

### تاثیر نانو لوله‌های کربنی بر برخی از شاخص‌های رشد پایه GF677 (دورگ هلو و بادام) در شرایط درون شیشه‌ای

حدیث قربانی زاد<sup>1</sup>، حسن ساری‌خانی<sup>2</sup>، منصور غلامی<sup>3</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان. 2- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان. 3- استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

#### چکیده

امروزه استفاده از ترکیبات نانو در عرصه‌های مختلف علوم مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است. استفاده از نانو ترکیبات کربنی شامل نانو لوله‌های کربنی تک جداره و چند جداره در زمینه‌های مختلفی از جمله کشاورزی افزایش یافته است. در پژوهش حاضر تاثیر نانو لوله‌های کربنی چند جداره بر فاکتورهای رشدی پایه رویشی GF677 در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش ریزنمونه‌های تک گره پس از ضدعفونی سطحی در محیط کشت WPM حاوی غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (صفر، 4/4، 11 و 22 میکرو مولار) و نانو لوله‌های کربنی چند جداره در دو غلظت (صفر و 10 میلی گرم در لیتر) کشت شدند و صفات مختلف شامل تعداد شاخه تولید شده، وزن تر، وزن خشک و درصد ماده خشک جوانه‌های تشکیل شده همچنین شاخص سطح برگ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در تیمار نانو لوله‌های کربنی رشد و پرآوری بیشتری مشاهده گردید. همچنین با کاربرد نانو لوله‌های کربنی وزن ریزنمونه‌ها و شاخص سطح برگ افزایش یافت. به نظر می‌رسد نانو لوله‌های کربنی با افزایش جذب آب و مواد غذایی به رشد ریزنمونه‌ها کمک می‌کند.

**واژگان کلیدی:** هیبرید هلو و بادام، شرایط درون شیشه‌ای، نانو لوله‌های کربنی، شاخه‌زایی، شاخص سطح برگ

#### مقدمه

فناوری نانو انقلاب جدیدی است که از واکنش‌هایی که در سطح اتم اتفاق می‌افتد منشا گرفته است که در آینده همه علوم را در بر خواهد گرفت. این علم می‌تواند تحولات عظیمی در علوم مختلفی همچون پزشکی و داروسازی، انرژی، کامپیوتر، محیط زیست و کشاورزی به وجود آورد. گزارشاتی مبنی بر استفاده از فناوری نانو در کشاورزی برای بهبود تولید محصولات کشاورزی، افزایش پیشرفت‌های مربوط به اصلاح نباتات، کاهش ضایعات مربوط به دوره انبارداری، افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی، کاهش و یا جلوگیری از بروز بیماری‌های گیاهی وجود دارد (سالاری و همکاران، 1387). یکی از ترکیبات نانو که در سال‌های اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته است نانو لوله‌های کربنی است. نانو لوله‌های کربنی، گرافیتی است که به شکل لوله در آمده است و به دو صورت نانو لوله‌های کربنی تک جداره (شامل یک لوله از گرافیت) و چند جداره (شامل تعدادی از لوله‌های متحدالمرکز) موجود می‌باشد، این دسته از ترکیبات نانو طویل بوده دارای انتهای باز هستند که در کنار هم صفحات مشبکی را به وجود می‌آورند. از این نانو لوله‌ها می‌توان برای سهولت انتقال مولکول‌ها به درون سلول بهره جست (یو اس ای پی آ، 2005). همچنین گزارشاتی مبنی بر استفاده از این دسته از ترکیبات نانو برای انتقال ژن به درون سلول‌ها موجود می‌باشد. در برخی از این تحقیقات اثرات افزایش نانو لوله‌های کربنی بر شاخص‌های رشد گیاهان مشاهده شده است. استفاده از نانو لوله‌های کربنی چند جداره باعث افزایش رشد، گلدهی و میوه‌دهی گیاه گوجه‌فرنگی در خاک حاوی نانو لوله‌های کربنی نسبت به تیمار شاهد (خاک بدون نانو لوله‌های کربنی) گردید (خوداکووسکیا و همکاران، 2013).

برخی از محققین اثر سمیت این نوع از ترکیبات نانو را بر گیاهان گزارش نموده‌اند. بگوم و فوگنسو (2012) با بررسی اثر نانو لوله‌های کربنی چند جداره اثر سمیت این ترکیب را بر شاخص‌های رشد گیاه اسفناج قرمز بررسی کردند.

پایه رویشی GF677 دارای ویژگی‌های مطلوبی مانند مقاومت به خاک‌های آهکی و خشک، کلروز ناشی از کمبود آهن (مونتی سلی و همکاران، 2000)، مقاوم به برخی بیماری‌های گیاهی (تومیدیس و همکاران، 2003)، مقاوم به زگیل ریشه و زنگ هلو می‌-

باشد، همچنین دارای مقاومت رضایت بخشی در مقابل سرماست (رادنیا، 1370). تکثیر این پایه از طریق قلمه به دلیل سخت ریشه-زایی مشکل بوده لذا طی چند دهه اخیر کاربرد شیوه‌های کشت بافت مورد توجه قرار گرفته است. این پژوهش به منظور بررسی اثر نانو لوله‌های کربنی بر میزان رشد ریز نمونه‌های پایه رویشی GF677 (هیبرید هلو × بادام) در شرایط درون شیشه‌ای صورت گرفته است.

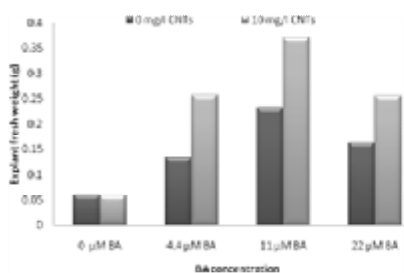
## مواد و روش‌ها

ریزنمونه‌ی مورد استفاده در این پژوهش شامل قلمه‌های تک گره از نهال‌های گلدانی GF677 موجود در گلخانه پژوهشی گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا تهیه شد. قطعات ساقه با یک جوانه حدود 15 دقیقه در زیر آب جاری شستشو، سپس با اتانول 70 درصد به مدت 15 ثانیه، هیپوکلریت سدیم 1/5 درصد به مدت 10 دقیقه ضدعفونی و در نهایت 3 مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شدند. برای مرحله شاخه‌زایی از محیط کشت WPM (لوید و مک کاون، 1980) حاوی هورمون بنزیل آدنین (BA) با غلظت 0، 4/4، 11 و 22 میکرو مولار و نانو لوله‌های کربنی (CNT) به غلظت صفر و 10 میلی گرم در لیتر استفاده شد. در این آزمایش از نانو لوله‌های کربنی چند جداره با گروه کربوکسیل با قطر داخلی 10-5 و قطر خارجی 20-10 نانو متر و رشته‌هایی به طول 30 میکرومتر استفاده گردید. به دلیل ساختار شیمیایی و رشته‌ای بودن نانو لوله‌های کربنی برای استفاده از این ترکیب در محیط کشت از دستگاه اولتراسونیک جهت باز شدن رشته‌های نانو لوله‌های کربنی به مدت 45 دقیقه استفاده شد. به محیط کشت 30 گرم در لیتر ساکارز و 6 گرم در لیتر آگار اضافه گردید. pH محیط قبل از استریل کردن روی  $5/7 \pm 0/1$  تنظیم گردید. محیط‌های کشت در دمای 121 درجه سانتی گراد و فشار 1/2 اتمسفر به مدت 15 دقیقه استریل شد. نمونه‌های کشت شده در شرایط 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی گراد قرار داده شد. شش هفته پس از کشت تعداد شاخه تولید شده، وزن تر، وزن خشک و درصد ماده خشک جوانه‌ها بررسی شد. شاخص سطح برگ برای دو تیمار شاهد و 10 میلی گرم در لیتر نانو لوله‌های کربنی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری شاخص سطح برگ از نرم افزار پردازش تصاویر استفاده شد. داده‌های پژوهش حاضر با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه 9/1) تجزیه شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

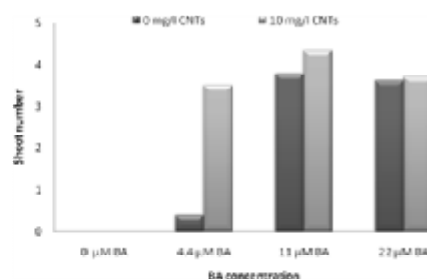
## نتایج و بحث

نانو لوله‌های کربنی اثر مثبتی بر میزان رشد ریزنمونه‌های قلمه تک گره پایه در شرایط درون شیشه‌ای داشت. بیشترین تعداد شاخه در تیمار بنزیل آدنین در غلظت 22 میکرو مولار به همراه 10 میلی گرم در لیتر نانو لوله‌های کربنی مشاهده شد که اختلاف معنی داری با تیمارهای 11 و 22 میکرو مولار بنزیل آدنین و تیمارهای 4/4 و 11 میکرو مولار بنزیل آدنین به همراه 10 میلی گرم در لیتر نانو لوله‌های کربنی نداشت. کمترین تعداد شاخه در تیمار شاهد، 10 میلی گرم در لیتر نانو لوله‌های کربنی و 4/4 میکرو مولار بنزیل آدنین مشاهده شد. در غلظت 4/4 میکرو مولار بنزیل آدنین کاربرد نانو لوله‌های کربنی باعث افزایش معنی دار تعداد شاخه گردید. اضافه نمودن نانو لوله‌های کربنی نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش در وزن تر شد. بیشترین وزن خشک در تیمار 11 میکرو مولار بنزیل آدنین و کمترین وزن خشک در تیمار شاهد، 10 میلی گرم در لیتر نانو لوله‌های کربنی و 22 میکرو مولار بنزیل آدنین مشاهده شد. بیشترین درصد ماده خشک مربوط به تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار 22 میکرو مولار بنزیل آدنین همراه با 10 میلی گرم در لیتر نانو لوله‌های کربنی مشاهده گردید (شکل 1-). در حالی که کاربرد به تنهایی نانو لوله‌های کربنی تأثیر چندانی بر افزایش وزن تر و وزن خشک نشان نداد اما کاربرد آن به همراه بنزیل آدنین باعث افزایش وزن تر و خشک گردید. به نظر می‌رسد نانو لوله‌های کربنی به نوعی باعث افزایش تأثیر بنزیل آدنین می‌گردند که این موضوع می‌تواند از طریق افزایش جذب یا

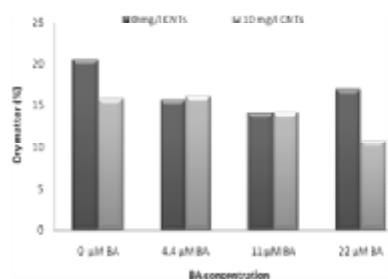
انتقال بنزیل آدنین توسط نانو لوله‌های کربنی صورت گرفته باشد (یو اس ای پی آ، 2005). از طرف دیگر افزایش وزن تر و خشک در کنار کاهش درصد ماده خشک در تیمارهای نانو لوله‌های کربنی می‌تواند با نقش نانو لوله‌های کربنی در افزایش جذب آب مرتبط باشد که این موضوع توسط خوداکووسکیا و همکاران (2009) و تریپاتی و همکاران (2011) نیز گزارش شده است. خوداکووسکیا و همکاران (2009 و 2011) نتایج مشابهی را پس از استفاده از نانو لوله‌های کربنی چند جداره بر افزایش وزن دانه‌های رشد یافته گوجه‌فرنگی در شرایط درون شیشه‌ای مشاهده نمودند. میانگین شاخص سطح برگ در تیمار شاهد 80/12 میلی متر مربع و در تیمار حاوی 10 میلی گرم در لیتر نانو لوله‌های کربنی 109/86 میلی متر مربع بود. نتایج برخی از پژوهش‌ها نشان داده است که نانو لوله‌های کربنی چند جداره باعث افزایش تقسیمات سلولی شده که از این طریق به افزایش رشد کمک می‌شود (خوداکووسکیا و همکاران، 2012). خوداکووسکیا و همکاران (2009) و تریپاتی و همکاران (2011) اظهار داشتند افزایش رشد گیاهان پس از استفاده از نانو لوله‌های کربنی مربوط به افزایش جذب آب توسط گیاه به وسیله این ترکیب می‌باشد. این ترکیب با قرار گرفتن در سیستم آوند جویی مانند کانال‌هایی عمل کرده که به جذب بهتر آب کمک می‌کند. در کل می‌توان چنین گفت که استفاده از نانو لوله‌های کربنی باعث افزایش در میزان رشد ریزنمونه‌های کشت شده در محیط کشت حاوی این ترکیب شد. به نظر می‌رسد این افزایش رشد از طریق افزایش تقسیمات سلولی و افزایش در جذب آب توسط ریزنمونه‌ها صورت گرفته باشد.



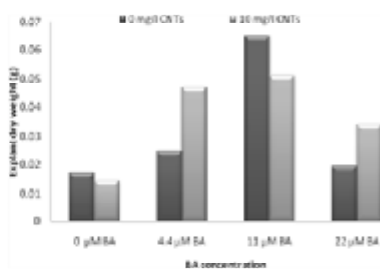
ب



الف



د



ج

شکل 1- اثر بنزیل آدنین و نانو لوله های کربنی بر تعداد شاخه تولید شده (الف)، وزن تر (ب)، وزن خشک (ج) و در صد ماده خشک (د) ریزنمونه‌های پایه GF677.

## منابع

- سالاری، م.، پنجه که. ن.، کسرائی، س. 1387. نانوتکنولوژی و کاربرد آن در گیاهپزشکی. مجله گیاهپزشکی و غذا، شماره 3: 45 - 36.
- رادنیا، ح. 1375. پایه‌های درختان میوه. نشر آموزش کشاورزی کرج. ترجمه. 637 ص.
- Begum, P and Fugetsu, B. 2012. Phytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes on red spinach (*Amaranthus tricolor* L) and the role of ascorbic acid as an antioxidant. *Journal of Hazardous Materials*, 243: 212- 222.
- Khodakovskaya, M. Silva, K. Biris, A.S. Dervishi, E and Villagarcia. E. 2012. Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells". *American Chemical Society Nano*, 6 (3): 2128– 2135. (abstract).
- Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Li, Z., Watanabe, F. and Biris, A. 2009. Carbon nanotubes are able to penvetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *American Chemical Society Nano*, 3: 3221- 3227.
- Khodakovskaya, M.V. Kim, B.S. Alimohammdi, M, Dervishi, E. Mostafa, T and Cernigla. CE. 2013. Carbon nanotubes as plant growth regulators: Effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. *Small*, 9 (1): 115- 23. (abstract).
- Monticelli, S., Puppi, G. and Pamiano, G. 2000. Effect of *in vitro* mycorrhization on micropropagated fruit trees rootstock. *Applied Soil Ecology*, 15: 105-111.
- Tan., X.m . and Fugetsu., B. 2007. Multi-walled carbon nanotubes interact with cultured rice cells: evidence of a self-defense response, *Journal Biomedical Nanotechnology*, 3: 285–288.
- Thomidis, T. and Tsipouridis, C. 2003. Methods to improve the *in vitro* culture of GF677 (Peach×almond) peach rootstock . *New Zealand Journal of Crop and Horticultural science*, 31: 361-364 .
- 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.
- USEPA, U.S. Environmental Protection Agency. 2005. Nanotechnology White Paper–ExternalReviewDraft. [http://www.epa.gov/osa/pdfs/EPA\\_nanotechnology\\_white\\_paper\\_external\\_review\\_draft\\_12-02-2005.pdf](http://www.epa.gov/osa/pdfs/EPA_nanotechnology_white_paper_external_review_draft_12-02-2005.pdf)

**Effect of Carbon Nanotubes on Some Growth Indices of GF677 Rootstock (*Prunus persica*×*prunus amygdalus*) in *in vitro* condition**

**H. Ghorbani, H. Sarikhani\* and M. Gholami**

Department of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

**Abstract**

Nanomaterials is a versatile field and has found application in almost all existing fields of science and used by many researchers in recent years. Such carbon nanomaterials found increased applications in the field of agriculture. Present study was conducted to investigate the effect of multi-wall carbon nanotubes (MWNTs) on micropropagation of GF677 rootstock. Single-nodes explants of this rootstock were cultured on WPM medium containing BA (0, 4.4, 11 and 22 μm) and MWNTs (0 and 10 mg/l) and their shoot number, leaf area index, fresh and dry weight and dry mass were evaluated. Results indicated the positive effect of MWNTs on shoot number, increasing of weight and leaf area index. It seems MWNTs of support water and nutrient uptake.

**Keywords:** GF677, micropropagation, carbon nanotubes, proliferation, leaf area