

بررسی کارایی ترکیبات ضد میکروبی طبیعی و شیمیایی در کنترل پاتوژن‌های درون شیشه‌ای سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*)

مینا تقی‌زاده^{۱*}، زهرا سادات میرابوطالبی^۲ و مجید کمیجانی^۳

- ۱- گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۲- گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست - علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۳- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران

*صندوق پستی: ۳۸۴۸۱۷۷۵۸۴، اراک، ایران
m-taghizadeh@araku.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۷

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۱

چکیده

بخش مهمی از روش‌های آزمایشگاهی کشت درون‌شیشه‌ای گیاهی، گندزدایی ریزنمونه‌ها و حفظ شرایط استریل است. در شرایط ایده‌آل، مواد گندزدا باید روی طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها با چگالی کم مؤثر باشند. از سویی استفاده روزافزون از آنتی‌بیوتیک‌ها موجب مقاومت میکروب‌ها در مقابل این ترکیبات شده است. امروزه، استفاده از ترکیباتی مانند اسانس‌ها و نانوذرات در مطالعات میکروبیولوژی کاربرد دارد. این پژوهش با هدف مقایسه اثر سه گروه آنتی‌بیوتیک‌های سفازولین، پنی‌سیلین و کلرامفنیکل، اسانس گیاهی زیره و نانوذرات نقره روی کنترل آلودگی‌های درون‌شیشه‌ای گیاه سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) انجام شد. ریزنمونه‌ها به مدت یک دقیقه با اتانول ۷۰ درصد و سپس ۱۰ دقیقه با محلول سفید کننده تجاری خانگی (وایتکس) گندزدایی شدند. تیمارهای تکمیلی گندزدایی (سفازولین، کلرامفنیکل، پنی‌سیلین، نانوذره نقره و اسانس زیره) در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر برای نانوذره و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم

کپی‌رایت © ۲۰۲۵، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس (TMU Press). این مقاله به صورت دسترسی آزاد منتشر شده و تحت مجوز بین‌المللی Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 قرار دارد. بر اساس این مجوز، شما می‌توانید این مطلب را در هر قالب و رسانه‌ای کپی، بازنشر و بازآفرینی کنید و یا آن را ویرایش و بازسازی نمایید، به شرط آنکه نام نویسنده را ذکر کرده و از آن برای مقاصد غیرتجاری استفاده کنید.

در لیتر برای سایر تیمارها در محیط کشت استفاده شدند. با توجه به نتایج، زیره بیشترین و سفاوزلین کمترین بازدارندگی میکروبی را داشتند. استفاده از نانو نقره ۴۰ میلی گرم در لیتر، آلودگی باکتریایی را تا ۷۳ درصد کاهش داد و پنی سیلین ۱۰۰ میلی گرم در لیتر ۶۷ درصد بازدارندگی آلودگی را فراهم کرد. در نهایت، اسانس های گیاهی و نانوذرات می توانند به عنوان جایگزینی برای تیمارهای شیمیایی رایج برای حذف و کنترل آلودگی درون شیشه ای ریزنمونه های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی استفاده شوند.

کلید واژگان: اسانس زیره، آنتی بیوتیک، باکتری، ریزازدیادی، نانوذرات نقره

۱- مقدمه

به طور گسترده ای توانایی ایجاد و رشد کشت سلولی، اندام و بافت گیاهی برای پژوهش های پایه و کاربردی و برای تولید تجاری گیاهان (ریزازدیادی)^۱ مورد استفاده قرار می گیرد. استفاده از این فناوری های نوین قادر خواهد بود به عنوان روش جایگزین، روند تولید انبوه و کنترل شده گیاهان را ارتقا بخشد [۱]. کاربرد این تکنیک در تکثیر و تولید گیاهانی مانند سیب زمینی (*Solanum tuberosum* L.) مزایای متعددی به همراه دارد. فرآیند غده سازی در سیب زمینی بسیار پیچیده است، اما می توان آن را با تکنیک ریزازدیادی القا کرد. میکروغده ها^۲ به دلیل اندازه و وزن کوچک خود از مزایای بسیار زیادی در زمینه نگهداری، حمل و نقل و شیوه های تولید برخوردار هستند. آنها دارای خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی مشابهی در مقایسه با غده های تولید شده در مزرعه هستند [۲]. صرف نظر از این که این برنامه برای پژوهش یا تجارت است، ضروری است که کشت ها در شرایط آزمایشگاهی عاری از آلودگی بیولوژیکی ایجاد شوند و در طول دستکاری، رشد و ذخیره سازی به عنوان کشت های پاک^۳ نگهداری شوند. خطرات ناشی از آلودگی میکروبی، نتایج آزمایشی نادرست به دلیل اثرات

آلاینده های نهفته یا از بین رفتن کشت های تجربی یا تجاری ارزشمند است. آلودگی میکروبی کشت بافت های گیاهی به دلیل وجود مواد مغذی بالا در محیط کشت است. در سال های اخیر، نشان داده شده است که بسیاری از گیاهان، به ویژه گیاهان چند ساله، حداقل به طور موضعی توسط باکتری ها به صورت درون سلولی مورد حمله قرار می گیرند. باکتری ها، ویروس ها و ویروئیدهای بیماری زا درون سلولی، ممکن است به صورت نهفته به کشت ها منتقل شوند و به صورت افقی و عمودی در کشت ها پخش شوند. [۳] معمولاً این میکروارگانیسم ها با ورود به محیط کشت سریع تر از سلول و بافت های کشت شده گیاهی رشد می کنند و در نهایت کشت اصلی را از بین می برند. همچنین، این آلاینده ها مواد زائد متابولیکی آزاد می کنند که برای بافت های گیاهان مضر است [۴]. اندام ها و بافت های گیاهی با محلول های ضد عفونی کننده مختلف استریل می شوند. باکتری ها و قارچ ها دو آلاینده در دسرساز هستند که در کشت های آزمایشگاهی مشاهده می شوند. برای از بین بردن آلودگی میکروارگانیسم ها در طی تکثیر آزمایشگاهی، رایج ترین محلول های مورد استفاده عبارتند از: هیپوکلریت کلسیم، هیپوکلریت سدیم، پراکسید هیدروژن، الکل اتیلن، نیترات نقره، کلرید جیوه، انواع قارچ کش ها و آنتی بیوتیک ها [۶] و [۵]. علیرغم موفقیت این روش ها در بسیاری از موارد،

¹ Micropropagation

² Micro tuber

³ Aceptic culture

مقاومت باکتری‌ها و قارچ‌ها به باکتری‌کش‌ها و قارچ‌کش‌های رایج در یک بازه زمانی پس از آلودگی، عامل محدود کننده در گندزدایی مواد گیاهی و محیطی است. همچنین، برخی از مواد شیمیایی ضد میکروبی دارای علائم فیتوتوکسیک مانند کاهش سرعت رشد ریزنمونه‌ها یا جهش‌های ژنتیکی هستند [۷]. یکی از مهم‌ترین مشکلات در کشت بافت گیاهی، آلودگی‌های باکتریایی درون‌زاد هستند که اغلب در بافت‌های آلوده علائم ظاهری چندانی ندارند [۸]. برای رفع آلودگی‌های باکتریایی می‌توان از آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده کرد که یا مستقیماً به محیط کشت افزوده می‌شوند و یا قبل از کشت نمونه گیاهی با آن تیمار می‌شود [۹ و ۱۰]. روش‌های مختلف ضد عفونی و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل آلودگی در محیط درون‌شیشه‌ای توصیه شده است، ولی برخی از روش‌ها بهره‌وری پایین و برخی هم اثرات سمی زیادی روی ریزنمونه‌ها دارند [۱۱]. از سویی، مقاومت روزافزون این عوامل آلوده‌کننده به مواد گندزدای شیمیایی و سمیت این مواد برای موجودات زنده، دانشمندان را به سمت استفاده از مواد جدیدتر، ایمن‌تر و موثرتر سوق داده است [۴]. ترکیبات مبتنی بر نقره مانند نیترات نقره مدت‌ها است که برای میکروارگانیزم‌ها بسیار سمی شناخته شده‌اند و فعالیت ضد باکتریایی قوی روی گونه‌های وسیعی از باکتری‌ها را نشان می‌دهند [۷]. نانوذرات به دلیل داشتن نسبت سطح به حجم بالاتر در مقایسه با مواد توده‌ای که از یون ساخته شده‌اند، ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و نوری منحصر به فردی دارند. بنابراین، انتظار می‌رود که نانوذرات نقره^۱ در واکنش‌پذیری کاتالیزوری و فعالیت ضد میکروبی نسبت به میکروذرات نقره کارآمدتر و جایگزین مناسبی به عنوان مواد ضد باکتری جدید باشند [۱۳ و ۱۲، ۷]. همچنین، طیف گسترده‌ای از

آنتی‌بیوتیک‌ها در کشت درون‌شیشه‌ای گیاهان به منظور محدودسازی انواع زیادی از آلودگی‌ها استفاده می‌شود و استفاده صحیح از آن‌ها اهمیت ویژه‌ای دارد. باید توجه داشت که آنتی‌بیوتیک‌های اضافه شده در محیط کشت، ممکن است دارای عوارض نامطلوبی باشند که این عوارض به نوع آنتی‌بیوتیک و غلظت آن بستگی دارد [۱۴]. بنابراین، در سال‌های اخیر توجه زیادی به جایگزین‌های جدید برای مواد گندزدای ایمن و مقرون به صرفه، شده است [۷]. گزارش‌های متعددی بیان می‌کنند که اسانس‌های گیاهی^۲ در شرایط درون‌شیشه‌ای^۳ و برون‌شیشه‌ای^۴ می‌توانند به عنوان ترکیبات ضد میکروبی زیستی استفاده شوند. این گونه محصولات عموماً مناسب‌تر و کمتر برای محیط زیست مضر هستند و می‌توانند به عنوان جایگزینی برای کنترل بیماری‌های گیاهی مورد استفاده قرار گیرند [۴]. خواص ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی بیشتر برای افزایش عمر پس از برداشت محصولات کشاورزی مانند میوه‌ها، سبزی‌ها و گل‌های شاخه‌بریده مورد استفاده می‌گیرد [۱۵]. فعالیت ضد قارچی فلفل سیاه علیه قارچ‌های J.G. Kühn *Aspergillus flavus* link, *Rhizoctonia solani* Sacc. و *Fusarium verticillioides* [۱۶] و فعالیت آنتی‌باکتریایی اسانس‌های فلفل سیاه [۱۷]، زنجبیل [۱۸]، میخک هندی [۱۹] و اسطوخودوس [۲۰] علیه برخی پاتوژن‌های گرم مثبت و منفی گزارش شده است. ویلسون و همکاران [۲۱] گزارش کردند که اسانس استراج شده از آویشن قرمز (*Thymus zygis* L.) در مقایسه با سایر اسانس‌ها اثر بازدارندگی عمده‌ای بر رشد اسپور *Botrytis cinerea* Pers. دارد. مطالعات انجام شده توسط Abdelgaleil [۲۲] و Soad و Andelgaleil [۲۳] تایید کردند که غلظت ۵۰۰

^۲ Essential oils^۳ In vitro^۴ In vivo^۱ SNPs

سیب‌زمینی چهارمین محصول غذایی مهم در سراسر جهان است که ارزش بالایی به‌عنوان یک غذای متعادل و مغذی دارد. کشت سیب‌زمینی به‌دلیل انواع بیماری‌ها و آفات حشرات و محدودیت‌های محیطی با چالش مواجه است که این امر پرورش گونه‌های مقاوم را بسیار مهم می‌کند [۲۷]. تکنیک کشت بافت و ریزازدیادی در سرتاسر جهان جایگزینی برای تکثیر معمولی سیب‌زمینی برای تولید سیب‌زمینی‌های بذری عاری از ویروس به نام میکروغده‌ها در یک محیط حفاظت شده است. روش‌های تکثیر آزمایشگاهی با استفاده از قلمه‌های گره‌ای، نوک مریستم و میکروغده‌ها برای ثبات ژنتیکی کلون‌های تکثیر شده گزارش شده است. ارزش بالقوه کشت بافت در تولید سیب‌زمینی برای تولید بذر عاری از بیماری در بسیاری از کشورها شناخته شده است. تکنیک تولید بذر سیب زمینی را می‌توان با تکثیر آزمایشگاهی از طریق بازرایی گیاهچه یا تولید میکروغده طراحی کرد [۲۸ و ۲]. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی و مقایسه کارایی تیمارهای مختلف مواد گندزدا برای بهینه‌سازی شرایط گندزدایی سطحی ریزنمونه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای با استفاده از یکسری ترکیبات شیمیایی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و نانوذرات نقره و ترکیب طبیعی اسانس زیره در غلظت‌های مختلف انجام شد.

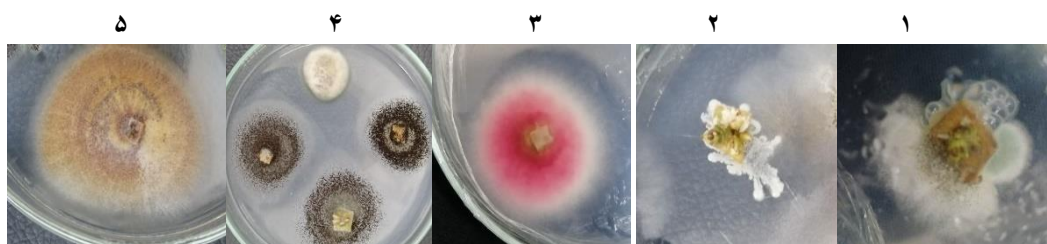
۲- روش‌ها

در این پژوهش از سیب‌زمینی محلی استفاده شد. غده‌های سیب‌زمینی، برای جوانه‌زنی به مدت دو هفته در محیط پر نور و مرطوب و در دمای بالاتر از ۱۰ درجه نگهداری شدند. چشمک‌های جوانه زده از غده‌های سیب‌زمینی بریده شده و سپس ۳۰ دقیقه زیر آب جاری به همراه یک قطره مایع ظرفشویی شست‌وشوی اولیه داده شد. ریزنمونه‌ها در ابعاد حدود ۰/۵ سانتی متر تهیه شد (شکل ۱، سمت راست).

پی‌پی‌ام از اسانس گیاه آغوره (*Mentha microphylla* K.) رشد میسلیم چندین گونه قارچ را سرکوب می‌کند. تقی‌زاده و سلگی [۲۴] گزارش کردند که گندزدایی با اسانس‌های تیمول و کارواکرول در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و مدت زمان مختلف، بر آلودگی‌های باکتریایی و قارچی درون‌شیشه‌ای چمن برموداگرس موثر می‌باشند. گوران و همکاران [۲۵] غلظت‌های ۲۵۰ الی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام از اسانس اسطوخودوس را به منظور گندزدایی ریزنمونه‌های برگ‌ی انگور به مدت یک و چهار ساعت استفاده نمودند که نتایج نشان داد غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام از این اسانس میزان آلودگی را به‌طور کامل مهار کرد. در آزمایشی گزارش شد که عصاره فلفل و میخک هندی در غلظت ۱۸ میکرولیتر در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت، اسانس دارچین در غلظت ۳۶ میکرولیتر در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت، اسانس اسطوخودوس در غلظت ۱۰۸ میکرولیتر در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت و اسانس‌های زردچوبه، لیمو و درخت چای در غلظت ۲۵۲ میکرولیتر در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت، به‌صورت ۱۰۰ درصد در استریل کردن محیط کشت موثر بودند [۲۶]. جسیم و همکاران [۴] اثر ضدقارچی اسانس‌های گیاهی به‌دست آمده از آویشن (*Thymus vulgaris* L.)، نعناع (*Mentha piperita* L.)، درخت کافور (*Cinnamom camphora* L.)، هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis* L.) و منداب راکتی (*Eruca vesicaria* L.) را در غلظت‌های مختلفی بررسی کردند و نتایج نشان داد که تمامی اسانس‌ها به‌طور موثری رشد میسلیم‌ها را مهار می‌کنند. رشد میسلیم‌ها در غلظت ۲ میلی‌لیتر در ۱۰۰ میلی‌لیتر به‌طور کامل توسط آویشن و نعناع مهار شد. در حالی که، اثربخشی کافور، هندوانه ابوجهل و منداب راکتی به ترتیب ۸۹، ۳۳، ۳۳ و ۱۱، ۱۱ درصد بودند.



شکل ۱ آماده‌سازی ریزنمونه‌های جوانه سیب‌زمینی برای کشت



شکل ۲ انواع آلودگی‌های باکتریایی (۱ و ۲) و قارچی (۳، ۴ و ۵) درون‌شیشه‌ای گیاهی سیب‌زمینی

دمای تقریبی ۵۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد اضافه شد و محیط کشت‌ها در پتری‌دیش‌های ۱۲ سانتی‌متری توزیع شدند. برای تعیین میزان آلودگی اولیه ریزنمونه و کارایی روش‌های متداول برای گندزدایی، محیط کشت برای گروه شاهد بدون گندزدایی و شاهد با گندزدایی متداول و بدون تیمارهای ذکر شده در نظر گرفته شد.

ریزنمونه‌های شاهد بدون گندزدایی فقط با آب جاری شست‌وشو داده و در محیط کشت MS پایه کشت داده شد. در ریزنمونه‌هایی که نیاز به گندزدایی با روش‌های متداول داشت (شاهد با گندزدایی) عملیات گندزدایی با اعمال ۱۰ دقیقه غوطه‌وری در محلول سفیدکننده تجاری خانگی (وایتکس) ۲۰ درصد و سپس یک دقیقه غوطه‌وری در

محیط کشت استفاده شده در این آزمایش، محیط کشت پایه موراشیگ و اسکوگ^۱ دارای ۳۰ گرم ساکارز و ۷ گرم آگار بود. پس از به حجم رساندن محیط کشت و تنظیم pH محیط کشت توسط NaOH یک نرمال در دامنه ۵/۷ تا ۵/۸، محیط کشت توسط اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه استریل شد. برای تیمارهای مختلف گندزدایی، آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، پنی‌سیلین و سفازولین (غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، اسانس زیره (غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و محلول نانوقره (غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) در زیر هود لامینار به محیط کشت استریل دارای

^۱ MS

۳- نتایج و بحث

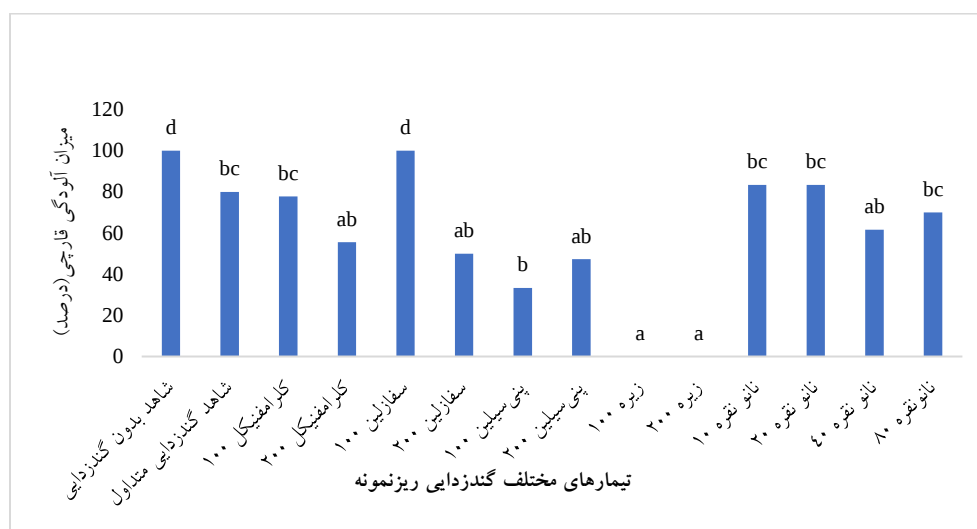
تجزیه واریانس نشان‌دهنده اثر معنی‌دار تیمارهای گندزدایی بر انواع آلودگی‌های باکتریایی، آلودگی‌های قارچی و میزان نکروز شدن ریزنمونه‌ها (در سطح ۱ درصد) بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر ضد قارچی ترکیبات ضد عفونی‌کننده مختلف بر گندزدایی ریزنمونه‌های سیب زمینی در شکل ۳ نشان داده شده است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد بهترین اثر در تیمارهای اسانس زیره به‌دست آمد که میزان آلودگی در آن صفر درصد بود. بیشترین میزان آلودگی در نمونه‌ی شاهد بدون گندزدایی مشاهده شد (۱۰۰ درصد). در بین آنتی‌بیوتیک‌ها سفازولین و کلرامفنیکل عملکرد نسبتاً ضعیفی در کنترل آلودگی داشتند ولی پنی‌سیلین در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۶۷ و ۵۳ درصد) توانستند آلودگی قارچی ریزنمونه‌های سیب‌زمینی را کنترل کند. پیشگیری و کنترل آلودگی‌های میکروبی در کشت بافت گیاهی برای موفقیت کار از عوامل حیاتی محسوب می‌شود. آلودگی ناشی از رشد میکروارگانیسم‌ها از مهمترین دلایل از بین رفتن نمونه‌ها در کشت درون‌شیشه‌ای گیاهی به شمار می‌آید.

اتانول ۷۰ درصد انجام شد. پس از هر مرحله گندزدایی ریزنمونه‌ها سه مرتبه با آب مقطر استریل آب‌شویی شدند. ریزنمونه‌ها در محیط کشت، کشت داده شدند و در اتاقک رشد کنترل‌شده با دمای 1 ± 23 درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۶/۸ ساعت تاریکی/روشنایی نگهداری شدند. این پژوهش به شکل آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج این آزمایش براساس میزان نکروز شدن ریزنمونه‌های کشت شده (بر اساس علائم پدیده قهوه‌ای و سیاه شدن بافت)، میزان آلودگی باکتریایی ریزنمونه‌ها (بر اساس وجود لکه‌های ژلاتینی به رنگ‌های زرد، سفید و شیری)، میزان آلودگی قارچی (بر اساس کلونی‌های میسیلیوم سفید، سیاه، سبز، زرد و صورتی) (شکل ۲) و میزان سالم بودن ریزنمونه‌های کشت شده در تیمارهای مختلف از روز اول پس از کشت مورد بررسی و یادداشت برداری قرار گرفت. پس از تبدیل داده‌ها به درصد و نرمال کردن داده‌های غیرنرمال با استفاده از روش لگاریتم با ANOVA، با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه شدند. آزمون چنددامنه‌ای دانکن (DMRT) برای تعیین معنی‌دار بودن تفاوت آماری بین میانگین تیمارها انجام شد.

جدول ۱ تجزیه واریانس نوع و غلظت آنتی‌بیوتیک بر شرایط گندزدایی ریزنمونه‌های سیب‌زمینی

میانگین مربعات (MS)				
منبع تغییرات	درجه آزادی	آلودگی باکتری	آلودگی قارچی	نکروز
تیمار گندزدایی	۱۳	۲۴**	۲۶**	۵۹۴۷**
خطا	۲۸	۳	۳	۴
ضریب تغییرات (%)		۳۵	۲۵	۴۶

*: معنی‌دار در سطح ۰/۰۱



شکل ۳ اثر تیمارهای مختلف آنتی بیوتیک، اسانس و نانو نقره بر میزان آلودگی قارچی سیب زمینی در شرایط کشت درون شیشه ای

قارچ‌ها اشاره کرد. مواد گندزدای ایده آل باید بتوانند در غلظت‌های کم بر علیه طیف زیادی از میکروب‌ها موثر باشند که این بستگی به عوامل متعددی مانند انواع پاتوژن‌های موجود، غلظت و ماهیت مواد گندزدا و مدت زمان گندزدایی دارد [۴]. مشابه با نتایج این آزمایش در مورد اثر ضد میکروبی آنتی بیوتیک، در پژوهشی استفاده از سفوتاکسیم ۰/۰۵ درصد در محیط کشت توانست تا حد قابل ملاحظه‌ای سبب کاهش آلودگی ریزنمونه‌های فلسی لاله شود [۹]. همچنین، ترکیب ونکومایسین و سفوتاکسیم به ترتیب با غلظت‌های ۰/۲۵ و ۵ میلی گرم در لیتر توانست به طور میانگین ۳۰ الی ۳۵ درصد از آلودگی‌های کشت درون شیشه‌ای را کاهش دهد [۲۹]. بر اساس نتایج به دست آمده اسانس زیره در هر دو غلظت توانست آلودگی و رشد قارچ را در محیط کشت کنترل کند. ترکیبات اصلی اسانس زیره کومینالدید، سیمن و ترپنئیدها هستند که زیره را به یک آنتی اکسیدان و عامل ضد میکروبی بالقوه تبدیل می‌کند. اسانس زیره دارای اثر بازدارندگی نسبت به رشد باکتری‌های

رقابت این میکروارگانیسم‌ها با ریزنمونه‌های کشت شده بر سر مواد غذایی موجود در محیط کشت غنی، و افزایش تراکم و تولید ترکیبات سمی توسط این میکروارگانیسم‌ها موجب افزایش مرگ و میر، نوسان در رشد، نکروز بافت و به طور کلی کاهش بازده یا حتی بازدارندگی کامل کشت بافت می‌شود. تحت چنین شرایطی نیاز به ماده‌ای که علاوه بر تاثیر مناسب روی آلودگی ریزنمونه‌ها و عدم آسیب به نمونه گیاهی، خطرات کمتری برای انسان و محیط زیست داشته باشد به چشم می‌خورد [۲۵]. بهبود روش‌ها و پژوهش در مورد مواد گندزدای جدید برای ضد عفونی ریزنمونه و محیط کشت درون شیشه‌ای برای دانشمندان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. ضد عفونی کشت درون شیشه‌ای باید به گونه‌ای باشد که مواد زنده گیاهی فعالیت زیستی خود را از دست ندهند و فقط آلودگی حذف شود. به این ترتیب غلظت مواد گندزدا نیز با توجه به نوع ریزنمونه و عدم سمیت آن تعیین می‌شود. [۱۵] از مهمترین پاتوژن‌های درون شیشه‌ای گیاهی می‌توان به باکتری‌ها و

ریزنمونه‌ها شدند. Çölgeçen و همکاران [۳۲] با استفاده از مخلوطی از آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین، پنی‌سیلین و آمفوتریسین اگرچه نتوانستند آلودگی‌ها را به‌طور کامل حذف کنند ولی به میزان زیادی از شدت آن‌ها در محیط کشت کاسته شد.

این حقیقت که یون‌های نقره و ترکیبات مبتنی بر این ماده برای میکروارگانسیم‌ها که شامل ۱۶ گونه اصلی باکتری نیز هستند بسیار سمی هستند. این جنبه از نقره آن را به یک انتخاب عالی برای مهار رشد این میکروارگانسیم‌ها تبدیل می‌کند. نقره به‌طور کلی به شکل نیترات برای القای اثر ضد میکروبی استفاده می‌شود، اما زمانی که از نانوذرات نقره استفاده می‌شود، افزایش زیادی در سطح در دسترس برای تماس با میکروب ایجاد می‌شود. اگرچه نانوذرات نقره در بسیاری از کاربردهای ضد باکتریایی کاربرد دارند، اما اثر این فلز بر روی میکروب‌ها به‌طور کامل شناخته نشده است. این فرضیه وجود دارد که نانوذرات نقره می‌توانند سبب مرگ سلولی یا مهار رشد آنها شوند و ساز و کارهای مختلفی در وقایع نقش دارند. مکانیسم دقیق عملکرد نانوذرات نقره برای ایجاد اثر ضد میکروبی به‌وضوح شناخته نشده است. نظریه‌های مختلفی در مورد اثر نانوذرات نقره بر روی میکروب‌ها برای ایجاد اثر میکروب‌کشی وجود دارد. نانوذرات نقره توانایی اتصال به دیواره سلولی باکتری و متعاقباً نفوذ به آن را دارند و در نتیجه سبب ایجاد تغییرات ساختاری در غشای سلولی مانند نفوذپذیری غشای سلولی و مرگ سلول می‌شوند. بر روی سطح سلول "گودال" تشکیل می‌شود و نانوذرات روی سطح سلول تجمع می‌یابند. تشکیل رادیکال‌های آزاد توسط نانوذرات نقره ممکن است مکانیسم دیگری باشد که توسط آن سلول‌ها می‌میرند. مطالعات طیف‌سنجی رزونانس اسپین الکترون وجود دارد که نشان می‌دهد در تماس با باکتری، رادیکال‌های آزاد

گرم مثبت/منفی و گونه‌های قارچ است. نحوه عملکرد اسانس گیاهی به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی، از طریق (الف) جذب مستقیم بخار اسانس توسط سویه میکروبی و (ب) حالت غیر مستقیم در محیطی که اسانس را جذب کرده است، می‌باشد. اسانس زیره پتانسیل جلوگیری از بیماری زایی باکتری‌ها را از طریق مهار آنزیمی ترکیب اکسید شده یا واکنش با گروه‌های سولفیدریل پروتئین‌ها از طریق حالت های غیر اختصاصی دارد و عملکرد پروتئین را اصلاح می‌کند. اسانس زیره سبب افزایش نفوذپذیری سلول‌ها شده و یکپارچگی غشاء را مختل می‌کند که در نهایت منجر به خروج سیتوپلاسم از سلول و مرگ می‌شود. نتایج تحقیقات نشان داد که میزان اثر آنتی‌میکروبی اسانس زیره نسبت مستقیم با غلظت اسانس و مدت زمان تماس با پاتوژن‌ها دارد [۳۰].

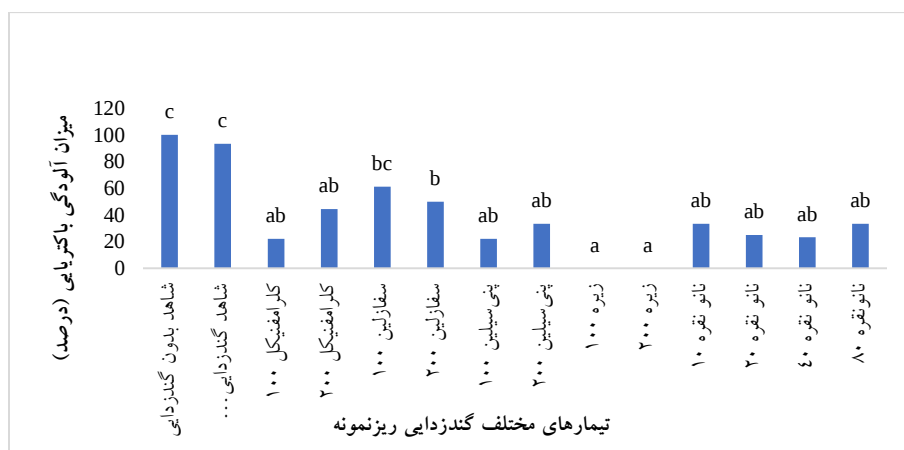
مقایسه میانگین میزان آلودگی باکتریایی ریزنمونه‌های سیب‌زمینی با تیمارهای مختلف گندزدایی در شکل ۴ نشان داده شده است. بیشترین آلودگی باکتریایی در گروه شاهد بدون گندزدایی (۱۰۰ درصد) و گروه شاهد با گندزدایی متداول (۹۳ درصد) دیده شد. بهترین اثر ضد باکتریایی برای تیمارهای زیره بود که توانست تا صد درصد آلودگی را کنترل کند. محلول نانونقره در تمام غلظت‌ها به‌طور کلی عملکرد بهتری نسبت آنتی‌بیوتیک‌ها در کنترل آلودگی نشان داد. نانونقره در غلظت ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر تا ۷۵ و ۷۷ درصد، کلرامفنیکل ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و پنی‌سیلین در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تا ۲۲ درصد آلودگی باکتریایی را نسبت به گروه شاهد کاهش داد. در مطالعه‌ای توسط Nicholson و Teng [۳۱] گزارش شد که استرپتومایسین و پنی‌سیلین در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در حذف آلودگی باکتریایی ریزنمونه جنسینگ موثر بودند اما سبب ناهنجاری‌هایی در رشد، کالوس‌زایی و جنین‌زایی

باکتریایی را فراهم کرد و همچنین تیمول ۰/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه در حذف آلودگی‌های قارچی در شرایط *in vitro* نتایج موثری داشت.

برخی گزارش‌ها نشان داده‌اند که اجزای ضد میکروبی به شکل نانوذرات می‌توانند به‌عنوان مواد ضدباکتری در کشت بافت گیاهی استفاده شوند. عبدی [۳۴] با استفاده از ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر محلول نانوقره پس از گندزدایی سطحی کشت بافت سنبل‌الطیب، بدون هیچگونه اثر مخربی روی ریزنمونه، نتیجه مطلوبی را برای گندزدایی ریزنمونه مشاهده کرد. رستمی و شمسوار [۳۵] گزارش کردند که افزودن نانو قره با غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر به محیط کشت MS برای کنترل آلودگی ریزنمونه‌های زیتون بدون هیچ گونه اثرات مضر بر رشد مؤثر بود. قرائتی و همکاران [۳۶] اثر غلظت‌های مختلف محلول نانوقره را بر آلودگی‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) در شرایط کشت آزمایشگاهی مورد بررسی قرار داد. آنها دریافتند که شرایط بهینه برای کاهش آلودگی باکتریایی بومی بر روی گره‌های قطعه گردو ۷۵ پی‌پی‌ام نانوقره است.

توسط نانوذرات نقره تشکیل می‌شود و این رادیکال‌های آزاد توانایی آسیب رساندن به غشای سلولی و متخلخل ساختن آن را دارند که در نهایت می‌تواند منجر به مرگ سلول می‌شود. همچنین، گفته می‌شود که یون‌های نقره تمایل بالایی برای این دارند که جایگزین گوگرد در گروه‌های تیول آنزیم‌ها و پروتئین‌های حیاتی شوند، آنها را غیرفعال کرده، متابولیسم را مختل کنند و منجر به مرگ سلول‌های باکتریایی شوند. علاوه بر این، یون‌های نقره می‌توانند با DNA تعامل داشته و از توانایی همانندسازی باکتری‌ها جلوگیری کنند. بر اساس آزمایش‌های انجام شده، مهار آلودگی به غلظت و زمان قرار گرفتن عامل بر روی ریزنمونه‌ها بستگی دارد. نانوقره در غلظت بالا و در زمان طولانی مدت، در کنترل آلودگی مؤثر بود [۳۳].

تقی‌زاده و همکاران [۱۵] با هدف بهینه‌سازی گندزدایی ریزنمونه‌های توت‌فرنگی با استفاده از اسانس‌های کارواکرول و تیمول در غلظت‌های مختلف پژوهشی انجام دادند. مطابق نتایج این مطالعه تیمول بیشترین بازدارندگی رشد میکروبی را داشت. گندزدایی ریزنمونه با کارواکرول ۰/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ۸۳ درصد بازدارندگی آلودگی



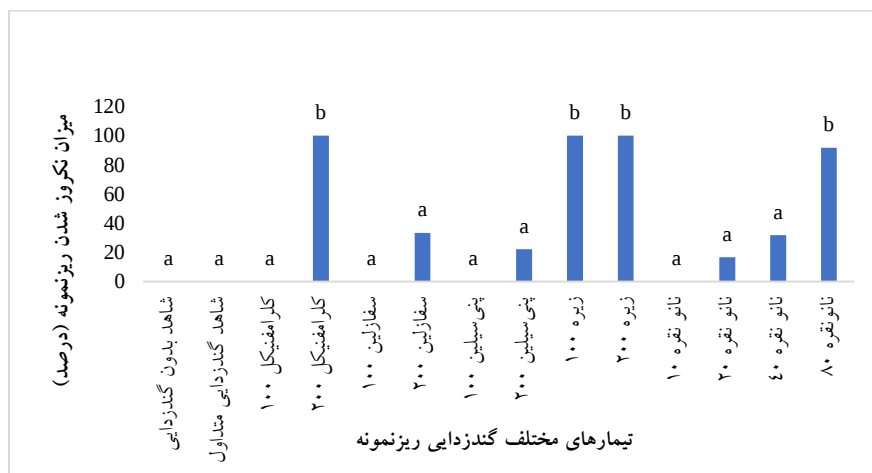
شکل ۴ اثر تیمارهای مختلف آنتی‌بیوتیک، اسانس و نانوقره بر میزان آلودگی باکتریایی سبب‌زمینی در شرایط کشت درون شیشه‌ای

نتایج میزان نکروز شدن ریزنمونه‌ها نشان داد که زیره اثر ضد میکروبی بسیار قوی دارد، در حدی که روی بافت زنده گیاهی تاثیر منفی داشت (شکل ۵). میزان قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها در تیمار زیره ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر برابر ۱۰۰ درصد بوده است. همچنین، نانوفره در غلظت ۸۰ میلی گرم در لیتر هم درصد بالای نکروز (۱۰۰ درصد) از خود نشان داده است.

یکی از موانع استفاده از اسانس‌ها برای گندزدایی محیط کشت و ریزنمونه‌های گیاهی، صدمات شدید بر روی بافت گیاه و مرگ ریزنمونه‌ها است که این مورد به طبیعت اسانس‌ها بر می‌گردد. ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در اسانس‌ها با اکسیده کردن ترکیبات درون پلاست سلول‌ها، فعالیت آنزیمی را متوقف نموده، سبب نکروز شدن بافت گیاهی، عدم تثبیت ریزنمونه در محیط کشت و در نهایت مرگ ریزنمونه می‌شوند [۴۰]. بنابراین، در تعیین غلظت این مواد به عنوان گندزدای کشت درون‌شیشه‌ای اهمیت بالایی دارد.

صفوی و همکاران [۳۷] پتانسیل نانوفره را برای حذف آلاینده‌های ریزنمونه‌های تنباکو در محیط MS ارزیابی کردند و نتایج آنها نشان داد که نانوفره پتانسیل خوبی برای حذف آلاینده‌های باکتریایی در روش‌های کشت بافت تنباکو دارد. افزودن نانوفره با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر به محیط کشت در کنترل عفونت میکروارگانیسم کاملاً مؤثر بود. غلامحسین‌پور انوری و همکاران [۳۸] عوامل ضد عفونی کننده مناسب را برای کنترل آلودگی‌های باکتریایی هیبریدهای هلو × بادام در شرایط کشت بافت ارزیابی کردند.

نتایج نشان داد که افزودن ۱۰ تا ۲۰ میلی گرم بر متر مکعب نانوفره به‌طور مستقیم به محیط کشت برای کنترل رشد باکتری در محیط کشت مؤثر است. در آزمایشی دیگر، فخرشانی و همکاران [۳۹] فعالیت ضد میکروبی محلول نانوفره را روی کشت بافت ژربرا (*Gerbera aurantiaca*) مطالعه کرد. آنها گزارش دادند که محلول نانوفره ۲۰۰ میلی گرم در لیتر آلودگی باکتریایی و قارچی را با موفقیت کنترل کرد، بدون اینکه اثر مضر بر باززایی گیاهچه‌ها داشته باشد.



شکل ۵ اثر تیمارهای مختلف آنتی‌بیوتیک، اسانس و نانوفره بر میزان نکروز سیب‌زمینی در شرایط کشت درون شیشه‌ای

انجام شود. در نهایت، این عوامل جدید، به‌ویژه نانوذرات نقره، می‌توانند به‌عنوان جایگزینی برای روش‌های شیمیایی رایج برای حذف و کنترل آلودگی‌های میکروبی ریزنمونه‌های گیاهی در شرایط کشت درون سلولی مورد استفاده قرار گیرند.

۵- منابع

- [۱] متقی م، رضوی‌زاده ر، مختاری آ و اطرشی م (۱۳۹۸). تعیین شرایط بهینه برای ریزازدیادی گیاه زالزالک (*Crataegus aronia*) در شرایط کشت درون شیشه‌ای. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)(علمی). ۳۲(۱):۲۰۵-۲۱۷.
- [2] Koleva Gudeva L, Mitrev S, Trajkova F and Ilievski M (2012). Micropropagation of Potato *Solanum tuberosum* L. Electronic Journal of Biology 8(3):45-49.
- [3] Cassells Alan C (2012). Pathogen and biological contamination management in plant tissue culture: phytopathogens, vitro pathogens, and vitro pests, Plant cell culture protocols. 57-80.
- [4] Jasim N S, Salih A M, and Ati M A (2021). Evaluating the efficiency of plants essential oils against common fungal contamination affecting tissue culture of date palms (*Phoenix dactylifera* L.) by *in vitro* culture. Res. J. Chem. Environ. 25:40-45.
- [5] Torres K C (2012). Tissue culture techniques for horticultural crops. Springer Science & Business Media. 285.
- [6] Pérez-Tornero O, Burgos L, and Egea J (1999). Introduction and establishment of apricot *in vitro* through regeneration of shoots from meristem tips. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. 35:249-253.
- [7] Sondi I and Salopek-Sondi B (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative

مقایسه میانگین‌ها نشان داد پنی‌سیلین در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر عملکرد آنتی میکروبی بهتری نسبت به سایر تیمارها در کنار میزان سمیت و قهوه‌ای شدن پایین داشت.

غلظت‌های نانونقره ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر درصد آلودگی باکتریایی و نکروز پایینی داشتند ولی در کنترل آلودگی قارچی کارایی نداشتند. همچنین، زیره در هر دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بهترین کنترل آلودگی را داشت ولی بیشترین میزان نکروز در این تیمار مشاهده شد. نتایج این مطالعات از اثر بخشی اسانس‌های گیاهی و نانومواد در مهار رشد انواعی از آلودگی‌ها خبر داد. اسانس‌ها مواد طبیعی هستند که علاوه بر ایمن بودن برای سلامتی، با طبیعت سازگاری دارند.

۴- نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، نتایج این آزمایش نشان‌دهنده این است که اسانس‌های گیاهی کارایی بالای در کنترل آلودگی‌های قابل رشد در شرایط درون‌شیشه‌ای گیاهی را دارد. افزایش کنترل رشد پاتوژن‌های درون‌شیشه‌ای با میزان قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌های سیب‌زمینی رابطه عکس داشت. در کل بین سه گروه تیمار آنتی‌بیوتیک، اسانس گیاهی و محلول نانونقره، آنتی‌بیوتیک‌ها کمترین کارایی را در کنترل آلودگی درون‌شیشه‌ای داشتند. برای بهبود عملکرد اسانس زیره در کنترل آلودگی و کاهش میزان قهوه‌ای شدن، بهتر است از غلظت‌های پایین‌تر اسانس زیره (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و ترکیب آن با تیمارهای گندزدایی دیگر مانند آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و یا محلول نانونقره در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده کرد. بنابراین، توصیه می‌شود تحقیقات بیشتری در این زمینه، در غلظت‌های مختلف و انواع مختلف اسانس‌های گیاهی و نانوذرات برای ضدعفونی ریزنمونه‌ها در کشت آزمایشگاهی

سطحی ریزنمونه‌های توت‌فرنگی. مجله زیست‌فناوری

گیاهان دارویی. ۲(۲):۱۰-۲۱

[16] Srichana D, Phumruang A and Chongkid B (2009). Inhibition effect of betel leaf extract on the growth of *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. Science & Technology Asia 74-77.

[17] Hoque M M, Rattila S, Shishir, M A, Bari M L, Inatsu, Y and Kawamoto S (2011). Antibacterial activity of ethanol extract of betel leaf (*Piper betle* L.) against some food borne pathogens. Bangladesh Journal of Microbiology. 28(2):58-63.

[18] Kamazeri T S A T, Abd Samah O, Taher M, Susanti D and Qaralleh H (2012). Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia. Asian Pacific journal of tropical medicine. 5(3):202-209.

[19] Joshi B, Sah G P, Basnet B B, Bhatt M R, Sharma D, Subedi K, Pandey J and Malla, R. (2011). Phytochemical extraction and antimicrobial properties of different medicinal plants: *Ocimum sanctum* (Tulsi), *Eugenia caryophyllata* (Clove), *Achyranthes bidentata* (Datiwan) and *Azadirachta indica* (Neem). Journal of Microbiology and Antimicrobials 3(1):1-7.

[20] Hui L, He L, Huan L, XiaoLan L and AiGuo Z (2010). Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis-related bacteria. African Journal of Microbiology Research. 4(4):309-313.

[21] Wilson C L, Solar J M, El Ghaouth A, and Wisniewski M E (1997). Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. Plant disease. 81(2):204-210.

[22] Abdelgaleil S A (2006). Chemical composition, insecticidal and fungicidal activities of essential oils isolated from *Mentha*

bacteria. Journal of colloid and interface science. 275(1):177-182.

[8] Kneifel W and Leonhardt W (1992). Testing of different antibiotics against Gram-positive and Gram-negative bacteria isolated from plant tissue culture. Plant cell, tissue and organ culture. 29:139-144.

[۹] تقی‌زاده م، بابالار م، زمانی ذ و نادری ر (۱۳۸۳) تولید شاخصاره نابجا در لاله زیتنی به‌روش کشت درون‌شیشه‌ای. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران.

[10] Al-Mayahi A M, Ahmed A N and Al-Khalifa A A (2010). Isolation and identification of associated fungi with the micropropagation of five different date palm cultivars and the effect of Benlate fungicides in their control. Basra J. Date Palm Res. 9(2):79-97.

[۱۱] رضازاده ب، قنبری ع، پوربیرامی هیری و حق‌جویان ر (۱۴۰۰). بررسی تیمارهای مختلف ضدعفونی بر روی ریزنمونه‌های قره‌قاط (*Vaccinium arctostaphylos* L). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران). ۳۴(۱):۸۲-۹۴.

[12] Kim J S, Kuk E, Yu K N, Kim J H, Park S J, Lee H J, Kim S H, Park Y K, Park Y H, Hwany C Y, Kim Y K, Lee S Y, Jeong D H and Cho M H (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine. 3(1):95-101.

[13] Navarro E, Baun A, Behra R, Hartmann N B, Filser J, Miao A J, Quiagg A, Santschi P H and Sigg L (2008). Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. Ecotoxicology. 17:372-386.

[14] Leifert C, Ritchie J Y and Waites W M (1991). Contaminants of plant-tissue and cell cultures. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 7(4):452-469.

[۱۵] تقی‌زاده م، سلگی م و شهرجردی ا (۱۳۹۵). بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس‌های طبیعی جهت گندزدایی

electron microscopy. Microbial pathogenesis 136:103716.

[31] Teng W L and Nicholson L (1997). Pulse treatments of penicillin-G and streptomycin minimize internal infections and have post-treatment effects on the morphogenesis of ginseng root culture. Plant cell reports. 16(8):531-535.

[32] Çölgeçen H, Çalışkan U K and Toker G (2011). Influence of different sterilization methods on callus initiation and production of pigmented callus in *Arnebia densiflora* Ledeb. Turkish Journal of Biology. 35(4):513-520.

[33] Prabhu S and Poulose E K (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. International nano letters. 2:1-10.

[34] Abdi G, Salehi H and Khosh-Khui M (2008). Nano silver: a novel nanomaterial for removal of bacterial contaminants in valerian (*Valeriana officinalis* L.) tissue culture. Acta Physiologiae Plantarum. 30:709-714.

[35] Rostami A.A and Shahsavar A (2009). Nano-silver particles eliminate the *in vitro* contaminations of *Olive mission* explants. Asian Journal of Plant Sciences. 8:1-5.

[۳۶] قرائتی س، ضرغامی ر و امیری م (۱۳۸۹). ارزیابی کاربرد نانو نقره برای حذف آلودگی و زنده ماندن گره قطعه کشت شده گردوی ایرانی در شرایط *in vitro*. پنجمین همایش ایده نو در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، خوراسگان. ۲۶ تا ۲۷ بهمن ۱۳۸۹.

[37] Safavi K, Mortazaeinezhad F, Esfahanizadeh M and Asgari M J (2011). *In vitro* antibacterial activity of nanomaterial for using in tobacco plants tissue culture. World Acad Sci Eng Technol 79:372-373.

[38] Anvari S G, Carapetian J and Dejampour J (2012). Effects of nanosilver and vancomycin in sterilization of peach× almond hybrids in the *in*

microphylla and *Lantana camara* growing in Egypt. Alex. Sci. Exch. J. 27:18-28.

[23] Ahmed S M, and Andelgaleil S A M (2008). *In vitro* inhibition of plant pathogenic fungi and control of grey mould and soft root of strawberry by essential oils. Journal of Pest Control and Environmental Sciences, Egypt. 16:69-86.

[24] Taghizadeh M and Solg M (2014). The application of essential oils and silver nanoparticles for sterilization of bermudagrass explants in *in vitro* culture. International Journal of Horticultural Science and Technology. 1(2):131-140.

[25] Gouran A, Mozafari A and Ghaderi N (2012). The effect of antimicrobial agents on the surface sterilized grape explants in *in vitro* culture *Vitis vinifera* L. In 6th congress of the Agricultural Research findings, Kordestan University, Kordestan, Iran. 15-16.

[26] Deen W, Thepsithar C and Thongpukdee A (2013). *In vitro* culture medium sterilization by chemicals and essential oils without autoclaving and growth of chrysanthemum nodes. International Journal of Bioengineering and Life Sciences. 7(6):407-410.

[27] Spooner D M (2013). *Solanum tuberosum* (potatoes). Brenner's Encyclopedia of Genetics. 481-483.

[28] Gixhari B (2018). *In vitro* micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L). cultivars. Poljoprivreda i Sumarstvo. 64(4):105-112.

[29] Pence V C (2005). *In vitro* collecting (IVC). I. The effect of collecting method and antimicrobial agents on contamination in temperate and tropical collections. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. 41:324-332.

[30] Behbahani B A, Noshad M and Falah F (2019). Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning

[40] Husain M K, Anis M and Shahzad A (2007). *In vitro* propagation of Indian Kino (*Pterocarpus marsupium* Roxb.) using thidiazuron. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant 43:59-64.

vitro cultures. International Journal of AgriScience. 2(5):457-465.

[39] Fakhrfeshani M, Bagheri A and Sharifi A (2012). Disinfecting effects of nano silver fluids in Gerbera (*Gerbera jamesonii*) capitulum tissue culture. Journal of Biological and Environmental Sciences. 6(17):121-127.

Investigating the effectiveness of natural and chemical antimicrobial compounds in controlling *Solanum tuberosum* *in vitro* pathogens

Mina Taghizadeh^{1*}, Zahra Sadat Mirabotalebi² and Majid Komijani³

1. Department of Horticultural science, Faculty of Agriculture and Environmental Science, Arak University, Arak, Iran

2. Department of Nanobiotechnology, Faculty of Agriculture and Environmental Science- Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran

3. Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran

m-taghizadeh@araku.ac.ir

Receipt: 2025/02/05

Accepted: 2025/07/12

Abstract

A critical aspect of laboratory techniques in plant *in vitro* culture involves the disinfection of explants and the maintenance of sterile environments. Ideally, disinfectants should demonstrate efficacy against a broad spectrum of microorganisms at minimal concentrations. However, the rising application of antibiotics has led to the development of microbial resistance to these agents. Currently, compounds such as essential oils and nanoparticles are being explored in microbiological research. This study aimed to evaluate the effectiveness of three antibiotic groups (cefazolin, penicillin, and chloramphenicol) alongside cumin essential oil and silver nanoparticles in managing *in vitro* contamination in potato plants (*Solanum tuberosum* L.). The explants underwent 1 min disinfection with 70% ethanol, followed by a 10 min treatment with a commercial bleach solution. Additional disinfection treatments, including cefazolin, chloramphenicol, penicillin, silver nanoparticles, and cumin essential oil, were applied at concentrations of 10, 20, 40, and 80 mg l⁻¹ for nanoparticles, and 100 and 200 mg l⁻¹ for the other agents in the cultivation medium. The findings indicated that cumin essential oil exhibited the highest level of microbial inhibition, while cefazolin showed the least. Notably, the application of nanosilver at 40 mg L⁻¹ resulted in a 73% reduction in bacterial contamination, whereas penicillin at 100 mg L⁻¹ achieved a 67% inhibition rate. Ultimately, essential oils and nanoparticles present viable alternatives to conventional chemical treatments for the elimination and management of *in vitro* contamination in plant explants under laboratory conditions.

Keywords: Cumin essential oil, antibiotic, bacteria, microproliferation, silver nanoparticles