

Effects of Manganese Oxide Nanoparticles and Bulk Manganese Oxide via Seed Priming on *Portulaca oleracea* L.

Mahshad Movahedi¹, Sedigheh Arbabian^{1*}, Ahmad Majd¹, Golnaz Tajadod¹, Sayeh Jafari Marandi¹

1- Department of Biology, NT. C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Aim and Background: *Portulaca oleracea* (purslane) is a halophyte plant known for its high nutritional and medicinal value. Due to its resistance to environmental stresses and abundance of metabolic compounds, it plays a significant role in agriculture and medicine. With the promising advancements in nanotechnology in agriculture, nanoparticles have been introduced as alternatives to traditional compounds. This study aimed to systematically compare the effects of manganese oxide nanoparticles (Mn₂O₃ NPs) and bulk manganese oxide (Bulk Mn₂O₃) on seed germination, early growth, and physiological processes in purslane through seed priming. This research is the first comprehensive evaluation of the simultaneous effects of manganese form and concentration on this plant.

Materials and Methods: In this study, the characteristics of the nanoparticles were examined using electron microscopy (SEM/TEM). Purslane seeds were treated with different concentrations (0, 10, 100, 500 mg/L) of manganese oxide nanoparticles and bulk manganese oxide. Growth parameters (root and shoot length, fresh and dry weight), germination parameters (germination percentage and rate), and chlorophyll content (a, b, and total chlorophyll) were measured, and the data were analyzed using Duncan's test in SPSS software.

Results: manganese oxide nanoparticles at high concentrations (100-500 mg/L) caused a significant reduction of 30-40% in root and shoot length. However, the lower concentrations of manganese oxide nanoparticles (10 mg/L) improved the germination percentage and rate by 15% compared to the control. Bulk manganese oxide at all concentrations led to a 25% improvement in root and shoot length, as well as fresh and dry weight of Purslane seedlings. 20-35%. A significant reduction in chlorophyll content was observed in all treated groups, with the highest reduction in chlorophyll content associated with the highest concentration of manganese oxide nanoparticles (500 mg/L).

Conclusion: This study shows that bulk and nanoparticle forms of manganese oxide have contrasting effects on the growth and physiological processes of Purslane. Manganese oxide nanoparticles at high concentrations exhibit notable toxicity, while at lower concentrations (10 mg/L), they act as a biostimulant and are useful for seed germination. On the other hand, bulk manganese oxide, despite improves growth parameters (root and shoot length), its use should be recommended with caution due to the reduction in seedling weight and chlorophyll content. Overall, the role of nanoparticles as a novel factor in seed priming is highlighted, suggesting that their use as a stable alternative to conventional compounds can enhance seed germination and plant resistance while minimizing environmental pollution.

Keywords: Purslane, manganese oxide nanoparticles, bulk manganese oxide, seed priming, oxidative stress

Corresponding Author:

Sedigheh Arbabian; Department of Biology, NT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran;

Email: Sedigheharbabian@iau.ac.ir

اثرهای نانوذرات اکسید منگنز و اکسید منگنز بالک از طریق پرایمینگ بذر در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.)

مهشاد موحدی^۱، صدیقه اربابیان^{۱*}، احمد مجد^۱، گلناز تجدد^۱، سایه جعفری مرندي^۱

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.) جزء گیاهان هالوفیت و دارای ارزش غذایی و دارویی بالایی است. این گیاه به دلیل مقاومت در برابر تنش‌های محیطی و فراوانی ترکیب‌های متابولیتی از جایگاه ویژه‌ای در کشاورزی و پزشکی برخوردار است. با توسعه امیدوارکننده فناوری نانو در کشاورزی به عنوان جایگزین ترکیب‌های سنتی معرفی شدند. این مطالعه با هدف مقایسه سیستماتیک اثرهای نانوذرات اکسید منگنز (Mn_2O_3 NPs) و فرم بالک اکسید منگنز ($BulkMn_2O_3$) بر جوانه‌زنی، رشد اولیه و فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه خرفه از طریق پرایمینگ بذر انجام شد. در این پژوهش، نخستین ارزیابی جامع در مورد تأثیر هم‌زمان فرم و غلظت منگنز بر روی گیاه خرفه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، ویژگی‌های نانوذرات با میکروسکوپ الکترونی (SEM/TEM) بررسی شد. بذره‌های خرفه با غلظت‌های (۰، ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) از نانوذرات اکسید منگنز و اکسید منگنز بالک تیمار شدند. پارامترهای رشد (طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک)، پارامترهای جوانه‌زنی (درصد و سرعت جوانه‌زنی) و محتوای کلروفیل (a، b و کلروفیل کل) سنجش و داده‌ها توسط آزمون دانکن در نرم‌افزار SPSS تحلیل شدند.

یافته‌ها: نانوذرات اکسید منگنز در غلظت‌های بالا (۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) موجب کاهش معنادار ۳۰-۴۰٪ در طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک شدند. اما غلظت پایین نانوذرات اکسید منگنز (۱۰ میلی گرم در لیتر) موجب بهبود ۱۵٪ سرعت و درصد جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد شد. اکسید منگنز بالک در تمام غلظت‌ها تا ۲۵٪ باعث بهبود در طول ریشه‌چه و ساقه‌چه شد. اما باعث کاهش ۲۰٪ وزن تر و خشک گیاهچه‌های خرفه شد. همچنین کاهش معنادار ۳۵-۵۰٪ در محتوای کلروفیل تمامی گروه‌های تیمار شده مشاهده شد که بیشترین کاهش کلروفیل مربوط به بالاترین غلظت نانوذرات اکسید منگنز (۵۰۰ میلی گرم در لیتر) بود.

نتیجه‌گیری: این پژوهش نشان می‌دهد که فرم بالک و نانوذرات اکسید منگنز موجب تأثیرهای متضاد بر فرایندهای رشد و فیزیولوژیکی خرفه می‌شوند. نانوذرات اکسید منگنز در غلظت‌های بالا اثرهای سمی قابل توجهی دارند و در غلظت‌های پایین (۱۰ میلی گرم در لیتر) به عنوان یک محرک زیستی در بهبود فرایند جوانه‌زنی کاربردی و مورد استفاده هستند. از سویی دیگر، اکسید منگنز بالک با وجود بهبود پارامترهای رشد (طول ریشه‌چه و ساقه‌چه)، به دلیل کاهش در وزن گیاهچه‌ها و محتوای کلروفیل بهتر است با احتیاط استفاده شود. این یافته‌ها به طور کلی نقش نانوذرات را به عنوان یکی از عوامل نوین در پرایمینگ بذر برجسته می‌کند که با استفاده هدفمند، به عنوان جایگزینی پایدارتر برای ترکیب‌های سنتی می‌تواند جوانه‌زنی و مقاومت گیاه را با حداقل آلودگی زیست‌محیطی در شرایط تنش بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: خرفه، نانوذرات اکسید منگنز، اکسید منگنز بالک، پرایمینگ بذر، تنش اکسیداتیو.

نویسنده مسئول: صدیقه اربابیان؛ دانشیار گروه زیست‌شناسی،

واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران؛

پست الکترونیکی: Sedigheharbabian@iau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۷

۱- مقدمه

گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) که به خانواده *Portulacaceae* تعلق دارد، گیاهی یک ساله و علفی که دارای ساقه و برگ های آبدار است (۱). این گیاه گرمادوست و چهار کربنه و مسیر فتوسنتزی آن از نوع C₄ است (۲). این گیاه را با نام (*Purslane*) در جهان می شناسند. جزء ده گیاه شناخته شده در جهان می باشد که برگ، ساقه و دانه آن مصرف دارویی و غذایی دارد. نتایج پژوهش های اخیر نشان می دهد که این گیاه دارای ارزش تغذیه ای بالا نسبت به بیشتر گیاهانی است که در قالب سبزیجات مصرف می شوند و ویژگی دارویی بالای آن منجر شده که سازمان بهداشت جهانی به آن لقب (Global Panacea) دهد (۳). به دلیل داشتن خواص آنتی اکسیدانی و ارزش غذایی بالا از خرفه به عنوان یک غذای مقوی در آینده یاد می شود، این گیاه توانایی رشد در شرایط مختلف آب و هوایی و خاک را دارد (۴). علاوه بر این، منبع غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ (اسید لینولنیک) و اسیدهای چرب امگا-۶ (اسید لینولئیک) می باشد و مصرف آن به علت غنی بودن از اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-۳ و وجود آنتی اکسیدان ها باعث خنثی شدن رادیکال های آزاد و تقویت سیستم ایمنی می گردد و موجب شده این گیاه به عنوان سبزی عالی در رژیم غذایی انسان باشد (۵). خرفه پراکندگی جهانی دارد و بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است (۶). براساس مطالعه های انجام شده، خرفه ارزش غذایی بالاتری نسبت به بیشتر سبزیجات دارد و جزء دسته غذاهای قدرتمند قرار دارد که این غذاها دارای محتوای مغذی بالایی هستند (۷). محققان با مطالعه های متعدد *in-vitro* و *in-vivo* که بر روی خرفه انجام داده اند، به نتایج بسیار مهمی در مورد اثرهای دارویی این گیاه دست یافته اند، از جمله می توان به اثر ضدسرطانی، ضد زخم، ضد التهابی، ضدقارچی، ضدباکتری، محافظت کننده سیستم عصبی، گشاد کننده راه تنفسی و آرام بخشی اشاره کرد (۶). منگنز (Mn) دومین عنصر کمیاب در کره زمین است و یکی از عناصر مهم در رشد و نمو گیاهان است (۸). منگنز یک عنصر ضروری است که نقش کلیدی در فرایندهای مهم متابولیکی و فیزیولوژیکی در گیاهان ایفا می کند، از جمله به فتوسنتز، تنفس، سنتز اسیدهای چرب و پروتئین ها می توان اشاره نمود (۸). استفاده از عناصر ضروری مانند منگنز جهت بهبود رشد و

افزایش عملکرد گیاه نقش کلیدی دارد (۹). کمبود منگنز در گیاهان می تواند باعث اختلال تغذیه ای، کاهش رشد و عملکرد در گیاه شود (۱۰). در حالی که میزان بالای این عنصر نیز در گیاهان باعث ایجاد سمیت و افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS)، آسیب اکسیداتیو به پروتئین ها و لیپوپراکسیداسیون می شود (۱۱). فناوری نانو، یک فناوری روبه توسعه است که امروزه در جنبه های مختلف زندگی انسان وارد شده و مطالعه های متعدد انجام شده، جنبه های خوش بینانه ای از نانوذرات در علوم گیاهی و صنایع کشاورزی را نشان داده است (۱۲). نانوذرات به دلیل ویژگی های منحصربه فرد مانند مساحت سطح بالا، نفوذپذیری و جذب بهتر مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته اند. اگر استفاده از نانوذرات در شرایط و زمان مناسب و با روش مؤثر انجام شود، می تواند عملکرد گیاه را به خصوص در مراحل اولیه رشد بهبود دهد (۱۳، ۱۴). تغییرهای ناشی از نانوذرات شدیداً تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله نوع نانوذرات، غلظت به کار رفته، نوع گونه گیاهی و روش به کار رفته است (۱۳). محققان در این حوزه در حال تلاش برای به دست آوردن یک دیدگاه جامع در مورد نحوه عملکرد نانوذرات هستند اما شواهد و نتایج به دست آمده برای رسیدن به یک دیدگاه مشترک و جامع بسیار پیچیده و دشوار است. به دلیل اینکه گیاهان دارای گونه های مختلفی هستند و بسیاری از این مطالعه ها بر روی محصولات کشاورزی انجام شده است (۲۰). بعضی از بررسی ها اثرهای مشابه نانوذرات با فرم های بالک و یونی آن ها را گزارش داده اند (۱۳) و بعضی دیگر از مطالعه ها، اثرهای متفاوت نانوذرات به دلیل ویژگی های خاصی که دارند را گزارش داده اند (۷، ۱۵). البته کاملاً پذیرفته نشده که عناصر در فرم نانوذرات بر روی گیاهان تأثیر بسیار مطلوب تری دارند. به منظور دستیابی به بازدهی بیشتر توسط نانوذرات، یافتن اینکه چه نوعی از نانوذرات و با چه غلظت هایی موجب بهبود بهره وری گیاه می شود بسیار حیاتی و مهم است. مطالعه های بسیاری در مورد تأثیر نانوذرات بر روی گیاهان زراعی انجام شده است، اما در مورد تأثیر نانوذرات بر روی گیاهان دارویی مطالعه های کمی انجام شده است. گیاهان دارویی و فناوری نانو بسیار جنبه کاربردی دارند. گیاهان دارویی را به دلیل منابع سرشار از مواد اولیه در صنعت داروسازی در نظر

سوسپانسیون های مختلف نانوذرات و بالک اکسید منگنز و آب مقطر قرار گرفتند، سپس با آب مقطر شست و شو داده شده و تعداد بیست بذر بر روی کاغذ صافی واتمن مرطوب به ظروف پتری دیش استریل منتقل شد و به مدت هفت روز در قفسه نوری تحت شرایط نوری کنترل شده، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی (با استفاده از لامپ های ۳۶ وات فلورسنت و در فاصله ۳۰ سانتی متری از نمونه ها) در دمای اتاق 25 ± 2 درجه سانتی گراد قرار داده شدند. تعداد بذرهای جوانه زده روزانه شمارش و ثبت گردیدند. درصد و سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه، وزن تر و خشک اندازه گیری شدند و سنجش محتوای کلروفیل شصت روز بعد از تیماردهی انجام شد. این سنجش ها زمانی انجام شده اند که گیاه در فاز رویشی قرار داشته است. گروه بندی در پژوهش حاضر به صورت زیر انجام شد (جدول ۱).

جدول ۱- گروه بندی تیمارها

Treatment Code	Treatment description
C	Control
T1	Bulk Mn ₂ O ₃ 10 mgL ⁻¹
T2	Bulk Mn ₂ O ₃ 100 mgL ⁻¹
T3	Bulk Mn ₂ O ₃ 500 mgL ⁻¹
T4	Mn ₂ O ₃ NPs 10 mgL ⁻¹
T5	Mn ₂ O ₃ NPs 100 mgL ⁻¹
T6	Mn ₂ O ₃ NPs 500 mgL ⁻¹

۲-۱- سنجش درصد جوانه زنی

بذر ها هنگامی جوانه زده در نظر گرفته شدند که ریشه چه های قابل مشاهده از پوسته بذر ها خارج شده بودند. از رابطه زیر برای محاسبه درصد جوانه زنی استفاده شد:

$$GP = (Ni / N) \times 100$$

GP: درصد جوانه زنی

Ni: تعداد بذر جوانه زده در روز آخر شمارش

N: تعداد کل بذر ها

می گیرند. این گیاهان نباید در محیط های آلوده رشد داده شوند و همچنین باید مواد شیمیایی برای تحریک و تقویت رشد آن ها به میزان حداقل باشد. اخیراً استفاده از نانوذرات مورد توجه محققان است زیرا می توان با میزان کمتری از ماده مورد نظر به نتایج مشابه با هم تایان آن در فرم بالک دست یافت (۱۳، ۱۶). این مطالعه با هدف مقایسه اثر نانوذرات اکسید منگنز و اکسید منگنز بالک بر روی جوانه زنی بذر ها و تشکیل دانه رسته ها و محتوای کلروفیلی گیاه خرفه طراحی شده است. نتایج این پژوهش می تواند کمک شایانی به درک بهتری از اثر های مثبت و منفی نانوذرات اکسید منگنز بر روی رشد اولیه و تغذیه گیاه خرفه داشته باشد.

۲- مواد و روش ها

بذر های گیاه خرفه (*Portulaca Oleracea*) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذر ها طبق پروتکل ISTA (انجمن بین المللی آزمون بذر) از نظر درصد خلوص ($\leq 99\%$) و درصد قوه نامیه ($\leq 99\%$) ارزیابی شدند. ابتدا فرایند استریل سازی بذر ها انجام شد؛ بذر ها در هیپوکلریت سدیم ۳ درصد همراه با دو قطره مایع شوینده به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند و سپس چندبار با آب مقطر شست و شو داده شدند. نانوذرات اکسید منگنز از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان خریداری شد و همچنین اکسید منگنز بالک ساخت شرکت مرک آلمان تهیه شد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوذرات اکسید منگنز به وسیله میکروسکوپ الکترونی SEM و میکروسکوپ الکترونی TEM بررسی شد؛ در بررسی های انجام شده مشخص شد که اندازه نانوذرات اکسید منگنز ۳۰ نانومتر و دارای شکل کروی و خلوص ۹۹/۲ درصد است که به دلیل درصد خلوص بالا و پایداری از این نانوذره در مطالعه حاضر استفاده شد. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با سه تکرار در هر تیمار در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی تهران شمال انجام شد. بذر های استریل شده خرفه تحت تیمار با سه غلظت نانوذات اکسید منگنز Mn₂O₃ NPs و اکسید منگنز بالک Bulk Mn₂O₃ (۰، ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ mgL⁻¹) قرار گرفتند. بذر ها به مدت دو ساعت بر روی شیکر چرخشی در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد در معرض

۲-۲- سنجش سرعت جوانه زنی

سرعت جوانه زنی با تقسیم تعداد تجمعی بذرهای جوان زده در هر شمارش به کل بذرهای جوانه زده نهایی، تعیین و زمان صرف شده تا رسیدن به ۵۰ درصد جوانه زنی محاسبه شد. بنابراین برای محاسبه سرعت جوانه زنی از رابطه زیر استفاده شد (۱۷):

$$GR = \sum_{i=1}^n ni/diR$$

GR: سرعت جوانه زنی

ni: تعداد بذر جوانه زده در هر شمارش

di: تعداد روز شمارش تا روز m

۲-۳- سنجش طول ریشه چه و ساقه چه

بعد از مدت ۱۰ روز کشت پتری دیش بذرهای شاخص های رشد شامل طول ریشه چه و ساقه چه توسط خط کش دقیق اندازه گیری و ثبت شد.

۲-۴- سنجش وزن تر و خشک جوانه های خرفه

وزن تر و خشک جوانه ها توسط ترازوی دقیق دیجیتال ساخت کمپانی Sartorius با ۰/۰۰۰۰۱/۰ مشاهده و یادداشت گردید. پس از طی مدت ۵ روز بعد از جوانه زنی و اندازه گیری وزن تر جوانه ها به صورت جداگانه، برای تعیین وزن خشک جوانه ها، نمونه ها در پاکت های کاغذی قرار گرفته و در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد تا پایان خشک شدن کامل نمونه ها (مدت ۲۴ ساعت) (به علت محتوای رطوبتی پایین آن ها) قرار گرفته و بعد توزین شدند.

۲-۵- سنجش رنگیزه ها

از روش lichtenthaler استفاده شد. ۶۰ روز بعد از شروع تیماردهی، حدود ۰/۱ گرم برگ از هر نمونه را با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد درون لوله آزمایش ریخته و به وسیله سانتریفوژ همگن شد و سپس جذب به وسیله اسپکتروفتومتر برای اندازه گیری کلروفیل a، b و کلروفیل کل ثبت شد (۱۸).

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

آزمون آماری با استفاده از نرم افزار SPSS v26 انجام شد. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن و در سطح احتمال $P \leq 0.05$ انجام شد. خطای استاندارد (SE) برای تمام پارامترها محاسبه شد و در نمودارهای ترسیم شده، نمایش داده شد.

۳- نتایج

۳-۱- تأثیر تیمارها بر جوانه زنی بذر

با توجه به تصویر 1A، درصد جوانه زنی در تمام گروه های تحت تیمار با نانوذرات اکسید منگنز و اکسید منگنز بالک (۱۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) در مقایسه با گروه شاهد افزایش جزیی داشت، که بیشترین میزان آن در تیمارهای ۱۰ میلی گرم در لیتر بالک اکسید منگنز و ۱۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات اکسید منگنز مشاهده شد. باین حال، این افزایش از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنادار نبود. با توجه به نمودار B در تصویر ۱، بیشترین افزایش سرعت جوانه زنی مربوط به گروه تیمار شده با ۱۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات اکسید منگنز مشاهده شد، که این تغییرها از نظر آماری معنادار نبودند. در مقابل، کمترین سرعت جوانه زنی در گروه های تیمار شده با ۱۰ میلی گرم در لیتر اکسید منگنز بالک و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات اکسید منگنز ثبت شد و این کاهش نسبت به گروه کنترل از نظر آماری معنادار بود (تصویر 1B).

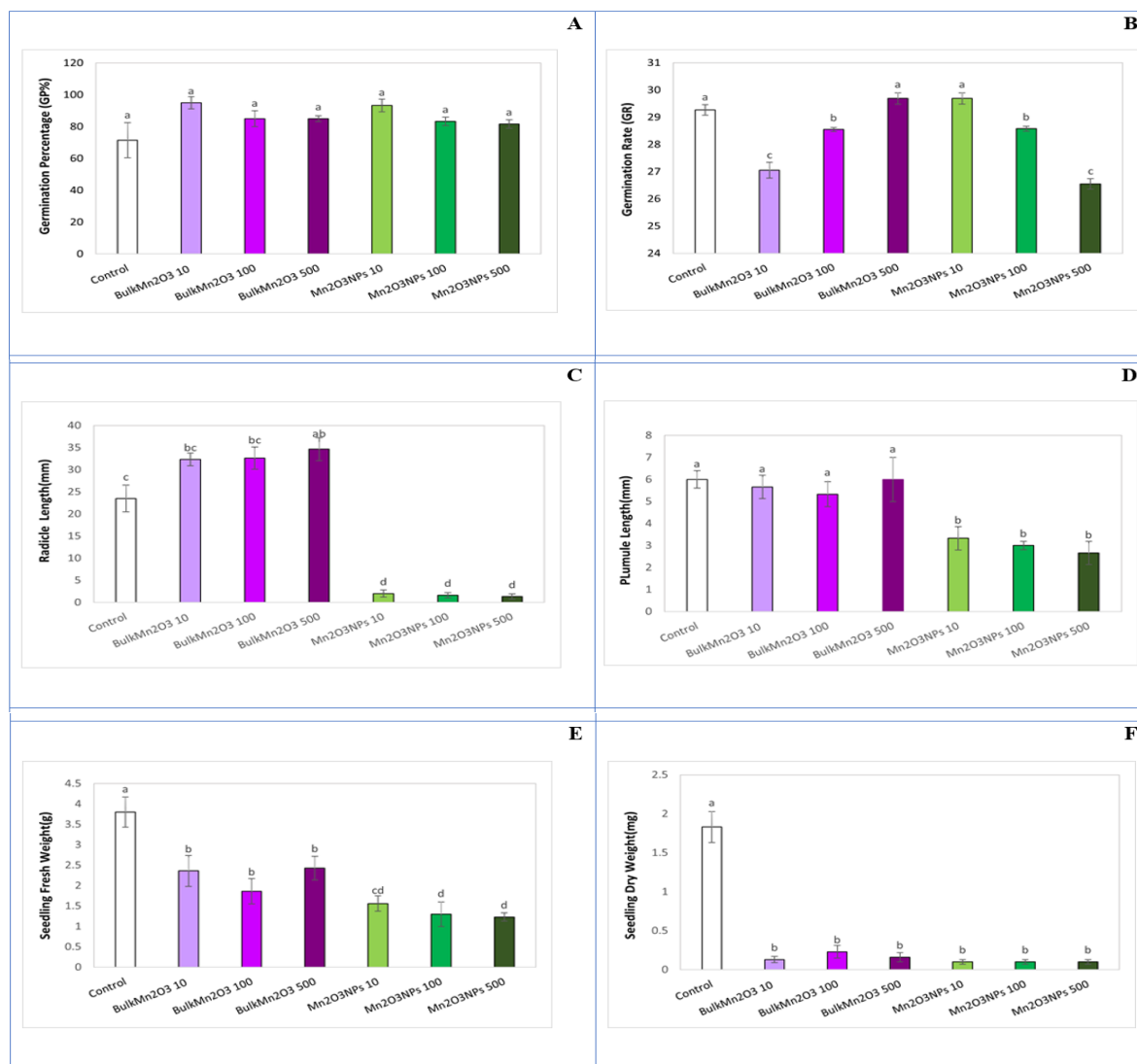
۳-۲- تأثیر تیمارها بر طول ریشه چه و ساقه چه

طول ریشه چه در گروه های تیمار شده با اکسید منگنز بالک نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. در حالی که در گروه های تحت تیمار با نانوذرات اکسید منگنز، کاهش طول ریشه چه مشاهده شد. بیشترین طول ریشه چه مربوط به گروه تحت تیمار با غلظت ۵۰۰ میلی گرم در لیتر اکسید منگنز بالک و کمترین طول ریشه چه مربوط به گروه تیمار شده با ۵۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات اکسید منگنز بود که این تفاوت ها (افزایش و کاهش طول ریشه چه) در مقایسه با شاهد از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنادار است (تصویر 1C). این نتایج نشان می دهد، نانوذرات اکسید منگنز نسبت به فرم بالک اثرهای بازدارنده بیشتری بر رشد ریشه چه دارند. در بررسی طول ساقه چه، بیشترین طول در گروه تیمار شده با ۵۰۰ میلی گرم در لیتر اکسید منگنز بالک مشاهده شد، اما از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنادار نبود. در مقابل، کمترین طول ساقه چه در گروه تیمار شده با ۵۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات اکسید منگنز مشاهده شد که این کاهش نسبت به گروه شاهد از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنادار بود (تصویر 1D).

شاهد کاهش یافت و از نظر آماری ($P \leq 0.05$) در مقایسه با شاهد معنادار بود. وزن خشک جوانه‌ها در تمام گروه‌های تحت تیمار کاهش یافت و این کاهش وزن خشک در گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری معنادار است (تصویر 1E و 1F). هر دو فرم اکسید منگنز (نانوذرات و بالک) اثر منفی بر رشد و زیست‌توده در گیاهچه‌ها دارند، البته تأثیر نانوذرات شدیدتر بوده است.

درواقع با افزایش غلظت اکسید منگنز بالک، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه روندی افزایشی داشت، درحالی‌که افزایش غلظت نانوذرات اکسید منگنز باعث کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه شده است.

۳-۳- تأثیر تیمارها بر وزن تر و خشک جوانه‌های خرفه
وزن تر و خشک جوانه‌ها در تمام گروه‌های تیمار شده با نانوذرات اکسید منگنز و اکسید منگنز بالک در مقایسه با



شکل ۱- نمودار شاخص‌های رشد (A: درصد جوانه‌زنی)، (B: سرعت جوانه‌زنی)، (C: طول ریشه‌چه)، (D: طول ساقه‌چه)، (E: وزن تر گیاهچه)، (F: وزن خشک گیاهچه). حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده این است که تفاوت از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنادار است و حروف مشابه نشان‌دهنده این است که تفاوت آماری معناداری وجود ندارد.

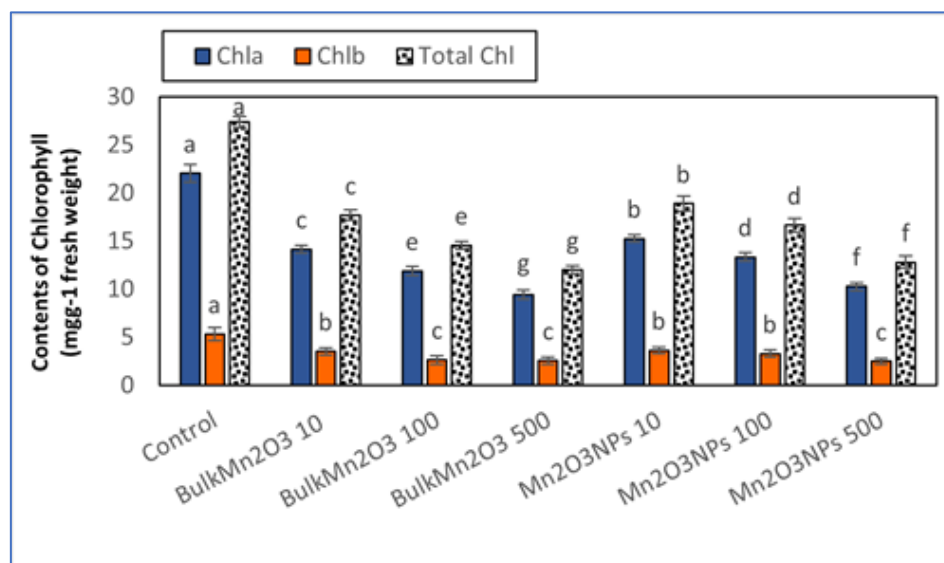
کلروفیل در گیاهان گروه شاهد مشاهده شد، درحالی‌که کمترین میزان کلروفیل مربوط به گروهی است که در معرض بالاترین غلظت نانوذرات اکسید منگنز و پس از آن، مربوط به گروهی است که تحت تیمار با بالاترین غلظت اکسید منگنز

۳-۴- تأثیر تیمارها بر رنگیزه‌های کلروفیلی

با بررسی نتایج حاصل از سنجش رنگیزه‌های کلروفیلی، کاهش معنادار کلروفیل a و b و کلروفیل کل در همه گروه‌های تحت تیماردهی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. بیشترین میزان

به دست آمده نشان می دهد، نانوذرات اکسید منگنز تأثیر منفی بیشتری بر فتوسنتز دارند.

بالک بود، که این تغییرها نسبت به کنترل از نظر آماری معنادار است (نمودار ۱ و جدول ۲). $P \leq 0.05$



نمودار ۱- نمودار رنگیزه های کلروفیلی، حروف کوچک متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت آماری معنادار است و حروف مشابه نشان دهنده اینست که تفاوت آماری معناداری وجود ندارد.

جدول ۲- اثر غلظت های مختلف نانوذرات و بالک اکسید منگنز (۰، ۱۰، ۱۰۰ و ۵۰۰) بر محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل

Treatment	ChI a (mg g ⁻¹ FW)	ChI b (mg g ⁻¹ FW)	Total ChI (mg g ⁻¹ FW)
Control	22.04±0.09a	5.33±0.08a	27.38±0.09a
Bulk Mn ₂ O ₃ 10	14.16±0.01c	3.53±0.01b	17.69±0.09c
Bulk Mn ₂ O ₃ 100	11.90±0.08e	2.66±0.01c	14.56±0.08e
Bulk Mn ₂ O ₃ 500	9.42±0.05g	2.57±0.02c	11.99±0.08g
Mn ₂ O ₃ NPs 10	15.26±0.02b	3.64±0.03b	18.89±0.16b
Mn ₂ O ₃ NPs 100	13.35±0.06d	3.29±0.04b	16.64±0.10d
Mn ₂ O ₃ NPs 500	10.28±0.08f	2.50±0.04c	12.78±0.12f

مقادیر به صورت mean ± standard error در سه تکرار ارائه شده است. حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنادار آماری می باشد.

۴- بحث

شاهد افزایش جزیی را نشان داد، اما این افزایش از نظر آماری معنادار نبود. بیشترین درصد جوانه زنی در تیمارهای ۱۰ میلی گرم در لیتر بالک اکسید منگنز و ۱۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات اکسید منگنز مشاهده گردید. به طور کلی، این نتایج نشان می دهند که تأثیرهای نانوذرات و بالک به شدت وابسته به غلظت آنها است و غلظت های پایین می تواند مؤثرتر و ایمن تر باشد. این نتایج با مطالعه زیاری و همکاران همسویی دارد. آنها نشان دادند که تیمارهای نانوذرات اکسید منگنز در غلظت های پایین (۰/۰۱ و ۰/۰۵) موجب افزایش جوانه زنی بذرهای گیاه کاسنی می شود (۲۰). طبق نتایج، کمترین سرعت جوانه زنی مربوط به گروه تحت تیمار با ۵۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات اکسید منگنز بوده است که این رویداد ممکن است به دلیل اختلال در فعالیت

جوانه زنی، یک فرایند پیچیده است و از آسیب پذیرترین مراحل در چرخه زندگی گیاه است، این مرحله تحت تأثیر عوامل درونی و بیرونی قرار دارد. فرایند جوانه زنی از رشد قوی و سالم گیاه حمایت می کند. طی پژوهش های انجام شده مشخص شد، جوانه زنی ناهموار بذر با کاهش بهره وری محصولات کشاورزی ارتباط دارد. همچنین تیماردهی بذر با موجب بهبود کیفیت بذر و رشد بیشتر گیاه می شود (۱۳، ۱۹).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد، تیماردهی بذرهای خرفه با نانوذرات و فرم بالک اکسید منگنز در غلظت های مختلف تأثیرهای متفاوتی بر شاخص های جوانه زنی داشت. اگرچه درصد جوانه زنی در تمامی تیمارها نسبت به گروه

جذب مواد مغذی ضروری مانند: منیزیم، کلسیم و آهن را در گیاهان کاهش دهد (۲۴). کمبود این عناصر موجب اختلال در سنتز کلروفیل و فعالیت آنزیمهای ضروری در فتوسنتز می شود و رشد گیاه کاهش می یابد (۲۵).

این نتایج با مطالعه های Tian و همکاران، Khodakovskaya و همکاران همسو است، آن ها گزارش داده اند نانوذرات در غلظت های پایین تر می توانند اثرهای مفیدی بر روی گیاهان داشته باشند (۲۶، ۲۷). اثرهای مفید غلظت های پایین نانوذرات منگنز ممکن است به علت نقش منگنز در فعالیت بعضی از آنزیم ها و فرایندهای متابولیکی در گیاه باشد (۱۳). در مطالعه حاضر، تیماردهی با اکسید منگنز با کمبود موجب افزایش طول ریشه چه و ساقه چه و کاهش وزن تر و خشک گیاهچه های خرفه شد که این نتایج نشان می دهند، اکسید منگنز در فرم با کمبود مقایسه با فرم نانو دارای سمیت کمتری بر روی این گیاه است و حتی در غلظت های بالاتر نیز می تواند رشد ریشه چه و ساقه چه را تحریک کند. این پدیده احتمالاً به دلیل اندازه بزرگتر ذرات منگنز در فرم با کمبود است که باعث شده نفوذ، جذب و انتقال آن ها در گیاه به صورت آهسته تر و کنترل شده تر اتفاق بیوفتد و در نتیجه، تنش اکسیداتیو در گیاه کمتر ایجاد شده و باعث بهبود رشد گیاه می شود (۲۸). در غلظت های بالای اکسید منگنز با کمبود اختلال در جذب آب و مواد مغذی رخ می دهد که می تواند به دلیل تجمع منگنز در بافت های گیاهی و ایجاد سمیت در گیاه باشد. در مطالعه ای که Alejandro و همکاران در مورد تأثیر فرم های مختلف منگنز در گیاهان انجام دادند، بیان کردند که منگنز در فرم با کمبود در مقایسه با فرم نانوذرات سمیت کمتری دارد و فرم با کمبود منگنز در غلظت های بالا موجب اختلال در سیستم آنتی اکسیدانی در گیاه می شود (۲۹). در مطالعه دیگری که Millaleo و همکاران انجام دادند، بیان کردند که غلظت های بالای منگنز باعث کاهش وزن خشک در گیاهان می شود که به دلیل اختلال در جذب عناصر مغذی است (۳۰). کاهش معنادار رنگیزه های کلروفیلی a و b و کلروفیل کل در تمامی گروه های تیمار شده با نانوذرات و با کمبود اکسید منگنز در مقایسه با گروه کنترل، نشان دهنده اختلال در بیوسنتز کلروفیل است. این کاهش دلایل مختلفی می تواند داشته باشد، ممکن است منگنز از طریق آسیب به غشای سلولی وارد سلول های گیاهی شده و سپس جایگزین منیزیم در مرکز فعال کلروفیل شده و عملکرد آن را مختل کند. علاوه بر این، تنش اکسیداتیو باعث

آنزیم های مداخله گر در فرایند جوانه زنی و یا به علت کاهش جذب آب توسط بذرها باشد. در طی مطالعه ای که Munawar و همکارانش به بررسی پرایمینگ بذر هویج با با کمبود منگنز پرداختند، آن ها مشاهده کردند که فرم با کمبود منگنز می تواند باعث کاهش جوانه زنی بذرها و یا به تعویق افتادن جوانه زنی شود که این نتایج با نتایج ما همسویی دارد (۲۱). در پژوهشی که salehi و همکاران بر روی گیاه درمنه (*Artemisia annua*) انجام دادند، بیان کردند غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات اکسید منگنز باعث تحریک جوانه زنی و رشد شده است اما غلظت های بالاتر موجب تأخیر در جوانه زنی و مهار رشد شده است (۱۳). طی چند تحقیق مختلفی که do Espirito Santo Pereira و همکاران، Nile و همکاران انجام داده اند، گزارش کردند که تیماردهی بذر با نانوذرات در غلظت های پایین به طور معنی داری جوانه زنی را در مقایسه با فرم یونی و شاهد بهبود می بخشد که این فرایند از طریق تسریع در جذب آب و مواد مغذی اتفاق می افتد که با ایجاد منافذی در پوسته بذر انجام می شود (۲۲). یافته های این مطالعه نشان دادند که تأثیر نانوذرات و با کمبود اکسید منگنز بر گیاه خرفه تحت تأثیر غلظت و ساختار این ذرات قرار دارند. نانوذرات در غلظت های پایین تر توانایی عملکرد به عنوان محرک های زیستی را دارند، اما در غلظت های بالا، موجب القای تنش اکسیداتیو و اختلال در رشد گیاه می شوند. از طرفی دیگر، فرم با کمبود اکسید منگنز سمیت کمتری را نشان داد، حتی در غلظت های بالاتر توانایی تحریک رشد گیاه را دارد. این تفاوت ها ممکن است به دلیل اندازه بزرگتر ذرات و رهاسازی آهسته تر یون های منگنز در فرم با کمبود باشد. براساس نتایج، بین غلظت نانوذرات اکسید منگنز و پارامترهای رشد اولیه گیاه رابطه معکوس وجود دارد. کاهش طول ریشه چه و ساقه چه، وزن تر و خشک گیاهچه در غلظت های بالای نانوذرات اکسید منگنز (۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) مشاهده شد که این اختلال در رشد ممکن است به دلیل تجمع گونه های فعال اکسیژن (ROS) و اختلال در تقسیم سلولی باشد (۱۳). طبق مطالعه های انجام شده، نانوذرات می توانند با ایجاد تنش اکسیداتیو، باعث آسیب به DNA و پروتئین ها شوند و در نهایت موجب اختلال در رشد و تکامل گیاه شوند (۲۳). همچنین جذب بیش از حد یون های Mn^{2+} از نانوذرات اکسید منگنز می تواند

فعال سازی آنزیم کلروفیلز شده و این آنزیم موجب تجزیه کلروفیل می شود (۳۱).

همچنین منگنز در گیاهان به عنوان یک ماده مغذی مهم و ضروری است و نقش مهمی در فتوسنتز II (که بخشی از فرایند فتوسنتز است) دارد (۳۲) و همچنین منگنز یک کوفاکتور آنزیم ATPase در فرایند فتوسنتز است که در بازسازی و تولید انرژی فعالیت دارد (۳۳). در شرایط کمبود منگنز در گیاه، کمبود ATP اتفاق می افتد و در نتیجه فرایند فتوسنتز کاهش می یابد و علت اصلی کاهش پارامترهای مورفولوژیکی و کاهش بهره وری در گیاه است (۳۴). $Netto$ و همکاران علت کاهش کلروفیل در برگ های قهوه تحت تنش را آسیب دیدن غشای کلروپلاست و تأثیر مخرب بر واکنش های نوری، انتقال الکترون و افزایش تولید اکسیژن فعال می داند (۳۵). به طور کلی، هر دو فرم نانو و بالک اکسید منگنز موجب کاهش محتوای کلروفیل شدند، اما با توجه به مطالعه های انجام شده در این زمینه، مکانیسم عمل آنها یکسان نیست. نانوذرات اکسید منگنز به دلیل نسبت مساحت سطح به حجم بالا، نفوذپذیری بیشتر، واکنش پذیری بیشتر و آزادسازی سریع تر یون های Mn^{2+} را سریع تر آزادسازی می کنند. در مورد فرم بالک اکسید منگنز، یون های Mn^{2+} به آرامی آزاد می شوند و منجر به تنش اکسیداتیو طولانی تر، تخریب آرام و تدریجی در کلروپلاست های گیاهان می شود (۳۶). نتایجی که از بررسی و آنالیز پارامترهای مختلف در این مطالعه به دست آمد، اثبات کننده این فرضیه است که عملکرد گیاهان در برابر نانوذرات، متفاوت از ترکیب های بالک آن است که این تفاوت در پاسخ دهی به دلیل ویژگی های ساختاری و شیمیایی متفاوت است. تفاوت در ساختار فیزیکی و شیمیایی نانوذرات با ترکیب های بالک آنها بر روی میزان جذب و مکانیسم سیگنالینگ تأثیر گذار است. همچنین در مطالعه های اخیر، نانوذرات به دلیل ساختار ویژه ای که دارند از نظر زیستی نسبت به ترکیب های بالک فعال تر هستند (۳۷).

۵- نتیجه گیری

در انتها با در نظر گرفتن تمام نتایج به دست آمده از این مطالعه و مقایسه با بررسی های گذشته، این بررسی نشان دهنده اثرهای وابسته به غلظت و فرم اکسید منگنز (Mn_2O_3) در هر دو فرم نانو و بالک بر رشد و فیزیولوژی گیاه خرفه است. نانوذرات اکسید منگنز در غلظت پایین تر (۱۰ میلی گرم در لیتر) می توانند به عنوان محرک های

زیستی عمل کنند و موجب تحریک جوانه زنی شوند، اما در غلظت های بالاتر اثرهای سمی دارند. نتایج مطالعه حاضر، یک عامل خارجی مؤثر و دارای پتانسیل امیدوارکننده ای را در مورد استفاده از نانوذرات اکسید منگنز در حیطه نانوتکنولوژی گیاهی در کشاورزی نشان می دهد. نویسندگان پیشنهاد می دهند در مطالعه های آینده غلظت نانوذرات اکسید منگنز در محدوده ۱۰-۵۰ میلی گرم در لیتر به کار رود و تأثیر زمان های مختلف پرایمینگ بذرها (۲، ۶، ۱۲ ساعت) بر جذب نانوذرات و بیان ژن های مرتبط با تنش اکسیداتیو نیز بررسی شود.

۶- ملاحظات اخلاقی

ندارد.

۷- تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال می باشد. نویسندگان از تمامی پرسنل آزمایشگاه تحقیقات زیست شناسی واقع در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال صمیمانه تشکر می نمایند.

۸- تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند تعارض منافی ندارند.

۹- سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان در طراحی پژوهش، جمع آوری و تحلیل داده ها و همچنین نگارش مقاله مشارکت داشته اند و نسخه نهایی مقاله را تأیید نموده اند.

۱۰- منابع

1. Naik VV, Karadge BA. Effect of NaCl and Na₂SO₄ salinities and light conditions on seed germination of purslane (*Portulaca oleracea* Linn.). *Journal of Plant Stress Physiology*. 2017;3:1-4.
2. Noori Akandi Z, Makarian H, Pirdashti H, Amerian MR, Baradaran Firozabadi M, Tajik Ghanbary MA. Effect of foliar spraying of iron nanoparticles on improvement of some physiological and morphological traits of purslane (*Portulaca oleracea*) under cadmium stress. *Journal of Plant Process and Function*. 2020;9(35):127-43.
3. Simonet BM, Valcárcel M. Monitoring nanoparticles in the environment. *Anal Bioanal Chem*. 2009;393(1):17-21.
4. Dkhil MA, Moniem AEA, Al-Quraishy S, Saleh RA. Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(9):1589-93.
5. Noori Akandi Z, Makarian H, Pirdashti H, Amerian MR, Baradaran Firozabadi M, Tajik Ghanbary MA. Effect of foliar spraying of iron nanoparticles on improvement of some physiological and morphological traits of purslane (*Portulaca oleracea*) under cadmium stress. *Plant Process and Function*. 2020;9(35):127-43.
6. Kumar A, Sreedharan S, Singh P, Achigan-Dako EG, Ramchiary N. Improvement of a traditional orphan food crop, *Portulaca oleracea* L. (Purslane) using genomics for sustainable food security and climate-resilient agriculture. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2021;5:711820.
7. Santiago-Saenz YO, Hernández-Fuentes AD, Monroy-Torres R, Cariño-Cortés R, Jiménez-Alvarado R. Physicochemical, nutritional and antioxidant characterization of three vegetables (*Amaranthus hybridus* L., *Chenopodium berlandieri* L., *Portulaca oleracea* L.) as potential sources of phytochemicals and bioactive compounds. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2018;12:2855-64.
8. Liu P, Huang R, Hu X, Jia Y, Li J, Luo J, et al. Physiological responses and proteomic changes reveal insights into *Stylosanthes* response to manganese toxicity. *BMC plant biology*. 2019;19:1-21.
9. Alejandro S, Höller S, Meier B, Peiter E. Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11.
10. Santandrea G, Pandolfini T, Bennici A. A physiological characterization of Mn-tolerant tobacco plants selected by in vitro culture. *Plant Science*. 2000;150(2):163-70.
11. El-Keblawy A, Al-Ansari F. Effects of site of origin, time of seed maturation, and seed age on germination behavior of *Portulaca oleracea* from the Old and New Worlds. *Canadian Journal of Botany*. 2000;78(3):279-87.
12. Ahmar S, Mahmood T, Fiaz S, Mora-Poblete F, Shafique MS, Chattha MS, et al. Advantage of nanotechnology-based genome editing system and its application in crop improvement. *Frontiers in Plant Science*. 2021;12:663849.
13. Salehi H, Cheheregani Rad A, Raza A, Djalovic I, Prasad PV. The comparative effects of manganese nanoparticles and their counterparts (bulk and ionic) in *Artemisia annua* plants via seed priming and foliar application. *Frontiers in Plant Science*. 2023;13:1098772.
14. Qasim M, Akhtar W, Haseeb M, Sajjad H, Rasheed M. Potential role of nanoparticles in plants protection. *Life Sci J*. 2022;19(2):31-8.
15. Kralova K, Jampilek J. Responses of medicinal and aromatic plants to engineered nanoparticles. *Applied Sciences*. 2021;11(4):1813.
16. Velázquez-Gamboa MC, Rodríguez-Hernández L, Abud-Archila M, Gutiérrez-Miceli FA, González-Mendoza D, Valdez-Salas B, et al. Agronomic Biofortification of *Stevia rebaudiana* with Zinc Oxide (ZnO) Phytonanoparticles and Antioxidant Compounds. *Sugar Tech*. 2021;23(2):453-60.
17. Ranal M, Santana D. How and why to measure the germination process? *Braz J Bot. Brazilian Journal of Botany*. 2006;29.
18. Lichtenthaler HK. [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*. 148: Elsevier; 1987. p. 350-82.
19. Adhikary S, Biswas B, Chakraborty D, Timsina J, Pal S, Chandra Tarafdar J, et al. Seed priming with selenium and zinc nanoparticles modifies germination, growth, and yield of direct-seeded rice (*Oryza sativa* L.). *Scientific Reports*. 2022;12(1):7103.

20. Ziari Z, Tajadod G, Arbabian S, Mirzai M. The Effect of Manganese Oxide Nanoparticles and Zinc Oxide Nanoparticles on Seed Germination of Medicinal Chicory Plant *Cichorium intybus* L. *Plant, Algae, and Environment*. 2024;8(2):1366-74.
21. Munawar M, Ikram M, Iqbal M, Raza MM, Habib S, Hammad G, et al. Effect of seed priming with zinc, boron and manganese on seedling health in carrot (*Daucus carota* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 2013;5(22):2697.
22. do Espirito Santo Pereira A, Caixeta Oliveira H, Fernandes Fraceto L, Santaella C. Nanotechnology potential in seed priming for sustainable agriculture. *Nanomaterials*. 2021;11(2):267.
23. Khan T, Ullah N, Khan MA, Nadhman A. Plant-based gold nanoparticles; a comprehensive review of the decade-long research on synthesis, mechanistic aspects and diverse applications. *Advances in colloid and interface science*. 2019;272:102017.
24. Xu X, Chen X, Shi J, Chen Y, Wu W, Perera A. Effects of Manganese on Uptake and Translocation of Nutrients in a Hyperaccumulator. *Journal of Plant Nutrition*. 2007;30(10):1737-51.
25. Marschner H. Marschner's mineral nutrition of higher plants: Academic press; 2011.
26. Tian H, Ghorbanpour M, Kariman K. Manganese oxide nanoparticle-induced changes in growth, redox reactions and elicitation of antioxidant metabolites in deadly nightshade (*Atropa belladonna* L.). *Industrial Crops and Products*. 2018;126:403-14.
27. Khodakovskaya MV, Lahiani MH. Nanoparticles and Plants: From Toxicity to Activation of Growth. *Handbook of Nanotoxicology, Nanomedicine and Stem Cell Use in Toxicology* 2014. p. 121-30.
28. Navarro E, Piccapietra F, Wagner B, Marconi F, Kaegi R, Odzak N, et al. Toxicity of Silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science & Technology*. 2008;42(23):8959-64.
29. Alejandro S, Höller S, Meier B, Peiter E. Manganese in plants: from acquisition to subcellular allocation. *Frontiers in plant science*. 2020;11:300.
30. Millaleo R, Reyes-Díaz M, Ivanov A, Mora M, Alberdi M. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. *Journal of soil science and plant nutrition*. 2010;10(4):470-81.
31. Pang C, Zhang W, Peng M, Zhao X, Shi R, Wu X, et al. Fine Mapping and Characterization of a Major Gene Responsible for Chlorophyll Biosynthesis in *Brassica napus* L. *Biomolecules*. 2022;12(3):402.
32. Hakala M, Rantamäki S, Puputti E-M, Tyystjärvi T, Tyystjärvi E. Photoinhibition of manganese enzymes: insights into the mechanism of photosystem II photoinhibition. *Journal of Experimental Botany*. 2006;57(8):1809-16.
33. Tezara W, Mitchell V, Driscoll S, Lawlor D. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature*. 1999;401(6756):914-7.
34. Gong X, Wang Y, Liu C, Wang S, Zhao X, Zhou M, et al. Effects of manganese deficiency on spectral characteristics and oxygen evolution in maize chloroplasts. *Biological trace element research*. 2010;136:372-82.
35. Netto AT, Campostrini E, de Oliveira JG, Bressan-Smith RE. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia horticultrae*. 2005;104(2):199-209.
36. Fecht-Christoffers MM, Braun H-P, Lemaitre-Guillier C, VanDorsselaer A, Horst WJ. Effect of manganese toxicity on the proteome of the leaf apoplast in cowpea. *Plant physiology*. 2003;133(4):1935-46.
37. Moghaddasi S, Fotovat A, Khoshgoftarmansh AH, Karimzadeh F, Khazaei HR, Khorassani R. Bioavailability of coated and uncoated ZnO nanoparticles to cucumber in soil with or without organic matter. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2017;144:543-51.