

# Microscopic investigation of cold plasma effect on chickpea seed germination

M. Fereydooni<sup>1</sup>, H. Haji Agha Alizadeh<sup>2\*</sup>

Received: 18-09-2020

Accepted: 25-11-2020

## Introduction

As the world's population grows, need to produce more food also increases. Plasma technology is one of the methods that can improve plant growth. Cold plasma is effective in increasing growth and germination indices. In this article, effect of cold plasma based on corona discharge was investigated on germination of Adel, Mansur and Azad chickpea varieties.

## Materials and Methods

In corona discharge method, a relative vacuum were used. Corona discharge is formed when there are pronounced spatial inhomogeneities in the electric field, in particular, when the electric field exceeds the breakdown threshold in a limited spatial region. This commonly occurs when highly asymmetric electrodes are employed, such as a point and a plane. Thermodynamically corona is a very nonequilibrium process, creating a non-thermal plasma. The avalanche mechanism does not release enough energy to heat the gas in the corona region generally and ionize it, as occurs in an electric arc or spark. Only a small number of gas molecules take part in the electron avalanches and are ionized, having energies close to the ionization energy of 1 - 3 eV, the rest of the surrounding gas is close to ambient temperature. Corona discharge is a weakly ionised non-equilibrium plasma based on the avalanche mechanism. If it reaches close distance with a conductive material or you increase the electrical field, it can create longer breakdown streamers and eventually create sparks. The system is designed to convert 220V voltage with a frequency of 50 Hz to 12 kV voltage with a frequency of 9 kHz. Two electrodes with 2 cm distance are in a vacuum chamber with a negative pressure of 20 pounds per square inch. And the samples are placed between two electrodes. Experiment was performed in form of a factorial experimental design based on a CRD. In this plan, treatments are randomly placed in experimental units. Type of factorial experiment performed is 3×3×2×2 and multiplied numbers are factor levels. Seed production year factor in two levels, moisture factor in two levels, Seed variety factor in three levels and exposure duration factor in three levels were examined. Plasma-exposed seeds and non-exposed seeds were grown under the same conditions. The samples were selected completely randomly. The samples were wetted 24 hours before exposure. Then all 18 chickpeas were placed in a dish in order to observe proper repetition. Samples from each dishes were exposed to cold plasma under the same conditions between samples for a specified period of time. After exposing the samples to cold plasma, samples of all dishes under the same conditions at 30 °C and 300 lux environmental light were examined for germination evaluation. For this purpose, samples of each dish were placed in a cover of cotton cloth. They got wet every 4 hours. After 48 hours, all samples were examined and root length of each sample was measured.

## Results and Discussion

The results showed that seeds exposed to plasma for 60 seconds had a faster germination speed than those without exposure. Also, seeds that were exposed to plasma for 30 seconds had a longer root length than those without exposure. According to the results of statistical analysis, exposure to cold plasma for 30 seconds has increased root length in Adel chickpea variety up to 12.5% and in Mansour variety up to 18%.

## Conclusion

After statistical analysis, appear that root length under the same conditions, during 30 seconds of exposure to cold plasma, is significant at 5% level from non-exposure and 60 seconds of exposure. Microscopic images of samples were examined on outer surface and inner tissue of seed cell. Studies have shown that the outer surfaces of seeds exposed to cold plasma are smoother, less prominent and smaller contact angle than those without exposure to plasma. This change can increase the hydrophilicity of seeds. But cold plasma had no effect on cell tissue in terms of size and number.

**Keywords:** Cold Plasma, Microscopic Image, Chickpea, Germination

---

1- PhD student of Department of Biosystem, Faculty of Agriculture, BuAli Sina University, Hamedan, Iran

2- Associate Professor, Department of Biosystem, Faculty of Agriculture, BuAli Sina University, Hamedan, Iran

(\*- Corresponding Author Email: h-alizade@basu.ac.ir)

DOI: [10.22067/jam.v12i2.88718](https://doi.org/10.22067/jam.v12i2.88718)

## مقاله پژوهشی

## بررسی میکروسکوپی اثر پلاسمای سرد بر جوانه‌زنی بذر نخود

محسن فریدونی<sup>۱</sup>، حسین حاجی‌آقالیزاده<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۰۵

## چکیده

با افزایش جمعیت جهان، نیاز به تولید مواد غذایی بیشتر نیز افزایش می‌یابد. فناوری پلاسما یکی از روش‌هایی است که می‌تواند رشد گیاه را بهبود بخشد. پلاسمای سرد در افزایش شاخص‌های رشد و جوانه‌زنی موثر است. در این مقاله، تأثیر پلاسمای سرد بر پایه تخلیه کرونا بر جوانه‌زنی ارقام نخود عادل، منصور و آزاد بررسی شد. در روش تخلیه کرونا، از خلا نسبی استفاده شد. پژوهش حاضر در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی انجام شد. بذره‌های مواجهه با پلاسما و بذره‌های شاهد در شرایط یکسان برای جوانه‌زنی نگهداری شدند. نتایج نشان داد سرعت جوانه‌زنی در بذره‌هایی که به مدت ۶۰ ثانیه مواجهه با پلاسمای سرد داشتند، بیشتر از بذره‌های بدون مواجهه بود. همچنین بذره‌های ارقام عادل و منصور که به مدت ۳۰ ثانیه در مواجهه با پلاسمای سرد قرار گرفتند، دارای طول ریشه بیشتری نسبت به بذره‌های بدون مواجهه بودند. پس از تجزیه و تحلیل آماری، مشخص شد که طول ریشه در شرایط یکسان، در مدت زمان مواجهه ۳۰ ثانیه در معرض پلاسمای سرد، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ نسبت به حالت‌های مواجهه ۶۰ ثانیه و بدون مواجهه با پلاسمای سرد دارد. تصاویر میکروسکوپی از سطح خارجی و بافت داخلی سلول بذر در نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌ها نشان دادند که سطوح خارجی بذره‌های در معرض پلاسمای سرد نسبت به شاهد هموارتر، دارای برجستگی کمتر و زاویه سطح تماس کمتری هستند. این تغییر می‌تواند خاصیت آبدوستی را افزایش دهد. اما در مواجهه بذر با پلاسمای سرد، تغییری در بافت داخلی سلول مشاهده نگردید.

واژه‌های کلیدی: پلاسمای سرد، تصویر میکروسکوپی، جوانه‌زنی، نخود

## مقدمه

افزایش تولید محصولات کشاورزی، از ضروریات زندگی بشر امروز است. از طرفی یکی از حیوانات پرمصرف نخود است و یکی از فناوری‌های به‌کار رفته در بهبود رشد گیاه، استفاده از پلاسمای سرد است. مطالعات مختلفی در مورد تأثیر پلاسما بر جوانه‌زنی بذر انجام شده است. در یک مطالعه، تیمار پلاسمای سرد برای بهبود جوانه‌زنی و افزایش محتوای فتوشیمیایی زیستی برنج قهوه‌ای جوانه‌زده بررسی شد (Yodpitak et al., 2019). در مطالعه دیگری پیش‌بینی جوانه‌زنی در بسترهای بذر گیاهان غیر زراعی نیمه‌خشک مورد بررسی قرار گرفت (Rawlins et al., 2012). برای پیش‌بینی جوانه‌زنی در کلزا از مدل ریاضی استفاده شد (Jian et al., 2014). استفاده از پلاسمای مبتنی بر تخلیه الکتریکی کرونا بر تغییر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نشاسته موز در تایوان بررسی شد (Wu et al., 2018). پلاسمای سرد اتمسفری از طریق میدان متغیر باعث افزایش تخلیه کرونا نسبت به سد دی‌الکتریک برای کاربردهای مختلف گردید (Khamseen et al., 2016a). پلاسمای کرونا و میدان‌های الکتریکی برای تصفیه آب استفاده شده‌اند (Banaschik et al., 2016). توسعه سیستم پلاسمای کرونا با کنترل خودکار برای غیرفعال کردن پاتوژن در محیط کشت هیدروپونیک گوجه‌فرنگی بررسی شد (Takahashi et al., 2018). توسعه دستگاه استریلیزاسیون با استفاده از جت پلاسمای غیرحرارتی بر پایه تخلیه کرونا با فشار هوا مورد مطالعه قرار گرفت (Kuwahara et al., 2012). از جت پلاسمای تخلیه کرونا برای ضدعفونی میکروبی حوضچه خشک استفاده شد (Kim et al., 2015). سطح ماده آلی و بیولوژیکی از طریق پلاسمای سرد جوی ناشی از تخلیه کرونا اصلاح شد (Khamseen et al., 2016b). پیش‌تیمار پلاسمای سرد باعث بهبود جوانه‌زنی مارچوبه وحشی شد (Loporto et al., 2019). اثر پلاسمای غیرحرارتی بر متغیرهای جوانه‌زنی بذره‌های سویا بررسی شد (Perez et al., 2018). پلاسما بر پایه تخلیه سد دی‌الکتریک میکروارگانسیم‌های روی بذره‌های جوانه‌زده را غیرفعال نمود (Butscher et al., 2016). در پژوهشی صفات کمی و کیفی نشاسته در طول جوانه‌زنی بذر شنبلیله بررسی شد. سنجش کمی و

۱- دانشجوی دکتری، گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲- دانشیار، گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

\* - نویسنده مسئول (Email: h-alizade@basu.ac.ir)

تصویربرداری میکروسکوپی نشان داد که مقدار نشاسته در ۴۸ ساعت پس از جوانه‌زنی به بالاترین میزان رسیده است (Bakhshy et al., 2020). اثر آب مغناطیسی بر پنج رقم گندم در سطوح مختلف دو تیمار مدت زمان مواجهه و میدان مغناطیسی، مورد بررسی قرار گرفت (Zarei et al., 2020). اما تاکنون تحقیقی برای بررسی تأثیر پلاسمای سرد بر جوانه‌زنی نخود انجام نشده است. در این پژوهش، تأثیر پلاسمای سرد بر پایه تخلیه کرونا بر جوانه‌زنی ارقام نخود عادل، منصور و آزاد بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

### سامانه پلاسمای سرد

تخلیه کرونا زمانی ایجاد می‌شود که ناهمگنی مکانی در میدان الکتریکی ایجاد شود، به‌ویژه هنگامی که میدان الکتریکی از یک آستانه شکست در یک منطقه محدود فراتر رود (Raizer et al., 2011). این امر معمولاً هنگامی اتفاق می‌افتد که از الکترودهای بسیار نامتقارن مانند نقطه و صفحه استفاده شود (Misra et al., 2016). از نظر ترمودینامیکی، کرونا یک فرآیند غیرتعادلی بوده و پلاسمای غیرحرارتی ایجاد می‌کند. این فرآیند، انرژی کافی را برای گرم کردن گاز در منطقه کرونا و یونیزه کردن آن آزاد نمی‌کند، همان‌طور که در یک قوس الکتریکی یا جرقه اتفاق می‌افتد. فقط تعداد کمی از مولکول‌های گاز در فرآیند بهمن الکترونی شرکت کرده و یونیزه می‌شوند و دارای انرژی نزدیک به انرژی یونیزاسیون هستند. دمای بقیه گازهای اطراف آن نزدیک به دمای محیط است. تخلیه کرونا، پلاسمای غیرتعادلی یونیزه ضعیف و مبتنی بر فرآیند بهمن الکترونی است. تصویر سامانه بر پایه تخلیه کرونا در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- تصویر سامانه پلاسمای سرد بر اساس تخلیه کرونا

Fig. 1. Image of cold plasma reactor based on corona discharge

این سامانه به نحوی طراحی شده است که ولتاژ ۲۲۰ ولت شهری با فرکانس ۵۰ هرتز را به ولتاژ ۱۲ کیلوولت با فرکانس ۹ کیلوهرتز تغییر می‌دهد. دو الکتروود نیز با فاصله ۲ سانتی‌متر از یکدیگر در محفظه خلاء با فشار منفی ۲۰ پوند بر اینچ مربع قرار گرفته‌اند و نمونه‌ها در بین دو الکتروود قرار می‌گیرند.

### آماده‌سازی نمونه‌ها برای جوانه‌زنی

از هر یک از رقم‌های نخود عادل، منصور و آزاد ۲۱۶ نمونه به‌طور تصادفی تهیه شد. سپس، در قالب یک طرح آزمایشی فاکتوریل، تأثیر پلاسمای بر جوانه‌زنی بذر بررسی گردید. برای این منظور، آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. در این طرح، تیمارها به‌طور تصادفی در واحدهای آزمایشی قرار می‌گیرند. فاکتور سال تولید بذر در دو سطح، فاکتور رطوبت در دو سطح، فاکتور ارقام بذر در سه سطح و فاکتور مدت زمان

مواجهه با پلاسما در سه سطح مورد بررسی قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده شد. محتوای رطوبتی بر پایه تر و خشک بذر ارقام نخود مورد آزمایش به ترتیب بر اساس روابط (۱) و (۲) محاسبه گردید ([Mohsenin et al., 1986](#)):

$$M_w = \frac{W_w}{W_t} \times 100 = \frac{W_w}{W_w + W_d} \times 100 \quad (1)$$

$$M_d = \frac{W_d}{W_t} \times 100 \quad (2)$$

که در آن‌ها  $M_w$  محتوای رطوبتی بر پایه تر،  $M_d$  محتوای رطوبتی بر پایه خشک،  $W_w$  وزن آب و  $W_d$  وزن ماده خشک می‌باشند. قابلیت جوانه‌زنی یا درصد جوانه‌زنی، برای بذرهایی موجود در هر ظرف بر اساس رابطه (۳) محاسبه شده است ([Loporto et al., 2019](#)):

$$G = \frac{N}{N_t} \times 100 \quad (3)$$

که در آن

$N$  تعداد بذرهایی جوانه‌زده در هر ظرف و  $N_t$  تعداد بذرهایی موجود در هر ظرف است.

پتانسیل جوانه‌زنی به صورت درصد بیان شد و نسبت تعداد بذرهایی جوانه‌زده در روز دوم به تعداد بذرهایی آزمایش شده است.

سرعت جوانه‌زنی برای بذور بر اساس رابطه (۴) محاسبه شد ([Amnuaysin et al., 2018](#)):

$$G_t = \sum \frac{G_t}{D_t} \quad (4)$$

که در آن:

$G_t$  تعداد بذرهایی جوانه‌زده در روز و  $D_t$  تعداد روزهای جوانه‌زنی است.

ابتدا بذر مادری ارقام نخود از مرکز تولید بذر در استان کرمانشاه تهیه شد. نمونه‌ها به صورت کاملاً تصادفی انتخاب شدند. نیمی از تعداد کل نمونه‌ها ۲۴ ساعت قبل از مواجهه با پلاسما مرطوب شدند. سپس هر ۱۸ نخود به منظور رعایت تکرار مناسب در یک ظرف قرار داده شد. نمونه‌های درون هر ظرف برای مدت زمان مشخصی در مواجهه با پلاسما سرد قرار گرفتند. پس از مواجهه نمونه‌ها با پلاسما سرد، نمونه‌های همه ظروف تحت شرایط یکسان در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شدت روشنایی محیطی ۳۰۰ لوکس برای ارزیابی جوانه‌زنی مورد بررسی قرار گرفتند. برای این منظور، نمونه‌های هر ظرف در پوششی از پارچه نخی قرار داده و هر چهار ساعت، یک بار مرطوب شدند. پس از ۴۸ ساعت، تمام نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفته و طول ریشه هر نمونه، درصد و سرعت جوانه‌زنی در هر ظرف اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در آزمایشگاه زیست‌شناسی مورد بررسی سلولی قرار گرفتند. بدین منظور از میکروسکوپ نوری<sup>۱</sup> ساخت کشور آلمان با نسبت بزرگ‌نمایی ۲۰ و ۴۰ استفاده شد. به منظور بررسی میکروسکوپی، لایه‌هایی از سطح خارجی و بافت داخلی نمونه‌های مختلف برش داده شد. برای تشخیص بافت‌های مختلف از یکدیگر، بافت‌های گیاهی با استفاده از معرف رنگی (کارمن زاجی) رنگ‌آمیزی و پس از شستشو در آب مقطر مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. در نهایت با استفاده از یک دستگاه دوربین دیجیتال<sup>۲</sup> که به میکروسکوپ متصل است، تصاویر با نسبت بزرگ‌نمایی هفت تهیه گردید. به منظور بررسی زاویه سطح تماس قطره آب با بذر، از میکروسکوپ نوری<sup>۳</sup> ساخت کشور آلمان با نسبت بزرگ‌نمایی ۲۰ استفاده شد.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل با متغیر وابسته طول ریشه، فاکتورهای مختلف و اثر متقابل آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

1- LEICA DMLS Model

2- Canon Powershot G11

3- Labomed Microscope CZM6

جدول ۱- تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی

Table 1- Factorial analysis of variance analysis table in a completely randomized design

Source	Sum of squares	df	Mean square	F
منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	شاخص
مواجهه Exposure	3680.194	2	1840.097	89.374**
رطوبت Moisture	142.617	1	142.617	6.927**
سال Year	2888.000	1	2888.000	140.271**
رقم Variety	3189.454	2	1594.727	77.456**
مواجهه × رطوبت Exposure × Moisture	2396.207	2	1198.103	58.192**
مواجهه × سال Exposure × Year	618.287	2	309.144	15.015**
مواجهه × رقم Exposure × Variety	744.019	4	186.005	9.034**
رطوبت × سال Moisture × Year	376.599	1	376.599	18.291**
رطوبت × رقم Moisture × Variety	499.318	2	249.659	12.126**
سال × رقم Year × Variety	380.028	2	190.014	9.229**
مواجهه × رطوبت × سال Exposure × Moisture × Year	8.485	2	4.242	0.206 <sup>ns</sup>
مواجهه × رطوبت × رقم Exposure × Moisture × Variety	90.136	4	22.534	1.094 <sup>ns</sup>
مواجهه × سال × رقم Exposure × Year × Variety	1057.574	4	264.394	12.842**
رطوبت × سال × رقم Moisture × Year × Variety	205.892	2	102.946	5.000**
مواجهه × رطوبت × سال × رقم Exposure × Moisture × Year × Variety	272.802	4	68.201	3.313*
خطا Error	12600.333	216	20.589	
کل Total	112518.000	323		

\*\* در سطح ۱٪ و \* در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار است. ns به معنای عدم معنی‌داری است.

\*\* Significant at the 0.01 level and \* significant at the 0.05 level. ns means insignificance.

با توجه به مقادیر به‌دست آمده در ستون سطح معنی‌داری در جدول ۱، تفاوت معنی‌داری برای فاکتورهای رطوبت، زمان مواجهه و اثر متقابل سال تولید و فاکتورهای زمان مواجهه رشد ریشه با استفاده از مدل تحلیل واریانس دو طرفه قابل بررسی خواهد بود. دقت مدل پیاده‌سازی شده با  $R^2 = 0.54$  بیان می‌شود. در ادامه نتایج بررسی اختلاف معنی‌دار بین گروه مدت زمان مواجهه با پلاسما، در ارتباط با متغیرهای وابسته سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه به‌ترتیب در جدول‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. با توجه به این که یکی از متغیرهای اصلی در این بررسی، مدت زمان مواجهه با پلاسما سرد می‌باشد و فرض مساوی بودن میانگین نیز رد شده است، بنابراین اثر مدت زمان مواجهه برای مقایسه میانگین انتخاب گردید. یکی دیگر از متغیرهای مؤثر در جوانه‌زنی بذرها، رطوبت می‌باشد. محتوای رطوبتی بذر ارقام نخود مورد آزمایش به شرح جدول ۴ اندازه‌گیری گردید.

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین بین سرعت جوانه‌زنی و زمان مواجهه بر اساس روش LSD

Table 2- Multiple comparisons between germination speed and exposure time based on LSD method

(I) Exposure time زمان مواجهه	(J) Exposure time زمان مواجهه	Mean difference (I-J) اختلاف میانگین	Std. Error خطای استاندارد	Sig. سطح معنی داری	95% Confidence فاصله اطمینان	
					Lower bound حد پایین	Upper bound حد بالا
0	30	.417*	.097	.000	.23	.61
	60	-.083 <sup>ns</sup>	.097	.392	-.27	.11
30	0	-.417*	.097	.000	-.61	-.23
	60	-.500*	.097	.000	-.69	-.31
60	0	.083 <sup>ns</sup>	.097	.392	-.11	.27
	30	.500*	.097	.000	.31	.69

\* در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار است و ns به معنای عدم معنی‌داری است.

\* The mean difference is significant at the 0.05 level and ns means insignificance.

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین بین طول ریشه و زمان مواجهه بر اساس روش LSD

Table 3- Results of comparison of mean between root length and exposure time based on LSD method

(I) Exposure time زمان مواجهه	(J) Exposure time زمان مواجهه	Mean difference (I-J) اختلاف میانگین	Std. Error خطای استاندارد	Sig. سطح معنی داری	95% Confidence فاصله اطمینان	
					Lower bound حد پایین	Upper bound حد بالا
0	30	.87*	.231	.000	.42	1.32
	60	.53*	.231	.022	.08	.99
30	0	-.87*	.231	.000	-1.32	-.42
	60	-.34*	.231	.144	-.79	.12
60	0	-.53 <sup>ns</sup>	.231	.022	-.99	-.8
	30	.34 <sup>ns</sup>	.231	.144	-1.2	.79

\* در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار است و ns به معنای عدم معنی‌داری است.

\* The mean difference is significant at the 0.05 level and ns means insignificance.

جدول ۴- مقادیر محتوای رطوبتی بذر ارقام نخود: ۱. عادل، ۲. منصور و ۳. آزاد

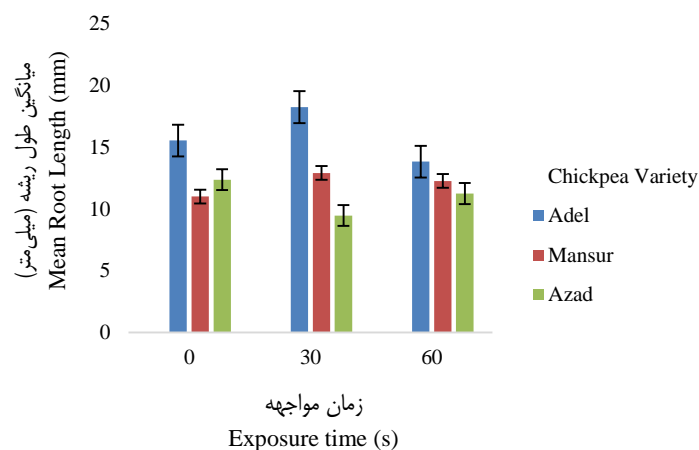
Table 4- Moisture content of chickpea varieties seed: 1. Adel, 2. Mansur and 3. Azad

Variable (%) متغیر (%)	Max بیشینه	Min کمینه	Median میانه	Mean میانگین	SD انحراف معیار	CV (%) ضریب تغییرات (%)
محتوای رطوبتی خشک ۱ Dry moisture content 1	15.80	2.85	7.41	7.49	2.37	31.64
محتوای رطوبتی خشک ۲ Dry moisture content 2	56.52	2.78	7.14	7.68	5.32	69.27
محتوای رطوبتی خشک ۳ Dry moisture content 3	11.11	3.33	7.32	7.22	1.83	25.35
محتوای رطوبتی تر ۱ Wet moisture content 1	13.04	2.78	6.78	6.89	1.99	28.82
محتوای رطوبتی تر ۲ Wet moisture content 2	36.11	2.70	6.67	6.96	3.40	48.85
محتوای رطوبتی تر ۳ Wet moisture content 3	10.00	3.22	6.86	6.71	1.60	23.84

تجزیه و تحلیل جوانه‌زنی بر اساس متغیر زمان مواجهه با پلاسما

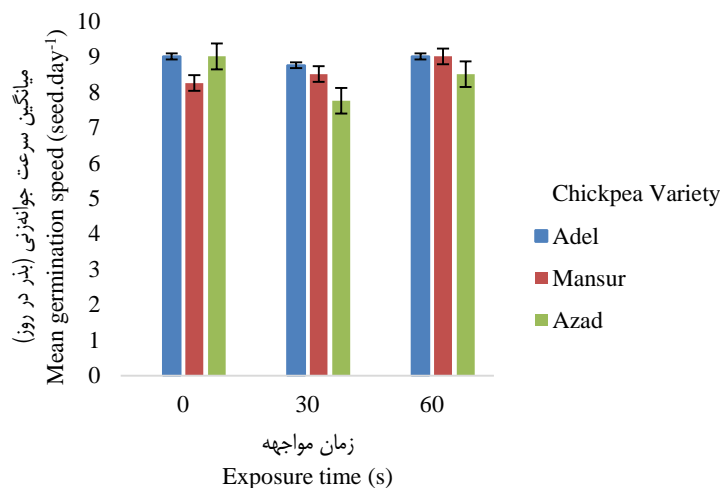
همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، متوسط طول ریشه پس از ۴۸ ساعت نگهداری نمونه‌ها در شرایط جوانه‌زنی، در مدت زمان

مواجهه ۳۰ ثانیه با پلاسما سرد، در ارقام عادل و منصور بیشترین مقدار را دارد. مواجهه با پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه، طول ریشه در بذرهای رقم عادل ۱۲/۵٪ و رقم منصور، ۱۸٪ افزایش یافته است. از آنجا که ذخیره کافی مواد مغذی برای رشد بذر ضروری است، افزایش متوسط طول ریشه به دلیل پلاسما سرد می‌تواند باعث افزایش جذب و نفوذ ذخیره مواد مغذی به بذر شود. بنابراین احتمال تبدیل بذرهای بیشتری به گیاه و تولید محصول نیز افزایش می‌یابد.



**شکل ۲-** ارتباط میانگین طول ریشه با مدت زمان مواجهه با پلاسما  
**Fig. 2.** Relationship between mean root length and plasma exposure time

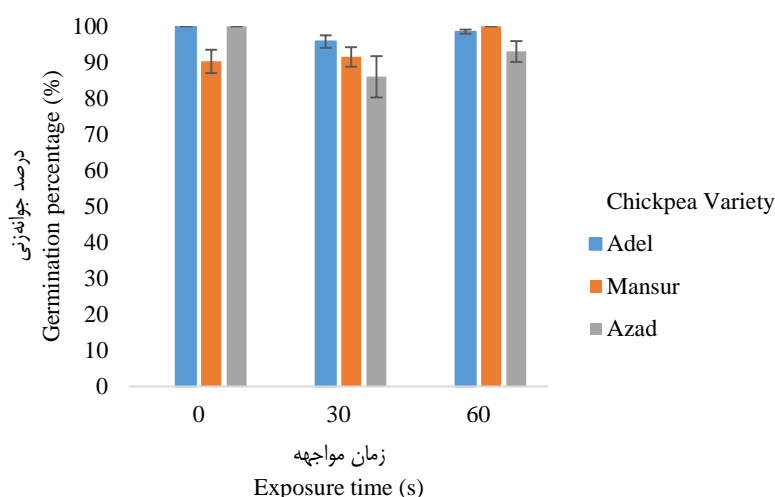
همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، بذرهای دارای مواجهه با پلاسما به مدت ۶۰ ثانیه دارای بیشترین سرعت جوانه‌زنی بوده‌اند. با افزایش طول ریشه، سرعت جوانه‌زنی نیز به سمت بیشترین مقدار همگرا شده است. بیشترین مقدار طول ریشه نیز مربوط به بذرهای دارای مواجهه با پلاسما می‌باشد.



**شکل ۳-** ارتباط بین سرعت جوانه‌زنی و مدت زمان مواجهه با پلاسما  
**Fig. 3.** Relationship between germination speed and plasma exposure time

میزان تأثیر پلاسما بر درصد جوانه‌زنی ارقام نخود مورد آزمایش در شکل ۴ نمایش داده شده است. در رقم منصور مواجهه با پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه، موجب افزایش درصد جوانه‌زنی به میزان ۲٪ و مواجهه ۶۰ ثانیه، شاخص درصد جوانه‌زنی ۱۱٪ افزایش داشته است. در مجموع افزایش مدت زمان مواجهه در رشد شاخص درصد جوانه‌زنی مؤثر بوده است. پیش‌تیمار بذر مارچوبه وحشی با پلاسما سرد، موجب افزایش ۱۵٪ جوانه‌زنی، افزایش جذب آب در بذر و ضدعفونی سطح بذر گردیده است (Loporto *et al.*, 2019).

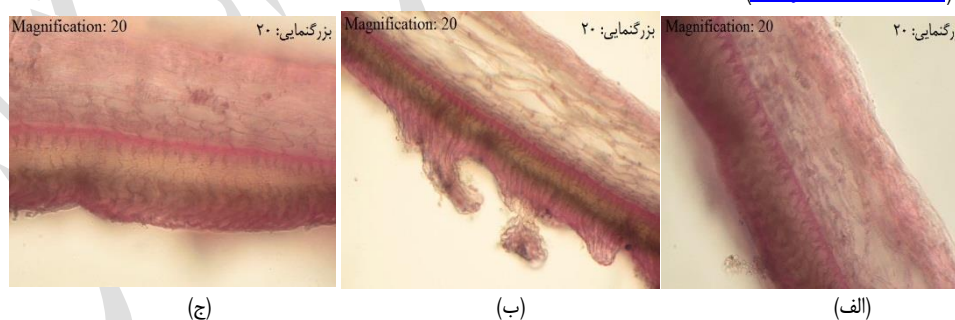




شکل ۴- تأثیر زمان مواجهه بذرهای انواع نخود با پلاسمای سرد بر درصد جوانه‌زنی

Fig. 4. The effect of exposure time of chickpea seeds to cold plasma on germination percentage

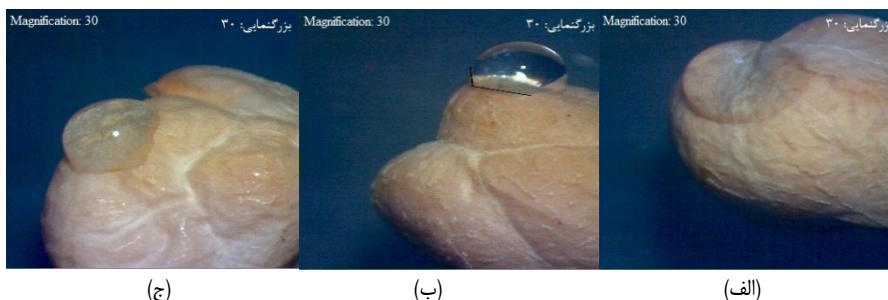
بررسی میکروسکوپی تغییرات سطح خارجی بذر در اثر قرار گرفتن در معرض پلاسمای سرد و اثر آن بر جوانه‌زنی بذر در پلاسمای سرد، یون‌ها و الکترون‌ها وجود دارند. بنابراین، پلاسما می‌تواند سطح خارجی بذر را تحت تأثیر قرار داده و سطح بذر را هموار کند. در نتیجه هموار شدن سطح بذر و کاهش زاویه تماس قطرات آب روی سطح بذر، آب‌دوستی آن افزایش می‌یابد. بر اساس تحقیق انجام شده بر روی بذر گندم، در اثر مواجهه با پلاسمای سرد، زاویه سطح تماس قطره آب کاهش یافته است (Shashikanthalu et al., 2020). همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است تصاویر میکروسکوپی از پوسته خارجی بذر ارقام نخود در حالت‌های دارای مواجهه با پلاسما، نسبت به حالت بدون مواجهه، هموارتر هستند. از طرفی شکل ۶ نشان می‌دهد که زاویه سطح تماس قطره آب نیز نسبت به حالت شاهد، کاهش یافته است. قطره آب در تماس با سطح بذر شاهد، دارای زاویه بیشتر و سطح تماس کمتری با بذر است. در حالی که در حالت‌های تیمار با پلاسما زاویه کمتر و سطح تماس بیشتر گردیده است. این موضوع می‌تواند دلیلی بر افزایش رشد طول ریشه و دیگر شاخص‌های جوانه‌زنی باشد. همان‌گونه که تیمار میدان الکتریکی ناشی از تخلیه کرونا، ساختار شیمیایی لایه‌های بذر یونجه را تغییر داده و در نتیجه تغییراتی در آب‌دوستی آن ایجاد کرده است (Xinyu et al., 2020).



شکل ۵- تصویر میکروسکوپ نوری از سطح خارجی بذر: الف. رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ بدون مواجهه با پلاسما. ب رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه. ج. رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۶۰ ثانیه.

Fig. 5. Microscopic images of outer surface of seeds: a. Wet Adel chickpea variety produced in 2020 without exposure. b. Wet Adel chickpea variety produced in 2020 with Corona for 30 seconds. C. Wet Adel chickpea variety produced in 2020 with Corona for 60 seconds



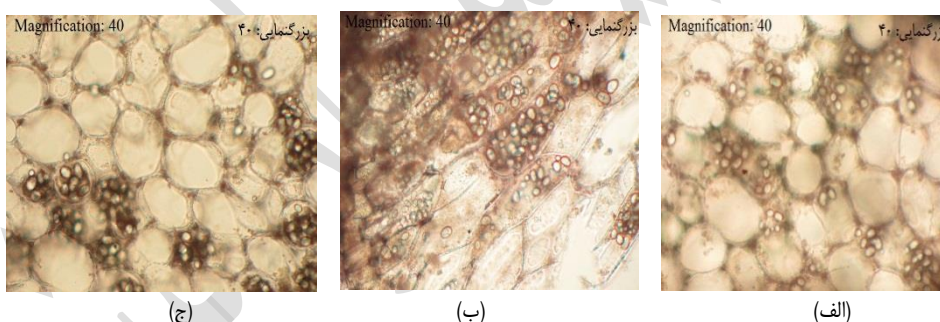


**شکل ۶-** تصویر میکروسکوپ نوری از زاویه سطح تماس قطره آب با بذر: الف. رقم نخود عادل خشک، تولید سال ۱۳۹۹ بدون مواجهه با پلاسما. ب رقم نخود عادل خشک، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه. ج. رقم نخود عادل خشک، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۶۰ ثانیه

**Fig. 6.** Microscopic images of contact surface angle of water drop with seeds: a. Dry Adel chickpea variety produced in 2020 without exposure. b. Dry Adel chickpea variety produced in 2020 with Corona for 30 seconds. C. Dry Adel chickpea variety produced in 2020 with Corona for 60 seconds

### بررسی تغییرات سلول‌های بذر نخود در اثر مواجهه با پلاسما سرد

از آنجایی که جنس دیواره سلول‌های گیاهی در بافت‌های مختلف متفاوت است، پس سلول‌های مختلف رنگ‌های متفاوتی را جذب می‌کنند. بنابراین برای تشخیص بافت‌های مختلف از یکدیگر، رنگ‌آمیزی سلول‌ها مورد استفاده قرار گرفت. بررسی سلولی نشان داد که تغییری در بافت سلول‌های داخلی نخود رخ نداده است. همچنین تغییری در سلول‌های بذر نخود در مواجهه با پلاسما از نظر تعداد و اندازه سلول صورت نگرفته است. همچنین تحقیقاتی که بر روی بذرهای گیاهان گوجه‌فرنگی و فلفل انجام شده است نیز تغییر در ساختار DNA اولیه، فتوتیپ و فنولوژی گیاهان را در اثر تیمار بذرهای قبل از جوانه‌زنی با پلاسما نشان نداده است (Shapira et al., 2019).



**شکل ۷-** تصویر میکروسکوپ نوری از بافت سلول بذر: الف. رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ بدون مواجهه با پلاسما. ب رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه. ج. رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۶۰ ثانیه

**Fig. 7.** Microscopic images of cell texture of seeds: a. Wet Adel chickpea variety produced in 2020 without exposure. b. Wet Adel chickpea variety produced in 2020 with Corona for 30 seconds. c. Wet Adel chickpea variety produced in 2020 with Corona for 30 seconds

### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری، مواجهه با پلاسما سرد به مدت ۳۰ ثانیه، طول ریشه را در نخود رقم عادل تا ۱۲/۵٪ و در رقم منصور تا ۱۸٪ افزایش داده است. از طرفی در مواجهه به مدت ۶۰ ثانیه، ارقام مورد آزمایش دارای بیشترین سرعت جوانه‌زنی بوده‌اند. این تغییرات دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ می‌باشند. از سوی دیگر در بررسی میکروسکوپی سطح خارجی بذر، مشخص گردید ارقام مختلف در مواجهه با پلاسما سرد دارای سطحی هموارتر و زاویه سطح تماس کمتری هستند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که یکی از تأثیرات پلاسما سرد بر جوانه‌زنی بذر نخود، افزایش آب‌دوستی و گسترش بیشتر و بهتر ریشه گیاه است. این موضوع می‌تواند باعث افزایش جذب آب و حتی کاهش آب‌آیاری شود. همچنین باعث جذب مواد مغذی و بهبود تغذیه گیاه خواهد شد. ریشه‌های قوی‌تر به مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی کمک می‌کنند. از سوی دیگر، استفاده از فناوری پلاسما سرد ساده است و تغییری در سلول‌های داخلی بذر نخود ایجاد نمی‌کند.

## References

1. Amnuaysin, N., H. Korakotchakorn, S. Chittapun, and N. Poolyarat. 2018. Seed germination and seedling growth of rice dielectric barrier discharge plasma. *Songklanakarin Journal of Science & Technology* 40: 819-823.
2. Bakhshy, E., F. Zarinkamar, and M. Nazzari. 2020. Structural and quantitative changes of starch in seed of *Trigonella persica* during germination. *International Journal of Biological Macromolecules* 164: 1284-1293.
3. Banaschik, R., G. Burchhardt, K. Zocher, S. Hammerschmidt, J. F. Kolb, and K. Weltmann. 2016. Comparison of pulsed corona plasma and pulsed electric fields for the decontamination of water containing *Legionella pneumophila* as model organism. *Bioelectrochemistry* 112: 83-90.
4. Butscher, D., H. Van Loon, A. Waskow, P. Rudolf von Rohr, and M. Schuppler. 2016. Plasma inactivation of microorganisms on sprout seeds in a dielectric barrier discharge. *International Journal of Food Microbiology* 238: 222-232.
5. Jian, F., K. Sun, V. Chelladurai, D. S. Jayas, and N. White. 2014. Quality changes in high and low oil content canola during storage: Part II – Mathematical models to predict germination. *Journal of Stored Products Research* 59: 328-37.
6. Khamsen, N., A. Akkarachanchainon, K. Fookiat, J. Srisala, S. Chomchuen, W. Kanokbannakorn, and S. Srisonphan. 2016a. Atmospheric Cold Plasma via Fringe Field Enhanced Corona Discharge on Single Dielectric Barrier for Large-volume Applications. *Procedia Computer Science* 86: 321-24.
7. Khamsen, N., A. Akkarachanchainon, N. Teerakawanich, and S. Srisonphan. 2016b. Organic and Bio Material Surface Modification Via Corona Discharge Induced Atmospheric-cold Plasma. *Procedia Computer Science* 86: 325-28.
8. Kim, J., P. Puligundla, and Ch. Mok. 2015. Microbial decontamination of dried laver using corona discharge plasma jet (CDPJ). *Journal of Food Engineering* 161: 24-32.
9. Kuwahara, T., T. Kuroki, K. Yoshida, N. Saeki, and M. Okubo. 2012. Development of sterilization device using air nonthermal plasma jet induced by atmospheric pressure corona discharge. *Thin Solid Films* 523: 2-5.
10. LoPorto, Ch., L. Sergio, F. Boari, A. F. Logrieco, and V. Cantore. 2019. Cold plasma pretreatment improves the germination of wild asparagus (*Asparagus acutifolius* L.) seeds. *Scientia Horticulturae* 256: 108554.
11. Misra, N. N., O. K. Schluter, and P. J. Cullen. 2016. *Cold plasma in food and agriculture*. Elsevier Inc.
12. Mohsenin, N. N. 1986. *Physical properties of plant and animal materials*.
13. Perez, P., M. Cecilia, L. Prevosto, C. Zilli, E. Cejas, H. Kelly, and K. Balestrasse. 2018. Effects of non-thermal plasmas on seed-borne *Diaporthe/Phomopsis* complex and germination parameters of soybean seeds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 49: 82-91.
14. Raizer, Y. 2011. *Gas discharge physics*. Springer. New York.
15. Rawlins, J. K., B. A. Roundy, D. Egget, and N. Cline. 2012. Predicting germination in semi-arid wildland seedbeds II. Field validation of wet thermal-time models. *Environmental and Experimental Botany* 76: 68-73.
16. Shapira, Y., E. Bormashenko, and E. Drori. 2019. Pre-germination plasma treatment of seeds does not alter cotyledon DNA structure, nor phenotype and phenology of tomato and pepper plants. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1: 100259.
17. Shashikanthalu, S. P., L. Ramireddy, and M. Radhakrishnan. 2020. Stimulation of the germination and seedling growth of *Cuminum Cyminum* L. seeds by cold plasma. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 519: 512-517.
18. Takahashi, K., Y. Saito, R. Oikawa, T. Okumura, K. Takaki, and T. Fujio. 2018. Development of automatically controlled corona plasma system for inactivation of pathogen in hydroponic cultivation medium of tomato. *Journal of Electrostatics* 91: 61-69.
19. Wu, T., N. Sun, and Ch. Chau. 2018. Application of corona electrical discharge plasma on modifying the physicochemical properties of banana starch indigenous to Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis* 26: 244-51.
20. Xinyu, L., Z. Song, W. Xu, Y. Li, Ch. Ding, and H. Chen. 2020. Spectral characteristics on increasing hydrophilicity of alfalfa seeds treated with alternating current corona discharge field. *Biomolecular Spectroscopy*. 236: 118350.
21. Yodpitak, S., S. Mahatheeranont, D. Boonyawan, Ph. Sookwong, S. Roytrakul, and O. Norkaew. 2019. Cold plasma treatment to improve germination and enhance the bioactive phytochemical content of germinated brown rice. *Food Chemistry* 289: 328-39.
22. Zarei, S., M. Kasraei, and M. A. Nematollahi. 2020. Investigating the impact of the magnetized water on the growth and germination of five wheat grain seeds. *Journal of Agricultural Machinery* 10 (2): 289-298. (In Persian).