

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 میکروسکوپی حاکم 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 سازکارهای عملکردی این نانولوله کربن‌های چندجداره باشد.

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

مقدمه

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

نانوتکنولوژی علم نوظهوری است که به‌طور روزافزون در تمامی جنبه‌های زندگی انسان‌ها به‌کار گرفته می‌شود. در

جنگلی نیز استفاده کرد. البته این اثرات باید به طور دقیق بررسی شوند.

بارانک لرستانی (*Sorbus luristanica* Bornm.) متعلق به تیره گل سرخیان یکی از گونه‌های منحصر به فرد 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 (Ku erová *et al.*, 2010)، اما در رقابت با گونه‌های درختی دیگر به ویژه وقتی که تاج پوشش جنگل بسته می‌شود، به سرعت ضعیف و در نهایت مغلوب می‌شوند (Paganová, 2007). یکی از مشکلات استقرار بارانک تأخیر در جوانه‌زنی بذرها (خواب بذر) است (Espahbodi *et al.*, 2007). بذرها بارانک، دوره خواب به نسبت طولانی دارند که به طور 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 انجام شده 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 هیچ گونه اطلاعاتی در رابطه با تیمارهای جوانه‌زنی بارانک لرستانی وجود نداشت، در پژوهش پیش‌رو از نانوپرایمینگ با نانولوله‌های کربنی به عنوان 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.

رویشی آن، نوع مواد، اندازه ذرات، حلالیت و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانومواد متغیر است (Ma *et al.*, 2010). یکی از نانومواد که در علوم گیاهی بسیار مورد توجه پژوهشگران می‌باشد، نانولوله‌های کربنی هستند، زیرا ویژگی‌های منحصر به فردی 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 در نهایت سبب تنظیم رشد گیاه و نهال (Khodakovskaya *et al.*, 2012; Haghghi & 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 در نهایت 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 به ویژه در مرحله جوانه‌زنی وجود دارد. به تازگی 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 به ترتیب در گیاه مورد (*Myrtus communis*) و برخی سوزنی‌برگان (سرو نقره‌ای، سرو خمره‌ای و کاج سیاه) اثبات شد، بنابراین به نظر می‌رسد که می‌توان از ویژگی‌های منحصر به فرد نانولوله‌های کربنی به منظور افزایش جوانه‌زنی و نیز ارتقاء رشد گونه‌های چوبی و

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، بذرهای درون یخچال و در دمای چهار درجه سانتیگراد نگهداری شد. نانولوله کربن‌های 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) به مدت دو هفته و سپس لایه‌گذاری در سرما (چینه سرمایی در دمای یک تا چهار درجه سانتیگراد) به مدت حداکثر چهار ماه است. با توجه به شباهت بارانک لرستانی با گونه مذکور، از این تیمار نیز در پژوهش پیش‌رو استفاده شد. به منظور بررسی اثر نانومواد بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی این گونه، بذرهای بارانک لرستانی به مدت 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 تیمار شده در لایه‌ای از ماسه مرطوب الک‌شده و سترون‌شده در درون ظروف پلاستیکی به مدت 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 علائم شکست خواب بذرها مانند برجستگی و تورم، بذرهای لایه‌گذاری شده 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 25 ± 1 درجه سانتیگراد، نسبت روشنایی به تاریکی، هشت به ۱۶ ساعت، شدت نور ۱۰۰۰ لوکس و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد) قرار داده شدند (Huang *et al.*, 2003). معیار شروع آزمایش جوانه‌زنی، ظهور ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر در نظر گرفته شد (Aliyari *et al.*, 2016). شمارش بذرهای جوانه‌زده هر ۲۴ ساعت یک بار، به مدت 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) به ترتیب با استفاده از رابطه‌های ۱، ۲ و ۳ محاسبه شدند.

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{GR} = \frac{n}{N} \times 100 \quad (\text{Panwar \& Bhardwaj, 2005})$$

$$\text{رابطه (۲)} \quad \text{GS} = \frac{ni}{ti} \quad (\text{Panwar \& Bhardwaj, 2005})$$

$$\text{رابطه (۳)} \quad \text{MTG} = \frac{ni \cdot ti}{n} \quad (\text{Kulkarni et al., 2007})$$

روزهای پس از شروع جوانه‌زنی و ni تعداد بذرهای جوانه‌زده در فاصله زمانی مشخص ti است.

در رابطه‌های فوق: n و N به ترتیب تعداد کل بذرهای جوانه‌زده در طی دوره و تعداد بذرهای کاشته شده، ti تعداد

بود. به منظور تجزیه و تحلیل آماری ضمن اطمینان از فرضیات همگنی واریانس‌ها و نرمال بودن داده‌ها، از تجزیه واریانس یک طرفه در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. همچنین، مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون توکی انجام شد.

نتایج

مطالعات میکروسکوپی

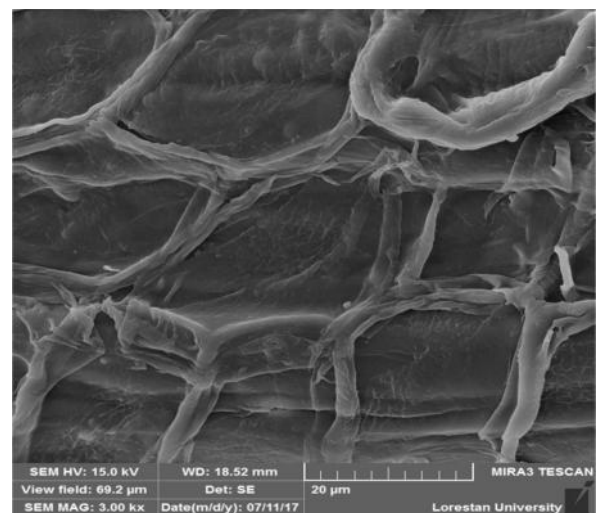
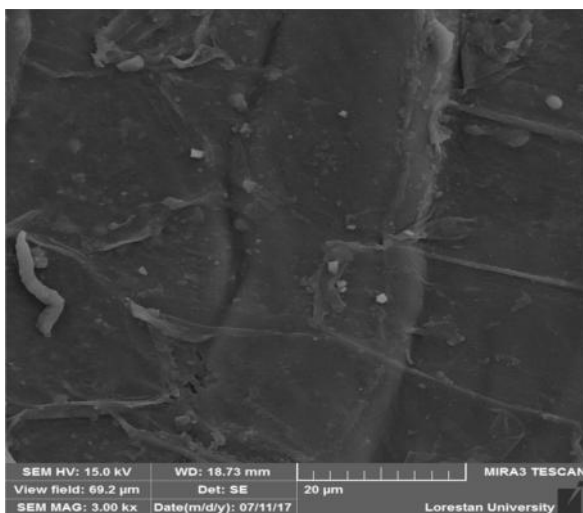
از آنجایی که در تصاویر تهیه شده، تیمارهای نانوپرایمینگ با یکدیگر تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشتند، بنابراین نتایج فقط برای تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار شاهد ارائه شد. مطالعه پوسته خارجی بذر بارانک لرستانی نشان داد که در شرایط کنترل، پرایمینگ با آب مقطر و بدون حضور نانولوله‌های کربن، سطح آندوکارپ بذر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

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 به وسیله 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 به مدت 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

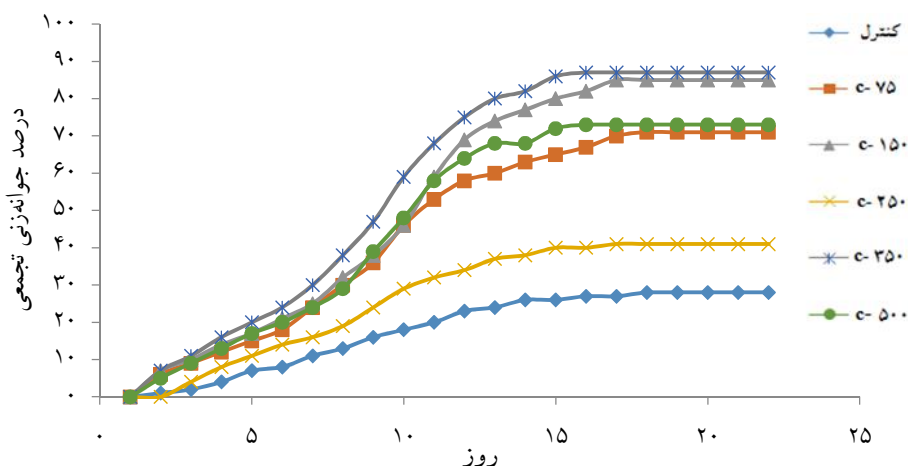
قالب آماری پژوهش، طرح آزمایشی کامل تصادفی



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

را داشتند، به طوری که پس از گذشت ۲۲ روز، جوانه زنی جمعی آن‌ها به ۸۰ تا ۹۰ درصد رسید. اگرچه روند درصد جوانه زنی جمعی در تیمار ۲۵۰ میلی گرم در لیتر به طور نسبی از بذرهای شاهد بهتر بود، اما نسبت به بذرهایی که تحت تأثیر غلظت‌های دیگر نانولوله کربن قرار گرفته بودند، این تیمار کمترین درصد جوانه زنی را داشت.

بررسی تأثیر تیمارهای نانولوله کربن بر صفات جوانه زنی مقایسه روند جوانه زنی بذر بارانک لرستانی در تیمارهای نانولوله کربن در طول آزمایش نشان داد که ضعیف‌ترین روند درصد جوانه زنی جمعی مربوط به بذرهای شاهد بود (شکل ۲). در مقابل، بذرهایی که با غلظت‌های ۳۵۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر تیمار شده بودند، بهترین شرایط جوانه زنی



شکل ۲- روند درصد جوانه زنی جمعی در بارانک لرستانی پس از پرایمینگ بذر با نانولوله کربن

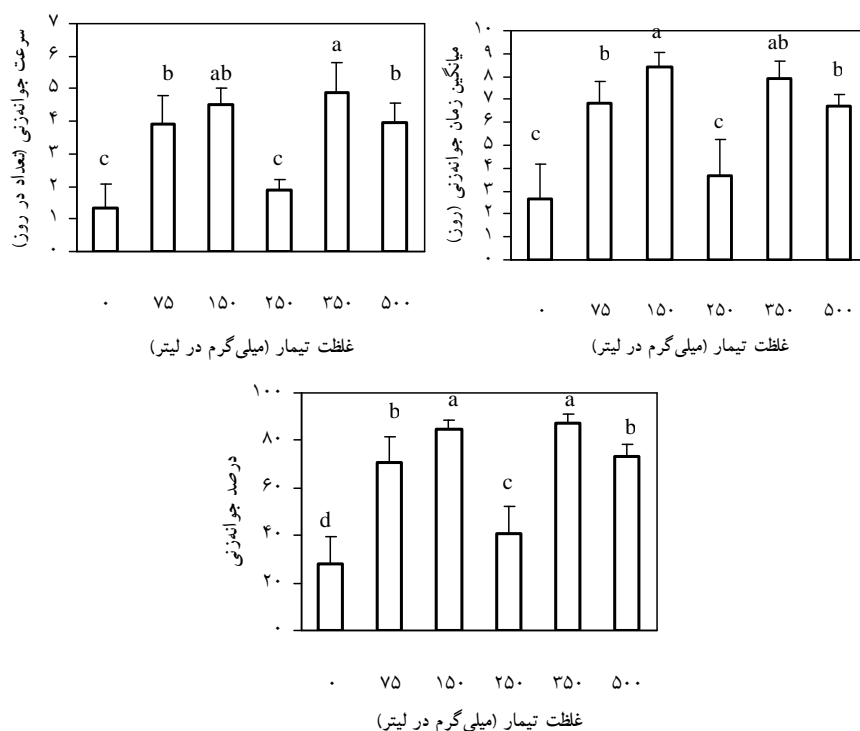
مقایسه میانگین مربوط به سرعت جوانه زنی حاکی از آن بود که بیشترین مقدار این صفت متعلق به تیمار ۳۵۰ میلی گرم در لیتر و کمترین آن مربوط به بذرهای شاهد و تیمار ۲۵۰ میلی گرم در لیتر بود. بین تیمارهای دیگر از نظر این صفت اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۳). اگرچه بین بذرهای شاهد و بذرهای تیمار شده با غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر از نظر میانگین زمان جوانه زنی اختلاف معنی دار وجود نداشت، اما به طور کلی تیمارهای دیگر باعث افزایش این صفت شدند، به طوری که بیشترین زمان جوانه زنی برای تیمارهای ۱۵۰ و ۳۵۰ میلی گرم نانولوله کربن در لیتر ثبت شد.

نتایج تجزیه واریانس یک طرفه نشان داد که اثر تیمارهای نانولوله کربن با غلظت‌های مختلف بر صفات درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و نیز میانگین زمان جوانه زنی معنی دار بود (جدول ۱). نتایج آزمون توکی حاکی از آن بود که کمترین درصد جوانه زنی مربوط به بذرهای کنترل و در مقابل، بیشترین درصد جوانه زنی مربوط به تیمارهای ۱۵۰ و ۳۵۰ میلی گرم نانولوله کربن در لیتر بود. به طور کلی، اعمال تیمارهای نانولوله کربن سبب ارتقاء درصد جوانه زنی شد، اما تیمار ۲۵۰ میلی گرم در لیتر در پایین‌ترین رتبه قرار داشت. از نظر درصد جوانه زنی، بین تیمارهای ۷۵ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۳). نتایج

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس یک طرفه در رابطه با صفات جوانه‌زنی

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

* معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد



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

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،

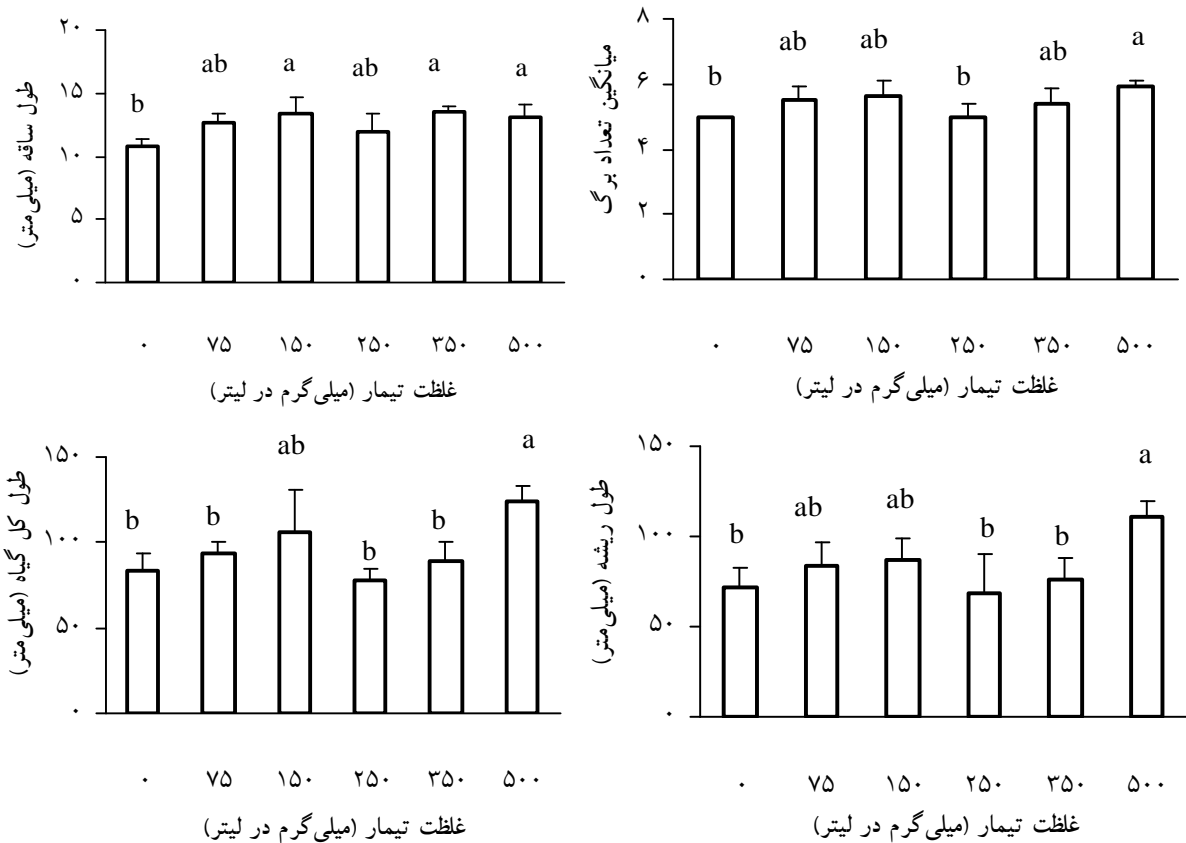
بررسی تأثیر تیمارهای نانولوله کربن بر صفات رشد گیاهچه‌ها نتایج تجزیه واریانس یک طرفه نشان داد که اثر تیمارهای اعمال شده بر کلیه صفات رشد و زی‌توده در گیاهچه‌های بارانک لرستانی معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج آزمون توکی حاکی از آن بود که اگرچه تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، بیشترین تعداد برگ را داشت، اما اختلاف قابل

در حالی که تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان ندادند. طول کل گیاه در پاسخ به تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم به‌طور قابل توجهی افزایش داشت، در حالی که 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 زی توده

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

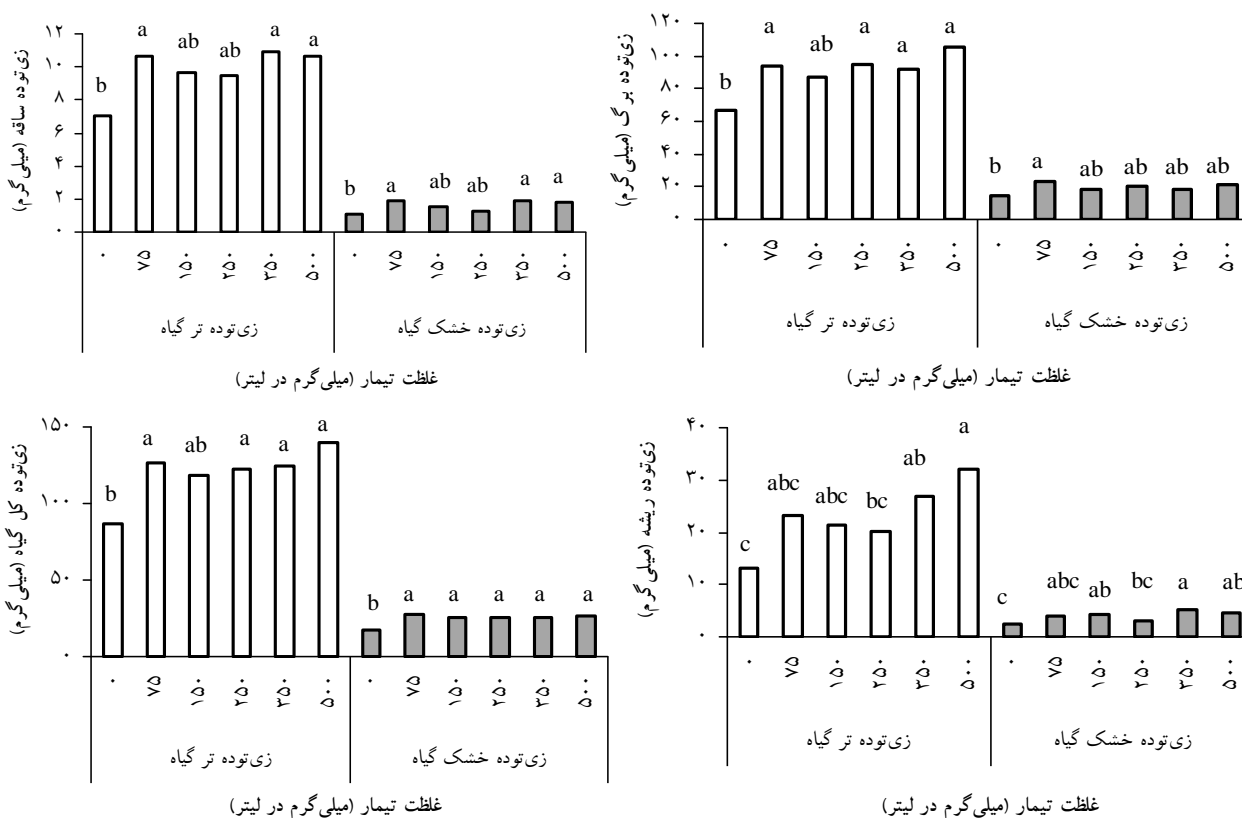
** معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد؛ * معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد



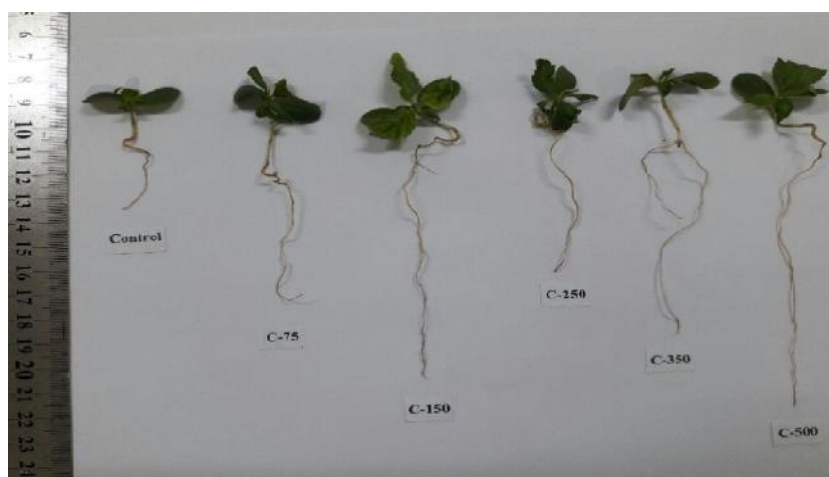
شکل ۴- تأثیر نانوپرایمینگ بذر بارانک لرستانی با غلظت‌های مختلف از نانولوله‌های کربن چندجداره بر صفات رشد گیاهچه‌های آن

را داشتند (شکل ۵). طبق نتایج آزمون توکی، بیشترین زی توده تر و خشک برگ به ترتیب در تیمارهای ۵۰۰ و ۷۵ ثبت شد. همچنین، کمترین زی توده برگ در تیمار ۱۵۰ مشاهده شد. به طور کلی، تمام تیمارها سبب افزایش زی توده برگ شدند. کمترین مقدار زی توده کل تر و خشک متعلق به گیاهچه‌های شاهد بودند، در حالی که همه تیمارها (به جز زی توده تر در تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) سبب افزایش معنی دار رشد کل گیاه شدند (شکل ۶).

بیشترین میانگین زی توده تر و خشک ریشه به ترتیب در تیمارهای ۵۰۰ و ۳۵۰ میلی گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. اگرچه تیمارهای ۷۵، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر سبب افزایش معنی دار زی توده تر و خشک ریشه در مقایسه با شاهد شدند، اما اختلاف بین تیمارهای مذکور معنی دار نبود. در نگاه کلی، با افزایش غلظت تیمارهای نانولوله کربن، زی توده خشک ریشه و زی توده تر آن به طور معنی داری افزایش داشت. اگرچه تمام تیمارهای اعمال شده سبب افزایش زی توده تر و خشک ساقه شدند، اما تیمارهای ۷۵، ۳۵۰ و ۵۰۰ بیشترین عملکرد



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



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

بحث

می‌شود (Almasouri *et al.*, 2001). اعتقاد بر این است که نانولوله کربن‌ها می‌توانند به‌واسطه عبور از پوسته بذر (Pourkhaloe *et al.*, 2011) ورود رطوبت را به داخل بذر

جوانه‌زنی بذر یکی از مراحل حیاتی گیاه است که به‌نوعی در این مرحله، فرایندهای متابولیکی گیاهان آغاز

به طور معنی داری برتر از تیمار ۵۰۰ میلی گرم در لیتر بود، بنابراین به نظر می رسد در مرحله جوانه زنی مؤثرترین تیمار، تیمار نانوپرایمینگ با غلظت ۳۵۰ و پس از آن، تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر بود. در پژوهش های انجام شده، اثرات مثبت نانولوله های کربنی در افزایش جوانه زنی گیاهانی مانند گوجه فرنگی (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 جوانه زنی تعداد محدودی از گونه های جنگلی مانند مورد (Pazhouhan et al., 2016) و کاج سیاه، سرو نقره ای و خمره ای (Aliyari et al., 2016) نیز تأیید شده است. باید به این نکته توجه شود که هنوز مکانیسم های اثر متقابل نانولوله کربن ها و بذر گیاهان ناشناخته است و هرگونه تغییری در جوانه زنی بر اثر استفاده از این نانومواد نشان دهنده ورود، جابه جایی و در نهایت اثرگذاری آن ها است، اما نکته ای که بیشتر پژوهشگران بر آن تأکید دارند این است که به واسطه نفوذ نانولوله های کربن در پوسته بذرها، مسیر ورود رطوبت فراهم می شود و درصد جوانه زنی افزایش می یابد (Fathi et al., 2017).

به منظور درک بیشتر تأثیر پیش تیمارهای نانولوله کربن بر بیولوژی گیاه بارانک لرستانی، گیاهچه های رشد یافته از بذرهای پیش تیمار شده از نظر صفات رشد نیز ارزیابی شدند. از این نظر، اگرچه برخی از افزایش های معنی دار مشاهده شد، اما نکته قابل توجه، افزایش طول ریشه و در نهایت طول کل گیاهچه در بذرهایی بود که پیش از آن با نانولوله کربن با غلظت ۵۰۰ میلی گرم در لیتر پرایم شده بودند. نکته حایز اهمیت این است که تأثیر این پیش تیمارها بر طول ساقه گیاه به اندازه تغییرات طول ریشه قابل ملاحظه نبود. مقایسه رشد و زی توده گیاهچه ها نشان داد که تمام تیمارها سبب افزایش زی توده تر و خشک در مقایسه با بذرهای شاهد شدند، اما زی توده ریشه گیاهچه ها بیشترین تغییرات را داشت، به طوری که برخی تیمارها سبب افزایش تا دو برابر زی توده ریشه در مقایسه با بذرهای شاهد شدند. به نظر می رسد که تخصیص بیشتر زی توده در ریشه یکی از اثرات بهبوددهنده

آسان کرده و از این طریق، سبب افزایش جوانه زنی و رشد گیاهچه ها شوند (Kole et al., 2013). در پژوهش پیش رو، تأثیر پیش تیمارهای نانولوله کربن بر صفات جوانه زنی گونه اندمیک بارانک لرستانی بررسی شد. بررسی پوسته خارجی بذرهای پیش تیمار شده نشان داد که پرایم بذرها با نانولوله کربن به نحوی سبب تحلیل برجستگی های سطح خارجی بذر شد. این یافته در مقایسه بین بذرهای شاهد و بذرهای پیش تیمار شده با غلظت ۵۰۰ میلی گرم نانولوله کربن در لیتر به طور واضح مشهود بود. بدون شک با نفوذ پذیری آندوکارب، راه ورود رطوبت و هوا فراهم می شود و از این طریق، جوانه زنی آغاز می شود. حضور پراکنده نانولوله کربن ها بر پوسته خارجی بذر نیز مشاهده شد که نشان دهنده قدرت چسبندگی این نانولوله کربن ها است، بنابراین می توان گفت که پرایمینگ بذرهای این گونه سبب تحلیل ضخامت پوسته، اتصال به سطح خارجی و در نهایت تسهیل نفوذ آب به داخل پوسته بذر شد. پیش از این، نفوذ نانولوله کربن ها به داخل بذر گونه های دیگر مانند گندم، ذرت، سیر و بادام زمینی گزارش شده بود (Srivastava & Rao, 2014). قدرت نفوذ پذیری نانولوله های کربن در نفوذ به داخل سلول گیاهی نیز تأکید شده است (Li et al., 2009) که این یافته ها نشان دهنده قدرت نفوذ زیاد این نانومواد است.

بررسی روند جوانه زنی تیمار شده نشان داد که بهترین روند جوانه زنی مربوط به تیمارهای ۳۵۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر بود که پس از گذشت ۲۰ روز به حدود ۹۰ درصد رسید، در حالی که ضعیف ترین روند جوانه زنی در تیمار شاهد ثبت شد. دو تیمار پرایمینگ ۳۵۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر سبب ارتقاء حدود ۶۵ درصد جوانه زنی بارانک لرستانی در مقایسه با بذرهای شاهد شدند و به عنوان مؤثرترین تیمارها انتخاب شدند. همچنین، از نظر دو عامل دیگر جوانه زنی (سرعت و میانگین زمان جوانه زنی) این دو تیمار نسبت به تیمارهای دیگر، بیشترین تأثیر مثبت را نشان دادند. نکته حایز اهمیت این است که اگرچه تیمار ۵۰۰ میلی گرم در لیتر سبب ارتقاء صفات جوانه زنی این گونه شد، اما از نظر درصد و سرعت جوانه زنی، تیمار ۳۵۰ همواره

- (*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.
 - Ku erová, V., Honec, M., Paule, L., Zhelev, P. and Gömöry, D., 2010. Genetic differentiation of *Sorbus* تیمارهای نانولوله کربن باشد. بدون شک افزایش طول ریشه و همچنین افزایش زی توده آن می تواند شرایط را برای جذب بیشتر رطوبت توسط گیاه فراهم کند که این مهم به واسطه حضور نانولوله کربن برای گیاهچه های 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).
- یافته های این پژوهش ضمن تأیید اثرات مثبت نانوپرایمینگ بذر بارانک لرستانی بر صفات جوانه زنی نشان داد که کاهش ضخامت پوسته و نفوذ نانولوله ها در بذر و در نهایت ایجاد خلل و فرج برای ورود رطوبت و هوا، یکی از مکانیسم های احتمالی است. از سوی دیگر، افزایش رشد طولی ریشه و جذب بیشتر آب در گیاهچه ها نیز از اثرات مثبت دیگر این پیش تیمارها بود که این دو مهم برای استقرار هر چه بهتر گیاه حایز اهمیت هستند. در انتها می توان استفاده از غلظت های ۳۵۰ تا ۵۰۰ میلی گرم در لیتر را برای این گونه پیشنهاد داد، اما برای تصمیم گیری قطعی تر 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

- 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.
- Pourkhaloe, A., Haghghi, 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 *Dioscorea 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.

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. Eivand 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, Khorram Abad, Iran. E-mail: pilehvar.b@lu.ac.ir

3- Assistant Prof., Department of Forestry, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorram 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, Khorram 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.