

The Effect of nanoparticle graphene oxide on micropropagation and in vitro microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* cv. Agria)

Introduction

Graphene is one of the new carbon nanomaterial that has unique physical properties and potentially important biological applications. Nanosheet Graphene Oxide has shown great potential to improve plant performance in various areas. Microtuber production technology is also used as a tool to reduce the time needed to produce economic plant resources, increase the quality of seed tubers, and produce microtubers throughout the year. The aim of this study was to evaluate the effect of Nanosheet Graphene Oxide on the improvement of micropropagation and microtuberization in potato var. Agria under in vitro conditions.

Materials and Methods

Single node explants obtained from in vitro virus-free plantlet (maintained in tissue culture laboratory, Department of Horticultural science, University of Tabriz) were cultured into modified Murashige and Skoog (MS) medium containing four concentrations of Nanosheet Graphene Oxide (0, 25, 50 and 75 mg/L) carried out in the completely randomized design (CRD) with four replications and kept at 25 ± 2 degree centigrade and a photoperiod of 16 hours of light. The proliferation traits such as leaf length, leaf width, plantlet fresh weight, number of leaves and shoots were recorded. Then, single node explants were transferred to Murashige and Skoog (MS) medium with four concentrations of Nanosheet Graphene Oxide (0, 25, 50 and 75 mg/liter) and kept for two months in complete darkness and at 18 ± 2 °C and microtuber production indices such as microtuber number, diameter, length and weight, microtuberization percentage, shoot length, microtuber with dormancy were measured.

Results and Discussion

The results of analysis of variance showed that different concentrations of Nanosheet Graphene Oxide had a significant effect on all traits in proliferation and microtuberization stages. Among different levels of Nanosheet Graphene Oxide, the application of 75 mg/L had the best response for leaf length, leaf width, and plantlet fresh weight, followed by 50 mg/L for the number of leaves and shoots, and lastly, 25 mg/L for shoot length. At a concentration higher than 50 mg/L (75 mg/L graphene oxide), the number of leaves not only remained constant but also showed a decreasing trend. Effect of different NGO concentrations on the shoot length showed that there was no significant difference between different concentrations of NGO and the shoot length remained constant, but the difference between the control treatment and NGO was significant. The maximum shoot length was obtained at a concentration of 25 mg/l NGO. The different concentrations of NGO had significant effect on all microtuberization traits at the 1% probability level. Mean comparison results for different concentrations of NGO showed that the highest value of the microtuber length, diameter and number were obtained at 25 mg/liter NGO. However, all microtuber traits were not increased at above 25 mg/liter NGO. With the increase in NGO concentrations, the yield of microtuber weight and microtuberization rate remain constant, and it is also possible that these traits will decrease significantly with the increase NGO concentration. The highest yield of microtuber weight and microtuberization rate were obtained at the 25 mg/L NOG, and higher concentrations caused to remain constant. There was a significant difference between different concentrations of NGO and the control treatment in the number of lateral shoots, so that the maximum number of lateral shoots was obtained at a concentration of 25 mg/L of NGO. Also, concentrations above 50 mg/L of NGO had less effect on the number of lateral shoots and with increasing concentration, the number of shoots decreased significantly. The maximum microtuber weight was obtained at high concentrations of NGO. In other words, with the increase of NGO concentration, the microtuber weight increased, and the most effective concentration was 75 mg/L of NGO for this trait. Although all

concentrations of NGO are favorable for this purpose, it is possible that the concentration of 25 mg/l is the most NGO concentration.

Conclusions

The results of this research showed that the of 50 and 75 mg/L of Nanosheet Graphene Oxide were the best concentrations micropropagation and microtuberization. 25 mg/L of Nanosheet Graphene Oxide was most efficient concentration . Although these experiments were performed without the use of growth regulators, the addition of Nanosheet Graphene Oxide to the medium increased micropropagation and microtuberization. Therefore, Nanosheet Graphene Oxide can be used as a tool for efficient micropropagation and increasing the quantity and quality seed tubers.

Key words: nanoparticles, tissue culture, potato, propagation, microtuber.



تأثیر نانوورقه گرافن اکسید بر پرآوری و ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای در سیب‌زمینی رقم "اگریا"

فرزاد عبدالله‌ی - علیرضا مطلبی آذر* - غلامرضا گوهري - بهرام دهدار - امیر کهنوموي
motallebiazar@gmail.com -*

چکیده

گرافن، نوع جدیدی از نانومواد برپایه کربن است که دارای خواص فیزیکی منحصر به فرد بوده و کاربردهای بیولوژیکی بالقوه مهمی دارا می باشد. نانوورقه گرافن اکسید (NGO)^۱ پتانسیل زیادی در جهت بهبود عملکرد گیاهان در زمینه های مختلف نشان داده است. از تکنولوژی تولید ریزغده نیز به عنوان ابزاری برای کاهش زمان لازم به منظور تولید منابع اقتصادی گیاه، افزایش کیفیت غده‌های بذری و تولید ریزغده در تمام طول سال استفاده می شود. هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر NGO بر بهبود پرآوری و ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون‌شیشه‌ای بود. بدین منظور ریز نمونه های تک گره حاصل از گیاهچه های عاری از ویروس درون شیشه‌ای روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ تغییر یافته (MS)، دارای چهار غلاظت نانوورقه گرافن اکسید (NGO) (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار کشت و نگهداری شد و شاخص های پرآوری یادداشت برداری شد. سپس ریز نمونه های تک گره به محیط کشت با چهار غلاظت NGO (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) انتقال یافت و به مدت دو ماه در شرایط تاریکی کامل نگهداری شدند، سپس شاخص های تولید ریز غده اندازه گیری شد. نتایج آزمایش نشان داد که غلاظت های مختلف NGO در هر دو مرحله پرآوری و ریز غده زایی، تاثیر معنی داری بر روی همه صفات داشت. بین غلاظت های مختلف NGO ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر غلاظت ایده آل برای برخی از صفات پرآوری از جمله؛ طول و عرض برگ و وزن ترگیاهچه بود. تعداد برگ و ظهور شاخصاره نیز به ترتیب در غلاظت های ۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO تحت تاثیر اثرات مثبت آن قرار گرفتند. کاربرد ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO، بهترین غلاظت برای تمام صفات ریزغده‌زایی بجز وزن ریزغده بود. اگرچه این آزمایش بدون استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد انجام شد اما افزودن NGO به محیط کشت موجب افزایش عملکرد پرآوری و ریزغده‌زایی گردید. نتایج این پژوهش نشان داد، غلاظت های ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO ایده آل ترین غلاظت برای مرحله پرآوری و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NGO مطلوب ترین در مرحله ریزغده‌زایی می باشند. بنابراین می توان NGO را به عنوان ابزاری برای ریزازدیادی کارآمد و افزایش کمیت و کیفیت غده‌های بذری استفاده کرد.

کلمات کلیدی: نانوذرات، کشت بافت، سیب زمینی، پرآوری، ریزغده

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum L.*)^۱ به دلیل داشتن مقادیر بالای نشاسته، پروتئین و سایر موادمعذی مهم در غده‌ها یکی از محصولات مهم کشاورزی در سراسر جهان است (Abelenda *et al.*, 2019). طبق آمار سازمان فائق تولید جهانی سیب‌زمینی در سال ۲۰۲۲ بیش از ۳۷۶ میلیون تن بوده است (FAO, 2022). امروزه تولید ریز غده‌ها (میکروتیوبرهای)^۲ به یکی از روش‌های تکثیر سریع در تولید و پرآوری غده‌های بذری و مبادله ژرمپلاسم تبدیل شده است. با این حال، سیب‌زمینی مستعد ابتلا به بیماری‌های ویروسی و قارچی است که همین امر باعث از دست رفتن عملکرد و کاهش کیفیت محصول می‌شود (Chen *et al.*, 2018). موثرترین راه برای مبارزه با بیماری‌های ویروسی، حذف ویروس‌ها با استفاده از روش‌های مختلف و نهایتاً تولید غده‌های عاری از ویروس می‌باشد (Hoque *et al.*, 2010) یکی از راهکارهای موثر در این زمینه تولید گیاهچه‌های عاری از عوامل بیماری‌زا با استفاده از روش کشت بافت می‌باشد (Hoque *et al.*, 2010).

کشت بافت گیاهی که در آن انبوهی از گیاهان دارای ساختار ژنتیکی یکسان بدبست می‌آید (Al-Safadi *et al.*, 2000) به عنوان روشی سریع در پرآوری گیاهان و برنامه‌های گواهی بذر در سیب‌زمینی استفاده می‌شود (Coleman *et al.*, 2001). ریزغده‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای برای نخستین بار با کشت تک جوانه جانی صورت گرفت که منجر به تولید غده‌های بذری عاری از ویروس گردید (Gopal *et al.*, 2004). پرآوری و ریزغده‌زایی به عنوان روشی سریع در پرآوری گیاهان و برنامه‌های گواهی بذر (Coleman *et al.*, 2000) برای حل کردن مشکلات پاتولوژیکی در سیب‌زمینی استفاده می‌شوند (Maliki *et al.*, 2017) نقش تنظیم‌کننده‌های رشدی از جمله سیتوکین‌ها در کشت بافت گیاهی بسیار چشمگیر می‌باشد. اما اخیراً استفاده از نانوذرات در زمینه‌های مختلف علم کشاورزی جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است (Maliki *et al.*, 2017).

یکی از مهم‌ترین کاربردهای فناوری نانو در زمینه‌ها و گرایش‌های مختلف کشاورزی، استفاده از نانوذرات در کشت بافت گیاهی و تغذیه گیاهان به خاطر نفوذ سریع و راحت آنان به درون غشای سلولی می‌باشد. اخیراً نقش مثبت نانوذرات در القاء کالوس، اندام‌زایی، جنین‌زایی سوماتیکی، تنوع سوماکلونال، انتقال ژن و تولید متابولیت‌های ثانویه به اثبات رسیده است (Mahendran *et al.*, 2019).

نانورقه گرافن جدیدترین عضو خانواده مواد کربنی گرافیتی چند بعدی می‌باشد که شامل فولرن به عنوان نانو ماده‌ی صفر بعدی (0D)، نانولوله‌های کربنی به عنوان نانوماده‌ی تک بعدی (1D) و گرافیت به عنوان یک ماده‌ی سه بعدی (3D) می‌باشد (Pumera *et al.*, 2010). اکسید گرافن (GO)^۳ یکی از اعضای مهم خانواده گرافن، شکل اکسید شده گرافن است که حاوی گروه‌های اپوکسی، هیدروکسیل و کربوکسیل است (Georgakilas *et al.*, 2015). این گروه‌ها به GO اجازه می‌دهند تا ویژگی‌های بهتری نسبت به سایر مشتقه‌های گرافن (به عنوان مثال، هالیدها یا آمیدها) داشته باشد و این ویژگی‌های GO شامل پایداری فیزیولوژیکی،

^۱-*Solanum tuberosum L*

^۲- Microtuber

^۳-Graphene Oxide

زیست سازگاری و آب دوستی است (Chen et al., 2022). پیشنهاد شده است که غلظت مناسب GO ممکن است منجر به اثرات مثبت آن شود. همچنین هنگام استفاده از گرافن اکسید در کشاورزی بایستی اندازه ذرات آن مورد توجه قرار گیرد.

تأثیر غلظت های مختلف گرافن اکسید بر رشد و نمو گیاهان

معمولًا نانوموادی که دارای ضخامت کمتر از ۵۰ نانومتر هستند می توانند با عبور از موانع بیولوژیکی گیاهان (مانند دیواره سلولی) و ورود به بافت های آوندی مسیر جدیدی را برای انتقال بیوملکول ها، موادمغذی و آفت کش ها به گیاهان فراهم کنند (Kah et al., 2019).

NGO دارای ضخامت کمتر از ۱۰ نانومتر می توانند از ریشه ها به ساقه اصلی انتقال پیدا کنند و وارد سیتوپلاسم و کلروپلاست گیاه شوند (Chen et al., 2018). سایر مطالعات نشان دادند که NGO گرافن به راحتی توسط ریشه ها جذب می شود و در تارهای کشنده و سلول های پارانشیم ریشه تجمع می یابد ولی نمی توانند به اندام های هوایی گیاه انتقال یابند (Chen et al., 2017). این نانوصفحات می توانند به بافت های گیاهی و سلول ها وارد شده و بر سیستم آنتی اکسیدانی (Moller et al., 2007) و متabolیسم سلولی گیاهی تاثیر بگذارند (Hu et al., 2014).

گرافن فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را افزایش داده و بیان ژن های مسیر تنفس را القا می کند که این امر منجر به افزایش عملکرد تنفسی میتوکندریایی و افزایش رشد ریشه گیاه می شود. در مقابل، ممانعت از بیان ژن ها در این مسیرها باعث مهار رشد ریشه های گیاه و کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و همچنین تضعیف تنفس می شود که نهایتاً منجر به کاهش طول ریشه می شود (Chen et al., 2022). براساس مطالعات گذشته تأثیر نانوصفحات گرافن اکسید بر گیاهان وابسته به غلظت، زمان و گونه گیاهی است (Cheng et al., 2016).

در غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر گرافن محتوای یون های آمونیوم (NH_4^+) و پتاسیم (K^+) در خاک اطراف ریشه گیاهان ذرت ($Z\text{e}\text{a}$)^۰ و باقلاء (*Vicia Faba*)^۶ افزایش یافت (Delker et al., 2008 & Pots et al., 1999). غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر گرافن به طور قابل توجهی طول و حجم ریشه گیاه ذرت را افزایش داد (Delker et al., 2008). همچنین GO ویژگی های مورفوولوژیکی ریشه ها را در آلوئه ورا (*Aloe sp*) بهبود بخشید و به طور قابل توجهی ریشه های مویین گیاه گوجه فرنگی را نیز افزایش داد (Wu et al., 2016). غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر GO باعث افزایش تعداد ریشه های نابجا در گیاه تباکو شد (Jiao et al., 2016).

مطالعات نشان داده است که اثرات مثبت تیمار GO با سطوح اسید ایندول استیک IAA^۷ مرتبط است (Guo et al., 2021 & Jiao et al., 2016). مشخص شد که GO با تأثیر بر مسیر IAA در گوجه فرنگی، رشد ریشه را تقویت می کند (Jiao et al., 2016). غلظت های پایین GO (۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) با افزایش محتوای اکسین در ریشه به طور قابل توجهی سبب رشد گیاه بالغ

^۰ *Zea Mays L.*

^۱ *Vicia Faba*

^۲ *Aloe Vera*

^۳ Indole-3-acetic acid

گوجه‌فرنگی شده و افزایش غلظت به ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر معنی‌داری بر قطر و وزن ساقه نداشت (Guo et al., 2021). احتمالاً افزایش ریشه پس از تیمار با GO به دلیل فعال شدن سلول‌ها و شروع تقسیم سلولی است (Guo et al., 2021 & Jiao 2016). غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر GO منجر به افزایش سطح رونوشت mRNA های مختلف ایندول استیک اسید (Jiao et al., 2016). شد که در نتیجه رشد ریشه‌های نهال توتوون را افزایش داد (IAA₄, IAA₃⁹, IAA₇¹⁰, ARF₂¹¹ و ARF₈¹³) (Jiao et al., 2016). با بهترین بازده در لیتر می‌گرم در لیتر می‌تواند اثرات مثبتی بر رشد گیاه آلوئه ورا با افزایش ظرفیت فتوستنتزی برگ‌ها، عملکرد و ویژگی‌های مورفولوژیکی و بهبود محتوای پروتئین و اسید آمینه برگ‌ها داشته باشد (Zhang et al., 2021).

غلظت بالای گرافن می‌تواند از رشد و نمو گیاهان جلوگیری می‌کند (Noh et al., 2010). به عنوان مثال، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر گرافن رشد و نمو گیاهان باقلا Vicia faba را مهار کرد (Pots et al., 1999). غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر گرافن منجر به تجمع زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)¹⁴ در ریشه گوجه‌فرنگی، اسفناج قرمز و کلم شد و در نهایت از رشد این گیاهان جلوگیری کرد (Beguem et al., 2011). غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر گرافن رشد و نمو ریشه برنج را سرکوب و زیست توده گیاهی را کاهش می‌دهد (Liu et al., 2015). نتایج فوق بیان می‌کند که غلظت‌های بالای گرافن ممکن است باعث استرس اسمزی قوی در سلول‌های گیاهی و از دست دادن آب تا مرگ آنها شود.

هدف از انجام آزمایش ۹۹

به علت نتایج ضد و نقیضی که درباره تاثیر NGO به عنوان یکی از مهمترین و جدیدترین اجزای خانواده نانومواد کربنی بر گیاهان وجود دارد، در این مطالعه تاثیر NGO به عنوان ماده موثر در تولید شاخصاره‌ها، برگ‌های قوی و ایجاد کتنده تنفس برای تحریک ترکیبات دخیل در فرآیند ریزغده‌زایی سیب زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف NGO بر پرآوری و ریزغده‌زایی سیب زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای، آزمایش حاضر در آزمایشگاه کشت‌بافت گیاهی و ریزازدیادی گروه علوم و مهندسی باطنی دانشگاه تبریز اجرا شد. در این آزمایش از گیاهچه‌های سالم و عاری از ویروس سیب زمینی (رقم آگریا) که به صورت درون شیشه‌ای در ایستگاه تحقیقات کشاورزی اردبیل تولید شده بودند استفاده گردید. بدین منظور گیاهچه‌های جوان و یکنواخت از نظر رشدی، در شرایط کاملاً

⁹ -Auxin-responsive protein IAA3

¹⁰- Auxin-responsive protein IAA4

¹¹ - Auxin-responsive protein IAA7

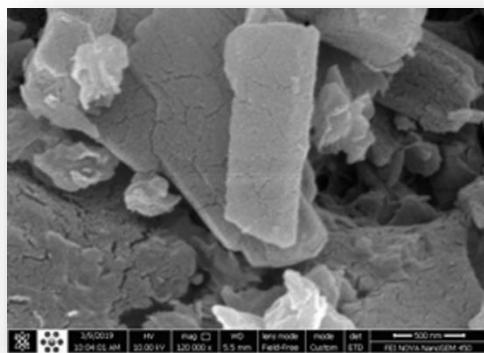
¹² - Auxin Response Factor 2

¹³ - Auxin Response Factor 8

¹⁴ - Reactive oxygen species

سترون و در زیر دستگاه هود استریل از داخل ظروف کشت خارج شدند و پس از حذف ریشه و برگ‌ها، به قطعات کوچک به طوری که در هر قطعه یک تک جوانه جانبی وجود داشت تقسیم شدند.

به منظور ستر GO، گرافن در حضور نیتریک اسید^{۱۵} و سولفوریک اسید^{۱۶} اکسید شده (تصویر ۱) و با استفاده از امواج التراسونیک لایه‌های گرافنی پخش شده و به صورت تک صفحات گرافن اکسید در محلول پراکنده شدند (Eftekary et al., 2016). در این مطالعه، اثر افزودن غلظت‌های مختلف MS تغییریافته بر پرآوری و ریزگده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا حاصل از تک جوانه جانبی پرسی گردید.



تصویر ۱ صفحات اکسید شده گرافن با نیتریک اسید و سولفوریک اسید

تأثیر نانوورقه گرافن اکسید بر ریزازدیادی (پرآوری) سیب زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی بوده است و فاکتوریل نمی‌باشد. اصلاحات انجام شده بود احتمالاً فایل دچار تغییرات شده است.

طی این آزمایش چهار سطح NGO شامل ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر بر پرآوری سیب‌زمینی رقم آگریا مورد مطالعه قرار گرفت. بدین ترتیب این آزمایش با ۴ تیمار در قالب طرح کاملاً تصادفی و به مدت یک ماه اجرا گردید. برای این آزمایش از محیط کشت بر پایه MS (موراشیگ و اسکوگ) تغییر یافته (Murashige & Skoog 1962) با ویتامین‌های B₅ و ۲۰ گرم در لیتر ساکارز استفاده شد. هر شیشه محتوی ۴۰ میلی‌لیتر محیط کشت به همراه غلظت‌های تعیین شده از NGO بود. در هر شیشه ۴ عدد ریزنمونه حاوی تک جوانه جانبی کشت شد که برای هر تیمار ۴ تکرار وجود داشت. پس از کشت کلیه نمونه‌ها به اتاق کرشد با شرایط ۱۶ ساعت نور (۶۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی با دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. شش هفته پس از کشت ریزنمونه‌ها برای صفات پرآوری از جمله؛ تعداد برگ، طول و عرض برگ (میلی‌متر)، طول شاخساره (سانتی‌متر)، تعداد شاخساره جانبی، وزن ترگیاه‌چه (گرم) مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفتند.

تأثیر نانوورقه گرافن اکسید بر ریزگده‌زایی سیب زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای

در این آزمایش از گیاهچه های تولیدی در آزمایش اول که از لحاظ پارامترهای رشدی بسیار قوی بودند به منظور ریزغده زایی استفاده گردید. ابتدا ریزنمونه ها به منظور تکثیر در شرایط مشابه با آزمایش اول کشت شدند. ۲۸ روز پس از تکثیر گیاهچه ها به ریزنمونه حاوی تک جوانه جانبی تقسیم و در محیط کشت ریزغده زایی که شامل MS تغییریافته با ۸۰ گرم ساکارز و غذای های معین NGO بود کشت شدند. این آزمایش نیز با ۴ تیمار و ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۷۰ روز اجرا گردید. پس از کشت، ریزنمونه ها به شرایط تاریکی کامل منتقل شدند. در هفته دهم پس از خودزایی نسبت به برداشت ریزغده ها اقدام شد. در آزمایش ریزغده زایی صفاتی نظیر؛ تعداد ریزغده، درصد ریزغده تولیدی در هر واحد آزمایش بر تعداد کل ریزنمونه ها)، وزن ریزغده (میلی گرم)، عملکرد وزنی ریزغده، طول و قطر ریزغده ها (میلی متر)، طول جوانه حاصل از ریزغده (سانتمتر)، درصد ریزغده های بدون خواب (تعداد ریزغده دارای جوانه رشد یافته در هر واحد آزمایشی بر تعداد کل ریزغده)، درصد جوانه زنی و سرعت ریزغده زایی (تعداد ریزغده تولیدی در هر واحد آزمایش بر مدت زمان لازم برای تشکیل ریزغده) مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. مقایسه میانگین داده ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت پذیرفت.

آزمایش اول: بررسی اثر غلظت های مختلف NGO بر پرآوری سبب زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه ای

به منظور بررسی تاثیر NGO بر رشد و نمو گیاه سبب زمینی رقم آگریا، تعداد برگ، طول و عرض برگ، تعداد شاخساره، درصد ظهور شاخساره جانبی و وزن تر گیاه در طی یک ماه هر هفته اندازه گیری شد.

همانطور که نتایج مقایسه میانگین در جدول ۱ نشان می دهد تیمار NGO بر تمامی صفات مورد ارزیابی بیشترین تاثیر را نسبت به تیمار شاهد داشته به طوری که بیشترین تعداد برگ در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر NGO به دست آمد. در غلظت بالاتر از ۵۰ میلی گرم بر لیتر (۷۵ میلی گرم بر لیتر گرافن اکسید) تعداد برگ نه تنها ثابت ماند بلکه روند کاهشی را نشان داد. بیشترین مقدار برای طول برگ، عرض برگ و وزن تر اندام هوایی در غلظت ۷۵ میلی گرم بر لیتر NGO حاصل شد.

غلظت های بالای GO ممکن است باعث استرس اسمزی قوی در سلول های گیاهی و از دست دادن آب و از بین رفتن گیاه شود. طی یک مطالعه غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر گرافن رشد و نمو گیاهان باقالا (*Vicia faba*) را مهار کرد (Pots *et al.*, 1999). GO با بهترین بازده در ۵۰ میلی گرم در لیتر، اثرات مثبتی بر رشد آلوئه ورا با افزایش ظرفیت فتوستزی برگ ها، افزایش عملکرد و ویژگی های مورفولوژیکی و بهبود محتوای مغذی (پروتئین و اسید آمینه) برگ ها داشته است (Zhang *et al.*, 2021).

تیمار NGO بر گیاه ذرت سبب افزایش وزن تر گیاه (شاخصاره و ریشه) شد (Yin *et al.*, 2018). در مطالعه ای دیگر نانولوله های کربنی با تشکیل ریشه های اولیه سبب افزایش وزن تر گیاه گوجه فرنگی شد (Khodakovskaya *et al.*, 2013) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

جدول ۱- اثر غلظت های مختلف نانوورقه گرافن اکسید بر صفات ریزازدیادی گیاه سبب زمینی

Table 1-A- The effect of different concentrations of graphene oxide nanoparticles on micro propagation traits of potato plants.

| وزن تر اندام هوايی | درصد ظهور (تعداد) شاخساره جانبی | طول شاخساره | عرض برگ | طول برگ | تعداد برگ | غلظت های مختلف NGO | Different concentrations of NGO (mg/l) |
|--------------------|---------------------------------|-------------|---------|---------|-----------|--------------------|--|
| 2.80 de | 0.04 c | 4 b | 1.44 c | 2.06 c | 19.85 c* | 0 | |
| 3.13 c | 0.96 a | 5 a | 2.20 b | 2.92 b | 25.83 ab | 25 | |
| 4.30 b | 0.76 a | 5 a | 2.92 a | 3.31 b | 33.48 a | 50 | |
| 4.96 a | 0.08 ab | 5 a | 3.20 a | 3.83 a | 30.69 b | 75 | |

* در هر ستون میانگین های دارای حرف مشترک، براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند.

*Means in each column, with the same letter are not significantly different at %5 using Duncan multiple range test.

بازدید از نتایج تجزیه واریانس اختلاف معنی داری بین غلظت های مختلف NGO با تیمار شاهد در تعداد شاخساره جانبی وجود داشت به طوری که حداقل تعداد شاخساره جانبی در غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر NGO بدست آمد. همچنین غلظت های بالای ۵۰ میلی گرم بر لیتر NGO تاثیر کمتری بر تعداد شاخساره جانبی داشت و با افزایش غلظت تعداد شاخساره به طور معنی داری کاهش یافت.

مقایسه میانگین غلظت های مختلف NGO بر طول شاخساره نشان داد که بین غلظت های مختلف NGO اختلاف معنی دار وجود نداشت و طول شاخساره ثابت ماند اما تفاوت بین تیمار شاهد با NGO معنی دار بود. بیشترین طول شاخساره در غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر NGO حاصل شد.

غلظت پایین گرافن (۵۰۰ میلی گرم بر لیتر) منجر به کاهش انداز طول شاخساره در کلم، گوجه فرنگی و اسفناج قرمز شد ولی در غلظت بالاتر (۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) سبب کاهش بیشتری در طول شاخساره شد (Begum *et al.*, 2011). با افزایش غلظت GO به ۲۰۰ میلی گرم در لیتر تأثیر معنی داری در قطر ساقه گیاه گوجه فرنگی حاصل نشد (Guo *et al.*, 2021). غلظت های پایین نانولوله های کربنی (۱۰ و ۵۰ میکرو گرم در میلی لیتر) سبب افزایش قابل ملاحظه ای در طول شاخساره دو رقم سیب زمینی مارفونا و سینورا شد (Jami *et al.*, 2018). در آزمایشی دیگر تیمار گیاه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum*)^{۱۷} با نانولوله های کربنی تک دیواره (SWCNT)^{۱۸} سبب افزایش معنی دار ارتفاع گیاه شد. (Khodakovskaya *et al.*, 2009). این مطالعات با نتایج حاصل شده برای طول شاخساره در این آزمایش همخوانی و مطابقت دارد.

شکل ۱- گیاههای سبب زمینی تحت تیمار NGO در محیط کشت درون شیشه ای



^{۱۷} - *Solanum lycopersicum*

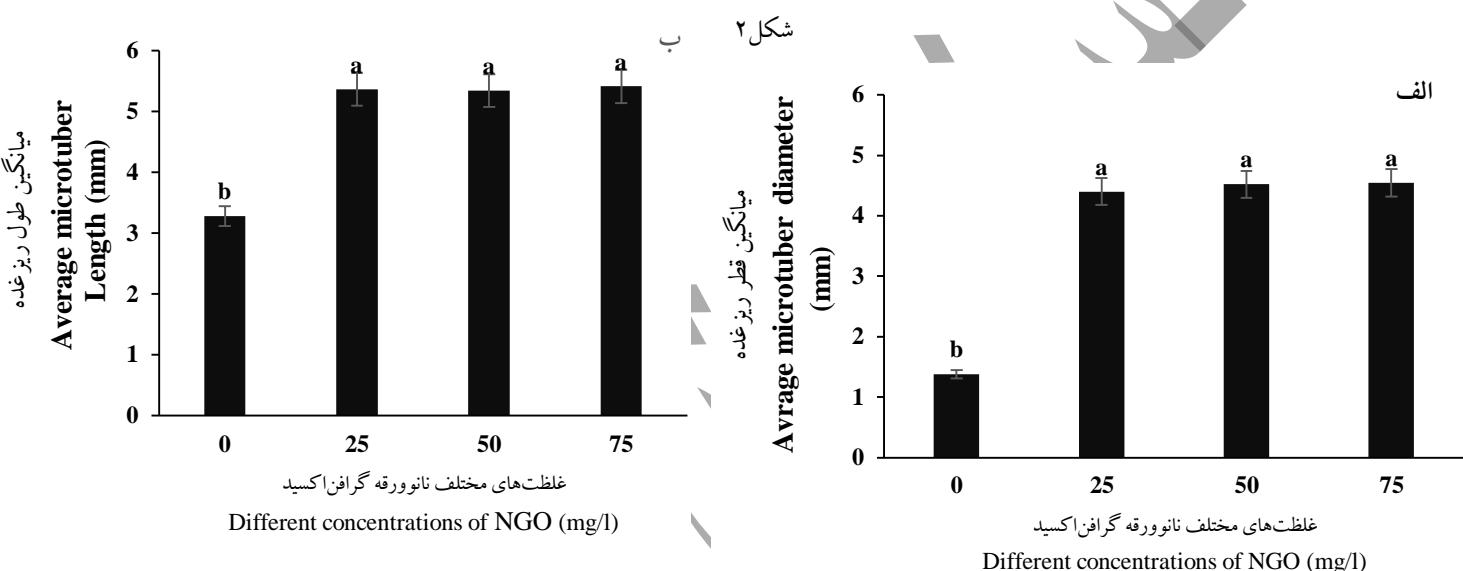
^{۱۸} - Single Walled Carbon Nanotube

ریزنومه در تیمار شاهد (۱) ریزنومه در محیط کشت با غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر NGO (۲) ریزنومه در محیط کشت با غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر NGO (۳) ریزنومه در محیط کشت با غلظت ۷۵ میلی گرم بر لیتر NGO (۴).

Figure 1: explant in the control (1), explant in the e medium with 25 mg/L NGO (2), explant in the medium with 50 ml g/L NGO (3). explant in the medium with 75 ml g/L NGO (4).

آزمایش دوم: بروسی اثر غلظت های مختلف NGO بر ریزغده زایی سیب زمینی آگریا در شرایط درون شیشه ای

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) سطوح مختلف NGO برای تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود اما متوسط طول جوانه در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود. همچنین نتایج مقایسه میانگین برای غلظت های مختلف NGO نشان داد که با افزایش NGO (غلظت های بالای ۲۵ میلی گرم بر لیتر) صفاتی نظیر؛ متوسط طول ریزغده، قطر ریزغده و تعداد ریزغده ثابت باقی مانده و حداقل مقادیر این صفات در غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر NGO حاصل شد (شکل ۲ و ۳).



شکل ۲- اثر غلظت های مختلف NGO بر میانگین قطر ریزغده (الف) و میانگین طول ریزغده (ب)

Figure 2- The effect of Different concentrations of NGO on microtuber average length (A) and average microtuber diameter (B)

(حرروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

The same letters indicate that *there is no significant difference* at the 1 and 5% probability level based on the Duncan test.

تاکنون در مقایسه با سایر نانومواد کربنی، مطالعات اندکی درباره تاثیر GO و NGO در کشاورزی صورت پذیرفته است و تنها تاثیر این مواد بر جوانه زنی، رشد گیاه و توسعه گونه های مختلف گیاهی ارزیابی شده است (Cheng *et al.*, 2016). اخیرا تاثیر برخی نانوذرات بر غده زایی سیب زمینی مورد مطالعه قرار گرفته است.

پژوهش های گذشته با نانو ذرات مختلف بر روی ارقام مختلف سیب زمینی نشان داده اند که نانو ذرات می توانند در ریزازدیادی و ریزغده زایی این گیاه موثر باشند. به طور مثال استفاده از نانوذرات کیالت در ازدیاد درون شیشه ای سیب زمینی رقم سانتانا نشان داد که این ماده در غلظت ۲,۵ میلی گرم در لیتر به همراه ساکاروز هم در افزایش تعداد ریزغده و هم در تسريع ریزغده زایی موثر است (Hamza *et al.*, 2019) همچنین نانوذرات نیترات نقره و دی اکسید تیتانیوم تاثیرات مشبی در ریزغده زایی سه رقم مختلف سیب زمینی در شرایط درون

شیشه‌ای داشته‌اند، هر چند که تاثیر این نانوذرات در ارقام مختلف متفاوت بوده است (Al-Jibouri *et al.*, 2017). نتایج این آزمایشات حاکی از تفاوت تاثیر نانوذرات بر شاخص‌های مورد اندازه‌گیری می‌باشد که بسته به غلظت، زمان و گونه گیاهی متفاوت می‌باشد.

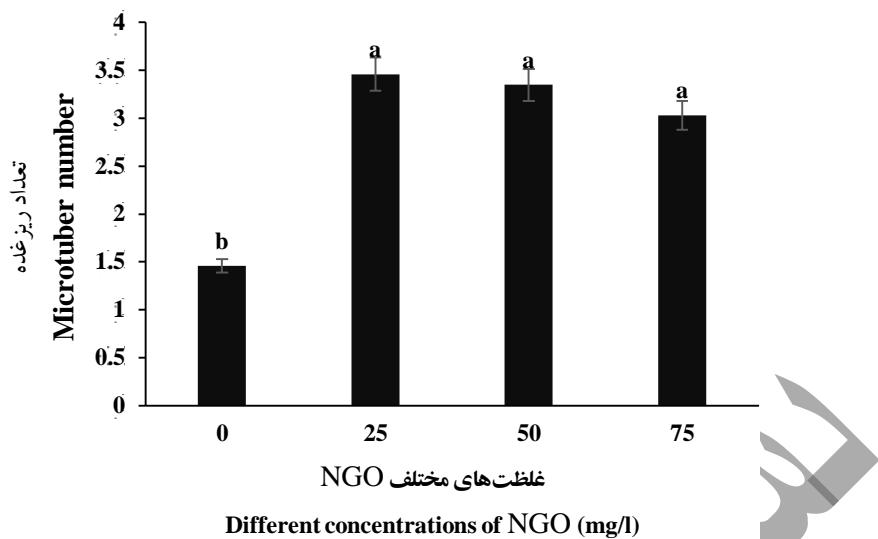
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر NGO بر صفات مورد مطالعه ریزغده‌زایی (آزمایش دوم)

Table 2- analysis of variance for NGO effect on microtuber traits (experiment 2)

| چشم‌ها | وزن ریزغده | قطر ریزغده | طول ریزغده | تعداد غده | درجه آزادی | منابع تغییرات | |
|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|---------------------|
| | | | | | | Mean square | Source of variation |
| Eyes | Microtuber weight | Microtuber diameter | Microtuber length | Tuber number | Degree of freedom | | |
| 512.381** 75.107 | 0.018** 0.004 | 38.660** 1.835 | 13.150** 2.940 | 14.022** 1.208 | 3 55 | NGO اشتباه آزمایشی Error | |

| دو ریزغده فاقد دورمانسی | جوانه زنی Bud germination | ریزغده‌زایی Microtuberization | سرعت ریزغده‌زایی Microtuberization rate | عملکرد وزن ریزغده | طول جوانه Shoot length | درجه آزادی Degree of freedom | منابع تغییرات | |
|-------------------------|---------------------------|-------------------------------|---|-------------------|------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| | | | | | | | Mean square | Source of variation |
| Without dormancy | | | | | | | | |
| 5478.108** 1025.752 | 8758.737** 1838.638 | 8471.430** 372.430 | 12.005** 2.465 | 0.243** 0.055 | 4.092* 1.173 | 3 55 | NGO اشتباه آزمایشی Error | |

*, ** به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف NGO بر تعداد ریزغده

Figure 3-The effect of different concentrations of NGO on the number of microtuber.

(حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

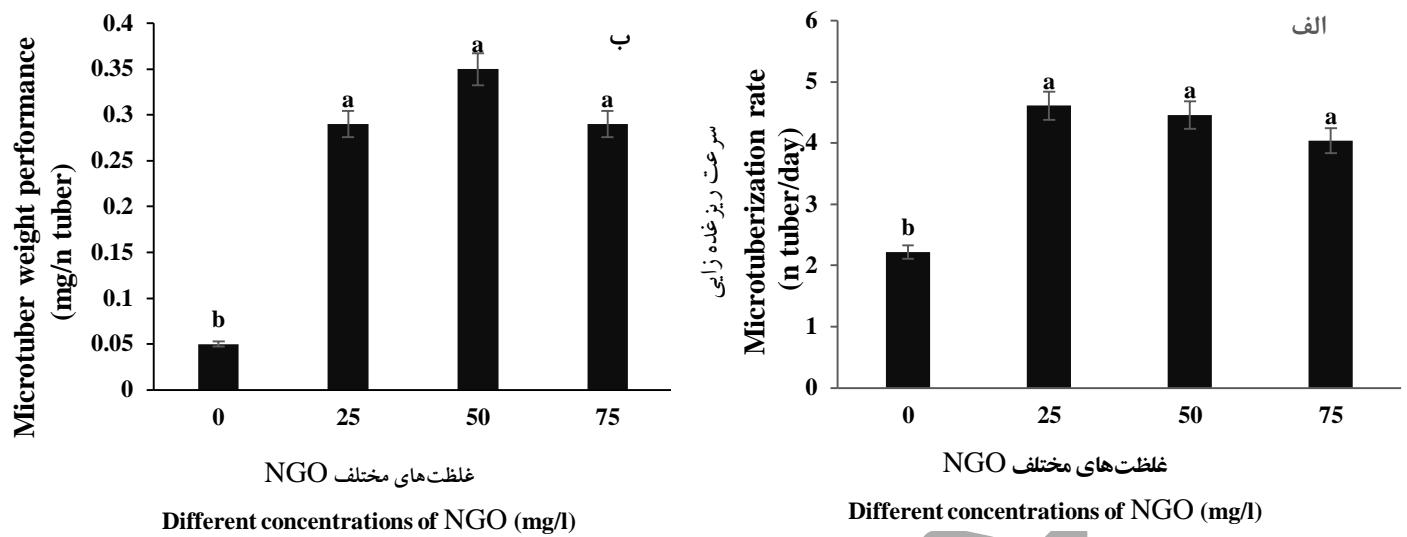
(The same letters indicate that *there is no significant difference* at the 1 and 5% probability level based on the Duncan test).

طبق نتایج مقایسه میانگین در شکل ۳، باافزایش غلظت NGO عملکرد وزن ریزغده و درصد ریزغده زایی ثابت می ماند.

هرچند در مورد این صفات اختلاف معنی داری بین غلظت‌های مختلف NGO وجود ندارد، اما احتمال داده می شود که با

افزایش غلظت NGO، هر دو صفت روند کاهشی را نشان دهند. بنابراین، به نظر می رسد مطلوب ترین غلظت NGO در

خصوص این صفات ۲۵ میلی گرم بر لیتر باشد.



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف NGO بر سرعت ریزغده‌زایی (الف) و عملکرد وزنی ریزغده (ب)

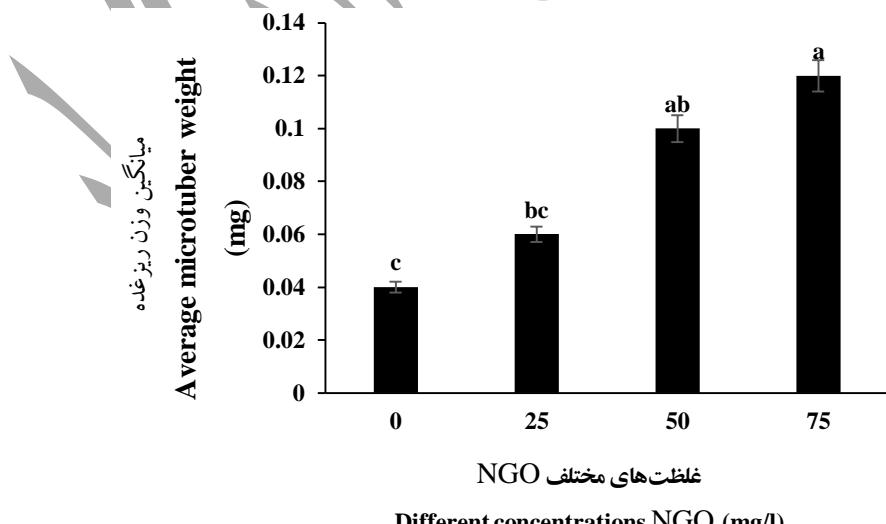
Figure 4- Effect of different concentrations of NGO on microtuberization rate (a) and microtuber weight performance (b)

(حرروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

(The same letters indicate that *there is no significant difference* at the 1 and 5% probability level based on the Duncan test)

حداکثر میانگین وزن ریزغده نیز در غلظت‌های بالای NGO حاصل شد. به عبارتی با افزایش غلظت NGO متوسط وزن

ریزغده نیز افزایش یافت و مطلوب‌ترین غلظت 75 میلی‌گرم بر لیتر NGO برای وزن ریزغده بود (شکل ۵)

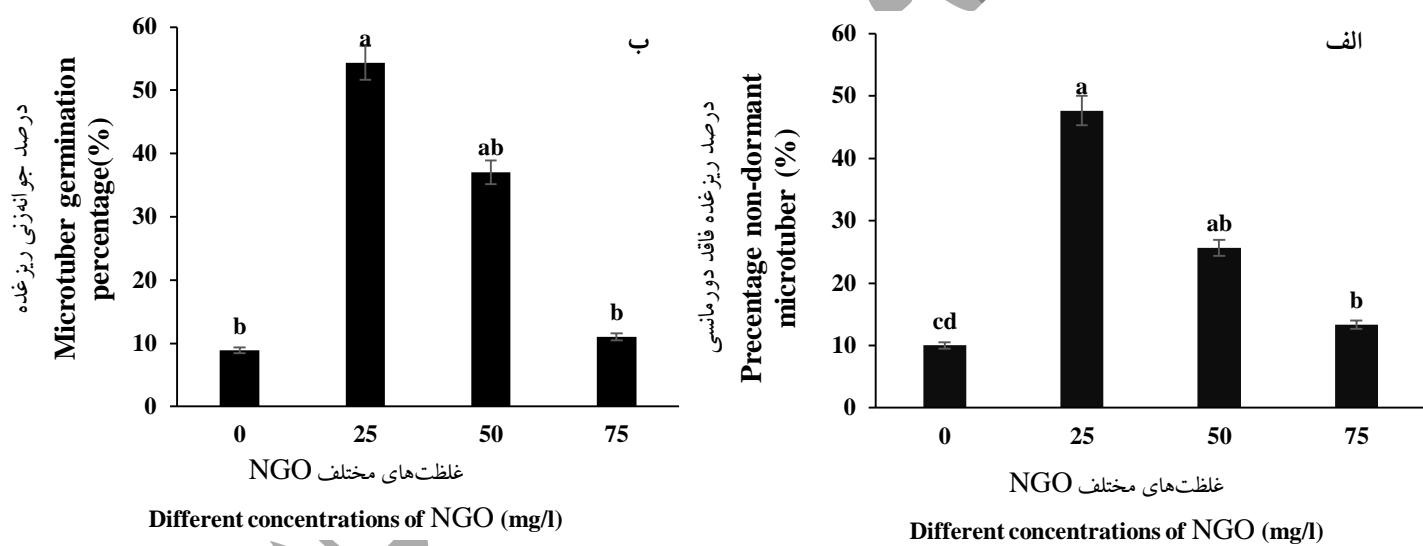


شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف NGO بر میانگین وزن ریزغده

Figure 5- The effect of different concentrations of NGO on the average microtuber weight
 (حرروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

(The same letters indicate that *there is no significant difference* at the 1 and 5% probability level based on the Duncan test)

بررسی در صد جوانه زنی در این آزمایش، جوانه زنی حداقل یک ریزغده با یک جوانه حتی با تاخیر زمانی و ملاک ریزغده فاقد خواب عملکرد خواب غده می باشد که از جوانه زنی تمام ریزغده ها در تمام طول دوره غده زایی ممانعت می کند. افزایش غلظت NGO روند کاهشی را برای صفاتی از جمله؛ در صدریزغده بدون خواب (تعداد ریزغده دارای جوانه بر تعداد کل ریزغده) و درصد جوانه زنی (ریزغده تعداد ریزغده تولیدی در هر واحد آزمایش بر مدت زمان لازم برای تشکیل ریزغده) در پی داشت. غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر NGO بیشترین درصد جوانه زنی و ریزغده بدون خواب را نشان داد (شکل ۶). همچنین در غلظت بالای ۲۵ میلی گرم بر لیتر NGO هر دو صفت به طور معنی داری کاهش یافتند که احتمال داده می شود مطلوب ترین سطح، غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر NGO به منظور توسعه و تقویت این صفات باشد.



شکل ۶- اثر غلظت های مختلف NGO بر در صدریزغده بدون خواب (الف) و در صد جوانه زنی ریزغده (ب)

Figure 6- The effect of different concentrations of NGO on microtuber non-dormant percentage (A) and microtuber germination percentage (B)

(حرروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است). (The same letters indicate that there is no significant difference at the 1 and 5% probability level based on the Duncan test).

غلظت های پایین گرافن می تواند باعث افزایش جوانه زنی بذر شود. در حالی که در غلظت های بیشتر از ۵۰ میلی گرم بر لیتر. (Nair *et al.*, 2012) نانواکسید گرافن باعث کاهش سرعت و میزان جوانه زنی گیاه برنج شد.

مکانیسمی که توسط آن جوانه زنی بذر افزایش می یابد ممکن است این باشد که GO قادر به نفوذ به پوسته بذر است و با این نفوذ ممکن است برای تسهیل جذب آب، پوسته ها را بشکند و در نتیجه جوانه زنی سریع بذر و در صد جوانه زنی بالاتری را به

دبیال داشته باشد. (He *et al.*, 2018 & Liu *et al.*, 2021). گرافن به دلیل دارابودن گروه های عاملی اکسیژن دار می تواند از تبخیر آب جلوگیری نماید (Zhang *et al.*, 2020). بنابراین، گرافن می تواند ظرفیت آب گیاهان را افزایش داده و کارایی مصرف آب را بهبود بخشد. به همین دلیل، گرافن می تواند با افزایش رطوبت دانه ها، جوانه زنی بذر را افزایش دهد. غلظت های ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر NGO جوانه زنی و شاخص رشدی گیاه لوپیا را توسعه بخشد (Anjum *et al.*, 2014). مطالعات نشان داده است لیتر GO نیز به طور قابل توجهی جوانه زنی بذر اسفناج و پیازچه را تحریک کرد (He *et al.*, 2018). مطالعات نشان داده است که گرافن می تواند جوانه زنی بذر گوجه فرنگی (Jiao *et al.*, 2016) و اسفناج (Forstner *et al.*, 2019) را تقویت کند. غلظت های پایین GO (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) به طور قابل توجهی جوانه زنی بذر *A. fruticosa* را افزایش داد (Liu *et al.*, 2022)

استفاده از خصوصیات آب دوستی و ویژگی انتقال آب NGO می تواند سبب تولید ریزغده با درصد جوانه زنی بالا شود. همچنین از همین خصوصیات NGO به منظور افزایش رشد و عملکرد اسفناج و پیاز کوهی در غلظت های پایین استفاده شد^{۱۹} (Zea *sativus* L.^{۲۰}، تربچه (*Lactuca sativa* L.^{۱۹})، کاهو (*Raphanus sativus* L.^{۲۱})، ذرت (Yijia *et al.*, 2017) و خیار (*Cucumis sativus* mays)^{۲۲} و دیگر گیاهان نانولوله های کربنی سبب شکستن خواب بذر می شوند^{۲۳}. نتایج تحقیقات انجام شده با نتایج حاصل از تاثیر NGO بر تولید ریزغده فاقد دورمانسی و درصد جوانه زنی ریزغده با غلظت کم NGO در این پژوهش انطباق دارد. با توجه به اینکه خواب بذر با چلوگیری از جوانه زنی بذرها، به طور حیرت انگیزی بذرها و نهال ها را از آسیب ناشی از دوره های کوتاه آب و هوای بد محافظت می کند احتمال داده می شود حضور NGO می تواند اثرات ممانعت کننده عوامل دخیل بر رشد ریشه و درصد جوانه زنی را کاهش دهد (Yin *et al.*, 2018).

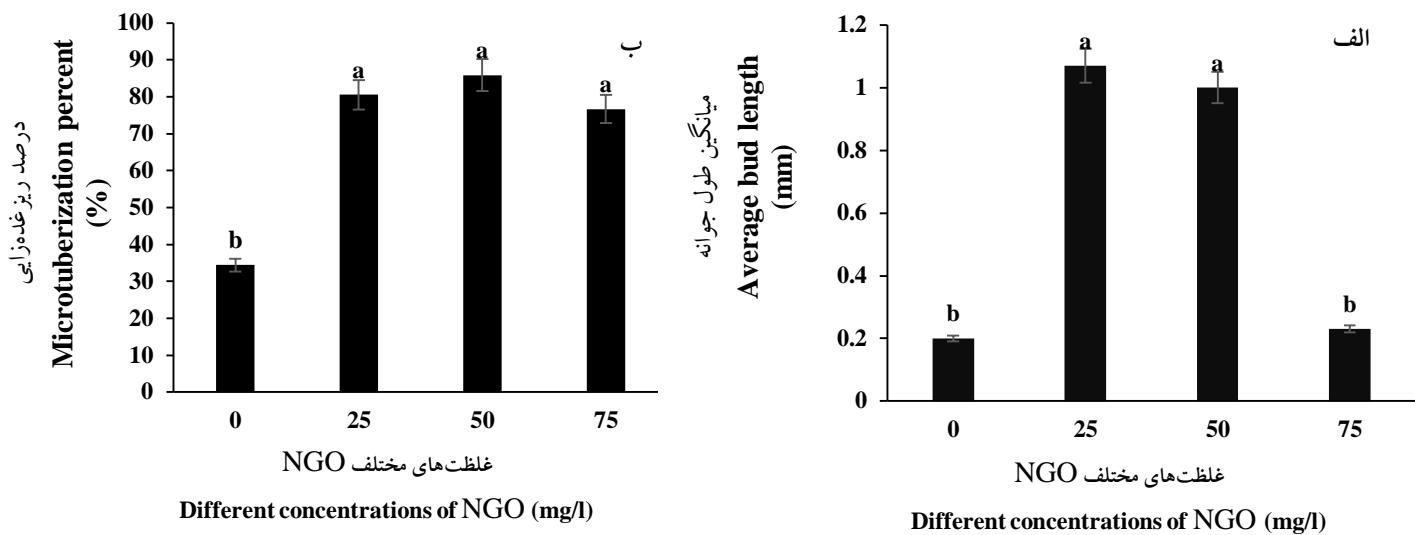
بیشترین درصد ریزغده زایی و میانگین طول جوانه در غلظت های پایین NGO حاصل شد به طوری که تا غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر متوسط طول جوانه ثابت بود و پس از آن به شکل معنی داری کاهش یافت (شکل ۷). همچنین در صدر ریزغده زایی در غلظت های بالای ۲۵ میلی گرم بر لیتر ثابت باقی ماند. بنابراین غلظت ۲۵ میلی گرم بر لیتر NGO بهترین حالت برای هر دو صفت مذکور می باشد (شکل ۷).

^{۱۹} *Lactuca sativa* L

^{۲۰} *Raphanus sativus* L

^{۲۱} *Zea mays*

^{۲۲} *Cucumis sativus*



شکل ۷- اثر غلظت های مختلف NGO بر درصد ریزغده زایی و میانگین طول جوانه

Figure 7 - The effect of different concentrations of NGO on microtuber percentage and bud length.

(حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

(The same letters indicate that *there is no significant difference* at the 1 and 5% probability level based on the Duncan test)



شکل ۸- ریزغده تولیدی در محیط کشت های مختلف؛ ۱- فاقد NGO، ۲، ۳ و ۴- غلظت های ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر لیتر ۵- کل ریزغده های تولیدی در محیط کشت حاوی NGO ۶- کل ریزغده های تولیدی طی آزمایش

Figure 8 Microtuber produced in the different media; 1- No NGO of 2, 3 and 4; 5- Total microtubers produced in the medium containing NGO 6- Total microtubers produced during the experiment.

نتایج آزمایش حاضر نشان دهنده تاثیر معنی دار NGO بر صفات مرتبط با پرآوری و عملکرد ریزغده های سیب زمینی رقم

آگر یا تحت شرایط درون‌شیشه‌ای می‌باشد. در سایر مطالعات نیز استفاده از نانوذرات با تاثیر بر فرآیندهای رشدی گیاهان مختلف، نقش تعیین کننده‌ای در تولید گیاهان با رشد قوی و تولید ریزغده‌های سیب‌زمینی داشتند. از این‌رو، به نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر هریک از عوامل موثر در پرآوری و ریزغده‌زایی یا مجموعه‌ای از آن‌ها موجب اثربخشی مثبت NGO بر صفات مرتبط با عملکرد ریزازدیادی و ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا شده است. این اثربخشی با سنتز تنظیم کننده‌های رشد در غلظت بالا، نفوذ به پوسته بذر و تسهیل در فرآیند جذب آب (Khodakovskaya *et al.*, 2009) به داخل جنبه بذر سبب تولید گیاهچه‌های قوی با خصوصیات رشدی بالا و ریزغده‌های با کیفیت و عملکرد بالا می‌شود. این موضوع با توانایی نانوذرات مربوط است اما سازوکار توانایی نانوذرات در جذب آب به درون بذر هنوز ناشناخته است. اکثر تحقیقات انجام شده بر گیاهان مختلف نیز نشان از برتری نانوذرات بخصوص نانولوله‌های کربنی بر تقویت خصوصیات رشدی گیاهان دارد که در این پژوهش نیز احتمالاً گیاهچه‌های قوی تولید شده عامل کلیدی در تولید ریزغده‌های با کیفیت و خصوصیات کمی و کیفی با شند، زیرا مطالعات در خصوص تولید ریزغده با استفاده از نانولوله‌های کربنی بسیار کم بوده و یا انجام نشده است و این پژوهش با استفاده از NGO نخستین بار با این هدف انجام پذیرفت.

نانوذرات نقش بالقوه‌ای در حفاظت از محیط زیست ایفا می‌کنند، اما استفاده بیش از حد از آن‌ها سبب انبساط آن‌ها در محیط زیست می‌شود که ممکن است سمی باشد. با این حال، محققان به اهمیت مطالعات کامل‌تر برای ارزیابی کاربرد نانولوله‌های کربنی در گیاهان و همچنین ارزیابی اثرات سمی آن‌ها روی گیاهان تاکید دارند. محققان دریافتند که گرافن می‌تواند به سرعت از ریشه به شاخه و برگ‌ها منتقل شود (Huang *et al.*, 2018). جذب و انتقال نانو مواد به ترتیب از طریق آوند چوبی و آوند آبکش از ریشه به ساقه و از ساقه به ریشه انجام می‌شود (Etxeberria *et al.*, 2009). گرافن می‌تواند به دیواره سلولی، غشاء و داخل کلروپلاست برگ‌ها نفوذ کند و با کمک گروه هیدروکسیل OH- در برگ‌ها تجزیه شود (Huang *et al.*, 2018). علاوه بر این، مشخص شده است که گرافن می‌تواند توسط میکروارگانیسم‌های موجود در محیط خاک تجزیه شود. محققان تأیید کردند که ساختار چند حلقه‌ای گرافن شبیه لیگنین و هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای است (Sheikhi *et al.*, 2014). جذب لیگنین و تجزیه آن با آنزیم‌های درون سلولی امکان پذیر نیست چون مستلزم تخریب از طریق کربن کایرال در دو پیکر بندی L ، D می‌باشد (Sheikhi *et al.*, 2014).

در حالی که قارچ White Rot برای تجزیه لیگنین از مکانیزم آنزیمی غیر اختصاصی عمل می‌نماید که خارج سلول است (Sheikhi *et al.*, 2014). بنابراین گرافن می‌تواند توسط برخی قارچ‌ها تجزیه کننده لیگنین، تجزیه شود (Lalwani *et al.*, 2014). این مطالعات برای از بین بردن درک عمومی از نگرانی‌های ایمنی در مورد استفاده از

گرافن مهندسی شده در تولید کشاورزی مفید خواهد بود.

نتیجه گیری:

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از NGO در غلظت‌های ۲۵ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر تاثیر کاملاً مثبتی بر پرآوری و ریزغذه‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا تحت شرایط درون‌شیشه‌ای دارد. تمامی صفات مورد مطالعه هر دو آزمایش در پاسخ به NGO در غلظت‌های یاد شده اثرات کاملاً مثبت داشتند. با توجه به نتایج حاصل به نظر می‌رسد که بتوان NGO را به عنوان یک نانوذره بر پایه کربن جهت تولید گیاهچه‌های قوی و ریزغذه‌های با عملکرد بالا معرفی و استفاده کرد. هرچند دستیابی به یک محیط کشت ایده آل نیازمند پژوهش و تحقیقات مستمر این نانوذره کربنی بر محصولات مختلف باگی، زراعی و به خصوص محصول سیب‌زمینی تحت شرایط درون‌شیشه‌ای می‌باشد.

منابع:

- Abelenda, J. A., Bergonzi, S., Oortwijn, M., Sonnewald, S., Du, M., Visser, R. G. & Bachem, C. W. (2019). Source-sink regulation is mediated by interaction of an FT homolog with a sweet protein in potato. *Current Biology*, 29(7), 1178-1186.
- Al-Jibouri, A. M. J., Abed, A. S., Hussin, Z. S., & Abdulhusein, A. A. (2017). Effect of nanoparticles on in vitro microtuberization of potato cultivars (*Solanum tuberosum L.*).
- Al-Safadi, B., Ayyoubi, Z., & Jawdat, D. (2000). The effect of gamma irradiation on potato microtuber production in vitro. *Plant cell, tissue and organ culture*, 61(3), 183-187.
- Anjum, N. A., Singh, N., Singh, M. K., Sayeed, I., Duarte, A. C., Pereira, E., & Ahmad, I. (2014). Single-bilayer graphene oxide sheet impacts and underlying potential mechanism assessment in germinating faba bean (*Vicia faba L.*). *Science of the Total Environment*, 472, 834-841.
- Begum, P., Ikhtiar, R., & Fugetsu, B. (2011). Graphene phytotoxicity in the seedling stage of cabbage, tomato, red spinach, and lettuce. *Carbon*, 49(12), 3907-3919.
- Chen, J., Yang, L., Li, S., & Ding, W. (2018). Various physiological response to graphene oxide and amine-functionalized graphene oxide in wheat (*Triticum aestivum*). *Molecules*, 23(5), 1104.
- Chen, L., Wang, C., Li, H., Qu, X., Yang, S. T., & Chang, X. L. (2017). Bioaccumulation and toxicity of ¹³C-skeleton labeled graphene oxide in wheat. *Environmental science & technology*, 51(17), 10146-10153.
- Chen, Z., Zhao, J., Qiao, J., Li, W., Guan, Z., Liu, Z., ... & Zhu, H. (2022). Graphene-mediated antioxidant enzyme activity and respiration in plant roots. *ACS Agricultural Science & Technology*, 2(3), 646-660.
- Cheng, F., Liu, Y. F., Lu, G. Y., Zhang, X. K., Xie, L. L., Yuan, C. F., & Xu, B. B. (2016). Graphene oxide modulates root growth of *Brassica napus L.* and regulates ABA and IAA concentration. *Journal of Plant Physiology*, 193, 57-63.

- Coleman, W. K., Donnelly, D. J., & Coleman, S. E. (2001). Potato microtubers as research tools: a review. *American Journal of Potato Research*, 78, 47-55.
- Delker, C., Raschke, A., & Quint, M. (2008). Auxin dynamics: the dazzling complexity of a small molecule's message. *Planta*, 227, 929-941.
- FAO. 2022. World Food And Agriculture – Statistical Ppchetbook. (2018). Rome. 254 pp. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Forstner, C., Orton, T. G., Skarszewski, A., Wang, P., Kopittke, P. M., & Dennis, P. G. (2019). Effects of graphene oxide and graphite on soil bacterial and fungal diversity. *Science of the Total Environment*, 671, 140-148.
- Georgailas, V., Perman, J. A., Tucek, J., & Zboril, R. (2015). Broad family of carbon nanoallotropes: classification, chemistry, and applications of fullerenes, carbon dots, nanotubes, graphene, nanodiamonds, and combined superstructures. *Chemical reviews*, 115(11), 4744-4822.
- Gopal, J., Chamail, A. and Sarkar, D. 2004. *In vitro* production of microtubers for conservation of potato germplasm: Effect of genotype, abscisic acid and sucrose. *Developmental Biology Plant*, 40: 485- 490.
- Guo, X., Zhao, J., Wang, R., Zhang, H., Xing, B., Naeem, M., ... & Wu, J. (2021). Effects of graphene oxide on tomato growth in different stages. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 447-455.
- Hamza, E. M. (2019). Improvement of potato micropropagation and microtubers formation as affected by nanoparticles. *Middle East J*, 8(2), 525-532.
- He, Y., Hu, R., Zhong, Y., Zhao, X., Chen, Q., & Zhu, H. (2018). Graphene oxide as a water transporter promoting germination of plants in soil. *Nano Research*, 11, 1928-1937.
- Hoque, M. E. 2010. *In vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum L.*). *Plant Omics Journal*, 3: 7-11.
- Hu, X., Mu, L., Kang, J., Lu, K., Zhou, R., & Zhou, Q. (2014). Humic acid acts as a natural antidote of graphene by regulating nanomaterial translocation and metabolic fluxes in vivo. *Environmental science & technology*, 48(12), 6919-6927.
- Huang, C., Xia, T., Niu, J., Yang, Y., Lin, S., Wang, X., ... & Xing, B. (2018). Transformation of 14C-Labeled Graphene to 14CO₂ in the Shoots of a Rice Plant. *Angewandte Chemie*, 130(31), 9907-9911.
- Jami, J. M., Ghorbani, M. (2018). The Effect of Carbon Nanotubes on *In vitro* Micropropagation of Two Potato (*Solanum tuberosum L.*) Cultivars. 4th Iranian Scientific Congress on Development and Promotion of Agricultural Sciences, Natural Resources and Environment of Iran.
- Jiao, J., Cheng, F., Zhang, X., Xie, L., Li, Z., Yuan, C., ... & Zhang, L. (2016). Preparation of graphene oxide and its mechanism in promoting tomato roots growth. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16(4), 4216-4223.
- Kah, M., Tufenkji, N., & White, J. C. (2019). Nano-enabled strategies to enhance crop nutrition and protection. *Nature nanotechnology*, 14(6), 532-540.
- Khodakovskaya, M. V., Kim, B. S., Kim, J. N., Alimohammadi, M., Dervishi, E., Mustafa, T., & Cerniglia, C. E. (2013). Carbon nanotubes as plant growth regulators: effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. *Small*, 9(1), 115-123.
- Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F., & 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.
- Lalwani, G., Xing, W., & Sitharaman, B. (2014). Enzymatic degradation of oxidized and reduced graphene nanoribbons by lignin peroxidase. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(37), 6354-6362.3.
- Lin, D., & Xing, B. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental pollution*, 150(2), 243-250.

- Liu, D., Lü, Y., & Luo, H. (2022). Effects of Oxidized Graphene on Seed Germination and Seedling Growth of Amorpha fruticose. *Seed*, 41, 14-18.
- Liu, R., Zhao, M., Zheng, X., Wang, Q., Huang, X., Shen, Y., & Chen, B. (2021). Reduced graphene oxide/TiO₂ (B) immobilized on nylon membrane with enhanced photocatalytic performance. *Science of The Total Environment*, 799, 149370.
- Liu, S., Wei, H., Li, Z., Li, S., Yan, H., He, Y., & Tian, Z. (2015). Effects of graphene on germination and seedling morphology in rice. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 15(4), 2695-2701.
- Mahendran, D., Geetha, N., & Venkatachalam, P. (2019). Role of Silver Nitrate and Silver Nanoparticles on Tissue Culture Medium and Enhanced the Plant Growth and Development. In *In vitro Plant Breeding towards Novel Agronomic Traits* (pp. 59-74). Springer, Singapore.
- Maliki, Rasool and Mohammadi, Maryam, 2017, application of nanotechnology in agriculture and food industry (case study of Sahar Hamedan Food Industry Company), 11th National Congress of Biosystem Mechanical Engineering and Mechanization of Iran, Hamedan.
- Møller, I. M., Jensen, P. E., & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 58, 459-481.
- Nair, R. R., Wu, H. A., Jayaram, P. N., Grigorieva, I. V., & Geim, A. K. (2012). Unimpeded permeation of water through helium-leak-tight graphene-based membranes. *Science*, 335(6067), 442-444.
- Noh, S. A., Lee, H. S., Huh, E. J., Huh, G. H., Paek, K. H., Shin, J. S., & Bae, J. M. (2010). SRD1 is involved in the auxin-mediated initial thickening growth of storage root by enhancing proliferation of metaxylem and cambium cells in sweetpotato (*Ipomoea batatas*). *Journal of experimental botany*, 61(5), 1337-1349.
- Pots, A. M., Gruppen, H., van Diepenbeek, R., van der Lee, J. J., van Boekel, M. A. J. S., Wijngaards, G., & Voragen, A. G. J. (1999). The effect of storage of whole potatoes of three cultivars on the patatin and protease inhibitor content; a study using capillary electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(12), 1557-1564..
- Pumera, M., Ambrosi, A., Bonanni, A., Chng, E. L. K., & Poh, H. L. (2010). Graphene for electrochemical sensing and biosensing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(9), 954-965.
- Sheikhi, F., Roayaei Ardkani, M., Enayatzamir, N., & Ghezelbash, G. (2014). Isolation and identification of two laccase producer fungi from bagass and sugarcane rhizosphere. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 27(3), 389-398.
- Simm, S., Scharf, K. D., Jegadeesan, S., Chiusano, M. L., Firon, N., & Schleiff, E. (2016). Survey of genes involved in biosynthesis, transport, and signaling of phytohormones with focus on Solanum lycopersicum. *Bioinformatics and Biology insights*, 10, BBI-S38425.
- Wu, X. J., Wang, G. L., Song, X., Xu, Z. S., Wang, F., & Xiong, A. S. (2016). Regulation of auxin accumulation and perception at different developmental stages in carrot. *Plant Growth Regulation*, 80, 243-251.
- Yijia, H., Ruirui, H., Yujia, Z., Xuanliang, Z., Qiao, C., Hongwei, Z., 2017. Graphene oxide as a water transporter promoting germination of plants in soil. *Nano Res.* 1–10.
- Yin, L., Wang, Z., Wang, S., Xu, W., & Bao, H. (2018). Effects of Graphene Oxide and/or Cd 2+ on Seed Germination, Seedling Growth, and Uptake to Cd 2+ in Solution Culture. *Water, Air, & Soil Pollution*, 229(5), 151.
- Zhang, P., Guo, Z., Luo, W., Monikh, F. A., Xie, C., Valsami-Jones, E., ... & Zhang, Z. (2020). Graphene oxide-induced pH alteration, iron overload, and subsequent oxidative damage in rice (*Oryza sativa* L.): A new mechanism of nanomaterial phytotoxicity. *Environmental science & technology*, 54(6), 3181-3190.

Zhang, X., Cao, H., Zhao, J., Wang, H., Xing, B., Chen, Z., ... & Zhang, J. (2021). Graphene oxide exhibited positive effects on the growth of Aloe vera L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27, 815-824.

