

مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۴

شاپای چاپی: ۰۶۳۲ - ۲۷۱۷، شاپای الکترونیکی: ۹۸۰۴ - ۲۷۱۶

تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ایمنی زیستی



نوع مقاله: مروری [20.1001.1.27170632.1404.18.3.1.0](https://doi.org/10.1001.1.27170632.1404.18.3.1.0)

الناز زمانی و عباس عالم‌زاده*

بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

alemzadeh@shirazu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۱۰، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۸

صفحه ۲۱-۱

چکیده

فناوری نانو در سال‌های اخیر به‌عنوان رویکردی نوین در زیست‌فناوری گیاهی توجه گسترده‌ای را به خود جلب کرده است. این فناوری به‌ویژه در بهینه‌سازی فرایندهای کشت درون‌شیشه‌ای نظیر القای کالوس و باززایی، ظرفیت بالایی از خود نشان داده است. برنج به دلیل اهمیت ژنتیکی و اقتصادی و همچنین نقش آن به‌عنوان یک گونه مدل در علوم گیاهی، مدلی مناسب برای بررسی اثرات نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی به شمار می‌آید. این مقاله به بررسی جامع مطالعات اخیر پیرامون تأثیر نانوذرات بر تنظیم ژن‌های کلیدی، مسیرهای سیگنال‌دهی هورمونی، چرخه سلولی و پاسخ‌های اکسیداتیو در فرایند کالوس‌زایی برنج می‌پردازد. تمرکز اصلی بر مکانیزم‌های مولکولی اثرگذاری این نانوذرات است. شواهد نشان می‌دهد که نانوذرات فلزی و اکسیدی، از جمله AgNPs، ZnO-NPs، FeO-NPs و CuO-NPs، می‌توانند با تغییر در بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای تنظیم هورمونی به‌ویژه سیگنال‌دهی اکسین، در بازبرنامه‌ریزی سلول‌های گیاهی نقش‌آفرینی کنند. با این حال، کاربرد کنترل‌نشده نانوذرات ممکن است با القای تنش اکسیداتیو، آسیب به دی‌ان‌ا و تغییرات اپی‌ژنتیکی، خطراتی برای پایداری ژنومی و ایمنی زیستی ایجاد کند. عواملی همچون نوع، اندازه، غلظت و ویژگی‌های سطحی نانوذرات نقش تعیین‌کننده‌ای در پیامدهای زیستی آن‌ها دارند. در مجموع، اگرچه نانوذرات به‌عنوان ابزاری نویدبخش در تقویت مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی مطرح هستند، استفاده ایمن و هدفمند از آن‌ها مستلزم ارزیابی‌های دقیق نانوسمیت در برنج است.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، توالی‌یابی آر‌ان‌ا، درون‌تنی، زیست‌فناوری، کشت بافت

فناوری نانو در علوم گیاهی: چشم‌اندازی نوین در زیست‌فناوری

فناوری نانو طی سال‌های اخیر به‌عنوان یک حوزه میان‌رشته‌ای تحول‌آفرین، جایگاه برجسته‌ای در علوم گیاهی و زیست‌فناوری کشاورزی یافته است. این فناوری با تکیه بر طراحی و استفاده از نانوذرات با ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی منحصربه‌فرد، زمینه را برای توسعه ابزارهای پیشرفته در راستای افزایش بهره‌وری زراعی و بهینه‌سازی فرآیندهای زیستی فراهم ساخته است (Kumari *et al.*, 2023). نانوذرات با ابعاد کمتر از ۱۰۰ نانومتر، به دلیل نسبت سطح به حجم بالا و قابلیت عملکرد چندگانه، قادرند نقش‌های متعددی در سامانه‌های زیستی ایفا کنند که از جمله آن‌ها می‌توان به تشخیص سریع عوامل بیماری‌زا، افزایش فراهمی زیستی عناصر غذایی و نظارت بر سلامت گیاه و خاک از طریق نانوحسگرها اشاره کرد (Kumari *et al.*, 2023). چنین کاربردهایی نشان می‌دهند که نانوذرات مهندسی‌شده می‌توانند به‌عنوان یکی از ارکان نوین کشاورزی هوشمند، چالش‌های روش‌های سنتی تولید گیاهان را تا حد زیادی مرتفع سازند. به‌ویژه در زیست‌فناوری گیاهی و کشت بافت، نانوذرات به‌عنوان عوامل تسهیل‌گر در باززایی درون‌تنی، جایگاه ویژه‌ای یافته‌اند (Pathak *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2025). مطالعات اخیر شواهدی مستند ارائه کرده‌اند که نشان می‌دهد استفاده از نانوذرات فلزی مانند نقره، طلا و نانوذرات اکسید فلزات نظیر ZnO، Fe₂O₃ و TiO₂ می‌تواند فرآیندهایی همچون القای کالوس، اندام‌زایی، جنین‌زایی سوماتیکی و حتی انتقال ژن را به‌شکل معناداری ارتقا بخشد. مکانیسم‌هایی از قبیل کاهش تنش اکسیداتیو، افزایش بیان ژن‌های مرتبط با باززایی و تسریع چرخه سلولی از جمله عواملی هستند که در این میان مطرح شده‌اند (Prasad *et al.*, 2024). مطالعات اخیر گزارش کرده‌اند که استفاده همزمان

از فناوری نانو و کشت بافت می‌تواند نرخ میکروتکثیر (Micropropagation)، کیفیت ریشه‌زایی و سازگاری گیاهچه‌های باززایی‌شده را نسبت به روش‌های مرسوم بهبود دهد، که این امر نویدبخش ایجاد سیستم‌های تولید گیاهی کارا تر و سازگارتر با محیط زیست است (Gunaseena *et al.*, 2024).

یکی از جنبه‌های کلیدی و چالش‌برانگیز در نانوزیست‌فناوری گیاهی، درک دقیق دینامیک رفتار نانوذرات در سیستم‌های زیستی گیاه است. جذب، انتقال، توزیع درون‌سلولی و انباشت نانوذرات در بافت‌های مختلف گیاه، به نوع نانوذره، اندازه، پوشش سطحی و مسیر ورود آن وابسته است (Azim *et al.*, 2023). بررسی‌های اخیر تأکید کرده‌اند که علی‌رغم توسعه روش‌های نوآورانه‌ی نانوپایه برای انتقال ژن؛ از جمله تزریق با سرنگ، نفوذ تحت خلأ، بمباران ذره‌ای، مگنتوفکشن (Magnetofection)، به‌کارگیری امواج فراصوت و محلول‌پاشی، هنوز مسیرها و مکانیسم‌های زیربنایی ورود نانوذرات به درون سلول‌های گیاهی به‌طور کامل شناسایی نشده‌اند و تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است (Shivashakarappa *et al.*, 2025). نانوکودها و نانوالقاگرها (Nano-elicitors) می‌توانند کارایی مصرف عناصر غذایی و رشد گیاه را بهبود بخشند، اما ممکن است در غلظت‌های خاص منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب‌های دی‌ان‌ا شوند (Radkhah *et al.*, 2024). ارزیابی‌های دقیق زیست‌سنجی، آزمون‌های سمیت‌سنجی و تدوین دستورالعمل‌های ایمنی برای بهره‌برداری پایدار از نانوذرات ضروری است (Feizi *et al.*, 2023). در سال‌های اخیر، توسعه فناوری‌های اُمیکس مانند رونویسی‌نگاری (Transcriptomics)، پروتئین‌نگاری (Proteomics) و مطالعات ارتباطی کل ژنوم (Genome-wide association studies, GWAS)

"زمانی و عالم‌زاده، تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ..."

پایین‌دستی، در کنترل اپی‌ژنتیک فرآیند کالوس‌زایی مشارکت دارد (Song et al., 2024). هم‌چنین مطالعه‌ای مبتنی بر مطالعات ارتباطی کل ژنوم در برنج نشان داد که چندین QTL و ژن نامزد، شامل ژن‌هایی مانند *zinc beta-tubulin* و *finger protein* و آنزیم *lysophosphatidic acid acyltransferase* با درصد القای کالوس در محیط‌های کشت مختلف (MS، N6 و B5) مرتبط هستند. این یافته‌ها درک عمیق‌تری از سازوکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مؤثر بر کالوس‌زایی فراهم می‌سازند (Kamolsukyeunyoung et al., 2024).

در کنار عوامل ژنتیکی، شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط کشت نیز تأثیر مستقیمی بر کارایی القای کالوس دارد. یکی از عوامل مهم در این زمینه، غلظت آهن قابل‌دسترس در محیط است. شواهد تجربی نشان می‌دهند که افزایش غلظت Fe به میزان ۳۰۰ میکرومولار در محیط کشت برنج منجر به حدود ۶۵ درصد افزایش در رشد کالوس می‌شود که احتمالاً از طریق افزایش جذب مواد مغذی، تحریک تقسیم سلولی در بافت‌های مرستما و فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی هورمونی و متابولیک تحقق می‌یابد (Hayidureh et al., 2025). افزون بر این، انتخاب ژنوتیپ و شرایط محیطی مناسب مانند نوع رستواره (explant)، محیط کشت، هورمون‌های رشد، منابع کربن و مکمل‌های آلی به‌طور چشمگیری بر موفقیت القای کالوس و توانایی باززایی گیاه کامل، تأثیرگذار است. برای نمونه، در برنج استفاده از محیط MS همراه با ۴،۲-D و کینتین در کنار مالتوز، عملکرد مطلوبی در القای کالوس ایجاد کرده است (Aananthi and Anandakumar, 2020). اهمیت فرآیند کالوس‌زایی تنها به تولید توده‌ای سلولی محدود نمی‌شود، بلکه این مرحله بستری اساسی برای اجرای تکنیک‌هایی نظیر ویرایش ژنوم (CRISPR/Cas9)، خاموشی ژن (RNAi)، انتقال

درک عمیق‌تری از تعامل نانوذرات با مسیرهای مولکولی و تنظیم ژنی در گیاهان فراهم کرده‌اند. این رویکردهای سیستمی امکان شناسایی ژن‌ها، مسیرهای سیگنال‌دهی و مکانیسم‌های مولکولی دخیل در فرآیند کالوس‌زایی تحت تأثیر نانوذرات را فراهم ساخته و چشم‌انداز تازه‌ای برای کاربرد فناوری نانو در تنظیم باززایی گیاهی ترسیم می‌نمایند (Fiol et al., 2021).

کالوس‌زایی و جایگاه آن در زیست‌فناوری گیاهی

کالوس‌زایی در گیاهان فرآیندی است که طی آن سلول‌های تمایز نیافته تحت تأثیر هورمون‌های رشد موجود در محیط کشت، وارد چرخه تقسیم سلولی شده و توده‌ای غیرتخصصی را تشکیل می‌دهند که قابلیت تمایز به اندام‌های گیاهی یا جنین‌های سوماتیک را دارد. این توده‌های کالوسی به‌عنوان زیربنای بسیاری از فناوری‌های زیست‌فناوری گیاهی شناخته می‌شوند و نقشی محوری در مسیرهای تکوینی گیاه ایفا می‌کنند (Fehér, 2023). در این میان، کارایی و پایداری القای کالوس در گونه‌های مختلف گیاهی، به‌ویژه در برنج به‌عنوان یکی از محصولات استراتژیک جهان، به‌طور مستقیم بر موفقیت نهایی فرایندهایی مانند انتقال ژن، تولید لاین‌های نو ترکیب و برنامه‌های اصلاح ژنتیکی اثر می‌گذارد. نرخ/درصد القای کالوس (Callus Induction Rate - CIR)، به‌عنوان شاخصی تعیین‌کننده در موفقیت فناوری‌های وابسته به باززایی در برنج شناخته می‌شود (Do et al., 2024; Yimam et al., 2025). برای نمونه، ژن *OsCycB1;5* به‌عنوان یکی از اجزای تنظیم‌کننده تقسیم سلولی، در فرآیند ورود سلول‌ها به فاز G2/M چرخه سلولی ایفای نقش می‌کند و حذف عملکرد آن منجر به کاهش معنادار نرخ تقسیم سلولی و افت چشمگیر در توانایی کالوس‌زایی شده است. به‌طور مشابه، ژن *OsSDG715* با تنظیم متیلاسیون هیستونی و تعدیل بیان ژن‌های

ژن با استفاده از پلاسמידها و حتی غربالگری و انتخاب ژنوتیپ‌های جدید با صفات مطلوب فراهم می‌آورد. بدون دستیابی به یک سیستم کارآمد، پایدار و قابل تکرار برای القای کالوس، بسیاری از برنامه‌های زیست‌فناوری گیاهی با چالش جدی مواجه خواهند شد (Song *et al.*, 2024; Song *et al.*, 2025). بنابراین، کالوس‌زایی را می‌توان حلقه اتصال ضروری میان فناوری‌های مهندسی ژنتیک و باززایی گیاهی دانست، نقطه‌ای که در آن توانایی تنظیم رشد سلولی، بازبرنامه‌ریزی بیان ژن و تعاملات سلول-محیط به نقطه تلاقی می‌رسند (Youngstrom *et al.*, 2025). به‌ویژه در برنج، درک سازوکارهای مولکولی، هورمونی و بیوشیمیایی مؤثر بر القای کالوس، نه تنها در پیشبرد پژوهش‌های بنیادی، بلکه در کاربردهای عملی همچون تولید ارقام متحمل به تنش، افزایش عملکرد و بهبود کیفیت تغذیه‌ای محصول نیز نقشی حیاتی ایفا می‌کند (Zheng *et al.*, 2022; Zeng *et al.*, 2025).

برنج: مدلی کارآمد برای مطالعات مولکولی و زیست‌فناوری

برنج (*Oryza sativa* L.) به‌عنوان نخستین گونه زراعی با ژنوم به‌طور کامل توالی‌یابی‌شده، به دلیل اندازه نسبتاً کوچک ژنوم آن (~۴۳۰ مگاباز در ۱۲ کروموزوم) و تنوع ژنتیکی گسترده، به‌عنوان یک گونه مدل برجسته در زیست‌شناسی گیاهی و ژنتیک غلات شناخته می‌شود (Mohd Hanafiah *et al.*, 2020). این ویژگی‌ها موجب شده است که برنج به‌طور گسترده در پژوهش‌های بنیادی و کاربردی، از جمله واکاوی عملکرد ژن‌ها، مطالعات پاسخ به تنش‌های محیطی و تنظیم رشد گیاه مورد استفاده قرار گیرد (Mohd Hanafiah *et al.*, 2020). برنج با برخورداری از منابع متعددی مانند بانک‌های ژرم‌پلاسما و ژنوتیپ، کتابخانه‌های موتانت، روش‌های آسان انتقال ژن از طریق

Agrobacterium، داده‌های گسترده ترانسکریپتومیک و مدل‌های ژنومی در مقیاس کل ژنوم، امکان انجام مطالعات پیشرفته‌ای نظیر ژن‌سنجی گسترده، مطالعات ارتباطی کل ژنوم و مدل‌سازی سیستم‌های متابولیک را فراهم ساخته است (Lakshmanan *et al.*, 2016; Shimamoto and Kyojuka, 2002). از آنجا که برنج یکی از مهم‌ترین غلات در تأمین امنیت غذایی جهانی است، کاربرد آن در پژوهش‌های اصلاح نباتات و علوم زیستی اهمیت چشمگیری یافته است. بسیاری از ژن‌های مرتبط با صفات کمی، همچون ارتفاع گیاه، مقاومت به بیماری‌ها و سازگاری با شرایط نامساعد، نخستین بار در برنج شناسایی و به‌کار گرفته شدند و سپس این دانش به سایر گونه‌های غلات منتقل گردید (Liu *et al.*, 2018).

همچنین مطالعات متعددی در زمینه مدل‌سازی متابولیک برنج (GSMN/GEM) انجام شده است تا سازوکارهای متابولیکی و تنظیمات مولکولی آن در شرایط تنش‌زا روشن گردد. این مدل‌ها با بهره‌گیری از تحلیل داده‌های آمیکس، مسیرهای کلیدی تنظیم رشد و مقاومت را شناسایی کرده و امکان طراحی رویکردهای کارآمدتر در اصلاح ژنتیکی را فراهم می‌آورند (Lakshmanan *et al.*, 2016; Jamalirad *et al.*, 2024; Sadeghi *et al.*, 2025). در زیست‌شناسی تکاملی-توسعه‌ای نیز، برنج به‌عنوان یک گونه مدل برای مطالعه تفاوت‌های اختصاصی و حفاظت‌شده در واکنش‌های هورمونی، تقسیم سلولی، تشکیل ریشه‌های تاجی و جانبی و دیگر ویژگی‌های مورفولوژیک به‌کار می‌رود. این گیاه به دلیل برخورداری از منابع ژنتیکی ارزشمند و فناوری‌های پیشرفته، از جمله تحلیل داده‌های جامع ژنومی و روش‌های انتقال ژن، به‌عنوان ابزاری کلیدی در درک فرایندهای فیزیولوژیک و تولید صفات هدفمند در غلات شناخته می‌شود. بنابراین، جایگاه برنج به‌عنوان یک گونه مدل در زیست‌شناسی

"زمانی و عالم‌زاده، تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ..."

می‌توانند بر تحرک، تجمع و پیامدهای فیزیولوژیک آن‌ها در سلول‌های گیاهی اثرگذار باشند (Azim *et al.*, 2023). همچنین واکنش گیاهان به نانوذرات طیفی از اثرات مثبت تا منفی را شامل می‌شود. این اثرات ممکن است در سطوح مختلف از جمله رشد گیاه، فتوسنتز، تنظیم هورمونی، بیان ژن و فرآیندهای متابولیک اولیه و ثانویه دیده شود و بستگی زیادی به نوع نانوذره، غلظت، مرحله رشدی گیاه و نوع گونه دارد (Solanki *et al.*, 2022; Jasim *et al.*, 2015). از سوی دیگر، گزارش‌هایی متناقض درباره‌ی سمیت نانوذرات در سیستم گیاهی وجود دارد. برخی نانوذرات می‌توانند از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن، سبب بروز سمیت سلولی و ژنی شوند. شدت این اثرات سمی تحت تأثیر پارامترهایی نظیر اندازه، بار سطحی، غلظت و پوشش سطحی نانوذرات قرار دارد (Horie and Tabei, 2021). اگرچه مطالعات متعددی بر تعامل نانوذرات با سیستم گیاهی تمرکز دارند، اما هنوز مکانیسم دقیق جذب، انتقال، تجمع و تحول ساختاری آن‌ها در بافت‌های گیاهی به‌خوبی روشن نشده است. درک دقیق این مکانیسم‌ها برای توسعه‌ی استراتژی‌های نوین مبتنی بر نانوذرات در کشاورزی، به‌ویژه در پاسخ‌دهی گیاه به تنش‌های محیطی و تنظیم مسیرهای مولکولی کلیدی نظیر کالوس‌زایی، ضروری است.

تأثیر نانوذرات بر فرآیند کالوس‌زایی در برنج

در سال‌های اخیر، نانوذرات (NPs) به‌عنوان محرک‌های جدید فیزیولوژیک و مولکولی در علوم گیاهی مطرح شده‌اند که می‌توانند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر مسیرهای تنظیم رشد و باززایی گیاهان تأثیر بگذارند. یکی از فرایندهای کلیدی که تحت تأثیر نانوذرات قرار می‌گیرد، کالوس‌زایی در برنج است؛ فرایندی که پایه بسیاری از تکنیک‌های انتقال ژن، باززایی و اصلاح ژنتیکی در

گیاهی بسیار برجسته است، این اهمیت نه‌تنها ناشی از نقش اقتصادی آن، بلکه به‌سبب توانایی بی‌نظیرش در ایجاد پیوند میان علوم بنیادی و کاربردی در اصلاح و به‌نژادی گیاهان زراعی است.

مکانیسم‌های ورود و انتقال نانوذرات در بافت‌های گیاهی

نانوفناوری به‌عنوان یکی از حوزه‌های نوظهور و میان‌رشته‌ای، ظرفیت بالایی برای تحول در علوم زیستی به‌ویژه در کشاورزی دارد. نانوذرات به‌دلیل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاص خود از جمله اندازه کوچک، سطح فعال بالا، بار سطحی و رفتار واکنش‌پذیر، به‌عنوان مواد چندکاره (multifunctional) در بهبود رشد گیاه، مقاومت در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی و ارتقاء بهره‌وری محصول به‌کار گرفته می‌شوند (Rani *et al.*, 2023). مسیر ورود نانوذرات به گیاه و نحوه‌ی انتقال آن‌ها درون بافت‌های گیاهی، تحت تأثیر عوامل متعددی نظیر نوع نانوذره، روش مصرف (پوشش بذر، کاربرد ریشه‌ای یا محلول‌پاشی برگ)، نوع گیاه، ساختار اپیدرمی اندام‌های گیاهی، شرایط محیطی (نور، دما و رطوبت) و ویژگی‌های میکروبی خاک یا سطح برگ قرار دارد (Khan *et al.*, 2022). نانوذرات می‌توانند از طریق اپیدرم ریشه‌ها یا روزنه‌های برگ وارد گیاه شوند. پس از ورود، انتقال آن‌ها از مسیرهای آپوپلاستی (بین سلولی) یا سیم‌پلاستی (از طریق پلاسمودسماتا) صورت می‌گیرد و در نهایت به اندام‌های هوایی یا زیرزمینی منتقل می‌شوند (Azim *et al.*, 2023; Yavas *et al.*, 2025).

بخشی از نانوذرات در حالت اولیه خود (pristine form) در گیاه باقی می‌مانند، در حالی که برخی دیگر دچار دگرگونی زیستی (Biotransformation) شده و به فرم‌های یونی یا ترکیبات آلی تبدیل می‌شوند. این تغییرات

توانایی در تنظیم بیان ژن، تعدیل تعادل هورمونی و تعامل با مسیرهای پاسخ به تنش، می‌توانند به‌عنوان ابزاری نوظهور برای بهینه‌سازی کالوس‌زایی در برنج مورد استفاده قرار گیرند؛ به شرط آن‌که شرایط کاربرد آن‌ها به‌دقت کنترل شود و پیامدهای کوتاه‌مدت و بلندمدت آن‌ها با بهره‌گیری از رویکردهای آمیکس و تحلیل‌های زیست‌داده‌ورزی به‌طور جامع ارزیابی گردد.

تنظیم ژن‌های کلیدی کالوس‌زایی در پاسخ به نانوذرات

در سال‌های اخیر پژوهش‌ها نشان داده‌اند که نانوذرات فلزی مانند اکسید آهن (FeO NPs) و نقره (AgNPs) قادرند بر فرایند کالوس‌زایی در برنج اثر بگذارند. این تأثیرات به‌طور مستقیم با تغییر بیان ژن‌های کلیدی مرتبط با تقسیم سلولی، پاسخ‌های هورمونی و سازوکارهای اپی‌ژنتیکی ارتباط دارد. در یک مطالعه گزارش شد که استفاده از FeO-NPs سنتز شده به روش سبز در محیط کشت بهینه، نه تنها نرخ القا و رشد کالوس را افزایش داد، بلکه بیان ژن‌های مرتبط با آنتی‌اکسیدان‌ها شامل SOD ، APX ، CAT و POD را نیز ارتقا بخشید؛ که این امر نشان‌دهنده فعال‌سازی ژن‌های موثر در مقاومت به تنش اکسیداتیو است (Ullah et al., 2024). همچنین بررسی‌های مولکولی نشان داده‌اند که AgNPs سنتز شده می‌توانند نرخ کالوس‌زایی و باززایی اندام در رقم IR64 را افزایش دهند. این اثر افزایشی با کاهش سطح هورمون‌های تنظیم‌کننده مانند ABA و اتیلن همراه بوده و بیان ژن‌های موثر در متابولیسم گونه‌های فعال اکسیژن را نیز تحت تأثیر قرار داده است، موضوعی که بیانگر نقش نانوذرات در تعدیل مسیرهای سیگنالینگ هورمونی و پاسخ‌های ژنی مرتبط با تنش است (Manickavasagam et al., 2019; Pathak et al., 2023).

این گونه محسوب می‌شود (Gunaseena et al., 2024). نانوذرات فلزی مانند نقره (AgNPs)، طلا (AuNPs)، اکسید روی (ZnO NPs) و دی‌اکسید تیتانیوم ($\text{TiO}_2 \text{ NPs}$) از جمله پرکاربردترین نانوذرات در کشت‌های درون‌شیشه‌ای گیاهان هستند. مطالعات نشان داده‌اند که نانوذرات قادرند با القای تغییر در بیان ژن‌های مرتبط با چرخه سلولی، مسیرهای هورمونی و تنظیم گونه‌های فعال اکسیژن، فرایند کالوس‌زایی را بهبود بخشند و به توسعه کالوس‌های با توان تمایزی بالا کمک کنند (Balamurugan et al., 2024).

در برنج، گزارش شده که جایگزینی منابع آهن مرسوم با نانوذرات FeO در محیط کشت MS به‌طور قابل توجهی کالوس‌زایی، راندمان باززایی و کنترل آلودگی را در کشت بافت برنج افزایش می‌دهد. به‌طور خاص، نانوذرات FeO علاوه بر بهبود رشد گیاه و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، می‌توانند به‌عنوان رویکردی نویدبخش برای به‌کارگیری در سایر غلات مورد توجه قرار گیرند (Ullah et al., 2024). افزون بر این، نتایج مطالعات ترانسکریپتومی روی گیاهان تیمار شده با نانوذرات نشان داده است که ژن‌های مرتبط با پاسخ به تنش اکسیداتیو نیز طی کالوس‌زایی فعال می‌شوند. این یافته حاکی از آن است که القای خفیف تنش توسط نانوذرات می‌تواند به‌عنوان سیگنالی برای بازتنظیم برنامه‌های رشد سلولی عمل کند (Kumar et al., 2018; Munir et al., 2023). با این حال، باید توجه داشت که تأثیر نانوذرات بر کالوس‌زایی وابسته به نوع نانوذره، اندازه، غلظت و مدت زمان تیمار است. مصرف بیش‌ازحد یا استفاده در غلظت‌های بالا می‌تواند منجر به سمیت سلولی، القای نکروز یا اختلال در مسیرهای سیگنال‌دهی شود که به‌دنبال آن کاهش راندمان کالوس‌زایی یا توقف رشد رخ می‌دهد (Ochatt et al., 2023; Gunaseena et al., 2024). در مجموع، نانوذرات با

"زمانی و عالم‌زاده، تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ..."

می‌شود (Song *et al.*, 2024). همچنین، گزارش شده است که OsSDG715 با تنظیم سیگنالینگ اکسین و سیتوکینین از طریق متیلاسیون H3K9، بیان ژن‌های مرتبط با این هورمون‌ها نظیر *ARR10* و *OsCKX4*، *OsYUCCA6*، *OsIAA14* را کنترل کرده و در نتیجه به افزایش نرخ کالوس‌زایی کمک می‌کند (Song *et al.*, 2025). بر پایه این شواهد، می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات از طریق تنظیم اپی‌ژنتیک (مثل نقش OsSDG715) و مسیرهای هورمونی چرخه سلولی (مثل *OsCycB1;5*) همراه با تأثیر بر بیان ژن‌های مرتبط با تنش، قادرند به‌طور مؤثری فرایند القای کالوس را تحت کنترل قرار دهند (جدول ۱).

در سطح مولکولی، شواهد نشان می‌دهند که نانوذرات می‌توانند بیان ژن‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو، تغییرات اپی‌ژنتیکی و تکثیر سلولی را تنظیم کنند. در یک بررسی جامع مشخص شد که نانوذرات غالباً موجب القای ژن‌های موثر در تنش اکسیداتیو، متیلاسیون دی‌ان‌ا، مسیرهای سیگنالینگ و فرایندهای تکثیر سلولی می‌شوند (Javaid *et al.*, 2025). در شبکه ژنتیکی کالوس‌زایی برنج، ژن‌هایی همچون *OsCycB1;5* (سایکلین B) *OsSDG715* (متیلاز هیستون H3K9) نقش محوری در القای کالوس دارند. مطالعه‌ای نشان داد که *OsCycB1;5* برای القای کالوس از طریق کنترل چرخه سلولی ضروری است و حذف آن منجر به کاهش چشمگیر نرخ القا

جدول ۱. اثر نانوذرات بر تنظیم ژن‌های کلیدی کالوس‌زایی و مسیرهای مولکولی مرتبط در برنج

منابع	پیامد فیزیولوژیک و تکوینی	ژن‌ها و تنظیمات مشاهده‌شده	مسیر یا فرآیند مولکولی تحت تأثیر	گونه مورد مطالعه	نوع نانوذره
Ullah <i>et al.</i> , 2024	افزایش نرخ القا و رشد کالوس؛ تقویت مقاومت به تنش اکسیداتیو	افزایش بیان APX، SOD، POD و CAT	فعال‌سازی مسیرهای آنتی‌اکسیدانی و کاهش تنش اکسیداتیو؛ افزایش تقسیم سلولی	برنج	نانوذرات اکسید آهن (FeO-NPs) سنتز شده به روش سبز
Pathak <i>et al.</i> , 2023; Manickavasagam <i>et al.</i> , 2019	افزایش کالوس‌زایی و باززایی اندام	تنظیم ژن‌های مرتبط با ROS؛ کاهش سطح ABA و اتیلن	تعدیل مسیرهای سیگنالینگ هورمونی (ABA و اتیلن)؛ تنظیم متابولیسم ROS	برنج	نانوذرات نقره (AgNPs)
Javaid <i>et al.</i> , 2025	بهبود راندمان کالوس‌زایی و تحمل تنش	القای ژن‌های مرتبط با پاسخ‌های تنشی و اپی‌ژنتیکی	مسیرهای استرس اکسیداتیو، متیلاسیون دی‌ان‌ا، سیگنالینگ هورمونی و تقسیم سلولی	برنج	نانوذرات فلزی/اکسیدی متنوع با ویژگی‌های نانومتری (بررسی چندمنبعی)
Song <i>et al.</i> , 2024	کاهش تکثیر سلولی و القای کالوس	<i>OsCycB1;5</i> : ژن کلیدی کنترل‌کننده چرخه سلولی؛ حذف آن کاهش شدید کالوس‌زایی	چرخه سلولی	برنج	بررسی ژنتیکی بدون نانوذره

Song <i>et al.</i> , 2025	افزایش کالوس‌زایی از طریق تنظیم اپی‌ژنتیک-هورمونی	تنظیم <i>OsSDG715</i> بیان <i>OsIAA14</i> <i>OsYUCCA6</i> <i>ARR10</i> و <i>OsCKX4</i>	متیلاسیون هیستون H3K9 و تنظیم مسیرهای اکسین/سیتوکینین	برنج	مسیر اپی‌ژنتیک
---------------------------	---	---	--	------	----------------

نقش نانوذرات در تنظیم فیتوهورمون‌ها طی کالوس‌زایی

فیتوهورمون‌ها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی رشد و تمایز سلولی، نقشی محوری در فرآیند کالوس‌زایی ایفا می‌کنند؛ زیرا تعادل و تعامل میان آن‌ها مسیر سرنوشت سلول‌های گیاهی را از بازبرنامه‌ریزی (Dedifferentiation) تا باززایی هدایت می‌کند. در این میان، نانوذرات به‌عنوان ابزارهای نوظهور زیست‌فناورانه، توانایی آن را دارند که از طریق برهم‌کنش با مسیرهای فیتوهورمونی، فرآیندهای پیچیده‌ای همچون تنظیم ژن، سیگنال‌دهی و تمایز سلولی را تحت تأثیر قرار دهند (Tripathi *et al.*, 2025). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که نانوذرات می‌توانند پاسخ‌های هورمونی گیاه را از طریق سازوکارهایی نظیر تحریک یا مهار بیوسنتز هورمون‌ها، تغییر در ذخیره‌ی درون سلولی هورمون‌ها و تعدیل انتقال و حساسیت گیرنده‌های سلولی نسبت به فیتوهورمون‌ها تنظیم نمایند (Tripathi *et al.*, 2025). این اثرات چندلایه نانوذرات بر هورمون‌ها در سطوح فیزیولوژیک و سلولی، منجر به تحولات چشمگیر در الگوهای بیان ژن، مسیرهای متابولیکی و پاسخ‌های تنشی می‌شود. شواهد متعددی تأیید کرده‌اند که نانوذرات قادرند مسیرهای سیگنال‌دهی کلیدی شامل اکسین (IAA)، اسید آبسزیک (ABA)، اسید سالیسیلیک (SA)، جیبرلین‌ها (GAs)، سیتوکینین‌ها (CKs)، اتیلن و براسینواستروئیدها (Brassinosteroids) را هدف قرار دهند (Cao *et al.*, 2025; Khalid *et al.*, 2025). این مسیرها نه‌تنها در تنظیم القای کالوس موثر هستند، بلکه نقش مهمی در سازگاری

گیاه با تنش‌های غیرزیستی نظیر شوری، خشکی و سمیت فلزات سنگین ایفا می‌کنند. اثرگذاری نانوذرات بر این مسیرها باعث تقویت مکانیسم‌های تحمل به تنش از طریق فعال‌سازی سیستم‌های دفاعی، تنظیم متعادل رشد و افزایش زنده‌مانی سلول‌های کالوس می‌شود (Cao *et al.*, 2025; Khalid *et al.*, 2025) (شکل ۱).

در همین راستا، پژوهشی نشان داد که به‌کارگیری نانوذرات، به‌ویژه نانوذرات اکسید فلزات، موجب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای ABA، اکسین، سیتوکینین و براسینواستروئیدها شده است. این مسیرهای سیگنال‌دهی در شرایط تنش شدید محیطی از طریق فعال‌سازی تنظیم‌کننده‌های رونویسی و آنزیم‌های کلیدی، ظرفیت رشد و تقسیم سلولی را در بافت‌های کالوسی بازیابی کرده و امکان ادامه باززایی را در شرایط نامطلوب فراهم می‌آورند (Khalid *et al.*, 2025). مرور مطالعات پیشین نشان می‌دهد که اثرات نانوذرات تنها به تعدیل فیتوهورمون‌ها محدود نمی‌شود، بلکه آن‌ها می‌توانند به‌صورت هم‌افزا (Synergistic) سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه را نیز فعال کنند. این مکانیسم به‌ویژه از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و تقویت چرخه‌ی آسکوربات-گلوتاتیون رخ می‌دهد (Bhatt *et al.*, 2020; Faizan *et al.*, 2021). بر اساس یافته‌هایی کومار و همکاران (۲۰۲۴)، نانوذرات با ایجاد تعامل هم‌زمان میان تنظیمات هورمونی و مسیرهای بیوشیمیایی، پایداری و انعطاف‌پذیری فیزیولوژیک گیاه را افزایش می‌دهند و محیطی مناسب برای القای

"زمانی و عالم‌زاده، تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ..."

عمیق‌تر، نیاز به مطالعات جامع با بهره‌گیری از فناوری‌های چند-آمیک (Multi-omics) از جمله ترنسکریپتومیکس، پروتئومیکس، متابولومیکس و اپی‌ژنومیکس وجود دارد. چنین رویکردهایی می‌توانند الگوهای ژنی و مولکولی تحت تأثیر نانوذرات را در بافت‌های کالوسی آشکار ساخته و زمینه را برای توسعه‌ی راهبردهای هدفمند در بهبود باززایی گیاهان فراهم آورند (Tripathi et al., 2022; Tripathi et al., 2025).

کالوس فراهم می‌کنند که در برابر تنش‌های اکسیداتیو مقاوم‌تر است.

با وجود این دستاوردها، درک کامل از مکانیسم‌های مولکولی این تعاملات همچنان محدود است. اگرچه شواهد تجربی متعددی تأثیر نانوذرات بر تنظیم فیتوهورمون‌ها را نشان داده‌اند، اما جزئیات دقیق مسیرهای سیگنال‌دهی، شبکه‌های رونویسی دخیل و تعاملات مستقیم نانوذرات با گیرنده‌های هورمونی هنوز به‌طور کامل روشن نشده است (Tripathi et al., 2022; Tripathi et al., 2025). برای دستیابی به درک



شکل ۱. نقش نانوذرات در تنظیم فیتوهورمون‌ها و سامانه آنتی‌اکسیدانی طی کالوس‌زایی

سوگیری قبلی از الگوی بیان ژن‌ها را در مراحل مختلف تمایز و بازبرنامه‌ریزی فراهم می‌آورد (Zhang et al., 2020; Yu et al., 2022). این فناوری، از طریق توانایی در شناسایی ژن‌های با بیان متفاوت (Differentially Expressed Genes; DEGs)، مسیرهای متابولیکی فعال و تعاملات شبکه‌ای میان ژن‌ها، به‌سرعت به یکی از ارکان اصلی در مطالعات کشت بافت و زیست‌فناوری

مروری بر روش‌های تحلیل مولکولی در کالوس‌زایی: تمرکز بر RNA-Seq

درک سازوکارهای مولکولی و مسیرهای تنظیمی موثر در کالوس‌زایی، به‌ویژه در گیاهان مدل مانند برنج، نیازمند بهره‌گیری از فناوری‌های نوین زیست‌مولکولی است. در این میان، واکاوی ترنسکریپتوم با استفاده از RNA-Seq به‌عنوان روشی توانمند، امکان بررسی جامع، دقیق و بدون

تنظیم‌کننده کلیدی در تقسیم سلولی طی القای کالوس عمل می‌کند. جهش در این ژن، باعث کاهش چشمگیر تقسیم سلولی و تشکیل کالوس گردید (Song *et al.*, 2024). در مطالعه‌ای دیگر با استفاده از RNA-Seq و تحلیل شبکه هم‌بیانی وزنی (Weighted Gene Co-Expression Network Analysis; WGCNA)، ژن‌های کلیدی مؤثر در قهوه‌ای شدن کالوس شناسایی شدند، پدیده‌ای که یکی از موانع اصلی کشت موفق کالوس، به‌ویژه در ارقام وحشی برنج محسوب می‌شود (Qiu *et al.*, 2023).

در مجموع، RNA-Seq چشم‌اندازی بی‌همتای از مکانیسم‌های مولکولی مؤثر در کالوس‌زایی از شناسایی ژن‌های تنظیم‌کننده و عناصر cis گرفته تا تحلیل تعاملات ژنی و درک معماری شبکه‌های سیگنال‌دهی ارائه می‌دهد (Kumar *et al.*, 2024; Tripathi *et al.*, 2025). این فناوری نه تنها در شرایط آزمایشگاهی استاندارد، بلکه در مواجهه با عوامل بیرونی (Exogenous) مانند نانوذرات نیز کاربرد گسترده‌ای یافته است (Kumar *et al.*, 2024; Tripathi *et al.*, 2025). با توجه به اینکه نانوذرات قادرند مسیرهای فیتوهورمونی، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و تنظیمات اپی‌ژنتیک را تحت تأثیر قرار دهند (García-Sánchez *et al.*, 2021; Ahmed *et al.*, 2025)، استفاده از RNA-Seq برای تحلیل پاسخ‌های ترنسکریپتومی به این ترکیبات، می‌تواند درک دقیق‌تری از اثرات آن‌ها بر القای کالوس، باززایی و همچنین ارزیابی ایمنی زیستی احتمالی فراهم آورد.

مقایسه بین نانوذرات فلزی و غیرفلزی در القای کالوس‌زایی

نانوذرات فلزی مانند اکسید روی (ZnO)، اکسید تیتانیوم (TiO₂)، اکسید مس (CuO) و اکسید آهن (FeO) در مطالعات متعددی به‌عنوان عوامل

گیاهی از جمله برنج تبدیل شده است (Zhang *et al.*, 2020; Yu *et al.*, 2022). واکاوی RNA-Seq نه تنها به شناسایی ژن‌های ساختاری و تنظیمی در پاسخ به شرایط محیطی و ترکیبات خارجی کمک می‌کند، بلکه با استفاده از تحلیل‌های ثانویه همچون تحلیل مسیرهای KEGG، رده‌بندی‌های عملکردی GO و شبکه‌های هم‌بیانی ژنی، امکان تفسیر دقیق‌تر تغییرات ترنسکریپتومی در بافت‌های کالوسی را فراهم می‌سازد (Zhu *et al.*, 2022; Upton *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2024). برای نمونه، در مطالعه‌ای با تمرکز بر کالوس‌زایی در بافت‌های برگی برنج، مشخص شد که نوع محیط کشت، شرایط نوری و ترکیب هورمونی، بیان هزاران ژن را تغییر می‌دهد، تغییری که به‌نوبه خود موجب تقویت یا کاهش توانایی القای کالوس می‌شود (Yu *et al.*, 2022). این نتایج نقش تعیین‌کننده‌ی محیط در بازبرنامه‌ریزی مولکولی سلول‌های گیاهی و حساسیت آن‌ها به محرک‌های بیرونی را برجسته می‌سازد.

در پژوهش‌های پیشرفته‌تر، ترکیب RNA-Seq با روش‌هایی مانند qRT-PCR و ChIP-qPCR، افق جدیدی برای شناسایی مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی مؤثر در کالوس‌زایی گشوده است. به‌عنوان مثال، بررسی عملکرد ژن *OsHDA710* نشان داد که این ژن از طریق تغییر وضعیت استیلایون کروماتین، بیان ژن‌های مرتبط با چرخه سلولی و سیگنال‌دهی هورمونی را تنظیم می‌کند. مهار آنزیم‌های هیستون دِاستیلاز (Histone deacetylase) منجر به کاهش شدید توانایی کالوس‌زایی شد و این امر با داده‌های RNA-Seq به‌طور کمی تأیید گردید، موضوعی که اهمیت نقش اپی‌ژنتیک در آغاز بازبرنامه‌ریزی سلولی را به‌وضوح آشکار کرد (Zhang *et al.*, 2020). همچنین، در پژوهشی نوین با بهره‌گیری از تلفیق RNA-Seq و مطالعات ارتباطی کل ژنوم، ژن *OsCycB1;5* را شناسایی کرد که به‌عنوان یک

"زمانی و عالم‌زاده، تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ..."

محرك القای کالوس در گیاهان، به‌ویژه برنج، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. همچنین تحقیقات نشان می‌دهند که نانوذرات غیرفلزی مانند نانومواد کربنی یا ساختارهای پلیمری نیز نقش‌های متمایزی در این فرآیند ایفا می‌کنند (Anwaar et al., 2016; Pathak et al., 2023; Ullah et al., 2024). نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که نانوذرات فلزی در غلظت‌های بهینه می‌توانند مرحله بلوغ کالوس (Callus maturation)، وزن خشک و تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش دهند. برای نمونه، تأمین ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از ZnO یا TiO₂ در محیط کشت برنج باعث افزایش معنادار اندازه کالوس، وزن خشک، محتوای فنول‌ها و فلاونوئیدها شد (Chutipaijit and Sutjaritvorakul, 2020). همچنین، استفاده از FeO-NPs به‌عنوان جایگزین منابع آهن در محیط MS، نرخ القای کالوس را تا ۷۲٪ افزایش داد و توان باززایی و رشد را در برنج بهبود بخشید (Ullah et al., 2024). از سوی دیگر، نانوذرات غیرفلزی مانند نانوکربن‌ها یا پلیمرهای زیستی نقش‌های کمکی در فرآیند کالوس‌زایی ایفا می‌کنند. این ذرات غالباً به‌عنوان حامل مواد مؤثر، تثبیت‌کننده رشد سلولی یا کاهش‌دهنده سمیت نانوذرات فلزی عمل می‌کنند. اثر آن‌ها بیشتر از طریق بهبود پایداری زیستی محیط کشت، افزایش قابلیت دسترسی مواد غذایی و کاهش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن رخ می‌دهد (Feizi et al., 2023; Hashmi et al., 2024).

به‌طور کلی، نانوذرات فلزی، به‌ویژه اکسیدهای فلزی، با ایجاد تنش اکسیداتیو ملایم در سلول‌های گیاهی، تحریک چرخه سلولی و ارتقاء تولید متابولیت‌های دفاعی، توان بالقوه کالوس‌زایی را افزایش می‌دهند. با این حال، در غلظت‌های بالا می‌توانند منجر به سمیت، کاهش باززایی و قهوه‌ای‌شدن کالوس شوند. به‌عنوان مثال، در غلظت‌های بیش از ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از ZnO و TiO₂ کاهش رشد و کاهش وزن کالوس نسبت به تیمار شاهد گزارش شده است (Chutipaijit and Sutjaritvorakul, 2020). در مقابل، نانوذرات غیرفلزی به دلیل سمیت کمتر و قابلیت اصلاح سطحی بالاتر، در دوزهای کنترل‌شده به‌عنوان عوامل کمکی برای بهبود تعادل گونه‌های فعال اکسیژن، انتقال بهتر هورمون‌ها و حفظ سلامت سلولی در مراحل اولیه کشت به کار می‌روند (Ghasempour et al., 2019). در مجموع، مقایسه نشان می‌دهد که نانوذرات فلزی اکسیدی در غلظت‌های پایین تا متوسط، اثر مستقیمی بر تحریک رشد کالوس، افزایش متابولیت‌های ثانویه و القای پاسخ‌های سلولی دارند؛ اما در دوزهای بالاتر سمیت آن‌ها به‌طور معناداری آشکار می‌شود (Sengul and Asmatulu, 2020). نانوذرات غیرفلزی، با سمیت کمتر و قابلیت اصلاح بالاتر، به‌عنوان ابزاری کمکی در افزایش کارایی کشت کالوس، نگهداری سلولی و کاهش آسیب‌های ناشی از تنش کاربرد دارند (Sengul and Asmatulu, 2020) (جدول ۲).

جدول ۲. مقایسه اثر نانوذرات فلزی و غیرفلزی در القای کالوس‌زایی در گیاهان (به‌ویژه برنج)

ویژگی	نانوذرات فلزی	نانوذرات غیرفلزی
انواع رایج	اکسید روی (ZnO)، اکسید تیتانیوم (TiO ₂)، اکسید مس (CuO)، اکسید آهن (FeO)	نانومواد کربنی و نانوذرات پلیمری زیستی
نحوه اثر بر سلول گیاهی	القای تنش اکسیداتیو ملایم، تحریک چرخه سلولی و فعال‌سازی مسیرهای دفاعی	بهبود پایداری زیستی محیط کشت، تسهیل انتقال مواد و کاهش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن

تأثیر بر القای کالوس	افزایش نرخ القای کالوس و تسریع مرحله بلوغ کالوس در غلظت‌های بهینه	نقش کمکی در بهبود شرایط فیزیولوژیک سلول‌ها و حمایت از فرآیند کالوس‌زایی
اثر بر رشد و زیست‌توده کالوس	افزایش اندازه کالوس، وزن خشک و تقسیم سلولی	کمک به حفظ زنده‌مانی سلول‌ها و پایداری رشد در مراحل اولیه کشت
اثر بر متابولیت‌های ثانویه	افزایش تولید ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در کالوس	اثر غیرمستقیم از طریق کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود وضعیت متابولیکی
دامنه غلظت مؤثر	معمولاً در غلظت‌های پایین تا متوسط (مانند حدود ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای ZnO و TiO_2) بیشترین کارایی را دارند	اغلب در دوزهای پایین و کنترل‌شده برای بهبود شرایط کشت استفاده می‌شوند
محدودیت‌ها و سمیت	در غلظت‌های بالا (بیش از حدود ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر) می‌توانند موجب سمیت، کاهش رشد و قهوه‌ای شدن کالوس شوند	سمیت کمتر نسبت به نانوذرات فلزی و قابلیت اصلاح سطحی بالاتر
نقش در کشت بافت	عامل محرک مستقیم رشد کالوس و القای پاسخ‌های سلولی	عامل کمکی برای افزایش کارایی کشت، کاهش تنش و بهبود تعادل فیزیولوژیک سلول‌ها
منابع	(Anwaar et al., 2016; Chutipaijit and Sutjaritvorakul, 2020; Ullah et al., 2024; Sengul and Asmatulu, 2020) (Feizi et al., 2023; Hashmi et al., 2024; Ghasempour et al., 2019; Sengul and Asmatulu, 2020)	

چالش‌ها و فرصت‌های استفاده از نانوذرات در زیست‌فناوری برنج

استفاده از نانوذرات به‌عنوان ابزاری نوظهور در زیست‌فناوری برنج، با هدف بهبود مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی، فرصت‌های ارزشمندی را برای افزایش کارایی القای کالوس، تحریک اندام‌زایی و ارتقای تولید متابولیت‌های ثانویه فراهم کرده است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که نانوذرات فلزی مانند ZnO و TiO_2 در غلظت‌های مناسب می‌توانند موجب افزایش اندازه و وزن خشک کالوس و همچنین بهبود محتوای فنول‌ها و فلاونوئیدها در کالوس برنج شوند (Chutipaijit and Sutjaritvorakul, 2020; Balamurugan et al., 2024). افزون بر این، تحقیقات جامع بیانگر آن است که نانوذرات می‌توانند با کاهش آلودگی میکروبی، فرایندهای القای کالوس، تکوین اندام‌زایی و تمایز سلولی را در کشت بافت ارتقا دهند (Gunaseena et al., 2024; Balamurugan et al., 2024). با وجود این پتانسیل بالا، به‌کارگیری عملی نانوذرات با چالش‌های مهمی روبه‌رو است.

نخست آنکه پاسخ‌های گیاه به نانوذرات به‌شدت وابسته به ویژگی‌های فیزیوکوشیمیایی آن‌ها از جمله اندازه، نوع، غلظت و مدت زمان قرارگیری است، به‌طوری‌که غلظت‌های بالا (برای مثال ≤ 400 میلی‌گرم بر لیتر) می‌توانند اثرات منفی بر رشد کالوس و تولید متابولیت‌ها داشته باشند (Sutjaritvorakul and Chutipaijit, 2020). دوم اینکه، اطلاعات موجود درباره مکانیسم‌های مولکولی و شبکه‌های تنظیم ژنی ناشی از نانوذرات در کشت بافت برنج محدود است و درک دقیق از تنظیم مسیرهای هورمونی و بیان ژن‌های مرتبط هنوز ناقص می‌باشد (Wang et al., 2022; Huang et al., 2024).

به‌ویژه، تعامل نانوذرات با مسیرهای تنظیم هورمونی مانند سیگنال‌دهی اکسین و میکروآران‌های موثر در کالوس‌زایی اغلب بدون بررسی مستقیم گزارش شده است و این امر نیازمند مطالعات ژنتیکی و مولکولی عمیق‌تر است (Huang et al., 2024). همچنین، مخاطرات

"زمانی و عالم‌زاده، تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ..."

زیستی احتمالی نانوذرات، از جمله سمیت سلولی، انباشت زیستی و آثار زیست‌محیطی ناشناخته، می‌توانند آسیب‌پذیری فرایندهای زیست‌فناوری برنج را افزایش دهند و مستلزم ارزیابی‌های جامع‌تر و نظام‌مندتر هستند (Wang et al., 2022). با وجود این چالش‌ها، فرصت‌های مهمی نیز وجود دارد. برای نمونه، نانوذرات SiO_2 در تقویت مقاومت زیستی و غیرزیستی برنج بدون ایجاد اثرات منفی مؤثر بوده‌اند؛ به‌گونه‌ای که با تحریک توسعه ریشه و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌های قارچی، عملکرد مثبتی در گیاهان برنج نشان داده‌اند (Du et al., 2022). افزون بر این، تنظیم بهینه غلظت آهن در محیط کشت کالوس، رشد کالوس را تا بیش از ۶۵٪ افزایش داده است که نشان‌دهنده نقش کلیدی عناصر نانو یا میکرونانو در بهینه‌سازی فرایندهای کالوس‌زایی می‌باشد (Hayidureh et al., 2025). در مجموع، تحلیل هم‌زمان چالش‌های فنی و محدودیت‌های ایمنی در کنار فرصت‌های علمی و کاربردی نشان می‌دهد که نانوذرات می‌توانند به‌عنوان ابزاری قدرتمند در بهبود زیست‌فناوری برنج مورد استفاده قرار گیرند. با این حال، موفقیت در این مسیر منوط به روشن شدن مکانیزم‌های مولکولی، بهینه‌سازی دقیق پارامترهای کاربردی و انجام ارزیابی‌های جامع زیست‌محیطی و ایمنی خواهد بود.

نانوسمیت و ملاحظات ایمنی زیستی در کاربرد نانوذرات

در سال‌های اخیر، هم‌زمان با گسترش کاربرد نانوذرات در کشاورزی و زیست‌فناوری، توجه ویژه‌ای به بررسی اثرات زیستی، پایداری محیطی و پیامدهای ایمنی این فناوری نوظهور معطوف شده است. گزارش‌ها نشان می‌دهند که هرچند نانوذرات می‌توانند موجب افزایش بهره‌وری گیاهان، بهبود جذب عناصر غذایی و ارتقای مقاومت در برابر

تنش‌های زیستی و غیرزیستی شوند، اما نگرانی‌های جدی در مورد تجمع زیستی (Bioaccumulation)، پایداری اکوسیستم و خطرات بالقوه برای سلامت انسان و محیط زیست وجود دارد (Atanda et al., 2025). بررسی‌ها نشان داده‌اند که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات، از جمله اندازه، بار سطحی، ترکیب شیمیایی و میزان پایداری در محیط، نقش تعیین‌کننده‌ای در میزان جذب گیاهی، انتقال بین‌سلولی و سمیت زیستی آن‌ها ایفا می‌کند. به‌ویژه، نانوذرات با اندازه کوچک‌تر، به دلیل نسبت سطح به حجم بالاتر، واکنش‌پذیری بیشتری دارند و می‌توانند راحت‌تر از طریق روزه‌ها یا سیستم ریشه‌ای وارد سلول‌های گیاهی شوند و تعادل فیزیولوژیک آن‌ها را برهم بزنند (Islam, 2025). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که ورود نانوذرات به سلول‌های گیاهی می‌تواند با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، القای تنش اکسیداتیو، آسیب به دی‌ان‌ا، تغییر در تعادل هورمونی و در نهایت آپوپتوز سلولی (Cellular Apoptosis) همراه باشد (Gao et al., 2023; Kang et al., 2023). چنین اثراتی نه تنها رشد و تمایز سلولی را مختل می‌کنند، بلکه فرایندهایی نظیر کالوس‌زایی و باززایی را نیز به‌طور جدی تحت تأثیر قرار می‌دهند (Gao et al., 2023; Kang et al., 2023).

افزون بر این، گزارش‌هایی نشان داده‌اند که برخی نانوذرات فلزی مانند ZnO ، TiO_2 و AgNPs می‌توانند موجب کاهش کارایی فتوسنتز، تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تجمع در بافت‌های برگ و ریشه شوند. تجمع این مواد در اندام‌های گیاهی نه تنها رشد گیاه را محدود می‌سازد، بلکه با انتقال به زنجیره غذایی، سلامت انسان و سایر موجودات زنده را نیز تهدید می‌کند (Kumah et al., 2023). مطالعات گسترده‌تری نیز به بررسی اثرات نانوذرات بر میکروبیوم خاک و اکوسیستم‌های وابسته پرداخته‌اند. نتایج این

پژوهش‌ها نشان داده است که نانوذرات می‌توانند ترکیب جامعه میکروبی خاک را تغییر دهند، رشد میکروارگانیسم‌های مفید را کاهش دهند و بر چرخه‌های بیوشیمیایی کلیدی مانند تثبیت نیتروژن تأثیر بگذارند. چنین تغییراتی می‌تواند پایداری بلندمدت اکوسیستم‌های زراعی را به خطر اندازد (Rajpal *et al.*, 2025). همچنین، در برخی گزارش‌ها ذکر شده است که کاربرد نانوذرات به‌عنوان کود یا عوامل ضد میکروب، در صورت استفاده در دوزهای بالا یا بدون پایش زیستی مناسب، می‌تواند موجب بی‌تعادلی در تغذیه گیاهی و تخریب ساختار بافتی شود. مواردی نظیر کاهش رشد ریشه، نکروزه شدن برگ‌ها و افت راندمان فتوسنتزی نیز گزارش شده است (Rajpal *et al.*, 2025).

از سوی دیگر، برخی پژوهشگران بر این باورند که با بهینه‌سازی ویژگی‌های سطحی نانوذرات و استفاده از دوزهای ایمن و کنترل‌شده، می‌توان اثرات نامطلوب را به حداقل رساند. مطالعات اخیر پیشنهاد کرده‌اند که فرآیندهایی مانند پوشش‌دهی زیستی (Biocoating)، اصلاح شیمیایی سطح ذرات (Surface Chemical Modification) و استفاده از حامل‌های کلوئیدی طبیعی (Natural Colloidal Carriers) می‌توانند سمیت نانوذرات را کاهش داده و ایمنی کاربرد آن‌ها را افزایش دهند (Balusamy *et al.*, 2023). با وجود این، بسیاری از پژوهشگران تأکید دارند که داده‌های موجود درباره اثرات بلندمدت نانوذرات در شرایط واقعی مزرعه هنوز ناکافی است. بیشتر داده‌های فعلی مبتنی بر شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی یا مدل‌های سلولی هستند، در حالی که رفتار نانوذرات در محیط طبیعی تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله ترکیب خاک، pH، رطوبت و دما قرار دارد (Atanda *et al.*, 2025). افزون بر این، تغییرات فیزیکوشیمیایی نانوذرات در طول زمان مانند اکسیداسیون، سولفیداسیون و تجمع سطحی

می‌تواند به‌طور قابل توجهی بر اثرات زیستی آن‌ها تأثیر بگذارد (Kumah *et al.*, 2023). در نهایت، توجه به ملاحظات ایمنی زیستی در توسعه و کاربرد نانوذرات، به‌ویژه در زیست‌فناوری گیاهی شامل کالوس‌زایی، باززایی و مهندسی ژنتیک، ضروری است. توصیه می‌شود که ارزیابی جامع مخاطرات زیست‌محیطی (Environmental Risk Assessment; ERA) همراه با مطالعات مولکولی و فیزیولوژیک برای هر نوع نانوذره در شرایط متنوع زیستی انجام شود تا بهره‌برداری ایمن از مزایای بالقوه این فناوری امکان‌پذیر گردد (Islam, 2025).

نتیجه‌گیری

کاربرد نانوذرات در کشت بافت و کالوس‌زایی گیاهان، به‌ویژه در برنج، نشان‌دهنده‌ی گذار از رویکردهای تجربی کلاسیک به سوی تنظیم هدفمند فرایندهای رشدی در سطح مولکولی است. شواهد گردآوری‌شده در این مرور نشان می‌دهد که نانوذرات، فراتر از نقش‌های فیزیکی یا تغذیه‌ای، قادرند از طریق تعدیل هم‌زمان مسیرهای فیتوهورمونی، پاسخ‌های تنش اکسیداتیو، چرخه سلولی و تنظیمات اپی‌ژنتیکی، برنامه بازبرنامه‌ریزی سلولی را در بافت‌های گیاهی هدایت کنند. این ویژگی، نانوذرات را به ابزارهایی بالقوه برای مهندسی کالوس‌زایی با دقت بالا تبدیل می‌کند. با این حال، تحلیل مطالعات موجود نشان می‌دهد که اثرگذاری نانوذرات به‌شدت وابسته به نوع، اندازه، غلظت و ماهیت شیمیایی آن‌هاست و فاصله‌ی باریکی میان تنش مفید و نانوسمیت (Nanotoxicity) وجود دارد. در این چارچوب، نانوذرات فلزی اکسیدی در دوزهای پایین تا متوسط می‌توانند پاسخ‌های تطبیقی و رشدی را فعال کنند، در حالی که افزایش غلظت آن‌ها ممکن است به اختلالات فیزیولوژیک، کاهش باززایی و آسیب سلولی منجر شود. در مقابل، نانوذرات غیرفلزی و زیست‌پایه با سمیت کمتر،

"زمانی و عالم‌زاده، تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ..."

زیست‌محیطی و سلولی را به همراه داشته باشند. ادغام این رویکرد با چارچوب‌های استاندارد ارزیابی ایمنی زیستی و مدیریت ریسک، می‌تواند نانوذرات را از یک ابزار آزمایشگاهی به یک فناوری قابل اعتماد در زیست‌فناوری گیاهی و کشاورزی پایدار ارتقا دهد. در نهایت، آینده‌ی موفق کاربرد نانوذرات در کالوس‌زایی، در گرو همگرایی دانش مولکولی، طراحی نانومواد ایمن و سیاست‌گذاری آگاهانه زیست‌محیطی خواهد بود.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت بنیاد ملی علم ایران، Iran National Science Foundation (INSF)، با شماره گرنت ۴۰۴۶۹۲۰ انجام شده است و نویسندگان مقاله بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولین بنیاد اعلام می‌دارند.

ظرفیت بالایی برای ایفای نقش‌های کمکی در تثبیت محیط کشت و کاهش تنش‌های ثانویه دارند. این نتایج بر ضرورت طراحی راهبردهای دوزمحور و کاربرد نانوذرات تأکید می‌کند. از منظر ایمنی زیستی، خلأ اصلی پژوهش‌ها نه در اثبات اثرگذاری نانوذرات، بلکه در درک شبکه‌های تنظیمی ژن-هورمون-تنش و پیامدهای بلندمدت آن‌ها نهفته است. بهره‌گیری از فناوری‌های نوین چند-آمیک، از جمله ترنسکریپتومیکس، متابولومیکس و اپی‌ژنومیکس، در کنار ابزارهای زیست‌داده‌ورزی پیشرفته، می‌تواند امکان شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با پاسخ ایمن یا سمیت نانوذرات را فراهم سازد. چنین رویکردی، زمینه را برای گذار از استفاده‌ی تجربی نانوذرات به سوی نانوزیست‌فناوری مبتنی بر شواهد و ارزیابی ریسک فراهم می‌کند. در چشم‌انداز آینده، تمرکز پژوهش‌ها باید بر توسعه‌ی نانوذرات هدفمند، زیست‌تخریب‌پذیر و ایمن معطوف شود، نانوذراتی که قادرند مسیرهای مشخص مولکولی را فعال کرده و در عین حال کمترین اثرات نامطلوب

منابع

- Aananthi N, Anandakumar CR. (2020) In vitro callus induction and regeneration of popular indica rice genotypes. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*. 13(4): 383-393. <https://doi.org/10.30954/0974-1712.04.2020.2>.
- Ahmed M, Tóth Z, Marrez DA, Rizk R, Abdul-Hamid D, Decsi K. (2025) Transcriptome datasets of salt-stressed tomato plants treated with zinc oxide nanoparticles. *Data in Brief*. 58: 111282. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2025.111282>.
- Anwaar S, Maqbool Q, Jabeen N, Nazar M, Abbas F, Nawaz B, Hussain T, Hussain SZ. (2016) The effect of green synthesized CuO nanoparticles on callogenesis and regeneration of *Oryza sativa* L. *Frontiers in Plant Science*. 7: 1330. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01330>.
- Atanda SA, Shaibu RO, Agunbiade FO. (2025) Nanoparticles in agriculture: balancing food security and environmental sustainability. *Discover Agriculture*. 3(1): 26. <https://doi.org/10.1007/s44279-025-00159-x>.
- Azim Z, Singh NB, Singh A, Amist N, Niharika Khare S, Yadav RK, Bano C, Yadav V. (2023) A review summarizing uptake, translocation and accumulation of nanoparticles within the plants: current status and future prospectus. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. 32: 211-224. <https://doi.org/10.1007/s13562-022-00800-6>.
- Balamurugan V, Abdi G, Karthiksaran C, Thillaigovindhan N, Arulbalachandran D. (2024) A review: improvement of plant tissue culture applications by using nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*. 26(8): 188. <https://doi.org/10.1007/s11051-024-06103-2>.

- Balusamy SR, Joshi AS, Perumalsamy H, Mijakovic I, Singh P. (2023) Advancing sustainable agriculture: a critical review of smart and eco-friendly nanomaterial applications. *Journal of Nanobiotechnology*. 21(1): 372. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-02135-3>.
- Bhatt D, Nath M, Sharma M, Bhatt MD, Bisht DS, Butani NV. (2020) Role of growth regulators and phytohormones in overcoming environmental stress. In: Roychoudhury A, Tripathi DK. (eds.) Protective chemical agents in the amelioration of plant abiotic stress: biochemical and molecular perspectives. Wiley, USA. <https://doi.org/10.1002/9781119552154.ch11>.
- Cao Y, Turk K, Bibi N, Ghafoor A, Ahmed N, Azmat M, Ahmed R, Ghani MI, Ahanger MA. (2025) Nanoparticles as catalysts of agricultural revolution: enhancing crop tolerance to abiotic stress: a review. *Frontiers in Plant Science*. 15: 1510482. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1510482>.
- Chen S, Guo D, Deng Z, Tang Q, Li C, Xiao Y, Zhong L, Chen B. (2024) Integration analysis of transcriptome and proteome profiles brings new insights of somatic embryogenesis of two eucalyptus species. *BMC Plant Biology*. 24(1): 561. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05271-6>.
- Chutipaijit S, Sutjaritvorakul T. (2020) ZnO and TiO₂ nanoparticles stimulate callus induction and secondary metabolite production in indica rice. *Suranaree Journal of Science and Technology*. 27: 1.
- Do VG, Kim S, Win NM, Kwon SI, Kweon H, Yang S, Park J, Do G, Lee Y. (2024) Efficient regeneration of transgenic rice from embryogenic callus via *Agrobacterium*-mediated transformation: A case study using GFP and apple MdFT1 genes. *Plants*. 13(19): 2803. <https://doi.org/10.3390/plants13192803>.
- Du J, Liu B, Zhao T, Xu X, Lin H, Ji Y, Li Y, Li Z, Lu C, Li P, Ding X. (2022) Silica nanoparticles protect rice against biotic and abiotic stresses. *Journal of Nanobiotechnology*. 20(1): 197. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01420-x>.
- Faizan M, Sehar S, Rajput VD, Faraz A, Afzal S, Minkina T, Sushkova S, Adil MF, Yu F, Alatar AA, Faisal M. (2021) Modulation of cellular redox status and antioxidant defense system after synergistic application of zinc oxide nanoparticles and salicylic acid in rice (*Oryza sativa* L.) plant under arsenic stress. *Plants*. 10(11): 2254. <https://doi.org/10.3390/plants10112254>.
- Fehér A. (2023) A common molecular signature indicates the pre-meristematic state of plant calli. *International Journal of Molecular Sciences*. 24(17): 13122. <https://doi.org/10.3390/ijms241713122>.
- Feizi S. (2023) Role of nanomaterials in plant cell and tissue culture. In: Al-Khayri JM, Alnaddaf LM, Jain SM. (eds.) Nanomaterial interactions with plant cellular mechanisms and macromolecules and agricultural implications. Springer, Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-20878-2_14.
- Fiol DF, Terrile MC, Frik J, Mesas FA, Álvarez VA, Casalongué CA. (2021) Nanotechnology in plants: Recent advances and challenges. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 96(8): 2095-2108. <https://doi.org/10.1002/jctb.6741>.
- Gao M, Chang J, Wang Z, Zhang H, Wang T. (2023) Advances in transport and toxicity of nanoparticles in plants. *Journal of Nanobiotechnology*. 21(1): 75. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01830-5>.
- García-Sánchez S, Gala M, Žoldák G. (2021) Nanoimpact in plants: Lessons from the transcriptome. *Plants*. 10(4): 751. <https://doi.org/10.3390/plants10040751>.
- Ghasempour M, Iranbakhsh A, Ebadi M, Oraghi Ardebili Z. (2019) Multi-walled carbon nanotubes improved growth, anatomy, physiology, secondary metabolism, and callus performance in *Catharanthus roseus*: an in vitro study. *3 Biotech*. 9(11): 404. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1934-y>.
- Gunasena MDKM, Alahakoon AMPD, Polwaththa KPGDM, Galpaya GDCP, Priyanjani HASA, Koswattage KR, Senarath WTPSK. (2024) Transforming plant tissue culture with nanoparticles: a review of current applications. *Plant Nano Biology*. 10: 100102. <https://doi.org/10.1016/j.plana.2024.100102>.
- Hashmi K, Gupta S, Mishra P, Khan T, Joshi S. (2024) The vital role of nanoparticles in enhancing plant growth and development. *Engineering Proceedings*. 67(1): 48. <https://sciforum.net/event/ECP2024>.

"زمانی و عالمزاده، تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ..."

- Hayiduereh S, Sathapondech P, Muangthong P, Meesawat U, Klinnawee L. (2025) Iron supplementation promotes growth of indica rice callus by increasing cell size and altering cellular metabolism. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 161(1): 19. <https://doi.org/10.1007/s11240-025-03047-w>.
- Horie M, Tabei Y. (2021) Role of oxidative stress in nanoparticles toxicity. *Free Radical Research*. 55(4): 331-342. <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1859108>.
- Huang Y, Yue E, Lian G, Lu J, Ran L, Ma S, Wang K, Bai Y, Han N, Bian H, Guo F. (2024) Novel mechanism of MicroRNA408 in callus formation from rice mature embryo. *The Plant Journal*. 120(2): 769-787. <http://dx.doi.org/10.1111/tpj.17019>.
- Islam S. (2025) Toxicity and transport of nanoparticles in agriculture: Effects of size, coating, and aging. *Frontiers in Nanotechnology*. 7: 1622228. <https://doi.org/10.3389/fnano.2025.1622228>.
- Jamalirad S, Azimi MR, Ghaffari MR. (2024) Correlation network analysis of genes responding to salinity stress in *Suaeda salsa*. *Journal of Biosafety*. 17(1): 78-92. <https://doi.org/10.1001/1.27170632.1403.17.1.5.3>. [In Persian]
- Jasim SA, Kzar HH, Sivaraman R, Jweeg MJ, Zaidi M, Alkadir OKA, Safaa Fahim F, Obaid Aldulaim AK, Kianfar E. (2022) Engineered nanomaterials, plants, plant toxicity and biotransformation: A review. *Egyptian Journal of Chemistry*. 65(12): 151-164. <https://dx.doi.org/10.21608/ejchem.2022.131166.5775>.
- Javid A, Munir N, Abideen Z, Duarte B, Siddiqui ZS, Haq R, Naz S. (2025) The potential effects of nanoparticles in gene regulation and expression in mammalian, bacterial and plant cells-A comprehensive review. *Plant Nano Biology*. 11: 100145. <https://doi.org/10.1016/j.plana.2025.100145>.
- Kamolsukyeunyoung W, Dabbhadatta Y, Jaiprasert A, Thunnom B, Poncheewin W, Wanchana S, Ruanjaichon V, Toojinda T, Burns P. (2024) Genome-wide association analysis identifies candidate loci for callus induction in rice (*Oryza sativa* L.). *Plants*. 13(15): 2112. <https://doi.org/10.3390/plants13152112>.
- Kang ME, Weng Y, Liu Y, Wang H, Ye L, Gu Y, Bai X. (2023) A review on the toxicity mechanisms and potential risks of engineered nanoparticles to plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 261(1): 5. <https://doi.org/10.1007/s44169-023-00029-x>.
- Khalid F, Rasheed Y, Ashraf H, Asif K, Maqsood MF, Shahbaz M, Zulfiqar U, Farhat F, Nawaz S, Ahmad M. (2025) Nanoparticle-mediated phytohormone interplay: Advancing plant resilience to abiotic stresses. *Journal of Crop Health*. 77(2): 56. <https://doi.org/10.1007/s10343-025-01121-z>.
- Khan I, Awan SA, Rizwan M, Hassan ZU, Akram MA, Tariq R, Brestic M, Xie W. (2022) Nanoparticle's uptake and translocation mechanisms in plants via seed priming, foliar treatment, and root exposure: a review. *Environmental Science and Pollution Research*. 29(60): 89823-89833. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23945-2>.
- Kumah EA, Fopa RD, Harati S, Boadu P, Zohoori FV, Pak T. (2023) Human and environmental impacts of nanoparticles: A scoping review of the current literature. *BMC Public Health*. 23(1): 1059. <https://doi.org/10.1186/s12889-023-15958-4>.
- Kumar V, Sharma M, Khare T, Wani SH. (2018) Impact of nanoparticles on oxidative stress and responsive antioxidative defense in plants. In: Tripathi DK, Ahmad P, Sharma S, Chauhan DK, Dubey NK. (eds.) *Nanomaterials in plants, algae, and microorganisms*. Academic Press., USA. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811487-2.00017-7>.
- Kumar D, Singh R, Upadhyay SK, Verma KK, Tripathi RM, Liu H, Dhankher OP, Tripathi RD, Sahi SV, Seth CS. (2024) Review on interactions between nanomaterials and phytohormones: Novel perspectives and opportunities for mitigating environmental challenges. *Plant Science*. 340: 111964. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111964>.
- Kumari A, Rana V, Yadav SK, Kumar V. (2023) Nanotechnology as a powerful tool in plant sciences: Recent developments, challenges and perspectives. *Plant Nano Biology*. 5: 100046. <https://doi.org/10.1016/j.plana.2023.100046>.

- Lakshmanan M, Cheung CM, Mohanty B, Lee DY. (2016) Modeling rice metabolism: from elucidating environmental effects on cellular phenotype to guiding crop improvement. *Frontiers in Plant Science*. 7: 1795. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01795>.
- Liu F, Wang P, Zhang X, Li X, Yan X, Fu D, Wu G. (2018) The genetic and molecular basis of crop height based on a rice model. *Planta*. 247(1): 1-26. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2798-1>.
- Manickavasagam M, Pavan G, Vasudevan V. (2019) A comprehensive study of the hormetic influence of biosynthesized AgNPs on regenerating rice calli of indica cv. IR64. *Scientific Reports*. 9(1): 8821. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45214-y>.
- Mohd Hanafiah N, Mispan MS, Lim PE, Baisakh N, Cheng A. (2020) The 21st century agriculture: When rice research draws attention to climate variability and how weedy rice and underutilized grains come in handy. *Plants*. 9(3): 365. <https://doi.org/10.3390/plants9030365>.
- Munir N, Gulzar W, Abideen Z, Hasanuzzaman M, El-Keblawy A, Zhao F. (2023) Plant-nanoparticle interactions: Transcriptomic and proteomic insights. *Agronomy*. 13(8): 2112. <https://doi.org/10.3390/agronomy13082112>.
- Ochatt S, Abdollahi MR, Akin M, Bello JB, Eimert K, Faisal M, Nhut DT. (2023) Application of nanoparticles in plant tissue cultures: minuscule size but huge effects. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 155(2): 323-326. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02614-3>.
- Pathak A, Haq S, Meena N, Dwivedi P, Kothari SL, Kachhwaha S. (2023) Multifaceted role of nanomaterials in modulating *in vitro* seed germination, plant morphogenesis, metabolism and genetic engineering. *Plants*. 12(17): 3126. <https://doi.org/10.3390/plants12173126>.
- Prasad A, Sidhic J, Sarbadhikary P, Narayanankutty A, George S, George BP, Abrahamse H. (2024) Role of metal nanoparticles in organogenesis, secondary metabolite production and genetic transformation of plants under *in vitro* condition: a comprehensive review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 158(2): 33. <https://doi.org/10.1007/s11240-024-02833-2>.
- Qiu L, Su J, Fu Y, Zhang K. (2023) Genetic and transcriptome analyses of callus browning in chaling common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *Genes*. 14(12), 2138. <https://doi.org/10.3390/genes14122138>.
- Radkhah AR, Eagderi S, Poorbagher H, Atash Afraze S. (2024) Environmental effects of silver nanoparticles (AgNPs) on aquatic organisms and the potential transfer of their toxicity to the human body through the food chain. *Journal of Biosafety*. 17(2): 73-110. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.27170632.1403.17.1.6.4>. [In Persian]
- Rajpal VR, Nongthongbam B, Bhatia M, Singh A, Raina SN, Minkina T, Rajput VD, Zahra N, Husen A. (2025) The nano-paradox: addressing nanotoxicity for sustainable agriculture, circular economy and SDGs. *Journal of Nanobiotechnology*. 23(1): 314. <https://doi.org/10.1186/s12951-025-03371-5>.
- Rani S, Kumari N, Sharma V. (2023) Uptake, translocation, transformation and physiological effects of nanoparticles in plants. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 69(9): 1579-1599. <https://doi.org/10.1080/03650340.2022.2103549>.
- Sadeghi M, Ghaffari MR, Banaei Moghaddam AM. (2025) Micropeptides: Molecular tools for enhancing food security in sustainable agriculture. *Journal of Biosafety*. 17(4): 95-126. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.27170632.1403.14.4.5.9>. [In Persian]
- Santos PA, Biraku X, Nielsen E, Ozketen AC, Ozketen AA, Hakki EE. (2025) Agricultural nanotechnology for a safe and sustainable future: Current status, challenges, and beyond. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 105(6): 3159-3169. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13922>.
- Sengul AB, Asmatulu E. (2020) Toxicity of metal and metal oxide nanoparticles: A review. *Environmental Chemistry Letters*. 18(5): 1659-1683. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01033-6>.
- Shimamoto K, Kyozuka J. (2002) Rice as a model for comparative genomics of plants. *Annual Review of Plant Biology*. 53(1): 399-419. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.092401.134447>.
- Shivashakarappa K, Marriboina S, Dumenyo K, Taheri A, Yadegari Z. (2025) Nanoparticle-

"زمانی و عالمزاده، تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ..."

mediated gene delivery techniques in plant systems. *Frontiers in Nanotechnology*. 7: 1516180. <https://doi.org/10.3389/fnano.2025.1516180>.

Solanki P, Bhargava A, Chhipa H, Jain N, Panwar J. (2015) Nano-fertilizers and their smart delivery system. In: Rai M, Ribeiro C, Mattoso L, Duran N. (eds.) *Nanotechnologies in food and agriculture*. Springer, Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14024-7_4.

Song W, Zhang J, Lu W, Liang S, Cai H, Guo Y, Liu H, Rao D. (2024) A cyclin gene *OsCYCB1*; 5 regulates seed callus induction in rice revealed by genome wide association study. *Rice*. 17(1): 64. <https://doi.org/10.1186/s12284-024-00742-8>.

Song W, Cai H, Guo Y, Chen S, Yao Y, Wang J, Guo T, Zhang J, Chen C. (2025) *OsSDG715*, a histone H3K9 methyltransferase, integrates auxin and cytokinin signaling to regulate callus formation in rice. *Rice*. 18(1): 42. <https://doi.org/10.1186/s12284-025-00801-8>.

Sutjaritvorakul T, Chutipaijit S. (2020) Physiological and metabolic modifications in response to nanocarbon in callus of Indica rice cultivar. *Current Applied Science and Technology*. 20(1): 106-116.

Tripathi D, Singh M, Pandey-Rai S. (2022) Crosstalk of nanoparticles and phytohormones regulate plant growth and metabolism under abiotic and biotic stress. *Plant Stress*. 6: 100107. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100107>.

Tripathi G, Dutta S, Mishra A, Basu S, Gupta V, Kamaraj C. (2025) Nanomaterials impact in phytohormone signaling networks of plants— a critical review. *Plant Science*. 352: 112373. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2024.112373>.

Ullah J, Gul A, Khan I, Shehzad J, Kausar R, Ahmed MS, Batool S, Hasan M, Ghorbanpour M, Mustafa G. (2024) Green synthesized iron oxide nanoparticles as a potential regulator of callus growth, plant physiology, antioxidative and microbial contamination in *Oryza sativa* L. *BMC Plant Biology*. 24(1): 939. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05627-y>.

Upton RN, Correr FH, Lile J, Reynolds GL, Falaschi K, Cook JP, Lachowicz J. (2023) Design, execution, and interpretation of plant RNA-seq analyses. *Frontiers in Plant Science*. 14: 1135455. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1135455>.

Wang Y, Dimkpa C, Deng C, Elmer WH, Gardea-Torresdey J, White JC. (2022) Impact of engineered nanomaterials on rice (*Oryza sativa* L.): A critical review of current knowledge. *Environmental Pollution*. 297: 118738. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118738>.

Yavas I, Uldin K, Hussain S, Naeem MS, Albadrani GM, Muneeba, Kara E, Surmen M. (2025) Uptake and transport of nanoparticles in plants. In: Al-Khayri JM, Anju TR, Jain SM. (eds.) *Plant nanotechnology fundamentals and methodologies*. Nanotechnology in plant sciences. Springer, Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-81896-7_4.

Yimam T, Abide M, Benor S, Guadie, D. (2025) Protocol optimization for callus induction and shoot regeneration of Ethiopian rice varieties (*Oryza sativa* L.). *BMC Biotechnology*. 25(1): 43. <https://doi.org/10.1186/s12896-025-00981-7>.

Youngstrom C, Wang K, Lee K. (2025) Unlocking regeneration potential: Harnessing morphogenic regulators and small peptides for enhanced plant engineering. *The Plant Journal*. 121(2): e17193. <https://doi.org/10.1111/tpj.17193>.

Yu S, Xiao Y, Lin Y, Zheng Y, Cai Q, Wei Y, Wang Y, Xie H, Zhang J. (2022) RNA-seq profiling of primary calli induced by different media and photoperiods for japonica rice 'Yunyin'. *Molecular Breeding*. 42(3): 13. <https://doi.org/10.1007/s11032-022-01283-y>.

Zeng W, Li J, Li D, Lu J, Pan Y, Wei H, Chen Y, Shu Q, Bian H, Guo F. (2025) Interaction between *OsLEC1* and *OsHDA710* positively regulates callus formation in rice. *Plant Physiology and Biochemistry*. 223: 109826. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.109826>.

Zhang H, Guo F, Qi P, Huang Y, Xie Y, Xu L, Han N, Xu L, Bian H. (2020) *OsHDA710*-mediated histone deacetylation regulates callus formation of rice mature embryo. *Plant and Cell Physiology*. 61(9): 1646-1660. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcaa086>.

Zheng B, Liu J, Gao A, Chen X, Gao L, Liao L, Luo B, Ogutu CO, Han Y. (2022) Epigenetic reprogramming of H3K27me3 and DNA methylation during leaf-to-callus transition in peach. *Horticulture Research*. 9: uhac132. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac132>.

Zhu X, Zhu H, Ji W, Hong E, Lu Z, Li B, Chen X. (2022) Callus induction and transcriptomic analysis of *in vitro* embryos at different developmental stages of peony. *Frontiers in Plant Science*. 13: 1046881. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1046881>.

"زمانی و عالمزاده، تأثیر نانوذرات بر مسیرهای مولکولی کالوس‌زایی در برنج: از تنظیم ژن تا ارزیابی خطرات ..."

Impact of Nanoparticles on Molecular Pathways of Callus Induction in Rice: From Gene Regulation to Biosafety Assessment

Elnaz Zamani and Abbas Alemzadeh*

Department of Plant Production and Genetics, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
alemzadeh@shirazu.ac.ir

Abstract

Nanotechnology has recently emerged as a transformative tool in plant biotechnology. It shows substantial potential in refining *in vitro* culture systems, particularly callus induction and plant regeneration. *Oryza sativa*, due to its agronomic relevance and extensive genomic resources, serves as an ideal model for studying the mechanistic roles of nanoparticles in callus induction. This review summarizes recent advances on how engineered nanoparticles influence transcriptional regulation, hormone-mediated signaling, cell-cycle dynamics, and redox homeostasis during callus formation in rice. Increasing evidence suggests that metallic and metal oxide nanoparticles, such as AgNPs, ZnO-NPs, FeO-NPs, and CuO-NPs, modulate the expression of auxin-responsive and other regulatory genes, thereby reprogramming somatic cells toward a pluripotent state. Nevertheless, indiscriminate exposure to nanoparticles may cause oxidative stress, genomic instability, DNA damage, and epigenetic alterations. These effects collectively raise important biosafety concerns. The physicochemical attributes of nanoparticles, encompassing type, size, dosage, and surface chemistry, critically determine their biological interactions and functional outcomes. Collectively, while nanoparticles constitute promising modulators of molecular pathways underlying rice Callus Induction, their safe and targeted deployment necessitates comprehensive nanotoxicological evaluations within a biosafety framework.

Keywords: Gene expression, RNA-Seq, *in vitro*, Biotechnology, Tissue culture