فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۲، شماره ۵۷، آذر و دی‌ماه ۱۴۰۲ صفحه: ۳۲۱-۳۳۵
https://doi.org/10.22034/12.57.321

مقاله پژوهشی

اثرات گرافن اکسید حاوی نانو ذرات سیلیسیوم دی‌اکسید بر روی برخی از متابولیت‌های ثانویه گیاه انجدان از طریق کشت کالوس

ریحانه صفری[۱]، پوراندخت گلکار[۱*] و مهدی بازرگانی‌پور[۲]
[۱] گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران
[۲] پژوهشکده نانو فناوری و مواد پیشرفته، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۳/۳۰)

چکیده
با توجه به اهمیت روزافزون گیاهان دارویی، تولید متابولیت‌های ثانویه دارویی از طریق کشت کالوس و استفاده از الیسیتورها از نظر زمانی و اقتصادی به صرفه است. این مطالعه به منظور بهینه‌سازی تولید کالوس درگیاه مرتعی – دارویی انجدان رومی (*Levisticum officinale* Koch.) و همچنین تأثیر الیسیتور نانوذره گرافن اکسید حاوی سیلیسیم دی‌اکسید (GO- SiO_2) بر میزان متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنتی-اکسیدانی در شرایط درون شیشه‌ای انجام گرفت. ریزنمونه‌های هیپوکوتیل جهت القای کالوس به محیط‌کشت موراشیگ و اسکوگ (MS تغییریافته) حاوی تنظیم‌کننده‌های رشدی مختلف منتقل شدند. ترکیب رشدی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر توفوردی (2,4-D) + ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید (NAA) + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کاینتین (Kin) در محیط‌کشت موراشیگ و اسکوگ بهترین درصد تولید کالوس (۹۵٪) را نشان داد. جهت بررسی تأثیر الیسیتور بر روی میزان متابولیت‌های ثانویه در کالوس، غلظت‌های مختلف GO- SiO_2 (صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان الیسیتور انتخاب شدند. نانو ذره انتخاب شده اثرات مثبت و تنظیم‌کننده‌ای بر میزان متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در کالوس ایجاد نمود. بالاترین میزان محتوای کل فنل (۴۷/۲۶ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن تر)، محتوای کل فلاونوئید (۲۸/۰۶ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی FRAP (۰/۰۹۶ میکرومول در گرم وزن عصاره)، در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر GO- SiO_2 و بیشترین میزان محتوای فلاونول (۸/۱۸ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر)، پراکسید هیدروژن H_2O_2 (۵/۰۹ میکرومول در گرم وزن تر) و محتوای کل آنتوسیانین (۰/۰۷ میکرومول در گرم وزن تر) در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر GO- SiO_2 مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت کاروتنوئید (۲۸/۱۱ میکروگرم در گرم وزن تر) و کلروفیل (۲۳/۵۸ میکروگرم در گرم وزن تر) در تیمار GO- SiO_2 با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. مطابق با نتایج حاصل از این مطالعه، اعمال نانو ذره گرافن اکسید با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند در تولید حداکثری ترکیبات کل فنولیک و فلاونوئیدی و همچنین افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق کشت کالوس در گیاه ارزشمند انجدان مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، الیسیتور، فلاونوئید، محتوای کل فنل

مقدمه

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: poorangolkar@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

انجدان رومی (*Levisticum officinale* Koch.) گیاهی بوته‌ای و چندساله از تیره چتریان (Apiaceae) محسوب می‌شود (Amiri and Joharchi, 2016). این گیاه با نام عمومی Lovage، از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی و ادویه‌ای به‌شمار می‌رود که دارای متابولیت‌های ثانویه ارزشمند دارویی است. از اسانس ریشه این گیاه در صنایع نوشابه‌سازی و غذایی به‌عنوان طعم‌دهنده استفاده می‌شود (خطیب‌زاده و همکاران، ۱۳۹۰). پراکنش انجدان رومی در ایران، افغانستان، اروپا، نواحی مدیترانه‌ای و آمریکای شمالی مشاهده شده است. از مناطق منحصر به فرد رویش این گیاه به صورت خودرو ایران و افغانستان است (خداشناس و همکاران، ۱۳۹۹). این گیاه، گونه بسیار مهم و در عین حال، فراموش شده‌ای از گیاهان دارویی بومی ایران محسوب می‌شود که در مناطق جغرافیایی اندکی از کشور از جمله جنوب شرق ایران (در مناطقی از کوه‌های هزار استان کرمان) رویش دارد (خطیب‌زاده و همکاران، ۱۳۹۰). از دم‌کرده ریشه به‌عنوان ماده‌ای مدر و درمان سوء هاضمه و نفخ و معالجه سنگ کلیه استفاده می‌شود. حدود ۷۰ درصد از مواد تشکیل‌دهنده اسانس گیاه را فتالیدها، ترپنوئیدها، اوژنول و کارواکرول تشکیل می‌دهند (Hogg *et al*., 2001).

متابولیت‌های ثانویه را می‌توان به‌عنوان گروهی از ترکیبات تعریف کرد که در فرآیندهای اولیه حیات گیاه نقش قابل توجهی ندارند، بلکه در سازگاری آن با محیط نقش ایفاء می‌کنند (Oksman-Caldentey and Inze, 2004). ترکیات مختلف فنولیکی (از جمله فلاونوئیدها، فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها) از جمله متابولیت‌های ثانویه مهم در گیاهان دارویی هستند که نقش بسیار مهمی در پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان در مقابله با تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده دارند. سرعت و قابلیت تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی در شرایط طبیعی بسیار محدود است. با توجه به وجود این مشکلات برای تولید گیاهان دارویی و متابولیت‌های ثانویه، افزایش رو به رشد جمعیت، محدودیت منابع آب و زمین زراعی برای تولید، صرفه اقتصادی، افزایش تقاضا برای این ترکیبات و نیاز بشر به داروهای مؤثر طبیعی و فاقد اثرات جانبی، ضروری به نظر می‌رسد که برای تولید سریع و انبوه متابولیت‌های ثانویه و مواد دارویی، در جهت افزایش کمی و کیفی این ترکیبات از فنون کشت بافت گیاهی به طور بهینه استفاده گردد (Zhou and Wu, 2006). کشت کالوس این موقعیت را فراهم می‌کند که تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی در شرایط کنترل شده و در زمان کوتاه‌تری انجام شود.

استفاده از الیسیتورهای زنده و غیرزنده یکی از مهمترین روش‌ها برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در شرایط کشت کالوس است (Zhao *et al*., 2005). الیسیتورها ازطریق القای پاسخ‌های دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Zhao *et al*., 2005). نانو ذرات با اندازه و ابعاد بسیار کوچک (۱ تا ۱۰۰ نانومتر) دارای خواص ارزشمندی از جمله نفوذ سریع‌تر و راحت‌تر به درون غشای سلولی و قابلیت تغییر خصوصییات شیمیائی سلول هستند (Biswas and Wu, 2005). نانوذرات خصوصیات فیزیکی شیمیایی مواد را تغییر می‌دهند و فرصتی برای تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه گیاهی از طریق فعال‌سازی مسیرهای دفاعی در گیاه فراهم می‌کنند (Marslin *et al*., 2017; Hatami *et al*., 2018). امروزه استفاده از نانوذرات به‌عنوان الیسیتورهای غیرزیستی در بسیاری از مطالعات کشت‌بافت انجام گرفته است (Hatami *et al*., 2018). به‌طور مثال در مطالعه Mandeh و همکاران (۲۰۱۲) اثرات ضدباکتریایی نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش اندازه کالوس و هم‌چنین بهبود قدرت جنین‌زایی در جنین‌های بالغ جو گردید. در مطالعه تأثیر نانوذرات بر رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در کالوس گونه‌های مختلف آویشن، بیشترین سرعت رشد کالوس و وزن تر کالوس در غلظت ۸ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره نقره و بیشترین غلظت تیمول (۱۶/۲۷ میلی‌گرم در لیتر) و کارواکرول (۲/۰۱۲ میلی‌گرم در لیتر) در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی در شرایط کشت کالوس مشاهده شد (Mosavat *et al*., 2019). همچنین در کشت کالوس گیاه *Stevia rebaudiana*، افزایش برخی پارامترها از جمله محتوای فنل کل، محتوای فلاونوئید و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

آنتی‌اکسیدان کل در پاسخ به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی مشاهده شد (Javed *et al*., 2018).

در سال‌های اخیر از نانوذرات بر پایه گرافن به‌عنوان یک الیسیتور غیرزیستی ارزشمند در تحریک رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه دارویی در گیاهان استفاده شده است. گرافن یک لایه گرافیت و شامل یک صفحه تک لایه‌ای از اتم‌های کربن است که با شبکه‌هایی کریستالی و به‌صورت شش ضلعی در کنار هم قرار گرفته است (Ray, 2015). به‌عبارت دیگر، گرافن به‌عنوان یک ماده جدید دو بعدی، به‌دلیل خصوصیات ویژه چون سطح مقطع بالا، پتانسیل بسیار خوبی در رابطه با افزایش عملکرد گیاه در مقابله با تنش‌های زیستی از خود نشان داده است (Ghorbanpour *et al*., 2018). تأثیر مثبت نانوذرات گرافن اکسید (GO) بر بهبود خاصیت جوانه‌زنی در گیاهان (Khodakovskaya *et al*., 2009; He *et al*., 2017) گزارش شده است. نانوذرات گرافن به‌دلیل اندازه ریز و قدرت بالای نفوذ به درون بافت‌های گیاهی، اثرات مثبت و منفی بر متابولیت‌های اولیه و ثانویه گیاه دارند. البته شدت اثرات به غلظت ماده مصرفی و گونه گیاه در معرض تیمار بستگی دارد (Hatami *et al*., 2018). در سال‌های اخیر مطالعاتی در زمینه اثر الیسیتور نانوذرات گرافن بر روی پاسخ‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در کشت کالوس گیاهان دارویی از جمله بارهنگ (Ghorbanpour *et al*., 2018) و شاهی (Golkar *et al*., 2021) انجام شده است.

عنصر سیلیسیم (Si) به‌عنوان دومین عنصر فراوان در پوسته زمین یکی از عناصر فلزی مهم در افزایش تولید و کیفیت محصولات گیاهی محسوب می‌شود و نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی دارد (Bhat *et al*., 2021). عنصر سیلیسیم منجر به افزایش تولید رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش فتوسنتز در گیاه و بهبود رشد در گیاهان می‌شود (Epstein, 2009). در بخش کشاورزی استفاده از نانو ذرات سیلیسیم (Si-NPs) به‌عنوان یک سلاح در افزایش جوانه-زنی و همین‌طور افزایش تحمل در مقابل سمیت فلزات سنگین و تنش‌های غیرزنده استفاده می‌شود. همچنین، Si-NPها پتانسیل بهبود محصولات کشاورزی را برای کشاورزی پایدار دارند (Bhat *et al*., 2021; Rastogi *et al*., 2019). در مطالعه Hassanpour و همکاران (۲۰۲۰)، استفاده از نانوذرات SiO_2 منجر به افزایش معنی‌دار محتوای کل فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه *Anthemis gilanica* شد. بررسی منابع نشان می‌دهد که تاکنون هیچ مطالعه‌ای در خصوص تولید متابولیت‌های ثانویه از طریق کشت کالوس در این گیاه ارزشمند دارویی و بومی کشور ایران صورت نگرفته است. این تحقیق به‌منظور بهینه‌سازی تولید کالوس در گیاه انجدان رومی و بررسی تأثیر اثرات نانوذرات اکسید گرافن حاوی سیلیسیوم دی‌اکسید بر روی متابولیت‌های ثانویه در کشت کالوس مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بهینه‌سازی القای کالوس: به‌منظور بهینه‌سازی جوانه‌زنی و از بین بردن خواب بذر، بذور انجدان رومی (متعلق به منطقه هزار کرمان) به‌مدت ۱۰ روز در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. ضد عفونی کردن بذور با هیپوکلریت سدیم (۲٪) به‌مدت ۱۵ دقیقه و ۳ بار آبشویی با آب‌مقطر دو بار استریل صورت گرفت (خطیب‌زاده و همکاران، ۱۳۹۰). جوانه‌زنی بذور بر روی محیط‌کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) (دوخفا، هلند) حاوی ۱۰ میلی‌گرم/ لیتر جیبرلیک اسید انجام گرفت. از ریز نمونه‌های هیپوکوتیلی (۲-۳ میلی‌متر) جهت القای کالوس استفاده شد. به‌منظور بهینه‌سازی تولید کالوس بر روی محیط کشت تغییریافته MS (جدول ۱) (MMS) از غلظت‌های مختلف از تنظیم‌کننده‌های رشدی اکسین و سیتوکنین استفاده شد (جدول ۲) (خطیب‌زاده و همکاران، ۱۳۹۱). نسبت آمونیوم به نیترات در محیط‌کشت MMS کمتر است. همچنین ۱۰۰ برابر بودن غلظت تیامین و دو برابر بودن غلظت پیریدوکسین و نیکوتینیک اسید، استفاده از ساکارز ۴ درصد به جای ساکارز ۳ درصد، و غلظت بیشتر از یون‌های فسفات، آهن و پتاسیم از ویژگی‌های محیط‌کشت تغییریافته (MMS) نسبت به محیط کشت معمولی(MS) جهت تولید کالوس در انجدان رومی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

جدول ۱- غلظت ترکیبات مورد نیاز برای تهیه یک لیتر محیط کشت موراشیگ و اسکوگ بهینه (MMS)

محلول‌های ذخیره ماکرو		محلول‌های ذخیره میکرو		ویتامین¬ها و اسیدآمینه	
مواد شیمیایی	غلظت (میلی‌گرم در لیتر)	مواد شیمیایی	غلظت (میلی‌گرم در لیتر)	مواد شیمیایی	غلظت (میلی‌گرم در لیتر)
KNO_3	۲۵۰۰	KI	۰/۷۵	Myoinositol	۱۰۰
NH_4NO_3	۶۲۰	H_3BO_3	۶/۲	Nicotinic acid	۰/۵
$CaCl_2.2H_2O$	۴۴۰	$MnSO_4.4H_2O_2$	۰	Pyridoxine HCl	۰/۵
$MgSO_4.7H_2O$	۳۷۰	$MnSO_4.H_2O$	۱۰	Thiamine HCl	۰/۱
$Na_2EDTA.2H_2O$	۴۴/۶	$ZnSO_4.7H_2O$	۸/۶	Glycine	۲
$FeSO_4.7H_2O$	۳۵/۰۳	$Na_2MoO_4.2H_2O$	۰/۲۵		
KH_2PO4	۴۰۰	$CuSO_4.5H_2O$	۰/۰۲۵		

جدول ۲- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف هورمونی برای بهینه‌سازی تولید کالوس در انجدان رومی

شماره تیمار	محیط‌کشت	ترکیبات مختلف تنظیم‌کننده رشدی	القای کالوس (٪)
۱	MS تغییریافته	۰/۵ میلی‌گرم/ لیتر Kin + ۰/۰۲۵ میلی‌گرم/ لیتر NAA + ۱/۵ میلی‌گرم/ لیتر 2,4-D	۹۵ ^{a}± ۲/۸۸
۲	MS تغییریافته	۱ میلی‌گرم/ لیتر 2,4-D	۴۹/۵^{b} ± ۳/۳
۳	MS تغییریافته	۲ میلی‌گرم/ لیتر BAP+ ۱ میلی‌گرم/ لیتر 2,4-D	۱۳/۷۵^{c} ±۲/۴
۴	MS تغییریافته	۰/۵ میلی‌گرم/ لیتر BAP + ۲ میلی‌گرم/ لیتر 2,4-D + ۰/۵ میلی‌گرم/ لیتر NAA	۰^{d}
۵	MS تغییریافته	۰/۵ میلی‌گرم/ لیتر BAP + ۰/۵ میلی‌گرم/ لیتر Kin + ۰/۵ میلی‌گرم/ لیتر NAA	۰^{e}

در ستون وجود حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است.

بود. به منظور القای کالوس، ریز نمونه‌های هیپوکوتیلی در داخل اتاقک رشد با ۲°C ±۲۴ دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند.

القای الیسیتور: پس از گذشت حدود ۴۵ روز از القای کالوس، به‌منظور بررسی تأثیر نانوذرات گرافن اکسید حاوی سیلیسیم دی‌اکسید ($GO\text{-}SiO_2$)، از استوک اصلی محلول نانو ذره (تهیه‌شده توسط پژوهشکده نانو فناوری و مواد پیشرفته، دانشگاه صنعتی اصفهان) غلظت‌های مختلف (صفر، ۵، ۱۵، ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان الیسیتور مورد استفاده قرار گرفت. تهیه نانوذره SiO_2 مطابق با روش Gholami و همکاران (۲۰۱۳) صورت گرفت. غلظت‌های مختلف نانوذره به محیط کشت MMS همراه با بهترین محیط از نظر تنظیم‌کننده‌های رشدی که در مرحله بهینه‌سازی تولید کالوس مشخص شده بود، منتقل شد. این محیط رشدی شامل ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون توفوردی (2,4-D) و ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون نفتالین استیک اسید (NAA) و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون کاینیتین (Kin) بود (خطیب‌زاده و همکاران، ۱۳۹۰). پس از اتوکلاو نمودن محیط‌کشت، از هر غلظت نانوذره سه تکرار (پنج کالوس در هر پتری) به‌منظور اندازه‌گیری صفات مختلف بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی، تهیه عصاره متانولی: ابتدا ۰/۲ گرم بافت تازه کالوس را با ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی در هاون چینی ساییده و در فالکون ریخته شد. پس از آن به‌مدت ۲۵ دقیقه و با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد و محلول رویی برای

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

سایر اندازه‌گیری‌ها مورد استفاده قرار گرفت (Golkar and Taghizadeh, 2018).

محتوای کل فنل: برای اندازه‌گیری محتوای کل، ۲۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی با ۲/۵ میلی‌لیتر محلول فولین - سیوکالتو (۱۰ درصد) مخلوط شد و پس از گذشت ۵ دقیقه ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن اضافه شد و به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق به حالت استراحت قرار گرفت و پس از آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. میزان محتوای کل فنل و براساس میزان معادل میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره گزارش شد (Singleton *et al.*, 1999).

محتوای کل فلاونوئید: بعد از استخراج عصاره متانولی، میزان ۱۰۰ میکرولیتر عصاره را همراه ۵۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد همراه ۵۰ میکرولیتر پتاسیم استات ۱ مولار به اضافه ۷۵۰ میکرولیتر متانول ۸۰ درصد و ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر در فالکون جدید مخلوط کرده و پس از قرارگیری به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار فلاونوئید از منحنی استاندارد کوئرستین (میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر) استفاده شد (Chang *et al.*, 2002).

محتوای کل فلاونول: پس از استخراج عصاره متانولی، ۵۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۲ درصد را همراه ۲۵۰ میکرولیتر عصاره به اضافه ۲۵۰ میکرولیتر متانول و ۱/۵ میلی-لیتر سدیم استات ۵ درصد در فالکون جدید ریخته و مخلوط گردید. پس از گذشت ۲/۵ ساعت در دمای اتاق جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۴۰ نانومتر خوانده شد. مقدار فلاونول کل براساس منحنی کوئرستین محاسبه گردید (Chang *et al.*, 2002).

محتوای کل آنتوسیانین: برای سنجش آنتوسیانین، ابتدا عصاره متانولی استخراج شد و سپس میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد و غلظت آنتوسیانین براساس میکرومول در گرم وزن تر گزارش شد (Hara *et al.*, 2003).

محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید: ابتدا ۰/۵۰ گرم از بافت تازه کالوس را به همراه ۳ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس عصاره استونی شفاف رویی را جدا کرده و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b خوانده شد و غلظت نهایی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه و مطابق با فرمول‌های زیر تعیین شد (Arnon, 1967).

$$\text{Chl a (mg/g FW)} = [12/7\ (A_{663}) - 2/69\ (A_{645})] \times V/W$$
$$\text{Chl b (mg/g FW)} = [22/9\ (A_{645}) - 4/68\ (A_{663})] \times V/W$$
$$\text{Chl total (mg/g FW)} = [20/2\ (A_{645}) + 8/02\ (A_{663})] \times V/W$$

در این فرمول‌ها،A: جذب نور در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر،V: حجم محلول صاف‌شده (عصاره رویی حاصل از سانتریفیوژ)،W: وزن تر نمونه برحسب گرم بود.

به‌منظور اندازه‌گیری محتوای کل کاروتنوئید، ابتدا ۰/۵۰ گرم بافت تازه کالوس را به‌همراه ۳ میلی لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده و در فالکون ریخته و به‌مدت ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس عصاره استونی رویی را که شفاف است، جدا گرده و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و غلظت برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر نمونه محاسبه و تعیین شد (Arnon, 1967).

هیدروژن پراکسید (H_2O_2): به‌منظور اندازه‌گیری H_2O_2، ابتدا ۰/۱۰ گرم بافت تازه کالوس را در ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج شامل تری کلرواستیک اسید ۱ درصد به‌مدت ۲ دقیقه در هاون چینی ساییده و عصاره را در فالکون ریخته و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از محلول رویی را همراه ۵۰۰ میکرولیتر پتاسیم یدید ۱ مولار و ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با pH برابر با ۷ مخلوط کرده و سپس جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر خوانده گردید (Velikova *et al.*, 2000).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش احیاکنندگی آهن (روش FRAP)، ابتدا ۰/۱ گرم بافت تازه کالوس را همراه ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

سدیم با pH برابر با ۶/۶ و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فریک سیانید یک درصد مخلوط کرده به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به فالکون‌ها اضافه شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۶۵۰ سانتریفیوژ گردید. پس از آن ۲/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی در لوله‌ها را با ۲/۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ۰/۲۰ میلی‌لیتر فریک کلراید ۰/۱ درصد مخلوط شد و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد (Benzie and Strain, 1996).

به‌منظور بهینه‌سازی تولید کالوس و ارزیابی اثرات الیسیتور بر صفات رشدی و متابولیت‌های ثانویه از طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده و مقایسه آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (ver. 9.3.1) انجام شد. به منظور رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل (Excel) استفاده شد.

نتایج و بحث

بهینه‌سازی القای کالوس: نتایج آزمایش القای کالوس در گیاه انجدان رومی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین ترکیب‌های مختلف رشدی از نظر صفت درصد کالوس‌زایی بود (جدول ۲). در این مطالعه، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin+ ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA + ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر توفوردی، بیشترین درصد کالوس زایی (۹۵٪) و تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر BAP + ۱ میلی‌گرم بر لیتر توفوردی دارای کمترین میزان کالوس‌زایی (۱۳/۷۵ درصد) بود (جدول ۲). در این مطالعه، اثرات ترکیبی اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها از عوامل اساسی برای تحریک تقسیم سلولی و القای کالوس در گیاه انجدان بودند. علت اینکه هیپوکوتیل از نظر کالوس‌زایی دارای عملکرد بهتری است، می‌تواند ناشی از ماهیت سلولی همگن و در دسترس بودن آسان مواد رشدی به هر سلول از بافت‌های همگن هیپوکوتیل باشد. بررسی منابع نشان می‌دهد که مطالعات اندکی در مورد بهینه‌سازی تولید کالوس در گیاه انجدان رومی صورت گرفته است (خطیب‌زاده و همکاران، ۱۳۹۰). نتایج مطالعات Khodashenas و همکاران (۲۰۱۵) نشان می‌دهد که استفاده از ریز نمونه‌های برگی در محیط‌کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید، بیشترین میزان تولید کالوس و اندام‌های پروتوکورمی در انجدان رومی ایجاد نمود. در مطالعه Park و همکاران (۲۰۱۰)، مؤثرترین اندام جهت باززایی گیاه از کشت کالوس، از ریز نمونه‌های برگ و ساقه در محیط توفوردی با غلظت ۱ میلی‌گرم/ لیتر در گیاه انجدان رومی بوده است.

تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذره $GO\text{-}SiO_2$ بر صفات مختلف در کشت کالوس انجدان رومی، رنگ و بافت کالوس: پس از گذشت چهار هفته که کالوس‌ها تحت تأثیر الیسیتور بودند مشاهده شد که با افزایش غلظت الیسیتور، رنگ کالوس متمایل به قهوه‌ای شده و حالت نکروزه‌ای شدن بافت در غلظت بالای نانو ذره مشاهده شد. بافت کالوس از حالت نرم و آبدار به سمت سفت‌تر و خشک‌تر شدن تغییر یافت. به‌عبارت دیگر، غلظت‌های بالای نانوذره (۲۰ میلی‌گرم/ لیتر) دارای اثرات بازدارندگی رشد و تا حدی خاصیت سمی بود.

صفات بیوشیمیایی کالوس: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوذره منجر به بروز تفاوت معنی‌دار بین همه صفات اندازه‌گیری‌شده شد (جدول ۳) و این اختلافات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند.

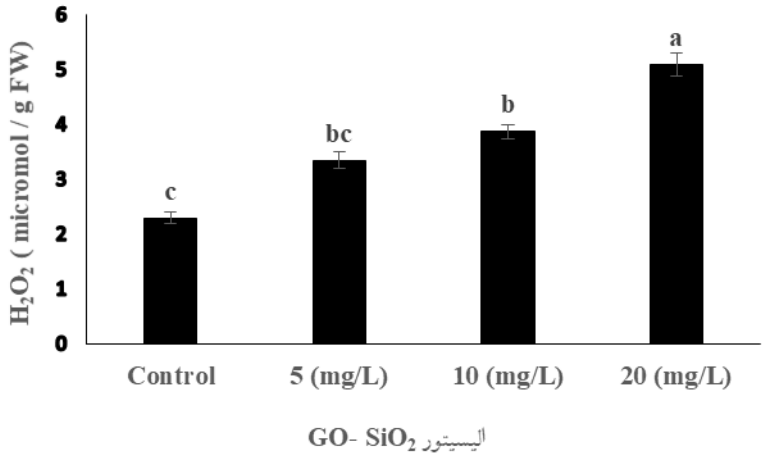
پراکسید هیدروژن: در شرایط تنش‌های محیطی در گیاه، پراکسید هیدرژن نقش پیام‌رسانی دارد و باعث القای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Kuzniak and Urbanek, 2000). به همین جهت اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن در شرایط تنش سلولی به‌عنوان یک عامل مهم در تشخیص میزان شدت تنش وارد شده به سلول گیاهی است. نتایج این مطالعه بیانگر افزایش معنی‌دار در میزان پراکسید هیدرژن تحت تأثیر اعمال الیسیتور $GO\text{-}SiO_2$ بود به طوری‌که روند صعودی در افزایش میزان H_2O_2 همراه با افزایش غلظت نانوذره مشاهده شد (شکل ۱). میزان H_2O_2 در محدوده ۲/۲۹ میکرومول درگرم وزن تر در تیمار شاهد تا ۵/۰۹ میکرومول درگرم وزن تر در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره تغییر نشان داد (شکل ۱). افزایش معنی‌دار در میزان پراکسید هیدرژن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری‌شده در کالوس انجدان رومی تحت تأثیر الیسیتور $GO\text{-}SiO_2$

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		پراکسید هیدروژن	محتوای کل فنل	محتوای کل فلاونوئید	محتوای کل فلاونول	محتوای کل آنتوسیانین	محتوای کل کلروفیل	محتوای کل کاروتنوئید	فعالیت آنتی اکسیدانی
تیمار	۳	۴/۰۷**	۳۶/۶۰**	۲۸۳/۵۷**	۲۲/۳۲**	۰/۰۰۰۰۲**	۳۲/۶۵**	۱۹۸/۴۷**	۰/۰۰۵**
خطای آزمایش	۸	۰/۰۷۷	۲/۸۳	۲/۰۲	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰۰۰۰۰۴	۰/۲۷	۱/۰۹	۰/۰۰۰۰۰۶
ضریب تغییرات (٪)		۷/۶۳	۳/۵۴	۹/۲۸	۲/۱۵	۲۰/۷۶	۲/۶۳		۴/۶۸

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد



شکل ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذره GO-SiO2 بر محتوای پر اکسید هیدرژن در کشت کالوس انجدان رومی

تحت تأثیر نانوذرات گرافن اکسید در کالوس بارهنگ (Ghorbanpour *et al*., 2018) و نانوذرات نقره در کدو حلوایی (Chung *et al*., 2018) و نانو لوله‌های کربنی در مرزه خوزستانی (Ghorbanpour and Hadian, 2015) گزارش شده است. در مطالعه حلقومی و همکاران (۱۳۹۹) افزایش معنی‌دار در محتوای پراکسید هیدروژن تحت غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از الیسیتور نانو لوله کربنی در گیاه ریحان مشاهده شد.

محتوای فنل کل: ترکیبات فنولیکی گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند که نقش دفاعی و آنتی‌اکسیدانی بسیاری در گیاهان ایفا می کنند (Naikoo *et al*., 2019). ترکیبات فنولیکی در بافت‌های گیاهی تحت تأثیر تنش افزایش می‌یابند. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان محتوای کل فنل (۴۷/۲۶ میلی‌گرم گالیک اسید درگرم وزن تر) در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از نانو ذره $GO\text{-}SiO_2$ و کمترین مقدار (۳۹/۰۱ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۴). با افزایش غلظت نانو ذره از ۱۰ میلی‌گرم د لیتر کاهش معنی‌داری در محتوای کل فنل مشاهده شد (جدول ۴). مطابق با نتایج این مطالعه، اثرات تحریک کنندگی نانو ذرات کربنی در تولید و انباشت ترکیبات فنولیکی وابسته به غلظتشان است. درمطالعه Złotek و همکاران (۲۰۲۰) از الیسیتورهای جاسمونیک اسید و عصاره مخمر در حالت رویشی بر روی گیاه انجدان استفاده شد و فرآیند الیسیتیشن منجر به افزایش محتوای کلروفیل، محتوای کل فنل و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز شد. در مطالعه‌ای، تأثیر نانو لوله‌های کربنی بر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مختلف بیوشیمیایی کالوس در انجدان رومی تحت تأثیر الیسیتور $GO\text{-}SiO_2$

تیمار $GO\text{-}SiO_2$	صفات اندازه‌گیری‌شده					
	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن تر)	محتوای کل فلاونول	فلاونوئید کل	آنتوسیانین کل (میکرومول در گرم وزن تر)	کلروفیل کل	کاروتنوئید کل
		(میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر)			(میلی‌گرم در گرم وزن تر)	
شاهد	۳۹/۰۱^{c}± ۰/۳۳	۲/۰۷^{d}± ۰/۰۵۷	۴/۶۴^{c} ۰±۰/۲۷	۰/۰۰۱۲^{b} ±۰/۰۰۱	۱۵/۷۳^{d} ±۰/۰۴	۹/۲۶^{d}±۰/۰۰۵
۵ میلی‌گرم در لیتر	۴۱/۰۹^{bc} ±۰/۶	۳/۰۷^{c} ±۰/۰۰۳	۱۳/۵۱^{b} ±۰/۵۵	۰/۰۰۱۹^{b}±۰/۰۰۰۳	۲۳/۵۸^{a}±۰/۵۲	۲۸/۱۱^{a} ±۰/۷۸
۱۰ میلی‌گرم در لیتر	۴۷/۲۶^{a} ±۰/۷۰	۵/۵۱^{b}±۰/۰۹۸	۲۸/۰۶^{a} ±۱/۴۹	۰/۰۰۲^{b} ۰±/۰۰۰۶	۲۰/۸۰^{b}±۰/۱۱۵	۱۸/۸۸^{b} ±۰/۲۲
۲۰ میلی‌گرم در لیتر	۴۳/۱۸^{b}± ۱/۴۴	۸/۱۸^{a} ±۰/۰۲۷	۱۵/۲۹^{b} ± ۰/۲۸	۰/۰۷^{a} ±۰/۰۰۷	۱۸/۹۱^{c}۰±۰/۲۶	۱۳/۴۶^{c} ±۰/۸۹

هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف لاتین مشترک هستند در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

روی کشت درون شیشه‌ای گیاه مرزه خوزستانی بررسی شد و نتایج نشان داد که بیشترین میزان محتوای فنل در تیمار ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار (۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و تیمار شاهد نشان داد (Ghorbanpour and Hadian, 2015).

محتوای کل فلاونوئید: فلاونوئیدها گروه‌های بزرگی از ترکیبات فنلی متشکل از ۱۵ کربن هستند که در گیاهان در معرض تنش، به‌عنوان جاروب‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد در سلول‌های گیاهی عمل می‌کنند و کار پاکسازی OH را انجام می‌دهند و از این رو نقش مهم محافظت از گیاه در برابر تنش‌ها را ایفا می‌کنند (Lin *et al.*, 2016). در این مطالعه بیشترین (۲۸/۰۶ میلی‌گرم کوئرستین درگرم وزن تر) و کمترین (۴/۶۴ میلی‌گرم کوئرستین درگرم وزن تر) میزان فلاونوئید به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره و تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۴). تفاوت معنی‌داری از نظر محتوای فلاونوئید در غلظت‌های ۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر از نانو ذره مشاهده نشد (جدول ۴). الیسیتورها باعث تأثیرات مثبت در افزایش بیان ژن‌های مرتبط با سنتز ترکیبات فنولیک می‌شوند و از جمله سبب افزایش سنتز محتوای فلاونوئید کل و در نتیجه افزایش مقدار تجمع فلاونوئیدها تحت تأثیر الیسیتور می‌شوند (Talukder *et al.*, 2016). در مطالعه حلقومی و همکاران (۱۳۹۹) تأثیر الیسیتور نانو لوله‌های کربنی چند لایه باعث افزایش معنی‌داری در محتوای فلاونوئید در غلظت‌های ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در ریحان شد. در مطالعه رستمی و شوشتری (۱۳۹۸) اعمال نانوذرات اکسید سیلیس در کشت درون شیشه‌ای ریحان، منجر به افزایش معنی‌دار محتوای کل فلاونوئید نسبت به تیمار شاهد شد و با افزایش غلظت الیسیتور کاهش معنی‌داری در میزان فلاونوئید مشاهده شد که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی داشت. مشابه با نتایج این مطالعه، استفاده از الیسیتور نانوذرات گرافن اکسید منجر به افزایش محتوای کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در کالوس شاهی (Golkar *et al.*, 2021) و بارهنگ (Ghorbanpour *et al.*, 2018) شد.

محتوای کل فلاونول: در این مطالعه، افزایش معنی‌دار در محتوای کل فلاونول تحت تأثیر نانوذره $GO\text{-}SiO_2$ مشاهده شد به طوری‌که میزان آن از مقدار ۲/۰۷ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر در تیمار شاهد تا حداکثر مقدار ۸/۱۸ میلی‌گرم کوئرستین درگرم وزن تر در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره افزایش معنی‌دار نشان داد (جدول ۴). در مطالعات قبلی تأثیر معنی‌دار الیسیتورهای زیستی و غیرزیستی بر افزایش معنی‌دار محتوای فلاونول‌ها در کشت کالوس گزارش شده است (Yazdanian *et al.*, 2022; Rahmati *et al.*, 2023).

محتوای کل آنتوسیانین: آنتوسیانین‌ها، در انتهای مسیر بیوسنتز فلاونوئید در سیتوپلاسم ساخته می‌شوند و زیر مجموعه‌ای از فلاونوئیدها محسوب می‌شوند (Tsuda, 2012).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

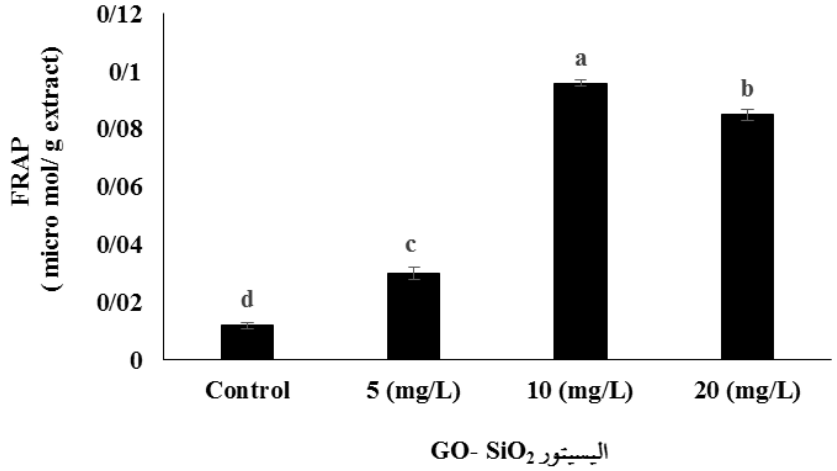
تولید آنتوسیانین‌ها، تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی افزایش یا کاهش می‌یابد (Lev-Yadun and Gould, 2009). مطابق با نتایج جدول ۴، اعمال نانوذره منجر به افزایش تصاعدی در محتوای آنتوسیانین کل در کالوس انجدان شد به‌طوری‌که بیشترین میزان (۰/۰۷ میکرومول در گرم وزن تر) در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر از نانوذره مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد. افزایش معنی‌دار در محتوای کل آنتوسیانین با سایر مطالعات در کالوس بن‌سرخ (Yazdanian *et al*., 2022)، شاهی (Golkar *et al*., 2021) و بادرنجبویه (موسوی و رضوی‌زاده، ۱۴۰۰) مطابقت نشان می‌دهد. در مطالعه چمنی و همکاران (۱۴۰۰) تأثیر نانوذرات نقره بر تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی استویا تحت شرایط درون شیشه‌ای افزایش معنی‌داری در محتوای آنتوسیانین نسبت به تیمار شاهد نشان داد که نشان‌دهنده تأثیر مثبت این نانوذره روی این گیاه و محتوای آنتوسیانین آن بوده است.

محتوای کل کلروفیل: کلروفیل از مهمترین رنگیزه‌های فتوسنتزکننده گیاهی است که تولید و تجمع آن در سلول‌های گیاهی تحت تأثیر تنش‌های محیطی دچار تغییر می‌شود. در این مطالعه بیشترین غلظت کلروفیل (۲۳/۵۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) تحت غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره مشاهده شد که دارای تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بود (جدول ۴). به‌عبارت دیگر غلظت پایین نانوذره منجر به تحریک فعالیت مسیرهای ساخت کلروفیل شد (جدول ۴). غلظت‌های متوسط و بالای نانوذره (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) منجر به کاهش معنی‌دار در محتوای کل کلروفیل شد که این نتیجه می‌تواند ناشی از تأثیر منفی غلظت‌های بیشتر نانو ذره بر ساختارهای کلروپلاستی و تخریب این ساختارها باشد. جلوگیری از عملکرد سیستم‌های فتوسنتزی می‌تواند باعث کاهش معنی‌دار در محتوای کل کلروفیل در کالوس انجدان شده باشد. در مطالعه موسوی و رضوی‌زاده (۱۴۰۰) اعمال فلز سنگین کادمیوم به‌عنوان الیسیتور منجر به کاهش معنی‌دار در محتوای کل کلروفیل شد که با نتایج این مطالعه مطابقت نشان می‌دهد. تأثیر الیسیتورهای مختلف بر محتوای کل کلروفیل در کشت کالوس گیاهان مختلف از جمله بن‌سرخ (Yazdanian *et al*., 2022) و تنباکو (Huang *et al*., 2019)، منجر به افزایش معنی‌دار در محتوای کل کلروفیل شد که این تفاوت در نتایج می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع و غلظت الیسیتور استفاده شده و همین طور گونه گیاهی تحت مطالعه باشد.

محتوای کل کاروتنوئید: کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گزانتوفیل‌ها) آنتی‌اکسیدان‌های چربی دوستی هستند که به‌عنوان ساختارهایی با وزن مولکولی کم در کلروپلاست مشاهده می‌شوند و تحت تنش‌های محیطی، غشاهای کلروپلاستی را در مقابل تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند. مطابق با نتایج این مطالعه بیشترین میزان کل کاروتنوئید (۲۸/۱۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره و کمترین مقدار (۹/۲۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۴). غلظت‌های متوسط و بالای نانوذره (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) منجر به کاهش معنی‌دار در محتوای کل کاروتنوئید نسبت به غلظت کم نانوذره (۵ میلی‌گرم در لیتر) شد (جدول ۴). مشابه با نتایج این مطالعه، بیشترین محتوای کل کاروتنوئید در کشت کالوس بن‌سرخ (یزدانیان، ۱۳۹۹)، تحت تأثیر غلظت ۵۰ میکرومولار از الیسیتور متیل جاسمونات گزارش گردید که افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد. مطالعه موسوی و رضوی‌زاده (۱۴۰۰) با افزایش غلظت الیسیتور کادمیوم کاهش معنی‌داری در میزان کاروتنوئید در کالوس بادرنجبویه مشاهده شد. کاهش میزان کاروتنوئیدها ناشی از تخریب رنگدانه‌های کاروتنوئیدی کالوس هست که توسط نانوذره $GO\text{-}SiO_2$ در غلظت‌های متوسط و بالا ایجاد شده است.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی احیاکنندگی آهن (FRAP): آنتی‌اکسیدان‌ها از دسته ترکیباتی گیاهی هستند که به‌صورت مؤثر و راه‌های مختلف از واکنش رادیکال‌های آزاد جلوگیری کرده و در کاهش مرگ سلولی و آسیب لیپیدی سلول‌های گیاهی مؤثر بوده‌اند. اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کالوس‌های انجدان رومی تحت تأثیر الیسیتور با استفاده از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره $GO\text{-}SiO_2$ بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش FRAP در کشت کالوس انجدان رومی

جدول ۵- همبستگی بین صفات مختلف اندازه‌گیری شده در کشت کالوس انجدان رومی

	محتوای کل فنول	محتوای کل فلاونول	محتوای کل فلاونویید	محتوای کل آنتوسیانین	محتوای کل کلروفیل	محتوای کل کاروتنوئید	FRAP	H_2O_2
محتوای کل فنل	۱							
محتوای کل فلاونول	۰/۵۶*	۱						
محتوای کل فلاونوئید	۰/۸۷**	۰/۵۱	۱					
محتوای کل آنتوسیانین	۰/۱۲	۰/۸۸**	۰/۱۲	۱				
محتوای کل کلروفیل	۰/۳۷	۰/۰۸	۰/۵۰	-۰/۰۸	۱			
محتوای کل کاروتنوئید	۰/۲۱	-۰/۱۲	۰/۳۶	-۰/۲۴	۰/۹۷**	۱		
FRAP	۰/۸۴**	۰/۸۶**	۰/۸۵**	۰/۴۸	۰/۲۲	۰/۰۱	۱	
H_2O_2	۰/۶*	۰/۹۴**	۰/۴۹	۰/۸۲**	۰/۲۹	۰/۰۱	۰/۷۹**	۱

* و ** به ترتیب بسیار معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

روش تخمین فعالیت آنتی‌اکسیدانی FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) انجام گرفت. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار $GO\text{-}SiO_2$ با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر (۰/۰۹۶ میکرومول آهن در گرم عصاره) و کمترین مقدار در تیمار شاهد (۰/۰۱۲ میکرومول آهن در گرم عصاره) مشاهده شد (شکل ۲). برخی مطالعات انجام‌شده در کشت کالوس بیانگر افزایش معنی‌دار در فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش FRAP بوده است (Sarkate *et al.*, 2017). در مطالعه حلقومی و همکاران (۱۳۹۹)، بیشترین خاصیت آنتی-اکسیدانی FRAP در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله کربنی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد و این افزایش معنی‌داری در بالاترین غلظت نشان‌دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر در غلظت بالای الیسیتور استفاده شده بود. در مطالعه هاشمیان و همکاران (۱۳۹۹) افزایش معنی‌داری خاصیت آنتی‌اکسیدانی با روش FRAP با افزایش الیسیتورهای متیل جاسمونات (۵۰ میکروگرم در لیتر) و سالیسیلیک اسید (۱۰۰ میکروگرم در لیتر) در گیاه کلپوره گزارش شد.

همبستگی صفات: همبستگی بین صفات مختلف اندازه‌گیری شده در جدول ۵ آورده شده است. همان‌طور که نشان داده است، همبستگی مثبت و معنی‌دار بین محتوای کل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

فنل با محتوای کل فلاونول (*۰/۵۶)، محتوای کل فلاونوئید (**۰/۸۷)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (**۰/۸۴) و پراکسید هیدروژن (*۰/۶)، مشاهده شد. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین محتوای کل فلاونول با فعالیت آنتی‌اکسیدانی (**۰/۸۶) و و محتوای کل فلاونوئید با فعالیت آنتی‌اکسیدانی (**۰/۸۵) دیده شد. مطابق با نتایج این مطالعه ترکیبات فنلی موجود در کالوس انجدان رومی نقش عمده و مؤثری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه در شرایط کشت سلولی داشتند. همبستگی مثبت بین محتوای کل فنل، فلاونول و فلاونوئید با فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان‌دهنده این است که استفاده از الیسیتور منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی به‌وسیله تجمع یافتن بیشتر ترکیبات فنولیکی، فلاونولی و فلاونوئیدی در کشت کالوس انجدان رومی شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق به‌صورت کلی نشان داد که تیمار سرمادهی قبل از کشت بذور در انجدان و اضافه کردن اسید جیبرلیک به محیط‌کشت، بهترین تیمار ترکیبی جهت افزایش جوانه‌زنی در این گیاه مرتعی بود. استفاده از غلظت‌های مختلف نانو ذرات گرافن اکسید حاوی نانو ذرات سیلیسیم تأثیر معنی‌داری بر تولید متابولیت‌های ثانویه از طریق کشت کالوس در انجدان رومی داشت. تأثیر هر الیسیتور برای پاسخ حداکثری در تولید متابولیت ثانویه، به غلظت الیسیتورو زمان انکوباسیون با الیسیتور دارد. استفاده از الیسیتور ۱۰ میکرومولار نانو ذره منجر به افزایش معنی‌داری میزان محتوای کل فنل (۱/۲۱ برابر) و فلاونوئید (۶/۲۹ برابر) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸ برابر) نسبت به شاهد شد. غلظت ۲۰ میکرومولار منجر به افزایش معنی‌داری در میزان محتوای فلاونول کل به میزان (۳/۹۵ برابر) نسبت به شاهد شد. غلظت ۵ میکرومولار منجر به افزایش معنی‌دار در محتوای کلروفیل کل (۱/۵۳ برابر) و محتوای کاروتنویید (۳/۰۳ برابر) نسبت به شاهد شد. نانوذره $GO\text{-}SiO_2$ (۲۰ میکرومولار) منجر به افزایش معنی‌داری میزان محتوای H_2O_2 کل به میزان (۲/۲۲ برابر) نسبت به شاهد شد. بنابراین استفاده از غلظت بهینه نانو ذره $GO\text{-}SiO_2$ درکشت کالوس می‌تواند منجر به تولید بهینه متابولیت‌های ثانویه ارزشمند در دارویی در گیاه انجدان رومی شود. این نتایج کارایی بالای نانوذره $GO\text{-}SiO_2$ را به‌منظور افزایش متابولیت‌های ثانویه مختلف و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در کالوس گیاه انجدان رومی نشان داد.

منابع

خطیب‌زاده، راحله، عزیزی، مجید، آرویی، حسین، و فارسی، محمد (۱۳۹۰). مطالعه اثر نوع ریزنمونه و سطوح تنظیم‌کننده‌های رشد بر کال‌زایی در گیاه دارویی *Levisticum officinale* Koch. *فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، ۲۹(۲)، ۳۸۷-۳۹۸. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2013.2863

خداشناس، منصوره، غنچه‌پور، ماشالله، جم‌زاد، زیبا، جلیلی، عادل، و محمودی، محمد (۱۳۹۹). جایگاه حفاظتی گونه نادر *Levisticum officinale* در ایران. *نشریه طبیعت ایران*، ۵(۳)، ۱۲۹-۱۳۵. https://doi.org/10.22092/irn.2020.122123

حلقومی، رقیه، حسینی سرقین، سیاوش، خارا، جلیل، و حسینی، بهمن (۱۳۹۹). تأثیر اثر تیمار با نانولول‌های کربنی چند لایه به عنوان الیسیتور در افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.). *فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۱۰(۴۲)، ۲۶۷-۲۸۲. http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1400.10.42.16.8

رستمی، فاطمه، و شوشتری، لیلا (۱۳۹۸). بررسی نقش الیسیتوری نانوذرات اکسید سیلیس و اکسید آلومینیوم بر تغییرات ترکیبات ثانویه و محتوای موسیلاژ در کشت درون شیشه‌ای گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.). مقاله کنفرانسی، شانزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

موسوی، نسیم سادات، و رضوی‌زاده، رویا (۱۴۰۰). بررسی تغییرات ترکیبات فنلی و متابولیت‌های ثانویه کالوس‌ها و گیاهچه‌های بادرنجبویه (*Mellissa officinal* L.) تحت تنش فلز سنگین کادمیوم. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱۰(۴۱)، ۱۷. http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1400.10.41.17.7

چمنی، اسماعیل، گل محمدی، نوشین، پوربیرامی هیر، یونس، و شهبازی یاجلو، رقیه (۱۴۰۰). تأثیر نانوذرات نقره بر تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی استویا تحت شرایط درون شیشه‌ای. پنجمین کنگره بین‌المللی توسعه کشاورزی، منابع طبیعی، محیط زیست و گردشگری ایران.

یزدانیان، عصمت (۱۳۹۹). اثرات متیل جاسمونات و پوتریسین بر متابولیت‌های ثانویه در گیاه بن‌سرخ (*Allium jesdianum* Boiss). پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته علوم و مهندسی مرتع –گیاهان دارویی و صنعتی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

هاشمیان، ملیحه، گنجعلی، علی، و چنیانی، منیره (۱۳۹۹). تأثیر الیسیتورهای متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر میزان تولید متابولیت‌های ثانویه و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کلپوره (*Teucrium polium* L.) در شرایط in vitro. *زیست‌شناسی گیاهی ایران*، ۱۲(۴۴)، ۷۶. https://doi.org/10.22108/ijpb.2020.118410.1164

Amiri, M. S. & Joharchi, M. R. (2016). Ethnobotanical knowledge of Apiaceae family in Iran: A review. *Avicenna Journal of Phytomedicin., 6*(6), 621-635.

Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal, 23*(1), 112-121.

Benzie, I. F. & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry, 239*(1), 70-76. https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292.

Bhat, J. A., Rajora, N., Raturi, G., Sharma, S., Dhiman, P., Sanand, S., Shivaraj, S. M., Sonah, H., & Deshmukh, R. (2021). Silicon nanoparticles (SiNPs) in sustainable agriculture: Major emphasis on the practicality, efficacy and concerns. *Nanoscale Advances, 3*(14), 4019-4028. https://doi.org/10.1039/D1NA00233C

Biswas, P. D. & Wu, C. Y. (2005). Critical review: Nanoparticles and the environment. *Journal Air Waste Manager, 55*, 708-746. https://doi.org/10.1080/10473289.2005.10464656

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis, 10*(3). https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748

Chung, M., Rekha, K., Rajakumar, G., & Thiruvengadam, M. (2018). Elicitation of silver nanoparticles enhanced the secondary metabolites and pharmacological activities in cell suspension cultures of bitter gourd. *National Center for Biotechnology Information, 8*(10), 412. https://doi.org/10.1007/s13205-018-1439-0

Epstein, E. (2009). Silicon: its manifold roles in plants. *Annals of Applied Biology, 155*, 155-160. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00343.x

Ghorbanpour, M. & Hadian, J. (2015). Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant *Satureja khuzestanica* grown in vitro. *Carbon, 94*, 749-759. https://doi.org/10.1016/j.carbon.2015.07.056

Gholami, T., Salavati-Niasari, M., Bazarganipour, M., & Noori, E. (2013). Synthesis and characterization of spherical silica NPs by modified Stöber process assisted by organic ligand. *Superlattices and Microstructure, 61*, 33-41. https://doi.org/10.1016/j.spmi.2013.06.004

Ghorbanpour, M., Farahani, A. H. K., & Hadian, J. (2018). Potential toxicity of nano-graphene oxide on callus cell of *Plantago major* L. under polyethylene glycol-induced dehydration. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 148*, 910-922. http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.061

Golkar, P., Abdollahi Bakhtiari, M., & Bazarganipour, M. (2021). The effects of nanographene oxide on the morpho-biochemical traits and antioxidant activity of *Lepidium sativum* L. under *in vitro* salinity stress. *Scientia Horticulturae 288*, 110301. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110301

Golkar, P. & Taghizadeh, M. (2018). *In vitro* evaluation of phenolic and osmolite compounds, ionic content, and antioxidant activity in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under salinity stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 134*, 357-368. https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-018-1427-4

Hara, M., Oki, K., Hoshino, K., & Kuboi, T. (2003). Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyl. *Plant Science, 164*(2), 259-265. http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00408-9

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

Hassanpour, H., Ahmadi, N., Hekmati, M., & Ghanbarzadeh, M. (2020). Effect of SiO_2 nanoparticles on phytochemical and anatomical alterations in *Anthemis gilanica*. *Iranian Journal of Plant Physiology*, *10*(3), 3223-3231. http://dx.doi.org/10.30495/IJPP.2020.1890482.1194

Hatami, M., Naghdi Badi, H., & Ghorbanpour, M. (2018). Nano-elicitation of secondary pharmaceutical metabolites in plant cells. *Journal of Medicinal Plants, 18*(71), 6-36. http://dx.doi.org/10.29252/jmp.3.71.6

He, Y., Hu, R., Zhong, Y., Zhao, X., Chen, Q., & Zhu, H. (2017). Graphene oxide as a water transporter promoting germination of plants in soil. *Journal Home Nano Research*, *11*(4), 1928-1937. https://doi.org/10.1007/s12274-017-1810-1

Hogg, C. L., Svoboda, K. P., Hampson, J. B., & Brocklehurst, S. (2001). Investigation into the composition and bioactivity of essential oil from lovage (*Levisticum officinale* W. D. J. Koch). *The International Journal of Aromatherapy*, *11* (3), 567-575. http://dx.doi.org/10.1016/S0962-4562(01)80050-3

Huang, J., Feng, P., Chen, N., Liu, P., Li, P., & Liao, X. (2019). Effect of GO on the formation and differentiation of tobacco leaf callus and its antioxidant capacity. *Materials Science and Engineering*, *493*, 012015. http://dx.doi.org/ 10.1088/1757-899X/493/1/012015

Javed, R., Yucesan, B., Zia, M., &Gurel, E. (2018). Elicitation of secondary metabolites in callus cultures of *Stevia rebaudiana* bertoni grown under ZnO and CuO nanoparticles stress. *Sugar Tech*, *20*, 194-201. https://doi.org/10.1007/s12355-017-0539-1

Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Yang, X., Zhongrui, L., Watanabe, F., & Biris, A. S. (2009). Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *American Chemical Society Nano, 3*(10), 3221-3227. https://doi.org/10.1021/nn900887m

Khodashenas, M., Keramat, B., & Emamipoor, Y. (2015). Callus induction and PLBs production from Levisticum officinale koch (a wild medicinal plant). *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, *5*(10), 172-180.

Kuzniak, E. & Urbanek, H. (2000). The involvement of hydrogen peroxide in plant responses to stresses. *Acta Physiologiae Plantarum, 22*, 195-203. https://doi.org/10.1007/s11738-000-0076-4

Winefield, Ch., Davies, K., & Gould, K. (2009). Role of anthocyanins in plant defence. In: Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, and Applications (eds. Lev-Yadun, S. and Gould, K. S.) Pp. 22-28. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77335-3-2.

Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., & Chen, S. (2016). An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Moleculs*, *21*, 1374. DOI: 10.3390/molecules21101374

Mandeh, M., Omidi, M., & Rahaie, M. (2012). *In Vitro* influences of TiO_2 nanoparticles on barley (*Hordeum vulgare* L.) tissue culture. *Biological Trace Element Research, 150*(1-3), 376-380. http://dx.doi.org/10.1007/s12011-012-9480-z

Marslin, G., Sheeba, C. J., & Franklin, G. (2017). Nanoparticles alter secondary metabolism in plants via ROS burst. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 832-828. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00832

Mosavat, N., Golkar, P., Yousefifard, M., & Javed, R. (2019). Modulation of callus growth and secondary metabolites in different thymus species and *Zataria multiflora* micropropagated under ZnO nanoparticles stress. *Journal Biotechnology and Applied Biochemistry*, *66*(3), 316-322. https://doi.org/10.1002/bab.1727

Naikoo, M. I., Dar, M. I., Raghib, F., Jaleel, H., Ahmad, B., Raina, A., Khan, F. A., & Naushin, F. (2019). Role and regulation of plants phenolics in abiotic stress tolerance: An overview. *Plant Signaling Molecules*, 157-168. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816451-8.00009-5

Oksman-Caldentey, K. M. & Inze, D. (2004). Plant cell factories in the post-genomic era: New ways to produce designer secondary metabolites. *Trends Plant Service Civil International, 9*, 433-440. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.07.006

Park, W. T., Kim, Y. K., Uddin, M. R., Park, N. I., Kim, S. G., Lee, S. Y., & Park, S. U. (2010). Somatic embryogenesis and plant regeneration of Lovage (*Levisticum officinale* koch). *Journal Plant Omics, 3*(5), 159-161. https://doi.org/10.1007/s00299-003-0735-1

Rahmati, M., Golkar, P., & Tarkesh, M. (2023). Effects of methyl jasmonate elicitation on the carvone and limonene contents, phenolic compounds and antioxidant activity in caraway (*Carum carvi* L.) callus cultures. *Natural Product Research*, 1-6. https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2169862

Ray, S. (2015). Applications of graphene and graphene-oxide based nanomaterials: William Andrew. *Journals Materials Research Society Bulletin*, *41*(2), 92. https://doi.org/10.1557/mrs.2016.17

Rastogi, A., Tripathi, D. K., Yadav, S., Chauhan, D. K., Zivcak, M., Ghorbanpour, M., El-Sheery, N., & Brestic, M. (2019). Application of silicon nanoparticles in agriculture. *Journal Review 3 Biotech*, *9*(3), 90. https://doi.org/10.1007/s13205-019-1626-7

Sarkate, A., Banerjee, S., Mir, J. I., Roy, P., & Sircar, D. (2017). Antioxidant and cytotoxic activity of bioactive phenolic metabolites isolated from the yeast-extract treated cell culture of apple. *Plant Cell Tissue and Organ Culture, 130*(3), 641-649. https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-017-1253-0

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, *299*, 152-178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

Talukder, P., Talapatra, S., Ghoshal, N., & Sen Raychaudhuri, S. (2016). Antioxidant activity and high-performance liquid chromatographic analysis of phenolic compounds during *in vitro* callus culture of *Plantago ovata* Forsk. and effect of exogenous additives on accumulation of phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*(1), 232-244. https://doi.org/10.1002/jsfa.7086

Tsuda, T. (2012). Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. *Molecular Nutrition and Food Research*, *56*(1), 159-170. https://doi.org/10.1002/mnfr.201100526

Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. *Plant Science*, *151*(1), 59-66. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1

Yazdanian, E., Golkar, P., Vahabi, M. R., & Taghizadeh, M. (2022). Elicitation effects on some secondary metabolites and antioxidant activity in callus cultures of *Allium jesdianum* Boiss. & Buhse.: Methyl jasmonate and putrescine. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *194*(2), 601-619.

Zhao, J., Davis, L. C., & Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, *23*(4), 283-333. https://doi.org/10.1007/s12010-021-03643-4

Zhou, L. G. & Wu, J. Y. (2006). Development and application of medicinal plant tissue cultures for production of drugs and herbal medicinals in China. *Natural Product Reports*, *23*(5), 789-810. https://doi.org/10.1039/b610767b

Złotek, U., Szymanowska, U., Rybczyńska-Tkaczyk, K., & Jakubczyk, A. (2020). Effect of jasmonic acid, yeast extract elicitation, and drying methods on the main bioactive compounds and consumer quality of lovage (*Levisticum officinale* Koch). *Foods*, *9*(3), 323. https://doi.org/10.3390/foods9030323

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

Effects of graphene oxide incorporated with silicon dioxide on some secondary metabolites of *Levisticum officinale* Koch. through callus culture

Reihaneh Safary[1], Pooran Golkar[1 *], Mehdi Bazarganipour[3]

[1] Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, 84156-83111, Isfahan, Iran
[2] Research Institute for Nanotechnology and Advanced Materials, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
(Received: 2023/04/18, Accepted: 2023/06/20)

Abstract

Considering the importance of medicinal compounds in medicinal plant species, the production of secondary medicinal metabolites through callus cultivation and subsequent elicitation is economical and time-saving. *Levisticum officinale* Koch. is one of the valuable indigenous rangeland plants of Iran, which has many medicinal and industrial properties. This study was carried out to optimize callus induction and the effects of different concentrations of GO-SiO_2 on the amounts of different secondary metabolites and antioxidant activity under callus culture. For callus induction, the hypocotyl explants were transferred to Murashige and Skoog (MS) culture medium containing different growth regulators. Analysis of variance showed that different plant growth regulators had a significant effect on The MS media supplemented with 1.5 mg/L 2,4-D + 0.025 mg/L (NAA) + 0.5 Kin showed the best percentage of callus production (95%). In order to investigate the effect of the elicitor on the amount of secondary metabolites in the callus, different concentrations of GO-SiO_2 (0, 5, 10 and 20 mg/L) were chosen as elicitors. The selected nanoparticle showed positiveand stimulatory effects on the amount of secondary metabolites and antioxidant activity in the callus. The highest content for total phenolics (47.26 mg GAE/g FW), total flavonoids (28.06 mg QE/g FW) and antioxidant activity FRAP (0.096 µ mol /g extract) was observed under 10 mg/L of GO-SiO_2. The highest contents for total flavonols (8.18 mg QE /g FW), H_2O_2 (5.09 µmol/g FW) and total anthocyanin (0.07 µmol/g FW) were observed under 20 mg/L GO-SiO_2 treatment. The highest level of carotenoid content (28.11 mg/g FW) and chlorophyll (23.58 mg/g FW) were observed under 5 mg/ L GO-SiO_2. The results of this study can be used to optimize the production of secondary medicinal metabolites in this valuable medicinal plant. According to the results of this study, the application of graphene oxide nanopaGO-SiO_2 (10 mg/L) could be used for the highest production of total phenolics and flavonoids as well as increasing the antioxidant activity through callus culture in this valuable plant of Iran.

Keyword: Antioxidants, Elicitor, Flavoniod, Total phenol content

Corresponding author, Email: poorangolkar@gmail.com; golkar@iut.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]