٤: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف نانولوله‌های کربن چند جداره بر طول ریشه در قلمه به‌لیمو
اعداد گزارش شده شامل میانگین± خطای معیار (تعداد ٤ تکرار) می‌باشد.

درصد ریشه‌زایی: مشاهدات عینی نشان داد که اثر نانولوله‌های کربن سبب کاهش درصد ریشه‌زایی گیاه به لیمو نشد و همه قلمه‌ها همانند شاهد ریشه‌دار شدند (شکل ۵). همچنین پاسخ ریشه‌زایی گیاه به لیمو به تیمارهای مورد استفاده در شکل ۵ قابل مشاهده است.



شکل ۵: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف نانولوله‌های کربن چند جداره بر درصد ریشه‌زایی قلمه به‌لیمو
و تصاویر تهیه شده از وضعیت ریشه‌زایی تحت تیمارها.
اعداد گزارش شده شامل میانگین± خطای معیار (تعداد ٤ تکرار) می‌باشد.

بحث

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، با افزایش غلظت نانولوله‌های کربنی چند جداره تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، وزن تر و خشک ریشه، تعداد ریشه، حجم ریشه و طول ریشه در قلمه‌ها افزایش پیدا کرد. بنابراین می‌توان اظهار داشت تغییر در ویژگی‌های رویشی

www.SID.ir

Archive of SID

ریشه، وابسته به غلظت نانولوله‌های کربنی مورد استفاده بوده که با نتایج Khodakovskaya و همکاران (۲۰۰۹) و Lin و Xing (۲۰۰۷) همخوانی دارد. علاوه بر عامل غلظت، پاسخ گونه‌های گیاهی به کاربرد نانولوله‌های کربنی می‌تواند متفاوت باشد. به‌عنوان مثال، طول ریشه در برخی گیاهان نظیر گوجه‌فرنگی در پاسخ به کاربرد نانولوله‌های کربن، کاهش یافت، درحالی‌که برخی گیاهان نظیر هویج و کلم پیچ پاسخی به کاربرد نانولوله‌های کربن نشان ندادند (Canas et al., 2008). احتمالاً علت تفاوت پاسخ گیاهان مختلف به نانولوله‌های کربن، مربوط به درجه نفوذپذیری دیواره و غشای سلولی گیاهان نسبت به نانولوله‌ها باشد. بسیاری از پژوهشگران عبور نانو ذرات از دیواره سلولی گیاهان را تأیید کرده‌اند. به‌عنوان مثال نانو ذرات سیلیکا پوشش داده شده با طلا، قادر به نفوذ از دیواره و ارسال DNA به سلول گیاهی است (Slowing et al., 2006; Lecoanet et al., 2004). در پژوهش‌های پیشین، نفوذ نانولوله‌های کربنی تک جداره و چند جداره به غشای سلولی گیاهانی نظیر گوجه‌فرنگی و تنباکو تأیید شده است (Liu et al., 2009).

به‌طورکلی کاربرد غلظت‌های بالای نانولوله‌های کربنی مورد استفاده در این آزمایش اثر منفی بر ویژگی‌های رشدی ریشه داشت. احتمالاً سلول‌های ریشه قلمه به‌لیمو به غلظت‌های بالای نانولوله‌های کربن حساس بوده و با کمک مکانیسم‌هایی از ورود و نفوذ غلظت‌های بالای نانولوله‌ها به درون سلول جلوگیری می‌کند. علت احتمالی دیگر آن می‌تواند به سمیت غلظت‌های بالای نانولوله‌های کربن در سلول‌های ریشه ارتباط داده شود. در پژوهشی توسط Canas و همکاران (۲۰۰۸) حضور مقادیر بالای نانولوله‌های کربنی چند جداره در برنج، از طریق افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در سلول، زمینه را جهت ایجاد تنش اکسیداتیو و در نهایت کاهش تکثیر سلول‌ها فراهم کرد. برخی از این رادیکال‌ها به علت واکنش‌پذیری بالایی که دارند به ماکرومولکول‌ها خصوصاً لیپیدها حمله کرده و باعث پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند (Oberdorster, 2004). ادامه این شرایط باعث برهم خوردن تعادل آبی و تغذیه‌ای سلول‌ها و درنهایت کاهش وزن ریشه‌ها می‌گردد (Barcelo and Poschenrieder, 1990). با این حال برخی پژوهشگران معتقدند کاربرد غلظت‌های پایین نانو ذرات موجب تولید مقادیر کم رادیکال‌های آزاد شده که با نقش سیگنالی خود و به دنبال آن القای مسیر سیگنالینگ اکسیداتیو و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز، فرآیند جوانه‌زنی و رشد ریشه‌چه‌ها را افزایش می‌دهند (Lu et al., 2002).

نتایج مشابهی توسط Jiang و همکاران (۲۰۱۳) بر روی برنج گزارش شده است. نتایج آن‌ها نشان داد کاربرد نانولوله‌های کربن تا غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر باعث افزایش طول و وزن تر و خشک ریشه می‌شود. کاربرد غلظت‌های بالاتر، اثر منفی بر ویژگی‌های رویشی ریشه داشت. در آزمایشی دیگر پاسخ منفی پیاز و تربچه به کاربرد غلظت‌های بالای نانولوله‌های کربنی مورد تأیید قرار گرفته است (Haghighi and da Silva, 2014).

نتایج میکروسکوپ الکترونی حاکی از حضور نانولوله‌های کربن بر روی دیواره سلولی ریشه بود. این تصاویر نشان داد که این ترکیبات ممکن است با برخی از اجزای موجود در دیواره سلولی واکنش نشان دهند. احتمال داده می‌شود دیواره سلولی ریشه در قلمه‌های به‌لیمو به غلظت‌های بالای نانولوله‌های کربن، نفوذناپذیر و به غلظت‌های پایین‌تر نفوذپذیر باشد. بااین‌حال مکانیسم ورود این ترکیبات به درون سلول مشخص نیست. احتمال دارد این ترکیبات یا عرض دیواره را پیموده و یا اینکه از طریق انتشار از غشای دولایه لیپیدی وارد سلول‌های ریشه شوند.

www.SID.ir

Archive of SID

اخیراً گزارش شده است گروهی از پپتیدها با نانولوله‌های کربنی تک و چند جداره واکنش می‌دهند (Li et al., 2006). همچنین در پژوهشی مشابه کمپلکسی مرکب متشکل از ترکیبات هیدروکربنی و نانولوله‌ها با پیوند غیر کووالانسی در سلول‌های گیاهی مشاهده شده است (Casey et al., 2005). اثر مثبت نانولوله‌های کربنی در افزایش ویژگی‌های رویشی ریشه در گیاهانی نظیر باقلا (Norouzi, 2012) و خیار (Yang et al., 2006) گزارش شده است.

آب یک عامل کلیدی جهت جوانه‌زنی قلمه‌ها و به دنبال آن افزایش رشد ریشه‌ها در محیط کشت است. نانولوله‌های با افزایش جذب آب باعث افزایش درصد جوانه‌زنی شده و سرعت رشد ریشه را در محیط کشت تحریک می‌کنند (Khodakovskaya et al., 2009). مکانیسمی که نانو ذرات باعث افزایش جذب آب می‌شوند، ناشناخته است. احتمالاً نانو ذرات با ایجاد منافذ جدیدی در نواحی ریشه‌زایی، باعث افزایش جذب آب شوند. احتمال دیگر آن است که نانولوله‌های ممکن است قادر به تنظیم دریچه‌های کانال‌های آبی موجود در دیواره سلولی در این نواحی باشند. مکانیسم تنظیمی این کانال‌ها مشخص نیست، ولی مشخص شده که فعالیت این کانال‌ها ممکن است توسط تنش‌های مختلفی نظیر خشکی، شوری، اسمزی و فلزات سنگین تغییر کند (Norouzi, 2012). در پژوهشی توسط Tripathi و همکاران (۲۰۱۱) بر روی گیاه نخود، نانولوله‌های کربن باعث افزایش سرعت رشد ریشه‌ها، شاخه‌ها و انشعابات شد. آن‌ها پیشنهاد دادند نانولوله‌های کربن با افزایش میزان جذب و نگهداری بهتر آب به رشد بیشتر ریشه‌ها و انشعابات آن کمک می‌کند. همچنین مطالعات نشان داده که نوک ریشه و تارهای کشنده با ترشح ترکیبات موسیلاژی، سطح ریشه را می‌پوشانند. این مواد متشکل از پلی‌ساکاریدهای هیدراته و احتمالاً مواد پکتیکی بوده که ممکن است به جذب نانولوله‌های کربن توسط ریشه کمک کنند (Manceau et al., 2008).

نتایج این پژوهش نشان داد با افزایش غلظت نانولوله‌های کربن مورد استفاده، طول ریشه‌ها در قلمه‌های به‌لیمو افزایش یافت. اثر مثبت نانولوله‌های کربن در افزایش فرآیند جذب آب می‌تواند افزایش طول ریشه‌ها را توجیه کند. در بیان علت افزایش طول ریشه‌ها در غلظت‌های بالای نانولوله‌های کربن، می‌توان این‌گونه اظهار نمود که نانولوله‌های کربن با ایجاد منافذی بر روی دیواره سلولی، نفوذپذیری مواد غذایی به درون سلول‌های ریشه را افزایش می‌دهد. به دنبال مهیا بودن شرایط تغذیه‌ای، رشد ریشه‌ها و افزایش طول آن‌ها دور از انتظار نخواهد بود (Liu et al., 2009).

کاربرد نانولوله‌های کربنی، رشد ریشه در گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی را افزایش داده است (Srinivasan and Saraswathi, 2010). همچنین نانولوله‌های کربنی می‌توانند جوانه‌زنی و رشد دانهال‌های ذرت، سویا و جو را در محیط کشت تحریک نمایند (Lahiani et al., 2015). نتایج این پژوهش با نتایج گزارش شده توسط Morla و همکاران (۲۰۱۱) مبنی بر اثر مثبت نانولوله‌ها بر افزایش طول ریشه در گوجه‌فرنگی مطابقت دارد. در پژوهش دیگری بر روی گوجه‌فرنگی کاربرد نانولوله‌های کربن باعث افزایش ارتفاع و وزن ساقه‌های گیاه شد، ولی طول ریشه‌ها تحت تاثیر قرار نگرفت (Khodakovskaya et al., 2009).

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که اثر نانولوله‌های کربنی بر ویژگی‌های رویشی قلمه‌های به‌لیمو، وابسته به غلظت بوده و افزایش غلظت تا ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اغلب ویژگی‌های رویشی ریشه را افزایش داد. بررسی نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اثر سمیت بر ویژگی‌های رویشی ریشه دارد. به عبارتی دیگر مصرف غلظت‌های بالاتر با اثر ممانعت کنندگی که دارد از رشد ریشه جلوگیری می‌کند. این نتایج حاکی از آن است که در استفاده از نانولوله‌های کربنی در برنامه‌های کشاورزی بایستی با دقت بیشتری عمل نمود. ازاین‌رو تحقیقات تکمیلی جهت دستیابی به غلظت‌های بهینه نانولوله‌های در سایر گیاهان پیشنهاد می‌گردد.

References

Ali, H.F., El-Beltagi, H.S. and Nasr, N.F. (2008). Assessment of volatile components, free radical-scavenging capacity and anti-microbial activity of lemon verbena leaves. Research Journal of Phytochemistry, 2: 84-92.

Argyropoulou, C., Daferera, D., Tarantilis, P.A., Fasseas, C. and Polissiou, M. (2007). Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* HBK (Verbenaceae) at two developmental stages. Biochemical Systematics and Ecology, 35(12): 831-837.

Azarmi, F., Tabatabaie, S.J., Nazemieh, H. and dadpour, M.R. (2012). Greenhouse Production of lemon verbena and valerian using different soilless and soil production systems. Journal of Basic Sciences and Applied Research, 2(8): 8192-8195.

Barcelo, J.U.A.N. and Poschenrieder, C. (1990). Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. Journal of plant nutrition, 13(1): 1-37.

Campos, M.K.F., de Carvalho, K., de Souza, F.S., Marur, C.J., Pereira, L.F.P., Bespalhok Filho, J.C. and Vieira, L.G.E. (2011). Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic 'Swingle' citrumelo plants over-accumulating proline. Environmental and Experimental Botany, 72(2): 242-250.

Canas, J.E., Long, M., Nations, S., Vadan, R., Dai, L., Luo, M. and Olszyk, D. (2008). Effects of functionalized and nonfunctionalized single walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species. Environmental Toxicology and Chemistry, 27(9): 1922-1931.

Casey, A., Farrell, G., McNamara, M., Byrne, H. and Chambers, G. (2005). Interaction of carbon nanotubes with sugar complexes. Synthetic Metals, 153: 357–360.

Da Silva, T.F., Vollú, R.E., Jurelevicius, D., Alviano, D.S., Alviano, C.S., Blank, A.F. and Seldin, L. (2013). Does the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. (pepper-rosmarin) affect its endophytic microbial community? BMC microbiology, 13(1): 29-43.

Gomes, P., Oliveira, H., Vicente, A. and Ferreira, M. (2006). Production, transformation and essential oils composition of leaves and stems of lemon verbena [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 8: 130-135.

Green, J.M. and Beestman, G.B. (2007). Recently patented and commercialized formulation and adjuvant technology. Crop Protection, 26(3): 320-327.

Haghighi, M. and da Silva, J.A.T. (2014). The effect of carbon nanotubes on the seed germination and seedling growth of four vegetable species. Journal of Crop Science and Biotechnology, 17(4): 201-208.

Inagaki, M. (Ed.). (2000). old but new material: New carbons-control of structure and functions. Amsterdam, Elsevier: 1-29.

Jackson, P., Jacobsen, N.R., Baun, A., Birkedal, R., Kühnel, D., Jensen, K.A. and Wallin, H. (2013). Bioaccumulation and ecotoxicity of carbon nanotubes. Chemistry Central Journal, 7(1): 154.

Jiang, Y., Hua, Z., Zhao, Y., Liu, Q., Wang, F. and Zhang, Q. (2013). The effect of carbon nanotubes on rice seed germination and root growth. In Proceedings of the 2012 International Conference on Applied Biotechnology (ICAB), 250: 1207-1212.

Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F. and Biris, A. S. (2009). Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. American Chemical Society nano, 3(10): 3221-3227.

Lahiani, M.H., Chen, J., Irin, F., Puretzky, A.A., Green, M.J. and Khodakovskaya, M.V. (2015). Interaction of carbon nanohorns with plants: uptake and biological effects. Carbon, 81: 607-619.

Lecoanet, H.F., Bottero, J.Y. and Wiesner, M.R. (2004). Laboratory assessment of the mobility of nanomaterials in porous media. Environmental science and technology, 38(19): 5164-5169.

Li, X., Chen, W., Zhan, Q., Dai, L., Sowards, L., Pender, M. and Naik, R.R. (2006). Direct measurements of interactions

www.SID.ir

Archive of SID

between polypeptides and carbon nanotubes. The Journal of Physical Chemistry B, 110(25): 12621-12625.

Lin, D. and Xing, B. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution, 150(2): 243-250.

Liu, Q., Chen, B., Wang, Q., Shi, X., Xiao, Z., Lin, J. and Fang, X. (2009). Carbon nanotubes as molecular transporters for walled plant cells. Nano letters, 9(3): 1007-1010.

Lu, C., Zhang, C., Wen, J., Wu, G. and Tao, M. (2002). Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism. Soybean Science, 21(3): 168-171.

Manceau, A., Nagy, K.L., Marcus, M.A., Lanson, M., Geoffroy, N., Jacquet, T. and Kirpichtchikova, T. (2008). Formation of metallic copper nanoparticles at the soil-root interface. Environmental science and technology, 42(5): 1766-1772.

Meshkatalsadat, M.H., Papzan, A.H. and Abdollahi, A. (2011). Determination of bioactive volatile organic components of *Lippia citriodora* using ultrasonic assisted with headspace solid phase microextraction coupled with GC-MS. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 6(1): 319-323.

Moraru, C.I., Panchapakesan, C.P., Huang, Q., Takhistov, P., Liu, S. and Kokini, J.L. (2003). Nanotechnology: a new frontier in food science. Food Technology, 57: 24–29.

Morla, S., Rao, C.R. and Chakrapani, R. (2011). Factors affecting seed germination and seedling growth of tomato plants cultured in vitro conditions. Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences (JCBPS), 1(2): 328-334.

Norouzi, M. (2012). The effect of some nanoparticles on seed germination and subsequent seedling growth of several plant species. Master of Science, Shahrekord University, Iran, 159p.

Oberdorster, E. (2004). Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. Environmental health perspectives, 112(10), 1058-1062.

Rao, G.V., Gopalakrishnan, M. and Mukhopadhyay, T. (2013). Secondary metabolites from the leaves of *Lippia citriodora* HBK. Der Pharmacia Lettre, 5(3): 492-495.

Scrinis, G. and Lyons, K. (2007). The emerging nano-corporate paradigm: nanotechnology and the transformation of nature, food and agri-food systems. International Journal of Sociology of Agriculture and Food, 15(2): 22-44.

Slowing, I., Trewyn, B.G. and Lin, V.S.Y. (2006). Effect of surface functionalization of MCM-41-type mesoporous silica nanoparticles on the endocytosis by human cancer cells. Journal of the American Chemical Society, 128(46): 14792-14793.

Srinivasan, C. and Saraswathi, R. (2010). Nano-agriculture-carbon nanotubes enhance tomato seed germination and plant growth. Current science, 99(3): 274-275.

Tripathi, S., Sonkar, S.K. and Sarkar, S. (2011). Growth stimulation of gram (*Cicer arietinum*) plant by water soluble carbon nanotubes. Nanoscale, 3(3): 1176–1181

Tsuji, K. (2001). Microencapsulation of pesticides and their improved handling safety. Journal of microencapsulation, 18(2): 137-147.

Yang, K., Wang, X., Zhu, L. and Xing, B. (2006). Competitive sorption of pyrene, phenanthrene, and naphthalene on multiwalled carbon nanotubes. Environmental science and technology, 40(18): 5804-5810.

Zavar, H. (2017). Assesment of different concentrations of nano Fe-chelate and nano super micro perfect fertilizers on growth characteristics and yield of lemon verbena (*Lippia citriodora*). Master of Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran, 150p.

www.SID.ir