

## اثر نانو اکسید آهن بر رشد، فیزیولوژی و کالزایی فلفل در شیشه

علیرضا ایرانبخش و سیدعلیرضا قادری

گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: علیرضا ایرانبخش، iranbakhsh@iau.ac.ir

**چکیده.** این پژوهش به منظور بررسی تاثیر نانو اکسید آهن ( $Fe_2O_3$ ) بر رشد، فیزیولوژی و کالزایی گیاه فلفل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در شرایط درون شیشه‌ای انجام شد. دانه‌رست‌ها در محیط کشت MS حاوی غلظت‌های ۰.۱، ۱.۰، ۱۰ و  $20\text{ mg l}^{-1}$  نانو اکسید آهن کشت شدند. همچنین، اثر غلظت‌های مختلف نانو آهن بر روی تشکیل کالوس در ۲ شرایط مختلف هورمونی شامل  $0.5\text{ mg l}^{-1}$  BAP+ $1\text{ mg l}^{-1}$  Kin و  $0.5\text{ mg l}^{-1}$  2,4D+ $0.5\text{ mg l}^{-1}$  BAP بررسی شد. نتایج نشان داد به کارگیری نانو آهن موجب افزایش معنی دار بیومس در اندام‌های ریشه، ساقه و برگ گیاه شد. به علاوه، نانو آهن موجب افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها) شد. تاثیر نانو اکسید آهن بر کالزایی بسته به نوع هورمون‌های به کار گرفته شده متفاوت بود. غلظت‌های مختلف نانو اکسید آهن بر روی کالزایی تحت تیمار هورمونی 2,4-D و BAP، اثر تحریکی داشت. در حالی که، حضور نانو آهن در محیط کشت حاوی هورمون‌های 2,4-D و کاینترین، اثر معنی داری روی القای کالوس نداشت. نتایج این تحقیق دلالت بر این مسئله دارد که بکارگیری نانو اکسید آهن در غلظت‌های مناسب می‌تواند موجب افزایش راندمان تولید گیاهان به ویژه در شرایط درون شیشه شود.

واژه‌های کلیدی. رشد، کالوس، محیط کشت، نانو تکنولوژی، نانوذره

## The effect of nano-iron oxide on growth, physiology, and callogenesis in pepper in vitro

Alireza Iranbakhsh &amp; Seyed Alireza Ghaderi

Department of Biology, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding author: Alireza Iranbakhsh, iranbakhsh@iau.ac.ir

**Abstract.** The aim of this research was to study the effect of iron oxide nanoparticles (FeO NPs) on the growth, differentiation, anatomy, and physiology of pepper (*Capsicum annum* L.) on the basis of a completely randomized design *in vitro* condition. Seedlings were cultured in MS medium containing four concentrations of FeO NPs (0, 1, 10, and  $20\text{ mg l}^{-1}$ ). Also, the effect of the different concentrations of FeO NPs on callus formation under two various hormone conditions ( $0.5\text{ mg l}^{-1}$  2,4D+ $0.5\text{ mg l}^{-1}$  BAP or  $0.5\text{ mg l}^{-1}$  BAP+ $1\text{ mg l}^{-1}$  Kin) were assessed. The results showed that the application of FeO NPs significantly increased biomass accumulation in both roots and shoots. Moreover, FeO NPs enhanced the concentrations of photosynthesis pigments (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and carotenoids). The presence of FeO NPs in culture medium affected callus formation in a hormone-dependent manner. Different concentration of FeO NPs induced the callus formation under 2, 4-D and BAP treatments. However, it did not significantly increase callus formation under the kinitin and 2,4-D. The findings of this research indicated that the application of FeO NPs at optimized doses may improve plant production, especially *in vitro* condition.

**Keywords.** callus, culture medium, growth, nanoparticle, nanotechnology

## مقدمه

فلفل با نام علمی *Capsicum annuum* L. متعلق به تیره بادنجانیان (Solanaceae)، جزو گیاهانی است که اهمیت اقتصادی و غذایی بسیار زیادی دارد. این گیاه بومی نواحی حاره‌ای آمریکا بوده و اهلی شده است. فلفل علاوه بر اهمیت غذایی، خواص آنتی‌اکسیدانی نیز دارد (Ghasemnezhad et al., 2011). روش‌های سنتی و رایج تکثیر گیاه فلفل دارای معایبی نظیر کوتاه‌بودن عمر گیاهچه، پایین‌بودن سرعت جوانه‌زنی و خطر آلودگی گیاهچه‌ها به انواع پاتوژن‌ها مانند قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و نماتدها است. افزایش دما نیز سبب محدودیت در تولید می‌شود. این درحالی است که به‌کارگیری روش‌های تکثیر جدید و رایج از طریق بیوتکنولوژی، موجب افزایش کمی و ارتقا کیفی محصول می‌شود (Hussain et al., 1999).

کشت بافت، روشی مناسب برای ازدیاد گیاهان در شرایط آزمایشگاهی است که امروزه کاربردهای فراوانش در زمینه‌های مختلف تکثیر گیاهان از طریق کشت درون‌شیشه‌ای بافت یا سلول‌های خاص و اصلاح نباتات گزارش شده است. مهمترین مورد قابل توجه در کشت‌های درون‌شیشه‌ای، عاری بودن محیط کشت و ریزنمونه از آلودگی‌های باکتریایی و قارچی است که با سترون سازی کامل مواد و وسایل آزمایشگاهی و استفاده از ترکیبات آنتی‌باکتریایی و قارچ کش، کنترل می‌شود. بنابراین استفاده از ترکیبی که بتواند ضمن پیشگیری موثر از بروز آلودگی در محیط، اثرات بازدارنده‌ای نیز در رشد ریزنمونه‌ها نداشته باشد، می‌تواند بسیار مفید واقع شود (Phillips & Garda, 2019).

نانوتکنولوژی به‌عنوان یک فناوری جدید در دهه‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است که با تولید محصولات متنوع در بخش‌های شیمی، انرژی و محیط زیست کاربردهای فراوانی دارد. نانو ذرات، ذراتی به ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند. روش‌های نوین و کاربردی کشت سلول و بافت در به‌نژادی و ازدیاد گیاهان این فرصت را فراهم می‌کند که بتوان از گیاهان بهره‌برداري بیش‌تری کرد و به مقدار بیش‌تری از ترکیبات ثانویه ارزشمند دست یافت. این مجموعه عوامل همراه با فناوری نانو، می‌تواند به افزایش و توسعه تولید منجر شود (Asgari-Targhi et al., 2018). کاربرد نانو ذرات در محیط درون شیشه‌ای می‌تواند به‌عنوان یک روش برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مفید مورد استفاده قرار گیرد. همچنین استفاده از این نانو ذرات در محیط درون‌شیشه‌ای به عنوان روشی کاربردی در به‌نژادی گیاهان توصیه می‌گردد (Rizwan et al., 2017). آهن، عنصری ضروری برای فرایندهای متابولیک گیاه، سنتز DNA، فتوسنتز، و تنفس است. این عنصر نقشی کلیدی در واکنش‌های سوخت و

سازی دارد (Barberon et al., 2011). آهن در بیوسنتز کلروفیل به صورت مستقیم شرکت دارد و برای سنتز پروتوپورفرین، پیش ماده سنتز کلروفیل، ضروری است. حدوداً ۶۰ درصد محتوای آهن برگ، در کلروپلاست است که در نتیجه کمبود مقدار آهن منجر به کلروز می‌شود (Blakrishnan, 2011). نکته قابل تأمل این است که کلروز برگ ناشی از کمبود آهن یک نابسامانی تغذیه‌ای گسترده در گیاهان است که می‌تواند نتایج خطیری برای محصولات کشاورزی داشته باشد (Lombardi et al., 2003). تحقیقات نشان داد بکارگیری غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن اثرات مثبت بر زنده‌مانی و اندازه کالوس دارد (Sharafi et al., 2013). در گیاه گل راعی، کاربرد نانو آهن با غلظت  $75 \text{ mg l}^{-1}$  بیش‌ترین تاثیر را بر فرایند کالزایی و زنده‌مانی کالوس داشت. به هر حال، غلظت  $1 \text{ mg l}^{-1}$  نانو آهن دارای کم‌ترین تاثیر بر فرایند کالزایی و زنده‌مانی کالوس بود (Sharafi et al., 2013). در گیاه اسفناج نیز میزان بیومس و طول ساقه و ریشه با افزایش میزان نانو اکسید آهن به طور قابل توجهی افزایش یافت (Jeyasubramanian et al., 2016). در مطالعه دیگری، تیمار گیاهچه‌های بادام زمینی با نانو اکسید آهن موجب افزایش بیومس، طول ریشه و ارتفاع گیاه شد (Rui et al., 2016). بنابراین تحقیق در این زمینه می‌تواند دیدگاه‌های جدیدی را در استفاده از نانوذرات آهن به عنوان کود در کشاورزی پایدار ایجاد کند.

هدف از مطالعه حاضر پر نمودن خلاهای تحقیقاتی در زمینه مذکور از طریق بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانو ذره اکسید آهن بر فرایند کالزایی، رشد و فیزیولوژی گیاه فلفل در شرایط درون شیشه‌ای بود.

## مواد و روش‌ها

## تهیه استوک نانو اکسید آهن

میزان ۱/۰ گرم نانو اکسید آهن در ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه به مدت ۲۰ دقیقه به طور کامل مخلوط شد. سپس استوک با استفاده از همگن ساز به مدت ۳۰ دقیقه همگن سازی شد و جهت ساخت غلظت‌های مختلف نانو اکسید آهن، استفاده شد (Dhoke et al., 2013).

## شرایط کشت و اعمال تیمارها

بذرها به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۷۰ درصد و ۱۵ دقیقه در آب ژاول ۵ درصد ضدعفونی و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. از محیط کشت MS در این مطالعه استفاده شد (Murashige & Skoog, 1962). بذرهای ضدعفونی شده در محیط کشت بدون هورمون حاوی غلظت‌های مختلف نانو

نسبت به تیمار شاهد شد اما دو گروه دیگر تیمارهای نانوآکسید آهن تفاوت معنی داری با شاهد نداشتند (شکل ۳). تیمار ۱ میلی گرم برلیتر نانو آکسید آهن و تیمار ۲۰ میلی گرم برلیتر نانو آکسید آهن بیش‌ترین اثر را به روی افزایش کلروفیل *b* گیاه نشان داد. غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوآکسید آهن موجب تفاوت معنی داری در غلظت کلروفیل *b* نسبت به تیمار شاهد نشد (شکل ۳). نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۲۰ نیز به مقدار معنی داری بالاتر از شاهد بود. تیمار ۱ میلی‌گرم برلیتر نانو آکسید آهن باعث افزایش معنی‌دار سطح کارتنوئید در گیاه نسبت به تیمار شاهد شد. غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم برلیتر نانوآکسید آهن تفاوت معنی‌داری را به نسبت شاهد نشان ندادند (شکل ۳).

#### الفا کالوس

در غلظت‌های  $2,4-D \ 0.5 \text{ mg l}^{-1} + BAP \ 0.5 \text{ mg l}^{-1}$  به همراه غلظت‌های مختلف نانوآکسید آهن، غلظت  $10 \text{ mg l}^{-1}$  نانوآکسید آهن رشد کالوس را نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها به نحو چشمگیری افزایش داد (شکل ۴). در تیمارهای  $1 \text{ mg l}^{-1} + 2,4-D \ 0.5 \text{ mg l}^{-1}$  Kintin به همراه غلظت‌های مختلف نانوآکسید آهن، تیمار  $20 \text{ mg l}^{-1}$  نانوآکسید آهن و همچنین تیمار شاهد هیچ رشدی مشاهده نشد و تیمارهای ۱ و  $10 \text{ mg l}^{-1}$  بعد از ۵ هفته رشد کردند (شکل ۵). در تیمارهای هورمونی  $1 \text{ mg l}^{-1}$  کاپنتین +  $2,4-D \ 0.5 \text{ mg l}^{-1}$ ، بعد از گذشت ۵ هفته از تاریخ کشت تیمارهای شاهد و  $20 \text{ mg l}^{-1}$  نانوآکسید آهن هیچ رشدی نکردند؛ اما تیمار  $1 \text{ mg l}^{-1}$  نسبت به تیمار  $10 \text{ mg l}^{-1}$  باعث افزایش وزن تر کالوس شد، اما تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد. به علاوه، تیمارهای شاهد و  $20 \text{ mg l}^{-1}$  هیچ رشدی نکردند (شکل ۶). در رابطه با وزن خشک کالوس، تیمار  $1 \text{ mg l}^{-1}$  نانوآکسید آهن نسبت به  $10 \text{ mg l}^{-1}$  باعث افزایش وزن خشک کالوس شد اما تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد (شکل ۶). در مورد محیط کالوس، تیمارهای شاهد و  $20 \text{ mg l}^{-1}$  هیچ رشدی را نشان ندادند و تیمار  $1 \text{ mg l}^{-1}$  باعث افزایش سطح محیط کالوس نسبت به تیمار  $10 \text{ mg l}^{-1}$  شد. در خصوص قطر کالوس، تیمارهای شاهد و  $20 \text{ mg l}^{-1}$  هیچ افزایش قطری را نشان ندادند اما تیمار  $1 \text{ mg l}^{-1}$  نسبت به تیمار  $10 \text{ mg l}^{-1}$  باعث افزایش قطر کالوس شد (شکل ۶). در تیمارهای هورمونی  $2,4-D \ 0.5 \text{ mg l}^{-1} + BAP \ 0.5 \text{ mg l}^{-1}$ ، در غلظت‌های مختلف نانوآکسید آهن قطر کالوس نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. اما تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای آهن مشاهده نشد (شکل ۷). همچنین غلظت‌های مختلف نانوآکسید آهن باعث افزایش وزن تر و خشک کالوس نسبت به گروه شاهد شد، اما تفاوت معنی‌داری میان تیمارها مشاهده نشد (شکل ۷).

آکسید آهن (۰، ۱، ۱۰، ۲۰ میلی گرم در لیتر) تحت شرایط استریل کشت شدند. دانه‌رست‌های ۵۰ روزه برای انجام آنالیزهای مربوط برداشت شدند. شاخص‌های مختلف ریخت شناسی مانند طول اندام‌های هوایی، طول ریشه اصلی و تعداد ریشه‌های فرعی اندازه گیری شدند. سطح برگری بر حسب  $\text{cm}^2$  با استفاده از نرم افزار Digimizer به دست آمد. برای بدست آوردن وزن خشک، گیاهان در آون با دمای ۷۲ درجه به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند و سپس وزن شدند.

#### سنجش کلروفیل

رنگیزه‌های فتوسنتزی با استفاده از حلال استون ۸۰ درصد استخراج شدند. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی به روش اسپکتروفتومتری تعیین شد (Arnon, 1949). جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۴۵ ثبت شد.

#### آزمایش کالزایی

به منظور بررسی اثر به کارگیری غلظت‌های مختلف نانوآکسید آهن بر کالزایی، از دانه‌رست‌های استریل ۳۰ روزه برای تهیه جداکشت استفاده شد. در این بخش، کالزایی در دو شرایط مختلف هورمونی شامل  $BAP \ 0.5 \text{ mg l}^{-1} + 2,4D \ 0.5 \text{ mg l}^{-1}$  و  $Kin \ 1 \text{ mg l}^{-1} + BAP \ 0.5 \text{ mg l}^{-1}$  جداکشت‌های برگی در دو محیط حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد فوق و غلظت‌های مختلف نانوآکسید آهن (۰، ۱، ۱۰، ۲۰ میلی گرم در لیتر) کشت شدند. بعد از ۴۰ روز کالوس‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند (Asgari- Targhi, et al., 2018).

#### آنالیز آماری

طرح آزمایش، کاملاً تصادفی با ۳ تکرار بود. اطلاعات بدست آمده به صورت آنالیز فاکتوریل توسط نرم افزار SPSS مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

#### نتایج

##### رشد و ریخت شناسی

به کارگیری غلظت‌های مختلف نانوآکسید آهن موجب تغییر در نرخ رشد و مورفولوژی گیاه شد (شکل ۱). بررسی اثر به کارگیری غلظت‌های مختلف نانو آکسید آهن بر بیومس نشان داد که هر سه غلظت بکارگرفته شده موجب افزایش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) وزن تر ریشه، وزن خشک کل برگ‌ها و وزن خشک ساقه شد (شکل ۲). همچنین، به کارگیری غلظت‌های مختلف نانو آکسید آهن موجب افزایش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) طول ساقه، ارتفاع کل گیاه و طول ریشه شد (شکل ۲).

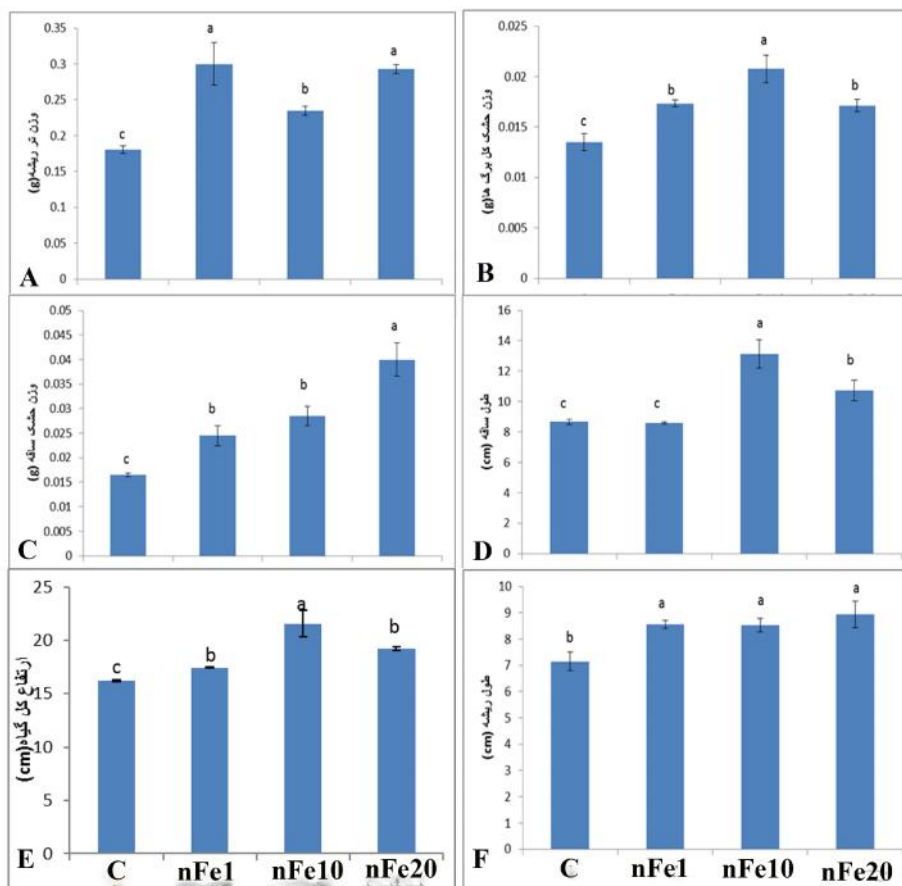
##### رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج نشان داد که تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل *a* در بین غلظت‌های مختلف نانو آکسید آهن



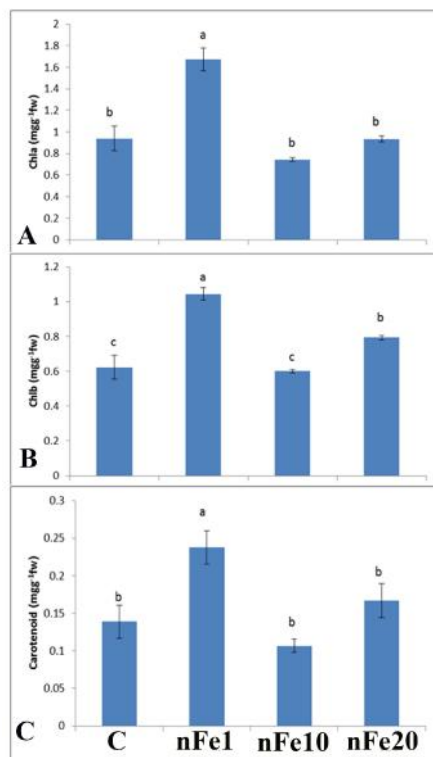
شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف نانو اکسید آهن بر رشد و مورفولوژی گیاه، **A.** شاهد. **B.** تیمار  $1 \text{ mg l}^{-1}$  نانو اکسید آهن. **C.** تیمار  $10 \text{ mg l}^{-1}$  نانو اکسید آهن. **D.** تیمار  $20 \text{ mg l}^{-1}$  نانو اکسید آهن.

**Fig. 1.** The effect of the different concentrations of FeO NP on plant morphology and growth; **A.** Control. **B.** FeO NPs of  $1 \text{ mg l}^{-1}$ . **C.** FeO NPs of  $10 \text{ mg l}^{-1}$ . **D.** FeO NPs of  $20 \text{ mg l}^{-1}$ .

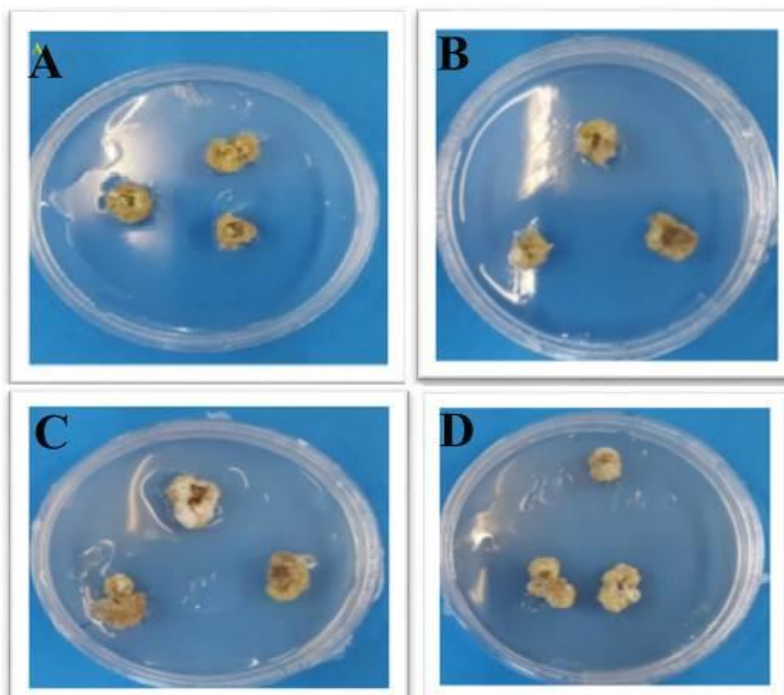


شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف نانو اکسید آهن بر صفات رشدی مختلف. **A.** وزن تر ریشه. **B.** وزن خشک کل برگ. **C.** وزن خشک ساقه. **D.** طول ساقه. **E.** ارتفاع کل گیاه. **F.** طول ریشه. گروه های تیماری: **C.** شاهد. **nFe1.** نانو اکسید آهن  $1 \text{ میلی گرم بر لیتر}$ . **nFe10.** نانو اکسید آهن  $10 \text{ میلی گرم بر لیتر}$ . **nFe20.** نانو اکسید آهن  $20 \text{ میلی گرم بر لیتر}$ .

**Fig. 2.** The effects of the different doses of FeO NPs on the various growth-related traits. **A.** root fresh mass. **B.** dry mass of total leaves. **C.** stem dry mass. **D.** stem length. **E.** plant total height. **F.** root length. Treatment groups: **C.** Control. **nFe1.** FeO NPs of  $1 \text{ mg l}^{-1}$ . **nFe10.** FeO NPs of  $10 \text{ mg l}^{-1}$ . **nFe20.** FeO NPs of  $20 \text{ mg l}^{-1}$ .

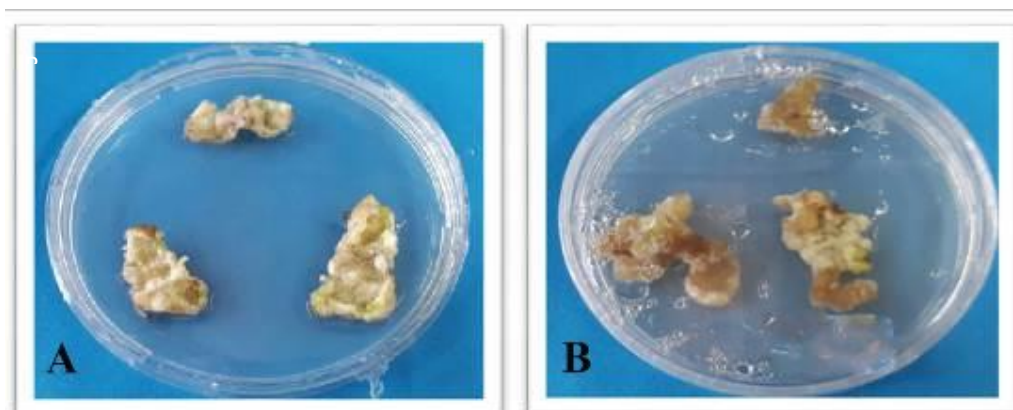


شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن بر روی میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی. **A.** کلروفیل *a*. **B.** کلروفیل *b*. **C.** کاروتنوئید. گروه‌های تیماری: **C.** شاهد. **nFe1** نانواکسید آهن ۱ میلی‌گرم بر لیتر. **nFe10** نانواکسید آهن ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر. **nFe20** نانواکسید آهن ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر. **Fig. 3.** The effects of the different doses of FeO NPs on photosynthetic pigments. **A.** Chla. **B.** Chlb. **C.** carotenoids. Treatment groups: **C.** Control. **nFe1.** FeO NPs of 1 mg l<sup>-1</sup>. **nFe10.** FeO NPs of 10 mg l<sup>-1</sup>. **nFe20.** FeO NPs of 20 mg l<sup>-1</sup>.



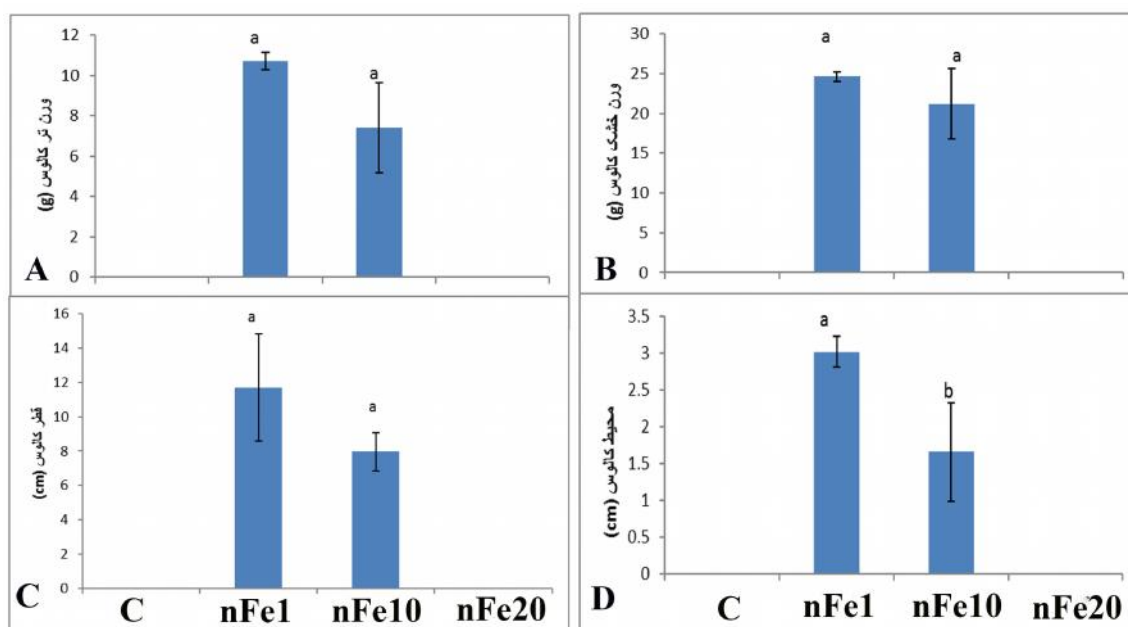
شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن بر کالزایی در غلظت ۰/۵ mg l<sup>-1</sup> + ۰/۵ mg l<sup>-1</sup> BAP. **A.** شاهد. **B.** نانواکسید آهن ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر. **C.** نانواکسید آهن ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر. **D.** نانواکسید آهن ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر.

**Fig. 4.** The effect of the different concentrations of FeO NPs on callogenesis under  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP+ $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  2,4D. **A.** Control. **B.** FeO NP of  $1 \text{ mg l}^{-1}$ . **C.** FeO NP of  $10 \text{ mg l}^{-1}$ . **D.** FeO NP of  $20 \text{ mg l}^{-1}$ .



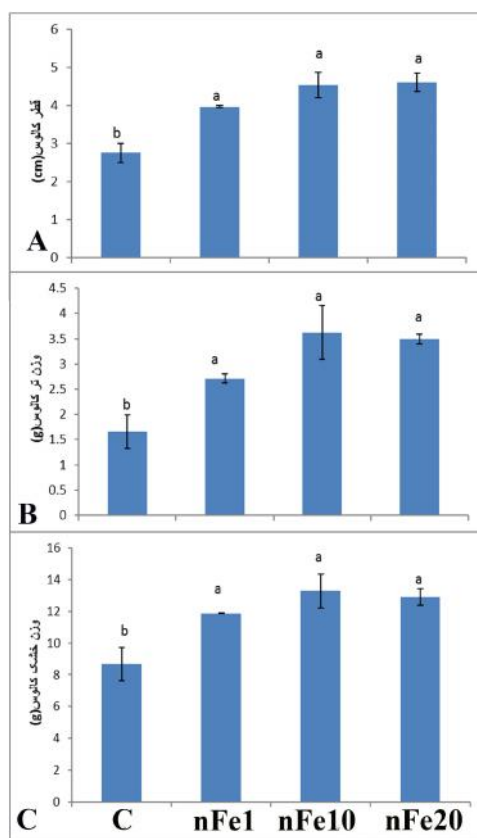
**شکل ۵-** اثر غلظت‌های مختلف نانو اکسید آهن بر کالزایی تحت  $1 \text{ mg l}^{-1}$  Kintin +  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  2,4-D. **A.** نانو اکسید آهن  $1 \text{ mg l}^{-1}$  بر لیتر. **B.** نانو اکسید آهن  $10 \text{ mg l}^{-1}$  بر لیتر.

**Fig. 5.** The effects of the different concentrations of FeO NPs on callogenesis under  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP+ $1 \text{ mg l}^{-1}$  Kin. **A.** FeO NP of  $1 \text{ mg l}^{-1}$ . **B.** FeO NP of  $10 \text{ mg l}^{-1}$ .



**شکل ۶-** اثر غلظت‌های مختلف نانو اکسید آهن بر صفات مختلف تیمارهای هورمونی  $1 \text{ mg l}^{-1}$  کایننتین +  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  2,4-D. **A.** وزن تر کالوس. **B.** وزن خشک کالوس. **C.** قطر کالوس. **D.** محیط کالوس. گروه های تیماری: **C.** شاهد. **nFe1.** نانو اکسید آهن  $1 \text{ mg l}^{-1}$  بر لیتر. **nFe10.** نانو اکسید آهن  $10 \text{ mg l}^{-1}$  بر لیتر. **nFe20.** نانو اکسید آهن  $20 \text{ mg l}^{-1}$  بر لیتر.

**Fig. 6.** The effects of different concentrations of FeO NPs on various traits under  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP+ $1 \text{ mg l}^{-1}$  Kin. **A.** callus fresh mass. **B.** Callus dry mass. **C.** callus diameter. **D.** callus area. Treatment groups: **C.** Control. **nFe1.** FeO NPs of  $1 \text{ mg l}^{-1}$ . **nFe10.** FeO NPs of  $10 \text{ mg l}^{-1}$ . **nFe20.** FeO NPs of  $20 \text{ mg l}^{-1}$ .



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن بر صفات مختلف تیمارهای هورمونی  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  2,4-D. **A.** قطر کالوس. **B.** وزن تر کالوس. **C.** وزن خشک کالوس. گروه های تیماری: **C.** شاهد. **nFe1** نانواکسید آهن ۱ میلی گرم بر لیتر. **nFe10** نانواکسید آهن ۱۰ میلی گرم بر لیتر. **nFe20** نانواکسید آهن ۲۰ میلی گرم بر لیتر.

**Fig. 7.** The effects of the different concentrations of FeO NPs on various traits under  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  2,4D +  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP. **A.** callus diameter. **B.** fresh mass. **C.** callus dry mass. Treatment groups: **C.** Control. **nFe1.** FeO NPs of  $1 \text{ mg l}^{-1}$ . **nFe10.** FeO NPs of  $10 \text{ mg l}^{-1}$ . **nFe20.** FeO NPs of  $20 \text{ mg l}^{-1}$ .

نتایج این تحقیق، به کارگیری نانو اکسید آهن باعث افزایش گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود که این ترکیبات مولکول‌های پیام رسان هستند و طول ریشه، رشد و نمو گیاه را تحریک می‌کنند (Rui et al., 2016). آزمایش دیگر نشان داد نانواکسید آهن بر رشد گیاه آرابیدوپسیس تالینا در کشت گلدانی تاثیر بازدارندگی دارد که با نتایج این تحقیق مغایرت دارد (Bombin et al., 2015). گزارش شده است که غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن موجب افزایش معنی‌دار غلظت کلروفیل *a* می‌شود و کود نانواکسید آهن نیز در افزایش میزان کلروفیل *b* موثرتر از کلات آهن عمل می‌نماید (Peyvandi et al., 2011). کلات آهن، موجب کاهش و نانوکود کلات آهن موجب افزایش میزان کلروفیل‌های *a* و *b* می‌شود (Peyvandi et al., 2011). نتایج تحقیق ما نیز نشان داد که به کارگیری نانواکسید آهن باعث افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌های *a* و *b*) و کارتنوئید می‌شود. آهن جزء گروه کاتالیزوری بسیاری از

## بحث

به کارگیری غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن در محیط کشت MS موجب تغییر در نرخ رشد و فیزیولوژی گیاه شد. بررسی اثر بکارگیری غلظت‌های مختلف نانو اکسید آهن بر بیومس نشان داد که هر سه غلظت بکارگرفته شده موجب افزایش رشد و بیومس در اندام هوایی و ریشه شده است. بکارگیری نانواکسید آهن موجب افزایش ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک ریشه، ساقه و برگ شد. این اولین گزارش بر پایه دانش ما درباره اثرات بکارگیری نانو آهن در شرایط درون شیشه‌ای است. نتایج این تحقیق نشان داد که بکارگیری نانواکسید آهن در محیط کشت بر نرخ رشد دانه رست‌ها موثر است. همچنین رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز تا حدی تحت تاثیر نانو اکسید آهن قرار گرفتند. در گیاهان، آهن در فتوسنتز، تنفس، بیوسنتز فیتوهورمون‌ها و کلروفیل‌ها و انتقال الکترون در واکنش‌های احیا شرکت می‌کند (Sánchez-Alcalá et al., 2014). همسو با

## REFERENCES

- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24: 1-15.
- Asgari-Targhi, G., Iranbakhsh, A. & Ardebili, Z.O. 2018. Potential benefits and phytotoxicity of bulk and nano-chitosan on the growth, morphogenesis, physiology, and micropropagation of *Capsicum annum*. Plant Physiol. Biochem. 127: 393-402.
- Barberon, M., Zelazny, E., Robert, S., Conéjéro, G., Curie, C., Friml, J. & Vert, G. 2011. Monoubiquitin-dependent endocytosis of the iron-regulated transporter 1 (IRT1) transporter controls iron uptake in plants. Proc. Natl. Acad. Sci. 108: 450-E458.
- Balakrishnan, K., 2000. Peroxidase activity as an indicator of the iron deficiency in banana. Indian J. Plant Physiol. 5: 389-391.
- Bombin, S., LeFebvre, M., Sherwood, J., Xu, Y., Bao, Y. & Ramonell, K. 2015. Developmental and reproductive effects of iron oxide nanoparticles in *Arabidopsis thaliana*. Int. J. Mol. Sci. 16: 24174-24193.
- Dhoke, S.K., Mahajan, P., Kamble, R. & Khanna, A. 2013. Effect of nanoparticles suspension on the growth of mung (*Vigna radiata*) seedlings by foliar spray method. Nanotechnol. Dev. 3:1-23.
- Ghassemzhad, M., Sherafati, M. & Payvast, GA. 2011. Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. J. Func. Food 1: 44-9.
- Hussain, S., Jain, A. & Kothari, S.L. 1999. Phenylacetic acid improves bud elongation and in vitro plant regeneration efficiency in *Capsicum annum* L. Plant Cell Rep. 19: 64-68.
- Jeyasubramanian, K., Thoppey, U.U.G., Hikku, G.S., Selvakumar, N., Subramania, A. & Krishnamoorthy, K. 2016. Enhancement in growth rate and productivity of spinach grown in hydroponics with iron oxide nanoparticles. Rsc. Adv. 6: 15451-15459.
- Lombardi, L., Sebastiani, L. & Vitagliano, C. 2003. Physiological, biochemical, and molecular effects of in vitro induced iron deficiency in peach rootstock Mr. S 2/5. J. Plant Nutr. 26: 2149-2163.
- Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15: 473-497.
- Peyvandi, M., Parande, H. & Mirza, M. 2011. Comparison of nano Chelate Fe with Chelate Fe; effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Basilicum Ocimum*. New Cell Mol. Biotech. 1: 89-99.
- Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M.F., Ok, Y.S., Adrees, M., Ibrahim, M., Zia-ur-Rehman, M., Farid, M. & Abbas, F. 2017. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: a critical review. J. Hazard. Mat. 322: 2-16.
- Rui, M., Ma, C., Hao, Y., Guo, J., Rui, Y., Tang, X., Zhao, Q., Fan, X., Zhang, Z., Hou, T. & Zhu, S. 2016. Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (*Arachis hypogaea*). Front. Plant Sci. 7: 815.
- آنزیم‌های اکسیداسیون و احیا است و برای سنتز کلروفیل ضروری است (Taiz & Zeiger, 2006). تحقیقات کمی در زمینه بکارگیری نانوذرات در محیط کشت در شرایط درون شیشه‌ای وجود دارد و نیاز به انجام تحقیقات بیش‌تر است تا مکانیسم‌های مربوط شناسایی شود.
- نتایج نشان داد که تیمارهای هورمونی ۰/۵ میکرومولار ۴،۲- دیکلوفونوکسی استیک اسید (2,4-D) و ۰/۵ میکرومولار BAP به همراه غلظت‌های مختلف نانو اکسید آهن اثر مثبتی بر زنده‌مانی کالوس دارد. اما تیمارهای هورمونی ۰/۵ میکرومولار ۴،۲- دیکلوفونوکسی استیک اسید و ۰/۱ میکرومولار کینتین به همراه غلظت‌های مختلف نانو اکسید آهن اثری مثبت بر زنده‌مانی کالوس نشان نداد. محققینی گزارش نموده‌اند که به کارگیری نانو اکسید آهن در غلظت‌های مختلف دارای اثر مثبت روی زنده‌مانی و اندازه کالوس است و کاربرد نانو اکسید آهن با غلظت ۷۵ mg l<sup>-1</sup> بیش‌ترین تاثیر را بر فرایند کالزایی و زنده‌مانی کالوس دارد (Sharafi et al., 2013). به هر حال، غلظت ۱۰۰ mg l<sup>-1</sup> نانو اکسید آهن دارای کم‌ترین تاثیر بر فرایند کالزایی و زنده‌مانی کالوس در گل راعی بود. اما نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار هورمونی ۰/۵ میکرومولار ۲،۴ D و ۰/۵ میکرومولار BAP به همراه غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg l<sup>-1</sup> نانو اکسید آهن اثری مثبت بر کالزایی و زنده‌مانی کالوس دارد. با بررسی اثر هورمون‌های مختلف در باززایی گیاه فلفل، بهترین ترکیب هورمونی برای باززایی غیرمستقیم مشخص شد، بنابراین با بهینه‌سازی تولید کالوس از ریزنمونه‌های فلفل، می‌توان از آن در جهت برنامه‌هایی مانند انتقال ژن و کشت پروتوپلاست استفاده کرد. استفاده از تکنیک‌های مختلف کشت بافت جهت تکثیر فلفل می‌تواند گامی مهم در جهت تولید گیاهانی با کیفیت بالا و عاری از عوامل بیماری‌زا باشد. باتوجه به مسائل زیست محیطی و رشد سریع نانوتکنولوژی، بدیهی است که شناخت اثر نانوذرات بر گیاهان به عنوان بخش مهمی از زنجیره غذایی اهمیت فراوان دارد. لذا نتایج این تحقیق می‌تواند برای ارتقا دانش در زمینه نانوتکنولوژی اثربخش باشد.

## سپاسگزاری

این تحقیق تحت حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شده است. مولفین از کارشناسان محترم مجتمع آزمایشگاهی رازی سپاسگزارند.

**Phillips, G.C. & Garda, M.** 2019. Plant tissue culture media and practices : an overview. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 55: 242-257.

**Sánchez-Alcalá, I., del Campillo, M. D., Barrón, V. & Torrent, J.** 2014. Evaluation of preflooding effects on iron extractability and phytoavailability in highly calcareous soil in containers. Plant Nutr. Soil Sci. 177: 150-158.

**Sharafi, A., Hasanloo, T., Khayam, S., Fotokian, M. & Davoodi, D.** 2013. Effects of applications of zinc oxide and iron. Oxide nanoparticles on callogenesis in *Hypericum perforatum*. Agric. Nat. Resources Engin. Sys. 43: 26-30.

**Taiz, L. & Zeiger, E.** 2006. Plant Physiology. Sinauer Associates, Los Angeles, pp: 68-87.

\*\*\*\*\*

#### How to cite this article:

**Iranbakhsh, A. & Gaderi, S.A.** 2020. The effect of nano-iron oxide on growth, physiology, and callogenesis in pepper in vitro. Nova Biologica Reperta 7: 220-227. (In Persian)

ایرانبخش، ع. و قادری، س.ع. ۱۳۹۹. اثر نانو اکسید آهن بر رشد، فیزیولوژی و کالزایی فلفل در شیشه. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۲۲۷-۲۲۰.