دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

تاثیر نانو ذرات اکسید آهن و اکسید روی بر زیست‌مانی کالوس‌های زرشک بی‌دانه

زهرا مزگی نژاد[۱]، محمدقادر قادری[۲]، زهره علیزاده[۲]و علی ایزانلو[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند (نویسنده مسوول: zahramezginezhad@gmail.com)
۲- استادیار، عضو هیئت علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
تاریخ دریافت: ۹۷/۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۲۱
صفحه: ۱۹۸ تا ۲۰۵

چکیده

به منظور بررسی تاثیر نانو ذرات اکسیدآهن و اکسید روی بر زیست‌مانی کالوس‌های زرشک بی‌دانه(*Berberis vulgaris* L.)، آزمایشی در مهرماه ۱۳۹۶ در دانشکده کشاورزی بیرجند انجام شد. کالوس‌ها به مدت دو ماه بر روی محیط کشت MS/2 حاوی ترکیبات هورمونی (BAP- TDZ) و نانوذرات اکسید آهن و اکسید روی در غلظت‌های مختلف قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ده تیمار در سه تکرار اجرا شد و صفات مورد بررسی شامل وزن تر، وزن خشک، درصد زیست‌مانی، سطح کالوس، درصد رطوبت جرمی و میزان جذب نوری (OD) بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین تیمارها از نظر صفات وزن تر، وزن خشک، درصد رطوبت جرمی در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد، مقایسات میانگین تیمارها نشان داد (TDZ و نانو اکسید روی با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام) دارای بالاترین وزن خشک کالوس، وزن تر و درصد رطوبت جرمی و (BAP و نانو اکسید روی با غلظت ۷۵ پی‌پی‌ام) دارای بیشترین درصد زیست‌مانی بود. مقایسات متعامد بین تیمارها نشان دادند تیمار TDZ و نانو اکسید آهن با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام دارای بالاترین و تیمار TDZ و نانو اکسید روی با غلظت ۷۵ پی‌پی‌ام دارای کمترین میزان OD بودند. در مجموع، نتایج نشان دهنده اثر مثبت نانو ذرات اکسید روی بر کاهش قهوه‌ای شدن و افزایش زیست‌مانی کالوس‌های زرشک بی‌دانه بود.

واژه‌های کلیدی : تترازولیوم، تیدیازورون، قهوه‌ای شدن، متعامد، محیط کشت MS

مقدمه

زرشک با نام علمی از تیره‌ی زرشک (*Berberidaceae*) به عنوان یک گیاه دارویی مهم از گذشته‌های دور در ایران و بسیاری از تمدن‌های بزرگ دنیا شناخته شده و مورد استفاده بوده است (۸، ۲۵). در بسیاری از روش‌های کشت بافت گیاهی، ریزنمونه‌ها بریده شده و در محیط‌هایی که به طور بالقوه دارای شرایط تنش هستند، کشت می‌شوند. ترشح ترکیبات فنلی در محیط کشت، به عنوان یک عامل محدودکننده باعث تجمع ترکیبات سمی برای بافت گیاهی و در نهایت موجب کاهش شانس موفقیت در کشت بافت یا پیچیده شدن مراحل آن می‌شود (۱). آنزیم پلی فنل اکسیداز در پلاست‌های سلول‌های گیاهی قرار دارد. پیش ماده‌ی فنلی این آنزیم در واکوئل سلول‌های گیاهی ذخیره شده و به دلیل حضور جداگانه این مواد در واکوئل از واکنش قهوه‌ای‌شدن جلوگیری می‌شود. در صورت آسیب به سلول‌های گیاهی، این آنزیم و پیش ماده‌ی آن با هم مخلوط شده و پدیده‌ی قهوه‌ای شدن در بافت صورت می‌گیرد (۲۳).

آهن یک عنصر بسیار ضروری برای فرآیندهای متابولیک گیاه است و برای سنتز DNA، فتوسنتز و تنفس ضروری بوده و نقش کلیدی در واکنش‌های سوخت وساز دارد (۲). آهن مهمترین عنصر کم مصرف است که در محیط کشت مورد استفاده قرار می‌گیرد. موراشیگ و اسکوگ، کلات آهنی به نام اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (FeEDTA) که با افزودن Fe_2So_4 به Na_2EDTA را در محیط MS به عنوان منبع آهن استفاده کردند (۱۰).

اکسید روی یک ترکیب معدنی با فرمول ZnO می‌باشد که در کتاب‌های کهن، توتیا نامیده می‌شود (۲۸). روی یک عنصرکم مصرف ولی ضروری درگیاه است. بسیاری از نانوذرات مانند نانوذرات اکسیدروی، فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی از خود نشان می‌دهند (۲۲). مکانیسم‌های مختلفی برای رفتار ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی پیشنهاد شده است که از میان آن میتوان به نفوذ به درون سلول، بستن راههای ارتباطی سلول، نشت پروتئین و تخریب DNA اشاره کرد (۲۴). تترازولیوم ترکیبی شیمیایی و به صورت پودر سفید کریستالی می‌باشد. تترازولیوم (TTC) ماده‌ی بی‌رنگ در شرایط اکسید بوده و به محض احیاء شدن به رنگ صورتی یا قرمز در می‌آید. سلول‌های زنده دارای تنفس بوده و در طول تنفس یون H^+ تولید می‌کنند و موجب احیاء محلول تری فنیل تترازولیوم کلراید می‌شوند (۱۹). این واکنش سبب می‌شود تا رنگیزه‌ای نامحلول درآب به نام فرمازان در سلول‌های زنده تشکیل و در نتیجه سلول‌های زنده، قرمز و مشخص شوند ولی سلول‌های مرده بی‌رنگ باقی بمانند (۹، ۱۳).

در بررسی تاثیرهورمون‌های رشد بر القاءکالوس در زرشک بی‌دانه، نتایج آزمایش نشان داد که بهترین تیمار نوری جهت القاء کالوس، تاریکی مطلق بود و تیمار هورمونی حاوی 2,4-D و BAP به ترتیب با غلظت‌های یک و دو میلی گرم در لیتر بیشترین تاثیر را در کالوس‌زایی داشتند (۷). بررسی اثرات کاربرد سطوح متفاوت نانو اکسید روی و نانو اکسید آهن و نیز نوع ریزنمونه برکالوس‌زایی و زنده مانی آن در گل راعی نشان داد که بین سطوح مختلف کاربرد نانو مواد و

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-16]
[DOI: 10.29252/jcb.11.30.198]

نوع ریزنمونه اثر معنی‌دار در سطح یک درصد از نظر کالوس‌زایی و زنده‌مانی کالوس وجود دارد. کاربرد نانو اکسید روی با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام در محیط کشت، بیشترین اثر را بر میزان کالوس زایی و زنده مانی کالوس گل راعی داشت و کاربرد نانو اکسید آهن با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام کمترین و با غلظت ۷۵ پی‌پی‌ام بیشترین تأثیر را بر صفات مورد ارزیابی برای هر سه نوع ریز نمونه‌ی ساقه، برگ، ریشه در پی داشت (۲۱). به دلیل وجود مواد فنولی فراوان در کشت درون شیشه زرشک، قدرت زیست‌مانی کالوس و کشت‌ها پایین بوده و سریع نکروزه شده و از بین می‌روند.

بنابراین هدف از این آزمایش بررسی عوامل متعدد بر قدرت زیست‌مانی کالوس زرشک بود، که در این راستا تاثیر نانو ذرات اکسید آهن و اکسید روی بر زیست‌مانی کالوس‌های زرشک بی‌دانه در شرایط کشت بافت مورد آزمایش قرار گرفت تا بهترین منبع جهت زیست مانی کالوس تعیین شود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر نانو ذرات اکسیدآهن و اکسید روی بر زیست‌مانی کالوس‌های زرشک بی‌دانه در مهرماه ۱۳۹۶ از شاخه‌های یک ساله زرشک موجود در باغ دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند واقع در شش کیلومتری جاده بیرجند-کرمان، با عرض جغرافیایی ´۵۶ °۳۲ شمالی و طول جغرافیایی ´۱۳ °۵۹ شرقی در ارتفاع ۱۴۸۰ متری از سطح دریا قلمه گیری صورت گرفت. قلمه‌ها بعد از جداسازی خارها جهت برگ‌دارشدن به گلخانه انتقال یافتند. برگ‌های تازه سبز شده به عنوان ریزنمونه مورد استفاده قرار گرفت. ضدعفونی ریزنمونه‌ها با محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد و پنج قطره توین ۲۰ به مدت هفت دقیقه و سپس سه بار شست وشو با آب دیونیزه، هر بار به مدت پنج دقیقه صورت پذیرفت (۷). جهت تهیه محیط کشت (MS/2) از پودرهای آماده‌ی MS استفاده شد. در ابتدا، ۱۷/۲۱۵گرم از پودر MS را در ۵۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل کرده وپس از تنظیم pH=۵/۸ با افزودن سود یا اسیدکلریدریک یک نرمال، با آب دیونیزه به حجم یک لیتر رسانده شد. اسیدآسکوربیک ۱۰درصد نیز به میزان یک میلی‌لیتر به محلول اضافه شد.سپس محیط کشت در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری توزیع و تنظیم کننده‌های رشد (2,4-D ,BAP) به ترتیب با غلظت (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر-۲ میلی‌گرم در لیتر) و آگار نیز به میزان هشت گرم بر لیتر به محیط کشت اضافه گردیدند. درب ارلن‌ها توسط فویل آلومینیومی پوشانده شده و محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار۱/۵ اتمسفر استریل و در زیر هود لامینار به شیشه‌های استریل منتقل شدند. ریزنمونه‌ی برگی بعد از استریل شدن درزیر هود لامینار به قطعات هم اندازه برش خورده و به شیشه‌های حاوی محیط کشت جامد منتقل شدند. درب شیشه‌ها توسط پارافیلم مسدود شد و شیشه‌ها در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد درتاریکی مطلق به مدت یک ماه قرار گرفتند (۷). بعد از یک ماه کالوس‌زایی اتفاق افتاد. کالوس‌ها به مدت دو ماه بر روی محیط کشت حاوی ترکیبات زیر قرار گرفتند (جدول ۱).

جدول ۱- تیمارهای هورمونی

Table 1 . Hormonal treatments

ترکیبات حاوی BAP		ترکیبات حاویTDZ	
1.	MS/2 +BAP (۲mg/l)	6.	MS/2 +TDZ (۱۵ mM)
2.	MS/2 +BAP (۲mg/l)+Fe (۱۰۰ PPM)	7.	MS/2 +TDZ (۱۵ mM)+Fe (۱۰۰PPM)
3.	MS/2 +BAP (۲mg/l)+Fe (۷۵ PPM)	8.	MS/2 + TDZ (۱۵mM)+Fe (۷۵ PPM)
4.	MS/2 +BAP (۲mg/l)+Zn (۱۰۰ PPM)	9.	MS/2 +TDZ (۱۵ mM)+Zn (۱۰۰ PPM)
5.	MS/2 +BAP (۲mg/l)+Zn (۷۵ PPM)	10.	MS/2 + TDZ (۱۵ mM)+Zn (۷۵ PPM)

آزمون تترازولیوم

۵۰ میلی‌گرم از کالوس تازه وزن شده و به تیوب ۲ میلی‌لیتری انتقال داده شد، سپس به هر تیوب۵۰ میکرولیتر اسید آسکوربیک ۱۰درصد به همراه یک میلی لیتر آب دیونیزه اضافه گردید و به مدت پنج روز در انکوباتور با دمای ۲۴درجه و تاریکی قرار گرفت. بعد از پنج روز، کالوس‌ها در آب دیونیزه کاملاً شست وشو داده شدند و به تیوب ۲ میلی لیتری به همراه تترازولیوم با غلظت (۲۳/۹ میلی مولار) و ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم با غلظت (۰/۰۵مولار) اضافه شدند (۳). سپس نمونه‌ها در داخل انکوباتور با شرایط ۲۴ درجه سانتی‌گراد در تاریکی مطلق به مدت ۶ ساعت انکوبه شدند. کالوس یک بار با آب مقطر استریل آب‌کشی شد. سپس کالوس ها با پنس کاملاً له و به مدت ۲ دقیقه در۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند، محلول رویی برداشته و در ۱ میلی لیتر اتانول۷۰ درصد حل و سپس به مدت نیم ساعت در دمای اتاق قرار گرفت و میزان جذب (OD) با دستگاه اسپکتروفتومتر در ۴۸۵ نانومتر (nm) قرائت گردید (۳).

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا و صفات مورد بررسی شامل وزن تر، وزن خشک، درصد زیست‌مانی، سطح کالوس، درصد رطوبت جرمی و OD بودند. تجزیه واریانس و مقایسات متعامد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن درسطح ۵ درصد با استفاده از نرم افزار GenStat نسخه ۱۲ انجام گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2013 استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارها از نظر صفات وزن تر و وزن خشک، اختلاف آماری معنی‌داری

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.198]

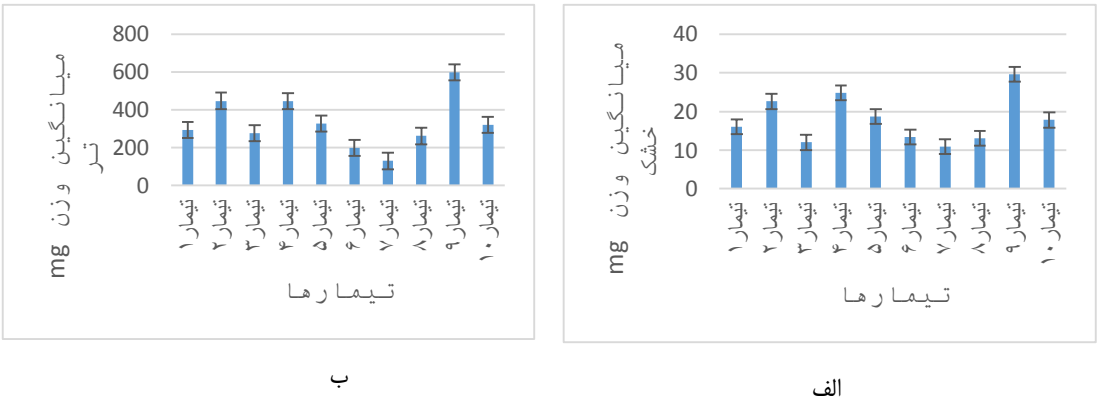
($p<0.05$) وجود داشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین تیمارها درسطح پنج درصد نشان داد که تیمار ۹ (TDZ و نانو اکسید روی با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام) دارای بالاترین وزن خشک و وزن تر بود، در حالیکه تیمار ۷ (TDZ و نانو اکسید آهن با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام) کمترین وزن خشک و وزن تر را نشان داد (شکل ۱).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای هورمونی بر صفات وزن خشک، وزن تر، درصد زیست‌مانی، سطح کالوس، درصد رطوبت جرمی وOD در زیست‌مانی زرشک بی‌دانه

Table 2. ANOVA results of hormonal treatments impact on dry weight, fresh weight, viability percentage, callus area, mass moisture content and OD of barberry viability

منابع تغییر (SOV)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات صفات					
		وزن خشک (mg)	وزن تر (mg)	درصد رطوبت جرمی (٪)	درصد زیست‌مانی (٪)	سطح کالوس (mm^2)	OD (485nm)
تیمار	۹	۱۱۲/۷۸*	۵۵۲۳۶*	۴/۲۲۸	۲/۵۹۳	۹۶۹۳۵۲	۰/۲۲۱۱
خطا	۲۰	۴۰/۴۴	۲۱۷۱۳	۱/۶۱۹	۱/۹۶۷	۱۳۸۷۵۴۹	۰/۱۲۳۶
کل	۲۹						

* و **: به ترتیب: معنی‌داری درسطح ۵ و ۱ درصد



ب الف

شکل ۱- مقایسه میانگین صفات الف) وزن خشک کالوس، ب) وزن تر کالوس

Figure. 1. Mean comparison of a) callus dry weight and b) callus fresh weight

نتایج تجزیه واریانس مقایسات متعامد بین تیمارهای حاوی BAP و TDZ در صفت درصد زیست‌مانی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ($p<0.05$) را نشان دادند (جدول ۳). نتایج مقایسات میانگین تیمارها نشان داد تیمار۵ (BAP و Zn با غلظت ۷۵ پی‌پی‌ام) دارای بیشترین درصد زیست‌مانی بود. نتایج مقایسات متعامد بین تیمار های حاوی نانوذرات اکسید آهن و نانوذرات اکسید روی در صفات وزن خشک و میزان OD درسطح احتمال یک درصد ($p<0.01$) و از لحاظ وزن تر در سطح احتمال پنج درصد ($p<0.05$) اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. نتایج مقایسات میانگین تیمارها نشان داد تیمار ۷ (TDZ و نانو اکسید آهن با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام) دارای بالاترین و تیمار۱۰ (TDZ و Zn با غلظت ۷۵ پی‌پی‌ام) دارای کمترین میزان OD بودند (شکل ۲).

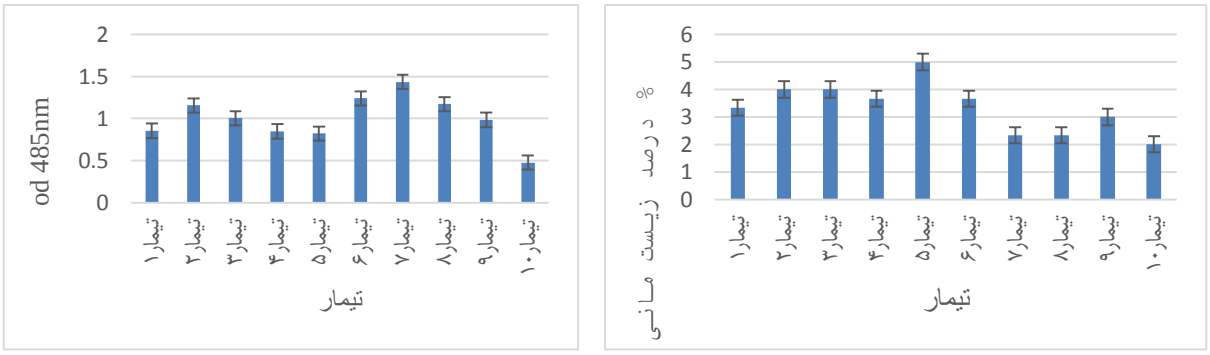
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.198]

جدول ۳- تجزیه واریانس متعامد اثر تیمار های هورمونی بر صفات مورد نظر در زیست‌مانی زرشک بی‌دانه

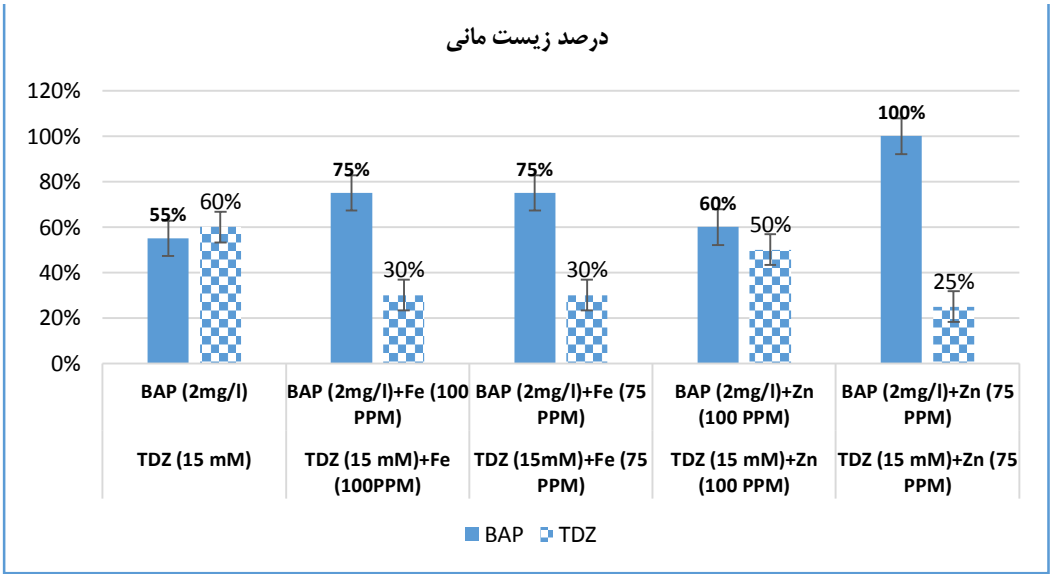
Table 3. Original variance analysis of the effect of hormonal treatments on the traits in viability of barberry

منابع تغییر	df	میانگین مربعات صفات					
		وزن خشک	وزن تر	درصد رطوبت جرمی	درصد زیست‌مانی	سطح کالوس	OD
تیمار	۹	۱۱۲/۷۸*	۵۵۲۳۶*	۴/۲۲۸	۲/۵۹۳	۹۶۹۳۵۲	۰/۲۲۱۱
BAP vs TDZ	۱	۲۵/۵۸	۲۳۹۱۴	۳/۰۱۴	۱۳/۳۳۳*	۲۵۸۵۲۱۵	۰/۱۰۶۴
Fe vs Zn	۱	۳۹۲/۸۵**	۱۲۵۴۵۵*	۰/۰۴۱	۰/۳۷۵	۲۶۴۱۶۷	۱/۰۴۷۵**
خطا	۲۰	۴۰/۴۴	۲۱۷۱۳	۱/۶۱۹	۱/۹۶۷	۱۳۸۷۵۴۹	۰/۱۲۳۶
کل	۲۹						



شکل ۲- مقایسه میانگین صفات الف) درصد زیست‌مانی ، ب) OD

Figure 2. Mean comparison of a) callus viability percentage, b) callus OD



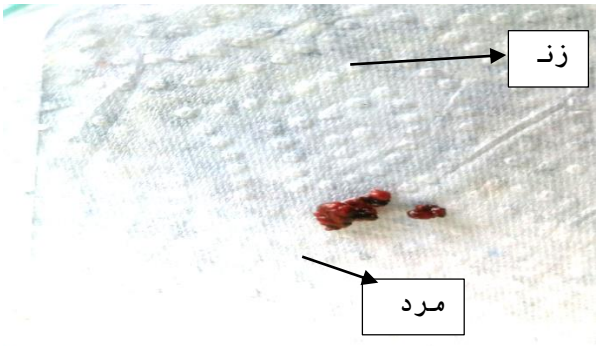
شکل ۳- مقایسه میانگین درصد زیست‌مانی در تیمار های BAP و TDZ

Figure 3. Mean comparison of the average viability percentage in BAP and TDZ treatments

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.198]

براساس نتایج فوق می‌توان بیان کرد که BAP در همه‌ی تیمارها دارای اثر افزایشی و ثبات عملکردی بیشتری نسبت به TDZ بوده است. کاربرد نانو ذرات اکسید روی در ترکیب با هر دو محیط BAP و TDZ کارآمد بود، به طوری که باعث افزایش صفات وزن تر، وزن خشک، درصد زیست‌مانی و درصد رطوبت جرمی در کالوس‌ها شد (شکل ۳). قهوه‌ای شدن و مرگ کالوس مهمترین مشکل در رشد کالوس‌های زرشک بی‌دانه است. نانو ذرات اکسید روی علاوه بر بالابردن زمان زیست‌مانی کالوس‌های زرشک بی‌دانه، باعث بهبود رشد آنها نیز شد. با توجه به آزمون تترازولیوم و $OD_{۴۸۵}$، اعداد خوانده شده نشان دادند، کالوس‌های همه‌ی تیمارهای هورمونی، دارای سلول‌های زنده بوده‌اند. مقایسه میانگین اعداد با یکدیگر بیانگر وجود سلول‌های زنده حتی در تیمارهایی که دارای قسمت‌های تیره و مرده بودند، می‌باشد، زیرا تترازولیوم کلراید قادر است سلول‌های زنده را تغییر رنگ داده و به رنگ قرمز درآورد (شکل ۴).



شکل ۴- کالوس تیمارشده با تترازولیوم کلراید
Figure 4. Treated callus with tetrazolium chloride

با توجه به این که فقط ۵۰ میلی‌گرم از بافت کالوس تازه جهت آزمون تترازولیوم به کار گرفته شد، اختلاف بسیار کم اعداد شاید به دلیل جداسازی از قسمت‌های زنده کالوس باشد. در مجموع نتایج نشان داد که حتی کالوس‌های دارای ۲۵ درصد زیست‌مانی، زنده بودند ولی قادر به ادامه رشد نبوده‌اند که دلیل آن احتمالا به علت عدم بهره‌گیری از عناصر غذایی موجود در محیط کشت و یا مناسب نبودن این نوع ترکیب هورمونی یا محیط کشت برای این تیمارهای خاص باشد. بطوری‌که زیست‌مانی در تیمار (BAP و نانو اکسید روی با غلظت ۷۵ پی‌پی‌ام)، ۱۰۰درصد بود. این تیمار دارای کالوس شفاف، بزرگ و واضح بود. تیمار (BAP و نانو اکسید آهن با غلظت ۷۵ پی‌پی‌ام) و تیمار (BAP و نانو اکسید آهن با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام) نیز، ۷۵درصد زیست مانی را نشان دادند. در بین تیمارهای حاوی TDZ، تیمارهای (TDZ) و (TDZ و نانو اکسید روی با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام)، ۵۰ تا۶۰ درصد زیست‌مانی رانشان دادند (شکل ۵).



ب الف

شکل ۵- کالوس‌ها، الف) کالوس بهترین تیمار زیست مانی (BAP و روی ۷۵ PPM)، ب) کالوس تیمار۹ (TDZ و آهن ۱۰۰ PPM)
Figure 5. Callus, a) best callus viability treatment (BAP and Zn PPM75), b) Callus treatment 9 (TDZ and PPM100 Fe)

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.198]

نتایج پژوهش نشان‌دهنده کارکرد بالای نانو ذرات به خصوص نانو اکسیدروی در افزایش زیست‌مانی کشت بافت زرشک بود و از آنجایی که زرشک یک گیاه با ترکیبات فنلی بالا بوده و در مراحل اولیه کشت، کالوس‌ها قدرت زیست خود را از دست داده و تیره رنگ می‌شدند، با اعمال نانو اکسیدروی در محیط کشت، کالوس‌ها دارای رنگ روشن و شفاف شده و به مدت طولانی تری نیز زیست‌مانی داشتند. با تکیه بر نتایج، بهبود زیست‌مانی شاید به دلیل اندازه‌ی بسیار کوچک نانو ذرات و سطح ویژه‌ی بسیار وسیع آنهاست که باعث افزایش فعالیت شیمیایی آنها می‌گردد (۱۲). نانو ذرات از جمله اکسیدهای فلزی مانند (ZnO) می‌توانند از غشاء سلولی عبور کنند (۶). کاهش درصد رطوبت ریشه و تخریب مسیر کانال‌های انتقال آب و عناصر غذایی یک مکانیسم مهم برای ایجاد خسارت توسط نانوذرات روی پیشنهاد شده است (۱۱). یکی از ویژگی‌های نانوذرات اکسیدروی، خاصیت ضد میکروبی آن در محدوده طبیعی(pH=۷) و در شرایط عدم حضور نور می‌باشد (۲۸). مکانیسم‌های مختلفی برای رفتار ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی پیشنهاد شده است که از میان آن می‌توان به آزاد شدن یون فلزی، تولید اکسیژن فعال، نفوذ به درون سلول اشاره کرد (۱۹). روی یک عنصر ریزمغذی برای رشد گیاه است و در فرآیندهایی مانند تولید هورمون در ساختار بیش از۲۰۰ آنزیم مورد نیاز است (۱۸). روی در غلظتهای بالا باعث ایجاد اثرات بازدارنده رشد گیاه می‌شود (۱۷). فراهمی وکارایی جذب آهن به میزان یونش ترکیبات آهن وابسته است و شرایط بیوشیمیایی محیط، میزان یونش ترکیبات آهن را کنترل می‌کند (۱۶). شرایط احیایی و جامد بودن محیط کشت موجب پایداری Fe(II) رها سازی شده از سطح نانو ذرات مگنتیت می‌شود. نانو ذرات کوچکتر از ۵۰ نانومتر می‌توانند به صورت فیزیکی از دیواره وغشاء سلولی عبور کرده و وارد سیتوپلاسم سلولی شوند. پوشش نانوذرات با تغییر در اندازه و ترکیب سطح نانو ذره ضمن جلوگیری از هماوری نانوذرات باعث تغییر در انتشار یون آهن از سطح نانوذرات می‌شود (۴). آهن به صورت Fe(II) جذب گیاهان می‌شود میزان جذب آهن به فیزیولوژی گیاه کشت شده و شرایط بیوشیمیایی گیاه محیط بستگی دارد (۱۶). با افزایش میزان حلالیت آهن در محیط رشد گیاه و افزایش جریان انتشار آهن به ریشه در شرایط درون شیشه و به دنبال آن افزایش در فراهم‌آوری آهن مورد نیاز در ساختمان کلروفیل باعث می‌شود که گیاه فتوسنتز بهتری انجام دهد و همین امر باعث بهبود رشد گیاه شده است (۲۷). تاثیر کاربرد نانو ذرات آهن در محیط کشت MS کارآمد بود به نحوی که باعث افزایش در شاخص‌های اندازه‌گیری شد (۲۷). در یک مطالعه، بررسی کنترل آلودگی و ترکیبات فنلی در کشت بافت گل ارکیده نشان داد بسته به نوع و غلظت هورمون‌ها میزان متفاوتی از ترکیبات فنلی ایجاد می‌شود. هومون‌های سیتوکینینی به نسبت هورمون‌های اکسینی البته در غلظت‌های برابر میزان بیشتری فنل در محیط آزاد می‌کنند که این مسئله در غلظت‌های بالاتر از دو میلی‌گرم در لیتر TDZ کاملاً مشهود بود (۱۵). و همچنین در بررسی تأثیر نانو ذرات اکسید آهن در پایه نارنج درشرایط درون شیشه بیان داشتند، محیط کشت MS با نانوذرات آهن دارای بیشترین اثر معنی‌دار بر افزایش میزان صفات رویشی، وزن تر، وزن خشک و میزان کلروفیل نسبت به شاهد (بدون آهن) بود (۲۰). در پژوهشی، سمیت ذرات نانواکسید روی و بالک بر رشد گیاه شنبلیله نشان داد که وزن تر ریشه شنبلیله در همه غلظت‌های نانوذرات روی نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشته و حتی پایین‌ترین غلظت نیز نسبت به شاهد باعث کاهش وزن تر ریشه شده است (۵). کاهش معنی‌دار گره‌زایی در سویا را با افزایش غلظت نانواکسید روی گزارش کردند (۲۶). بیشترین وزن تر گیاهچه و ریشه نسبت به شاهد (بدون آهن) مربوط به محیط MS همراه با نانو ذرات آهن بود و کمترین درصد کلروزگی برگ نیز مربوط به همین محیط بود (۲۰). علت قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌های گیاهان چوبی و چند ساله بدلیل وجود مقدار قابل توجه ترکیبات پلی فنلی می‌باشد که ریزنمونه‌ها از گیاه مادری همراه دارند. اغلب در اینگونه موارد شستشو و یا واکشت تأثیر مطلوب‌تری دارد (۱۴).

در مجموع نتایج نشان‌دهنده اثر مثبت نانو ذرات اکسید روی بر کاهش قهوه‌ای شدن و افزایش زیست‌مانی کالوس‌های زرشک بی‌دانه بود. اثر مثبت نانو ذرات اکسید روی بر میزان کالوس‌زایی و زنده‌مانی کالوس شاید به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در این مسیر باشد. زیرا روی از کوفاکتورهای مهم دخیل در فعالیت آنزیم هاست و این ذرات به دلیل سطح ویژه زیاد، شاید توانسته باشند کارکرد این آنزیم‌ها را افزایش دهند (۲۱). زمانی که اندازه ذرات آهن به مقیاس نانو کاهش می‌یابد سرعت واکنش‌پذیری بیشتر می‌شود و قدرت انتخاب‌پذیری نانو ذرات افزایش پیدا می‌کند (۱۶). پیشنهاد می‌شود در کشت بافت گیاه چوبی جهت کاهش فنول از نانو ذره روی در محیط کشت استفاده شود.

منابع

1. Abdelwahd, R., N. Hakam, M. Labhilili and S.M. Udupa. 2008. Use of an adsorbent and antioxidants to reduce the effects of leached phenolics in in vitro plantlet regeneration of *faba bean*. African journal of biotechnology, 7(8): 997-1002.
2. Barberon, M., E. Zelazny, S. Robert, G. Conjero, C. Curic, J. Friml and G. Ver. 2011. Monoubiquitin dependent endocytosis of the iron regulated transporter1 (IRT1) transporter controls iron uptake in plants. Panas, 108: 450-458.
3. Duncan, D.R and J.M. Widholm. 1990. Measurement of viability suitable for plant tissue culture. In: pollard jw, walker jm (eds) methods in molecular biology, vol g, plant cell and tissue culture. The humana press, clifton, New Jersey, pp: 29-37.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.198]

4. Ghaffarian Maghreb, M. 2012. Methods for optimizing iron nanoparticles to reduce iron chloro in soy. Doctoral dissertation, Tarbiat Modares University (In Persian).
5. Ghasemi, N., S. Fallah and R. Nejadi. 2017. Comparison of the toxicity of Zn and nanobacterium particles on the growth of (*Trigonella foenum*). Journal of Plant Production Research, 24(2): 42-23 (In Persian).
6. Gojova, A., B. Guo, R.S. Kota, J.C. Rutledge, I.M. Kennedy and A.I. Barakat. 2007. Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metaloxide nanoparticles: Effects of particle composition. Environmental Health Perspectives, 115: 403-409.
7. Hajizadeh Khanamani, R., Z. Alizadeh, M. ghaderi and A. Izanloo. 2016. Effect of growth regulators, light and dark on callus induction in (*Berberis vulgaris* L.). National Conference on Applied Research in Agriculture, 1771-1776 (In Persian).
8. Heydari, S., H. Marashi, M. Farsi and M. Mirhamshi. 2010. Study of genetic diversity of wild and crop populations of barberry in khorasan provinces using AFLP molecular markers. Horticulture Agricultural Sciences and Technology, 22(2): 65-76 (In Persian).
9. ISTA (Anonymous). 2003. International seed testing association. International rules for seed testing. Working sheets on tetrazolium testing. Seed science and technology, 2: 149 pp.
10. khoshkhoy, M. 1999. Tissue culture techniques for horticultural plants (Boostardari) compiled by torres, k, Shiraz University Press, 436 pp (In Persian).
11. Lin, D. and B. Xing. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Journal Environmental Pollution, 1(50): 243-50.
12. Mahmoudi, M., A. Sammy, A. Imani, S. Milan, W. Stroop and H. Hafli Boncats. 2008. Multiphysic flow modeling in vitro and iron oxide toxicity of nanoparticles coated with poly vinyl alcohol. Chemistry, 113: 2322-2331 (In Persian).
13. Mirzawandani, S.H. 2015. Optimization of the application of tetrazolium in eastern rhubarb. Plant Investigations, 25(4): 877-884 (In Persian).
14. Mohammadi, M. 2011. In-vitro culture of *Berberis* (*Berbris vulgaris* var. Asperma). Master's thesis, Ferdowsi University of Mashhad (In Persian).
15. Nikzad, F. and R. Hosseini. 2009. Control of pollution and phenolic compounds in *Phalaenopsis*. The 6th Iranian Horticultural Science Congress, 121-131 (In Persian).
16. Pander, S., M. Darab and T.E. Mallouk. 2000. Remediation of Cr (VI) and Pb (II) aqueous solutions using supported nanoscal zero valent iron. Journal of Environ Science Technology, 34: 2564-2569.
17. Paschke, M.W., L.G. Perry and E.F. Redente. 2006. Zinc toxicity thresholds for reclamation forb species. Journal Water, Air and Soil Pollution, 170: 317-330.
18. Rayner-Canham, G. 1999. Descriptive inorganic chemistry. Freeman press,New York, 768 pp.
19. Romijn, J.C., C.F. Verkoelen and F.H. Schroeder. 2006. Application of the MTT assay to human prostate cancer cell lines in vitro: Establishment of test conditions and assessment of hormone-stimulated growth and drug-induced cytostatic and cytotoxic effects, The Prostate, 1(2): 99-110.
20. Saeedi, S., M. Mousavi and M. Ghaffarian. 2015. Effect of iron oxide nanoparticles on the prevention of iron chlorosis in citrus aurantium under in vitro culture conditions. Plant Ecophysiology, 23: 226-233 (In Persian).
21. Sharafi, E. and T. Hasanlu. 2013. Effects of application of nanoparticles of zinc and iron oxide and iron and extracts of potassium chrysanthemum potassium in (in vitro Conditions). Quarterly Journal of Agricultural Engineering and Natural Resources Engineering, (43): 26-30 (In Persian).
22. Stoyanova, A., H. Hitkova, A. Bachvarova-Nedelcheva, R. Iordanova, N. Ivanova, M. Sredkova. 2013. Synthesis and antibacterial activity of TiO2 ZnO nano composites prepared via nonhydrolytic route. Journal of Chemical Technology and Metallurgy, 48(2): 154-61.
23. Vahdatpour, M., K. Mashayeki and M. Ziyokhi. 2010. Study of the effect of turmeric antioxidant in comparison to active charcoal and ascorbic acid in culture media of (*ulmas pavrifolia Jasq*). Plant Products, 16: 2-10.
24. Wang, C., L. Liu, A. Zhang, P. Xie, J. Jun Lu and X. Ting Zou. 2012. Antibacterial effects of zinc oxide nano particleson escherichia coli K88. African Journal of Biotechnology, 11(44): 10248-54.
25. Zargari, A. 1990. Medicinal plants. Ed. 3, tehran university press, Tehran, Iran. 30 pp.
26. Zhao, L., R. Peralta-Videa, A. Varela-Ramirez, H. Castillo-Micheld, C. Li, J. Zhang, J. guilera, A. Kellerf and J.L. Gardea-Torresdeya. 2012. Effect of surface coating and organic matter on the uptake of CeO2NPs by corn plants grown in soil: Insight into the uptake mechanism. Journal of hazard mater, 225-226: 131-138.
27. Zinhari, Z. and H. Zolala. 2016. Induction of direct callus and salivation in different medicinal plant specimens from (*Lepidium draba* L.). Journal of Agricultural Biotechnology, 8(2): 32-52 (In Persian).
28. Zvekicd, S., A. Maja, M. Karaman and M. Matavulj. 2011. Antimicrobial properties of zno nanoparticles incorporated in polyurethane varnish. Journal of Processing and Application of Ceramics, 5(1): 41-45.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.198]

Effect of Iron Oxide and Zinc Oxide Nanoparticles of on Callus Viability of Seedless Barberry

Zahra Mezginezhad[1], Mohammadghader Ghaderi[2], Zohre Alizde[2] and Ali Izanloo[2]

1- M.Sc. Student, In Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Birjand University
(Corresponding Author: zahramezginezhad@gmail.com)
2- Assistant Professor, Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Birjand University
Received: October 21, 2018 Accepted: May 11, 2019

Abstract

In order to investigate the effect of iron oxide and zinc oxide nanoparticles on callus viability of *Berberis vulgaris* L., an experiment was conducted in October 2017 at Birjand Agricultural College. Callus were placed on MS/2 medium containing hormonal compounds (TDZ-BAP) and iron oxide and zinc oxide nanoparticles at different concentrations for 2 months. The experiment was conducted in a completely randomized design with 10 different treatments in three replications. The traits were dry weight, weigh weight, callus area, percent of moisture, viability percent, OD_{485nm}. The results of analysis of variance showed that there was a significant difference between treatments for fresh weight, dry weight, moisture percentage content at 5% level, and the comparison of mean treatments showed that (TDZ + 100 PPM zinc oxide nanoparticles) had the highest callus dry weight, fresh weight and moisture percentage (BAP + 75 PPM zinc oxide) had the highest bioavailability. Orthogonal comparisons between group treatments showed that (TDZ + 100 PPM nano-iron oxide) had the highest and (TDZ + 75 PPM Zn) had the lowest OD. Overall, the results indicated a positive effect of zinc oxide nanoparticles on reducing browning and highest viability of seedless barberry calluses.

Keywords: Browning, MS medium, Orthogonal, Tetrazolium, Thidiazuron

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.198]