

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 منگنزِ 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 مرندی^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 به‌عنوان 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 میلی‌گرم 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 میلی‌گرم در لیتر) موجب کاهش معنادار ۳۰-۴۰٪ در طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک شدند. اما غلظت پایین نانوذرات اکسید منگنز (۱۰ میلی‌گرم 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 میلی‌گرم 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 میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان 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 به‌طور کلی نقش نانوذرات را به‌عنوان یکی از عوامل نوین در پرایمینگ بذر برجسته می‌کند که با استفاده هدفمند، به‌عنوان 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 یکساله و علفی که دارای ساقه و برگ‌های آبدار است (۱). این گیاه گرمادوست و چهارکربنه و مسیر فتوسنتزی آن از نوع C₄ است (۲). این گیاه را با نام (*Purslane*) در جهان می‌شناسند. جزء ده گیاه شناخته‌شده در جهان می‌باشد که برگ، ساقه و دانه آن مصرف دارویی و غذایی دارد. نتایج پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهد که این گیاه دارای ارزش تغذیه‌ای بالا نسبت به بیشتر گیاهانی است که در قالب سبزیجات مصرف می‌شوند و ویژگی دارویی بالای آن منجر شده که سازمان بهداشت جهانی به آن لقب (*Global Panacea*) دهد (۳). به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و ارزش غذایی بالا از خرفه به‌عنوان یک غذای مقوی در آینده یاد می‌شود، این گیاه توانایی رشد در شرایط مختلف آب‌وهوایی و خاک را دارد (۴). علاوه بر این، منبع غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ (اسید لینولنیک) و اسیدهای چرب امگا-۶ (اسید لینولئیک) می‌باشد و مصرف آن به‌علت غنی بودن از اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳ و وجود آنتی‌اکسیدان‌ها باعث خنثی شدن رادیکال‌های آزاد و تقویت سیستم‌ایمنی می‌گردد و موجب شده این گیاه به‌عنوان سبزی عالی در رژیم غذایی انسان باشد (۵). خرفه پراکندگی جهانی دارد و بومی مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری است (۶). براساس مطالعه‌های انجام‌شده، 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 مطالعه‌های متعدد *in-vitro* و *in-vivo* که بر روی خرفه انجام داده‌اند، به نتایج بسیار مهمی در مورد اثرهای دارویی این گیاه دست یافته‌اند، از جمله می‌توان به اثر ضدسرطانی، ضد زخم، ضدالتهای، ضدقارچی، ضدباکتری، محافظت‌کننده سیستم عصبی، گشاد کننده راه تنفسی و آرام‌بخشی 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 می‌کند، از جمله به فتوسنتز، تنفس، سنتز اسیدهای چرب و پروتئین‌ها می‌توان اشاره نمود (۸). استفاده از عناصر ضروری مانند منگنز جهت بهبود رشد و

افزایش عملکرد گیاه نقش کلیدی دارد (۹). کمبود منگنز در گیاهان می‌تواند باعث اختلال تغذیه‌ای، کاهش رشد و عملکرد در گیاه شود (۱۰). درحالی‌که میزان بالای این عنصر نیز در گیاهان باعث ایجاد سمیت و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها و لیپوپراکسیداسیون می‌شود (۱۱). فناوری نانو، یک فناوری روبه‌توسعه است که امروزه در جنبه‌های مختلف زندگی انسان وارد شده و مطالعه‌های متعدد انجام‌شده، جنبه‌های خوش‌بینانه‌ای از نانوذرات در علوم گیاهی و صنایع کشاورزی را نشان داده است (۱۲). نانوذرات به‌دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فرد مانند مساحت سطح بالا، نفوذپذیری و جذب بهتر مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته‌اند. اگر استفاده از نانوذرات در شرایط و زمان مناسب و با روش مؤثر انجام شود، می‌تواند عملکرد گیاه را به‌خصوص در مراحل اولیه رشد بهبود دهد (۱۳، ۱۴). تغییرهای ناشی از نانوذرات شدیداً تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله نوع نانوذرات، غلظت به‌کار رفته، نوع گونه گیاهی و روش به‌کار رفته است (۱۳). محققان در این حوزه درحال تلاش برای به‌دست آوردن یک دیدگاه جامع در مورد نحوه عملکرد نانوذرات هستند اما شواهد و نتایج به‌دست‌آمده برای رسیدن به یک دیدگاه مشترک و جامع بسیار پیچیده و دشوار است. به‌دلیل اینکه گیاهان دارای گونه‌های مختلفی هستند و بسیاری از این مطالعه‌ها بر روی محصولات کشاورزی انجام شده است (۲۰). بعضی از بررسی‌ها اثرهای مشابه نانوذرات با فرم‌های بالک و یونی آن‌ها را گزارش داده‌اند (۱۳) و بعضی دیگر از مطالعه‌ها، اثرهای متفاوت نانوذرات به‌دلیل ویژگی‌های خاصی که دارند را گزارش داده‌اند (۷، ۱۵). البته کاملاً پذیرفته‌نشده که عناصر در فرم نانوذرات بر روی گیاهان تأثیر بسیار مطلوب‌تری دارند. به‌منظور دستیابی به بازدهی بیشتر توسط نانوذرات، یافتن اینکه چه نوعی از نانوذرات و با چه غلظت‌هایی موجب بهبود بهره‌وری گیاه می‌شود بسیار حیاتی و مهم است. مطالعه‌های بسیاری در مورد تأثیر نانوذرات بر روی گیاهان زراعی انجام شده است، اما در مورد تأثیر نانوذرات بر روی گیاهان دارویی مطالعه‌های کمی انجام شده است. گیاهان دارویی و فناوری نانو بسیار جنبه کاربردی دارند. گیاهان دارویی را به‌دلیل منابع سرشار از مواد اولیه در صنعت داروسازی در نظر

سوسپانسیون‌های مختلف نانوذرات و بالک اکسید منگنز و آب‌مقطر قرار گرفتند، سپس با آب‌مقطر شست‌وشو داده‌شده و تعداد بیست بذر بر روی کاغذ صافی واتمن مرطوب به ظروف پتری‌دیش استریل منتقل شد و به مدت هفت روز در قفسه نوری تحت شرایط نوری کنترل‌شده، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی (با استفاده از لامپ‌های ۳۶ وات فلورسنت و در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از نمونه‌ها) در دمای اتاق 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. تعداد بذرهای جوانه‌زده روزانه شمارش و ثبت گردیدند. درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک اندازه‌گیری شدند و سنجش محتوای کلروفیل شصت روز بعد از تیماردهی انجام شد. این سنجش‌ها زمانی انجام شده‌اند که گیاه در فاز رویشی قرار داشته است. گروه‌بندی در پژوهش حاضر به‌صورت زیر انجام شد (جدول ۱).

جدول ۱- گروه‌بندی 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 جوانه‌زنی

بذرهای هنگامی جوانه‌زده در نظر گرفته شدند که ریشه‌چه‌های قابل مشاهده از پوسته بذرهای خارج شده بودند. از رابطه زیر برای محاسبه درصد جوانه‌زنی استفاده شد:

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

GP: درصد جوانه‌زنی

Ni: تعداد بذر جوانه‌زده در روز آخر شمارش

N: تعداد کل بذرهای

می‌گیرند. این گیاهان نباید در محیط‌های آلوده رشد داده شوند و همچنین باید مواد شیمیایی برای تحریک و تقویت رشد آن‌ها به‌میزان حداقل باشد. اخیراً استفاده از نانوذرات مورد توجه محققان است زیرا می‌توان با میزان کمتری از ماده موردنظر به نتایج مشابه با هم‌تایان آن در فرم بالک دست یافت (۱۳، ۱۶). این مطالعه با هدف مقایسه اثر نانوذرات اکسید منگنز و اکسید منگنز بالک بر روی جوانه‌زنی بذرهای و تکوین دانه‌رست‌ها و محتوای کلروفیلی گیاه خرفه طراحی شده است. نتایج این پژوهش می‌تواند کمک شایانی به درک بهتری از اثرهای مثبت و منفی نانوذرات اکسید منگنز بر روی رشد اولیه و تغذیه گیاه خرفه داشته باشد.

۲- مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه خرفه (*Portulaca Oleracea*) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذرهای طبق پروتکل ISTA (انجمن بین‌المللی آزمون بذر) از نظر درصد خلوص ($\leq 99\%$) و درصد قوه‌نامه ($\leq 99\%$) ارزیابی شدند. ابتدا فرایند استریل‌سازی بذرهای انجام شد؛ بذرهای در هیپوکلریت سدیم ۳ درصد همراه با دو قطره مایع شوینده به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند و سپس چندبار با آب مقطر شست‌وشو 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 به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی SEM و میکروسکوپ الکترونی TEM بررسی شد؛ در بررسی‌های انجام‌شده 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 زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی تهران شمال انجام شد. بذرهای استریل‌شده خرفه تحت تیمار با سه غلظت نانوذرات اکسید منگنز Mn₂O₃ NPs و اکسید منگنز بالک Bulk Mn₂O₃ (۰، ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ mgL⁻¹) قرار گرفتند. بذرهای به مدت دو ساعت بر روی شیکر چرخشی در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد 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 nام

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 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. با این 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).

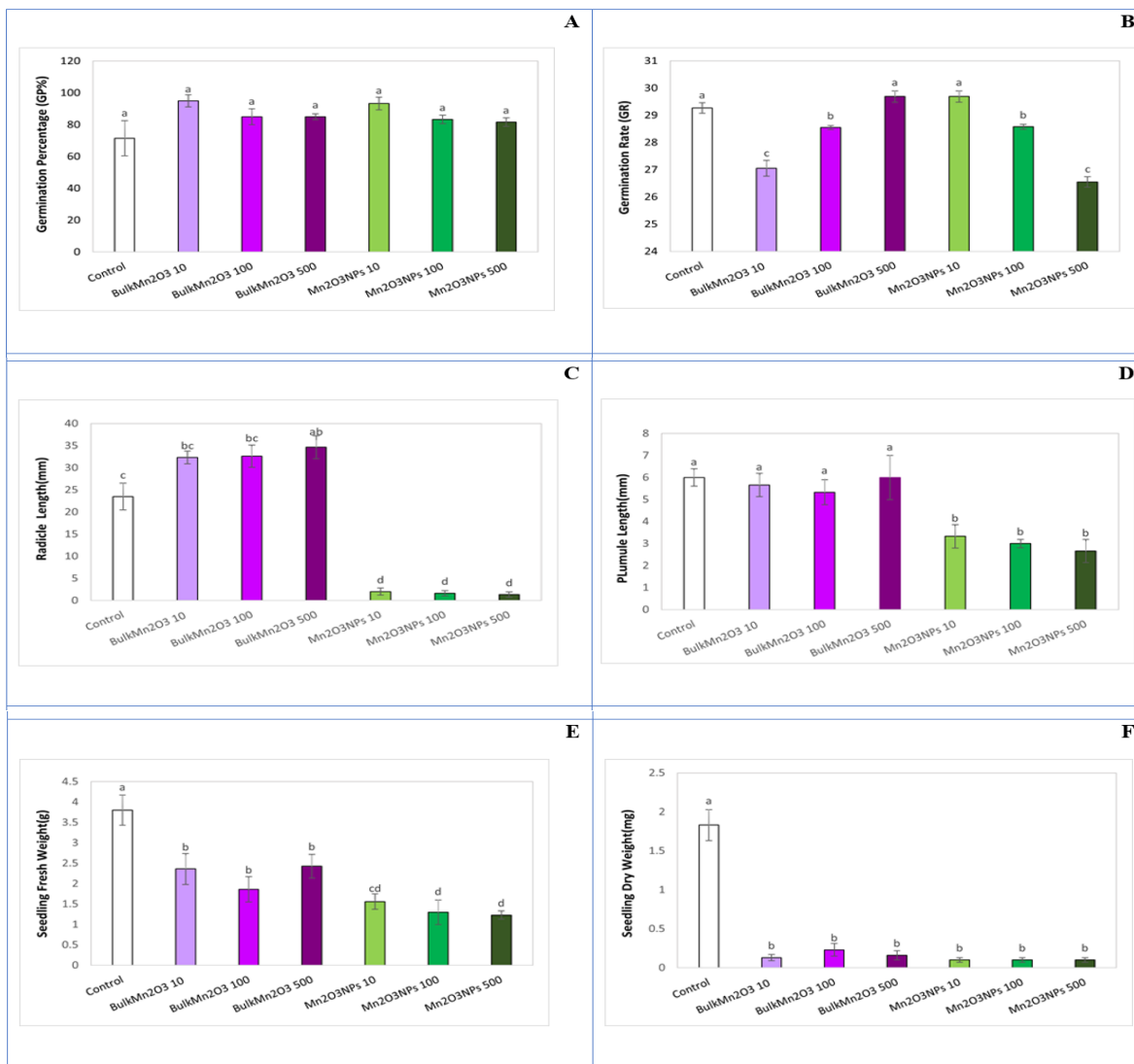
۳-۲- تأثیر تیمارها بر طول ریشه چه و ساقه چه

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 تفاوتها (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



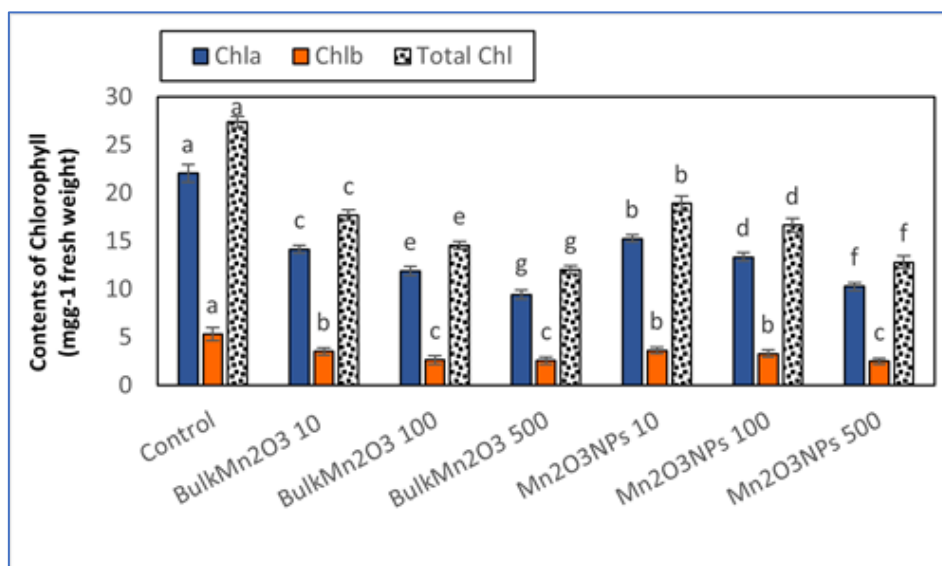
شکل ۱- نمودار شاخص‌های رشد (A: درصد جوانه‌زنی)، (B: سرعت جوانه‌زنی)، (C: طول ریشه‌چه)، (D: طول ساقه‌چه)، (E: وزن تر گیاهچه)، (F: وزن خشک گیاهچه). حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده این است که تفاوت از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنادار است و حروف مشابه نشان‌دهنده این است که تفاوت آماری معناداری وجود ندارد.

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، 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). نتایج ($P \leq 0.05$)



نمودار ۱- نمودار رنگی‌های 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 غلظت‌های 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

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 پژوهش‌های انجام شده مشخص شد، جوانه زنی ناهموار بذر با کاهش بهره‌وری 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 غلظت‌های مختلف تأثیرهای متفاوتی بر شاخص‌های جوانه زنی داشت. اگرچه درصد جوانه زنی در تمامی تیمارها نسبت به گروه

شاهد افزایش جزئی 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 غلظت‌های 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 غلظت‌های 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

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 می‌شود و رشد گیاه کاهش می‌یابد (۲۵).

این نتایج با مطالعه‌های Tian و همکاران، Khodakovskaya و همکاران همسو است، آن‌ها گزارش داده‌اند نانوذرات در غلظت‌های پایین‌تر می‌توانند اثرهای مفیدی بر روی گیاهان داشته باشند (۲۶، ۲۷). اثرهای مفید غلظت‌های پایین نانوذرات منگنز ممکن است به علت نقش منگنز در فعالیت بعضی از آنزیم‌ها و فرایندهای متابولیکی در گیاه باشد (۱۳). در مطالعه حاضر، تیماردهی با اکسید منگنز با کمبود موجب افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و کاهش وزن تر و خشک گیاهچه‌های خرفه شد که این نتایج نشان می‌دهند، اکسید منگنز در فرم با کمبود مقایسه با فرم نانو دارای سمیت کمتری بر روی این گیاه است و حتی در غلظت‌های بالاتر نیز می‌تواند رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه را تحریک کند. این پدیده احتمالاً به دلیل اندازه بزرگتر ذرات منگنز در فرم با کمبود است که باعث شده نفوذ، جذب و انتقال آن‌ها در گیاه به صورت آهسته‌تر و کنترل‌شده‌تر اتفاق بیوفتد و در نتیجه، تنش اکسیداتیو در گیاه کمتر ایجاد شده و باعث بهبود رشد گیاه می‌شود (۲۸). در غلظت‌های بالای اکسید منگنز با کمبود اختلال در جذب آب و مواد مغذی رخ می‌دهد که می‌تواند به دلیل تجمع منگنز در بافت‌های گیاهی و ایجاد سمیت در گیاه باشد. در مطالعه‌ای که Alejandro و همکاران در مورد تأثیر فرم‌های 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 غلظت‌های بالا موجب اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌شود (۲۹). در مطالعه دیگری که Millaleo و همکاران انجام دادند، بیان کردند که غلظت‌های بالای منگنز باعث کاهش وزن خشک در گیاهان می‌شود که به دلیل اختلال در جذب عناصر مغذی است (۳۰). کاهش معنادار رنگیزه‌های کلروفیلی a، b و کلروفیل کل در تمامی گروه‌های تیمار شده با نانوذرات و با کمبود اکسید منگنز در مقایسه با گروه کنترل، نشان‌دهنده اختلال در بیوسنتز کلروفیل است. این کاهش دلایل مختلفی می‌تواند داشته باشد، ممکن است منگنز از طریق آسیب به غشای سلولی وارد سلول‌های گیاهی شده و سپس جایگزین منیزیم در مرکز فعال کلروفیل شده و عملکرد آن را مختل کند. علاوه بر این، تنش اکسیداتیو باعث

آنزیم‌های مداخله‌گر در فرایند جوانه‌زنی و یا به علت کاهش جذب آب توسط بذرها باشد. در طی مطالعه‌ای که Munawar و همکارانش به بررسی پرایمینگ بذر هویج با با کمبود منگنز پرداختند، آن‌ها مشاهده کردند که فرم با کمبود منگنز می‌تواند باعث کاهش جوانه‌زنی بذرها و یا به تعویق افتادن جوانه‌زنی 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 میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات اکسید منگنز باعث تحریک جوانه‌زنی و رشد شده است اما غلظت‌های بالاتر موجب تأخیر در جوانه‌زنی و مهار رشد شده است (۱۳). طی چند تحقیق مختلفی که do Espirito Santo Pereira و همکاران، Nile و همکاران انجام داده‌اند، گزارش کردند که تیماردهی بذر با نانوذرات در غلظت‌های پایین به طور معنی‌داری جوانه‌زنی را در مقایسه با فرم یونی و شاهد بهبود می‌بخشد که این فرایند از طریق تسریع در جذب آب و مواد مغذی اتفاق می‌افتد که با ایجاد منافذی در پوسته بذر انجام می‌شود (۲۲). یافته‌های 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 غلظت‌های پایین‌تر توانایی عملکرد به عنوان محرک‌های زیستی را دارند، اما در غلظت‌های بالا، موجب القای تنش اکسیداتیو و اختلال در رشد گیاه می‌شوند. از طرفی دیگر، فرم با کمبود اکسید منگنز سمیت کمتری را نشان داد، حتی در غلظت‌های بالاتر توانایی تحریک رشد گیاه را دارد. این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل اندازه بزرگتر ذرات و رهاسازی آهسته‌تر یون‌های منگنز در فرم با کمبود باشد. براساس نتایج، بین غلظت نانوذرات اکسید منگنز و پارامترهای رشد اولیه گیاه رابطه معکوس وجود دارد. کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک گیاهچه در غلظت‌های بالای نانوذرات اکسید منگنز (۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد که این اختلال در رشد ممکن است به دلیل تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و اختلال در تقسیم سلولی باشد (۱۳). طبق مطالعه‌های انجام‌شده، نانوذرات می‌توانند با ایجاد تنش اکسیداتیو، باعث آسیب به DNA و پروتئین‌ها شوند و در نهایت موجب اختلال در رشد و تکامل گیاه شوند (۲۳). همچنین جذب بیش از حد یون‌های Mn^{2+} از نانوذرات اکسید منگنز می‌تواند

زیستی عمل کنند و موجب تحریک جوانه زنی شوند، اما در غلظت‌های بالاتر اثرهای سمی دارند. نتایج مطالعه حاضر، یک عامل خارجی مؤثر و دارای پتانسیل امیدوارکننده‌ای را در مورد استفاده از نانوذرات اکسید منگنز در محیطه نانوتکنولوژی گیاهی در کشاورزی نشان می‌دهد. نویسندگان پیشنهاد می‌دهند در مطالعه‌های آینده غلظت نانوذرات اکسید منگنز در محدوده ۱۰-۵۰ میلی‌گرم در لیتر به کار رود و تأثیر زمان‌های مختلف پرایمینگ بذرها (۲، ۶، ۱۲ ساعت) بر جذب نانوذرات و بیان ژن‌های 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 می‌باشد. نویسندگان از تمامی پرسنل آزمایشگاه تحقیقات زیست‌شناسی واقع در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال صمیمانه تشکر می‌نمایند.

۸- تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند تعارض منافی ندارند.

۹- سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان در طراحی پژوهش، جمع‌آوری و تحلیل داده‌ها و همچنین نگارش مقاله مشارکت داشته‌اند و نسخه نهایی مقاله را تأیید نموده‌اند.

فعال‌سازی آنزیم کلروفیلاز شده و این آنزیم موجب تجزیه کلروفیل می‌شود (۳۱).

همچنین منگنز در گیاهان به‌عنوان 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 می‌افتد و در نتیجه فرایند فتوسنتز کاهش می‌یابد و علت اصلی کاهش پارامترهای مورفولوژیکی و کاهش بهره‌وری در گیاه است (۳۴). $Netto$ و همکاران علت کاهش کلروفیل در برگ‌های قهوه تحت تنش را آسیب دیدن غشای کلروپلاست و تأثیر مخرب بر واکنش‌های نوری، انتقال الکترون و افزایش تولید اکسیژن فعال می‌داند (۳۵). به‌طور کلی، هر دو فرم نانو و بالک اکسید منگنز موجب کاهش محتوای کلروفیل شدند، اما با توجه به مطالعه‌های انجام‌شده در این زمینه، مکانیسم عمل آن‌ها یکسان نیست. نانوذرات اکسید منگنز به دلیل نسبت مساحت سطح به حجم بالا، نفوذپذیری بیشتر، واکنش‌پذیری بیشتر و آزادسازی سریع‌تر یون‌های Mn^{2+} را سریع‌تر آزادسازی می‌کنند. در مورد فرم بالک اکسید منگنز، یون‌های Mn^{2+} به آرامی آزاد می‌شوند و منجر به تنش اکسیداتیو طولانی‌تر، تخریب آرام و تدریجی در کلروپلاست‌های گیاهان می‌شود (۳۶). نتایجی که از بررسی و آنالیز پارامترهای مختلف در این مطالعه به دست آمد، اثبات‌کننده این فرضیه است که عملکرد گیاهان در برابر نانوذرات، متفاوت از ترکیب‌های بالک آن است که این تفاوت در پاسخ‌دهی به دلیل ویژگی‌های ساختاری و شیمیایی متفاوت است. تفاوت در ساختار فیزیکی و شیمیایی نانوذرات با ترکیب‌های بالک آن‌ها بر روی میزان جذب و مکانیسم سیگنالینگ تأثیرگذار است. همچنین در مطالعه‌های اخیر، نانوذرات به دلیل ساختار ویژه‌ای که دارند از نظر زیستی نسبت به ترکیب‌های بالک فعال‌تر هستند (۳۷).

۵- نتیجه‌گیری

در انتها با در نظر گرفتن تمام نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه و مقایسه با بررسی‌های گذشته، این بررسی نشان‌دهنده 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 پایین‌تر (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) می‌توانند به‌عنوان محرک‌های

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 horticulturae*. 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, Khoshgoftarmanesh 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.