ژنتیک نوین
دوره پانزدهم ، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۹
صفحه ۳۱۵ - ۳۰۵

بیان ژن کلیدی مسیر سنتز سزامین در کنجد تحت تأثیر الیسیتورهای نیترات‌نقره و نانوذرات روی

Expression of the key gene in the sesamin biosynthesis pathway in sesame under the effect of nitrate silver and zinc nanoparticles elicitors

مرجان غضنفری[۱]، فاطمه دهقان نیری*[۱]، مریم حیدری‌فر[۱]

۱- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

Ghazanfari M[1], Dehghan Nayeri F[*1], Heidarifar M[1]

1- Graduated MSc Student, Associate Professor, Graduated MSc Student, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural and Natural Sciences, Imam Khomeini International University (IKIU), Qazvin, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: nayeri@eng.ikiu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۱٤ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۸)

چکیده

کنجد (*Sesamum indicum* L.) به‌دلیل تولید ترکیبات لیگنانی از جمله سزامین و سزامول دارای اهمیت ویژه‌ای است. سزامین از دسته لیگنان‌های فوروفوران است که در گیاهان آوندی و به‌ویژه گونه کنجد وجود دارد. سزامین به‌دلیل دارا بودن اثرات بیولوژیکی سودمند در پستانداران مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی برای شناسایی ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتزی سزامین انجام شده است. در این پژوهش تاثیر دو الیسیتور نیترات‌نقره و نانوذرات روی بر میزان بیان ژن کلیدی دخیل در بیوسنتز سزامین، *CYP81Q1*، در کشت سوسپانسیون سلولی کنجد بررسی شد. برای این منظور الیسیتورهای نیترات‌نقره و نانوذرات روی با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر به‌طور جداگانه در کشت سوسپانسیون سلولی ۱۸ روزه کنجد اعمال شدند و نمونه‌برداری در چهار بازه زمانی صفر، ۲، ۸ و ۲٤ ساعت پس از تیمار صورت گرفت. از نمونه‌های سلولی منجمد شده با نیتروژن مایع برای تعیین سطح بیان ژن با روش qRT-PCR استفاده شد. براساس نتایج این تحقیق ژن *CYP81Q1* بیشترین سطح بیان را در تیمار حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره روی و ۸ ساعت بعد از اعمال الیسیتور داشت. بیان این ژن در سلول‌های تیمار شده با ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر نیترات‌نقره به‌ترتیب در ۲٤ و ۸ ساعت بعد از اعمال الیسیتور به حداکثر رسید. میزان بیان ژن کلیدی دخیل در تولید لیگنان سزامین در همه نمونه‌های تیمار شده با الیسیتورها افزایش یافت. براساس نتایج این پژوهش میزان افزایش بیان این ژن به‌طور عمده به مقدار الیسیتورهای اعمال شده و بازه زمانی بعد از اعمال آن بستگی دارد.

واژه‌های کلیدی

الیسیتور
بیان ژن
سزامین
کنجد
CYP81Q1

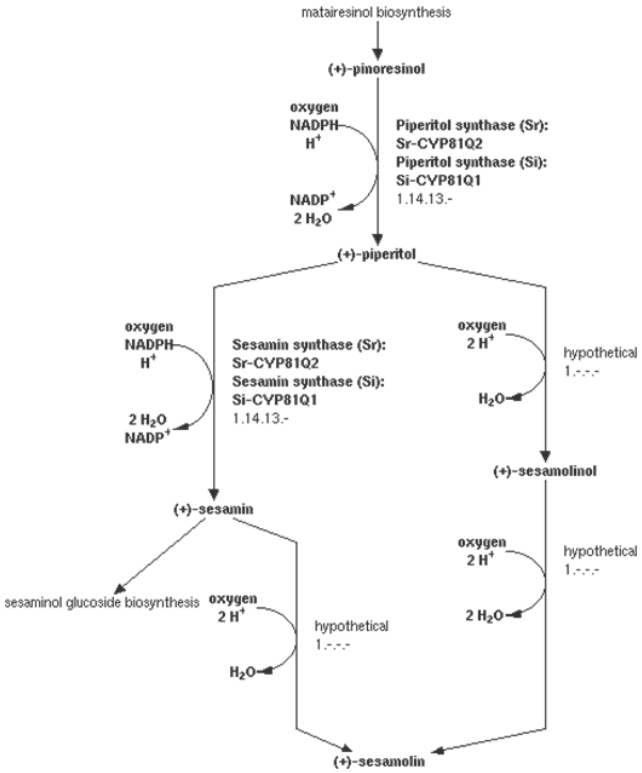
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]

مقدمه

لیگنان‌ها از ترکیبات عمده خانواده فیتواستروژن‌ها هستند که در گیاهان یافت می‌شوند. این ترکیبات که در گیاهان وجود دارند، شبیه هورمون استروژن بوده و خاصیت ضد اکسیدشدگی دارند. لیگنان‌های گیاهی مواد پلی‌فنلی نسبتاً ساده‌ای هستند که از فنیل‌آلانین مشتق می‌شوند و در گیاهان به‌عنوان یک خط دفاع شیمیایی عمل و از گیاه در برابر حشرات، میکروب‌ها و حتی گیاهان دیگر محافظت می‌کنند. سطح لیگنان در بدن و کاهش احتمال بروز بیماری‌هایی چون سرطان پستان و تخمدان، پوکی استخوان و بیماری‌های قلبی و عروقی رابطه مستقیمی را نشان می‌دهند. همچنین لیگنان‌ها در کاهش خطر ابتلا به سرطان‌های تیروئید و آندومتر، کاهش خطر ابتلا به سرطان‌های پروستات و کولون و حفاظت سلول‌های کبدی در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو تأثیر دارند. در بین منابع گیاهی خوراکی، دانه کتان دارای بالاترین میزان لیگنان است. سایر منابع عمده لیگنان تخم کدو، دانه کنجد، چاودار، سویا، بروکلی و لوبیا هستند. میوه‌ها و سبزی‌ها، پوسته غلات و چای جزء غذاهای با سطح متوسط تا خوب لیگنان می‌باشند (Ionkova 2007). دانه‌های کنجد حاوی مقادیر قابل توجهی لیگنان هستند. سزامین و سزامولین دو ماده منحصر به‌فرد از گروه فیبرهای غذایی لیگنان هستند که در کنجد یافت می‌شوند (Ashakumary et al. 1999). روغن کنجد از بهترین روغن‌های گیاهی و حاوی اسیدهای چرب دارای چند پیوند دوگانه، اسیداولئیک، لینولئیک، پالمتیک، استئاریک، ویتامین E و لیستین است. روغن کنجد، به‌دلیل مرغوبیت زیاد، بو و مزه مطبوع، ملکه روغن‌ها است و این ویژگی‌ها به‌دلیل وجود سزامین در آن است که یک آنتی‌اکسیدان طبیعی محسوب می‌شود و مقاومت روغن را در برابر اکسیداسیون بالا می‌برد. ژن کلیدی در مسیر تولید سزامین ژن *CYP81Q1* است (Ono et al. 2006).

براساس گزارش پژوهشگران سزامین یک لیگنان فوروفوران است که با تشکیل دو پل متیلن‌دی‌اکسی از پایپریتول و پینورزینول سنتز می‌شود. پینورزینول اولین لیگنان مسیر سنتز سزامین است که با تشکیل پل متیلن‌دی‌اکسی به پینورزینول تبدیل و با ایجادیک پل متیلن‌دی‌اکسی دیگر به سزامین تبدیل می‌شود. کاتالیز این ترکیب توسط دو آنزیم سیتوکروم P450، پایپریتول‌سینتاز (Sr) و سزامین‌سینتاز (Si) انجام می‌شود. براساس نتایج پژوهشگران، بیان ژن *CYP81Q1* طی توسعه دانه باعث تجمع سزامین می‌شود (Ono et al. 2006) (شکل ۱).



شکل ۱- مسیر بیوسنتز سزامین و سزامولین (Ono et al. 2006)

نانوذرات، ذراتی با ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر و رایج‌ترین عناصر در علم و فناوری نانو هستند و خواص جالب توجه آن‌ها باعث شده است کاربردهای بسیار متنوعی در صنایع شیمیایی، پزشکی، دارویی، الکترونیک و کشاورزی برای افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاهان و به‌عنوان عوامل ضد میکروبی داشته باشند (Raee et al. 2012; Rasouli et al. 2020). نانوذرات نقره یکی از در دسترس‌ترین و مهم‌ترین انواع نانوذرات هستند که علاوه بر اثر الیسیتوری به‌عنوان عوامل ضد باکتری نیز شناخته و استفاده می‌شوند (Zarayneh et al. 2018; Rasouli 2019).

در پژوهش حاضر برای بررسی میزان بیان ژن *CYP81Q1* از روش Quantitative Real Time PCR استفاده شد. یکی از روش‌های نمایش داده‌های qRT-PCR روش CT مقایسه‌ای است که به‌عنوان روش FC (Fold Change) شناخته می‌شود. از این روش برای بررسی بیان ژن در نمونه‌های مختلف در مقایسه با

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]

نمونه شاهد استفاده می‌شود. در این روش، نرمال‌سازی داده‌های CT مربوط به نمونه‌های مختلف و نمونه شاهد با استفاده از CT ژن مرجع صورت می‌گیرد ($\Delta(\Delta CT)$ و ΔCT هر نمونه با ΔCT شاهد کالیبره می‌شود و یا به‌عبارتی به‌صورت $-\Delta\Delta CT$ یا $\log_2$ FC بیان می‌شود (Wong and Medrano 2005). کشت سوسپانسیون سلولی، ابزار بیولوژیکی مناسبی برای افزایش متابولیت‌های ثانویه است. در این کشت می‌توان از الیسیتورهای مختلف زیستی و غیرزیستی برای تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه و افزایش آن‌ها استفاده کرد. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر الیسیتور نانوذرات روی و نیترات‌نقره (۲٤ نمونه و ۳ تکرار) بر میزان بیان ژن *CYP81Q1* به‌عنوان ژن کلیدی دخیل در سنتز سزامین در کشت سوسپانسیون سلولی بهینه شده کنجد با استفاده از روش qRT-PCR بود.

مواد و روش‌ها

دانه کنجد رقم کرج ۱ از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. در این مطالعه از محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) (Murashige and Skoog, 1962) به‌عنوان محیط کشت پایه جهت کشت دانه و تولید گیاهچه درون شیشه‌ای، کالوس‌زایی و ایجاد سوسپانسیون سلولی استفاده شد. دانه‌های کنجد پس از ضدعفونی در شیشه‌های حاوی محیط MS فاقد هورمون و حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز (pH ۵/۸) کشت شدند و برای جوانه‌زنی به مدت ۳ روز در تاریکی نگهداری و سپس به اتاق کشت با درجه حرارت ۲ ± ۲۵ ºC و دوره نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال یافتند. برای تولید کالوس از هیپوکوتیل به‌عنوان ریزنمونه و محیط MS فاقد هورمون و حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز (pH ۵/۸) استفاده شد. کالوس‌های نرم و ترد انتخاب و پس از انتقال به محیط مایع MS با هورمون‌های BAP با غلظت ۰/٦ میلی‌گرم در لیتر و NAA با غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر سوسپانسیون پر تراکمی تولید شد. ارلن‌های حاوی سوسپانسیون سلولی روی شیکر با سرعت ۱۳۰ دور در دقیقه و دمای ۲ ± ۲۷ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفتند (Heidari far and Dehghan Nayeri 2015; Amanelahy et al. 2016). برای به‌دست آوردن منحنی رشد، وزن تر و خشک سلول‌ها اندازه‌گیری شد. هر دو روز یک بار و به مدت ۳۰ روز، تمام محتوای ارلن از صافی عبور داده شد و وزن تر و وزن خشک سلول‌ها بعد از قرار گرفتن در دمای اتاق به مدت یک شبانه روز یادداشت‌برداری شد.

به‌منظور تحریک افزایش بیان ژن *CYP81Q1*، مسئول سنتز سزامین، از الیسیتورهای نانوذرات روی و نیترات‌نقره در محیط سوسپانسیون سلولی کنجد استفاده شد. سوسپانسیون سلولی در روز هجدهم (فاز نمایی رشد) تحت تیمار الیسیتورها با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفت. نمونه‌برداری در ٤ بازه زمانی (صفر، ۲، ۸ و ۲٤ ساعت) انجام شد و میزان بیان ژن *CYP81Q1* با روش qRT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش تحریک سوسپانسیون برای هر تیمار در سه تکرار انجام شد (Heidari far and Dehghan Nayeri 2015).

استخراج RNA با روش ترایزول (Sigma, USA) انجام شد. غلظت نمونه‌های RNA پس از استخراج، به‌وسیله نانودراپ (Thermo nanodrop1000, US) تعیین و مقداردو میکروگرم از آن جهت تیمار با *DNase*I (Fermentas,Germany) استفاده شد. سنتز cDNA (با ۱۰۰۰ng/µl RNA تیمار شده با آنزیم *DNase*I) با آنزیم ترانسکریپتاز معکوس و طبق دستورالعمل صورت گرفت. cDNA به‌دست آمده به‌عنوان رشته الگو برای تکثیر قطعات موردنظر استفاده شد. جهت اطمینان از درستی سنتز cDNA با استفاده از آغازگر ژن *18S rRNA* (ژن خانه‌دار یا مرجع) واکنش PCR انجام و تأیید شد. آغازگرهای الیگونوکلئوتیدی جهت انجام واکنش PCR و qRT-PCR بر اساس توالی‌های موجود ژن‌ها در بانک NCBI و با استفاده از نرم‌افزار Oligo5 طراحی شدند (جدول ۱). درستی آغازگرهای طراحی شده از لحاظ عدم اتصال غیراختصاصی و دایمر آغازگر، با استفاده از بلاست و در کل ژنوم مورد تأیید قرار گرفت. جهت مقایسه میزان بیان ژن، واکنش qRT-PCR برای همه نمونه‌ها در ۳ تکرار با استفاده از معرف SYBR green (شرکت تاکارای ژاپن) انجام و از دستگاه ترمال سایکلر ROTOR Gene Q (ساخت شرکت کیاژن) استفاده شد. واکنش‌ها در میکروپلیت‌های ۹٦ چاهکی، در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و در ٤۰ چرخه انجام شد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]

جدول ۱- اطلاعات مربوط به آغازگرهای ژن جهت واکنش Real Time PCR

نام ژن	توالی آغازگرها('3-'5) F/R	Tm (ºC)	% GC	اندازه قطعه تکثیر شده (bp)
CYP81Q1	F- TCTCGCTCTCACCTTCGCC	٧٥/٤	٦٠	١٦٩
	R- CTGGGAGAAGTCGTATAGTG	٦٠/٩	٥٠	
18S rRNA	F- TCTTAGTTGGTGGAGCGATT	٦٥/٩	٤٥	١٧١
	R- GAACATCTAAGGGCATCACA	٦٤/٦	٤٥	

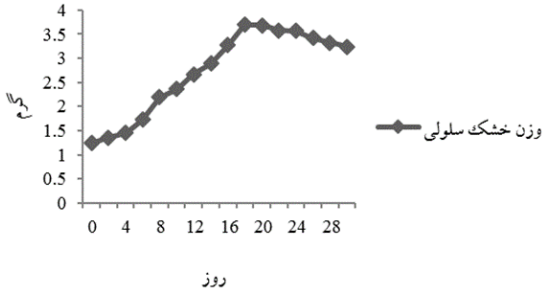
داده‌های CT به‌دست آمده به‌صورت ΔΔCT– یا $\log_2$ FC بیان شد و از ژن *18S rRNA* برای نرمال‌سازی داده‌ها استفاده شد. همچنین تجزیه و تحلیل‌های آماری با نرم‌افزار SPSS انجام شد.

نتایج

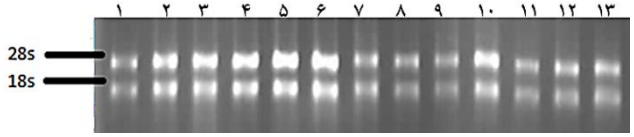
برای به‌دست آوردن زمان مناسب جهت بازکشت سوسپانسیون سلولی و نیز زمان مناسب برای اعمال الیسیتورها، منحنی رشد سلولی برای محیط‌های حاوی ٠/٦ میلی‌گرم در لیتر BAP و سه میلی‌گرم در لیتر NAA رسم شد (شکل ٢). براساس منحنی رشد به‌دست آمده، در کشت سلولی کنجد در روز بیستم فاز لگاریتمی پایان یافته و سلول‌ها وارد فاز سکون و سپس فاز مرگ شدند. بنابراین الیسیتورها جهت عملکرد بهتر در روز هجدهم (دارای بیشترین میزان تکثیر سلولی) به سوسپانسیون سلولی اضافه شدند. جهت افزایش بیان ژن *CYP81Q1*، از الیسیتورهای نانوذرات روی و نیترات‌نقره در محیط کشت سوسپانسیون سلولی کنجد استفاده شد. برای این منظور تیمارهای با غلظت ٠/٢٥، ٠/٥ و ١ میلی‌گرم در لیتر در روز هجدهم در کشت سوسپانسیون سلولی اعمال و نمونه‌برداری در ٤ بازه زمانی (صفر، ٢، ٨ و ٢٤ ساعت) انجام شد. جهت بررسی کیفیت RNA استخراجی (عدم خردشدگی RNA و مشاهده باندهای ریبوزومی) الکتروفورز نمونه‌ها روی ژل آگار (W/V) ١/٥ درصد انجام شد که وجود دو باند 28S rRNA و 18S rRNA و عدم کشیدگی باندها نشان‌دهنده کیفیت مطلوب RNA است (شکل ٣).

بررسی بیان ژن *CYP81Q1* در تیمارهای مختلف نیترات‌نقره و نانوذرات روی با روش QRT-PCR

براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها جهت بررسی اثر زمان و غلظت‌های مختلف نیترات‌نقره بر بیان ژن *CYP81Q1*، اثر غلظت و اثر متقابل غلظت در زمان روی بیان ژن *CYP81Q1* معنی‌دار شد ولی اثر زمان معنی‌دار نشد. با توجه به داده‌های حاصل از QRT-PCR ژن *CYP81Q1* در غلظت‌های مختلف نیترات‌نقره بیان شده است. بیشترین میزان بیان ژن در سطح یک میلی‌گرم در لیتر نیترات‌نقره دو ساعت پس از اعمال تیمار مشاهده شد و نیز غلظت ٠/٢٥ میلی‌گرم در لیتر نیترات‌نقره، به مدت ٨ ساعت پس از اعمال تیمار مقدار کمی افزایش بیان ژن را نشان داد.



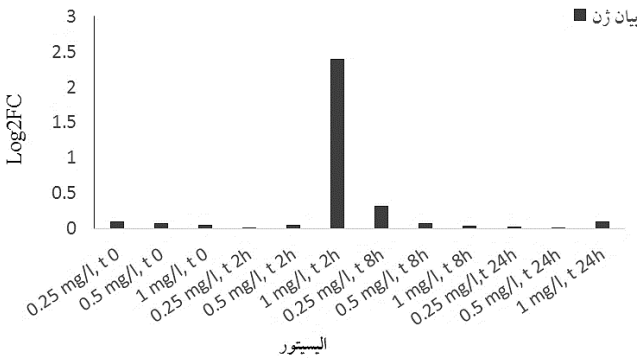
شکل ٢- منحنی رشد سلول‌ها در محیط حاوی ٠/٦ میلی‌گرم در لیتر BAP و سه میلی‌گرم در لیتر NAA



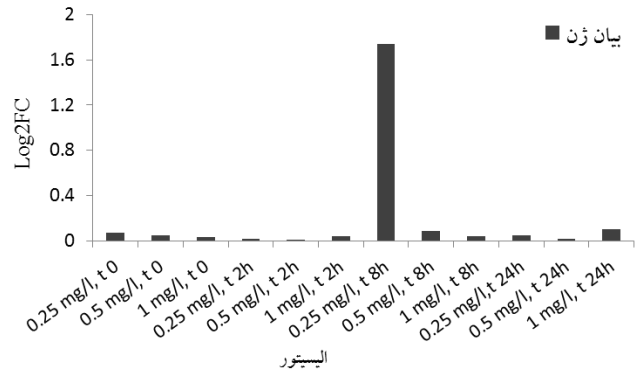
شکل ٣- RNA استخراج شده از نمونه‌های تیمار شده با نانوذرات با روش فنل-کلروفرم روی ژل آگارز (W/V) ١/٥ درصد، شامل تیمارهای ١- شاهد ٢- غلظت ٠/٢٥ میلی‌گرم در لیتر زمان صفر ٣- غلظت ٠/٥ میلی‌گرم در لیتر زمان صفر ٤- غلظت ١ میلی‌گرم در لیتر زمان صفر ٥- غلظت ٠/٢٥ میلی‌گرم در لیتر زمان ٢ ساعت ٦- غلظت ٠/٥ میلی‌گرم در لیتر زمان ٢ ساعت ٧- غلظت ١ میلی‌گرم در لیتر زمان ٢ ساعت ٨- غلظت ٠/٢٥ میلی‌گرم در لیتر زمان ٨ ساعت ٩- غلظت ٠/٥ میلی‌گرم در لیتر زمان ٨ ساعت ١٠- غلظت ١ میلی‌گرم در لیتر زمان ٨ ساعت ١١- غلظت ٠/٢٥ میلی‌گرم در لیتر زمان ٢٤ ساعت ١٢- غلظت ٠/٥ میلی‌گرم در لیتر زمان ٢٤ ساعت ١٣- غلظت ١ میلی‌گرم در لیتر زمان ٢٤ ساعت.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]

کمترین میزان بیان ژن مربوط به تیمارهای ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر نیترات‌نقره، مدت ۲ ساعت و نیز ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نیترات‌نقره و مدت ٢٤ ساعت پس از اعمال تیمار بود (شکل ٤). برای الیسیتور نانوذرات روی بیشترین میزان بیان ژن *CYP81Q1* در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر، مدت ۸ ساعت و کمترین میزان بیان این ژن در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر، مدت ۲ و ٢٤ ساعت بعد از اعمال الیسیتور تعیین شد (شکل ۵).

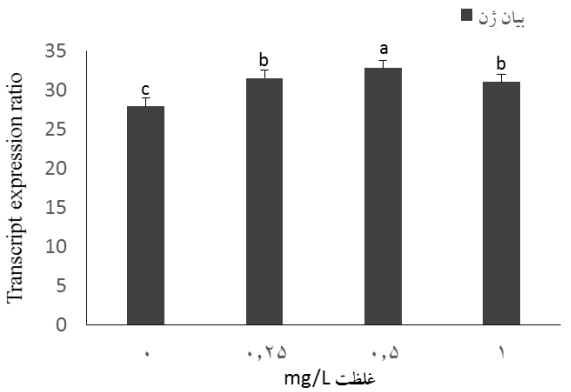


شکل ٤- میزان بیان ژن *CYP81Q1* در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف الیسیتور نیترات‌نقره با استفاده از روش qRT-PCR

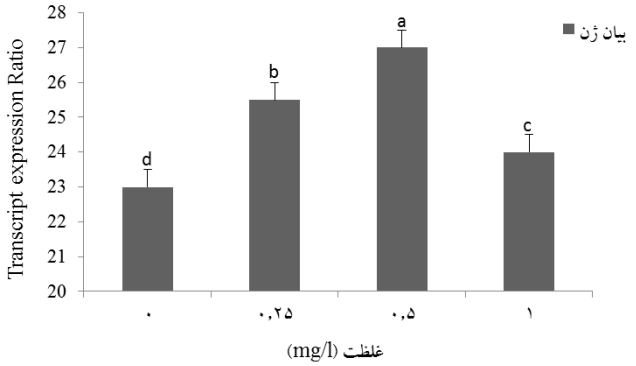


شکل ۵- میزان بیان ژن *CYP81Q1* در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف الیسیتور نانوذرات روی با استفاده از روش qRT-PCR

بررسی اثر غلظت‌های مختلف الیسیتور نیترات‌نقره بر بیان ژن *CYP81Q1* نشان داد که بدون در نظر گرفتن زمان، افزودن این الیسیتور در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر به سوسپانسیون سلولی کنجد باعث افزایش بیان ژن *CYP81Q1* نسبت به بیان آن در نمونه شاهد شد. بیشترین تغییر در بیان این ژن در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نیترات‌نقره است و بین غلظت‌های ۰/۲۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ٦). در بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار نانوذرات روی بر بیان ژن *CYP81Q1* بدون در نظر گرفتن زمان، همه تیمارها افزایش بیان ژن را نسبت به شاهد نشان دادند و بیشترین میزان بیان ژن در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات روی به‌دست آمد. براساس نتایج مقایسه میانگین اثر غلظت بر بیان ژن، با اعمال ۱ میلی‌گرم در لیتر الیسیتور نانوذرات روی میزان بیان ژن نسبت به غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت (شکل ۷).



شکل ٦- سطح بیان ژن *CYP81Q1* در غلظت‌های مختلف الیسیتور نیترات‌نقره

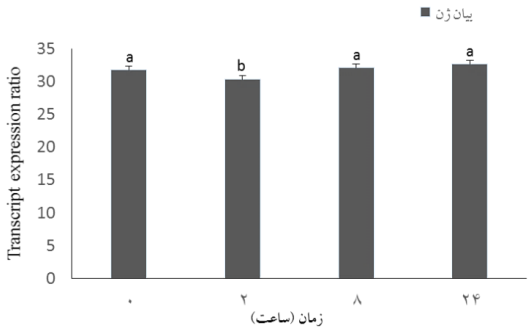


شکل ۷- بیان ژن *CYP81Q1* در غلظت‌های مختلف الیسیتور نانوذره روی

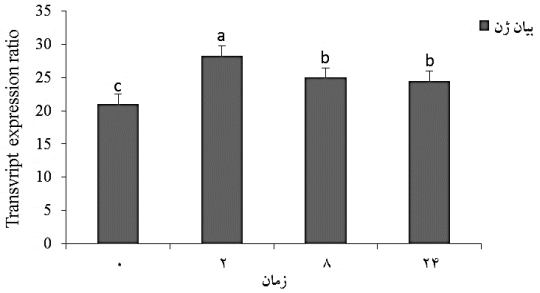
نتایج مقایسه میانگین اثر زمان بر بیان ژن *CYP81Q1* نشان داد بدون در نظر گرفتن غلظت الیسیتور نیترات‌نقره، میزان بیان ژن دو ساعت بعد از اعمال این الیسیتور کاهش و دوباره پس از ۸ و ٢٤ ساعت روند افزایشی پیدا کرد. همان‌طور که در شکل ۸ مشاهده می‌شود بین دو زمان ۸ و ٢٤ ساعت پس از اعمال الیسیتور نیترات‌نقره اختلاف معنی‌دار در تغییر بیان ژن نسبت به زمان صفر

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]

مشاهده نشد (شکل ۸). نتایج مقایسه میانگین اثر زمان بر بیان ژن *CYP81Q1* نشان داد بدون در نظر گرفتن غلظت الیسیتور نانوذرات روی، دو ساعت بعد ازاعمال الیسیتور این ژن بیشترین میزان بیان را داشت. اعمال الیسیتور نانوذرات روی در بازه‌های زمانی ۸ و ۲٤ ساعت باعث افزایش بیان ژن *CYP81Q1* در مقایسه با نمونه شاهد و کاهش بیان ژن نسبت به زمان دو ساعت شده است. بین دو زمان ۸ و ۲٤ ساعت اختلاف معنی‌دار در تغییر بیان ژن مشاهده نشد (شکل ۹).



شکل ۸- بیان ژن *CYP81Q1* در تیمارهای زمانی مختلف نیترات‌نقره

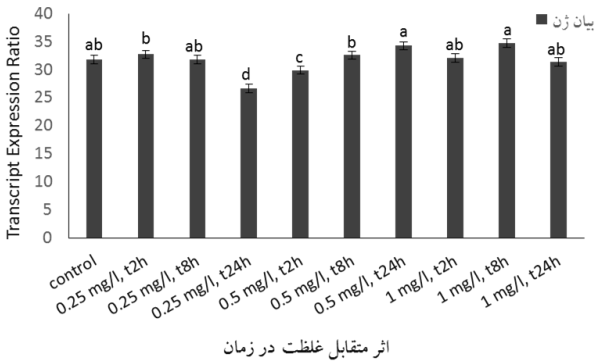


شکل ۹- بیان ژن *CYP81Q1* در تیمارهای زمانی مختلف نانوذرات روی

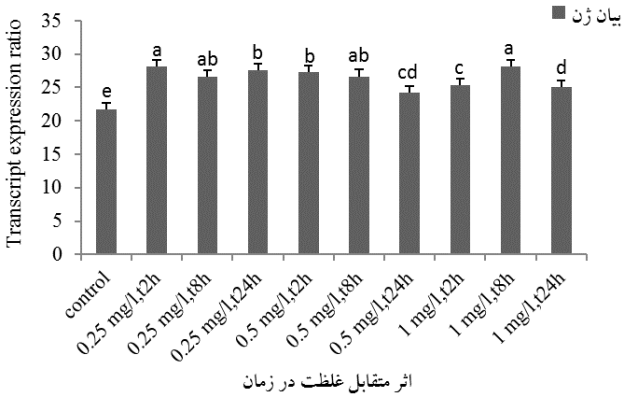
بحث

بررسی اثر متقابل غلظت‌های مختلف نیترات‌نقره در زمان نشان داد که بیشترین تغییر در بیان ژن، در بازه زمانی ۲٤ ساعت بعد از اعمال ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و ۱ میلی‌گرم در لیتر پس از ۸ ساعت الیسیتور تعیین شد و کمترین میزان بیان ژن در بازه زمانی ۲٤ ساعت بعد از اعمال ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر الیسیتور نیترات‌نقره مشاهده شد (شکل ۱۰). در مقایسه میانگین داده‌ها جهت بررسی اثر زمان و غلظت‌های مختلف نانوذرات روی بر بیان ژن *CYP81Q1* مشخص شد که اثر زمان، غلظت و اثر متقابل زمان در غلظت معنی‌دار و اثر الیسیتور، اثر متقابل الیسیتور در زمان، الیسیتور در غلظت و اثر سه‌جانبه الیسیتور در زمان در غلظت معنی‌دار نشده است.

در مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت نانوذرات روی در زمان، بیشترین تغییر در میزان بیان ژن در بازه زمانی دو ساعت بعد از اعمال ۰/۲۵ و ۸ ساعت در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر الیسیتور نانوذرات روی حاصل شد. اعمال الیسیتور در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف باعث افزایش بیان ژن *CYP81Q1* نسبت به نمونه شاهد شد (شکل ۱۱).



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت نیترات‌نقره در زمان بر سطح بیان ژن *CYP81Q1*



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت نانوروی در زمان بر سطح بیان ژن *CYP81Q1*

بررسی تاثیر الیسیتورهای نیترات‌نقره و نانوذرات روی بر میزان بیان ژن *CYP81Q1*

لیگنان‌ها گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان و دارای اثرات زیستی فراوان در پستانداران شامل فعالیت‌های ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی هستند. سزامین فراوان‌ترین لیگنان فورفوران در

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]

دانه کنجد است که توسط آنزیم سیتوکروم P450 ژن *CYP81Q1* از پیش ماده پینورزینول تولید می‌شود (شکل ۱). متابولیت‌های ثانویه گیاهی از ارزش اقتصادی و همچنین ارزش افزوده بسیار بالایی برخوردار هستند. سنتز شیمیایی این متابولیت‌ها معمولا پیچیده و پر هزینه است بنابراین تولید متابولیت‌ها با روش‌های مختلف زیست فناوری از جمله کشت سلولی گیاه روش جایگزین و سودمند است. دست‌ورزی محیط‌های کشت سلولی با استفاده ازالیسیتورها یکی از راهکارهای مهم جهت القای متابولیسم ثانویه و افزایش تولید متابولیت‌های ارزشمند است. لیگنان‌ها جزء متابولیت‌های ثانویه با اهمیت و دارای فعالیت‌های ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی در پستانداران هستند. از آن‌جایی‌که سنتز شیمیایی این مواد پیچیده و پرهزینه است و با توجه به اینکه کشت سوسپانسیون سلولی بسیاری از گیاهان از جمله برنج، مریم‌گلی و *Forsythia* برای سنتز متابولیت‌های ثانویه نتیجه مثبت داشته، می‌توان گفت که کشت سوسپانسیون سلولی کنجد نیز ابزاری مفید برای تولید لیگنان سزامین است. همچنین به‌دلیل اینکه اثر محرک‌های متفاوت در کشت سوسپانسیون سلولی گیاهان اثر مثبت در سنتز متابولیت‌های ثانویه داشته، می‌توان نتیجه گرفت که می‌توان از محرک‌های متفاوت در کشت سوسپانسیون سلولی کنجد برای افزایش احتمالی سنتز متابولیت ثانویه سزامین استفاده کرد.

در این تحقیق اثر الیسیتورهای نیترات‌نقره و نانوذرات روی بر سطح بیان ژن کلیدی *CYP81Q1* دخیل در بیوسنتز سزامین در کشت سوسپانسیون سلولی کنجد در سه سطح ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر و در چهار بازه زمانی صفر، ۲، ۸ و ۲٤ ساعت بررسی شد. نتایج الکتروفورز و اسپکتروفتومتری نشان‌دهنده کیفیت و کمیت خوب RNA بود (شکل ۳). میزان بیان ژن مؤثر در سنتز سزامین به‌وسیله دستگاه Real Time اندازه‌گیری شد. به‌منظور کاهش خطا آزمایش سه مرتبه تکرار شد. با توجه به داده‌های حاصل از qRT-PCR جهت بررسی بیان ژن *CYP81Q1* در غلظت‌های متفاوت نیترات‌نقره و نانوذرات روی مشاهده شد که در تمام سطوح مختلف الیسیتورها، ژن مورد نظر بیان شده است.

با توجه به منحنی رشد سلول‌ها (شکل ۲) در بازه زمانی روز هجدهم تا بیستم سلول‌ها در مرحله رشد لگاریتمی هستند و از روز بیستم به بعد وارد فاز سکون و مرگ می‌شوند. از آن‌جاکه الیسیتورها در روز هجدهم اعمال شدند و با توجه به اینکه افزایش بیان ژن تا ٢٤ ساعت بعد از اعمال الیسیتور یعنی روز نوزدهم اتفاق افتاده است، می‌توان نتیجه گرفت بهترین زمان برای اعمال الیسیتور جهت تحریک تولید سزامین، زمان قبل از وارد شدن سلول‌ها به فاز سکون است.

بررسی غلظت‌های مختلف نیترات‌نقره و نانوذرات روی بر بیان ژن *CYP81Q1* نشان داد که صرف‌نظر از زمان، بیشترین تغییر در بیان این ژن در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هر دو الیسیتور به‌دست آمد. در بررسی اثر متقابل غلظت در زمان بیشترین تغییر در میزان بیان ژن برای الیسیتور نیترات‌نقره، بعد از اعمال تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر / ٢٤ ساعت و تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر / ۸ ساعت و برای الیسیتور نانوذرات روی تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر/ ۲ ساعت و یک میلی‌گرم در لیتر / ۸ ساعت تعیین شد. تیمار یک میلی‌گرم در لیتر / ۸ ساعت در هر دو الیسیتور باعث افزایش بیان ژن *CYP81Q1* شد و در مقایسه، تیمار با الیسیتور نیترات‌نقره در غلظت و زمان مذکور افزایش بیان بیشتری داشته است. تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر / ۸ ساعت بعد از اعمال الیسیتورهای نیترات نقره و نانوذرات روی باعث افزایش بیان ژن شد. همچنین کمترین میزان بیان ژن برای هر دو الیسیتور در بازه زمانی ٢٤ ساعت بعد از اعمال ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر الیسیتور تعیین شد. در بیشتر غلظت‌ها و بازه‌های زمانی تیمارهای مختلف نیترات‌نقره و نانوذرات روی، افزایش بیان ژن*CYP81Q1* نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد. بنابراین با توجه به اینکه این ژن از ژن‌های اصلی مسیر سنتز سزامین است می‌توان گفت که به احتمال زیاد با اعمال این الیسیتور بیان این ژن و تولید لیگنان سزامین افزایش می‌یابد (شکل‌های ٤ تا ۱۱). در پژوهش‌های متعددی تاثیر الیسیتورهای مختلف بر بیان ژن *CYP81Q1* مطالعه شده است. براساس گزارشی تاثیر غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات کبالت در سوسپانسیون سلولی کنجد بر میزان بیان ژن *CYP81Q1* بررسی و بیشترین میزان بیان این ژن در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات کبالت ٢٤ ساعت بعد از اعمال

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]

الیسیتور تعیین شده است (Heidari far and Dehghan Nayeri 2015). در مطالعه حاضر نیز بیان ژن *CYP81Q1*، طی ۲٤ ساعت بعد از اعمال ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نیترات‌نقره به حداکثر رسید و بعبارتی نقره اثری مشابه کبالت بر بیان این ژن داشت.

پژوهشگران بیوسنتز لیگنان را در کشت سوسپانسیون سلولی *Forsythia* برای بهبود تولید آن بررسی کردند. این گیاهان لیگنان متایرزینول را از پیش ماده پینورزینول از طریق کاتالیز پینورزینول/لاریسرزینول‌رودکتاز و سکوئیزولارسیرزینول-دهیدروژناز تولید می‌کنند. آن‌ها کشت سوسپانسیون سلولی را از برگ‌های *Forsythia koreana* تهیه کردند و متوجه شدند که بیان ضعیف پینورزینول/لاریسرزینول‌ردکتاز و سکوئیزولارسیرزینول-دهیدروژناز باعث حذف کامل متایرزینول و تجمع ۲۰ برابری پینورزینول شد. به‌علاوه بیان هم‌زمان *CYP81Q1* و *PLR-RNAi* تولید سزامین را به اندازه پینورزینول افزایش داد. این نتایج نشان داد که سوسپانسیون سلولی ابزاری امیدبخش برای تولید پیش ماده لیگنان سزامین است (Jung et al. 2009).

بررسی تاثیر الیسیتورها شامل نیترات‌نقره و نانوذرات روی بر میزان بیان سایر ژن‌ها

یون‌های فلزی نظیر نیکل، کبالت، روی و منگنز با وجود مسمومیت‌زا بودن در غلظت‌های بالا برای تنظیم فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها ضروری هستند. تغییر غلظت میکروالمنت‌ها روشی برای افزایش محصولات متابولیت‌های ثانویه در کشت سلولی است (Ahmadikhah 2011). در تحقیقات انجام شده فلزاتی مانند کبالت، نیکل، آهن و نقره باعث تحریک تولید دامنه وسیعی از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شوند (Mithöfer et al. 2004). پژوهشگران تأثیر پنج نانوذره مس، کبالت، آهن، منگنز و مولیبدن را در تولید بتالانین و رشد سوسپانسیون سلولی گیاه چغندرقند (*Beta vulgaris*) بررسی کردند. براساس نتایج، با افزایش کبالت از ۱ میکرومولار به ۵ میکرومولار می‌توان بتالانین را تا ٦۰ درصد افزایش داد (بیشترین میزان افزایش متابولیت) اما غلظت‌های بالای کبالت (۱۰ تا ۲۰ میکرومولار) باعث افزایش متابولیت و رشد سلولی نشد (Trejo-Tapia et al. 2001). این نتیجه مشابه نتیجه حاصل از پژوهش حاضر است که به‌جای استفاده از غلظت‌های بالا باید زمان تیماردهی را افزایش داد.

براساس نتایج پژوهش‌های قبلی، غلظت‌های مختلف نقره و مس بر بیان ژن فلاون‌سینتاز۱ و آنتی‌اکسیدان‌های گیاهچه‌های ۲۱ روزه زیره سبز اثربخش هستند. نتایج آن‌ها بیانگر افزایش معنی‌دار ژن فلاون‌سینتاز۱ در حضور غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار نقره نسبت به نمونه شاهد بود که با افزایش غلظت تا ۱۰۰ میکرومولار بیان ژن کاهش داشت، همچنین بیان ژن در گیاهچه‌های تیمار شده با محرک مس نیز در مقایسه با نمونه شاهد افزایش نشان داد. از آنجائیکه در این تحقیق غلظت‌های متفاوت نیترات‌نقره بر بیان ژن اثرات متفاوتی داشتند به‌طوری‌که در حضور غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار نقره بیان ژن افزایش داشته و با افزایش غلظت، بیان ژن کاهش داشت می‌توان نتیجه گرفت اثر غلظت‌های به‌کار رفته و همچنین زمان به‌کار بردن الیسیتور بر بیان ژن دارای اهمیت می‌باشد (Yousefi et al. 2015).

برای بررسی تاثیر الیسیتور نانوکبالت و نانوکیتوزان روی میزان بیان ژن‌های کلیدی مسیر بیوسنتزی آرتمیزنین *SQS* و *DBR2* و مقدار تولید این ماده در سوسپانسیون سلولی درمنه از غلظت‌های ۰/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر نانوکبالت و ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر نانو کیتوزان در چهار بازه زمانی ۸، ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت استفاده شد. بیشترین میزان تولید آرتمیزنین در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر نانوکبالت و بعد از ۲٤ ساعت حاصل شد. در تیمار فوق، تولید آرتمیزنین نسبت به نمونه شاهد ۲/۲۵ برابر افزایش داشت. نتیجه این‌که تاثیر الیسیتورها به نوع آن‌ها بستگی دارد به‌طوری‌که یک الیسیتور ممکن است در غلظت پایین و الیسیتور دیگر در غلظتی بالاتر مؤثر باشد (Ghasemi et al. 2015).

مسیر بیوسنتز فنیل‌پروپانوئیدها مسئول فراهم کردن پیش‌ماده‌های لازم برای سنتز لیگنین‌ها، لیگنان‌ها، فلاوونوئیدها و برخی ترکیبات دیگر است. این مسیر از مسیر اسیدشیکمیک (مسیر بیوسنتزی اسیدهای‌آمینه حلقوی مانند فنیل‌آلانین و تیروزین) و مسیر اسیدمالونیک شروع می‌شود. فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) آنزیم حدواسط بین متابولیسم اولیه و ثانوی در گیاهان و اولین آنزیم کلیدی و تعیین کننده در ابتدای مسیر تولید فنیل‌پروپانوئیدها است (Bahabadi and Sharifi 2013). در پژوهشی تاثیر الیسیتور اسیدسالیسیلیک در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ و پیش ماده فنیل‌آلانین در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر روی میزان بیان ژن

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]

CYP81Q1 در کشت سوسپانسیون سلولی کنجد بررسی شد. نتایج بررسی بیان ژن با روش qRT-PCR نشان داد میزان بیان ژن *CYP81Q1* در همه نمونه‌های تیمار شده با اسیدسالیسیلیک و فنیل‌آلانین افزایش یافت. بیشترین افزایش بیان مربوط به غلظت یک میلی‌گرم در لیتر اسیدسالیسیلیک در بازه زمانی ۷۲ ساعت و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر فنیل‌آلانین در بازه زمانی ۷۲ ساعت بود. این الیسیتورهای غیرزیستی باعث افزایش بیان *CYP81Q1* و احتمالاً افزایش سزامین می‌شوند (Amanelahy et al. 2016). براساس نتایج گزارشی بیان ژن فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز، که در بسیاری از مسیرهای تولید متابولیت‌ها نقش دارد، تحت تیمار هورمون متیل‌جاسمونات در گیاه بابا آدم نشان داده است که متیل‌جاسمونات نیز مثل اسیدسالیسیلیک به‌عنوان الیسیتور غیرزیستی کارآمد با تاثیر بر بیان ژن فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز احتمالاً موجب افزایش ترکیبات پلی فنول در این گیاه می‌شود (Gholamian et al. 2018).

اثر نانوذرات نقره و نانو دی‌اکسیدتیتانیوم بر تغییر بیان ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتزی متابولیت سنگوئینازین در محیط کشت سوسپانسیون سلولی دو ریز نمونه حاصل از مریستم ساقه و ریشه در پنج بازه زمانی مورد مطالعه قرار گرفته است. طبق نتایج حاصل، تمام ژن‌های مورد مطالعه بیشترین تغییرات بیانی را در ساعات اولیه پس از تیمار با نانو محرک‌ها در هر دو ریزنمونه نشان دادند که پس از گذشت زمان، بیان آن‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در این آزمایش، مشابه تحقیق انجام شده برای مطالعه اثر محرک روی میزان بیان ژن از محیط کشت سوسپانسیون استفاده شد و با توجه به اینکه هر دو آزمایش دارای نتایج مثبت بود و از آن‌جایی‌که کاربرد محرک در این محیط آسان است، می‌توان گفت محیط سوسپانسیون محیط مناسبی برای مطالعه اثرات محرک می‌باشد (Khodayari et al. 2015).

در پژوهشی اثر الیسیتور نانوذرات نقره و تنش خشکی بر بیان ژن بتاکاروتن‌هیدروکسیلاز و افزایش کارتنوئید در اکوتیپ‌های مختلف زعفران (*Crocus sativus* L.) مثبت ارزیابی شده است (Sabertanha et al. 2017).

تاثیر نانوذرات روی بر بیان ژن‌های *STR*، *DAT* و *D4H* در سوسپانسیون سلولی گیاه پروانش (*Catharanthus roseus*) بررسی و مشخص شده است که بیشترین افزایش بیان ژن‌های *STR* و *D4H* در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و برای ژن *DAT* در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر نانوذرات روی در بازه زمانی ۸ ساعت بود (Rezaee et al. 2017). در پژوهش حاضر نیز نانوذرات روی در زمان ۸ ساعت ولی در غلظتی کمتر (۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین تاثیر را بر میزان بیان ژن داشتند. غلظت موثر الیسیتور به نوع گونه گیاهی بستگی دارد، به‌طوری‌که غلظتی از الیسیتور که در یک گیاه اثر تحریکی دارد، ممکن است در گیاه دیگر اثر نداشته باشد. به‌عنوان مثال، غلظت بالای الیسیتور قارچی (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در کشت سلول سرخدار (*Taxus baccata*) منجر به بیشترین میزان مرگ سلول‌ها و کمترین میزان تاکسول شده است، در حالی‌که غلظت پایین آن (۲۵ میلی‌گرم در لیتر) منجر به تولید بیشترین میزان تاکسول و کمترین میزان مرگ و میر سلول‌ها شده است (Bahabadi and Sharifi 2013). همچنین غلظت یک درصد (v/v) الیسیتورهای قارچی در کشت سلول کتان سفید (*Linum album*) بیشترین تاثیر افزایشی بر میزان لیگنان‌های پودوفیلوتوکسین و لاریسی‌رزینول را در این گیاه داشتند (Bahabadi et al. 2011).

نتیجه کلی این پژوهش نشان می‌دهد که تاثیر الیسیتور نیترات‌نقره بر میزان بیان ژن *CYP81Q1* با افزایش زمان اعمال الیسیتور بیشتر می‌شود و با توجه به این‌که بین زمان و غلظت اثر معنی‌دار وجود دارد و از آن‌جایی‌که غلظت‌های متفاوت الیسیتور اثر زیادی بر افزایش بیان نداشته است، مقرون به‌صرفه است که از غلظت کمتر الیسیتور در بازه زمانی طولانی‌تر استفاده شود. براساس نتایج مثبت نانوذرات روی و نیترات‌نقره بر تولید متابولیت‌های ثانویه در سایر گیاهان، همچنین افزایش بیان ژن کلیدی دخیل در تولید سزامین (*CYP81Q1*) در اثر تحریک با این دو الیسیتور در این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که الیسیتورهای نانوذرات روی و نیترات‌نقره جهت تحریک بیان ژن *CYP81Q1* و افزایش احتمالی سزامین مفید هستند. برای اثبات این موضوع و تعیین همبستگی بین میزان بیان ژن و تولید سزامین اندازه‌گیری مقدار سزامین تولید شده در اثر تحریک با الیسیتورها و مقایسه با نمونه شاهد لازم است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]

منابع

Ahmadikhah A (2011) Plants reaction to environmental abiotic stresses. Agricultural Science and Natural Resources University of Gorgan Publication, Iran (In Farsi).

Amanelahy S, Dehghan Nayeri F, Mohammadi Bazrgani M (2016) Effect of salicylic acid and phenylalanine on expression of key genes involved in the sesamin biosynthesis pathway in sesame. Genetic Engineering and Biosafety Journal 5: 155-166 (In Farsi).

Ashakumary L, Rouyer I, Takahashi Y, Ide T, Fukuda N, Aoyama T, Hashimoto T, Mizugaki M, Sugano M (1999) Sesamin a sesame lignan is a potent inducer of hepatic fatty acid oxidation in the rate metabolism. Pharmacognosy Reviews 48: 1303-1313.

Bahabadi SE, Sharifi M, Safaie N, Murata J, Yamagaki T, Satake H (2011) Increased lignan biosynthesis in the suspension cultures of *Linum album* by fungal extracts. Plant Biotechnology Reports 5: 367-373.

Bahabadi SE, Sharifi M (2013) Increasing the production of plant secondary metabolites using biotic elicitors. Journal of Cell and Tissue 4:119-128 (In Farsi).

Behzadirad M, Naghavi MR, Shahnejat Bushehri AA (2016) The effect of abiotic elicitors on the gene expression of some alkaloids of *Papaver bracteatum*. Modern Genetics Journal 11: 483-490 (In Farsi).

Fathi Rezaei P, Rakee E (2017) Investigation of sucrose effect on tropane alkaloid production and several biochemical parameters of *Datura stramonium* under *in vitro* culture condition. Journal of Cellular and Molecular Research 30: 375-386. (In Farsi).

Ghasemi B, Hosseini R, Dehghan Nayeri F (2015) The effect of nano cobalt and nano chitosan on artemisinin production and expression of *SQS* and *DBR2* genes in *Artemisia annua*. Genetic Engineering and Biosafety Journal 4: 25-39 (In Farsi).

Gholamian F, Talebi M, Sayed-Tabatabaei BE, Shiran B (2018) The effect of metyl jasmonate hormone on gene expression of phenylalanine ammonia lyase in *Arctium lappa* L. Modern Genetics Journal 13: 333-341. (In Farsi).

Heidari far M, Dehghan Nayeri F (2015) Effects of cobalt nanoparticles on involved genes expression in sesamin biosynthesis pathway in *Sesamum indicum* L. Journal of Cell and Tissue (JCT) 6:165-176 (In Farsi).

Ionkova I (2007) Biotechnological approaches for the production of lignans. Pharmacognosy Reviews 1: 427-443.

Jiang LZ, Jian JW, Zhou Li G (2010) Effect of biotic and abiotic elicitors on cell growth and tanshinone accumulation in Salvia miltiorrhiza cell cultures. Apple Microbiol Biotechnol 87: 137-144.

Jung KH, Ono E, Morimoto K, Yamagaki T, Okazawa A, Kobayashi A, Satake H (2009) Metabolic engineering of lignan biosynthesis in forsythia cell culture. Plant Cell Physiol 50: 2200-2209.

Khodayari M, Omidi M, Shahnejat Booshehri A, Yazdani D, Naghavi M (2015) Gene expression involved in sanguinarine biosynthesis affected by nano elicitors in *Papaver somniferum* L. Journal of Medicinal Plants 2: 41-54 (In Farsi).

Mehravaran L, Omidi M, Naghavi MR, Fakhery BA (2019) The effect of different concentrations of salicylic acid on some of morphological traits, gene expression of Ent-kaurenoic acid 13-hydroxylase and the amount of steviol glycosides in Stevia. Modern Genetics Journal 14: 89-99 (In Farsi).

Mithofer A, Schulze B, Boland W (2004) Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. FEBS Letters 566: 1-5.

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 473-497.

Ono E, Nakai M, Fukui Y, Satake H, Umezawa T (2006) Formation of two methylenedioxy bridges by a Sesamum *CYP81Q1* protein yielding a furofuran lignan, (+)-sesamin. Proceedings of the National Academy of Sciences 103: 10116-10121.

Raee M, Omidi M, Torabi S and Khidayari M (2016) Application of nano elicitors to produce aloin in cell suspension of *Aloe vera* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 32: 256-263 (In Farsi).

Rasouli H (2019) Devil's hand conceals behind the obscure side of AgNPs: A letter to the editor. International Journal of Biological Macromolecules 125:510-513.

Rasouli H, Popović-Djordjević J, Sayyed RZ, Zarayneh S, Jafari M, Fazeli-Nasab B (2020) Nanoparticles: A new threat to crop plants and soil rhizobia? Sustainable Agriculture Reviews 41: 201-214.

Rezaee Z, Hosseini R, Asghar B (2017) Evaluating the effect of zinc and cobalt nanoparticles on expression of *STR*, *DAT* and *D4H* genes in periwinkle (*Cataranthus roseus*) suspension culture. Journal of Cell and Tissue 7: 355-365 (In Farsi).

Sabertanha B, Fakheri B, Mahdinezhad N, Alizade Z (2017) Effects of silver nanoparticles elicitor and drought stress on the expression of beta-carotene hydroxylase (bch) gene on the yield of saffron carotenoid (Crocus sativus L.). Crop Biotechnology 17: 1-13 (In Farsi).

Samadi S, Ghasemnajad A, Alizadeh M (2014) Investigation on phenylalanine ammonia-lyase activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) affected by methyl jasmonate and salicylic acid in in-vitro conditions. Journal of Plant Production Research 21: 135-148. (In Farsi).

Trejo-Tapia GA, Jimenez-Aparicio A, Rodriguez-Monroy M, De Jesus-Sanchez A, Gutierrez-Lopez G (2001) Influence of cobalt and other microelements on the production of betalains and the growth of suspension cultures of *Beta vulgaris*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 67: 19-23.

Wong ML, Medrano JF (2005) Real-time PCR for mRNA quantitation. Biotechniques 39: 1-11.

Yousefi K, Riahi A, Baghizadeh A (2015) Investigation of the effects of Ag and Cu elicitors on flavone synthase 1 gene expression and some biochemical parameters on *Cuminum cyminum* L. endemic from Iran. Journal of Plant Research 28: 210-223 (In Farsi).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]

Zarayneh S, Akhavan Sepahi A, Jonoobi M, Rasouli H (2018) Comparative antibacterial effects of cellulose nanofiber, chitosan nanofiber, chitosan/cellulose combination and chitosan alone against bacterial contamination of Iranian banknotes. International Journal of Biological Macromolecules 15: 1045-1054.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.9.6]