مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۴ شماره ۱ صفحه‌های ۹۵ تا ۱۱۰ (۱۴۰۲)
مقاله پژوهشی

تأثیر کاربرد نانولوله‌های کربنی بر باززایی گیاه رزماری در شرایط درون شیشه‌ای[1]

Investigation on the Effects of Carbon Nanotubes application on Regeneration of the Rosemary Plants under *In vitro* Conditions

یونس پوربیرامی هیر*، مهدی خسروی مجدر، موسی ترابی گیگلو، اسماعیل چمنی، حسن ملکی لجایر و مهسا احدزاده[2]

چکیده

به‌دلیل توانایی نانولوله‌های کربن در جهت افزایش کاررآیی فتوسنتز در گیاهان از طریق اتصال به کلروپلاست هدف از این مطالعه ارزیابی میزان تأثیر نانولوله‌های کربن تک جداره بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه رزماری بود. این آزمایش به‌صورت طرح کاملا تصادفی با نانولوله‌های کربنی در ۱۰ سطح و ۵ تکرار انجام گرفت. تأثیر نانولوله‌های کربن بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه رزماری معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه در غلظت ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر و کمترین در شاهد مشاهده شد. کمترین درصد باززایی در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین و کمترین تعداد برگ به‌ترتیب از غلظت‌های ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر و تیمار شاهد به‌دست آمد. بیشترین سطح برگ و وزن تر مربوط به تیمار ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربن بود. مقایسه میانگین شاخص‌های فیزیولوژیکی نشان داد بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، فلاونوئید و فنول کل در غلظت ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله کربن و کمترین میزان فنول کل در شاهد مشاهده گردید. بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربن و کمترین میزان این شاخص در تیمار شاهد بود. انتظار می‌رود، از این روش برای باززایی و استفاده از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دیگر استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: رزماری، کشت بافت، نانولوله‌های کربن، رنگدانه‌های فتوسنتزی.

مقدمه

گیاهان دارویی و معطر از هزاران سال پیش تا زمان حاضر توسط بشر مورد استفاده قرار گرفته و در زندگی آن نقش بسیار مهمی داشته است. این اهمیت به دلیل خاصیت شفابخش این گیاهان بوده که با متابولیت‌های ثانویه موجود در آن‌ها مرتبط است. امروزه تقریباً نیمی از داروهای مورد استفاده توسط انسان به طور مستقیم یا غیرمستقیم از گیاهان دارویی حاصل می‌شوند (۱). گیاهان می‌توانند به عنوان منابع درمانی به شکل تزریق گیاهی، فرآورده‌های دارویی مانند عصاره‌ها، قرص‌ها یا کپسول‌ها از طریق استخراج و خالص سازی ترکیبات فعال مورد استفاده قرار گیرند. در قسمت‌های مختلف اندم‌های گیاهان برخی از مواد تولید و ذخیره می‌شوند و اغلب دارای اثرات درمانی هستند و به عنوان عوامل دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۰). علی رغم اهمیت گیاهان دارویی در زندگی انسان، مشکلاتی از قبیل خطر انقراض برخی گونه‌ها به دلیل برداشت بی‌رویه از طبیعت، نوسان در میزان متابولیت‌های ثانویه به دلیل نوسانات اقلیمی و نیاز به شرایط محیطی خاص محیطی، عملکرد پایین (کمتر از یک درصد وزن خشک گیاه)، تولید برخی متابولیت‌های ثانویه در اندام‌ها یا مراحل رشدی خاص در گیاه و همچنین روش‌های خاص تکثیر و خواب بذر در گیاهان دارویی سبب شده تا کشت بافت گیاهی به عنوان روشی کارآمد و مؤثر در زمینه تولید و تکثیر گیاهان دارویی و راهکاری برای غلبه بر مشکلات تولید سنتی آن‌ها مورد استفاده قرار گیرد (۲، ۵، ۲۵).

۱- تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۱۹

۲- به ترتیب استادیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار، استاد، استادیار دانشگاه محقق اردبیلی و دانشجوی کارشناسی ارشد، اردبیل، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (Younes_ph62@uma.ac.ir).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

رزماری[1] یک گیاه چندساله همیشه سبز بومی مناطق مدیترانه و متعلق به تیره نعناسانان است که به دلیل متابولیت‌های ثانویه و مواد معطر ارزشمند موجود در آن کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی و بهداشتی داشته و در سراسر جهان کشت می‌شود (۷). مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه این گیاه ترکیبات فنولی شامل رزمارینیک اسید، کارنوسیک اسید، کافئیک اسید و هسپریدین[2] و همچنین ترکیبات غالب اسانس آن شامل سینئول[3]، آلفا پینن[4]، کامفن[5]، لیمونن[6] و بورنئول[7] است (۸). این ترکیبات فیتوشیمیایی سبب شده تا اسانس و عصاره رزماری دارای خواص دارویی متعددی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضدالتهابی، ضد گرفتگی عضلانی، ضد تشنج، ضد دیابت، محافظت کننده کبد و محافظت‌کننده سیستم عصبی بوده و در درمان بیماری‌های مختلف به کار گرفته شوند (۹، ۱۸). در سال‌های اخیر نانو فناوری به یکی از مهم‌ترین و مهیج‌ترین زمینه‌های پیش رو در علوم مختلف مانند فیزیک، شیمی و زیست‌شناسی تبدیل شده است و نویدبخش آن است که در آینده‌ای نزدیک، موفقیت‌های زیادی پیش روی ما قرار خواهد داد، به طوریکه جهت‌گیری پیشرفت‌های فنی را تغییر خواهد داد (۲۵). از این رو توجه به کاربرد نانو ذرات در کشاورزی و تأثیر آن‌ها بر رشد و نمو یاخته‌ها و بافت‌های گیاهی نیز جلب شده و مطالعاتی در این زمینه صورت پذیرفته است. نانولوله‌های کربنی، درشت مولکول‌های کربنی استوانه‌ای شکل با شعاع کمتر از چند نانومتر هستند که طول آن‌ها تا ۲۰ سانتی‌متر نیز می‌رسد. مطالعات صورت گرفته در دهه اخیر ثابت کرده است که نانولوله‌های کربنی عملکردی شبیه به تنظیم‌کننده‌های رشد در گیاهان داشته و فرایندهای مختلفی از جمله بیان ژن (۱۱)، مقاومت به تنش (۱۲)، جذب عناصر غذایی (۲۴)، جوانه‌زنی بذر و رشد و نمو (۲۱) در گیاهان مختلف را تحت تأثیر قرار می‌دهند. همچنین گزارش‌هایی نیز از کاربرد نانولوله‌های کربنی بر رشد درون شیشه‌ای برخی گیاهان منتشر شده است (۱۶، ۳). در پژوهشی Khodakovskaya و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که کاربرد نانولوله‌های کربنی چند جداره در غلظت‌های ۵ تا ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش ۶۴-۵۵ درصدی رشد پینه تنباکو از طریق افزایش بیان ژن‌های دخیل در تقسیم یاخته‌ای و تشکیل دیواره یاخته‌ای شده است. در مطالعه دیگری، Khodakovskaya و همکاران (۲۰۱۳) افزایش چهار برابری در وزن تر گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی کشت شده در محیط کشت MS حاوی نانولوله‌های کربنی چند جداره پس از چهار هفته را گزارش کردند. Heydari (۲۰۱۳) گزارش کرد که کاربرد نانولوله‌های کربنی چند جداره سبب افزایش درصد پینه‌زایی، رشد پینه، القاء اندام‌های شبه پداژه[8] و همچنین سرعت و میزان پرآوری گیاهچه و شاخص‌های رشدی آن در گیاه آنتوریوم در شرایط درون شیشه‌ای شده است. در پژوهش دیگری روی مرزه خوزستانی مشخص شد که غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربنی چند جداره سبب افزایش معنی‌دار درصد پینه‌زایی، وزن تر و خشک پینه و همچنین تولید رزمارینیک اسید در پینه‌های گیاه شده است (۱۹). همچنین گزارش شده است که نانولوله‌های کربنی چند جداره بر تمامی مراحل القاء رویان زایی سوماتیکی در خرما تأثیر مثبت داشته و همچنین سبب افزایش درصد جوانه‌زنی رویان، تعداد برگ و طول ریشه گیاهچه‌های حاصل شده است (۱۵). در پژوهش دیگری مشخص شد که غلظت‌های ۲۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربنی چند جداره سبب افزایش معنی‌دار وزن تر کشت‌های سوسپانسیون مریم گلی و همچنین میزان تولید رزمارینیک اسید، سالویانولیک اسید، فرولیک اسید و سینامیک اسید در آن شده است (۴). از این رو با توجه به اهمیت دارویی گیاه رزماری و مشکلات موجود در زمینه تکثیر این گیاه و همچنین نتایج مثبت گزارش شده در مورد تأثیر نانولوله‌های کربنی بر رشد درون شیشه‌ای برخی گیاهان و عدم مطالعه کافی در زمینه تأثیر نانولوله‌های کربنی تک جداره، پژوهش حاضر با هدف تأثیر نانولوله‌های کربنی تک جداره بر باززایی و ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه رزماری در شرایط درون شیشه‌ای انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه ریزنمونه و ضدعفونی

پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۸ در دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی صورت پذیرفت. برای این منظور از ساقه‌های تازه رشد کرده گیاه رزماری موجود در گلخانه دانشگاه محقق اردبیلی برای ریز ازدیادی استفاده شد. به منظور ضدعفونی ریزنمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در آب حاوی مایع ظرف‌شویی غوطه‌ور گردیده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه زیر آب جاری شهری

۱- *Rosmarinus offcinalis* L. ۲- Hesperidin ۳- 1,8-cineole ۴- α-Pinene ۵- Camphene ۶- Limonene
۷- Borneol ۸- Protocorm-like Bodies

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

شسته شدند تا گرد و غبار و مایع ظرفشویی از سطح آن‌ها شسته شود. برای تعیین بهترین روش ضدعفونی ریزنمونه‌ها از تیمارهای الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰، ۴۵ و ۶۰ ثانیه و هیپوکلریت سدیم با غلظت‌های مختلف ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد و زمان‌های مختلف ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه استفاده شد. پس از انجام مراحل ضدعفونی، تمامی ریزنمونه‌ها به مدت ۲، ۵ و ۱۰ دقیقه با آب مقطر دوبار تقطیر سترون آبکشی شدند. ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS حاوی ۳۰ گرم ساکارز و ۸گرم آگار کشت شدند. کلیه مواد و ظروف و محیط‌های کشت در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردید. کشت‌ها در دمای۲۰ درجه سلسیوس و در ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفت. پس از گذشت یک ماه نتایج کشت‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد که کشت‌های مربوط به تیمار الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۲ درصد و مدت زمان ۵ دقیقه فاقد آلودگی بود. بنابراین از تیمار مربوطه جهت ضدعفونی ریزنمونه‌ها در مراحل بعدی استفاده شد.

آماده‌سازی محیط کشت

به منظور انجام پژوهش حاضر، نانولوله‌های کربنی تک جداره از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان خریداری شد که ویژگی‌های آن در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- ویژگی‌های نانولوله کربن تک جداره.

Table 1. Single-walled Carbon nanotube characters.

ویژگی properties	توضیحات Description
خلوص Purity	> ۹۶ درصد وزنی (>96%)
قطر خارجی External diameter	۱-۲ نانومتر (1-2 nm)
قطر داخلی Internal diameter	۱/۶- ۰/۸ نانومتر (0.8-1.6 nm)
قطر متوسط Average diameter	۱/۱ نانومتر (1.1 nm)
طول Length	۱۵-۵۰ میکرومتر (TEM) (15-50 µm)
مساحت سطح ویژه Special surface area	> ۵۸۰ متر مربع بر گرم (BET) (< 580 µm)
چگالی بالک (توده‌ای) Bulk density (Mass)	۰/۱۴ گرم بر سانتی‌متر مکعب ($0.14\ g/cm^3$)
چگالی حقیقی (ذره‌ای) Actual density (Particle)	۲/۱ گرم بر سانتی‌متر مکعب ($2.1\ g/cm^3$)
هدایت الکتریکی Electrical conductivity	۱۰۰ زیمنس بر سانتی‌متر (100 S/cm)
هدایت حرارتی Thermal conductivity	۵۰-۲۰۰ وات بر متر مکعب ($50\text{-}200\ V/m^3$)
رنگ Color	مشکی (Black)
دمای اشتعال Ignition temperature	۶۱۰ درجه سلسیوس (610 C°)
روش ساخت Construction method	انباشت بخار شیمیایی (Accumulation of chemical vapors)

برای آماده‌سازی نانولوله‌های کربنی برای استفاده در محیط کشت از روش Heydari و همکاران (۱۲) استفاده شد. بدین منظور محلول ذخیره ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربنی از طریق اضافه نمودن ۲۰ میلی‌گرم پودر نانولوله‌های کربنی تک جداره به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر تهیه شد. سپس به منظور همگن‌سازی و پراکنش یکنواخت نانولوله‌های کربنی در آب، مخلوط فوق به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه التراسونیک (مدل UP400st) با توان ۴۰۰ وات قرار گرفت. سپس غلظت‌های

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

مورد نظر شامل غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر از محلول ذخیره نانولوله‌های کربنی تهیه شده و به محیط کشت MS حاوی ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز اضافه شدند. سپس pH محیط‌های کشت با استفاده از NaOH و HCl یک نرمال روی ۵/۸ تنظیم شده و به آن‌ها مقدار ۸ گرم بر لیتر آگار اضافه شده و مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و قرار داده شدند. از محیط کشت MS فاقد ذخیره نانولوله‌های کربنی به عنوان شاهد استفاده شد. سپس ریزنمونه‌های استقرار یافته رزماری به محیط کشت‌های مذکور منتقل و به مدت هشت هفته در هفته در اتاقک رشد با دمای ۲۴±۱ ̊C و شدت نور ۳۵ $\mu mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$ حاصل از لامپ‌های فلورسنت سفید و چرخه ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

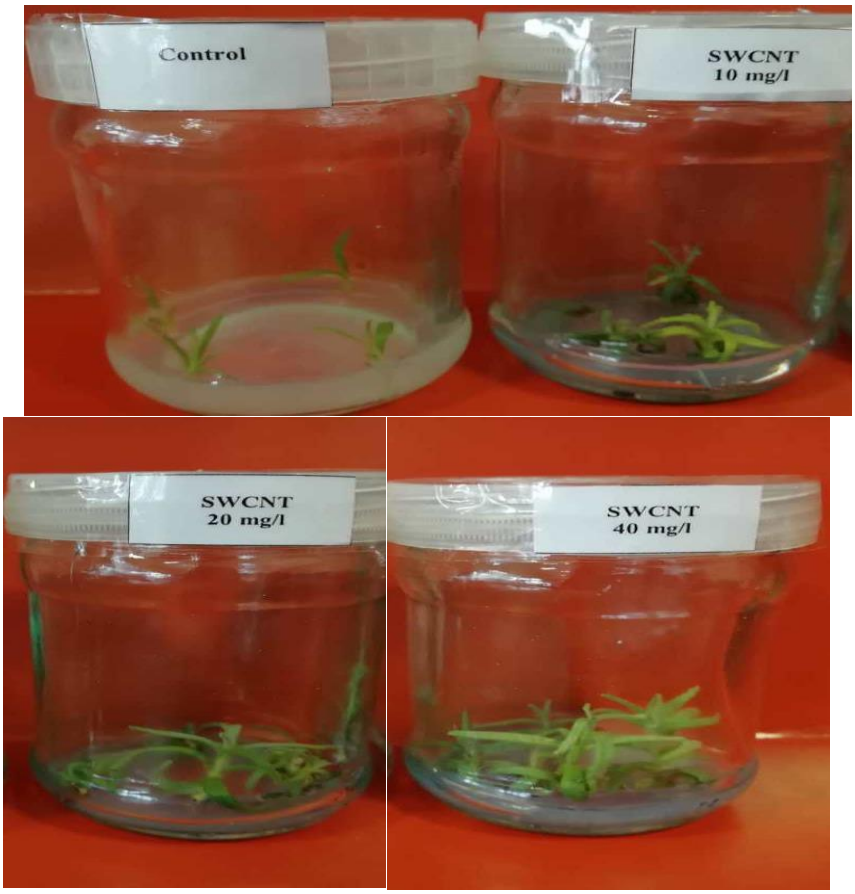

Fig. 1. Rosemary plantlet derived from shoot tip culture in MS medium.

شکل۱- گیاهچه‌های رزماری حاصل از کشت سرشاخه در محیط MS.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

Fig. 2. The effects of different treatments of Carbone nanotubes on growth of Rosemary plants. (Concentration of the treatments from left to right, Control, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 and 90 (mg L^{-1}) Carbone nanotubes).

شکل ۲ - تأثیر تیمارهای مختلف نانولوله‌های کربن بر رشد گیاه رزماری. (غلظت تیمارها از چپ به راست شاهد ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ نانولوله‌های کربن (میلی‌گرم بر لیتر).

اندازه‌گیری تعداد برگ، ارتفاع گیاه، درصد باززایی، سطح برگ و وزن تر

بعد از گذشت دو ماه تعداد برگ و ارتفاع گیاه پس از خارج کردن گیاهچه‌ها و تمیز کردن ژل اطراف آن‌ها شمارش گردید. برای اندازه‌گیری درصد باززایی که در داخل هر شیشه چهار عدد نمونه کشت شده بود و بر اساس سالم بودن و رشد نمونه شمارش گردید و درصد آن محاسبه شد. وزن تر گیاه با ترازوی دیجیتال با دقت ده هزارم گرم تعیین گردید.

اندازه‌گیری رنگدانه های فتوسنتزی

برای سنجش غلظت کلروفیل ۰/۲ گرم نمونه‌ی برگی تازه در استون ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد (۱۳). سپس عصاره حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و تا رسیدن به حجم ۲۵ میلی‌لیتر و استخراج کامل کلروفیل به آن استون اضافه شد. جذب نوری کلروفیل a و b به ترتیب در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده شد و با استفاده از فرمول مربوطه غلظت کلروفیل a و b و کلروفیل کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم برگ تازه به دست آمد.

غلظت کلروفیل‌های a و b از فرمول‌های زیر به دست می‌آید (۱۴):

کلروفیل a = (19.3 * A663 - 0.86 * A645) V/100W

کلروفیل b = (19.3 * A645 - 3.6 * A663) V/100W

کلروفیل کل= a+b

کاروتنوئید = 100(A470) - 3.27(mg chl. a) – 10.4(mg chl. b)/227

W: وزن‌تر برگ (گرم) V: حجم استون (میلی‌لیتر) D: طول موج (نانومتر

اندازه‌گیری محتوای فنول کل

محتوای فنول کل بر اساس روش اسلینکرد و سینگلتون اندازه‌گیری شد (۲۱). ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی سانتریفیوژ شده با ۱/۵ میلی‌لیتر فولین سیوکالتیو[۱] مخلوط بعد از گذشت ۵ دقیقه، محلول ۱/۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷٪ به آن اضافه و پس از گذشت مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل Jenway) خوانده شد. نمونه شاهد نیز با جایگزین کردن ۰/۱ میلی‌لیتر آب مقطر به جای عصاره گیاهی تهیه گردید.

۱- Ciocalteau

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

سنجش فلاونوئید کل

برای اندازه‌گیری فلاونوئیدها از روش Krizek و همکاران (۱۷) استفاده شد. ۰/۲ گرم از نمونه گیاهی درون هاون قرار داده و سپس ۳ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول و اسید استیک به نسبت ۹۹ به ۱) اضافه کرده پس از ساییدن و تهیه محلول یکنواخت، به مدت ۱۵ دقیقه و ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل 1-15K SIGMA) شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری (مدل SD16) با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. میزان جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن توسط اسپکتروفتومتر (مدل Jenwey) در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر قرائت گردید. برای محاسبه غلظت فلاونوئیدها در هر سه طول موج به صورت جداگانه از فرمول ضریب خاموشی استفاده شد.

$$A=\varepsilon bc$$

که در آن A میزان جذب قرائت شده در طول موج تعیین شده، ε ضریب خاموشی ۳۳ بر میلی‌مولار بر سانتی‌متر، c غلظت فلاونوئید (بر حسب مولار) و b عرض کووت (۱سانتی‌متر) می‌باشد.

واکاوی آماری

پژوهش حاضر در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی و با پنج تکرار انجام پذیرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام پذیرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد. به منظور رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

درصد باززایی گیاه رزماری

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله‌های کربن تک جداره بر شاخص درصد باززایی گیاهچه‌های رزماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳) نشان می‌دهد که با افزایش غلظت نانولوله‌های کربن تک جداره از ۱۰ تا ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر در محیط کشت، میزان باززایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است، اما در غلظت‌های ۳۰ تا ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربن تک جداره تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین تیمارها مشاهده نشد، هر چند نسبت به شاهد و غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر به طور معنی‌داری بیشتر بود.

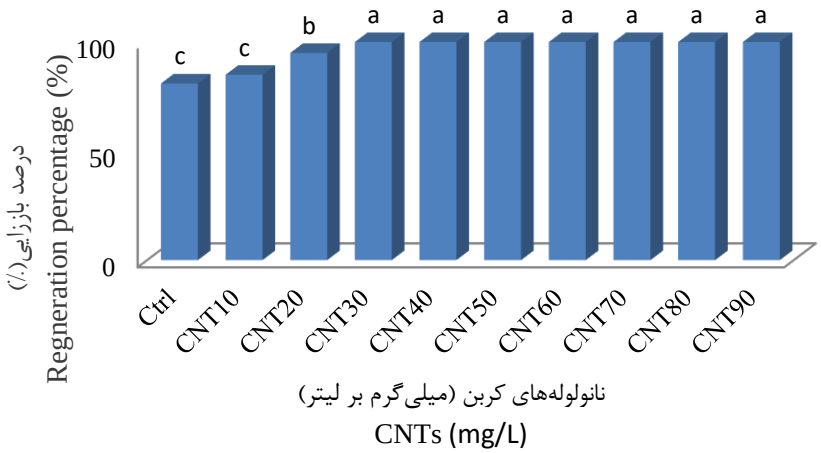

Fig. 3. The effects of different CNTs concentration on regeneration percentage of the Rosemary plants.

شکل ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر درصد باززایی گیاهچه‌های رزماری.

تعداد برگ

تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله‌های کربن تک جداره بر شاخص تعداد برگ گیاهچه‌های رزماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. بر اساس نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۴)، با افزایش غلظت نانولوله‌های کربن تک جداره در محیط کشت از ۱۰ تا ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر، تعداد برگ در گیاهچه‌های باززایی شده به طور پیوسته افزایش

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

می‌یابد به طوری که بیشترین تعداد برگ (۹ عدد) در تیمارهای ۹۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها و شاهد از خود نشان داد.

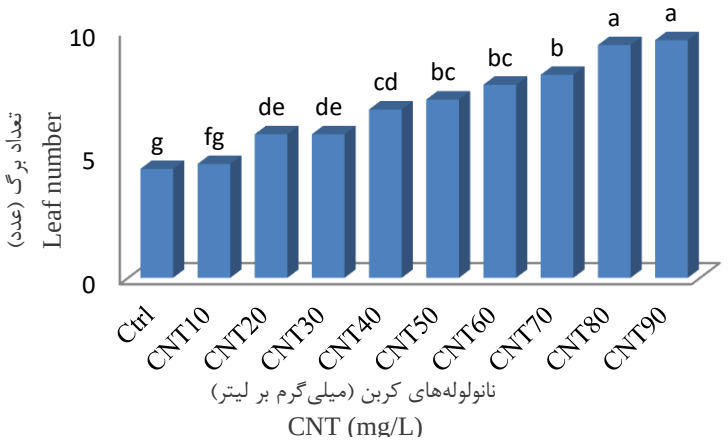

Fig. 4. The effects of different CNTs concentration on leaves number of the Rosemary plants.

شکل ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر تعداد برگ گیاهچه‌های رزماری.

ارتفاع گیاه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر غلظت نانولوله‌های کربن بر میزان ارتفاع گیاه رزماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، تیمار نانولوله‌های کربن بر شاخص ارتفاع گیاه رزماری تأثیر داشت، به طوری که باعث افزایش ارتفاع رزماری نسبت به شاهد گردید و بیشترین ارتفاع (۴/۴سانتی‌متر) در غلظت ۸۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر و کمترین ارتفاع (۲/۹۵سانتی‌متر) در شاهد مشاهده شد (شکل ۵).

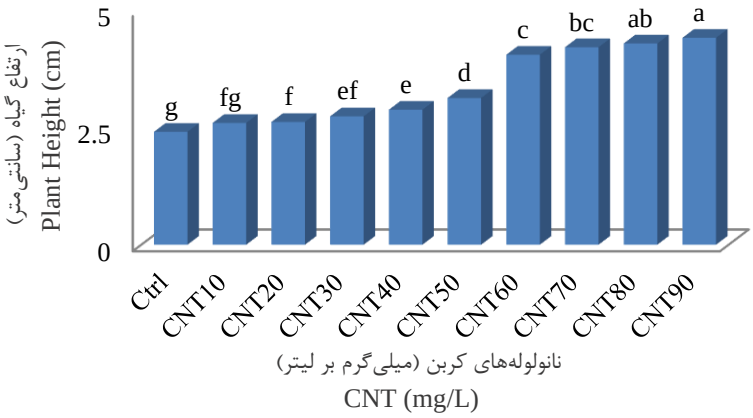

Fig. 5. The effects of different CNTs concentration on plantlet height of the Rosemary plants.

شکل۵- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر ارتفاع گیاهچه‌های رزماری.

سطح برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر غلظت نانولوله‌های کربن بر شاخص سطح برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین تأثیر نانولوله‌های کربن بر شاخص سطح برگ نشان داد بیشترین سطح برگ (۰/۴۳ سانتی‌مترمربع) مربوط به تیمار ۹۰ میلی‌گرم برلیتر نانولوله‌های کربن و کمترین(۰/۱۶ سانتی‌مترمربع) در تیمار شاهد به‌دست آمد که اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۶).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

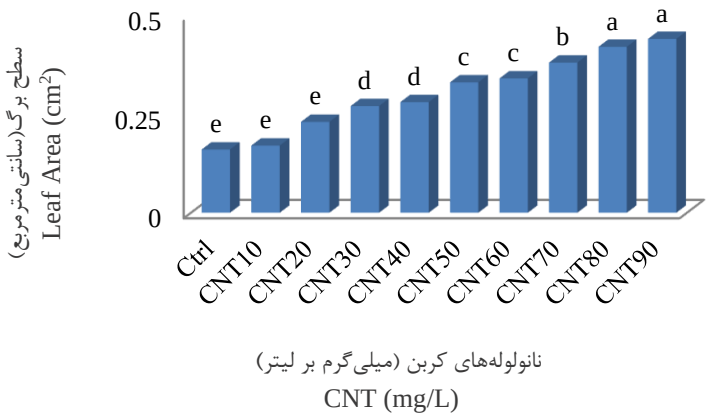

Fig. 6. The effects of different CNTs concentration on leaf area of the Rosemary plants.

شکل۶- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر سطح برگ گیاهچه‌های رزماری.

وزن تر

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر غلظت نانولوله‌های کربن بر شاخص وزن‌تر در سطح احتمال یک درصد بر این شاخص معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد بیشترین (۵/۷۴گرم) و کمترین (۲/۹۵گرم) وزن‌تر گیاه به ترتیب از تیمار ۹۰ میلی‌گرم برلیتر نانولوله‌های کربن و شاهد به‌دست آمد (شکل ۷).

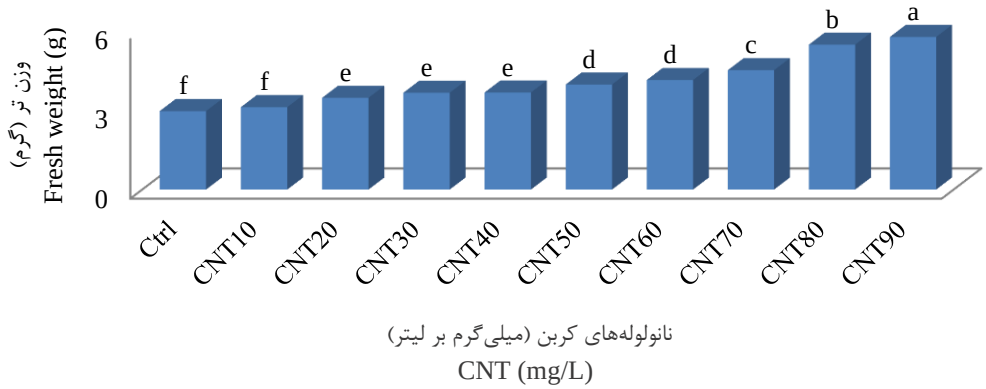

Fig. 7. The effects of different CNTs concentration on wet weight of the Rosemary plants.

شکل۷- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر وزن تر گیاهچه‌های رزماری.

میزان کلروفیل a

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر نانولوله‌های کربن بر میزان کلروفیل a گیاه نشان داد در سطح احتمال یک در صد بر این شاخص معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها بر میزان کلروفیل گویای این مطلب است که به موازات افزایش نانولوله‌های کربن میزان کلروفیل افزایش می‌یابد. بیشترین میزان کلروفیل a (۱۰/۹۴ میلی‌گرم در هر گرم) مربوط به تیمار ۸۰ و۹۰ میلی‌گرم بر لیتر و کمترین میزان کلروفیل a تیمار شاهد (۳/۳۳ میلی‌گرم در هر گرم) و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربن مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند (شکل ۸).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

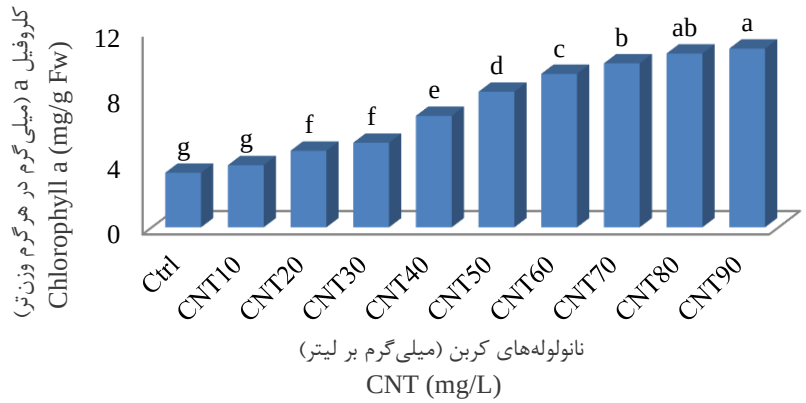

Fig. 8. The effects of different CNTs concentration on chlorophyll a content of Rosemary plants.

شکل ۸- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر میزان کلروفیل a در گیاه رزماری.

میزان کلروفیل b

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تأثیر نانولوله‌های کربن بر میزان کلروفیل b نشان داد که میزان کلروفیل b در گیاهان تیمار شده با نانولوله‌های کربن در سطح احتمال یک در صد بر این شاخص معنی‌دار بود. بیشترین میزان کلروفیل b (۴/۲۱ میلی‌گرم در هر گرم) مربوط به تیمار ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربن و کمترین میزان کلروفیل a تیمار شاهد (۱/۰۶ میلی‌گرم در هر گرم) و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربن به دست آمد (شکل ۹).

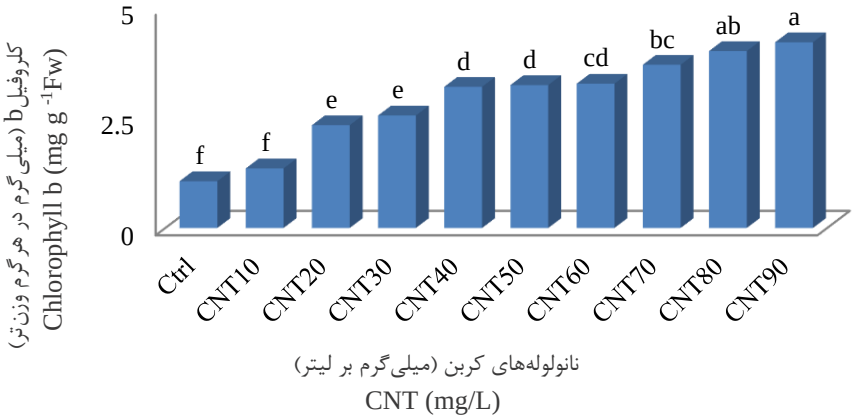

Fig. 9. The effects of different CNTs concentration on chlorophyll b content of the Rosemary plants.

شکل ۹- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر میزان کلروفیل b گیاه رزماری.

میزان کلروفیل کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تأثیر نانولوله‌های کربن بر میزان کلروفیل کل برگ گیاه رزماری نشان داد در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تأثیر نانولوله‌های کربن بر میزان کلروفیل کل گیاه نشان داد که استفاده از این ماده در غلظت‌های بیشتر از ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش محتوای کلروفیل کل نسبت به شاهد می‌شود. بیشترین میزان کلروفیل کل (۱۵/۱۵ میلی‌گرم در هر گرم) مربوط به تیمار نانولوله‌های کربن در غلظت ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر و کمترین میزان کلروفیل کل در تیمار شاهد (۴/۴ میلی‌گرم در هر گرم) مشاهده گردید که اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۱۰).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

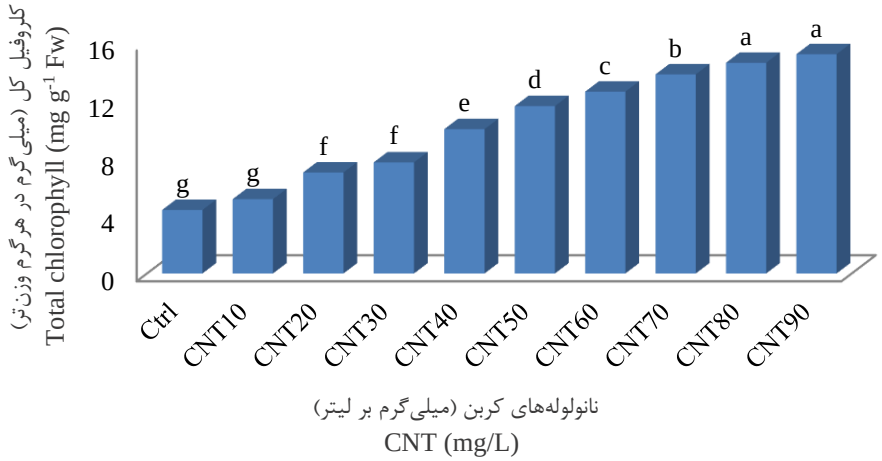

Fig. 10. The effects of different CNTs concentration on total chlorophyll content of the Rosemary plants.

شکل ۱۰- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر میزان کلروفیل کل گیاه رزماری.

میزان کاروتنوئید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر نانولوله‌های کربن بر محتوای کاروتنوئید در سطح احتمال یک در صد بر گیاه رزماری معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف نانولوله‌های کربن به طور معنی‌داری موجب افزایش کارتنوئیدها نسبت به شاهد می‌شود. بیشترین میزان کارتنوئید (۰/۵۷ میلی‌گرم در هر گرم) مربوط به غلظت‌های ۸۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربن و کمترین (۰/۳۲ میلی‌گرم در هر گرم) در تیمار شاهد به دست آمد که اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۱۱).

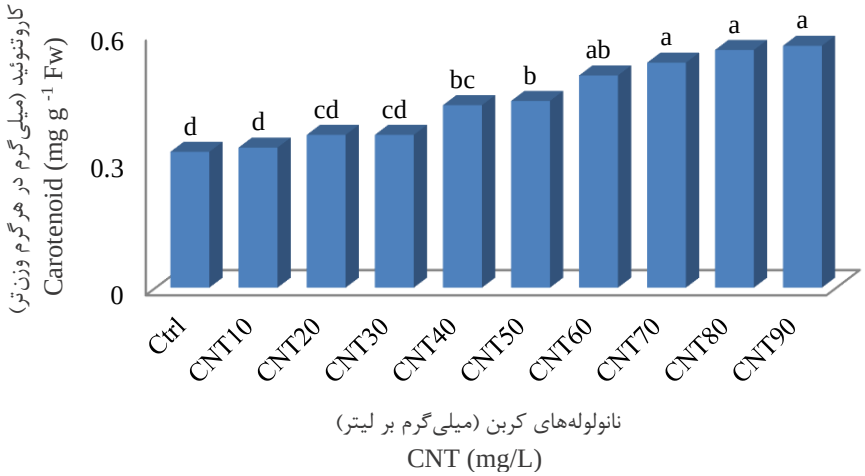

Fig. 11. The effects of different CNTs concentration on carotenoid content of the Rosemary plants.

شکل ۱۱- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر میزان کاروتنوئید گیاه رزماری.

میزان فنول کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر نانولوله‌های کربن بر میزان فنول کل اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر این شاخص داشت. مقایسه میانگین داده‌ها بر میزان فنول کل گیاه نشان داد که با افزایش غلظت نانولوله‌های کربن میزان فنول کل هم افزایش می‌یابد. بیشترین میزان فنول کل (۱۸۳ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم) در غلظت ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربن و کمترین میزان فنول کل (۴۳/۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم) در نمونه‌های شاهد مشاهده گردید که اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۱۲).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

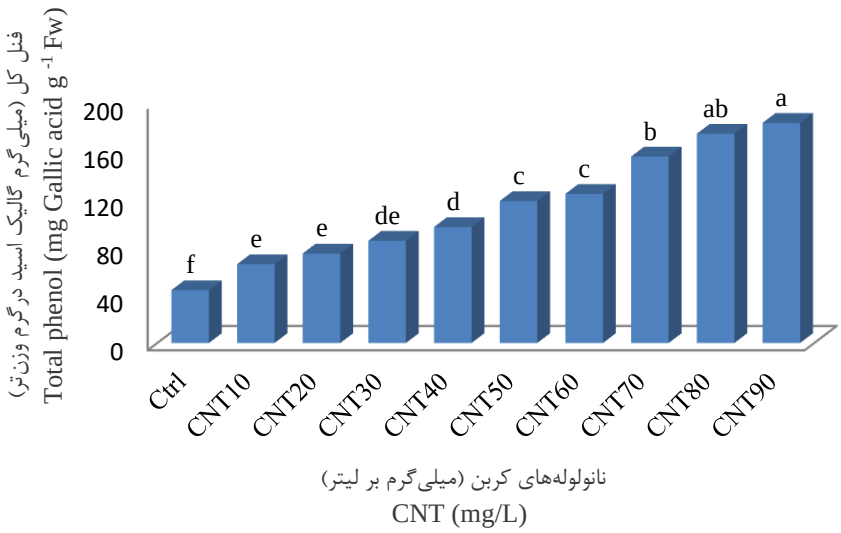

Fig. 12. The effects of different CNTs concentration on total phenol content of the Rosemary plants.

شکل ۱۲- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر میزان فنول کل گیاه رزماری.

میزان فلاونوئید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس در مورد ارزیابی میزان تأثیر نانولوله‌های کربن بر میزان فلاونوئید گیاه در هر سه طول موج مورد بررسی ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر نشان داد در سطح احتمال یک درصد بر این شاخص معنی‌دار بود. مقایسه میانگین تأثیر داده‌ها بر میزان فلاونوئید گیاه رزماری در هر سه طول موج مورد بررسی نشان داد که با افزایش غلظت نانولوله‌های کربن مقدار فلاونوئید افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه‌های شاهد نشان داد به طوری که بیشترین میزان فلاونوئید (۰/۰۵۸ میلی مولاردر هرگرم) در غلظت ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربن در طول موج ۲۷۰ نانومتر و کمترین (۰/۰۱۵ میلی مولاردر هرگرم) در طول موج ۳۳۰ نانومتر در نمونه‌های شاهد مشاهده گردید که اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۱۳، ۱۴ و ۱۵).

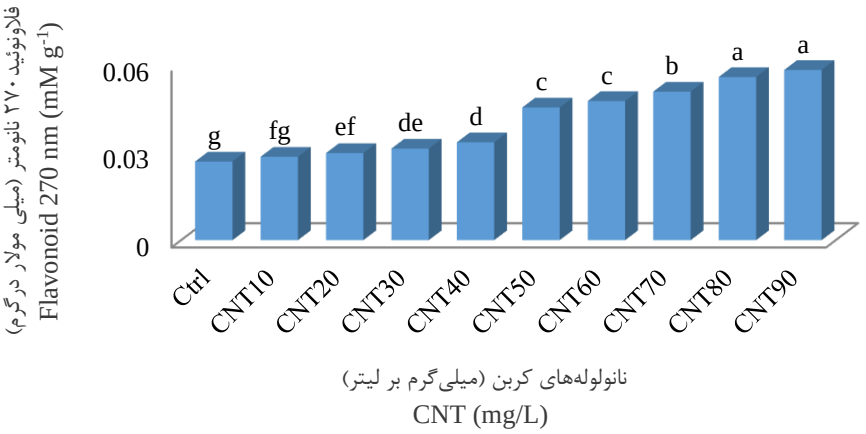

Fig. 13. The effects of different CNTs concentration on flavonoid content of Rosemary plants in 270 nm wave length.

شکل ۱۳- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر میزان فلانوئید گیاه رزماری در طول موج ۲۷۰ نانومتر.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

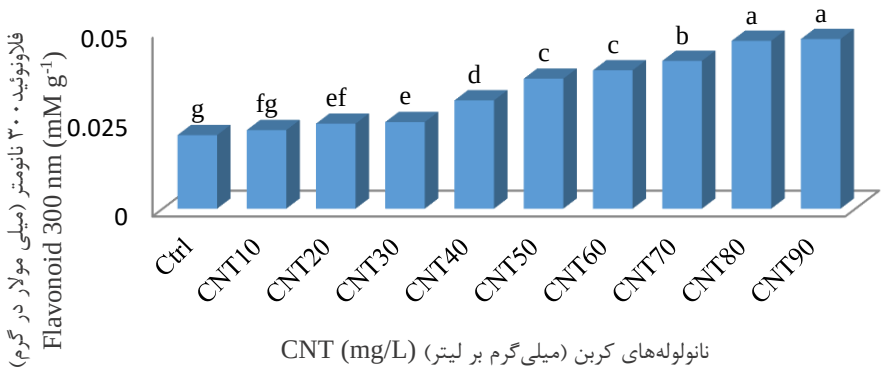

Fig. 14. The effects of different CNTs concentration on flavonoid content of Rosemary plants in 300 nm wave length.

شکل ۱۴- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر میزان فلانوئید گیاه رزماری در طول موج ۳۰۰ نانومتر.

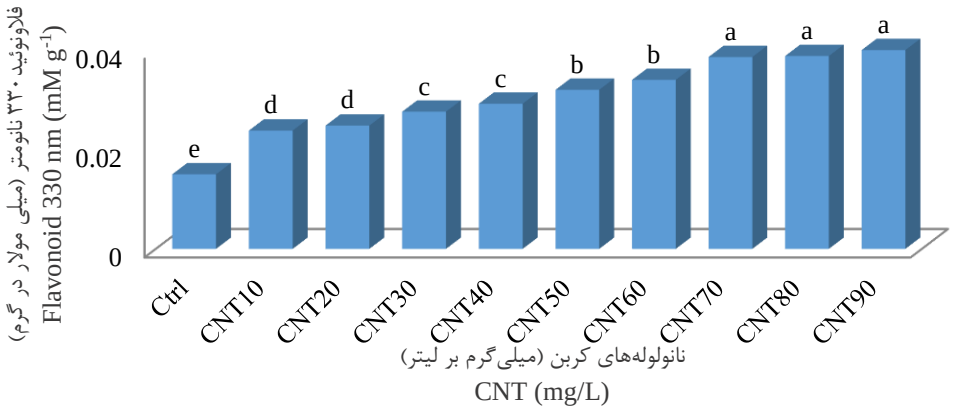

Fig. 15. The effects of different CNTs concentration on flavonoid content of Rosemary plants in 330 nm wave length.

شکل ۱۵- تأثیر غلظت‌های مختلف نانولوله کربن بر میزان فلانوئید گیاه رزماری در طول موج ۳۳۰ نانومتر.

بحث

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد نانولوله‌های کربنی تک جداره در محیط کشت رزماری سبب افزایش معنی‌دار شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی آن شامل درصد باززایی، تعداد برگ و ارتفاع گیاهچه‌های باززایی شده، سطح برگ و وزن تر، همچنین کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و فنول کل گردیده است. در پژوهش‌های مشابه نیز، Heydari (۲۰۱۳) گزارش نمود که کاربرد نانولوله‌های کربنی چند جداره سبب افزایش درصد پینه‌زایی، رشد پینه، القاء اندام‌های شبه پداژه، سرعت و میزان پرآوری گیاهچه و همچنین تعداد برگ، ارتفاع و وزن تر گیاهچه‌های باززایی شده در گیاه آنتوریوم در شرایط درون شیشه‌ای شده است. در پژوهشی، Taha و همکاران (۲۱) گزارش کردند که کاربرد ریزلوله‌های کربنی چند جداره سبب افزایش معنی‌دار تشکیل رویان‌های سوماتیکی خرما و همچنین افزایش معنی‌دار تعداد برگ، طول و تعداد ریشه و ارتفاع گیاهچه‌های حاصل از رویان‌های سوماتیکی شده است. در پژوهش دیگری در زمینه تأثیر نانولوله‌های کربنی بر شاخص‌های رشدی درون شیشه‌ای پروانش مشخص شد که غلظت‌های ۵۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر این ترکیبات سبب افزایش معنی‌دار وزن تر برگ، سطح برگ، وزن تر کل، طول ریشه و همچنین میزان کلروفیل این گیاه نسبت به شاهد

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

شده است. همچنین افزایش وزن تر پینه تنباکو[1] (۱۵) ، مرزه خوزستانی[2] (۹) و مریم گلی[3] (۴) در اثر کاربرد نانولوله‌های کربنی گزارش شده است. گزارش‌های مذکور با نتایج به دست آمده در این پژوهش هم راستا می‌باشند. یکی از دلایل احتمالی تأثیر نانولوله‌های کربنی بر شاخص‌های رشدی گیاهان را می‌توان به مشابهت عملکرد آن‌ها با سایتوکینین‌ها مرتبط دانست. از مهم‌ترین دلایل برای اثبات تشابه در عملکرد نانولوله‌های کربنی و سایتوکینین ها، می‌توان به نقش آن‌ها در چرخه یاخته‌ای اشاره نمود. سایتوکینین ها از طریق افزایش بیان ژن CycD3 در مراحل G1 تا S چرخه یاخته‌ای بر تقسیم یاخته‌ای در گیاه تأثیر می‌گذارند. در کشت یاخته‌ای آرابیدوپسیس[4] مشخص شده است که بیان ژن CycD3 در اثر کاربرد سایتوکینین و ساکارز در مرحله G1 و اندکی قبل از مرحله S القا می‌گردد. ژن CycD3 در فرایندهای رشد و تمایز بافت‌های گیاهی نقش مهمی دارند و بیان این ژن در بافت‌های در حال پرآوری از مریستم، سرآغازه برگ‌های جوان، جوانه‌های جانبی و بافت‌های آوندی و پروکامبیوم برگ‌های بالغ به اثبات رسیده است. دیگر مکانیسم تأثیر سایتوکینین‌ها بر تنظیم چرخه یاخته‌ای از طریق تأثیر بر بیان ژن CDC25 می‌باشد که این ژن نیز سبب بیان ژن CDKA/B شده و بیان این ژن چرخه یاخته‌ای را در انتقال از مرحله G2 به M کنترل می‌کند. افزایش ۱۵ برابری در بیان ژن CycB که نقش تنظیم‌کننده در چرخه تقسیم یاخته‌ای دارد، در اثر کاربرد نانولوله‌های کربنی کربوکسیله در کشت یاخته‌ای پینه تنباکو گزارش شده است. مشخص شده که بیان ژن CycB1 نیز سبب بیان ژن CDKA/B می‌شود. با توجه به این که هر دو ژن CycD3 و CycB از خانواده ژن‌های سیکلین بوده و در چرخه تقسیم یاخته‌ای نقش دارند و همچنین مسیر مشابه سایتوکینین‌ها و ریزلوله‌های کربنی در تنظیم چرخه یاخته‌ای از مرحله G2 به M می‌توان نتیجه گرفت که ممکن است نانولوله‌های کربنی فعالیت شبه سایتوکینینی داشته و یا پاسخ‌هایی مشابه سایتوکینین‌ها ایجاد می‌کنند. تأثیر نانولوله‌های کربنی چند جداره، بر افزایش بیان برخی ژن‌های دیگر نیز گزارش شده است (۱۵). در پژوهش حاضر، مشاهده شد که با افزایش غلظت نانولوله‌های کربنی تک جداره در محیط کشت رزماری از ۱۰ تا ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر، میزان فنول کل نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین میزان فنول کل در تیمار ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر ثبت شد. افزایش ترکیبات فنولی در پاسخ به کاربرد نانولوله‌های کربنی در کشت پینه مرزه خوزستانی (۹) و کشت سوسپانسیون مریم گلی (۴) نیز مشاهده شده است که در هر سه گزارش افزایش میزان ترکیبات فنولی همراه با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز و همچنین افزایش سطح پراکسید هیدروژن همراه بوده است. در حقیقت می‌توان اینطور نتیجه گرفت که نانولوله‌های کربنی سبب القاء شرایط تنش در گیاهان شده و از طریق افزایش اکسیژن‌های فعال در سلول‌های گیاهی، میزان تولید ترکیبات فنولی را افزایش می‌دهند (۵)، زیرا ترکیبات فنولی اولین پاسخ گیاهان برای مقابله با اکسیژن‌های فعال در شرایط تنش هستند. در پژوهشی توسط Ghorbanpour و Hadian (۲۰۱۵) اثرات نانولوله‌های کربنی تک جداره را روی القاء پینه و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاه مرزه در شرایط درون شیشه‌ای بررسی و گزارش گردید که که محتوای فلاونوئید، فنول کل و فعالیت آنتی اکسیدانی با قرار گرفتن در معرض سطوح (۱۰۰میلی‌گرم در لیتر) نانولوله‌های کربنی چند جداره در مقایسه با شاهد به طور معنی داری افزایش یافت. آن‌ها همچنین اشاره کردند که تغییرات در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه به محض قرار گرفتن در معرض نانولوله‌های کربنی چند دیواره می‌تواند مربوط به فعالیت آنزیم‌های مختلف مانند فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)، پراکسیداز (POD) و پلی فنول اکسیداز (PPO) باشد.

طبق نظریه Khodakovskaya و همکاران، ممکن است ورود نانو ذرات به درون بافت‌های گیاه، توسط گیاه یک تنش زیستی مانند حمله عامل بیماری‌زا یا گیاهخواران احساس شده و سبب تغییر یا فعال شدن مسیرهای مهم انتقال سیگنال‌های تنشی در گیاه و در نتیجه تغییر در برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه گردد. علت بیان این نظریه افزایش بیان ژن‌های رمز کننده آنزیم‌های تریئونین دی آمیناز، ملویدیژن و اندوپروتئاز در ریشه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده به نانولوله‌های کربنی می‌باشد. بیان این ژن در گوجه‌فرنگی در هنگام حمله عامل بیماری‌زا و گیاهخواران افزایش می‌یابد. ممکن است غلظت‌های بالای نانولوله‌های کربنی، سبب اختلال در پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه شده و باعث کاهش رشد گردد. در پژوهشی، Begum و همکاران (۲) بیان نمودند در اثر کاربرد غلظت‌های بالای نانولوله‌های کربنی چند جداره (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در مرحله جوانه‌زنی بذرهای اسفناج قرمز، خیار و کاهو، سبب افزایش در میزان تولید اکسیژن‌های فعال در بافت‌های گیاه می‌گردد

۱- *Nicotiana tabacum* ۲- *Satureja khuzestanica* ۳- *Rosmarinus officinalis* L. ۴- *Arabidopsis thaliana*

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

که این امر سبب کاهش طول ساقه چه و ریشه‌چه دانهال می‌شود (۲۲). افزایش میزان بیان ژن‌های مرتبط با تنش و همچنین میزان اکسیژن‌های فعال در پاسخ به نانولوله‌های کربنی توسط پژوهشگران دیگر نیز به اثبات رسیده است (۹). کلروفیل a در غلظت بالاتری نسبت به کلروفیل b، معمولاً ۳ به ۱ است بنابراین کلروفیل a مستعد دریافت بیشتری نانولوله‌های کربن به عنوان فاکتورهای محیطی است. نانولوله‌های کربنی با نفوذ به یاخته‌های اپیدرم و انتقال از طریق اندوسیتوز به دیواره‌های یاخته‌ای، میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها را دارند (۲۳). در گیاه اسفناج کاربرد نانولوله‌های کربن به دلیل عمل تحریک در جذب نور ناشی از نفوذ نانولوله‌های کربن به غشاهای کلروپلاست، باعث افزایش فعالیت الکترون و فعالیت فتوسنتزی می‌شود (۶). به همین ترتیب Giraldo و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که استفاده از نانومواد کربن در اسفناج باعث افزایش تعداد و اندازه کلروپلاست‌ها شد و در نتیجه، افزایش کلروفیل‌ها و فعالیت فتوسنتزی مشاهده شد. نتایج کاربرد نانولوله‌های کربن چندجداره بر گیاه سویا نشان داد که باعث جذب قابل توجه روی و مس در گیاه می‌شود و غلظت منیزیم حتی افزایش یافته است. میزان کلروفیل موجود در برگ‌های گوجه فرنگی تحت تیمار با نانولوله‌های کربنی در بین تیمارها قابل توجه بود، از آنجا که تمام تیمارهای اعمال شده با نانولوله‌های کربنی میزان کلروفیل را افزایش داد. بهترین پاسخ را ۶۶٪ بیشتر از شاهد در۱۰۰میلی‌گرم بر لیتر در نانوله‌های کربن مشاهده شد و افزایش کلروفیل کل هم ناشی از افزایش در کلروفیل a بود، افزایش کلروفیل b هم ۲۵٪ درصد نسبت به شاهد نشان داد. نتایج به دست آمده در این کار مطابق با گزارش های موجود در متن است که نشان می‌دهد استفاده از نانولوله‌های کربن باعث پاسخ‌های مطلوب در رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه می‌شود. که به طور بالقوه می‌تواند ظرفیت فتوسنتزی را افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، جزئیات اثرات نانولوله‌های کربنی تک جداره بر خصوصیات گیاهچه‌های رزماری مورد بررسی قرار گرفت. مشاهدات تجربی نشان داد که نانولوله‌ها می‌توانند به طور قابل توجهی باعث افزایش رشد، پرآوری، تولید ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در گیاهچه‌های رزماری شوند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت نانولوله‌های کربنی با مکانیسم‌های خاصی از جمله؛ افزایش جذب آب و املاح، باعث ترویج رشد و طویل شدن یاخته‌ها و همچنین بهبود فعالیت یاخته‌های گیاهی می‌شوند. به دنبال افزایش رشد یاخته‌ها و افزایش سرعت متابولیسم در آن‌ها، سرعت رشد و پرآوری گیاهچه‌ها هم بیشتر شده و متابولیت‌های تولیدی توسط یاخته‌ها با سرعت بیشتری افزایش پیدا می‌کنند. این چنین به نظر می‌آید که غلظت‌های به کار برده شده در این آزمایش برای گیاهچه‌های رزماری مطلوب خواهد بود. غلظت‌های ۴۰ تا ۹۰ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند به عنوان غلظت‌های مناسب جهت برای بهبود شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی برای این گیاه معرفی گردند. این پژوهش علاوه بر این که از نظر استفاده کاربردی نانو ذرات در علوم کشاورزی حائز اهمیت است، بلکه افق های جدیدی برای درک تأثیر نانو مواد بر افزایش رشد و تولید برخی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان ارائه می‌کند. کاربرد نانولوله‌ها در فناوری‌های مربوط به نانو کشاورزی آینده‌ای بسیار روشنی دارند. دانشمندان کشاورزی و پژوهشگران حوزه کشاورزی وظیفه مشترک دارند تا دوز صحیح، روش کار و مدت زمان استفاده از این ترکیب را به منظور بهره‌مندی از مزایای استفاده از نانولوله‌ها شناسایی کنند.

منابع References

1. Arnon, A., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. J. Agron. 23: 112-121.
2. Begum, P., R. Ikhtiari, B. Fugetsu, M. Matsuoka, T. Akasaka and F. Watari. 2012. Phytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes assessed by selected plant species in the seedling stage. Appl. Surf. Sci., 262: 120-124.
3. Bhati, A., G. Gunture, K.M. Tripathi, A. Singh, S. Sarkar and S.K. Sonkar. 2018. Exploration of nano carbons in relevance to plant systems. New J. Chem. 42: 16411-16427.
4. Chamani, E., F. Narimaniyan, Y. Pourbeyrami Hir and H.R. Heydari. 2021. Effects of various nitrogen sources on some morpho-physiological characteristics of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) under in vitro conditions. Iranian J. Med. Arom. Plant Res. 37: 549-562.
5. Chen, L., J. Yang, X. Li, T. Liang, C. Nie, F. Xie, K. Liu, X. Peng and J. Xie. 2020. Carbon nanoparticles

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

enhance potassium uptake via upregulating potassium channel expression and imitating biological ion channels in BY-2 cells. J. Nanobiotechnol. 18: 21.

6. Chichiriccò, G., and A. Poma. 2015. Penetration and toxicity of nanomaterials in higher plants. J. Nanomater, 5: 851-873.
7. Coskun, Y., R.E. Duran and S. Kilic. 2019. Striking effects of melatonin on secondary metabolites produced by callus culture of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Plant Cell, Tiss. Org. Cult., 138: 89-95.
8. Ghasempour, M., A. Iranbakhsh, M. Ebadi and Z. Oraghi Ardebili. 2019. Multi-walled carbon nanotubes improved growth, anatomy, physiology, secondary metabolism, and callus performance in *Catharanthus roseus*: an *in vitro* study. Biotechnology, 9: 404.
9. Ghorbanpour, M. and J. Hadian. 2015. Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant *Satureja khuzestanica* grown *in vitro*. Carbon, 94: 749-759.
10. Giraldo, J., P.M.P. Landry, S.M. Faltermeier, T.P. Mcnicholas, N.M. Iverson, A.A. Boghossian, N.F. Reuel, A. J. Hilmer, F. Sen, J. A. Brew, M. S. Strano. 2014. Plant nanobionics approach to augment photosynthesis and biochemical sensing. Nat. Mater. 13: 1-400
11. Heydari, H. 2013. A Study on Application of Carbon Nanotubes (CNTs) as a Plant Growth Regulator in *Anthurinium andreanum* L. Micropropagation, University of Tarbiat Modares. Thesis M.Sc. 35-70.
12. Heydari, H.R., E. Chamani and B. Esmaielpour. 2020. Cell line selection through gamma irradiation combined with multi-walled carbon nanotubes elicitation enhanced phenolic compounds accumulation in *Salvia nemorosa* cell culture. Plant Cell, Tiss. Org. Cult., 142: 353-367.
13. Jordan, J.T., K.P. Singh and J.E. Cañas-Carrell. 2018. Carbon-based nanomaterials elicit changes in physiology, gene expression, and epigenetics in exposed plants: A review. Curr. Opin. Environ. Sci. 6: 29-35.
14. Khodakovskaya, M.V., B.S. Kim, J.N. Kim ,M. Alimohammadi, E. Dervishi, T. Mustafa and C.E. Cernigla. 2013. Carbon nanotubes as plant growth regulators: Effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. Small, 9: 115-123.
15. Khodakovskaya, M.V ,.K. De Silva, A.S. Biris, E. Dervishi and H. Villagarcia. 2012. Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. ACS Nano, 6: 2128-2135.
16. Kralova, K. and J. Jampilek, 2021. Responses of Medicinal and Aromatic Plants to Engineered Nanoparticles. Appl. Sci. 11.
17. Krizek, DT., S.J. Britz and R.M. Mirecki. 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth cv. New Leaf Fire lettuce. Physiol. Plant. 103: 1-7.
18. Lamponi, S., M.C. Baratto, E. Miraldi, G. Baini and M. Biagi. 2021. Chemical profile, antioxidant, anti-proliferative, anticoagulant and mutagenic effects of a hydroalcoholic extract of Tuscan *Rosmarinus officinalis*. Plants, 10: 97.
19. Phillipson, J.D. 2001. Phytochemistry and medicinal plants. Phytochemistry, 56: 237-243.
20. Slinkard, K. and V.L. Singleton. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. Am J Enol Vitic., 28: 49-55.
21. Taha, R.A., M.M .Hassan, E.A. Ibrahim, N.H. Abou Baker and E.A. Shaaban. 2016. Carbon nanotubes impact on date palm in vitro cultures. Plant Cell, Tiss. Org. Cult., 127: 525-534.
22. Younes, N., A.M.F. Dawood, A.A. Wardany. 2019. Biosafety assessment of graphene nanosheets on leaf ultrastructure, physiological and yield traits of capsicum *Annuum* L. and *Solanum melongena L*. Chemosphere, 228: 318-327.
23. Yousefi, S., D. Kartoolinejad and R. Naghdi. 2017. Effects of priming with multi-walled carbon nanotubes on seed physiological characteristics of Hopbush (*Dodonaeaviscosa* L.) under drought stress. Int. J. Environ. Sci. 74: 528-539.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

24. Yue, W., Q.L. Ming, B. Lin, K. Rahman, C.J. Zheng, T. Han and L.P. Qin. 2016. Medicinal plant cell suspension cultures: pharmaceutical applications and high-yielding strategies for the desired secondary metabolites. Crit. Rev. Biotechnol. 36: 215-232.
25. Zhao, G., Y. Zhao, W. Lou, J. Su, S. Wei, X. Yang, R. Wang, R. Guan, H. Pu and W. Shen. 2019. Nitrate reductase-dependent nitric oxide is crucial for multi-walled carbon nanotube-induced plant tolerance against salinity. Nanoscale, 11:10511-10523.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 24 (1): 95-110 (2023)
Research article

Investigation on the Effects of Carbon Nanotubes application on Regeneration of the Rosemary Plants under *In vitro* Conditions

Y. Pourbeyrami Hir*, M. Khosravi Mejdar, M. Torabi Giglou, E. Chamani, H. Maleki Lajayer and M. Ahadzadeh[1]

Due to the distinctive physicochemical properties of the carbon nanotubes (CNTs) in enhancing photosynthesis efficiency, the aim of this study was to evaluate the effect of single-walled CNTs on morphological and physiological characteristics of rosemary. The experiment was performed in a completely randomized design with 10 concentrations of carbon nanotubes in 5 replications. The effect of CNTs on the morphological and physiological characteristics of rosemary was significant. Data means comparison showed that the highest height was observed at a concentration of 90 mg L^{-1} and the lowest was in control. The lowest regeneration percentage was in control. However, the results showed that the most and least leaf number was obtained from CNTs at the rate of 90 mg L^{-1} and control. The 90 mg L^{-1} concentration of CNTs had the highest leaf area and fresh weight. Also, the means comparison of physiological traits showed that the highest and lowest amount of chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid, flavonoid and total phenol were observed in CNTs at the rate of 90 mg L^{-1} and control, respectively. It is hoped that this method will be used for regeneration and the use of secondary metabolites in other plants.

Keywords: Carbon nanotubes, Rosemary, Secondary metabolites, Tissue culture.

1. Assistant Professor, Former M.Sc. Student, Associate Professor, Professor, Assistant Professor and M.Sc. Student, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, respectively.
* Corresponding Author, Email: (Younes_ph62@uma.ac.ir).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-06]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1402.24.1.8.3]