مجله زیست فناوری گیاهان دارویی

سال چهارم، شماره دوم، پاییز و زمستان، ۱۳۹۷

بررسی اثر متیل جاسمونات و نانوذرات اکسید روی و آهن بر زیست‌مانی کالوس گیاه دارویی زرشک بی‌دانه

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

چکیده:

به منظور بررسی زیست‌مانی کالوس های زرشک بی‌دانه، آزمایشی در مهرماه ۱۳۹۶ در دانشکده کشاورزی بیرجند انجام شد. کالوس ها به مدت هشت هفته بر روی محیط کشت MS/2 حاوی ترکیبات هورمونی (BAP - TDZ) و متیل جاسمونات، نانوذرات اکسید آهن و روی در غلظت‌های مختلف قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۴ تیمار در سه تکرار اجرا و صفات مورد بررسی شامل وزن‌تر، وزن‌خشک، درصد زیست‌مانی، سطح کالوس، درصد رطوبت جرمی و od بودند. نتایج نشان داد، تیمار (TDZ و نانو اکسید روی ۱۰۰ PPM) دارای بیشترین وزن‌تر بود. نتایج مقایسات متعامد تیمارهای حاوی BAP و TDZ نشان داد، بیشترین درصد زیست‌مانی در تیمار (BAP و نانو اکسید روی ۷۵ PPM) مشاهده شد. مقایسات متعامد بین تیمارهای حاوی نانو ذرات اکسید (آهن ، روی) و تیمارهای حاوی متیل جاسمونات نشان‌دهنده‌ی برتری تیمارهای نانو اکسید روی (۱۰۰ PPM) نسبت به سایر تیمارها بود. و نتایج نشان دهنده اثر مثبت نانو ذرات اکسید روی بر اقزایش زیست مانی کالوس‌های زرشک بی‌دانه بود.

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

[۱]* نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند. ایمیل: zahramezginezhad@gmail.com

[۲] استادیار، عضو هیئت علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات- دانشکده کشاورزی- دانشگاه بیرجند

مقدمه:

زرشک بی‌دانه با نام علمی (*Berberis vulgaris* L.) بومی ایران خودگرده افشان از تیره‌ی زرشکیان و از دولپه ای‌ها است (آنبارانی، ۱۳۷۰). گیاه زرشک به صورت درختچه ای به ارتفاع یک تا سه متر پوشیده از خارهای تیز، دارای چوب زردرنگ، برگهای دوک مانند، گل های پاندولی ومیوه ای قرمز رنگ است (ایمان شهیدی، ۱۳۸۷).

یکی از مهمترین مشکلات کالوس زایی به ویژه در گیاهان دارویی، قهوه ای شدن اکسایشی (Oxidative browning) بافت‌های‌کالوس به دلیل تولید اکسیداسیون ترکیبات فنلی‌می‌باشدکه باعث‌کاهش یا توقف رشدسلولها،کاهش قدرت باززایی ودر نهایت مرگ سلول ها می‌شود (Jones et al., 2013). دلیل اصلی قهوه ای شدن بافت های گیاهی تجمع واکسایش ترکیبات فنلی در بافت ها می‌باشد که اغلب به عنوان پاسخ دفاعی گیاه به استرس های زنده وغیر زنده رخ می‌دهد (Titov, 2006). کشت بافت گیاهان چوبی به ویژه آن دسته از گیاهان چوبی که دارای مقادیر زیادی مواد فنولی می‌باشند به دلیل ترشح این مواد و درنتیجه مرگ سلولی ریز نمونه دشوار می‌باشد (Youssef et al., 2010). از تکنیک‌های کشت بافت در بسیاری از گیاهان چوبی از جمله گیاه زرشک به دلیل وجود ترکیبات فنولی استفاده شده است (Osare and Zandy, 2007). درپدیده‌ی قهوه‌ای شدن مجموعه‌اي ازعواملی مانند، نوع و غلظت هورمون، نوع محیط کشت، ژنوتیپ، نوع ریزنمونه، مکان جغرافیایی که ریزنمونه از آن تهیه شده، نوع ماده و مدت زمان استریل کردن سطحی، فصل جمع آوري ريزنمونه و نوع ماده جامد کننده محیط کشت، هریک به تنهايي و یا ترکیبی از آنها می‌تواند نقش داشته باشد (Tian, 2008).

متیل جاسمونات به منظور تحریک تمایز سلول ها و تولید متابولیت هاي ثانویه استفاده می‌شود (علیزاده، ۱۳۹۰). مولکول هاي علامت رسان مانند متیل جاسمونات، تنظیم کننده هاي دروني رشد گیاه هستند که نقش هاي کلیدي در رشد و نمو گیاه و پاسخ به تنش هاي محیطي ایفا مي کنند. این مولکول‌هاي علامت رسان در برخي از سیستم هاي انتقال علامت درگیرند و منجر به القاء فعالیت آنزیم هاي ویژه‌اي مي‌شوند که واکنش‌هاي بیوسنتزي مربوط به تولید ترکیبات دفاعي مانند پلي فنل‌ها، آلکالوئیدها، و پروتئین هاي وابسته به میکروب هاي بیماریزا را کاتالیز مي‌کنند نتیجه این فرایند، القاء شدن پاسخ هاي دفاعي و محافظت گیاه در برابر حمله میکروب هاي بیماري زا است (Creelman and Mullet, 1995). به طورمعمول، از متیل جاسمونات خارجي درکشت سلولي گیاهي براي فعال کردن متابولیسم ثانویه استفاده مي‌شود، اما مطالعاتي که در مورد تأثیر آن بر رشد گیاه صورت گرفته است، نشان مي‌دهدکه جاسمونات ها، فعالیت هاي زیستي گوناگوني مانند بازدارندگي رویش و جوانه زني دانه و دانه ي گرده و مهار رشد ریشه و دستگاه هاي فتوسنتزي، دارند (Rossato et al., 2002). آهن مهمترین عنصرکم مصرف است که در محیط کشت مورد استفاده قرار می‌گیرد. زمانی که اندازه ذرات آهن به مقیاس نانو کاهش می‌یابد تعداد اتم هایی که می‌توانند در واکنش درگیر شوند افزایش و در نتیجه سرعت واکنش پذیری بیشتر می‌شود و قدرت انتخاب پذیری نانو ذرات افزایش پیدا می‌کند. آهن به صورت Fe(II) جذب گیاهان می‌شود. میزان جذب آهن به فیزیولوژی گیاه کشت شده و شرایط بیوشیمیایی محیط گیاه بستگی دارد. فراهمی وکارایی جذب آهن به میزان یونش ترکیبات آهن وابسته است و شرایط بیوشیمیایی محیط میزان یونش ترکیبات آهن را کنترل می‌کند (Pander et al., 2000).

روی یک عنصرکم مصرف ولی ضروری درگیاه است. نانوذرات عناصرکم مصرف نیز در غلظت های بالا برای

سلول زیان آور می‌باشند و باعث تنش اکسایشی می-شود و همانند سایر تنش های غیر زیستی تولید و تجمع انواع فعال اکسیژن را القاء می‌کنند (Lu et al., 2002; Hong et al., 2005).

سعیدی و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی تاثیر نانو ذرات اکسید آهن در پایه نارنج در شرایط درون شیشه بیان داشتند، محیط کشت MS با نانوذرات آهن دارای بیشترین اثرمعنی دار بر افزایش میزان صفات رویشی، وزن‌تر، وزن‌خشک و میزان کلروفیل نسبت به شاهد (بدون آهن) بود.

لین و زینگ اثرات نانوذرات اکسید روی (ZnO) و روی (Zn) در جوانه زنی بذر زعفران و آزمون طویل شدن ریشه چه را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد: نانوذرات اکسیدهاي فلزي مثل (اکسید روي) در مراحل مختلف نمو گیاه همچون جوانه زنی و طویل شدن ریشه بازدارنده است (Lin and Xing, 2007).

کومار و همکاران گزارش کردند با اعمال نانوذره اکسید روی درگیاهان چاودار و ذرت مشخص شد که رشد ریشه و جوانه زنی بذر در هر دوگیاه به طور معنی داری کاهش یافت (Kumar et al., 2011).

با اینکه متیل جاسمونات و اسید سالسیلیک به عنوان محرک سبب افزایش تولید متابولیت های ثانویه ی کالوس می شوند، سطح قابل دسترس آنها درمحیط، قدرت زنده مانی کالوس را تحت تاثیر قرار می دهد و با افزایش این ترکیبات رشد سلولی کاهش می یابد. تیمار گیاهچه های سویا با متیل جاسمونات با غلظت های (۱و۱۰) میکرومولار موجب بهبود رشد و افزایش رنگیزه های فتوسنتزی وکاهش پراکسیداسیون لیپید ها گردید، در حالی که متیل جاسمونات در غلظت های (۱۰۰و۵۰۰) میکرومولار موجب کاهش رشد و کاهش رنگیزه های فتوسنتزی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها گردید (کرامت و دانشمند، ۱۳۹۱).

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

مواد و روش ها:

جهت بررسی زیست مانی کالوس های زرشک بی‌دانه در مهرماه ۱۳۹۶ از شاخه های یک ساله زرشک موجود در باغ دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، قلمه گیری صورت گرفت. برگ های تازه سبز شده به عنوان ریزنمونه مورد استفاده قرار گرفت. ضدعفونی ریزنمونه ها 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 انجام شد. جهت تهیه محیط کشت (MS/2) از پودر های آماده‌ی MS استفاده شد. ابتدا ۱۷/۲۱۵ گرم از پودر MS را در ۵۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل کرده وپس از تنظیم pH=۵/۸ با آب دیونیزه به حجم یک لیتر رسانده شد. اسیدآسکوربیک ۱۰درصد نیز به میزان یک میلی لیتر به محلول اضافه شد.سپس محیط کشت در ارلن های ۲۵۰ میلی لیتری توزیع شد و تنظیم کننده های رشد(2-4-D, BAP) به ترتیب با غلظت (۰/۵میلی گرم در لیتر-۲میلی گرم در لیتر) و آگار نیز به میزان هشت گرم بر لیتر به محیط کشت اضافه گردیدند. درب ارلن ها توسط فویل آلومینیومی پوشانده و محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار۱/۵ اتمسفر استریل شد، سپس در زیر هود لامینار به شیشه های استریل منتقل شدند. ریزنمونه‌ی برگی بعد از استریل شدن در زیر هود لامینار به قطعات هم اندازه برش خورده و به شیشه های حاوی محیط کشت جامد منتقل شدند. درب شیشه ها توسط پارافیلم مسدود شد و شیشه ها در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد درتاریکی مطلق به مدت یک ماه قرار گرفتند. بعد از یک ماه کالوس زایی اتفاق

افتاد. کالوس ها به مدت دو ماه بر روی محیط کشت حاوی ترکیبات زیر قرارگرفتند (جدول ۱) : (هورمون 2,4-D نیز درهمه‌ی محیط ها با غلظت (۰/۵ mg/l) وجود داشت). آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار اجرا شد و صفات مورد بررسی شامل وزن تر، وزن خشک، درصد زیست مانی، سطح کالوس، درصد رطوبت جرمی و od بودند. تجزیه واریانس و مقایسات متعامد و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن درسطح ۵ درصد با استفاده از نرم افزار GenStat انجام گرفت و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2013 استفاده شد.

جدول۱-تیمارهای هورمونی

شماره تیمار	ترکیب تیمار	محیط کشت
۱	MS/2 +BAP (۲mg/l)	MS/2
۲	MS/2 +BAP (۲mg/l)+Fe (۱۰۰ PPM)	MS/2
۳	MS/2 +BAP (۲mg/l)+Fe (۷۵ PPM)	MS/2
۴	MS/2 +BAP (۲mg/l)+Zn (۱۰۰ PPM)	MS/2
۵	MS/2 +BAP (۲mg/l)+Zn (۷۵ PPM)	MS/2
۶	MS/2 +BAP (۲mg/l)+Mj (۱mg/l)	MS/2
۷	MS/2 +BAP (۲mg/l)+Mj (۲mg/l)	MS/2
۸	MS/2 +TDZ (۱۵ mM)	MS/2
۹	MS/2 +TDZ (۱۵ mM)+Fe (۱۰۰PPM)	MS/2
۱۰	MS/2 + TDZ (۱۵mM)+Fe (۷۵ PPM)	MS/2
۱۱	MS/2 +TDZ (۱۵ mM)+Zn (۱۰۰ PPM)	MS/2
۱۲	MS/2 + TDZ (۱۵ mM)+Zn (۷۵ PPM)	MS/2
۱۳	MS/2 +TDZ (۱۵ mM)+Mj (۱mg/l)	MS/2
۱۴	MS/2 +TDZ (۱۵mM)+Mj (۲mg/l)	MS/2

نتایج و بحث:

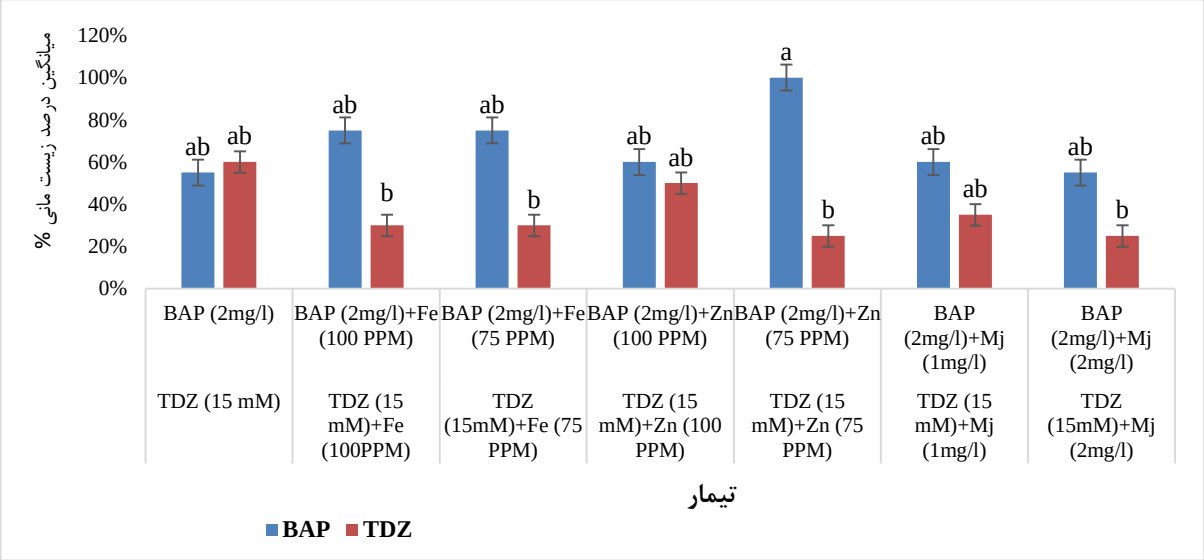
نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس بین تیمارها، تنها از نظر وزن تر اختلاف معنی داری ($P<0.05$) را نشان داد (جدول۲). مقایسات میانگین برای صفت وزن‌تر نشان داد، بیشترین وزن‌تر کالوس مربوط به تیمار۱۱ (TDZ و نانو اکسید روی با غلظت ۱۰۰ PPM) وکمترین وزن‌تر کالوس مربوط به تیمار-۱۴(TDZ و متیل جاسمونات با غلظت ۲ mg/l) بودند. تیمار ۲ (BAP و نانو اکسید آهن با غلظت ۱۰۰ PPM) و تیمار ۴ (BAP و نانواکسید روی با غلظت ۱۰۰ PPM) نیز دارای میانگین وزن‌تر بالایی بودند، ولی نسبت به تیمار ۱۱ در مرحله‌ی بعد قرار گرفتند، سایر تیمارها نیز از لحاظ وزن‌تر کالوس اختلاف چندانی نشان ندادند.

جدول۲- تجزیه واریانس متعامد اثر تیمار های هورمونی بر صفات مورد نظر در زیست مانی زرشک بی‌دانه

منابع تغییر	df	میانگین مربعات صفات					
		وزن خشک	وزن تر	درصد رطوبت جرمی	درصد زیست مانی	سطح کالوس	$od_{۴۸۵}$
تیمار	۱۳	۱۰۱/۲۲	۵۳۵۷۸/۱*	۶/۰۹۴	۲/۲۸۸	۹۳۵۶۸۹	۰/۱۹۹۰
BAPvsTDZ	۱	۹۲/۷۱	۶۳۲۷۵	۴/۳۴۳	۱۷/۳۵۷**	۲۸۷۲۰۸۷	۰/۰۰۰۳
Nano vs Mj	۱	۲۱۱/۱۵*	۱۸۰۱۰۰*	۳۹/۶۱۷	۱/۱۲۵	۲۰۵۵۵۳	۰/۰۵۳۷
خطا	۲۸	۵۶/۷۰	۲۶۸۰۳	۴/۳۵۱	۱/۸۳۳	۱۴۰۱۵۲۲	۰/۱۱۵۸
کل	۴۱						
CV%		% ۴۵/۲	% ۵۶	% ۲/۲	% ۴۲/۱	% ۷۹/۷	% ۳۴/۹

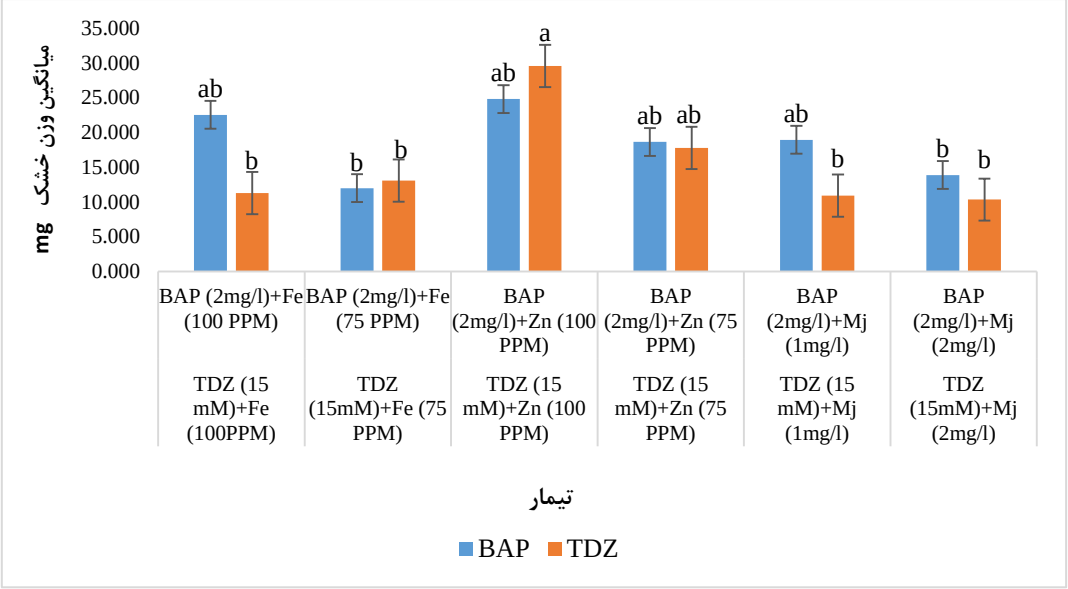
*و**به ترتیب : معنی داری درسطح ۵ و ۱ درصد

نتایج مقایسات متعامد بین تیمار های حاوی BAP و TDZ نیز در صفت درصد زیست مانی اختلاف معنی داری ($P<0.01$) را نشان دادند (جدول ۲). مقایسات میانگین برای صفت درصد زیست مانی نشان داد، بیشترین درصد زیست مانی مربوط به کالوس های تیمار۵ (BAP و نانو اکسید روی با غلظت ۷۵ PPM) وکمترین درصد زیست مانی مربوط به کالوس های تیمار۱۲ (TDZ و نانو اکسید روی با غلظت PPM ۷۵) و تیمار ۱۴(TDZ و متیل جاسمونات با غلظت ۲ mg/l) بودند. تیمارهای ۹ و۱۰ نیز دارای درصد کمی زیست مانی بودند ولی نسبت به تیمارهای ۱۲ و ۱۴ زیست مانی بالاتری داشتند (شکل ۱).



شکل۱- مقایسه میانگین تیمارها برای صفت درصد زیست مانی

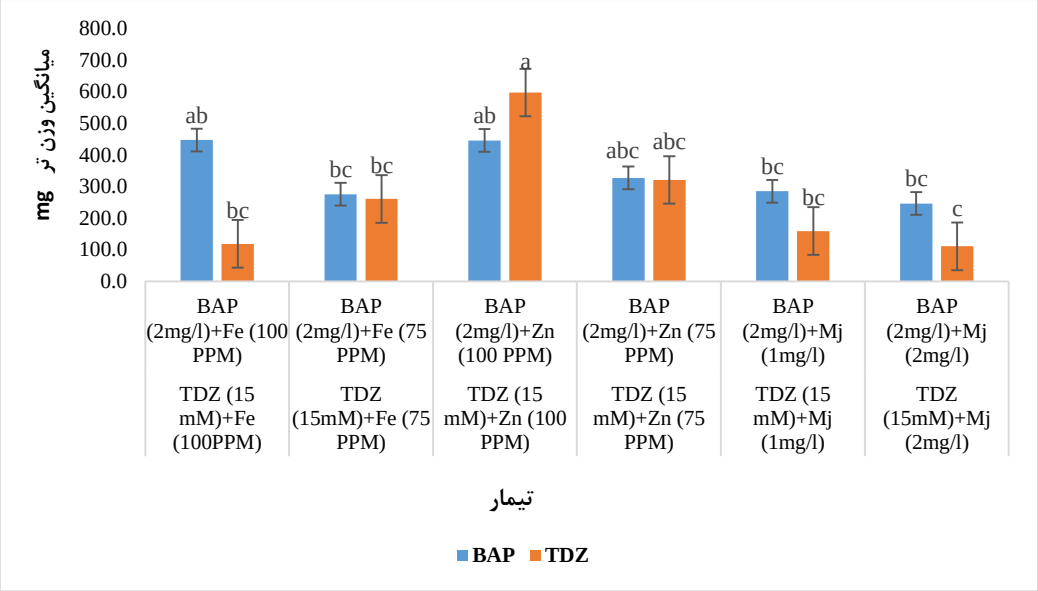
نتایج مقایسات متعامد بین تیمارهای حاوی نانو ذرات اکسید (آهن ، روی) و تیمارهای حاوی متیل جاسمونات در صفات وزن تر و وزن خشک در سطح احتمال ($P<0.05$) اختلاف معنی داری را نشان دادند (جدول ۲). مقایسات میانگین بین تیمارهای حاوی نانو ذرات اکسید (آهن ، روی) و تیمارهای حاوی متیل جاسمونات در صفت وزن خشک، نشان دهنده‌ی برتری تیمارهای نانو اکسید روی با غلظت (۱۰۰PPM) نسبت به سایر تیمارها بود. تیمارهای متیل جاسمونات و نانو ذرات آهن از لحاظ وزن خشک اختلافی نداشتند، ولی نسبت به تیمارهای نانو ذرات روی درکمترین حالت خود قرار داشتند.



شکل۲- نتایج مقایسات میانگین بین تیمار های حاوی نانوذرات اکسید (آهن و روی) و متیل جاسمونات در صفت وزن خشک

در صفت وزن تر، نانو ذرات آهن و متیل جاسمونات هر دو در ترکیب با TDZ در کمترین میزان خود بودند. متیل جاسمونات در غلظت ۱ و ۲ میلی گرم آن، در ترکیب با BAP نسبت به TDZ دارای بیشترین میانگین وزن تر بودند.

نتایج مقایسات میانگین نشان داد، در مجموع تیمار های حاوی متیل جاسمونات دارای عملکرد کمتری نسبت به نانوذرات اکسید روی بودند ولی نسبت به نانوذرات اکسید آهن اختلافی چندانی را نشان ندادند. متیل جاسمونات ها در ترکیب با BAP دارای رابطه ی افزایشی بودند ولی با TDZ میانگین های بالایی را نشان ندادند. BAP در ترکیب با متیل جاسمونات، نانوذرات اکسید آهن و اکسید روی دارای ثبات عملکردی بهتری بود (شکل۳).



شکل۳- نتایج مقایسات میانگین بین تیمار های حاوی نانوذرات اکسید (آهن و روی) و متیل جاسمونات در صفت وزن‌تر

شکل۴ - کالوس حاوی نانو ذرات روی، الف) BAP - ب) TDZ

شکل۵ - کالوس حاوی نانو ذرات آهن، الف) BAP- ب) TDZ

شکل۶ - کالوس حاوی متیل جاسمونات، الف) BAP - ب) TDZ

تیمارهای حاوی BAP و تیمارهای حاوی TDZ در صفت درصد زیست مانی، نشان دهنده‌ی برتری BAP نسبت به TDZ بودند، زیرا اکثر تیمارهای حاوی BAP دارای میانگین درصد زیست مانی بالاتری بودند و همچنین اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند و این نشان دهنده‌ی کارکرد بهتر سیتوکینین ها در مقادیر بالای آنهاست و در نتیجه موجب ثبات بیشتر BAP نسبت به TDZ شده است. کاربرد نانو ذرات اکسید روی در ترکیب با هر دو محیط BAP و TDZ کارآمد بود، به طوری که باعث افزایش درصفات وزن تر، وزن خشک، درصد زیست مانی، درصد رطوبت جرمی در کالوس ها شدند. نانوذرات نسبت به متیل جاسمونات‌ها توانستند توانایی زیست مانی کالوس را افزایش دهند. قهوه ای شدن و مرگ کالوس مهمترین مشکل در رشد کالوس های زرشک بی‌دانه است، نانو ذرات اکسید روی علاوه بر بالابردن زمان زیست مانی کالوس های زرشک بی‌دانه، باعث بهبود رشد آنها نیز شد.

سیتوکینین ها در کاهش تجزیه‌ی کلروفیل با افزایش تقسیم سلولی، رشد سلول، افزایش بیوسنتز کلروفیل و تاخیر در روند پیری برگ نقش دارند (سیادت و هاشمی، ۱۳۷۹).

با توجه به اینکه غلظت های پایین‌تر تیدیازورون افزوده شده به محیط کشت، باعث رشد کالوس‌ها می‌شود (Huetteman & Perrce, 1993). به دلیل اندازه‌ی بسیار کوچک نانوذرات و دارا بودن سطح ویژه‌ی بسیار وسیع، باعث افزایش فعالیت شیمیایی آنها می‌گردد (محمودی و همکاران، ۱۳۸۷). به همین دلیل نانو ذرات از جمله اکسیدهای فلزی مانند (ZnO) می‌توانند از غشاء سلولی عبور کنند (Gojova et al., 2007).

رشد و زیست مانی کمتر کالوس‌های متیل جاسمونات، شاید به دلیل القاء تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن باشد (Zhang & Xing 2008). زیرا، این رادیکال‌های آزاد در واکنش با پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA در سلول می‌توانند باعث تغییر فعالیت و یا غیر فعال شدن آنها شده و در نهایت باعث مرگ سلول‌ها گردند (Chen et al., 2008). نتایج بسیاري از تحقیقات نشان داده است که جاسمونات‌ها تأثیرات تحریک کنندگی و بازدارندگی بر رشد و فعالیت متابولیکی گیاهان دارند و آثار بازدارندگی مشابه آبسیزیک اسید و اتیلن از خود نشان می‌دهند. جاسمونات ها با کاهش فعالیت پروتئین کینازها وابسته به سیکلین مانع ورود چرخهٔ یاخته از حالت G_1 به S و G_2 به M می‌شوند و از این طریق از رشد و تقسیم سلولی ممانعت می‌کنند (Swiatek et al., 2003). مهار رشد و کاهش زنده مانی درنتیجه زوال تمامیت سلول توسط جاسمونات‌ها در بسیاری از گیاهان به اثبات رسیده

است (Miyamoto et al., 1997; Ananiev & Ananieva 2000). در مجموع نتایج نشان دهنده اثر مثبت نانو ذرات اکسید روی بر کاهش قهوه‌ای شدن و افزایش زیست مانی کالوس های زرشک بی‌دانه است.

منابع

ایمان شهیدی، م. و حسین زاده، ح. (۱۳۸۶). اثرات درمانی و فارماکولوژی زرشک بی‌دانه و ماده تشکیل دهنده‌ی فعال آن، بربرین. تحقیقات فیتوتراپی، ۲(۲۲)، ۱۰۱۲-۹۹۹.

آنبارانی، م. (۱۳۷۰). دو انگور آگاتا و آجات خشک خراسان. نشریات آستان قدس رضوی، صفحات ۲۵-۱۳.

سعیدی، س.، موسوی، م. و غفاریان مقرب، م.ه. (۱۳۹۴). تاثیر نانو ذرات اکسید آهن بر جلوگیری از کلروز آهن در پایه‌ی نارنج (*Citrus aurantium* L.) درشرایط کشت درون شیشه ای. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی، ۷ (۲۳)، ۲۳۳-۲۲۶.

سیادت، س. و هاشمي دزفولی، س. (۱۳۷۹). اثر تراکم و الگوی کاشت گیاه در عملکرد دانه و اجزای عملکرد ذرت (*Zea mays* L.) هیبرید KSC704 . مجله علوم کشاورزی، ۹(۱)، ۴۸-۳۹.

علیزاده، م. (۱۳۹۰). راهنماي کاربران کشت بافت گیاهی و ریزازدیادي. انتشارات نوروزي گرگان، ص۳۲۲.

کرامت، ب. و دانشمند، ف. (۱۳۹۱). نقش دوگانه متیل جاسمونات بر عملکردهای فیزیولوژیک درگیاه سویا (*Glycine max* L.). مجله فرایند وکارکرد گیاهی، ۱(۱)، ۳۸-۲۷.

محمودی، م.، شکرگذار، م.، سمیچی، ا.، ایمانی، ا.، میلان، س.، استرو، پ.، ویل، ه.، هافلی، ا. و بونکدار، س.ح. (۱۳۸۷). مدل سازی جریان چند فیزیک و در in vitro و سمیت اکسید آهن نانو ذرات پوشش داده شده با پلی وینیل الکل. مجله شیمی، ۱۳(۱)، ۲۳۳۱-۲۳۲۲.

Ananieva, K. and Ananiev, E.D. (2000). Interaction between methyl ester of jasmonic acid and benzylaldenine during the growth of excised greening cotyledonse of (*Cucurbita pepo L.*) (Zuchini). BULG. Journal of Plant Physiology, 26(1-2), 48-57.

Chen, B., Huang, J., Wang, J. and Huang, L. (2008). Ultrasound effects on the antioxidative defense systems of *(Porphyridium cruentum)*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 16, 88- 92.

Creelman, R.A. and Mullet, J.E. (1995). Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic stress. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 92, 4114 – 4119.

Gojova, A., Guo, B., Kota, R.S., Rutledge, J.C., Kennedy, I.M. and Barakat, A.I. (2007). Effects of particle composition. Environmental Health Perspectives, 115, 403-409.

Hong, F., Yang, F., Liu, C. and Yang, P. (2005). Influence of nano –Ti O2 on the Choloroplast aging of spinach under light. *Biological Trace Element Research*, 104(3), 249-260.

Huetteman , C.A. and Preece, J.E. (1993). Thidiazuron :a potent cytokinin for woody plant tissue culture. Plant Cell,Tissue and Organ Culture, (33), 105-119 .

Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metaloxide nanoparticles:

Jones, A. and Saxena, P.,] (2013). Inhibition of Phenylpropanoid Biosynthesis in (*Artemisia annua L.*) A Novel Approach to Reduce Oxidative Browning in Plant Tissue Culture. PLOS One, 8 (10), 1 - 13.

Keramat, B. and Daneshmand, F. (2012). The role of dichromate methyl jasmonate on physiological functions in soybean plants (*Glycine max* L.). Journal of Process and Plant Function, 1 (1), 38-27

remobilization in *(Brassica napus L.*) during the growth cycle: identification, and immunolocalization of a putative taproot storage glycoprotein. Journal of Experimental Botany, 53, 265 - 275.

Swiatek, A., Azmi, A., Witters, E. and Van Onckelen, H. (2003). Stress messengers Jasmonic acid and Abscisic acid negatively regulate plant cell cycle. Bulgarian Journal of Plant Physiology. Special Issue. Pp, 172-178.

Tian, D. (2008). Container production and post-harvest handling of Lotus (Nelubo) and micropropagation of herbaceous peony (Paeonia). Ph D Thesis. Auburn University, USA.

Titov, S., Bhowmik, S., Mandal, A., Alam, M.S. and Uddin, S.N. (2006). Control of Phenolic Compound Secretion and Effect of Growth Regulators for Organ Formation from *Musa* spp. cv. Kanthali Floral Bud Explants. African Journal of Biotechnology, 2, 89 - 98.

Youssef, M.A., El-Helw, M.R., Taghian, A.S. and El-Aref, H.M. (2010). Improvement of (-*Psidium guajava L.*) using micropropagation. Acta Horticulture, 849, 223-230.

Zhang, L. and Xing, D. (2008). Methyl jasmonate induces production of reactive oxygen species and alterations in mitochondrial dynamics that precede photosynthetic dysfunction and subsequent cell death. Plant Cell Physiology, 49(7), 1092- 1111.

Kumar, P., Kositsup. B., Baruah, S. and Dutta, J. (2011). Effect of Zinc Oxide Nanoparticle on Root of Rice (*Oryza sativa L.*). Journal of Environment and Bio-Sciences, 21, 172-176.

Lin, D. and Xing, B. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution, 150, 243-50.

Lu, C.M., Zhang, C.Y., Wen, J.Q. and Wu, G.R. (2002). Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of *(Glycine max)* and its mechanism. Soybean Science, 21(3), 168-172.

Miyamoto, K., Oka, M. and Uedea, J. (1997). Update in the possible mode of action of Jasmonates: Focus on the metabolism of cell wall polysaccharides in relation to growth and development. Physiologiae Plantarum, 100, 631-638.

Osare, H. and Zandi Esfahani, A. (2007). Investigation of factors affecting the pulmonary ejection of *Eucalyptus Gunni* and *E. viminalis*. Journal of Research and Development, 20 (4), 190-184.

Pander, S.M., Darab J. and Gand Mallouk, T.E. (2000). Remediation of Cr (VI) and Pb (II) aqueous solutions using supported nanoscal zero valent iron. Journal of Environmental Science and Technology, 34, 2564-2569.

Rossato, L., Le Dantec, C., Laine, P. and Ourry, A. (2002). Nitrogen storage and

Journal of Medicinal Plants Biotechnology

2019 Vol 4, No 2, Autumn & Winter

Evaluation of the effect of methyl jasmonate and ZnO and iron oxide nanoparticles on viability of callus medicine plant of seedless barberry

Zahra Mezginezhad[1]*, Mohammadghader Ghaderi[2], Zohre Alizade[2], Ali Izanloo[2]

Abstract

In order to investigate the biomarkers of callus of dwarf barberry, an experiment was conducted in October 2017 in Birjand Agricultural College. Calluses were placed on a medium containing MS / 2 hormonal composition (TDZ-BAP) and methyl jasmonate, iron oxide and zinc oxide nanoparticles in different concentrations for eight weeks. The experiment was conducted in a completely randomized design with 14 treatments in three replications. The traits were weight, weigh weight, dry weight, biomass percentage, callus level, mass moisture content and od. The results showed that treatment (TDZ and zinc oxide PPM 100) had the highest weight. The results of orthogonal comparisons of the treatments containing BAP and TDZ indicated that the highest percentage of biomass was observed in treatments (BAP and PPM 75 nano oxide). Orthogonal comparisons between treatments containing oxide nanoparticles (iron, zinc) and methyl jasmonate containing treatments indicated a superiority of zinc (100 PPM) treatments compared to other treatments. And the results indicated a positive effect of zinc oxide nanoparticles on the viability of callus of barberry.

Keyword: Browning, MS medium, Orthogonal, Tetrazolium, Thiadiazuron

[1] *Corresponding Author: Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran. Email: zahramezginezhad@gmail.com

[2] Assistant Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran