

## کاربرد نانو ذرات نقره پوشش دار شده با پکتین و تریاکانتانول بر ضد عفونی و ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا

معصومه عابدینی<sup>۱</sup>، علیرضا مطلبی‌آذر<sup>۲</sup>، فریبرز زارع نهندي<sup>۲</sup> و غلامرضا گوهری<sup>۳\*</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران

۳- دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، ایران

\* نویسنده مسئول: gohari.gh@maragheh.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۰۲)

### چکیده

تولید گیاهان عاری از ویروس از طریق کشت درون شیشه‌ای و تکثیر آن‌ها، به کاهش هزینه‌ها و افزایش عملکرد منجر می‌شود. بنابراین در این آزمایش اثر ضد عفونی‌کنندگی نانو ذرات نقره با پوشش پکتین در غلظت‌های (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در سه زمان (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) بر کاهش آلودگی ریز نمونه‌ها به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه کشت بافت گیاهان باغی دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۸ مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه، به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف تریاکانتانول (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر) بر ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا، آزمایش دوم در قالب طرح کاملاً تصادفی به اجرا درآمد. ضد عفونی نمونه‌ها با تیمار نانو ذرات نیترات نقره با پوشش پکتین در غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان ۳۰ دقیقه بهترین نتیجه را برای کنترل پوسیدگی ریزنمونه داشتند. بر اساس نتایج به دست آمده، کاربرد تریاکانتانول اثر معنی‌داری بر صفات ریزغده فاقد خواب، طول شاخه فرعی و تعداد شاخه فرعی نداشت. با این وجود، مقایسه میانگین صفات تعداد ریزغده و درصد غده‌زایی نشان داد که بیشترین میزان این شاخص‌ها در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر تریاکانتانول مشاهده گردید. علاوه بر این بیشترین میزان تعداد چشم و طول ریزغده در تیمار تریاکانتانول با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب با ۱/۹۸ عدد و ۵/۲۱۳ میلی‌متر مشاهده شد. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش، چنین به نظر می‌رسد که کاربرد نانو ذرات نقره پوشش‌دار شده با پکتین و نیز غلظت‌های مختلف تریاکانتانول به عنوان دو ترکیب مهم در کاهش پوسیدگی ریزنمونه‌ها و نیز افزایش ریزغده‌زایی سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای قابل توصیه باشد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی، ریزغده‌زایی، سیب‌زمینی، کشت بافت، نانو ذرات.

### مقدمه

کشاورزی در سراسر جهان است (Abelenda *et al.*, 2019). طبق آمار سازمان فائو تولید جهانی سیب‌زمینی بیش از ۳۷۵ هزار تن بوده است (FAO, 2018). سیب‌زمینی اهمیت اقتصادی

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) به دلیل داشتن مقادیر بالای نشاسته، پروتئین و سایر مواد مغذی مهم در غده‌ها یکی از محصولات مهم

Hossain (2015) و دیگر ترکیبات محیط کشت ( *et al.*, 2017) می‌باشد.

نانو مواد به کلیه موادی که حداقل یکی از ابعاد آن‌ها حدود ۱-۱۰۰ نانومتر است، گفته می‌شود (Ioannou *et al.*, 2020). نانوتکنولوژی نقش بسیار پویایی در رشته‌های مختلف علمی ایجاد کرده است؛ با وجود این، کاربرد آن در علم کشاورزی، موضوعی است که در میان دانشمندان مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات نشان می‌دهد که تأثیر مثبت یا منفی نانو مواد بر محصولات کشاورزی وابسته به اندازه، شکل، غلظت، ترکیب شیمیایی، حلالیت و غیره می‌باشد ( *Tan et al.*, 2018). با پیشرفت فناوری ساخت نانو مواد، نانو ذرات نقره با سطح ویژه بالا که امکان دسترسی به میزان بیشتری از اتم‌های نقره را فراهم می‌کنند توجه صنایع گوناگونی مانند پوشاک، آرایشی، بسته‌بندی غذا و مواد ساختمانی را به نقره جلب کرده است، زیرا نانو ذرات نقره در غلظت‌های پایین نیز دارای بازده بالای میکروب‌کشی هستند (Chippa, 2019). مکانیسم عمل نانو ذرات نقره در ریزجانداران هنوز به روشنی مشخص نشده ولی پیشنهاد شده است که ذرات نانو نقره می‌توانند به آهستگی یون‌های نقره را رها کنند و این یون‌ها می‌توانند ساختار سلولی ریزجانداران را از بین ببرند (Lubick, 2008; Torrent *et al.*, 2019). از این‌رو نانو نقره جهت کنترل باکتری‌ها به کار رفته است. محققان نشان دادند که یون‌های نقره از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن بر فسفولیپیدها اثر گذاشته و باعث پراکسیداسیون آن‌ها شده و غشاء سلولی ریزجانداران را تخریب می‌کنند ( *Partila,* 2019). فناوری نانو نقره باعث به‌وجود آمدن انقلابی شگرف در مواد ضد باکتریایی است که جهت‌گیری اصلی برای گسترش محصولات نانو نقره است و دارای مزایای بسیار زیادی نسبت به مواد شیمیایی

زیادی برای تأمین انرژی از نظر مواد غذایی و صنعتی دارد و همواره به‌عنوان گیاه مورد توجه پژوهشگران علوم گیاهی بوده است. سیب‌زمینی به‌دلیل توان بالای باززائی نو ساقه، یکی از گیاهان الگو برای انجام آزمایش‌های کشت بافت است که تولید گیاهچه این گیاه در شرایط درون شیشه‌ای در سطح بسیار وسیع صورت می‌گیرد ( *Edwin et al.*, 2008).

از آن‌جا که ازدیاد سیب‌زمینی توسط اندام‌های غیرجنسی (غده‌ها و ریزغده‌ها) صورت می‌گیرد، دسترسی به گیاهان و غده‌های سالم و مناسب حائز اهمیت است. با توجه به حساسیت سیب‌زمینی به ویروس‌ها، تولید گیاهان عاری از ویروس از طریق کشت درون شیشه‌ای و تکثیر آن‌ها، به کاهش هزینه‌ها و افزایش عملکرد منجر می‌شود ( *Salem & Hassanein,* 2017). یکی از روش‌های مؤثر کاهش بیماری‌ها گیاهی و تولید ریزغده‌های عاری از امراض، استفاده از روش‌های تولید درون شیشه‌ای است. این ریزغده‌های عاری از بیماری را می‌توان در تمام طول سال و در هر حجمی تولید کرد (Hannapel, 2007). امروزه تولید ریزغده‌ها به یکی از روش‌های تکثیر سریع در تولید و ازدیاد غده‌های بذری و مبادله ژرم‌پلاسما تبدیل شده است. ریزغده‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای برای نخستین بار با کشت جوانه‌های جانبی تک‌گره صورت گرفت که منجر به تولید غده‌های بذری عاری از ویروس گردید ( *Gopal et al.*, 2004). غده‌زایی در سیب‌زمینی مکانیسمی حیاتی و فرآیندی پیچیده از نظر نموی است که تحت تأثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرد. فاکتورهای مؤثر بر ریزغده‌زایی و تشکیل آن در شرایط درون شیشه‌ای شامل ژنوتیپ ( *Khalil et al.*, 2017)، تغییرات طول روز و شب ( *Seabrook,* 2005)، نوع منبع کربن ( *Rahman et al.*, 2015)، تنظیم‌کننده‌های رشد ( *Wroble,*

فتوسنتزی برای پر کردن غلاف بادام‌زمینی را ارتقا و در نتیجه عملکرد و پارامترهای مرتبط مانند عملکرد غلاف، وزن غلاف، و تعداد غلاف در بوته را افزایش می‌دهد (Verma *et al.*, 2009; Pang *et al.*, 2020). بسیاری از محققان نقش مثبت تریاکانتانول را در افزایش رشد، عملکرد، فتوسنتز، تثبیت نیتروژن، فعالیت‌های آنزیمی و سطوح آمینواسیدهای آزاد، کاهش قندها و پروتئین محلول گزارش کرده‌اند (Naeem *et al.*, 2011). لذا با توجه به اهمیت اقتصادی تولید ریزغده سالم سیب‌زمینی، در این پژوهش تلاش شده است اثرات گندزدایی نانو ذرات نقره بر مراحل ضد عفونی کشت بافت سیب‌زمینی و همچنین اثرات تریاکانتانول در ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا مورد بررسی گیرد.

#### مواد و روش‌ها

##### آماده‌سازی نمونه گیاهی و اعمال تیمارها

##### آزمایش اول

به‌منظور بررسی اثرات نانو ذرات نقره با پوشش پکتین بر میزان پوسیدگی ریزنمونه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون‌شیشه‌ای، بوته‌های سیب‌زمینی عاری از ویروس رقم آگریا از مرکز تحقیقات کشاورزی اردبیل تهیه و به آزمایشگاه کشت بافت گیاهان باغی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز منقل گردید؛ بدین منظور، شاخساره‌های دو سانتی‌متری تهیه شده و پس از انتقال به آزمایشگاه جهت رفع آلودگی‌های سطحی، با آب شست‌وشو داده شدند. پس از حذف پهنک برگ‌ها، قلمه‌ها که دارای چند گره برگی حاوی جوانه بودند، برای رفع آلودگی سطحی در معرض آب جاری قرار گرفتند. سپس با غلظت‌های مختلف نانو نقره پوشش‌دار شده با پکتین (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم) به مدت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه ضد عفونی شد. سپس

دیگر می‌باشند (Warheit *et al.*, 2007). از نانو ذرات نقره برای کنترل برخی از بیماری‌های قارچی در گیاهان استفاده شده است (Kim *et al.*, 2009; Min *et al.*, 2009) و برای حذف آلاینده‌های باکتری در سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*) که در شرایط درون شیشه‌ای رشد داده شده بودند، مورد استفاده قرار گرفته است (Abdi *et al.*, 2008).

تریاکانتانول (Triacontanol) یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی است که به‌عنوان تنظیم‌کننده فرآیندهای مختلف رشدی گیاه تحت شرایط عادی یا تنش شناخته شده است (Islam *et al.*, 2020). علاوه بر این تریاکانتانول در تعامل با هورمون‌های دیگر رشد مانند سیتوکنین و اسید جیبرلیک، رشد، عملکرد و فرآیندهای متابولیکی در گیاهان را تنظیم می‌کند (Islam & Mohammad, 2020). جداسازی و شناسایی ژن‌های تنظیم‌کننده تریاکانتانول اولین گام به‌سوی درک عمل تریاکانتانول بود، که مسیرهای بیوشیمیایی و فرآیندهای فیزیولوژیکی درگیر در پیام‌رسانی سلولی تریاکانتانول را تنظیم و آشکار می‌کند (Islam *et al.*, 2020). طبق گزارش‌های ارائه شده تریاکانتانول موجب افزایش فتوسنتز و جذب آب و مواد معدنی و رشد میوه در گیاهان مختلف شده است (Naeem *et al.*, 2011). تریاکانتانول موجب بهبود رشد آفتابگردان به‌دلایل زیادی مانند تنظیم بسیاری از ژن‌های مرتبط با فتوسنتز (Singh *et al.*, 2012)، تعدیل فعالیت اکسیدان‌ها (Perveen *et al.*, 2011) به‌وسیله رهاسازی پیام‌رسان ثانویه یا متابولیت‌های مسئول فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات و بسیاری از پاسخ‌های فیزیولوژیکی (Naeem *et al.*, 2009) گردید. محلول‌پاشی تریاکانتانول همراه با اسید جیبرلیک در مراحل مختلف رشد گیاه بادام‌زمینی، انتقال مواد

### آنالیز آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در هر واحد آزمایش چهار جوانه جانبی کشت شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

به‌منظور بررسی اثر ضدعفونی‌کنندگی نانو ذرات نقره پوشش‌دار شده با پکتین با غلظت‌های مختلف (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در سه زمان (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی میزان پوسیدگی ریزنمونه‌ها نشان داد که در تمام غلظت‌های نانو درصد پوسیدگی ریزنمونه‌ها به‌مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه چندان در برطرف کردن آلودگی‌ها مؤثر نبوده است. این در حالی است که با افزایش مدت زمان ضدعفونی ریزنمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه و از طرف دیگر با افزایش غلظت نانو نقره از درصد آلودگی ریزنمونه‌ها کاسته شد (شکل ۱).

با این حال، بر اساس نتایج به‌دست آمده، اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره در زمان‌های ۲۰ و ۳۰ دقیقه مشاهده نگردید؛ بنابراین چنین می‌توان گفت که تیمار نانوذره در غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر و به‌مدت حداقل ۲۰ دقیقه بیشترین تأثیر را در کاهش پوسیدگی ریزنمونه‌ها داشت. چنین به‌نظر می‌رسد که با افزایش زمان تیمار می‌توان از غلظت‌های پایین نانوذره جهت ضدعفونی نمونه‌های گیاهی استفاده کرد به‌طوری‌که میزان نمونه‌های سالم به‌مقدار ۵۰ درصد افزایش یافت. با این حال با افزایش غلظت نانو نقره (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) درصد نمونه‌های پوسیده نیز افزایش پیدا کرد. یکی از دلایل پوسیدگی ریزنمونه‌های سیب‌زمینی در

در زیر دستگاہ هود لامینار و در شرایط استریل نمونه‌ها با آب مقطر استریل شست‌وشو داده شد. پس از ضدعفونی، ریزنمونه با استفاده از اسکالپل و پنس استریل به قطعات حدود یک سانتی‌متری که هر قطعه دارای یک جوانه‌ی جانبی بود، تقسیم شد.

### آزمایش دوم

در ادامه به‌منظور بررسی روند ریزغده‌زایی از محیط کشت MS با غلظت‌های مختلف از تریاکانتانول (غلظت‌های صفر، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر) به همراه ۸۰ گرم بر لیتر ساکارز قبل از اتوکلاو کردن محیط کشت، استفاده شد. شش هفته پس از کشت، ریزنمونه‌ها به شرایط تاریکی کامل منتقل و در هفته دهم گیاهچه‌ها از ظروف کشت خارج و نسبت به برداشت ریزغده‌ها اقدام گردید.

### اندازه‌گیری صفات

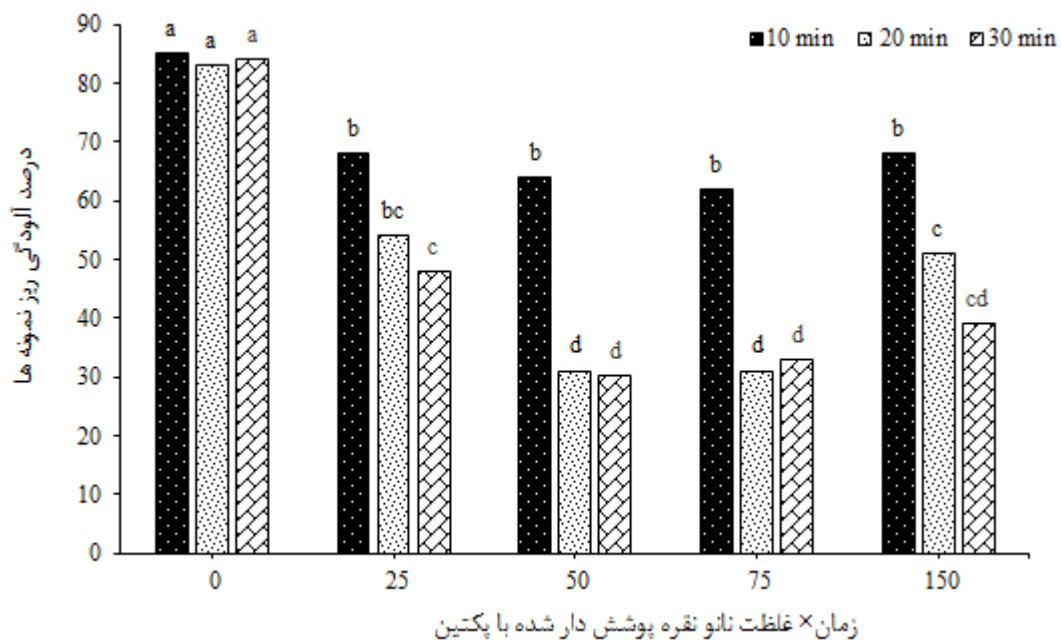
در مرحله ریزغده‌زایی از جوانه جانبی صفات زیر یادداشت برداری گردید:

درصد ریزغده‌زایی (تعداد ریزغده تولیدی در هر واحد آزمایش بر تعداد کل ریز نمونه‌ها)، وزن تر (میلی‌گرم)، طول و عرض ریزغده‌ها (میلی‌متر)، تعداد چشم روی ریزغده، طول جوانه رشد یافته روی ریزغده (سانتی‌متر)، درصد ریزغده‌های فاقد خواب (تعداد ریزغده دارای جوانه رشد یافته در هر واحد آزمایشی بر تعداد کل ریزغده)، سرعت ریزغده‌زایی (تعداد ریزغده تولیدی در هر واحد آزمایش بر مدت زمان لازم برای تشکیل ریزغده) و عملکرد (تعداد ریزغده تولید شده به ازای هر بوته).

برای اندازه‌گیری صفات از ترازوی حساس (شرکت اوهاس مدل DV215CD ساخت سوئیس با دقت ۰/۰۰۱ گرم)، برای اندازه‌گیری طول ریزغده و میانگره از خط‌کش و برای اندازه‌گیری قطر ریزغده از کولیس دیجیتال (MITUTOYO-Japan) استفاده شد.

نفوذپذیری و تنفس سلول و در نتیجه مرگ سلولی (Savithamma *et al.*, 2011)، مهار آنزیم‌های تنفسی سلول‌های باکتری با ترکیب شدن با گروه تیول (Morones *et al.*, 2005) و همچنین باز داشتن سلول از همانندسازی DNA و در نتیجه جلوگیری از تکثیر باکتری‌ها (Li *et al.*, 2016) از جمله دلایلی هستند که برای خاصیت ضد باکتریایی نانو ذرات نقره ذکر شده است. با مطالعه خواص ضد باکتریایی نانو ذرات حاصل از عصاره گیاه چریش (*Azadirachta indica* L.) دریافتند که نانو ذرات نقره اثر آنتی‌باکتریال روی باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* دارد (Harjai *et al.*, 2013). نانو ذرات حاصل از عصاره برگ زیتون اثر ضد باکتریایی روی باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* داشت (Khalili *et al.*, 2013).

شرایط درون شیشه‌ای آلودگی‌های باکتریایی است (Venkatasalam *et al.*, 2013). بر اساس گزارش محققان، بیشترین میزان آلودگی در فرآیند ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای سیب‌زمینی عوامل باکتریایی بوده که در نهایت باعث پوسیدگی ریزنمونه‌ها می‌گردند (Czajkowski *et al.*, 2011; Venkatasalam *et al.*, 2013). بنابراین با توجه به اثرات ضد باکتریایی نانوذرات نقره، چنین به نظر می‌رسد که یکی از دلایل کاهش پوسیدگی ریزنمونه‌ها در تیمار با نانو ذره نقره، کاهش آلودگی‌های باکتریایی باشد. قدرت ضد باکتریایی نانو ذرات نقره تاکنون در پژوهش‌های تحقیقاتی زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است که دلایل متنوعی برای این پدیده ذکر شده است. حمله به سطح غشای باکتری از طریق تعامل با پروتئین‌های حاوی گوگرد (Kvitek *et al.*, 2008)، اختلال در



شکل ۱- اثر ضد عفونی‌کنندگی نانو ذرات نقره پوشش‌دار شده با پکتین بر میزان پوسیدگی ریزنمونه‌ها (حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

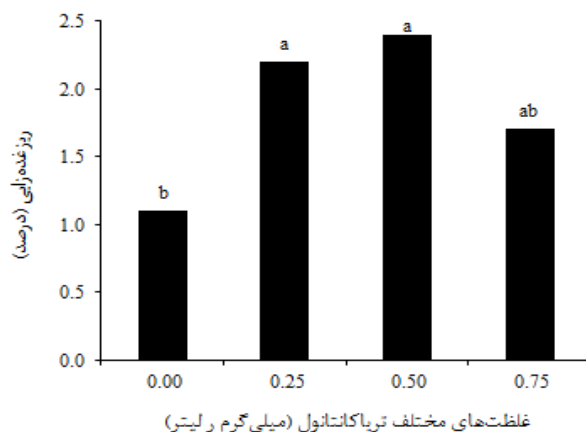
میلی‌گرم بر لیتر در مقایسه با شاهد حاصل گردید. همچنین با افزایش غلظت تریاکانتانول به ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر تعداد ریزغده کاهش پیدا کرد، به طوری که تفاوت معنی‌داری با شاهد مشاهده نگردید.

با توجه به گزارشات محققان پیشین مبنی بر اثرات شبه‌سیتوکینینی تریاکانتانول، نتایج پژوهش حاضر با نتایج آن‌ها در زمینه اثرات مثبت سیتوکینین‌ها بر تعداد ریزغده مطابقت دارد (Aslam & Iqbal, 2010; Islam *et al.*, 2020).

مراحل ریزغده‌زایی سیب‌زمینی در شرایط درون‌شیشه‌ای در شکل ۲ مشخص شده است. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف تریاکانتانول نشان داد که کمترین تعداد ریزغده مربوط به تیمار شاهد است و با افزایش غلظت تریاکانتانول تا ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تعداد ریزغده کاهش پیدا کرد (شکل ۳). با توجه به نتایج به دست آمده، اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف تریاکانتانول مشاهده نگردید، اما با این وجود بیشترین تعداد ریزغده در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵۰



شکل ۲- مراحل ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون‌شیشه‌ای

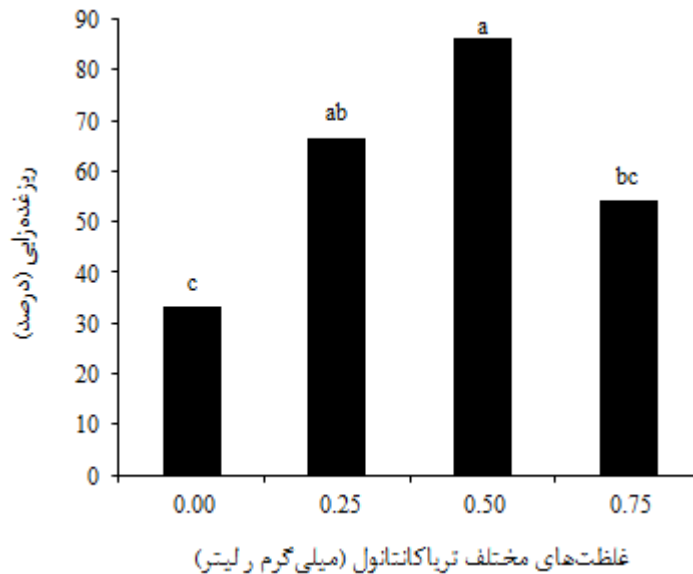


شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف تریاکانتانول بر تعداد ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون‌شیشه‌ای

(حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

ترکیبات قندی و با افزایش میزان انرژی غده‌ها، موجب تحریک فرآیند ریزغده‌زایی می‌شوند (Aksenova *et al.*, 2012). بر اساس نتایج محققان، میزان بیان ژن‌های دخیل در ساخت سیتوکینین‌ها در برخی از ارقام سیب‌زمینی با قدرت ریزغده‌زایی بالا بیشتر از سایر ارقام بود (Eviatar- Ribak *et al.*, 2013). همچنین در گیاهانی که ژن‌های دخیل در ساخت سیتوکینین خاموش شده بودند، میزان سیتوکینین داخلی بسیار کمتر بود و میزان ریزغده‌زایی در این گیاهان به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (Hirose *et al.*, 2008). با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش و نیز مقایسه پژوهش‌های گذشته، چنین به‌نظر می‌رسد که ترکیبات شبه‌سیتوکینین باعث افزایش میزان ریزغده‌زایی در اکثر ارقام سیب‌زمینی گردد.

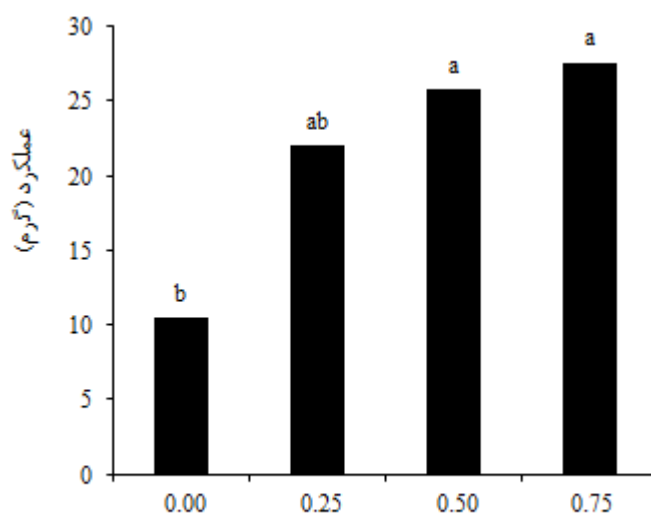
با افزایش غلظت تریاکانتانول تا ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر درصد ریزغده‌زایی افزایش پیدا کرد، این در حالی است که با افزایش غلظت تا ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر درصد ریزغده‌زایی کاهش پیدا کرد (شکل ۴). با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، تیمار تریاکانتانول باعث افزایش تعداد ریزغده و درصد ریزغده‌زایی گردید. محققان در مطالعات متعددی گزارش کردند که بیشترین تعداد ریزغده ارقام مختلف سیب‌زمینی را در محیط‌های کشت غنی‌شده با غلظت‌های مختلف سیتوکینین و ترکیبات شبه‌سیتوکینین همچون تریاکانتانول به‌دست آورده‌اند، زیرا سیتوکینین‌ها در تقسیم سلول دخالت دارند و از این طریق تولید ریزغده‌زایی را افزایش می‌دهند (Cheng *et al.*, 2019). ترکیبات شبه‌سیتوکینینی با افزایش آنزیم‌های فعال در تجمع



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف تریاکانتانول بر درصد ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون‌شیشه‌ای (حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

مشاهده نگردید، اما چنین به‌نظر می‌رسد که غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر تریاکانتانول مطلوب‌ترین حالت برای افزایش عملکرد ریزغده باشد.

با افزایش غلظت تریاکانتانول عملکرد افزایش پیدا کرد (شکل ۵). با توجه به این‌که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف تریاکانتانول



غلظت‌های مختلف تریاکانتانول (میلی گرم رلیتر)

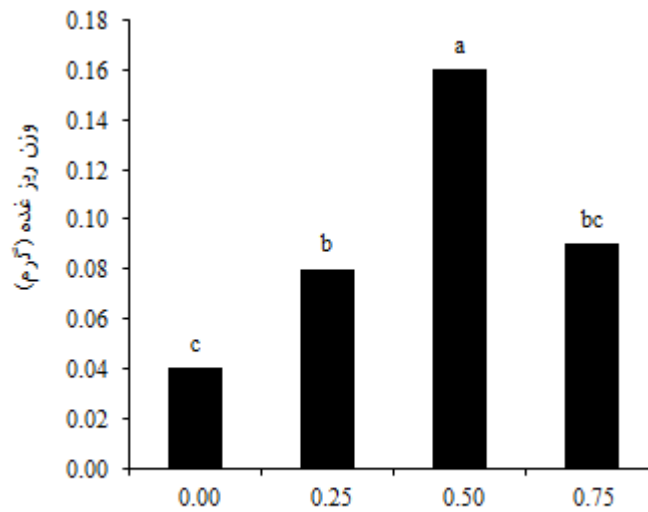
#### شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف تریاکانتانول بر عملکرد وزن ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون‌شیشه‌ای

(حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

خشک، رنگیزه‌های فتوسنتزی و جذب مواد معدنی ضروری هم‌چون پتاسیم و کلسیم به‌جای سدیم می‌شود (Singh *et al.*, 2012). تیمار برگی گیاه آفتابگردان با مقادیر متفاوت تریاکانتانول (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) به‌طور قابل‌توجهی وزن تر شاخه‌ها را تحت هر دو شرایط شوری و غیرشوری افزایش داده است. تریاکانتانول به‌دلایل زیادی مانند تنظیم بسیاری از ژن‌های مرتبط با فتوسنتز (Singh *et al.*, 2012)، تعدیل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان‌ها (Perveen *et al.*, 2011) به‌وسیله رهاسازی پیام‌رسان ثانویه یا متابولیت‌های مسئول فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات و بسیاری از پاسخ‌های فیزیولوژیکی (Naeem *et al.*, 2009) موجب بهبود رشد آفتابگردان می‌گردد. تیمار برگی با مقادیر متفاوت تریاکانتانول به‌طور قابل‌توجهی وزن تر شاخه‌ها را تحت هر دو شرایط شوری و غیرشوری، در گیاه آفتابگردان افزایش داد (Singh *et al.*, 2012)، که مطابق نتایج به‌دست‌آمده در این آزمایش است.

کاربرد تریاکانتانول به‌عنوان یک ترکیب محرک رشد با افزایش تقسیم سلولی، طول شدن سلول، افزایش تقسیم سلولی و نفوذپذیری غشاء موجب افزایش عملکرد در گونه‌های مختلف گیاهان شده است (Singh *et al.*, 2012). تریاکانتانول با تحریک فعالیت آنزیم‌های حیاتی هم‌چون روبیسکو و فسفو انول پیرووات کربوکسیلاز موجب افزایش سوخت و ساز مواد جامد محلول و قند در برگ می‌گردد (Khandaker *et al.*, 2013; Perveen *et al.*, 2011).

بیشترین وزن ریزغده مربوط به تیمار تریاکانتانول با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر بود. همچنین اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده نگردید (شکل ۶). ریزغده‌های با وزن کم منجر به تولید گیاهچه‌هایی با تعداد غده کم می‌گردد. بنابراین وزن ریزغده یکی از پارامترهای مهم در ریزغده‌زایی درون‌شیشه‌ای می‌باشد (Donnelly *et al.*, 2003). تحت شرایط شوری تریاکانتانول موجب افزایش رشد، ماده



غلظت‌های مختلف تریاکانتانول (میلی‌گرم بر لیتر)

### شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف تریاکانتانول میانگین وزن ریزغده در ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای

(حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

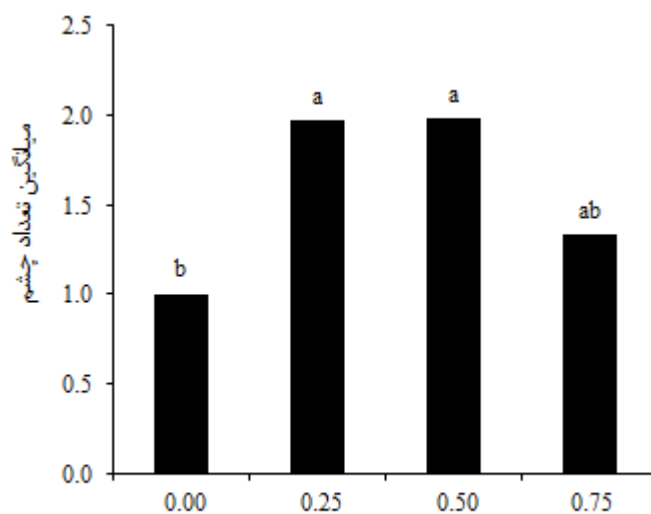
تریاکانتانول اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۸).

محلول‌پاشی تریاکانتانول به دلیل افزایش سرعت فتوسنتز باعث افزایش طول و قطر ساقه گیاه بادرشبی گردید (Aziz et al., 2013). اثرات شبه‌هورمونی تریاکانتانول موجب تغییرات سطح غشاء سلولی و القا سریع پاسخ‌های فیزیولوژیکی در گیاهان می‌شود (Li et al., 2016). بنابراین کاربرد تریاکانتانول در غلظت‌های بهینه خواص دینامیک غشاء پروتوپلاست و کلروپلاست را تغییر می‌دهد و باعث پاسخ‌های فیزیولوژیکی در گیاهان تحت تیمار می‌گردد (Islam et al., 2020). بر اساس نتایج محققان پیشین، دو ترکیب تیوبرونیک اسید و تیوبرونیک اسید گلیکوزید نقش حیاتی در تحریک ریزغده‌زایی و تشکیل جوانه‌های فعال روی ریزغده‌ها دارند. سیتوکینین‌ها و اسید جاسمونیک جزء ترکیبات مؤثر در تولید این دو ترکیب مطرح هستند، بنابراین چنین به نظر می‌رسد که ترکیبات شبه‌سیتوکینین همچون تریاکانتانول، به صورت

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف تریاکانتانول نشان داد که تعداد چشم ریزغده با افزایش غلظت تا ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر افزایش و در غلظت‌های بالاتر (۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) کاهش پیدا کرد (شکل ۷). مطالعات نشان داد که تیمار تریاکانتانول سطح برگ، طول برگ، جوانه گل، رشد برگ و ساقه گل کاغذی را افزایش داد. به نظر می‌رسد گیاهان تیمار شده با تریاکانتانول به دلیل تعمیر و حفظ هموستازی آب (روابط آب) و افزایش هدایت روزنه‌ای باعث افزایش تثبیت دی‌اکسید کربن در بافت مزوفیل برگ می‌شود و در نتیجه فتوسنتز و تجمع مواد فتوسنتزی افزایش می‌یابد (Khandaker et al., 2013).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد تریاکانتانول در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار در شاخص طول ریزغده در مقایسه با شاهد شد، اما در غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نگردید؛ همچنین بین غلظت‌های مختلف

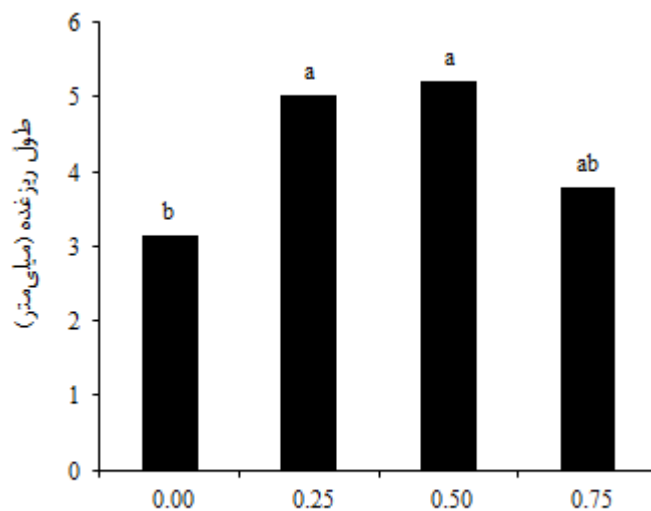
غیرمستقیم با افزایش تولید این ترکیبات در ریزنمونه‌ها باعث افزایش تولید ریزغده و نیز تعداد جوانه‌های فعال روی ریزغده‌ها گردند (Sarkar *et al.*, 2006; Hossain *et al.*, 2017).



غلظت‌های مختلف تریاکانتانول (میلی گرم رلیتر)

شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف تریاکانتانول میانگین تعداد چشم در ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای

(حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).



غلظت‌های مختلف تریاکانتانول (میلی گرم رلیتر)

شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف تریاکانتانول بر طول ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای

(حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است).

صفات ریزغده‌زایی از جمله تعداد ریزغده، درصد ریزغده‌زایی، عملکرد، وزن ریزغده، میانگین تعداد چشم و طول ریزغده را تحت تأثیر قرار داد. ضد عفونی نمونه‌ها با تیمار نانو ذرات نیترات‌نقره با پوشش پکتین در غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان ۳۰ دقیقه بهترین نتیجه را برای کنترل آلودگی‌های قارچی و باکتریایی داشتند. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، چنین به‌نظر می‌رسد که کاربرد نانو ذرات نقره پوشش‌دار شده با پکتین و نیز غلظت‌های مختلف تریاکانتانول به‌عنوان دو ترکیب مهم در کاهش آلودگی و نیز افزایش ریزغده‌زایی سیب‌زمینی در شرایط درون‌شیشه‌ای قابل توصیه باشد.

بر اساس مشاهدات به‌دست آمده در این پژوهش، جوانه‌ی موجود بر ریزغده در تعدادی از ریزغده‌های تولید شده شروع به رشد کرد و این امر حاکی از این بود که ریزغده‌ها فاقد دوره خواب بودند؛ بنابراین نتایج مربوط به دوره‌ی خواب ریزغده‌ها نشان داد که تأثیر تریاکانتانول بر دوره‌ی خواب ریزغده‌ها معنی‌دار نبود. عوامل متعددی از قبیل ژنوتیپ، اندازه ریزغده، مدت‌زمان قرار گرفتن ریزغده‌ها در محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد، بلوغ جوانه و سطح داخلی آبسزیک اسید بر خواب ریزغده‌ها اثر می‌گذارند (Naqvi et al., 2019).

### نتیجه‌گیری کلی

تریاکانتانول به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد، بسیاری از

## References

- 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.
- Abdi, G., Salehi, H. & Khosh-Khui, M. (2008). Nano silver: a novel nanomaterial for removal of bacterial contaminants in valerian (*Valeriana officinalis* L.) tissue culture. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(5), 709-714.
- Aksenova, N. P., Konstantinova, T. N., Golyanovskaya, S. A., Sergeeva, L. I. & Romanov, G. A. (2012). Hormonal regulation of tuber formation in potato plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59(4), 451-466.
- Aslam, A. & Iqbal, J. (2010). Combined effect of cytokinin and sucrose on in vitro tuberization parameters of two cultivars ie, diamant and red norland of potato (*Solanum tuberosum*). *Pakistan Journal of Botany*, 42(2), 1093-1102.
- Aziz, R., Shahbaz, M. & Ashraf, M. (2013). Influence of foliar application of triacantanol on growth attributes, gas exchange and chlorophyll fluorescence in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under saline stress. *Pakistan Journal of Botany*, 45(6), 1913-1918.
- Cheng, L., Wang, D., Wang, Y., Xue, H. & Zhang, F. (2020). An integrative overview of physiological and proteomic changes of cytokinin-induced potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber development in vitro. *Physiologia Plantarum*, 168(3), 675-693.
- Chhipa, H. (2019). Applications of nanotechnology in agriculture. In *Methods in Microbiology*, 46, 115-142.
- Czajkowski, R., Perombelon, M. C., van Veen, J. A. & van der Wolf, J. M. (2011). Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review. *Plant Pathology*, 60(6), 999-1013.
- Donnelly, D. J., Coleman, W. K. & Coleman, S. E. (2003). Potato microtuber production and performance: a review. *American Journal of Potato Research*, 80(2), 103-115.
- Edwin, F. G., Hall, M. A. & De Klerk, G. J. (2008). *Plant Propagation by Tissue* -

- Culture*. Springer, Dordrecht, the Netherlands.
- Eviatar-Ribak, T., Shalit-Kaneh, A., Chappell-Maor, L., Amsellem, Z., Eshed, Y. & Lifschitz, E. (2013). A cytokinin-activating enzyme promotes tuber formation in tomato. *Current Biology*, 23(12), 1057-1064.
  - Food and Agriculture Organization. (2018). International Year of the Potato 2018. In FAOSTAT, from <http://www.fao.org/faostat>.
  - Gopal, J., Chamail, A. & Sarkar, D. (2004). In vitro production of microtubers for conservation of potato germplasm: effect of genotype, abscisic acid, and sucrose. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 40(5), 485-490.
  - Hannapel, D. J. (2007). *Signaling the Induction of Tuber Formation*. In: D. Vreugdenhil (Ed.), *Potato Biology and Biotechnology*. (pp. 242-243). Elsevier B.V.
  - Harjai, K., Bala, A., Gupta, R. K. & Sharma, R. (2013). Leaf extract of *Azadirachta indica* (neem): a potential antibiofilm agent for *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathogens and Disease*, 69(1), 62-65.
  - Hirose, N., Takei, K., Kuroha, T., Kamada-Nobusada, T., Hayashi, H. & Sakakibara, H. (2008). Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. *Journal of Experimental Botany*, 59(1), 75-83.
  - Hossain, M. S., Hossain, M. M., Hossain, T., Haque, M. M., Zakaria, M. & Sarkar, M. D. (2017). Varietal performance of potato on induction and development of microtuber in response to sucrose. *Annals of Agricultural Sciences*, 62(1), 75-81.
  - Ioannou, A., Gohari, G., Papaphilippou, P., Panahirad, S., Akbari, A., Dadpour, M. R. & Fotopoulos, V. (2020). Advanced nanomaterials in agriculture under a changing climate: The way to The future?. *Environmental and Experimental Botany*, 10, 40-48.
  - Islam, S. & Mohammad, F. (2020). Triacantanol as a dynamic growth regulator for plants under diverse environmental conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 1, 1-13.
  - Islam, S., Zaid, A. & Mohammad, F. (2020). Role of triacantanol in counteracting the ill effects of salinity in plants: a review. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1, 1-10.
  - Khalil, M. M., Ismail, E. H. & El-Magdoub, F. (2012). Biosynthesis of Au nanoparticles using olive leaf extract: 1st nano updates. *Arabian Journal of Chemistry*, 5(4), 431-437.
  - Khalil, M. M., Abd El Aal, A. M. H. & Samy, M. M. (2017). Studies on microtuberization of five potato genotypes. *Egyptian Journal of Horticulture*, 44(1), 91-97.
  - Khandaker, M. M., Faruq, G., Rahman, M. M., Sofian-Azirun, M. & Boyce, A. N. (2013). The influence of 1-triacantanol on the growth, flowering, and quality of potted *Bougainvillea* plants (*Bougainvillea glabra* var. Elizabeth Angus) under natural conditions. *Science World Journal*, 10, 341-355.
  - Kim, S. W., Kim, K. S., Lamsal, K., Kim, Y. J., Kim, S. B., Jung, M. & Lee, Y. S. (2009). An in vitro study of the antifungal effect of silver nanoparticles on oak wilt pathogen *Raffaelea* sp. *Journal of Microbiol Biotechnol*, 19(8), 760-764.
  - Kvitek, L., Panacek, A., Soukupova, J., Kolar, M., Vecerova, R., Pucek, R., Holecova, M. & Zboril, R. (2008). Effect of surfactants and polymers on stability and antibacterial activity of silver nanoparticles (NPs). *Journal of Physical Chemistry*, 112, 5825-5834.
  - Li, X., Zhong, Q., Li, Y., Li, G., Ding, Y., Wang, S. & Chen, L. (2016). Triacantanol reduces transplanting shock in machine-transplanted rice by improving the growth and antioxidant systems. *Frontiers in Plant Science*, 7, 872-888.
  - Lubick, N. (2008). Nanosilver toxicity: ions, nanoparticless or both? *Environmental Science and Technology*, 3, 42-59.

- Min, J. S., Kim, K. S., Kim, S. W., Jung, J. H., Lamsal, K., Kim, S. B., ... & Lee, Y. S. (2009). Effects of colloidal silver nanoparticles on sclerotium-forming phytopathogenic fungi. *Journal of Plant Pathology*, 25(4), 376-380.
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T. & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346-2353.
- Naeem, M., Khan, M. M. A. & Siddiqui, M. H. (2009). Triacantanol stimulates nitrogen-fixation, enzyme activities, photosynthesis, crop productivity and quality of hyacinth bean (*Lablab purpureus* L.). *Scientia Horticulturae*, 121(4), 389-396.
- Naeem, M. M. M. A., Khan, M. M. A., Idrees, M. & Aftab, T. (2011). Triacantanol-mediated regulation of growth and other physiological attributes active constituents and yield of *Mentha arvensis* L. *Plant Growth Regulation*, 65(1), 195-206.
- Naqvi, B., Abbas, H. & Ali, H. (2019). Evaluation of in vitro tuber induction ability of two potato genotypes. *Pakistan Journal of Agricultural Science*, 56(1), 77-81.
- Pang, Q., Chen, X., Lv, J., Li, T., Fang, J. & Jia, H. (2020). Triacantanol Promotes the Fruit Development and Retards Fruit Senescence in Strawberry: A Transcriptome Analysis. *Plants*, 9(4), 488-493.
- Partila, A. M. (2019). Bioproduction of Silver Nanoparticles and Its Potential Applications in Agriculture. In: D. G. Panpatte & Y. K. Jhla (Eds.), *Nanotechnology for Agriculture* (pp. 19-36). Springer, Singapore.
- Perveen, S., Shahbaz, M. & Ashraf, M. (2011). Modulation in activities of antioxidant enzymes in salt stressed and non-stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) plants raised from seed treated with triacantanol. *Pakistan Journal of Botany*, 43(5), 2463-2468.
- Rahman, M. Z., Islam, S. S., Chowdhury, A. N. & Subramaniam, S. (2015). Efficient microtuber production of potato in modified nutrient spray bioreactor system. *Scientia Horticulturae*, 192, 369-374.
- Salem, J. & Hassanein, A. M. (2017). In vitro propagation, microtuberization, and molecular characterization of three potato cultivars. *Biologia Plantarum*, 61(3), 427-437.
- Sarkar, D., Pandey, S. K. & Sharma, S. (2006). Cytokinins antagonize the jasmonates action on the regulation of potato (*Solanum tuberosum*) tuber formation in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 87(3), 285-293.
- Savithramma, N., Rao, M. L., Rukmini, K., & Devi, P. S. (2011). Antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by using medicinal plants. *International Journal of Chemistry Technology Research*, 3(3), 1394-1402.
- Seabrook, J. E. (2005). Light effects on the growth and morphogenesis of potato (*Solanum tuberosum*) in vitro: a review. *American Journal of Potato Research*, 82(5), 353-367.
- Singh, M., Khan, M. M. A., Moinuddin, & Naeem, M. (2012). Augmentation of nutraceuticals, productivity and quality of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) through triacantanol application. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 146(1), 106-113.
- Tan, W., Peralta-Videa, J. R. & Gardea-Torresdey, J. L. (2018). Interaction of titanium dioxide nanoparticles with soil components and plants: current knowledge and future research needs—a critical review. *Environmental Science: Nano*, 5(2), 257-278.
- Torrent, L., Margui, E., Queralt, I., Hidalgo, M. & Iglesias, M. (2019). Interaction of silver nanoparticles with mediterranean agricultural soils: Lab-controlled adsorption and desorption studies. *Journal of Environmental Sciences*, 83, 205-216.

- Verma, A., Malik, C. P., Gupta, V. K. & Sinsinwar, Y. K. (2009). Response of groundnut varieties to plant growth regulator (BAP) to induce direct organogenesis. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(3), 313-317.
- Venkatasalam, E. P., Pandey, K. K., Singh, B. P., Thakur, V., Sharma, S., Sood, R. & k Sharma, A. (2013). Efficacy of antimicrobial agents on in vitro micropropagation potential of potato. *Potato Journal*, 40, 25-36.
- Warheit, D. B., Borm, P. J., Hennes, C. & Lademann, J. (2007). Testing strategies to establish the safety of nanomaterials: conclusions of an ECETOC workshop. *Inhalation Toxicology*, 19(8), 631-643.
- Wrobel, S. (2015). Assessment of potato microtuber and in vitro plantlet seed multiplication in field conditions–Growth, development and yield. *Field Crops Research*, 178, 26-33.

## Application of Pectin- tagged Nano Silver and Triacontanol on In Vitro Microruberization of *Solanum tuberosum* L. cv. Agria

Masoumeh Abedini<sup>1</sup>, Alireza Motallebi Azar<sup>2</sup>, Fariborz Zaare Nahandi<sup>2</sup> and Gholamreza Gohari<sup>3\*</sup>

1- M.Sc. Student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

\*Corresponding author: gohari.gh@maragheh.ac.ir  
(Received: June. 17, 2020, Accepted: August. 23, 2020)

### Abstract

Nanotechnology is effective in the rapid detection of plant diseases, identifying and removing pesticide residues, increasing the shelf life, packaging and transporting in crops. The aims of this study were to evaluate the effect of pectin- tagged nano silver nanocomposite and triacontanol on *in vitro* contamination, micro propagation and micro tuberization of potato under in vitro condition. For this purpose, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with four replications on potato explants of mentioned cultivar. In first experiment, the number of healthy explant without any bacterial and fungal symptoms were calculated after one week. In second experiment, four weeks after cultivation of explants, micro propagarion in micro tuber number, micro tuber length and weight, diameter of the tubers, the length of bud, the percentage of non-dormancy micro tubers, the germination percentage and the rate of micro tuberization were measured. Our result showed that application of 50 mg L<sup>-1</sup> for 30 min pectin-tagged nano silver increased healthy explants more than 50 percent. Among the different concentration of triacontanol, using 0.5 mg L<sup>-1</sup> was the best response for traits such as micro tuber number, micro tuber length and weight. Also, using 0.5 mg L<sup>-1</sup> triocontanol was the best protection for all micro tuber traits except micro tuber weight. Although the experiment was performed without the use of growth regulators, the addition of graphene oxide nanoparticles to the medium improved the micro propagation and micro tuberization performance. In general, the results showed that 0.5 mg L<sup>-1</sup> was the best concentration for micro tuberization. Micro tubers production technology is used as a tool to reduce the time needed to produce plant biomass, increase seed tuber quality (reduce pathogens), and microtubers production throughout the year.

**Keywords:** Contamination, Nanotechnology, Microtuberization, *in vitro*.

---