نقش اکسید روی بر ویژگی‌های رشدی و پاسخ‌های بیوشیمیایی اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) در مرحله رشد زایشی

الهام محجل کاظمی[1*]، نازیلا همکار[2]، هانیه محجل شجا[2]، الهام لامی‌زاده[3]، مهدی نورزاده حداد[1]

۱. پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم وفنون هسته ای، کرج، ایران
۲. گروه علوم گیاهی، سلولی و مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳. دانشجوی دکتری، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: e.mohajel.k@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۴
DOI: 10.30470/jsp.2026.735671

چکیده

عنصر روی یکی از ریزمغذی‌های حیاتی برای گیاهان به‌شمار می‌رود که اگرچه به مقدار اندک مورد نیاز است، نقش قابل‌توجهی در فرآیندهای رشد و توسعه گیاه ایفا می‌کند. این عنصر به‌ویژه در تحریک گل‌دهی و رسیدن گیاه به مرحله بلوغ تأثیرگذار است. با این حال، افزایش بیش از اندازه آن می‌تواند به بروز سمیت و اختلال در عملکرد گیاه منجر شود. با در نظر گرفتن اهمیت تغذیه‌ای اسفناج در رژیم غذایی انسان و کاربرد گسترده اکسید روی در صنایع مختلف، در این پژوهش، اثرات کاربرد این ماده بر رشد، ویژگی‌های بیوشیمیایی و تکوینی اسفناج در مرحله گل‌دهی بررسی شد. نتایج نشان داد که استفاده از اکسید روی در بسیاری از تیمارها موجب بهبود شاخص‌های رشد از جمله افزایش ارتفاع اندام هوایی، طول ریشه، سطح برگ و وزن‌تر و خشک اندام‌ها شد. بررسی‌های بیوشیمیایی نیز بیانگر تغییرات در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید بود که این تغییرات به نوع تیمار وابسته بودند و در برخی موارد افزایش و در برخی دیگر کاهش مشاهده شد. میزان فلاونوئید و فنل در غلظت‌های پایین تیمار افزایش یافت، اما در سطوح بالاتر کاهش نشان داد. همچنین، تیمار با اکسید روی منجر به افزایش کلی میزان پروتئین در مقایسه با گیاهان شاهد شد، به‌ویژه در تیمارهایی با غلظت پایین‌تر نشان داد که کاربرد متعادل آن می‌تواند رشد و صفات بیوشیمیایی را بهبود بخشد، در حالی که مصرف بیش از حد، اثرات منفی به همراه دارد.

واژه‌های کلیدی: اکسید روی، اسفناج، پاسخ‌های بیوشیمیایی، رشد زایشی

Growth, anatomical and biochemical responses of spinach plants (*Spinacia oleracea* L.) to zinc oxide nanoparticles treatment

E. Mohajel Kazemi[1*], N. Hamkar[2], H. Mohajjel-Shoja[2], E. Lamizadeh[3], M. Nourzadeh Hadad[1]

1.Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Karaj, Iran
2.Department of Plant, Cell and Molecular Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3.Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
*Corresponding Author, Email: e.mohajel.k@gmail.com
Received: August 2025 Accepted: February 2026
DOI: 10.30470/jsp.2026.735671

Abstract
Zinc is considered one of the essential micronutrients for plants and, although required in small amounts, plays a significant role in plant growth and development. This element is particularly involved in the stimulation of flowering and the progression of plants toward maturity. However, excessive zinc accumulation may lead to toxicity and impair plant performance. Given the nutritional importance of spinach in the human diet and the widespread application of zinc oxide in various industries, the present study investigated the effects of zinc oxide application on growth, biochemical, and developmental traits of spinach (*Spinacia oleracea* L.) at the flowering stage. The results indicated that zinc oxide application improved several growth parameters in many treatments, including increases in shoot height, root length, leaf area, and fresh and dry biomass of plant organs. Biochemical analyses revealed treatment-dependent alterations in photosynthetic pigments, such as chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, and carotenoids, with increases observed in some treatments and decreases in others. The contents of flavonoids and phenolic compounds increased at lower zinc oxide concentrations but declined at higher levels. Moreover, zinc oxide treatment resulted in an overall increase in total protein content compared with control plants, particularly at lower concentrations. These findings suggest that the balanced application of zinc oxide can enhance growth and biochemical attributes of spinach, whereas excessive application may exert adverse effects.
Keywords: biochemical responses, reproductive growth, spinach, zinc oxide

مقدمه

روی (Zinc) یکی از ریزمغذی‌های ضروری برای گیاهان است که در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله جوانه‌زنی بذر، تقسیم سلولی، سنتز پروتئین و تنظیم فعالیت آنزیم‌ها نقش کلیدی ایفا می‌کند (Alloway, 2008; Broadley et al., 2012). تأمین میزان مناسب روی می‌تواند موجب بهبود رشد رویشی، افزایش محتوای کلروفیل و کارایی فتوسنتزی در بسیاری از گیاهان زراعی شود (Cakmak, 2000).

علاوه بر این، روی از طریق مشارکت در متابولیسم هورمون‌هایی نظیر اکسین و تنظیم بیان ژن‌ها، در فرآیندهای تمایز سلولی و آغاز مراحل زایشی و گل‌دهی نیز نقش دارد (Marschner, 2012; Hafeez et al., 2013). کمبود این عنصر می‌تواند منجر به اختلال در رشد، تأخیر در نمو و کاهش عملکرد و کیفیت گیاهان شود.

روی، پس از آهن، آلومینیوم و مس، به‌عنوان چهارمین فلز پرکاربرد جهان شناخته می‌شود. این عنصر با اینکه در رده عناصر نسبتاً نادر از نظر شیمیایی جای می‌گیرد، از لحاظ پراکندگی بیست‌وسومین عنصر فراوان در پوسته زمین به شمار می‌رود که در طبیعت به صورت ترکیبات مختلف حضور دارد و به‌دلیل واکنش‌پذیری بالا، به راحتی با اکسیژن و دیگر عناصر غیرفلزی وارد واکنش می‌شود. روی به‌طور طبیعی در بسیاری از منابع غذایی و نیز در آب آشامیدنی موجود است. نقش روی در سیستم زیستی گیاهان بسیار گسترده و متنوع است: از جمله در تسریع جوانه‌زنی، جذب آب، آغاز گل‌دهی، تنظیم رشد، تولید کلروفیل، ساخت هورمون‌هایی مانند اکسین و فعال‌سازی شمار زیادی از آنزیم‌ها می‌توان اشاره کرد. با این وجود، در صورت افزایش بیش از اندازه، می‌تواند منجر به بروز سمیت در گیاهان شود. به‌عنوان مثال، ذخیره‌سازی آب در تانکرهای فلزی یا ورود فاضلاب‌های صنعتی به منابع آبی، غلظت روی را به‌طور قابل‌توجهی افزایش داده و ممکن است به مخاطرات زیست‌محیطی بیانجامد. خاک‌هایی که در مجاورت معادن قرار دارند یا در معرض فاضلاب‌های صنعتی‌اند، معمولاً حاوی مقادیر بالایی از روی هستند که تنها تعداد اندکی از گونه‌های گیاهی قادر به تحمل آن هستند. افزایش روند جهانی تولید روی، زنگ خطری برای آینده زیست‌محیطی به شمار می‌رود، چرا که با ورود بیشتر این عنصر به چرخه طبیعی، احتمال بروز سمیت در خاک‌ها و گیاهان افزایش می‌یابد. در چنین شرایطی، بررسی رفتار گیاهان در مواجهه با روی و ترکیبات آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که کاربرد اکسید روی، به‌ویژه در مقادیر بهینه، می‌تواند موجب بهبود شاخص‌های رشدی گیاهان از جمله افزایش ارتفاع اندام هوایی، توسعه سیستم ریشه و افزایش وزن تر و خشک شود. اکسید روی از طریق مشارکت در فعالیت آنزیم‌ها، تنظیم تقسیم سلولی و بهبود کارایی فتوسنتزی، رشد رویشی گیاه را تقویت می‌کند. با این حال، گزارش شده است که مصرف بیش‌ازحد این عنصر می‌تواند باعث مهار رشد و بروز علائم سمیت شود (Alloway, 2008; Marschner, 2012). اکسید روی یکی از مهم‌ترین ترکیبات این فلز است که در صنایع گوناگون از جمله تولید مکمل‌های غذایی، سرامیک، شیشه، لاستیک، لوازم آرایشی، رنگ، چسب، روغن‌های صنعتی، رنگدانه‌ها، باتری‌ها، پنجره‌ها و شیشه‌های مقاوم به اشعه فرابنفش کاربرد دارد. اکسید روی نقش مهمی در پایداری غشای کلروپلاست و سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی ایفا می‌کند. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که کاربرد مقادیر مناسب اکسید روی سبب افزایش کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل شده و در نتیجه ظرفیت فتوسنتزی گیاه بهبود می‌یابد. در مقابل، غلظت‌های بالای اکسید روی با ایجاد تنش اکسیداتیو، موجب تخریب رنگیزه‌ها و کاهش کارایی فتوسنتز می‌شوند (Broadley et al., 2007; Cakmak, 2000). گزارش‌ها حاکی از آن است که کاربرد اکسید روی، به‌ویژه در سطوح پایین، می‌تواند موجب افزایش تجمع

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاهان شود. این ترکیبات نقش مهمی در دفاع گیاه در برابر تنش‌های محیطی دارند. با این حال، در غلظت‌های بالا، اکسید روی ممکن است سبب اختلال در مسیرهای بیوسنتزی این ترکیبات و کاهش محتوای آن‌ها گردد (Rizwan et al., 2019; Tripathi et al., 2017). با این حال، استفاده نادرست یا دفع غیراصولی این ماده می‌تواند به تهدیدی جدی برای محیط زیست تبدیل شود و به‌منظور کاهش آسیب‌های احتمالی، باید اقدامات پیشگیرانه مؤثری اتخاذ گردد. اسفناج با نام علمی *Spinacia oleracea* L. گیاهی یک‌ساله از راسته میخک‌سانان و تیره تاج‌خروسیان است. این گیاه به‌دلیل خواص دارویی و تغذیه‌ای مانند اثرات ضد دیابت، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، ضد باکتری، ضد سرطان و حتی فعالیت ضد اسکیزوفرنی، جایگاه مهمی در سبد غذایی انسان دارد. از آنجایی‌که گیاهان به‌طور ذاتی توانایی جابه‌جایی ندارند، همواره در معرض تنش‌های محیطی از جمله آلودگی‌های موجود در خاک، آب و هوا هستند. به همین دلیل بررسی تأثیر ترکیباتی مانند اکسید روی بر سلامت و رشد این گیاه اهمیت بسزایی دارد (Roughani and Miri, 2019). با وجود مطالعات گسترده برروی تأثیر نانوذرات، اثر اشکال غیرنانویی مانند ZnO در مرحله زایشی گیاهان، به‌ویژه در گیاهان برگ‌خوار مانند اسفناج، کمتر مورد بررسی دقیق قرار گرفته است. اکسید روی از طریق تغییر مستقیم ساختار بافت‌های گیاهی، افزایش یا کاهش ضخامت دیواره سلولی، متأثر ساختن سیستم‌های انتقال آب و مواد غذایی و بازآرایی بافت‌های هادی، نقش مؤثری بر رشد، تمایز و پایداری فیزیولوژیکی گیاهان ایفا می‌کند. این اثرات وابسته به غلظت، اندازه ذره و نوع اندام گیاهی بوده و می‌تواند به‌عنوان پایه‌ای جهت مطالعه کاربرد و مخاطرات زیست‌محیطی ZnO در کشاورزی مدرن مورد توجه قرار گیرد. در این تحقیق، تأثیر غلظت‌های مختلف اکسید روی بر گیاه اسفناج از منظر بیوشیمیایی و رشد بررسی شده است. از جمله پارامترهای مورد ارزیابی می‌توان به ویژگی‌هایی نظیر ارتفاع اندام هوایی، طول ریشه، وزن تر و خشک بخش‌های مختلف گیاه، سطح برگ و همچنین تغییر در مقادیر ترکیباتی چون فنل، فلاونوئید، کلروفیل، کارتنوئید و میزان پروتئین اشاره کرد. مقایسه این ویژگی‌ها میان گیاهان شاهد و گیاهان تحت تیمار با اکسید روی، می‌تواند درک بهتری از تأثیر این ترکیب بر فیزیولوژی گیاه فراهم کند.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی مواد گیاهی

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق بذرهای گیاه اسفناج از تیره تاج خروسیان می‌باشد که از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. کارهای عملی انجام گرفته در این تحقیق از لحاظ نوع بررسی به دو بخش پارامترهای رشدی و ویژگی‌های بیوشیمیایی قابل طبقه‌بندی است که در مرحله رشد زایشی گیاه اسفناج انجام شد.

کاشت بذر

گلدان‌ها ابتدا با آب شهری کاملاً شستشو داده شد، سپس به مدت ۷۲ ساعت در هیپوکلریت سدیم تجاری رقیق قرار گرفتند. سپس به ترتیب با مقدار کافی آب شهری و آب مقطر شستشو شده و خشک شدند و در نهایت گلدان‌ها با پنبه و الکل ضدعفونی گردیدند. بستر کشت کوکوپیت–پرلیت با نسبت ۱:۱ دانه متوسط بود که ابتدا با آب شهری سپس با آب مقطر شستشو داده شد و به مدت ۲٤ ساعت در آب مقطر قرار گرفت. بعد از خشک شدن به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه و فشار یک اتمسفر اتوکلاو و استریل شد. بذرهای سالم و یکدست به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم تجاری ۱۰ درصد ضدعفونی شدند. سپس به مقدار کافی با آب شهری و آب مقطر شستشو داده شدند. بذرها در گلدان‌های حاوی کوکوپیت–پرلیت قرار داده شدند و در نهایت روی بذرها با لایه نازکی از کوکوپرلیت پوشیده شد و گلدان‌ها به اتاق رشد و شرایط تاریکی منتقل شدند. گلدان‌ها روزانه

توسط اسپری آب مرطوب شدند. پس از جوانه‌زنی و ظهور برگ‌های اولیه، دانه رست‌های گیاه اسفناج به گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۱ سانتی‌متر و ارتفاع ۷ سانتی‌متر که حاوی خاک با ترکیبات کوکوپیت و پرلیت بودند منتقل شدند. در این مرحله گلدان‌ها در زیر روشنایی لامپ مهتابی با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای نسبی ۲۰ تا ۲۵ درجه قرار گرفتند. به‌منظور حفظ رطوبت خاک، آبیاری در حد ظرفیت مزرعه‌ای هر روز یک بار انجام شد.

شکل ۱- مرحله جوانه زنی بذر گیاه اسفناج

شکل ۲- مرحله رشد رویشی گیاه اسفناج

تهیه سوسپانسیون در غلظت‌های مختلف اکسید روی

ابتدا سوسپانسیون مادر حاوی ذرات اکسید روی با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر با استفاده از حمام اولتراسونیک به‌منظور پراکنده ساختن ذرات در آب مقطر تهیه گردید. جهت انجام آزمایش‌ها غلظت‌های مختلفی از ذرات (صفر، ۳۰، ۷۵، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) از سوسپانسیون مادر تهیه شد و با آب مقطر به حجم معین رسانده شده و دوباره همگن‌سازی شدند. تیمارها در غلظت‌های ذکر شده برای انجام آزمایش به بستر گیاهان اضافه گردید. لازم به ذکر است این کار هر سه روز یک بار انجام گرفت. بعد از رسیدن گیاهان به مرحله چهار برگی اعمال تیمار ذرات اکسید روی در یک طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و در چهار غلظت مختلف (صفر، ۳۰، ۷۵، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) هر سه روز یک بار انجام گرفت. در این مرحله برای گیاهان شاهد به جای محلول ذرات اکسید روی از آب مقطر استفاده شد. بعد از ٦ مرحله اعمال تیمار، مطالعات روی گیاهان انجام گرفت و برگ چهارم آن‌ها برای مطالعات بیوشیمیایی برداشت شد.

بررسی پارامترهای رشدی و ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه اسفناج

در بررسی پارامترهای رشدی مؤلفه‌هایی از قبیل وزن تر و خشک کل گیاه، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاهان (طول کل گیاه، طول اندام هوایی، طول ریشه) و سطح برگ اندازه‌گیری شد که از هر تیمار سه تکرار برداشته شد.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک

در این بررسی ابتدا ریشه‌ها با آب مقطر شستشو داده شدند و از اندام هوایی جدا گردیدند. وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاهان مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. سپس برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها بر روی پارچه در هوای آزاد خشک گردید و سپس وزن خشک اندام هوایی و ریشه‌ها توسط ترازویی با حساسیت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری سطح برگ

برای اندازه‌گیری سطح برگ از روش ترسیم برگ بر روی کاغذ میلی‌متری و شمارش تعداد خانه‌ها استفاده شد. برگ چهارم از هر تیمار و هر تکرار برداشته شد.

اندازه‌گیری طول ریشه و طول اندام هوایی گیاه

برای اندازه‌گیری طول ریشه و طول اندام هوایی از خطکش استفاده شد. طول ریشه از ناحیه بالایی تا نوک ریشه و طول ساقه از ناحیه بالایی تا نوک جوانه انتهایی اندازه‌گیری شد.

مطالعات بیوشیمیایی

در این تحقیق مطالعات بیوشیمیایی شامل سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، آنتوسیانین و کارتنوئید)، متابولیت‌های ثانویه (فنول کل و فلاونوئید کل) و پروتئین تحت تأثیر تیمار ذرات اکسید روی می‌باشد. تمام اندازه‌گیری‌ها با روش طیف‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل metache صورت گرفت.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید کل

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید به روش در و همکاران (Dere et al., 1998) انجام شد. در این روش مقدار۰/۰۵گرم از نمونه گیاهی در ۲ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در یک هاون چینی سابیده شد و به مدت ٤٨ ساعت در تاریکی در یخچال نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ انجام گرفت و فاز رویی جهت بررسی در طول موج‌های ٤٧٠، ٦٤٥ و ٦٦٢ نانومتر نسبت به شاهد مورد مقایسه قرار گرفت. از ۲ میلی لیتر استون به‌عنوان شاهد استفاده گردید. غلظت کلروفیل طبق فرمول‌های زیر محاسبه شده و بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد. میزان کاروتنوئید برای هر عصاره با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

$C_a = 11.75\ A_{662} - 2.35\ A_{645}$
$C_b = 18.61\ A_{645} - 3.96\ A_{662}$
$C_{x+c} = 1000\ A_{470} - 2.27\ C_a - 81.4\ C_b / 227$

C_a: میزان کلروفیل a و C_b: میزان کلروفیل b و C_{x+c}: میزان کارتنوئید، A_{662}: جذب در طول موج ٦٦٢ و A_{645}: جذب در طول موج ٦٤٥ و A_{470}: جذب در طول موج ٤٧٠ می‌باشد که مربوط به کاروتنوئید کل است.

اندازه‌گیری میزان فنل کل

مقدار ۰/۰۵ گرم از نمونه گیاهی در ۲ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد در یک هاون چینی سابیده شد و به مدت ٤٨ ساعت در تاریکی در یخچال نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ انجام شد و فاز رویی برای سنجش فنل کل مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله بعد از فاز رویی مقدار ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و ۲/۸میلی‌لیتر آب مقطر، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین اضافه گردید. مخلوط حاصل به خوبی ورتکس و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. جذب محلول‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از لوله آزمایش فاقد عصاره گیاهی به‌عنوان شاهد استفاده گردید. در نهایت داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر گیاه بیان شد (Meda et al., 2005).

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل

مقدار ۰/۰۵گرم از نمونه گیاهی در ۲ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد در یک هاون چینی سابیده شد و به مدت ٤٨ ساعت در تاریکی در یخچال نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ انجام شد و فاز رویی برای سنجش فلاونوئید کل مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله بعد از فاز رویی مقدار ۵۰۰ میکرولیتر برداشته و مقادیر ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. مخلوط به خوبی ورتکس و به مدت ٤٠ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس جذب محلول‌ها در طول موج ٤١٥ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری گردید. از لوله آزمایش فاقد عصاره گیاهی به‌عنوان شاهد استفاده شد. در نهایت داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر گیاه بیان گردید (Chang et al., 2002).

اندازه‌گیری میزان پروتئین

از روش سنجش پروتئین برادفورد استفاده شده است. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی برای سنجش سانتریفیوژ شده بود برداشته و به آن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف برادفورد اضافه شد و بعد از مخلوط کردن و طی زمان ۱۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ٥٩٥ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از لوله آزمایش فاقد عصاره به عنوان

شاهد استفاده گردید. داده‌ها برحسب $\mu g\ mg^{-1}$ FW محاسبه شدند (Bradford et al., 1976).

آنالیز آماری

آنالیز داده‌های آماری براساس طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS 27 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال آماری ($P < 0.05$) انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار EXCEL 2016 رسم شدند.

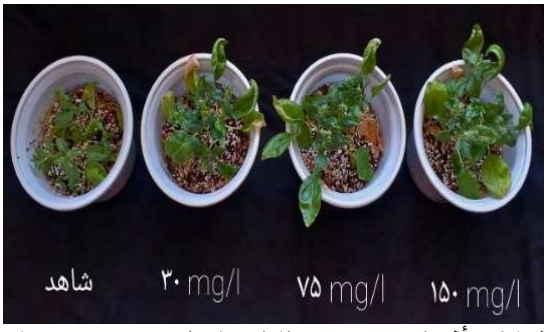
نتایج و بحث

در این پژوهش تأثیر اکسیدروی بر ویژگی‌های رشدی، بیوشیمیایی و زایشی گیاه اسفناج مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه گیاهان از مرحله چهار برگی تحت تیمار نانوذرات اکسید روی قرار گرفتند.

نتایج مربوط به اثر اکسیدروی بر پارامترهای رشدی و ویژگی‌های مورفولوژیکی

در این بخش مقایسه پارامترهای طول اندام هوایی و ریشه، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و سطح برگ در مرحله رشد زایشی با سطوح مختلف تیمار اکسید روی انجام گرفت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس در سطح احتمال پنج درصد، اختلاف معنی داری را در اغلب پارامترهای رشدی در تیمارهای مختلف اکسید روی را در مقایسه با شاهد نشان داد. در این پژوهش، تأثیر ذرات اکسید روی (ZnO NPs) بر ویژگی‌های رشدی، بیوشیمیایی و زایشی گیاه اسفناج مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان از مرحله چهار برگی تحت تیمار ذرات اکسید روی در چهار سطح (۰، ۳۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲و۱) نشان داد که تیمار ذرات اکسید روی تأثیر معنی‌داری بر اغلب پارامترهای رشدی گیاه اسفناج در سطح احتمال ۵ درصد داشته است.

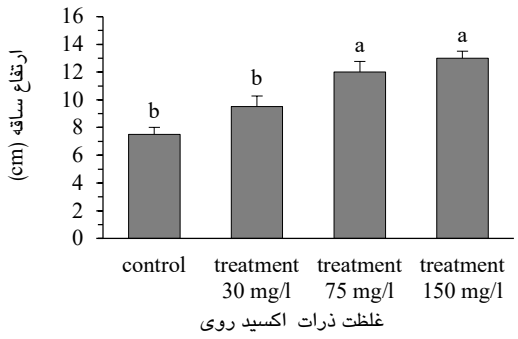
شکل ۳- تأثیر اکسید روی در غلظت های (۰، ۳۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر) بر ویژگی‌های رشدی گیاه اسفناج



شکل۴- تأثیر اکسید روی در غلظت های (۰، ۳۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر) بر ویژگی‌های رشدی گیاه اسفناج

تأثیر اکسیدروی بر طول اندام هوایی

نتایج نشان داد که تیمار ذرات اکسید روی تأثیر معنی‌داری بر طول اندام هوایی داشت (P=0.007). بیشترین طول اندام هوایی در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۰/۸۵±۱۳ سانتی‌مترمشاهده شد که نسبت به شاهد۰/۶۲±۷/۵۰ سانتی‌متر افزایش ۷۳/۳ درصدی را نشان داد. تیمارهای۳۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نیز به‌ترتیب با میانگین‌های ۰/۷۱±۹/۲ و ۰/۹۳±۱۱/۳۰ سانتی‌متر افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشتند (شکل ۵).



شکل ۵- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر طول اندام هوایی

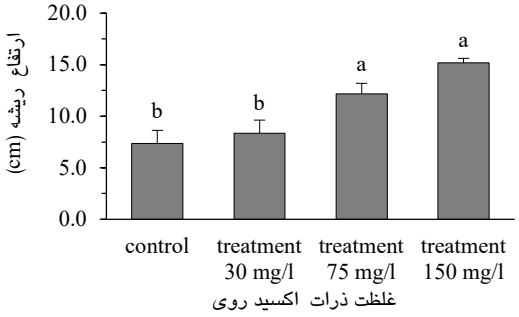
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف ذرات اکسید روی بر پارامترهای رشدی گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.)

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		طول		وزن تر		وزن خشک		سطح برگ
		بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی	ریشه	
اکسید روی	۳	۱۰/۵**	۱۰/۷۵*	۱/۷۵***	۰/۱۱***	۰/۱۷***	۰/۰۱٤***	۹/۵٦**
خطا	۸	۱/۲۵	۳/٤٦	۰/۰۲۲	۰/۰۰۰۱۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۳	۱/۸۹
ضریب تغییرات	-							

فرضیات تجزیه واریانس: نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون بررسی و تأیید شد.
تبدیل داده‌ها: برای داده‌های وزنی که دارای ناهمگنی واریانس بودند، از تبدیل لگاریتمی (*Log transformation*) استفاده گردید.
*، **، ***: به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۵، ۱ و ۰/۱ درصد می‌باشند.

تأثیر اکسیدروی بر طول ریشه

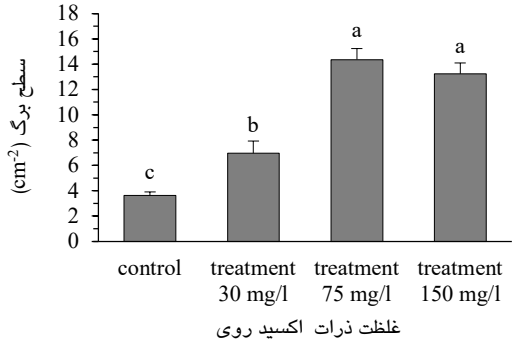
طول ریشه تحت تأثیر تیمار ذرات اکسید روی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P=0.044). بیشترین طول ریشه در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۱۵/۱٦±۱/۲۵ سانتی‌متر ثبت شد که نسبت به شاهد (۷/۳۳±۰/۹۸ سانتی‌متر) افزایش ۸٦/۱ درصدی را نشان داد (شکل ٦). این افزایش می‌تواند ناشی از نقش ذرات اکسید روی در تحریک تقسیم سلولی و بیان ژن‌های مرتبط با چرخه سلولی باشد.



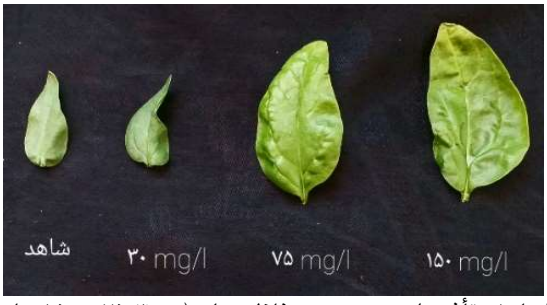
شکل ۶- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر طول ریشه

تأثیر اکسیدروی بر سطح برگ

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس ۱، در مرحله رشد زایشی در مؤلفه سطح برگ نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار (P<0.05) است. در نتایج مربوط به مؤلفه سطح برگ، بیشترین میزان مربوط به گیاهان تحت تیمار ۷۵ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۱٤/۳٦ سانتی‌متر و کمترین میزان مربوط به گیاهان شاهد با مقدار ۳/٦۱ سانتی‌متر است.



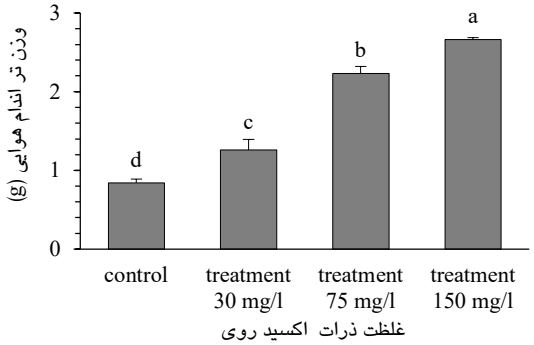
شکل۷- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر سطح برگ



شکل ۸- تأثیر اکسید روی در غلظت های (۰، ۳۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر) بر ویژگی سطح برگ گیاه اسفناج

تأثیر اکسیدروی بر وزن تر اندام هوایی

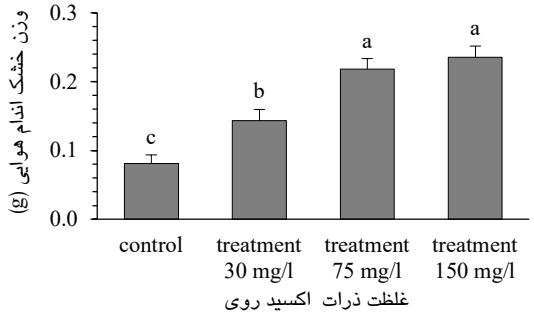
سطح برگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار ذرات اکسید روی قرار گرفت (P=0.028). بیشترین سطح برگ در تیمار ۷۵ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۱٤/۳٦±۱/۱ سانتی‌مترمربع مشاهده شد که نسبت به شاهد (۳/٦۱±۰/۵٤ سانتی‌مترمربع) افزایش داشت. جالب توجه است که در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، سطح برگ به ۱۲/۸۰±۱/۰۵ سانتی‌مترمربع کاهش یافت که نشان‌دهنده وجود یک سطح بهینه برای این پارامتر است (شکل‌های ۷ و ۸).



شکل ۹- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر وزن تر اندام هوایی

تأثیر اکسیدروی بر وزن خشک اندام هوایی

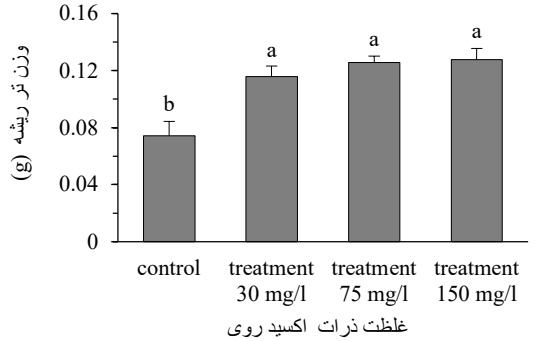
براساس نتایج جدول تجزیه واریانس ۱، در شکل(۹) در مرحله رشد زایشی در مولفه وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) است. در نتایج مربوط به مؤلفه وزن خشک اندام هوایی، بیشترین میزان مربوط به گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۰/۲۳ گرم و کمترین میزان مربوط به گیاهان شاهد با مقدار ۰/۰۸ گرم است.



شکل۱۰- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بروزن خشک اندام هوایی

تأثیر اکسیدروی بر وزن تر ریشه

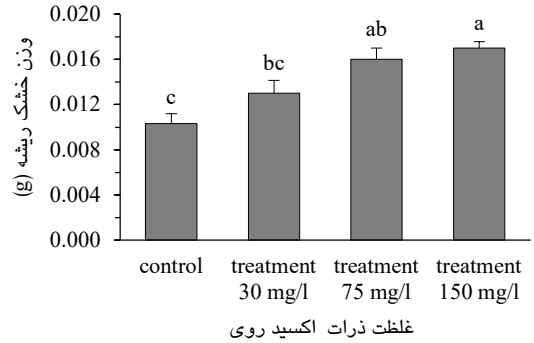
براساس نتایج جدول تجزیه واریانس ۱، در مرحله رشد زایشی در مولفه وزن تر ریشه نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار ($P< 0.05$) است. در نتایج مربوط به مولفه وزن تر ریشه، بیشترین میزان مربوط به گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۰/۱۲ گرم و کمترین میزان مربوط به گیاهان شاهد با مقدار ۰/۰۷ گرم است (شکل۱۰).



شکل ۱۱- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر وزن تر ریشه

تأثیر اکسیدروی بر وزن خشک ریشه

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس ۱، در مرحله رشد زایشی در مولفه وزن خشک ریشه نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) است. در نتایج مربوط به مولفه وزن خشک ریشه، بیشترین میزان مربوط به گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۰/۰۱۷ گرم و کمترین میزان مربوط به گیاهان شاهد با مقدار ۰/۰۱۰ گرم است (شکل۱۱).



شکل۱۲- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر وزن خشک ریشه

نتایج مربوط به اثر اکسیدروی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی

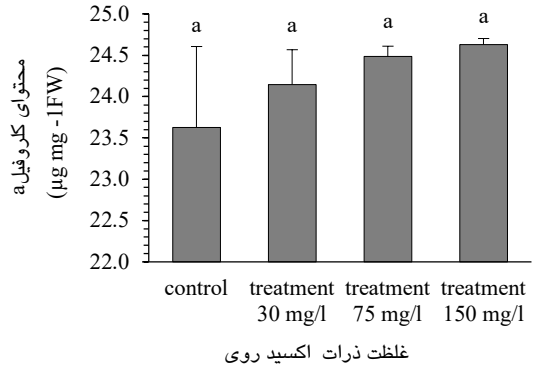
در بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی در مرحله رشد زایشی اسفناج، از هر تیمار با سه تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی جهت سنجش میزان فنل، فلاونوئید، رنگیزه‌هایی مانند کلروفیل و کارتنوئید و پروتئین در شرایط شاهد و تحت تیمار اکسید روی مورد مطالعه قرار گرفت (شکل۱۲).

تأثیر ذرات اکسید روی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی

در بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی در مرحله رشد زایشی، هر تیمار با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی جهت سنجش میزان فنل، فلاونوئید، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کارتنوئید) و پروتئین مورد مطالعه قرار گرفت.

تأثیر اکسیدروی بر کلروفیل a

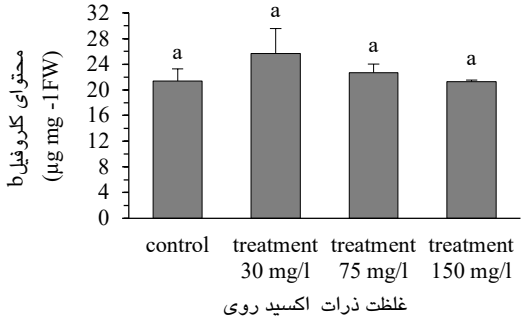
براساس داده‌های آماری و نتایج جدول تجزیه واریانس ۲، پس از تیمار با اکسید روی بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری ($P>0.05$) وجود ندارد. بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۲٤/٦۲ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن تر و کمترین میزان مربوط به گیاهان شاهد با مقدار ۲۳/٦۲ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن تر است (شکل۱۳).



شکل۱۳- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر محتوای کلروفیل *a*

تأثیر اکسیدروی بر کلروفیل b

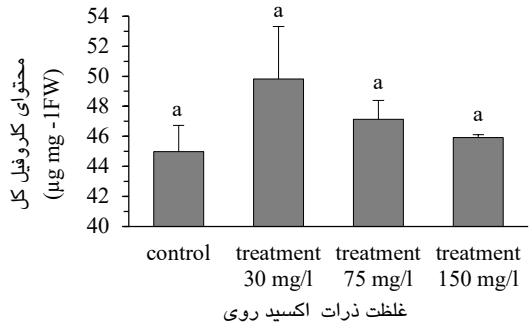
براساس داده‌های آماری و نتایج جدول تجزیه واریانس ۲، پس از تیمار با اکسید روی بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری ($P>0.05$) وجود ندارد. بیشترین میزان کلروفیل b مربوط به گیاهان تحت تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۲۵/٦٦ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین میزان مربوط به گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۲۱/۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر است (شکل۱٤).



شکل ۱۴- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر محتوای کلروفیل *b*

تأثیر اکسیدروی بر کلروفیل کل

براساس داده‌های آماری و نتایج جدول تجزیه واریانس ۲، پس از تیمار با اکسید روی بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری ($P>0.05$) وجود ندارد. بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به گیاهان تحت تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ٤۹/۸۱ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن تر و کمترین میزان مربوط به گیاهان شاهد با مقدار ٤٤/۹۸ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن تر است (شکل۱۵).



شکل۱۵- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر محتوای کلروفیل کل

تأثیر اکسیدروی بر کارتنوئید

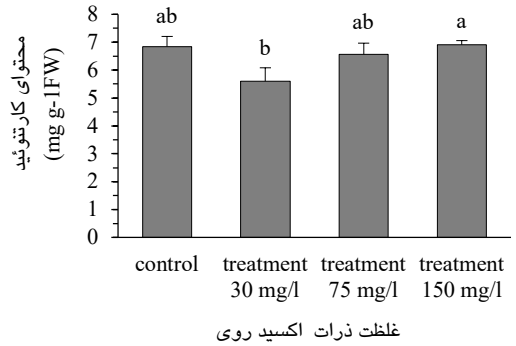
براساس داده‌های آماری و نتایج جدول تجزیه واریانس ۲، پس از تیمار با اکسید روی بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری ($P>0.05$) وجود ندارد. بیشترین میزان کارتنوئید مربوط به گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ٦/۹۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین میزان مربوط به گیاهان تحت تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۵/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر است (شکل۱٦).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف ذرات اکسید روی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.)

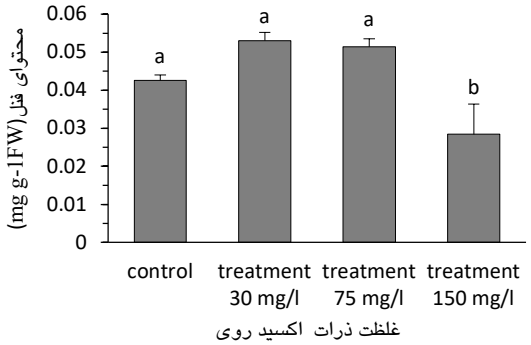
منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		کلروفیل			کارتنوئید	فنل	فلاونوئید	پروتئین
		a	b	کل				
اکسید روی	۳	۲٤/۲۲***	۲۲/۷٥^{ns}	٤٦/۹۷^{ns}	٦/٤۸***	۰/۰٤٤***	۰/۱۸***	۱/۲۳***
خطا	۸	۰/۸۷	۱٥/۷۳	۱۲/٦۳	۰/٤۲	۰/۰۰۰۰٥٦	۰/۰۰۱	۰/۰۰٤
ضریب تغییرات	-							

فرضیات تجزیه واریانس: نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف *(P>0.05)* و همگنی واریانس‌ها با آزمون بارتلت *(P>0.05)* تأیید شد. تبدیل داده‌ها برای داده‌های فنل و فلاونوئید از تبدیل جذر مربعی استفاده گردید.

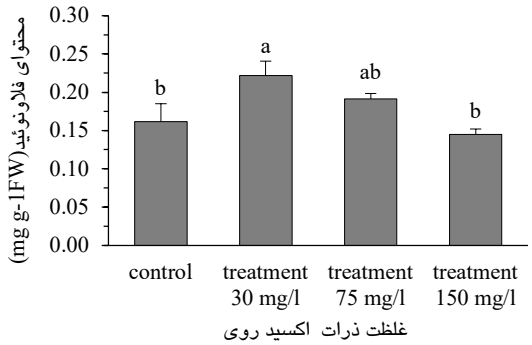
^{ns}: عدم معنی‌داری و *، ***: به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۵ و ۰/۱ درصد می‌باشند.



شکل ۱۶- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر محتوای کارتنوئید



شکل ۱۷- اثر سطوح مختلف تیمار اکسیدروی بر محتوای فنل



شکل ۱۸- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر محتوای فلاونوئید

تأثیر اکسیدروی بر فنل

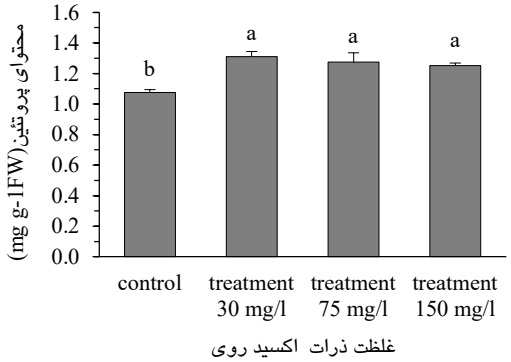
براساس داده‌های آماری و نتایج جدول تجزیه واریانس ۲، پس از تیمار با اکسید روی بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) است. بیشترین میزان فنل مربوط به گیاهان تحت تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۰/۰۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین میزان مربوط به گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۰/۰۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر است (شکل۱۷).

تأثیر اکسیدروی بر فلاونوئید

براساس داده‌های آماری و نتایج جدول تجزیه واریانس ۲، پس از تیمار با اکسید روی بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) است. بیشترین میزان فلاونوئید مربوط به گیاهان تحت تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۰/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین میزان مربوط به گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۰/۱٤ میلی‌گرم بر گرم وزن تر است (شکل۱۸).

تأثیر اکسیدروی بر پروتئین

براساس داده‌های آماری و نتایج جدول تجزیه واریانس۲، پس از تیمار با اکسید روی بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌دار ($P< 0.05$) است. بیشترین میزان پروتئین مربوط به گیاهان تحت تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۱/۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین میزان مربوط به گیاهان شاهد با مقدار ۱/۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر است (شکل۱۹).



شکل ۱۹- اثر سطوح مختلف اکسیدروی بر محتوای پروتئین

تأثیر اکسیدروی بر آنتوسیانین

بر اساس نتایج این پژوهش، تیمار گیاه اسفناج با ذرات اکسید روی موجب بروز روند افزایشی در غلظت آنتوسیانین در غلظت‌های ۳۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر شد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار این رنگیزه در تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده گردید. با این حال، افزایش مشاهده‌شده از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مقابل، در غلظت بالای ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، میزان آنتوسیانین نسبت به سایر تیمارها و گیاه شاهد کاهش یافت که می‌تواند بیانگر بروز اثرات منفی ناشی از غلظت بالای ذرات اکسید روی و احتمال اختلال در عملکرد سیستم‌های دفاعی گیاه در مواجهه با تنش سمیت باشد. به‌طور کلی، نتایج نشان می‌دهد که تجمع آنتوسیانین در تیمارهای با غلظت پایین‌تر ذرات اکسید روی، بیشتر به‌صورت یک پاسخ فیزیولوژیکی و سازشی قابل تفسیر است تا یک اثر معنی‌دار آماری.

بحث

یافته‌های این پژوهش نشان داد که ذرات اکسید روی تأثیرات قابل‌توجه و وابسته به غلظت بر ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه اسفناج دارد. در این بخش، نتایج حاصل از تیمار گیاه اسفناج با سطوح مختلف ذرات اکسید روی (صفر، ۳۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) مورد تحلیل و مقایسه با مطالعات پیشین قرار می‌گیرد.

تأثیر ذرات اکسید روی بر شاخص‌های رشدی

نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار ذرات اکسید روی به‌طور معنی‌داری باعث بهبود پارامترهای رشدی در گیاه اسفناج شد. در بین شاخص‌های رشدی، طول اندام هوایی در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۱۳ سانتی‌متر به بیشترین میزان رسید که نسبت به شاهد (۷٫۵۰ سانتی‌متر) افزایش ۷۳٫۳ درصدی را نشان داد. این افزایش قابل‌توجه می‌تواند ناشی از نقش حیاتی روی در بیوسنتز تریپتوفان باشد که پیش‌ساز هورمون اکسین است. اکسین به‌عنوان هورمون اصلی کنترل‌کننده رشد طولی در گیاهان، تقسیم و ازدیاد سلولی را تحریک کرده و منجر به افزایش طول ساقه و ریشه می‌شود (Tognetti et al., 2012). مشاهدات ما با یافته‌های منصور و همکاران (Mansoor et al., 2019) که افزایش معنی‌دار طول ساقه در گندم تحت تیمار ۳۰۰ ppm ذرات اکسید روی را گزارش کردند، همخوانی دارد. طول ریشه نیز روند مشابهی را نشان داد، به‌طوری‌که در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به ۱۵٫۱۶ سانتی‌متر رسید که در مقایسه با شاهد (۷/۳۳ سانتی‌متر) افزایش ۱۰۶٫۸درصدی را نشان می‌دهد. این افزایش چشمگیر را می‌توان به تحریک تقسیم سلولی توسط ذرات اکسید روی نسبت داد. مطالعات سی‌یو و همکاران (Syu et al., 2014) نشان داده‌اند که ذرات اکسید روی از طریق تولید کنترل‌شده گونه‌های فعال اکسیژن، بیان ژن‌های مرتبط با چرخه سلولی مانند سایکلین‌ها و پروتئین کینازهای وابسته به سایکلین را افزایش می‌دهد. سایکلین‌ها به‌عنوان کنترل‌کننده‌های اصلی پیشرفت چرخه سلولی عمل می‌کنند و افزایش فعالیت آن‌ها منجر به تقسیم سریع‌تر سلول‌های مریستمی ریشه و در نتیجه افزایش طول ریشه می‌شود. این یافته‌ها با مطالعه رامش و همکاران (Ramesh et al., 2104) که هیچ اثر نامطلوبی از ذرات اکسید روی بر رشد ریشه مشاهده نکردند، مطابقت دارد. سطح برگ یکی از مهم‌ترین شاخص‌های فتوسنتزی گیاهان است که تحت تأثیر ذرات اکسید روی قرار گرفت. بیشترین سطح برگ در تیمار ۷۵ میلی‌گرم در لیتر با

مقدار ۱٤/۳٦ سانتی‌متر مربع مشاهده شد که نسبت به شاهد (۳/٦۱سانتی‌متر مربع) داشت. با این حال، در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، سطح برگ به ۱۲/۸۰ سانتی‌متر مربع کاهش یافت که اگرچه هنوز ۲٥٤/٦ درصد بیشتر از شاهد است، اما نسبت به تیمار ۷۵ میلی‌گرم کاهش ۱۰/۹ درصدی را نشان می‌دهد. این الگوی دوگانه بیانگر وجود یک سطح بهینه برای تأثیر ذرات اکسید روی بر توسعه برگ است. کاهش سطح برگ در غلظت بالاتر می‌تواند ناشی از تجمع بیش‌ازحد نانوذرات در بافت‌های گیاهی و بروز اثرات سمی سلولی یا اختلال در تعادل جذب عناصر غذایی دیگر باشد، همان‌طور که تیرانی و همکاران (Mazaheri Tirani et al., 2019) در مطالعه خود بر روی تنباکو نیز کاهش برخی شاخص‌ها را در سطوح بالای ذرات اکسید روی گزارش کردند.

افزایش زیست‌توده یکی از مهم‌ترین نتایج این پژوهش بود. وزن تر اندام هوایی در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به ۲/٦٦گرم رسید که نسبت به شاهد (۰/۸٤ گرم) افزایش ۲۱٦/۷ درصدی را نشان داد. وزن خشک اندام هوایی نیز در همین تیمار به ۰/۲۳ گرم افزایش یافت که در مقایسه با شاهد (۰/۰۸ گرم) افزایش ۱۸۷/٥ درصدی است. در بخش ریشه نیز، وزن تر از ۰/۰۷ گرم در شاهد به ۰/۱۲ گرم در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم (افزایش ۷۱/٤ درصد) و وزن خشک از ۰/۰۱۰ گرم به ۰/۰۱۷ گرم (افزایش ۷۰ درصد) رسید. این افزایش‌های قابل‌توجه در زیست‌توده نشان‌دهنده بهبود فرآیند فتوسنتز و تخصیص بهتر کربن به بخش‌های مختلف گیاه است. روی به‌عنوان کوفاکتور آنزیم کربنیک انهیدراز که در فیکساسیون CO_2 نقش دارد، می‌تواند کارایی فتوسنتز را افزایش دهد و همچنین با تقویت فعالیت آنزیم‌هایی مانند فسفوانول پیرووات کربوکسیلاز و ریبولوز بیس‌فسفات کربوکسیلاز، تولید مواد فتوسنتزی را تشدید کند (Nasiri et al., 2010). مطالعات ترابیان و همکاران (Torabian et al., 2016) نیز نشان دادند که ذرات اکسید روی در مقایسه با فرم معمولی روی تأثیر بیشتری بر تولید زیست‌توده در آفتابگردان دارد، که با یافته‌های ما هم‌راستاست. نکته جالب‌توجه دیگر، سازگاری بالای گیاه اسفناج با سطوح بالای ذرات اکسید روی است. در حالی که بسیاری از گیاهان در غلظت‌های بالای نانوذرات فلزی کاهش رشد نشان می‌دهند، اسفناج در این مطالعه حتی در بالاترین غلظت (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) همچنان رشد قابل‌توجهی داشت. این مشاهده می‌تواند با خاصیت گیاه‌پالایی اسفناج مرتبط باشد. عیسی‌زاده و همکاران (Eisazadeh et al., 2014) نشان دادند که اسفناج کارایی بالایی در پاکسازی کادمیوم از خاک دارد، که نشان‌دهنده مکانیسم‌های دفاعی قوی این گیاه در برابر فلزات سنگین است. این مکانیسم‌ها احتمالاً شامل ترشح اسیدهای آلی برای کلات کردن فلزات، تجزیه و ذخیره‌سازی فلزات در واکوئل‌ها، و سنتز پپتیدهای غنی از سیستئین مانند فیتوکلاتین‌ها می‌شود که به گیاه اجازه می‌دهد در شرایط استرس فلزی همچنان به رشد خود ادامه دهد.

تأثیر ذرات اکسید روی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی

رنگیزه‌های فتوسنتزی نقش حیاتی در جذب نور و تبدیل انرژی نوری به انرژی شیمیایی دارند. در این مطالعه، محتوای کلروفیل a تحت تأثیر تیمار ذرات اکسید روی قرار گرفت، به‌طوری‌که در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به ۲٤/٦۲ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن تر رسید که نسبت به شاهد (۳۲/٦۲ میکروگرم) افزایش ٤/۲ درصدی داشت. هرچند این افزایش نسبتاً اندک است، اما از نظر آماری معنی‌دار بود و نشان‌دهنده نقش روی در بیوسنتز کلروفیل است. روی برای فعالیت آنزیم کربنیک انهیدراز که در تمام بافت‌های فتوسنتزی حضور دارد و برای بیوسنتز کلروفیل مورد نیاز است، ضروری می‌باشد (Dadkhah et al., 2014). همچنین، روی در تشکیل پورفوبیلینوژن که پیش‌ماده سنتز کلروفیل است نقش دارد (Chen et al., 2019).

کلروفیل b و کلروفیل کل الگوی متفاوتی را نشان دادند. بیشترین محتوای کلروفیل b در تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر با مقدار ۲٥/٦٦ میکروگرم مشاهده شد که نسبت

به شاهد (۲٤/٥۳ میکروگرم) افزایش ٤/٦ درصدی داشت، اما در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم به ۲۱/۲۹میکروگرم کاهش یافت که ۱۳/۲ درصد کمتر از شاهد است. کلروفیل کل نیز بیشترین مقدار را در تیمار ۳۰ میلی‌گرم با ٤۹/۸۱ میکروگرم نشان داد که نسبت به شاهد (٤٤/۹۸ میکروگرم) افزایش ۱۰/۷ درصدی دارد. این نتایج نشان می‌دهد که غلظت‌های پایین‌تر ذرات اکسید روی تأثیر مثبت‌تری بر سنتز کلروفیل b و در نتیجه کلروفیل کل دارند. دیمکپا و همکاران (Dimkpa et al., 2020) نیز در مطالعه خود گزارش کردند که ذرات اکسید روی محتوای کلروفیل را در شرایط تنش خشکی ۱٤ تا ۱٦ درصد افزایش داد و تنش را کاهش داد، که با یافته‌های ما در غلظت‌های پایین‌تر همخوانی دارد.

کارتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه‌های فرعی فتوسنتزی، نقش حیاتی در محافظت از سیستم فتوسنتزی در برابر استرس‌های اکسیداتیو دارند. در این پژوهش، محتوای کارتنوئید در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم به ٦/۹۰ میکروگرم رسید که نسبت به شاهد (٦/۱۲ میکروگرم) افزایش ۱۲/۷ درصدی را نشان داد. جالب توجه است که کمترین مقدار کارتنوئید در تیمار ۳۰ میلی‌گرم با ۵/۵۹ میکروگرم (۸/۷ درصد کمتر از شاهد) مشاهده شد. این الگو نشان می‌دهد که با افزایش غلظت ذرات اکسید روی، گیاه سنتز کارتنوئید را به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی افزایش می‌دهد. کارتنوئیدها نقش کلیدی در محافظت از مرکز واکنش فتوسنتزی در برابر اکسیداسیون خودکار دارند و به‌ویژه در شرایط استرس غیرزیستی اهمیت می‌یابند (Gururani et al., 2015). افزایش کارتنوئید در غلظت بالای ذرات اکسید روی می‌تواند پاسخی به تولید ROS ناشی از نانوذرات باشد، زیرا کارتنوئیدها می‌توانند از طریق چرخه گزانتوفیل، اکسیژن را مصرف کرده و کلروفیل را در مقابل فتواکسیداسیون حفاظت کنند (Jahns and Holzwarth, 2012; Latowski et al., 2011) و الاینکا و همکاران (Olayinka et al., 2021) نیز افزایش کلروفیل کل را با افزایش غلظت ذرات اکسید روی در بادام‌زمینی گزارش کردند که نشان‌دهنده واکنش مشابه گیاهان مختلف به این نانوذرات است.

تأثیر ذرات اکسید روی بر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که نقش حیاتی در دفاع گیاه در برابر استرس‌های اکسیداتیو ایفا می‌کنند. در این مطالعه، محتوای فنل و فلاونوئید الگوی دوگانه و وابسته به غلظت را نشان دادند. محتوای فنل در تیمار ۳۰ میلی‌گرم به بالاترین مقدار خود (۰/۰۵۳ میلی‌گرم بر میلی‌گرم وزن تر) رسید که نسبت به شاهد (۰/۰۳٦ میلی‌گرم) افزایش ٤۷/۲ درصدی را نشان می‌دهد. با این حال، در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم، محتوای فنل به ۰/۰۲۸ میلی‌گرم کاهش یافت که ۲۲/۲ درصد کمتر از شاهد است. فلاونوئید نیز روند مشابهی داشت، به‌طوری‌که در تیمار ۳۰ میلی‌گرم به ۰.۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر (افزایش ۲۹/٤ درصد نسبت به شاهد با ۰/۱۷ میلی‌گرم) رسید و در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم به ۰/۱٤ میلی‌گرم (کاهش ۱۷/٦ درصد) کاهش یافت.

این الگوی دوگانه بیانگر دو مکانیسم متفاوت پاسخ گیاه به غلظت‌های مختلف ذرات اکسید روی است. در غلظت‌های پایین، نانوذرات با تولید ROS در سطح کنترل‌شده، یک استرس اکسیداتیو خفیف ایجاد می‌کنند که به‌عنوان سیگنال برای فعال‌سازی ژن‌های دفاعی عمل می‌کند. این فرآیند که "هورمزیس" نامیده می‌شود، منجر به افزایش بیان ژن‌های درگیر در مسیرهای بیوسنتز فنل و فلاونوئید مانند فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و کالکون سنتاز (CHS) می‌شود (Yousefi and Riahi Madvar, 2016). افزایش این ترکیبات باعث تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شده و گیاه را در مقابل استرس‌های بعدی مقاوم‌تر می‌کند. قربانپور (Ghorbanpour, 2015) نیز نقش مؤثر ترکیبات فنلی را در حفاظت از گیاهان در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو و تنش‌های محیطی تأیید کرده است. در مقابل، در غلظت‌های بالا، کاهش محتوای فنل و فلاونوئید می‌تواند به چند دلیل باشد. اولاً، تولید بیش‌ازحد ROS در غلظت بالای نانوذرات می‌تواند منجر به سمیت

سلولی و اختلال در مسیرهای متابولیکی شود که سنتز این ترکیبات را مختل می‌کند. ثانیاً، ممکن است ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی که قبلاً سنتز شده‌اند، به‌سرعت برای خنثی‌سازی ROS بیش‌ازحد مصرف شوند و در نتیجه محتوای کلی آن‌ها کاهش یابد. ثالثاً، ممکن است منابع انرژی و کربن گیاه برای مقابله با استرس شدید به سمت سایر مسیرهای دفاعی هدایت شوند و سنتز فنل و فلاونوئید کاهش یابد. در مطالعه‌ای از ایزای و همکاران (Iziy et al., 2019) بر روی خرفه نیز افزایش فنل‌ها و فلاونوئیدها را با ذرات اکسید روی نشان داد، که با یافته‌های ما در غلظت‌های پایین همخوانی دارد.

آنتوسیانین‌ها، به‌عنوان زیرگروهی از فلاونوئیدها، نیز تحت تأثیر تیمار ذرات اکسید روی قرار گرفتند، اگرچه تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبودند. بیشترین محتوای آنتوسیانین در تیمار ۷۵ میلی‌گرم با ۰/۰۸۲ میکرومول بر گرم وزن تر مشاهده شد که نسبت به شاهد (۰/۰۷۰ میکرومول) افزایش ۱۷/۱ درصدی داشت. در تیمار ۳۰ میلی‌گرم نیز افزایش ۱۰ درصدی (۰/۰۷۷ میکرومول) مشاهده شد. با این حال، در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم، محتوای آنتوسیانین به ۰/۰۶۵ میکرومول کاهش یافت که ۷/۱ درصد کمتر از شاهد است. این الگو مشابه فنل و فلاونوئید است و نشان‌دهنده پاسخ دفاعی گیاه در غلظت‌های متوسط و اختلال در سیستم دفاعی در غلظت بالاست. آنتوسیانین‌ها در شرایط تنش برای محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو و اشعه UV تجمع می‌یابند (Shoarian et al., 2020)، اما در غلظت‌های سمی که سیستم دفاعی گیاه تحت‌الشعاع قرار می‌گیرد، سنتز آن‌ها نیز کاهش می‌یابد.

تأثیر ذرات اکسید روی بر پروتئین کل

پروتئین کل یکی از شاخص‌های مهم وضعیت فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه است. در این مطالعه، محتوای پروتئین الگوی مشابهی با فنل و فلاونوئید نشان داد. بیشترین مقدار در تیمار ۳۰ میلی‌گرم با ۱/۳۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد که نسبت به شاهد (۱/۰۷ واحد) افزایش ۲۲/٤ درصدی داشت. در تیمار ۷۵ میلی‌گرم نیز محتوای پروتئین ۱/۱۹ واحد بود که افزایش ۱۱/۲ درصدی نسبت به شاهد نشان می‌دهد. با این حال، در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم، محتوای پروتئین به ۱/۱۵واحد رسید که اگرچه هنوز ۷/۵ درصد بیشتر از شاهد است، اما نسبت به تیمار ۳۰ میلی‌گرم کاهش ۱۲/۲ درصدی دارد.

افزایش پروتئین در غلظت‌های پایین می‌تواند به چند دلیل باشد. اولاً، برای مقابله با تنش اکسیداتیو خفیف ناشی از نانوذرات، گیاه سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، و پراکسیداز (POD) را افزایش می‌دهد که همگی پروتئین هستند (Yousefi, et al. 2016). ثانیاً، روی نقش مهمی در متابولیسم نیتروژن و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با سنتز پروتئین دارد، به‌طوری‌که افزایش دسترسی به روی می‌تواند کارایی سنتز پروتئین را بهبود بخشد. ثالثاً، برای تولید ترکیبات ثانویه دفاعی مانند فنل و فلاونوئید، گیاه به آنزیم‌های بیوسنتزی بیشتری نیاز دارد که باعث افزایش محتوای پروتئین کل می‌شود.

کاهش نسبی پروتئین در غلظت بالا می‌تواند به دو دلیل اصلی باشد. اول، تنش شدید ناشی از غلظت بالای نانوذرات می‌تواند سنتز پروتئین را کاهش دهد. در شرایط استرس شدید، مکانیسم‌های سلولی مانند رونویسی و ترجمه مختل می‌شوند و سرعت سنتز پروتئین کاهش می‌یابد (Winterbourn, 1982). دوم، استرس اکسیداتیو شدید می‌تواند منجر به افزایش پروتئولیز (تجزیه پروتئین) شود، زیرا پروتئین‌های آسیب‌دیده توسط ROS باید تجزیه و از سلول حذف شوند (Droillard et al., 1992). این یافته‌ها با مطالعات فیازن و همکاران (Faizan et al., 2020) بر روی گوجه‌فرنگی که نشان دادند غلظت‌های کم ذرات اکسید روی (۱۰ ppm و ۵۰) محتوای پروتئین را افزایش می‌دهند اما غلظت‌های بالا موجب کاهش می‌شوند، هم‌راستا است. همچنین رامش و همکاران (Ramesh et al., 2014)

افزایش قابل‌توجهی در محتوای پروتئین در نمونه‌های تیمار شده با ذرات اکسید روی گزارش کردند که با یافته‌های ما در غلظت‌های پایین مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

مشاهدات بر روی گیاه اسفناج تحت تیمار اکسید روی نشان داد که تیمار اکسید روی سبب افزایش تمام صفات رشدی مانند ارتفاع اندام هوایی، طول ریشه، سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و همچنین وزن تر و خشک ریشه شده است. تیمار اکسید روی باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در مقدار مشخصی از تیمار گردید. البته این تیمار باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در سطح کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید نگردید. تیمار اکسید روی باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در سطح فنل و فلاونوئید شد. تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش سطح فنل و فلاونوئید نسبت به شاهد گردید. به‌طور کلی تیمار اکسید روی باعث افزایش میزان پروتئین نسبت به شاهد گردیده اما بیشترین تأثیر را تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر داشته است. به‌نظر می‌رسد گونه *Spinacia oleracea* L. دارای تنوع مکانیسمی در برخورد با تنش‌هاست که قادر است اثرات نامطلوب تنش بر گیاه را به حداقل برساند. باتوجه به اینکه ذرات ممکن است باعث تغییر در گیاهان شوند و احتمالا دارای تأثیر مثبت، منفی و یا خنثی بر گیاهان هستند، در گیاه اسفناج نیز ذرات اکسید روی باعث تغییر گردیدند. این مطالعه نشان داد که اکسید روی اثرات دوگانه‌ای بر رشد و متابولیسم اسفناج دارد. در حالی که غلظت‌های متوسط (۷۵-۳۰ میلی‌گرم بر لیتر) باعث بهبود شاخص‌های رشدی و افزایش ترکیباتی مانند فنل‌ها می‌شود، غلظت‌های بالاتر ممکن است برخی پارامترهای فیزیولوژیکی را مختل کند. این یافته‌ها برای بهینه‌سازی برنامه‌های کوددهی و ارزیابی ریسک آلودگی خاک‌های کشاورزی به اکسید روی حائز اهمیت هستند.

REFERENCES

Alloway, B. J. (2008). *Zinc in soils and crop nutrition* (2nd ed.). International Zinc Association.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, *72*(1-2), 248-254.

Broadley, M. R., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., & Zhao, F. (2012). Function of nutrients: Micronutrients. In P. Marschner (Ed.), *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (3rd ed., pp. 191–248). Academic Press.

Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I., & Lux, A. (2007). Zinc in plants. *New phytologist*, *173*(4), 677-702.

Cakmak, I. (2000). Tansley Review No. 111 Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *The New Phytologist*, *146*(2), 185-205.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., and Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis, 10*(3), 178–182.

Chen, B. J., Hajiboland, R., Bahrami-Rad, S., Moradtalab, N., & Anten, N. P. (2019). Presence of belowground neighbors activates defense pathways at the expense of growth in tobacco plants. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 751.

Dadkhah, N., Ebadi, A., Parmoon, G., Ghlipoori, E., & Jahanbakhsh, S. (2014). Effect of spraying zinc on photosynthetic pigments and grain yield of chickpea under different irrigation levels. *Iranian Dryland Agronomy Journal, 3*(2), 141–160. (In Persian)

Dere, Ş., Güneş, T., & Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll-a, chlorophyll-b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany, 22*(1), 13–18.

Dimkpa, C. O., Andrews, J., Sanabria, J., Bindraban, P. S., Singh, U., Elmer, W. H., & White, J. C. (2020). Interactive effects of drought, organic fertilizer, and zinc oxide nanoscale and bulk particles on wheat performance and grain nutrient accumulation. *Science of the Total Environment*, *722*, 137808.

Droillard, M. J., Bate, N. J., Rothstein, S. J., & Thompson, J. E. (1992). Active translation of the D-1 protein of photosystem II in senescing leaves. *Plant Physiology*, *99*(2), 589-594.

Eisazadeh, l. S., Asadi, k. S., & Homaee, M. (2014). Phytoextraction and estimating optimal time for remediation of cd contaminated soils by spinach (*spinacia oleracea* l.). *Agricultural Ecology, 6*(4), 916–926. (In Persian)

Faizan, M., Hayat, S., & Pichtel, J. (2020). Effects of zinc oxide nanoparticles on crop plants: A perspective analysis. In *Sustainable agriculture reviews 41: nanotechnology for plant growth and development* (pp. 83-99). Cham: Springer International Publishing.

Ghorbanpour, M. (2015). Major essential oil constituents, total phenolics and flavonoids content and antioxidant activity of Salvia officinalis plant in response to nano-titanium dioxide. *Indian Journal of Plant Physiology*, *20*(3), 249-256.

Gururani, M. A., Venkatesh, J., & Tran, L. S. P. (2015). Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Molecular plant, 8(9), 1304-1320.*

Hafeez, B., Khanif, Y. M., and Saleem, M. (2013). Role of zinc in plant nutrition: A review. *American Journal of Experimental Agriculture, 3*, 374–391.

Iziy, E., Majd, A., Vaezi-Kakhki, M. R., Nejadsattari, T., & Noureini, S. K. (2019). Effects of zinc oxide nanoparticles on enzymatic and nonenzymatic antioxidant content, germination, and biochemical and ultrastructural cell characteristics of Portulaca oleracea L. *Acta Soc. Bot. Pol*, *88*(4), 3639.

Jahns, P., & Holzwarth, A. R. (2012). The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, *1817*(1), 182-193.

Latowski, D., Kuczyńska, P., & Strzałka, K. (2011). Xanthophyll cycle–a mechanism protecting plants against oxidative stress. *Redox Report*, *16*(2), 78-90.

Mansoor, N., Younus, A., Jamil, Y., & Shahid, M. (2019). Impact of nanosized and bulk ZnO on germination and early growth response of Triticum aestivum. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, *56*(4), 879-884.

Marschner, H. (2012). *Mineral nutrition of higher plants* (3rd ed.). Academic Press.

Mazaheri Tirani, M., Madadkar Haghjou, M., & Ismaili, A. (2019). Hydroponic grown tobacco plants respond to zinc oxide nanoparticles and bulk exposures by morphological, physiological and anatomical adjustments. *Functional Plant Biology*, *46*(4), 360-375.

Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*, *91*(3), 571-577.

Nasiri, Y., Zehtab-Salmasi, S., Nasrullahzadeh, S., Najafi, N., & Ghassemi-Golezani, K. (2010). Effects of foliar application of micronutrients (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, *4*(17), 1733-1737.

Olayinka, B. U., Abdulkareem, K. A., Murtadha, R. B., Abdulbaki, A. S., Ayinla, A., Sagaya, A., & Etejere, E. O. (2021). Determination of chlorophyll content, carbonic anhydrase activity, bio-productivity and composition of groundnuts under five Zinc Oxide (ZnO) applications. *Sri Lankan Journal of Biology*, *6*(1).

Ramesh, M., Palanisamy, K., Babu, K., & Sharma, N. K. (2014). Effects of bulk & nano-titanium dioxide and zinc oxide on physio-morphological changes in Triticum aestivum Linn. *Journal of Global Biosciences*, *3*(2), 415-422.

Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hussain, A., & Waris, A. A. (2019). Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat. *Chemosphere*, *214*, 269-277.

Roughani, A., & Miri, S. M. (2019). Plants, Organic Farming, Natural and Pharmaceutical Ingredients.

Shoarian, N., Jamei, R., Pasban Eslam, B., & Salehi Lisar, S. Y. (2020). Titanium dioxide nanoparticles increase resistance of L. iberica to drought stress due to increased accumulation of protective antioxidants. *Iranian Journal of Plant Physiology*, *4*(4), 3343.

Syu, Y. Y., Hung, J. H., Chen, J. C., & Chuang, H. W. (2014). Impacts of size and shape of silver nanoparticles on Arabidopsis plant growth and gene expression. *Plant physiology and biochemistry*, *83*, 57-64.

Tognetti, V. B., Mühlenbock, P. E. R., & Van Breusegem, F. (2012). Stress homeostasis–the redox and auxin perspective. *Plant, cell & environment*, *35*(2), 321-333.

Torabian, S., Zahedi, M., & Khoshgoftar, A. H. (2016). Effects of foliar spray of two kinds of zinc oxide on the growth and ion concentration of sunflower cultivars under salt stress. *Journal of plant nutrition*, *39*(2), 172-180.

Tripathi, D. K., Tripathi, A., Shweta, Singh, S., Singh, Y., Vishwakarma, K., & Chauhan, D. K. (2017). Uptake, accumulation and toxicity of silver nanoparticle in autotrophic plants, and heterotrophic microbes: a concentric review. *Frontiers in microbiology*, *8*, 07.

Winterbourn, C. C. (1982). Superoxide-dependent production of hydroxyl radicals in the presence of iron salts. *Biochemical Journal*, *205*(2), 463.

Yousefi, K., & Riahi Madvar, A. (2016). Effect of flavone synthase gene expression and silver and copper elicitors on cumin seedlings. *Iranian Journal of Biology, 28*, 210–223. (In Persian)