فصلنامه علمی – پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران
جلد ۲۶ شماره ۲، صفحه ۲۱۴–۲۰۲، (۱۳۹۷)
شناسه دیجیتال (DOI): 10022092/ijfpr.2018.116749

تأثیر نانوپرایمینگ بذر با نانولوله کربن چندجداره بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه‌های بارانک لرستانی (*Sorbus luristanica* Bornm.)

سیدوحید سیدنا [۱]، بابک پیله‌ور [۲*]، کامبیز ابراری واجاری [۳]، مهرداد زرافشار [۴] و حمیدرضا عیسوند [۵]

۱– دانشجوی دکتری جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
۲*– نویسنده مسئول، دانشیار، گروه جنگل‌داری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران. پست الکترونیک: pilehvar.b@lu.ac.ir
۳– استادیار، گروه جنگل‌داری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
۴– استادیار، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران
۵– دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۱/۱۲

چکیده

در رابطه با شکست خواب بذر بارانک لرستانی (*Sorbus luristanica* Bornm.) به‌عنوان یک گونه اندمیک هیچ گونه اطلاعاتی وجود ندارد. در این پژوهش از پتانسیل قابل توجه نانولوله‌های کربنی چندجداره به‌منظور رفع خواب و ارتقاء جوانه‌زنی این گونه استفاده شد. پیش از لایه‌گذاری گرم (دو هفته) و سرد (سه تا چهار ماه)، به‌عنوان تیمار پیشنهادی در این جنس، بذرها به مدت ۲۴ ساعت با غلظت‌های صفر، ۷۵، ۱۵۰، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر پرایم شدند. نتایج نشان داد که بذرهای این گونه حداقل به سه ماه لایه‌گذاری در سرما احتیاج دارد. پس از سپری شدن این مدت، بذرها در داخل پتری‌دیش کشت و به ژرمیناتور انتقال یافتند. شمارش روزانه جوانه‌زنی در یک دوره ۲۲ روزه انجام و در پایان، درصد، سرعت و میانگین زمان جوانه‌زنی محاسبه شد. همچنین، به‌منظور درک بیشتر تأثیر این نانومواد، رشد متعاقب گیاهچه‌های رشدیافته از این بذرها نیز مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمار ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب ارتقاء تمام صفات جوانه‌زنی در این گونه شد. مطالعات میکروسکوپیک حاکی از تحلیل دیواره آندوکارپ بذر به‌واسطه نانوپرایمینگ و افزایش نفوذ بیشتر رطوبت و اکسیژن به داخل بذر بود. افزایش رشد طولی و زی‌توده ریشه بارزترین تأثیر نانوپرایمینگ بذر بود. به‌نظر می‌رسد که تأمین رطوبت بیشتر به داخل گیاه یکی از سازکاروهای عملکردی این نانولوله کربن‌های چندجداره باشد.

واژه‌های کلیدی: آندوکارپ بذر، خواب بذر، زی‌توده، سرعت جوانه‌زنی، لایه‌گذاری.

مقدمه

نانوتکنولوژی علم نوظهوری است که به‌طور روزافزون در تمامی جنبه‌های زندگی انسان‌ها به‌کار گرفته می‌شود. در طول دهه اخیر، این مواد در علوم زیست‌شناسی و کشاورزی نیز مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند (Nel *et al.*, 2013). تأثیر نانومواد بر گیاهان بسته به گیاه، مراحل

Archive of SID
www.SID.ir

رویشی آن، نوع مواد، اندازه ذرات، حلالیت و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانومواد متغیر است (Ma *et al.*, 2010). یکی از نانومواد‌ی که در علوم گیاهی بسیار مورد توجه پژوهشگران می‌باشد، نانولوله‌های کربنی هستند، زیرا ویژگی‌های منحصر به‌فردی مانند ساختار شیمیایی، ابعاد ویژه و انعطاف‌پذیری زیاد دارند (Tiwari *et al.*, 2014). اعتقاد بر این است که نانولوله‌کربن‌ها قادرند ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژی سلول‌های گیاهی را تغییر دهند (Pourkhaloee *et al.*, 2011; Lahiani *et al.*, 2013) و درنهایت سبب تنظیم رشد گیاه و نهال (Khodakovskaya *et al.*, 2012; Haghighi & da Silva, 2014) و نیز افزایش رشد محصول شوند (Nel *et al.*, 2013).

یکی از اثرات مثبت نانولوله‌های کربن در راستای افزایش محصول، بهبود انتقال آب در گیاه است (Fathi *et al.*, 2017). همچنین، حضور نانولوله‌های کربنی می‌تواند موجب جذب بهتر کلسیم و آهن و درنهایت افزایش زی‌توده گیاهی شود (Tiwari *et al.*, 2014). نکته مهم در کاربرد نانومواد این است که چه غلظتی از آن‌ها می‌تواند سبب بیشترین عملکرد در گیاه مورد نظر شود. چه بسا که غلظت‌های زیاد از یک نانومواد نه تنها اثر مثبتی بر گیاه نداشته باشد، بلکه باعث سمی شدن گیاه نیز بشود. مرور منابع علمی نشان می‌دهد که بیشتر پژوهش‌ها در این زمینه در مورد گیاهان علفی بوده است و اطلاعات کمی در رابطه با گیاهان چوبی به‌ویژه در مرحله جوانه‌زنی وجود دارد. به‌تازگی در پژوهش‌های Pazhouhan و همکاران (۲۰۱۶) و Aliyari و همکاران (۲۰۱۶)، اثرات بهبوددهنده پرایمینگ بذر با استفاده از تیمارهای نانولوله کربن بر ارتقا صفات جوانه‌زنی بذر و زی‌توده به‌ترتیب در گیاه مورد (*Myrtus communis*) و برخی سوزنی‌برگان (سرو نقره‌ای، سرو خمره‌ای و کاج سیاه) اثبات شد، بنابراین به‌نظر می‌رسد که می‌توان از ویژگی‌های منحصر به‌فرد نانولوله‌های کربنی به‌منظور افزایش جوانه‌زنی و نیز ارتقاء رشد گونه‌های چوبی و جنگلی نیز استفاده کرد. البته این اثرات باید به‌طور دقیق بررسی شوند.

بارانک لرستانی (*Sorbus luristanica* Bornm.) متعلق به تیره گل‌سرخیان یکی از گونه‌های منحصر به‌فرد و اندمیک ایران است که در مساحت‌های محدود در استان‌های کرمانشاه و لرستان انتشار دارد (Mozaffarian, 2010). کاشت گونه‌های بارانک در عرصه‌های جنگلی مخروبه از نظر تولید بذر فراوان موجب اصلاح و احیای عرصه‌های جنگلی خواهد شد (Kučerová *et al.*, 2010)، اما در رقابت با گونه‌های درختی دیگر به‌ویژه وقتی که تاج‌پوشش جنگل بسته می‌شود، به‌سرعت ضعیف و درنهایت مغلوب می‌شوند (Paganová, 2007). یکی از مشکلات استقرار بارانک تأخیر در جوانه‌زنی بذرها (خواب بذر) است (Espahbodi *et al.*, 2007). بذرهای بارانک، دوره خواب به‌نسبت طولانی دارند که به‌طور معمول با قرارگیری در شرایط مرطوب سرد (استراتیفیته سرد) شکسته می‌شود (Piagnani & Bassi, 2000). مدت استراتیفیته برای گونه‌های مختلف، متفاوت است و از سه تا نه ماه گزارش شده است (Piotto & Di Noi, 2003). یکی از اندک پژوهش‌های انجام‌شده در مورد جوانه‌زنی بارانک در داخل کشور مربوط به پژوهش Esmaeili Sharif و همکاران (۲۰۱۶) در مورد بارانک ایرانی (*Sorbus persica* Hedl.) است. نتایج این پژوهش نشان داد که استراتیفه سرد بهترین روش برای شکست خواب بذر این گونه است، اما خواب فیزیولوژیک آن عمیق است. با توجه به اینکه هیچ‌گونه اطلاعاتی در رابطه با تیمارهای جوانه‌زنی بارانک لرستانی وجود نداشت، در پژوهش پیش‌رو از نانوپرایمینگ با نانولوله‌های کربنی به‌عنوان پیش‌تیمار استفاده شد تا ضمن بررسی صفات جوانه‌زنی این گونه، تأثیر پیش‌تیمارهای نانولوله کربن بر ارتقاء صفات جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌های این گونه اندمیک مطالعه شود.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

بذرهای مورد نیاز در اوایل آبان (زمان رسیدن میوه‌ها) از پایه‌های مادری شاداب و سالم (در حدود ۱۰ پایه) از رویشگاه طبیعی بارانک لرستانی در منطقه گهر شهرستان دورود، استان لرستان، جمع‌آوری شد. پس از انتقال بذرها به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه لرستان، پریکارپ میوه‌ها جداسازی شد. سپس، بذرها درون یخچال و در دمای چهار درجه سانتیگراد نگهداری شد. نانولوله‌کربن‌های چندجداره مورد استفاده در این پژوهش، ساخت ایران (با نام تجاری Neutrino) بودند که از مهم‌ترین مشخصات آن‌ها می‌توان به میانگین ابعاد ۲۰ تا ۳۰ نانومتر، درجه خلوص ۹۵ درصد و چگالی ۲/۱ گرم بر سانتی‌متر مکعب اشاره کرد.

بر اساس پژوهش Esmaeili Sharif و همکاران (۲۰۱۶)، بهترین تیمار برای جوانه‌زنی بارانک ایرانی، لایه‌گذاری در گرما (چینه گرمایی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد) به‌مدت دو هفته و سپس لایه‌گذاری در سرما (چینه سرمایی در دمای یک تا چهار درجه سانتیگراد) به‌مدت حداکثر چهار ماه است. با توجه به شباهت بارانک لرستانی با گونه مذکور، از این تیمار نیز در پژوهش پیش‌رو استفاده شد. به‌منظور بررسی اثر نانومواد بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی این گونه، بذرهای بارانک لرستانی به‌مدت ۲۴ ساعت با غلظت‌های صفر، ۷۵، ۱۵۰، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر از نانولوله‌های کربنی چندجداره پرایم شدند. برای ایجاد سوسپانسیون و جدا کردن ذرات نانو از یکدیگر، محلول‌های مورد نظر ابتدا توسط دستگاه اولتراسونیک همگن شدند (Pazhouhan *et al.*, 2016). سپس، بذرهای تیمارشده در لایه‌ای از ماسه مرطوب الک‌شده و سترون‌شده در درون ظروف پلاستیکی به‌مدت دو هفته در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سانتیگراد) و پس از آن در دمای چهار درجه سانتیگراد در درون یخچال لایه‌گذاری شدند (Naseri & Tabari, 2015). بازدید، رطوبت‌دهی و هوادهی بذرها نیز به‌طور مستمر انجام شد. پس از گذشت حدود سه ماه از شروع لایه‌گذاری سرد و با پیدایش علایم شکست خواب بذرها مانند برجستگی و تورم، بذرهای لایه‌گذاری‌شده از یخچال خارج شدند. پس از کشت هر تیمار در چهار تکرار ۲۵ تایی در پتری‌دیش با استفاده از دو لایه کاغذ صافی، در درون ژرمیناتور (دمای ۱±۲۵ درجه سانتیگراد، نسبت روشنایی به تاریکی، هشت به ۱۶ ساعت، شدت نور ۱۰۰۰ لوکس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد) قرار داده شدند (Huang *et al.*, 2003). معیار شروع آزمایش جوانه‌زنی، ظهور ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر درنظر گرفته شد (Aliyari *et al.*, 2016). شمارش بذرهای جوانه‌زده هر ۲۴ ساعت یک بار، به‌مدت معین انجام گرفت و اطلاعات مربوطه ثبت شد (Ahmadloo *et al.*, 2011). شمارش مذکور تا زمانی که در بیشتر از سه بازدید، جوانه‌زنی جدیدی مشاهده نشد، ادامه یافت (Lafond & Baker, 1986). در این مرحله، پارامترهای درصد جوانه‌زنی (GR)، سرعت جوانه‌زنی (GS) و میانگین زمان جوانه‌زنی (MTG) به‌ترتیب با استفاده از رابطه‌های ۱، ۲ و ۳ محاسبه شدند.

رابطه (۱) $GR= n/N\times100$ (Panwar & Bhardwaj, 2005)

رابطه (۲) $GS= \sum(ni/ti)$ (Panwar & Bhardwaj, 2005)

رابطه (۳) $MTG= \sum (ni.ti) / \sum n$ (Kulkarni *et al.*, 2007)

در رابطه‌های فوق: n و N به‌ترتیب تعداد کل بذرهای جوانه‌زده در طی دوره و تعداد بذرهای کاشته‌شده، ti تعداد روزهای پس از شروع جوانه‌زنی و ni تعداد بذرهای جوانه‌زده در فاصله زمانی مشخص ti است.

Archive of SID

www.SID.ir

پس از اتمام جوانه‌زنی بذرها و ثبت داده‌های مربوطه، پتری‌دیش‌ها تا زمان خروج کامل گیاهچه‌ها از بذرهای جوانه‌زده و رشد آن‌ها که حدود ۱۵ روز طول کشید، در ژرمیناتور نگهداری شدند. پس از پایان این مدت، گیاهچه‌ها از پتری‌دیش‌ها خارج شدند. سپس، پارامترهای رویشی آن‌ها شامل تعداد برگ‌ها، طول ساقه و ریشه به‌وسیله خط‌کش و با دقت میلی‌متر و زی‌توده تر و خشک اندام هوایی و ریشه (پس از قرار دادن در آون در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به‌مدت ۴۸ ساعت) با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت میلی‌گرم اندازه‌گیری شد.

پس از اعمال پیش‌تیمارهای نانوپرایمینگ، از هر تیمار یک عدد بذر به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان انتقال داده شد و سطح خارجی (آندوکارپ) بذرها مطالعه شد. برای این منظور از میکروسکوپ الکترونی مدل FE-SEM ساخت کشور چک استفاده شد و تعدادی تصویر با بزرگ‌نمایی‌های مختلف از آندوکارپ بذرها تهیه شد.

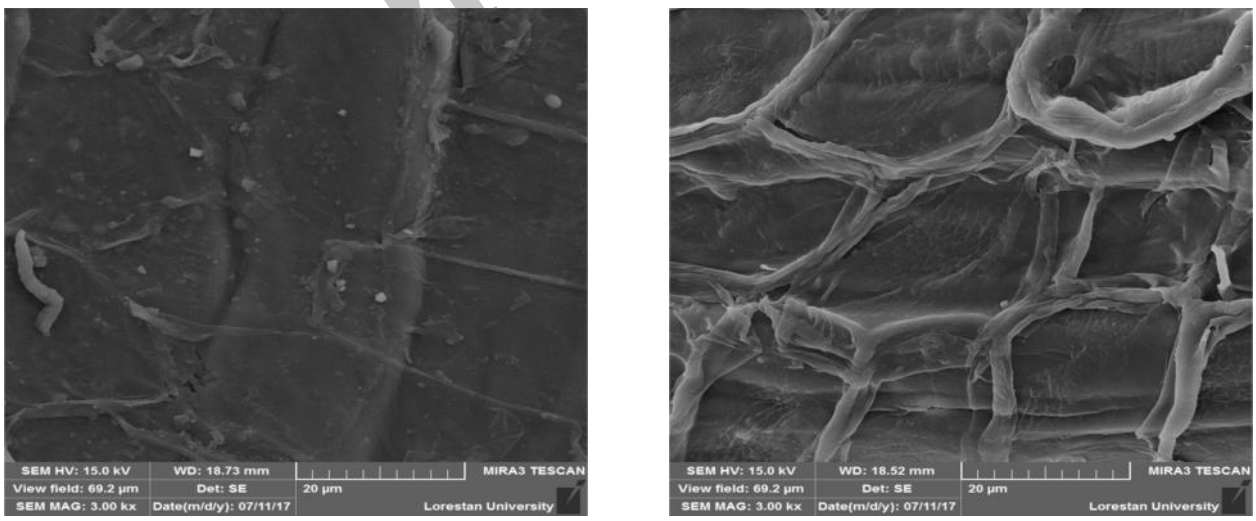
تجزیه و تحلیل آماری

قالب آماری پژوهش، طرح آزمایشی کامل تصادفی بود. به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری ضمن اطمینان از فرضیات همگنی واریانس‌ها و نرمال بودن داده‌ها، از تجزیه واریانس یک‌طرفه در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. همچنین، مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون توکی انجام شد.

نتایج

مطالعات میکروسکوپیک

از آنجایی که در تصاویر تهیه‌شده، تیمارهای نانوپرایمینگ با یکدیگر تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشتند، بنابراین نتایج فقط برای تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار شاهد ارائه شد. مطالعه پوسته خارجی بذر بارانک لرستانی نشان داد که در شرایط کنترل، پرایمینگ با آب مقطر و بدون حضور نانولوله‌های کربن، سطح آندوکارپ بذر دارای برجستگی‌های مشبک به حالت لانه زنبوری است (شکل ۱). در مقابل، بررسی تصاویر تهیه‌شده از بذرهای پیش‌تیمارشده با نانولوله‌های کربن حاکی از تحلیل و کاهش و گاهی اوقات از بین رفتن برجستگی‌های مشبک بود.



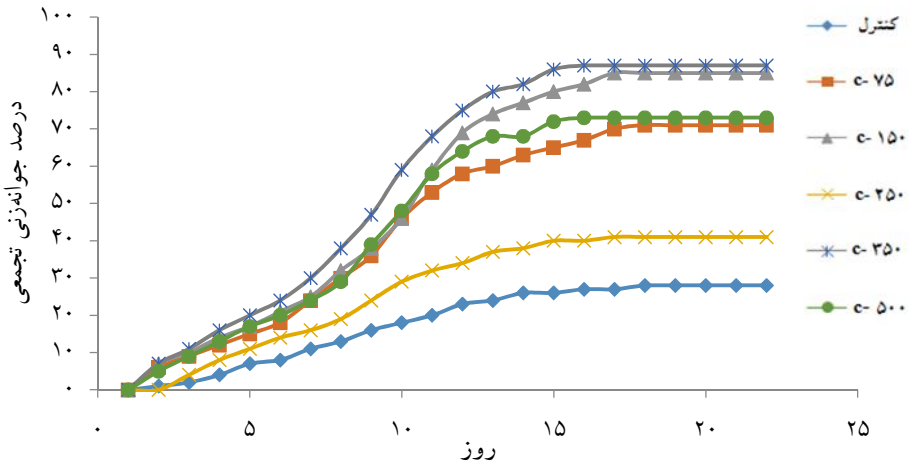
شکل ۱- آندوکارپ بذر بارانک لرستانی (راست: حالت شاهد؛ چپ: تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر از نانولوله‌های کربن)

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی تأثیر تیمارهای نانولوله کربن بر صفات جوانه‌زنی

مقایسه روند جوانه‌زنی بذر بارانک لرستانی در تیمارهای نانولوله کربن در طول آزمایش نشان داد که ضعیف‌ترین روند درصد جوانه‌زنی تجمعی مربوط به بذرهای شاهد بود (شکل ۲). در مقابل، بذرهایی که با غلظت‌های ۳۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تیمار شده بودند، بهترین شرایط جوانه‌زنی را داشتند، به‌طوری که پس از گذشت ۲۲ روز، جوانه‌زنی تجمعی آن‌ها به ۸۰ تا ۹۰ درصد رسید. اگرچه روند درصد جوانه‌زنی تجمعی در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور نسبی از بذرهای شاهد بهتر بود، اما نسبت به بذرهایی که تحت تأثیر غلظت‌های دیگر نانولوله کربن قرار گرفته بودند، این تیمار کمترین درصد جوانه‌زنی را داشت.



شکل ۲- روند درصد جوانه‌زنی تجمعی در بارانک لرستانی پس از پرایمینگ بذر با نانولوله کربن

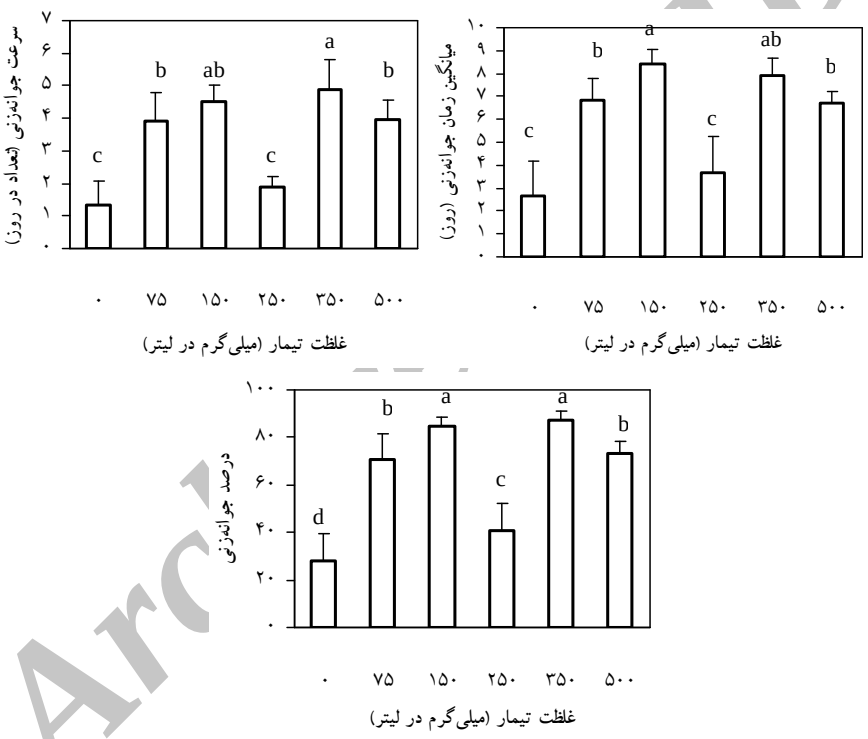
نتایج تجزیه واریانس یک‌طرفه نشان داد که اثر تیمارهای نانولوله کربن با غلظت‌های مختلف بر صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و نیز میانگین زمان جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج آزمون توکی حاکی از آن بود که کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به بذرهای کنترل و در مقابل، بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمارهای ۱۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم نانولوله کربن در لیتر بود. به‌طور کلی، اعمال تیمارهای نانولوله کربن سبب ارتقاء درصد جوانه‌زنی شد، اما تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر در پایین‌ترین رتبه قرار داشت. از نظر درصد جوانه‌زنی، بین تیمارهای ۷۵ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳). نتایج مقایسه میانگین مربوط به سرعت جوانه‌زنی حاکی از آن بود که بیشترین مقدار این صفت متعلق به تیمار ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن مربوط به بذرهای شاهد و تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود. بین تیمارهای دیگر از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳). اگرچه بین بذرهای شاهد و بذرهای تیمارشده با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر از نظر میانگین زمان جوانه‌زنی اختلاف معنی‌دار وجود نداشت، اما به‌طور کلی تیمارهای دیگر باعث افزایش این صفت شدند، به‌طوری‌که بیشترین زمان جوانه‌زنی برای تیمارهای ۱۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم نانولوله کربن در لیتر ثبت شد.

Archive
www.SID.ir

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس یک‌طرفه در رابطه با صفات جوانه‌زنی

صفت	منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
درصد جوانه‌زنی	تیمار	۵	۲۳۴۰	۳۲/۲۰*
	خطا	۱۸	۷۲/۶۷	
سرعت جوانه‌زنی	تیمار	۵	۸/۴۰۰	۱۷/۵۵*
	خطا	۱۸	۰/۴۷۸۷	
زمان جوانه‌زنی	تیمار	۵	۲۱/۷۵	۱۸/۶۹*
	خطا	۱۸	۱/۱۶۴	

* معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد



شکل ۳- تأثیر نانوپرایمینگ بذر بارانک لرستانی با غلظت‌های مختلف از نانولوله‌های کربن

بررسی تأثیر تیمارهای نانولوله کربن بر صفات رشد گیاهچه‌ها

نتایج تجزیه واریانس یک‌طرفه نشان داد که اثر تیمارهای اعمال‌شده بر کلیه صفات رشد و زی‌توده در گیاهچه‌های بارانک لرستانی معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج آزمون توکی حاکی از آن بود که اگرچه تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، بیشترین تعداد برگ را داشت، اما اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین سایر تیمارها با شاهد مشاهده نشد (شکل ۴). بیشترین طول ریشه مربوط به تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود، در حالی‌که بین تیمارهای دیگر تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. همچنین، تیمارهای ۱۵۰، ۳۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با تیمار شاهد سبب افزایش طول ساقه در گیاهچه‌های بارانک لرستانی شدند،

Archive of SID

www.SID.ir

در حالی‌که تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان ندادند. طول کل گیاه در پاسخ به تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم به‌طور قابل توجهی افزایش داشت، در حالی‌که بین تیمارهای دیگر با گیاهچه‌های شاهد اختلاف آماری ثبت نشد (شکل ۴). از نظر این صفت، بین دو تیمار ۵۰۰ و ۱۵۰ نیز تفاوت معنی‌دار وجود نداشت.

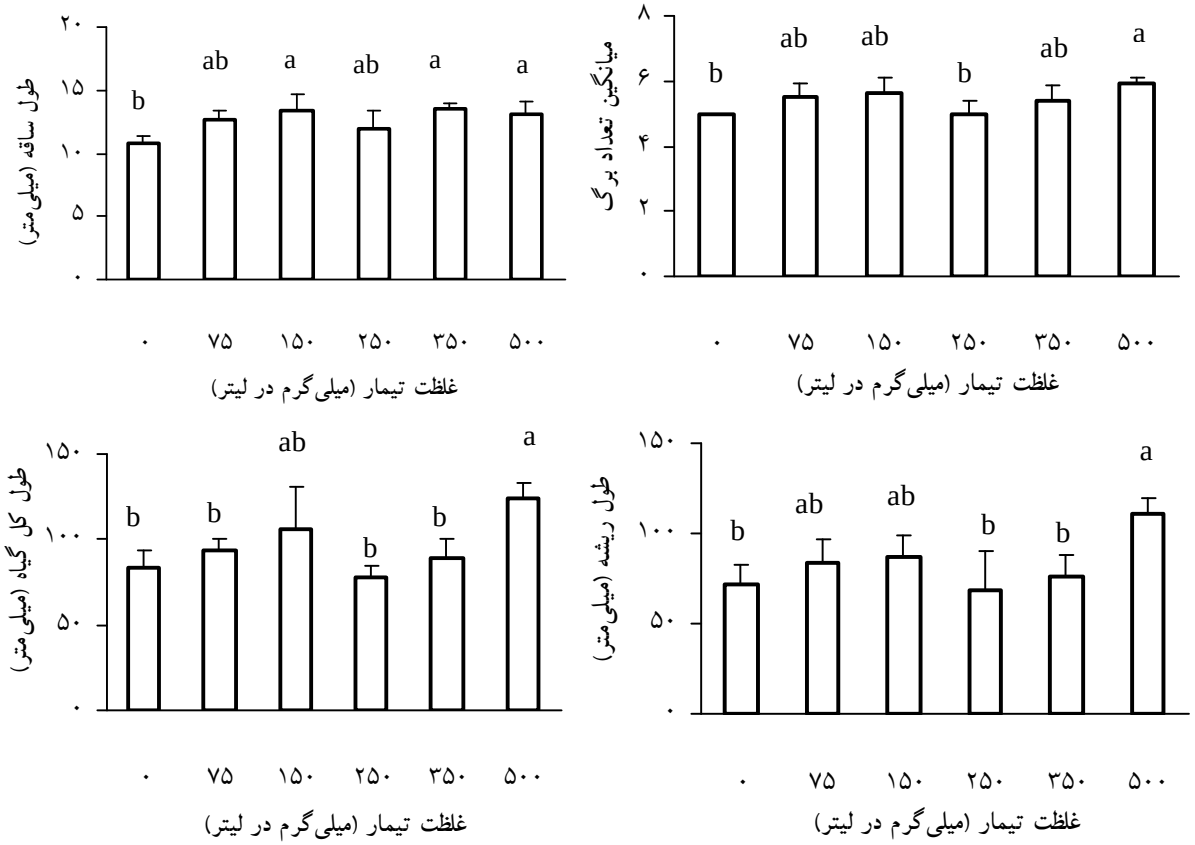
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس یک‌طرفه در رابطه با صفات رشد زی‌توده

صفت	منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
تعداد برگ	تیمار	۵	۰/۵۱۹	۴/۰۲۱*
	خطا	۱۸	۰/۱۲۹	
طول ریشه	تیمار	۵	۹۲۹/۳۵۵	۵/۲۵۴**
	خطا	۱۸	۱۷۶/۸۹۵	
طول ساقه	تیمار	۵	۴/۵۲۶	۴/۳۹۵**
	خطا	۱۸	۱/۰۳	
طول کل	تیمار	۵	۱۱۳۲/۶۲	۶/۶۵۳**
	خطا	۱۸	۱۷۰/۲۳۵	
زی‌توده تر برگ	تیمار	۵	۶۸۰/۱۹۶	۵/۳۷۳**
	خطا	۱۸	۱۲۶/۵۹۵	
زی‌توده تر ساقه	تیمار	۵	۸/۴۳۶	۵/۹۵۸**
	خطا	۱۸	۱/۴۱۶	
زی‌توده تر ریشه	تیمار	۵	۱۶۰/۷۲۸	۵/۸۷۷**
	خطا	۱۸	۲۷/۳۵	
زی‌توده خشک برگ	تیمار	۵	۳۸/۹۷۵	۳/۳۹۳*
	خطا	۱۸	۱۱/۴۸۶	
زی‌توده خشک ساقه	تیمار	۵	۰/۴۳۵	۴/۷۳۲**
	خطا	۱۸	۰/۰۹۲	
زی‌توده خشک ریشه	تیمار	۵	۳/۸۶۷	۵/۷۸۶**
	خطا	۱۸	۰/۶۶۸	
زی‌توده تر کل	تیمار	۵	۱۲۶۲/۱۴	۵/۳۹۹**
	خطا	۱۸	۲۳۳/۷۸۷	
زی‌توده خشک کل	تیمار	۵	۵۰/۸۷۱	۷/۸۸**
	خطا	۱۸	۶/۴۵۶	

** معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد؛ * معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد

Archive of SID

www.SID.ir

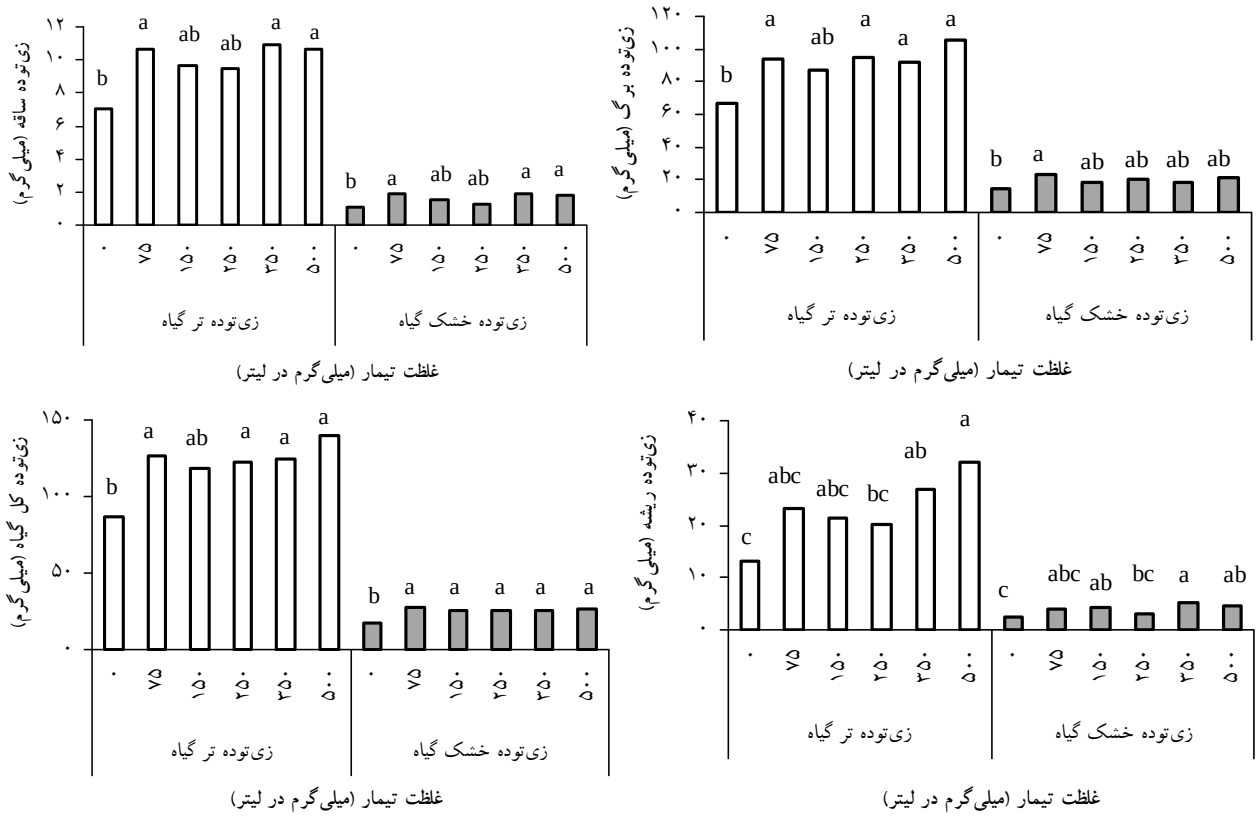


شکل ۴- تأثیر نانوپرایمینگ بذر بارانک لرستانی با غلظت‌های مختلف از نانولوله‌های کربن چندجداره بر صفات رشد گیاهچه‌های آن

بیشترین میانگین زی‌توده تر و خشک ریشه به‌ترتیب در تیمارهای ۵۰۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. اگرچه تیمارهای ۷۵، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش معنی‌دار زی‌توده تر و خشک ریشه در مقایسه با شاهد شدند، اما اختلاف بین تیمارهای مذکور معنی‌دار نبود. در نگاه کلی، با افزایش غلظت تیمارهای نانولوله کربن، زی‌توده خشک ریشه و زی‌توده تر آن به‌طور معنی‌داری افزایش داشت. اگرچه تمام تیمارهای اعمال‌شده سبب افزایش زی‌توده تر و خشک ساقه شدند، اما تیمارهای ۷۵، ۳۵۰ و ۵۰۰ بیشترین عملکرد را داشتند (شکل ۵). طبق نتایج آزمون توکی، بیشترین زی‌توده تر و خشک برگ به‌ترتیب در تیمارهای ۵۰۰ و ۷۵ ثبت شد. همچنین، کمترین زی‌توده برگ در تیمار شاهد مشاهده شد. به‌طور کلی، تمام تیمارها سبب افزایش زی‌توده برگ شدند. کمترین مقدار زی‌توده کل تر و خشک متعلق به گیاهچه‌های شاهد بودند، در حالی‌که همه تیمارها (به‌جز زی‌توده تر در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش معنی‌دار رشد کل گیاه شدند (شکل ۶).

Archive

www.SID.ir



شکل ۵- تأثیر نانوپرایمینگ بذر بارانک لرستانی با غلظت‌های مختلف بر زی‌توده اندام‌های گیاهچه‌های آن

شکل ۶- تأثیر نانوپرایمینگ بذر بارانک لرستانی با غلظت‌های مختلف بر زی‌توده کل گیاهچه‌های آن

بحث

جوانه‌زنی بذر یکی از مراحل حیاتی گیاه است که به‌نوعی در این مرحله، فرایندهای متابولیکی گیاهان آغاز می‌شود (Almasouri *et al.*, 2001). اعتقاد بر این است که نانولوله کربن‌ها می‌توانند به‌واسطه عبور از پوسته بذر (Pourkhaloee *et al.*, 2011) ورود رطوبت را به داخل بذر

www.SID.ir

آسان کرده و از این طریق، سبب افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها شوند (Kole *et al.*, 2013). در پژوهش پیش‌رو، تأثیر پیش‌تیمارهای نانولوله کربن بر صفات جوانه‌زنی گونه اندمیک بارانک لرستانی بررسی شد. بررسی پوسته خارجی بذرهای پیش‌تیمارشده نشان داد که پرایم بذرها با نانولوله کربن به‌نحوی سبب تحلیل برجستگی‌های سطح خارجی بذر شد. این یافته در مقایسه بین بذرهای شاهد و بذرهای پیش‌تیمارشده با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم نانولوله کربن در لیتر به‌طور واضح مشهود بود. بدون شک با نفوذپذیری آندوکارپ، راه ورود رطوبت و هوا فراهم می‌شود و از این طریق، جوانه‌زنی آغاز می‌شود. حضور پراکنده نانولوله کربن‌ها بر پوسته خارجی بذر نیز مشاهده شد که نشان‌دهنده قدرت چسبندگی این نانولوله کربن‌ها است، بنابراین می‌توان گفت که پرایمینگ بذرهای این گونه سبب تحلیل ضخامت پوسته، اتصال به سطح خارجی و درنهایت تسهیل نفوذ آب به داخل پوسته بذر شد. پیش از این، نفوذ نانولوله کربن‌ها به داخل بذر گونه‌های دیگر مانند گندم، ذرت، سیر و بادام‌زمینی گزارش شده بود (Srivastava & Rao, 2014). قدرت نفوذپذیری نانولوله‌های کربن در نفوذ به داخل سلول گیاهی نیز تأکید شده است (Li *et al.*, 2009) که این یافته‌ها نشان‌دهنده قدرت نفوذ زیاد این نانومواد است.

بررسی روند جوانه‌زنی بذرهای تیمارشده نشان داد که بهترین روند جوانه‌زنی مربوط به تیمارهای ۳۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود که پس از گذشت ۲۰ روز به حدود ۹۰ درصد رسید، در حالی‌که ضعیف‌ترین روند جوانه‌زنی در تیمار شاهد ثبت شد. دو تیمار پرایمینگ ۳۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب ارتقاء حدود ۶۵ درصد جوانه‌زنی بارانک لرستانی در مقایسه با بذرهای شاهد شدند و به‌عنوان مؤثرترین تیمارها انتخاب شدند. همچنین، از نظر دو عامل دیگر جوانه‌زنی (سرعت و میانگین زمان جوانه‌زنی) این دو تیمار نسبت به تیمارهای دیگر، بیشترین تأثیر مثبت را نشان دادند. نکته حایز اهمیت این است که اگرچه تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب ارتقاء صفات جوانه‌زنی این گونه شد، اما از نظر درصد و سرعت جوانه‌زنی، تیمار ۳۵۰ همواره به‌طور معنی‌داری برتر از تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود، بنابراین به‌نظر می‌رسد در مرحله جوانه‌زنی مؤثرترین تیمار، تیمار نانوپرایمینگ با غلظت ۳۵۰ و پس از آن، تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود. در پژوهش‌های انجام‌شده، اثرات مثبت نانولوله‌های کربنی در افزایش جوانه‌زنی گیاهانی مانند گوجه‌فرنگی (Khodakovskaya *et al.*, 2009; Haghighi & da Silva, 2014)، برنج (Jiang *et al.*, 2014) و جو (Lahiani *et al.*, 2013) نیز گزارش شده است. همچنین، اثرات مثبت این نانومواد بر جوانه‌زنی تعداد محدودی از گونه‌های جنگلی مانند مورد (Pazhouhan *et al.*, 2016) و کاج سیاه، سرو نقره‌ای و خمره‌ای (Aliyari *et al.*, 2016) نیز تأیید شده است. باید به این نکته توجه شود که هنوز مکانیسم‌های اثر متقابل نانولوله کربن‌ها و بذر گیاهان ناشناخته است و هرگونه تغییری در جوانه‌زنی بر اثر استفاده از این نانومواد نشان‌دهنده ورود، جابه‌جایی و درنهایت اثرگذاری آن‌ها است، اما نکته‌ای که بیشتر پژوهشگران بر آن تأکید دارند این است که به‌واسطه نفوذ نانولوله‌های کربن در پوسته بذرها، مسیر ورود رطوبت فراهم می‌شود و درصد جوانه‌زنی افزایش می‌یابد (Fathi *et al.*, 2017).

به‌منظور درک بیشتر تأثیر پیش‌تیمارهای نانولوله کربن بر بیولوژی گیاه بارانک لرستانی، گیاهچه‌های رشدیافته از بذرهای پیش‌تیمارشده از نظر صفات رشد نیز ارزیابی شدند. از این نظر، اگرچه برخی از افزایش‌های معنی‌دار مشاهده شد، اما نکته قابل توجه، افزایش طول ریشه و درنهایت طول کل گیاهچه در بذرهایی بود که پیش از آن با نانولوله کربن با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر پرایم شده بودند. نکته حایز اهمیت این است که تأثیر این پیش‌تیمارها بر طول ساقه گیاه به اندازه تغییرات طول ریشه قابل ملاحظه نبود. مقایسه رشد و زی‌توده گیاهچه‌ها نشان داد که تمام تیمارها سبب افزایش زی‌توده تر و خشک در مقایسه با بذرهای شاهد شدند، اما زی‌توده ریشه گیاهچه‌ها بیشترین تغییرات را داشت، به‌طوری‌که برخی تیمارها سبب افزایش تا دو برابر زی‌توده ریشه در مقایسه با بذرهای شاهد شدند. به‌نظر می‌رسد که تخصیص بیشتر زی‌توده در ریشه یکی از اثرات بهبوددهنده

Archive of SID

www.SID.ir

تیمارهای نانولوله کربن باشد. بدون شک افزایش طول ریشه و همچنین افزایش زی‌توده آن می‌تواند شرایط را برای جذب بیشتر رطوبت توسط گیاه فراهم کند که این مهم به‌واسطه حضور نانولوله کربن برای گیاهچه‌های بارانک لرستانی فراهم شد. البته پیش از این نیز اثرات نانولوله کربن بر جذب رطوبت بیشتر گزارش شده بود (Khodakovskaya *et al.*, 2009; Ghodake *et al.*, 2010).

یافته‌های این پژوهش ضمن تأیید اثرات مثبت نانوپرایمینگ بذر بارانک لرستانی بر صفات جوانه‌زنی نشان داد که کاهش ضخامت پوسته و نفوذ نانولوله‌ها در بذر و درنهایت ایجاد خلل و فرج برای ورود رطوبت و هوا، یکی از مکانیسم‌های احتمالی است. از سوی دیگر، افزایش رشد طولی ریشه و جذب بیشتر آب در گیاهچه‌ها نیز از اثرات مثبت دیگر این پیش‌تیمارها بود که این دو مهم برای استقرار هر چه بهتر گیاه حایز اهمیت هستند. در انتها می‌توان استفاده از غلظت‌های ۳۵۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر را برای این گونه پیشنهاد داد، اما برای تصمیم‌گیری قطعی‌تر و استفاده از تیمارهای نانولوله کربن در کارهای اجرایی، مطالعات تکمیلی لازم است.

References

- Ahmadloo, F., Tabari, M., Rahmani, A. and Yousefzadeh, H., 2011. Effect of cattle manure and decomposed litter to improve germination and survival of *Cupressus arizonica* and *C. sempervirens* var. *horizontalis* in nursery. Journal of Forest and Wood Products, 63(4): 317-330 (In Persian).
- Aliyari, F., Soltani, A. and Zarafshar, M., 2016. Germination model for Arizona cypress (*Cupressus arizonica*) in response to temperature and drought stress. Iranian Journal of Seed Research, 2(2): 113-121 (In Persian).
- Almasouri, M., Kinet, J.M. and Lutts, S., 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Plant and Soil, 231(2): 243-254.
- Esmaeili Sharif, M., Hosseini Nasr, S.M., Ghamari Zare, A. and Talebi, M., 2016. Appropriate methods for breaking seed dormancy of Iranian mountain ash (*Sorbus persica* Hedl.). Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 23(4): 694-706 (In Persian).
- Espahbodi, K., Hosseini, S.M., Mirzaie-Nodoushan, H., Tabari, M., Akbarinia, M. and Dehghan-Shooraki, Y., 2007. Tree age effects on seed germination in *Sorbus torminalis*. General and Applied Plant Physiology, 33(1-2): 107-119.
- Fathi, Z., Khavari Nejad, R.A., Mahmoodzadeh, H. and Nejad Satari, T., 2017. Investigating of a wide range of concentrations of multi-walled carbon nanotubes on germination and growth of castor seeds (*Ricinus communis* L.). Journal of Plant Production Research, 57(3): 228-236.
- Ghodake, G., Seo, Y.D., Park, D. and Lee, D.S., 2010. Phytotoxicity of carbon nanotubes assessed by *Brassica juncea* and *Phaseolus mungo*. Journal of Nanoelectronics and Optoelectronics, 5(2): 157-160.
- 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.
- Huang, Z., Zhang, X., Zheng, G. and Gutterman, Y., 2003. Influence of light, temperature, salinity and storage on seed germination of *Haloxylon ammodendron*. Journal of Arid Environments, 55(3): 453-464.
- Jiang, Y., Hua, Z., Zhao, Y., Liu, Q., Wang, F. and Zhang, Q., 2014. The effect of carbon nanotubes on rice seed germination and root growth. In: Zhang, T.C., Ouyang, P., Kaplan, S., Skarnes, B. (Eds.) Proceedings of the 2012 International Conference on Applied Biotechnology (ICAB 2012). Lecture Notes in Electrical Engineering, Vol. 250. Springer, Berlin, Heidelberg, 615p.
- Khodakovskaya, M.V., de Silva, K., Biris, A.S., Dervishi, E. and Villagarcia, H., 2012. Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. ACS Nano, 6(3): 2128-2135.
- Khodakovskaya, M.V., 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. ACS Nano, 3(10): 3221-3227.
- Kole, C., Kole, P., Randunu, K.M., Choudhary, P., Podila, R., Ke, P.C., Rao, A.M. and Marcus, R.K., 2013. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (*Momordica charantia*). BMC Biotechnology, 13: 1-10.
- Kučerová, V., Honec, M., Paule, L., Zhelev, P. and Gömöry, D., 2010. Genetic differentiation of *Sorbus*

Archive of SID

www.SID.ir

- Paganová, V., 2007. Ecology and distribution of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. in Slovakia. Horticultural Science, 34(4): 138-151.
- Panwar, P. and Bhardwaj, S.D., 2005. Handbook of Practical Forestry. Agrobios, Jodhpur, 191p.
- Pazhouhan, I., Jalali, S.Gh.A., Atabati, H., Zarafshar, M. and Sattarian, A., 2016. Comparison of carbon nanotubes with chemical and physical treatments to break seed dormancy of *Myrtus communis* L. Journal of Plant Researches, 29(2): 300-308 (In Persian).
- Piagnani, C. and Bassi, D., 2000. In vivo and in vitro propagation of *Sorbus* spp. from juvenile material. Italus Hortus, 7(5): 3-7.
- Piotto, B. and Di Noi, A., 2003. Seed Propagation of Mediterranean Trees and Shrubs. Agency for the Protection of Environment and for Technical Services (APAT), Roma, 108p.
- Pourkhaloee, A., Haghighi, M., Saharkhiz, M.J., Jouzi, H. and Doroodmand, M.M., 2011. Carbon nanotubes can promote seed germination via seed coat penetration. Seed Technology, 33(2): 155-169.
- Srivastava, A. and Rao, D.P., 2014. Enhancement of seed germination and plant growth of wheat, maize, peanut and garlic using multiwalled carbon nanotubes. European Chemical Bulletin, 3(5): 502-504.
- Tiwari, D.K., Dasgupta-Schubert, N., Villaseñor Cendejas, L.M., Villegas, J., Carreto Montoya, L. and Borjas García, S.E., 2014. Interfacing carbon nanotubes (CNT) with plants: enhancement of growth, water and ionic nutrient uptake in maize (*Zea mays*) and implications for nanoagriculture. Applied Nanoscience, 4(5): 577-591.

torminalis in Eastern Europe as determined by microsatellite markers. Biologia, 65(5): 817-821.
- Kulkarni, M.G., Street, R.A. and Van Staden, J., 2007. Germination and seedling growth requirements for propagation of *Diosscorea dregeana* (Kunth) Dur. and Schinz - A tuberous medicinal plant. South African Journal of Botany, 73(1): 131-137.
- Lafond, G.P. and Baker, R.J., 1986. Effects of temperature, moisture stress, and seed size on germination of nine spring wheat cultivars. Crop Science, 26(3): 563-567.
- Lahiani, M.H., Dervishi, E., Chen, J., Nima, Z., Gaume, A., Biris, A.S. and Khodakovskaya, M.V., 2013. Impact of carbon nanotube exposure to seeds of valuable crops. ACS Applied Materials and Interfaces, 5(16): 7965-7973.
- Li, 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.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y. and Kolmakov, A., 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. Science of the Total Environment, 408(16): 3053-3061.
- Mozaffarian, V., 2010. Trees and Shrubs of Iran. Farhang-e Moaser, Tehran, 991p (In Persian).
- Naseri, B. and Tabari, M., 2015. Effects of GA3 and stratification on seed germination of field maple (*Acer campestre* L.). Journal of Forest and Wood Products, 68(2): 419- 428 (In Persian).
- Nel, A., Xia, T., Meng, H., Wang, X., Lin, S., Ji, Z. and Zhang, H., 2013. Nanomaterial toxicity testing in the 21st century: use of a predictive toxicological approach and high-throughput screening. Accounts of Chemical Research, 46(3): 607-621.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of Seed Nano-priming with Multiwall Carbon Nanotubes (MWCNT) on seed germination and seedlings growth parameters of mountain ash (*Sorbus luristanica* Bornm.)

S.V. Sayedena [1], B. Pilehvar [2*], K. Abrari-Vajari [3], M. Zarafshar [4] and H.R. Eisvand [5]

1- Ph.D. Student of Silviculture and Forest Ecology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorram Abad, Iran
2*- Corresponding author, Associate Prof., Department of Forestry, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khoram Abad, Iran. E-mail: pilehvar.b@lu.ac.ir
3- Assistant Prof., Department of Forestry, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khoram Abad, Iran
4- Assistant Prof., Research Division of Natural Resources, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran
5- Associate Prof., Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khoram Abad, Iran

Received: 16.01.2018 Accepted: 01.04.2018

Abstract

A comprehensive study on breaking dormancy of mountain ash (*Sorbus luristanica* Bornm.) endemic species is still lacking. Here, the high efficient potentials of multiwall carbon nanotubes were used to break seed dormancy and improve seed germination in mountain ash. First, the seeds were primed with different concentrations of the nano-material including 0, 75, 150, 250, 350 and 500 mg l^{-1} during 24 hours. Then warm (two weeks) and cold (three or four months) stratifications were performed. The results showed that the seeds require cold stratification for at least 3 months. After the cold stratification period, the seeds were transferred to petri dishes in germinator. Daily seed germinations were recorded during 22 days. Eventually seed germination parameters such as seed germination percent, germination speed as well as mean germination time were calculated and compared. To understand the effects of nano-materials on the seedlings from different treatments, the subsequent growth of seeds was studied. The results revealed that all germination parameters were improved by 350 mg l^{-1} treatment. The microscopic seed observations showed that the nano-priming treatments led to seed endocarp abrasion and increased oxygen and moisture infiltration into seeds. Increasing root height growth was associated with the most considerable effects of treatments. Conclusively, it seems that increase in seedling moisture is one of the functional mechanisms of the MWCNT.

Keywords: Biomass, germination speed, germinator, seed dormancy, seed endocarp, stratification.

Archive of SID

www.SID.ir