Eco–phytochemical
Journal of Medicinal Plants
Print ISSN: 2322-3235
Online ISSN: 2783-4697
Islamic Azad University Gorgan Branch
Iranian Society of Medical Plants

In-vitro effect of iron sulfate, zinc sulfate and copper sulfate treatments on the morphophytochemical characteristics of *Chamaecostus cuspidatus* Nak

Hajar Motamedi Sharak[1], Mohsen Sanikhani[1*], Azizollah Kheiry[1], Nayer Mohammadkhani[2]

[1] Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, Email: sani@znu.ac.ir
[2] Shahid Bakeri Higher Education Center of Miandoab, University of Urmia, Urmia, Iran

Article type:
Research article

Article history
Received: 10-07-2024
Revised: 21-08-2024
Accepted: 06-09-2024

Keywords
Chlorophyll
Flavonoid
Micronutrient
Tissue Culture
Total Phenolics

Abstract

To investigate the effects of varying concentrations of iron sulfate, zinc sulfate, and copper sulfate micronutrients in Murashige and Skoog (MS) medium on the morphological and phytochemical characteristics of the insulin plant, an experiment was conducted based on a completely randomized design in the tissue culture laboratory of the Faculty of Agriculture at the University of Zanjan. Nodal explants were cultured for 12 weeks in MS medium containing 1 mg/l^{-1} of benzyl adenine and 0.6 mg/l^{-1} of naphthalene acetic acid. After the initial 12 weeks, the explants were treated for an additional 4 weeks with different concentrations of iron sulfate (0, 27.8, 41.7, 55.6 mg/l $^{-1}$), zinc sulfate (0, 8.6, 17.2, 25.8 mg/l $^{-1}$), and copper sulfate (0, 0.025, 0.05, 0.1 mg/l $^{-1}$). Following this period, growth and phytochemical indices were evaluated. The experimental results indicated that the treatments significantly affected the studied traits at the 1% probability level. According to the average comparisons, copper sulfate at a concentration of 0.1 mg/l $^{-1}$ produced the highest number of leaves (7.33), shoot height (9.20 cm), root length (14.67 cm), fresh weight (26.1 g), and shoot dry weight (180 mg), along with a fresh weight of 0.58 g and root dry weight of 146.67 mg. Furthermore, a significant increase in chlorophyll a and total chlorophyll was observed with zinc sulfate at a concentration of 25.8 mg/l^{-1} and copper sulfate at 0.1 mg/l^{-1}. The highest total carotenoid content was recorded at 17.2 mg/l of zinc sulfate and 0.1 mg/l of copper sulfate. In conclusion, the concentration of 0.1 mg/l^{-1} of copper sulfate had the greatest effect on morphological traits and photosynthetic pigments, and the levels of 17.2 mg/l^{-1} of zinc sulfate and 0.05 mg/l $^{-1}$ of copper sulfate had a significant increase in total phenolics content and antioxidant activity. The findings of this research suggest that optimal concentrations of iron, zinc, and copper sulfates can effectively enhance growth and productivity in the insulin medicinal plant.

Cite this article as: Motamedi Sharak, H., Sanikhani, M., Kheiry, A., Mohammadkhani, N. (2024). *In-vitro* effect of iron sulfate, zinc sulfate and copper sulfate treatments on the morphophytochemical characteristics of *Chamaecostus cuspidatus* Nak. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.*, 12(3): 95-108

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی
شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۳۲۳۵
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۹۷
دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
انجمن گیاهان دارویی ایران ثبت ۱۸۹۶۳

اثر درون شیشه‌ای تیمارهای سولفات آهن، سولفات روی و سولفات مس بر صفات مورفوفیتوشیمیایی گیاه دارویی انسولین (*Chamaecostus cuspidatus* Nak)

هاجر معتمدی شارک[۱]، محسن ثانی‌خانی[۱*]، عزیزاله خیری[۱]، نیر محمدخانی[۲]

[۱] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران، رایانامه: sani@znu.ac.ir

[۲] گروه گیاهان دارویی و معطر، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت:۱۴۰۳/۵/۲۳
تاریخ بازنگری:۱۴۰۳/۰۶/۳۱
تاریخ پذیرش:۱۴۰۳/۰۷/۰۲

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات تغییر غلظت عناصر ریزمغذی سولفات آهن، روی و مس محیط کشت پایه موراشیگ و اسکوگ (MS) بر فاکتورهای مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه انسولین، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی در آزمایشگاه کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام شد. ریزنمونه‌های گره به مدت ۱۲ هفته در محیط کشت MS با غلظت هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر نفتالین استیک اسید رشد کردند. سپس، ریزنمونه‌ها به مدت ٤ هفته تحت تیمار سطوح مختلف سولفات آهن (۰، ۲۷/۸، ٤۱/۷، ۵۵/٦ میلی‌گرم در لیتر)، سولفات روی (۰، ۸/٦، ۱۷/۲، ۲۵/۸ میلی‌گرم در لیتر) و سولفات مس (۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) قرار داده شدند. پس از ٤ هفته شاخص‌های رشدی و فیتوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد تأثیر تیمارها بر روی صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، سولفات مس با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر باعث بیشترین تعداد برگ (۷/۳۳ عدد)، ارتفاع اندام هوایی (۹/۲۰ سانتی‌متر)، طول ریشه (۱٤/٦۷ سانتی‌متر) وزن تر (۱/۲٦ گرم) و خشک اندام هوایی (۱۸۰ میلی‌گرم)، وزن تر (۰/۵۸ گرم) و خشک ریشه (۱٤٦/٦۷ میلی‌گرم) شد. افزایش قابل توجه کلروفیل a و کل در سولفات روی با غلظت ۲۵/۸ میلی‌گرم در لیتر و سولفات مس با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. بیشترین کاروتنوئید کل در غلظت ۱۷/۲ سولفات روی و غلظت ۰/۱ میلی‌گرم سولفات مس حاصل شد. در مجموع غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس بیشترین تاثیر در صفات مورفولوژیکی و رنگدانه‌های فتوسنتزی داشت و سطوح ۱۷/۲ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی و نیز ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس افزایش قابل توجه‌ای در مقادیر ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدان داشتند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از مقادیر بهینه سولفات‌های آهن، روی و مس می‌تواند به‌عنوان یک روش کاربردی در بهبود رشد و افزایش بهره‌وری گیاه دارویی انسولین مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی:
ریزمغذی
فلاونوئید
ترکیبات فنلی کل
کشت بافت
کلروفیل

استناد: معتمدی شارک، هاجر؛ ثانی‌خانی، محسن؛ خیری، عزیزاله؛ محمدخانی، نیر. (۱٤۰۳). اثر درون شیشه‌ای تیمارهای سولفات آهن، سولفات روی و سولفات مس بر صفات مورفوفیتوشیمیایی گیاه دارویی انسولین (*Chamaecostus cuspidatus* Nak). *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۲ (۳)، ۱۰۸-۹۵.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

گیاه دارویی انسولین با نام علمی *Chamaecostus cuspidatus*، معمولاً به نام زنجبیل مارپیچ شناخته می‌شود و به خانواده کاستاسه (Costaceae) تعلق دارد. گیاه انسولین یک راهکار جادویی برای درمان دیابت شناخته شده است چرا که برگ آن به تولید انسولین در بدن انسان کمک می‌کند (Kaur and Mannan, 2021). به همین دلیل به‌عنوان "گیاه انسولین" شناخته می‌شود. گونه‌های این تیره به‌طور گسترده در مناطق گرمسیری جهان پراکنش دارند. این گیاه در آمریکای جنوبی و مرکزی رشد می‌کند و به دلیل ارزش دارویی آن، در هند نیز محبوب شده است و به‌عنوان یک داروی مفید برای درمان دیابت به‌طور گسترده قبول و استفاده می‌شود (Jyothi et al., 2015). انسولین یک گیاه دائمی ریزومی است. ویژگی‌های چندمنظوره این گیاه به دلیل ترکیبات فیتوشیمیایی فراوان در آن، از جمله کربوهیدرات‌ها، ترپنوئیدها، پروتئین‌ها، آلکالوئیدها، تانن‌ها و فلاونوئیدها گزارش شده است که کوئرستین فلاونوئید اصلی این گیاه معرفی شده است (Hegde et al., 2014).

امروزه ابزارهای بیوتکنولوژیکی امکان اصلاح ژنتیکی سلول‌ها، بافت‌ها، اندام‌ها یا گیاهان کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی را به عنوان جایگزینی برای برنامه‌های اصلاح نباتات و تولید متابولیت‌های ثانویه می‌دهند (Alvarez, 2014). تکنیک‌های کشت بافت برای به دست آوردن ترکیبات فعال زیستی امیدوارکننده به نظر می‌رسد، زیرا عملکرد زیست توده و تولید فیتوشیمیایی بالایی را به ارمغان می‌آورند (Miralpeix et al., 2013). همچنین در تولید تجاری متابولیت‌های ثانویه بسیار مؤثر می‌باشد (Alvarez, 2014). بافت‌ها و اندام‌های گیاهی در شرایط درون شیشه روی محیط‌های مصنوعی رشد می‌کنند که مواد مغذی لازم برای رشد گیاه فراهم می‌گردد. موفقیت کشت بافت گیاهی به‌عنوان وسیله‌ای برای تکثیر گیاه بسیار تحت تأثیر ماهیت محیط کشت مورد استفاده قرار می‌گیرد. مشخص شده است که چندین عنصرتحت عنوان عناصر کم مصرف نقش مهمی در باززایی بافت‌های گیاهی ایفا می‌کنند. مس به‌عنوان یک عنصر ریزمغذی ضروری برای رشد گیاه، برای چندین عملکرد فیزیولوژیکی ازجمله فتوسنتز، تنفس، پاسخ به تنش اکسیداتیو، انتقال الکترون، سیگنال‌دهی هورمون گیاهی، بیوسنتز دیواره سلولی و لیگنیفیکاسیون مورد نیاز است (Broadley et al., 2012). آهن و روی عناصر کم مصرف ضروری برای همه موجودات زنده ازجمله گیاهان هستند و مسئول بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیکی می‌باشند. اهمیت بیولوژیکی آهن نتیجه تغییرات برگشت‌پذیر حالت اکسیداسیون آن در طیف وسیعی از پتانسیل‌های اکسیداسیون و احیاء است. آهن جزء فعال تعدادی آنزیم موثر بر فرایندهای بیولوژیکی مختلف ازجمله تنفس و فتوسنتز می‌باشد (Bityutskii et al., 2014). عنصر روی جزء مهم بسیاری از آنزیم‌ها و تثبیت‌کننده ساختاری پروتئین‌ها و غشاهای گیاهی است (Aravind and Prassad, 2004). طی بررسی اثر سولفات مس بر رشد گیاه ریحان در شرایط درون شیشه‌ای، تعداد برگ، ارتفاع اندام هوایی، طول ریشه و وزن خشک اندام هوایی به‌طور مثبت تحت تاثیر این عنصر قرار گرفته و کاربرد ۲۵ میکرومولار سولفات مس مناسب‌ترین مقدار برای رشد گیاه گزارش شده است (Trettel et al., 2018). همچنین در پژوهش دیگر بر روی گیاه جینسینگ هندی (*Withania somnifera* L. (Dunal)) در محیط کشت MS، افزایش غلظت سولفات مس و روی باعث افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید کل و همچنین

حداکثر تعداد شاخه و طول ساقه مشاهده شده است (Fatima et al., 2011). محققان نشان دادند که سولفات روی و سولفات مس در شرایط درون شیشه به‌طور قابل توجهی شاخه‌های بیشتری در هر ریزنمونه تولید کرده است (Verma et al., 2016; Alam et al., 2020). ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه انسولین از جمله کوئرستین خواص دارویی ارزشمندی دارند، استفاده از تکنیک کشت بافت می‌تواند روش موثری برای تولید انبوه این گیاه باشد. با توجه به اهمیت اقتصادی و زیست محیطی این موضوع، ایجاد شرایط بهینه و مقرون به‌صرفه برای تولید این گیاه حائز اهمیت است. بنابراین، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی انسولین با استفاده از غلظت‌های مختلف سولفات آهن، سولفات روی و سولفات مس در محیط کشت پایه MS با سطح استاندارد سایر مواد مغذی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ریزنمونه گیاهی: گیاه انسولین به شکل گلدانی از گلخانه محل پرورش این گیاه واقع در کرج تهیه و به آزمایشگاه کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان منتقل گردید (شکل ۱- الف). ریزنمونه گره برای تولید گیاهچه مورد استفاده قرار گرفت. جهت ضدعفونی، بعد از جدا کردن برگ‌ها از ساقه ابتدا نمونه‌ها با جریان آب شهری به مدت ۲۰ دقیقه شسته شدند. سپس ۳۰ ثانیه در الکل ۷۰ درصد قرار گرفته و پس از شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۱/۷ درصد ضدعفونی و در نهایت سه بار با آب مقطر استریل زیر هود لامینار شسته شدند. ریزنمونه‌ها بعد از ضدعفونی در محیط کشت جامد MS (Murashige and Skoog, 1962) با غلظت هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین (BA) و ۰/٦ میلی‌گرم نفتالین استیک اسید (NAA)، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ٤ گرم در لیتر آگار و اسیدیته ۵/۸ کشت شدند (شکل ۱- ب). محیط کشت‌های حاوی ریزنمونه کشت شده در اتاقک رشد با شرایط دمای ۲۵ درجه سلسیوس در روز و ۲۰ درجه سلسیوس در شب، با دوره نوری ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به مدت ۱۲ هفته قبل از مطالعه جهت تولید گیاهچه نگهداری شدند (شکل ۱- ج).

(الف) (A) (ب) (B) (ج) (C)

شکل ۱. الف: گیاه دارویی انسولین، ب: ریزنمونه گره کشت شده در محیط کشت MS، ج: گیاهچه‌های مورد استفاده جهت اعمال تیمار

طرح آزمایشی و معرفی تیمارها: تیمارهای مورد بررسی در این آزمایش شامل سولفات آهن (۰، ۲۷/۸، ۴۱/۷، ۵۵/۶ میلی‌گرم در لیتر)، سولفات روی (۰، ۸/۶، ۱۷/۲، ۲۵/۸ میلی‌گرم در لیتر) و سولفات مس (۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) می‌باشد. اعمال تیمارها به‌صورت اضافه کردن محیط کشت پایه بدون آگار حاوی تیمارهای مختلف سولفات آهن، روی و مس به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر به هر شیشه انجام گرفت. ریزنمونه‌های تیمار شده در اتاقک رشد قرار داده شدند و بعد از گذشت ٤ هفته صفاتی از قبیل تعداد برگ، قطر ساقه، قطر ریشه، ارتفاع اندام هوایی، طول ریشه، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و رنگیزه‌های فتوسنتزی ازجمله کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید کل، محتوای فنل کل، محتوای فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدان کل اندازه‌گیری شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی بر روی ریزنمونه گره با سه تکرار و پنج ریزنمونه در هر تکرار انجام گردید.

تعیین مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ: اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی به روش Lichtenthaler و Wellbum (۱۹۸۳) اندازه‌گیری شد. رنگیزه‌های بافت تر برگ به مقدار ۰/۵ گرم نمونه گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد استخراج و جذب نمونه‌ها در طول‌موج‌های ٦٦٣، ٦٤٦ و ٤٧٠ نانومتر قرائت شد. میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) طبق معادلات زیر محاسبه گردید:

$$\text{کلروفیل a} = 12.25\ A_{663} - 2.798\ A_{646}$$

$$\text{کلروفیل b} = 21.50\ A_{646} - 5.1\ A_{663}$$

$$\text{کلروفیل کل} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

$$\text{کاروتنوئید کل} = (1000\ A_{470} - 1.82_{\text{Chl a}} - 85.02_{\text{Chl b}})/198$$

عصاره‌گیری نمونه گیاهی: به‌منظور تهیه عصاره متانولی جهت اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدان کل، ۵۰ میلی‌گرم نمونه خشک برگ وزن کرده و ٤ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه گردید و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٤ درجه نگهداری شد. سپس نمونه‌ها ۱۰ دقیقه در ٤۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و روشناور برای آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین مقادیر محتوای ترکیبات فنلی برگ: میزان فنل کل با استفاده از روش فولین سیوکالتو مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور ۳۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۱/۷ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵۰۰ میکرولیتر فولین (۱۰ درصد) اضافه گردید، پس از گذشت ۵ دقیقه ۵۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷ درصد به محلول اضافه و نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٧٦٥ نانومتر قرائت شد. در این روش مقدار کل ترکیبات فنلی بر اساس یک ترکیب فنلی انتخاب شده به‌عنوان استاندارد (گالیک اسید) اندازه‌گیری و نتایج به‌صورت میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌گرم وزن خشک تعیین شد (Ordone et al., 2008).

تعیین مقادیر فلاونوئید کل برگ: میزان فلاونوئیدها بر اساس روش رنگ‌سنجی ارزیابی شد. بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۲/۷ میلی‌لیتر آب مقطر، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم یک مولار و ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد مخلوط و نمونه‌ها به مدت نیم ساعت در تاریکی قرار داده شدند. جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ٤١٥ نانومتر قرائت و میزان فلاونوئید کل بر اساس معادله استاندارد کوئرستین به‌صورت میلی‌گرم کوئرستین بر میلی‌گرم وزن خشک تعیین گردید (Chang et al., 2002).

تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان کل برگ: اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط مهار رادیکال‌های آزاد با استفاده از DPPH (۲،۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل) انجام شد. ابتدا ۶۰ میکرولیتر عصاره متانولی به لوله آزمایش ریخته سپس ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱/۵ میلی‌لیتر DPPH ۰/۴ میلی‌مولار به محلول اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شدند. سپس در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند. درصد مهار رادیکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Akowuah et al., 2005):

درصد مهار رادیکال‌های آزاد =[(A_{blank} – A_{sample})/A_{blank}] × 100

تجزیه و تحلیل آماری: تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ صورت گرفت. مقایسه میانگین صفات به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

صفات مورفولوژیکی: با توجه به جدول تجزیه واریانس، غلظت‌های مختلف سولفات آهن، سولفات روی و سولفات مس تأثیر معنی‌داری بر صفات مورفولوژیکی مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد نشان داد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان می‌دهد بیشترین تعداد برگ به ترتیب در تیمارهای با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس، ۱۷/۲ و ۲۵/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی و شاهد (MS) بود. سولفات مس بیشترین اثر را در ارتفاع بوته نشان داد به‌طوری‌که بالاترین ارتفاع با ۹/۲۰ سانتی‌متر در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر و کمترین ارتفاع (۴/۸۰ سانتی‌متر) مربوط به عدم کاربرد سولفات مس و روی در محیط کشت حاصل شد (جدول ۲). طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، اثر غلظت‌های مختلف عناصر مورد بررسی بر طول ریشه نشان می‌دهد بیشترین طول ریشه (۱۴/۶۷ سانتی‌متر) در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس به‌دست آمده است (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین مربوط به وزن تر و خشک اندام هوایی نشان می‌دهد غلظت بالای سولفات مس و روی بیشترین وزن تر اندام هوایی را داشتند به‌طوری که بیشترین وزن تر (۱/۲۶ گرم) در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس و کمترین میزان وزن تر اندام هوایی (۰/۵۶ گرم) در تیمار عدم کاربرد سولفات مس حاصل شد (جدول ۲). در رابطه با داده‌های وزن تر و خشک ریشه در گیاه، نتایج نشان می‌دهد این صفات تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده قرار گرفته‌اند به‌طوری‌که بیشترین مقدار وزن تر ریشه (۰/۵۸ گرم) و وزن خشک ریشه (۱۴۶/۶۷ میلی‌گرم) در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس مشاهده شد. همچنین بیشترین وزن ریشه پس از سولفات مس در تیمار سولفات روی حاصل گردید و کمترین مقدار در عدم کاربرد این دو عنصر ریزمغذی می‌باشد (جدول ۲). طبق نتایج جدول مقایسه میانگین داده‌ها، هر سه عناصر مورد مطالعه به‌ترتیب با غلظت ۲۵/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس و ۵۵/۶ میلی‌گرم در لیتر سولفات آهن بیشترین قطر ساقه را نشان دادند. همچنین بیشترین قطر ریشه (۰/۹۷ میلی‌متر) در تیمار با غلظت ۱۷/۲ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۱: تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف سولفات آهن، روی و مس بر برخی صفات مورفولوژیک

		میانگین مربعات								
منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد برگ	ارتفاع بوته	طول ریشه	وزن تر اندام‌هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	قطر ساقه	قطر ریشه

تیمار	۹	۱/۴۴۴**	۵/۰۲۴**	۶/۵۲۶**	۰/۱۳۲**	۲۲۲۰/۷۴**	۰/۰۱۶**	۱۵۸۸/۵۲**	۰/۱۲۴**	۰/۰۵۳**
خطا	۲۰	۰/۱۵۱	۰/۱۷۴	۰/۱۴۶	۰/۰۰۳	۶/۶۶۷	۰/۰۰۱	۴۶/۶۶۷	۰/۰۲۲	۰/۰۰۲
ضریب‌تغییرات(٪)		۶/۱۴	۶/۲۲	۳/۱۶	۵/۵۳	۱/۹۰	۶/۸۴	۶/۰۴	۵/۴۰	۵/۷۵

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

جدول ۲: مقایسه میانگین تاثیر سطوح مختلف سولفات آهن، روی و مس بر برخی صفات مورفولوژیک

تیمار	تعداد برگ	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن تر اندام‌هوایی (گرم)	وزن‌خشک اندام‌هوایی (میلی‌گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن‌خشک ریشه (میلی‌گرم)	قطر ساقه (میلی‌متر)	قطر ریشه (میلی‌متر)
شاهد*	۶/۳۳^{ab}	۶/۹۰^{bc}	۱۳/۲۷^{b}	۱/۰۳^{cde}	۱۴۰^{c}	۰/۴۷^{bc}	۱۲۳/۳۳^{bc}	۲/۵۸^{cd}	۰/۶۲^{ef}
آهن صفر	۵/۹۶^{cd}	۶/۶۳^{c}	۱۱/۷۸^{d}	۰/۹۴^{e}	۱۳۰^{de}	۰/۴۲^{cd}	۸۶/۶۷^{d}	۲/۴۸^{d}	۰/۵۸^{f}
آهن ۴۱/۷	۵/۹۳^{cd}	۶/۹۳^{bc}	۱۱/۷۷^{d}	۰/۹۷^{de}	۱۳۰^{de}	۰/۴۸^{bc}	۱۱۳/۳۳^{c}	۲/۷۴^{bcd}	۰/۶۹^{de}
آهن ۵۵/۶	۶/۲۳^{bc}	۷/۴۳^{b}	۱۳/۶۰^{b}	۱/۰۶^{cd}	۱۶۰^{b}	۰/۵۰^{b}	۱۲۳/۳۳^{bc}	۲/۷۹^{abc}	۰/۸۵^{b}
روی صفر	۵/۳۷^{d}	۴/۹۷^{e}	۱۰/۴۷^{e}	۰/۷۳^{f}	۸۰^{g}	۰/۳۶^{de}	۸۳/۳۳^{d}	۲/۵۶^{cd}	۰/۷۴^{cd}
روی ۱۷/۲	۶/۹۳^{a}	۶/۸۰^{bc}	۱۲/۵۷^{c}	۱/۱۱^{bc}	۱۲۰^{f}	۰/۵۱^{b}	۱۲۶/۶۷^{b}	۲/۷۲^{bcd}	۰/۹۷^{a}
روی ۲۵/۸	۷/۱۵^{a}	۷/۵۷^{b}	۱۲/۰۳^{cd}	۱/۲۰^{ab}	۱۳۳/۳۳^{d}	۰/۵۰^{b}	۱۳۰^{b}	۳/۰۵^{a}	۰/۷۸^{bc}
مس صفر	۵/۶۰^{cd}	۴/۸۰^{e}	۱۰/۲۰^{e}	۰/۵۶^{g}	۱۲۶/۶۷^{e}	۰/۳۴^{e}	۷۶/۶۷^{d}	۲/۵۸^{cd}	۰/۷۴^{cd}
مس ۰/۰۵	۵/۸۷^{cd}	۵/۸۰^{d}	۱۰/۴۷^{e}	۱/۰۲^{cde}	۱۶۰^{b}	۰/۴۶^{bc}	۱۲۰^{bc}	۳/۰۲^{a}	۰/۸۳^{b}
مس ۰/۱	۷/۳۳^{a}	۹/۲۰^{a}	۱۴/۶۷^{a}	۱/۲۶^{a}	۱۸۰^{a}	۰/۵۸^{a}	۱۴۶/۶۷^{a}	۲/۹۴^{ab}	۰/۹۷^{a}

حروف مشترک در هر ستون نمایانگر عدم تفاوت معنی‌داری می‌باشد. * شامل ۲۷/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات آهن، ۸/۶ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی و ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس

صفات فیتوشیمیایی: نتایج ارائه شده در جدول ۳ نشان می‌دهد که اثر کاربرد تیمارها (سولفات آهن، روی و مس) بر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده است. جدول مقایسه میانگین نشان داد سطوح مختلف سولفات روی و مس روند افزایشی در مقادیر کلروفیل a داشته به‌طوری‌که بیشترین مقدار کلروفیل a در غلظت ۲۵/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی (۲۱/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس (۲۰/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمده و کمترین مقدار (۱۷/۹۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در عدم کاربرد سولفات آهن مشاهده شد (جدول ٤). مقایسه میانگین کلروفیل b بیان‌کننده‌ی اثرگذاری غلظت متوسط از سولفات روی و سطوح بالای سولفات آهن و مس می‌باشد به این صورت که بیشترین مقدار (۳/۴۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در غلظت ۵۵/۶ میلی‌گرم در لیتر سولفات آهن حاصل شد که اختلاف معنی‌داری با سطح دو سولفات روی و سطح سه سولفات مس ندارد (جدول ٤). بررسی مقایسه میانگین نتایج داده‌های کلروفیل کل نشان می‌دهد همانند کلروفیل a روند افزایشی در سطوح سولفات روی و مس وجود دارد که بیشترین مقدار کلروفیل کل در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس (۲٤/۱٤ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و غلظت ۲۵/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی (۲۳/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) حاصل شد و کمترین مقدار مربوط به عدم کاربرد سولفات آهن (۲۰/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) می‌باشد (جدول ٤). با توجه به جدول نتایج مقایسه میانگین، مقادیر کاروتنوئید کل با افزایش غلظت سولفات مس افزایش یافته است. به‌طوری‌که بیشترین مقدار (۰/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در سطح ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس

و تیمار ۱۷/۲ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی حاصل شد که در رابطه با این صفت سطوح متوسط سولفات روی و آهن موثر بودند. همچنین کمترین مقدار کاروتنوئید کل (۰/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در عدم کاربرد هر سه عنصر مورد بررسی از جمله سولفات مس، روی و آهن به‌دست آمده است (جدول ٤).

جدول ۳: تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف سولفات آهن، روی و مس بر برخی صفات فیتوشیمیایی

		میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید کل	فنل کل	فلاونوئید کل	فعالیت آنتی‌اکسیدان کل
تیمار	۹	۲/۸٤۱**	۰/۵۵٦**	٤/۲۵۸**	۰/۰۲۲**	۰/٦٦۱**	۰/۰۳۳**	۲۰/٤۸۳**
خطا	۲۰	۰/۰۷٦	۰/۰۲۹	۰/۰۹۳	۰/۰۰۱	۰/۰۱٤	۰/۰۰۱	۱/۱۵۳
ضریب‌تغییرات (٪)		۱/٤۰	۵/۸۸	۱/۳۵	۵/۰۳	٦/٦۳	۳/۱۷	۱/٦۳

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

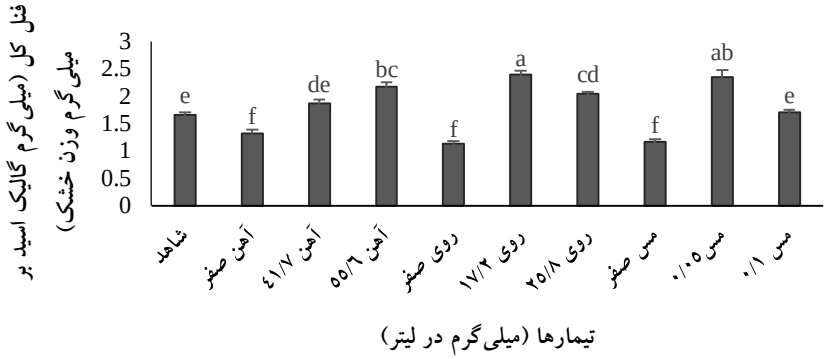
جدول ٤: مقایسه میانگین تاثیر سطوح مختلف سولفات آهن، روی و مس بر برخی صفات فیتوشیمیایی

تیمار	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئید کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
شاهد*	٦/۳۳^{ab}	٦/۹۰^{bc}	۱۳/۲۷^{b}	۱/۰۳^{cde}
آهن صفر	۵/۹٦^{cd}	٦/٦۳^{c}	۱۱/۷۸^{d}	۰/۹٤^{e}
آهن ٤۱/۷	۵/۹۳^{cd}	٦/۹۳^{bc}	۱۱/۷۷^{d}	۰/۹۷^{de}
آهن ۵۵/٦	٦/۲۳^{bc}	۷/٤۳^{b}	۱۳/٦۰^{b}	۱/۰٦^{cd}
روی صفر	۵/۳۷^{d}	٤/۹۷^{e}	۱۰/٤۷^{e}	۰/۷۳^{f}
روی ۱۷/۲	٦/۹۳^{a}	٦/۸۰^{bc}	۱۲/۵۷^{c}	۱/۱۱^{bc}
روی ۲۵/۸	۷/۱۵^{a}	۷/۵۷^{b}	۱۲/۰۳^{cd}	۱/۲۰^{ab}
مس صفر	۵/٦۰^{cd}	٤/۸۰^{e}	۱۰/۲۰^{e}	۰/۵٦^{g}
مس ۰/۰۵	۵/۸۷^{cd}	۵/۸۰^{d}	۱۰/٤۷^{e}	۱/۰۲^{cde}
مس ۰/۱	۷/۳۳^{a}	۹/۲۰^{a}	۱٤/٦۷^{a}	۱/۲٦^{a}

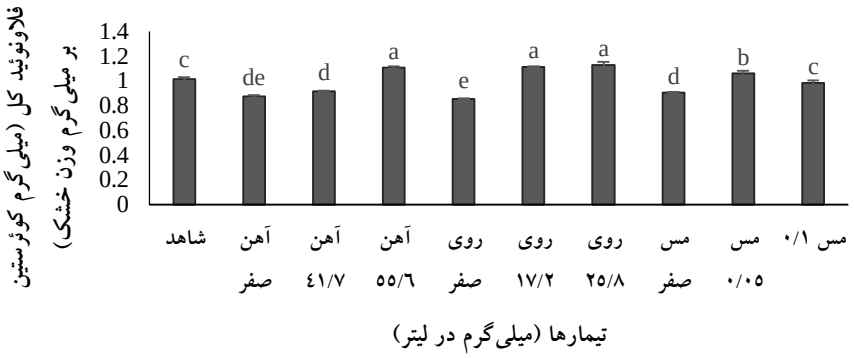
حروف مشترک در هر ستون نمایانگر عدم تفاوت معنی‌داری می‌باشد. * شامل ۲۷/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات آهن، ۸/٦ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی و ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس

با توجه به تجزیه واریانس (جدول ۳)، اثر کاربرد تیمارهای سولفات آهن، سولفات روی و سولفات مس بر میزان فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین مربوط به میزان فنل کل نشان داد غلظت ۱۷/۲ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی (۲/٤۰ میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌گرم وزن خشک) و غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس (۲/۳۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌گرم وزن خشک) بیشترین مقدار فنل را داشتند به‌طوری‌که سطوح بالایی از سولفات مس و روی باعث کاهش این صفت شده‌اند. همچنین کمترین مقدار فنل کل (۱/۱۳ میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌گرم وزن خشک) در عدم کاربرد هر سه عنصر سولفات آهن، روی و

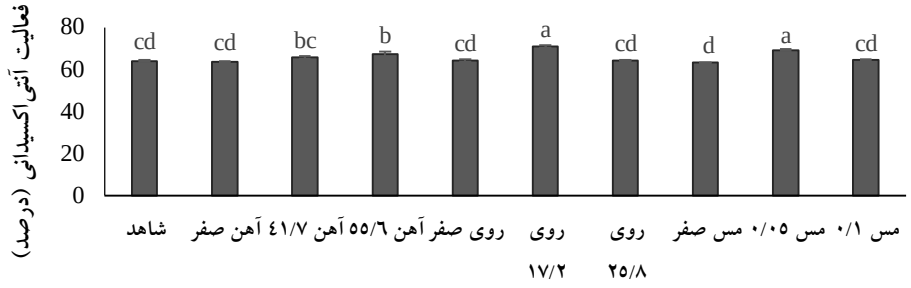
مس حاصل شد (شکل ۲). همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود هر دو غلظت ۱۷/۲ میلی‌گرم در لیتر (۱/۱۱ میلی‌گرم کوئرستین بر میلی‌گرم وزن خشک) و ۲۵/۸ میلی‌گرم در لیتر (۱/۱۳ میلی‌گرم کوئرستین بر میلی‌گرم وزن خشک) سولفات روی و غلظت ۵۵/۶ میلی‌گرم در لیتر (۱/۱۱ میلی‌گرم کوئرستین بر میلی‌گرم وزن خشک) سولفات آهن بیشترین مقدار فلاونوئید کل را دارند و کمترین مقدار در تیمار عدم کاربرد سولفات روی (۰/۸۵ میلی‌گرم کوئرستین بر میلی‌گرم وزن خشک) حاصل شد. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدان کل تحت تأثیر تیمارهای مورد مطالعه قرار گرفته و غلظت ۱۷/۲ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی (۷۰/۹۶ درصد) و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس (۶۹/۲۵ درصد) بیشترین مقدار فعالیت این ترکیب را نشان می‌دهند (شکل ٤).



شکل ۲: مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف سولفات آهن، مس و روی بر محتوای فنل کل. شاهد (MS) شامل ۲۷/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات آهن، ۸/۶ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی و ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس.
حروف مشابه در بالای ستون‌ها بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد طبق آنالیز دانکن است.



شکل ۳: مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف سولفات آهن، مس و روی بر محتوای فلاونوئید کل. شاهد (MS) شامل ۲۷/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات آهن، ۸/۶ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی و ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس.
حروف مشابه در بالای ستون‌ها بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد طبق آنالیز دانکن است.



شکل ٤: مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف سولفات آهن، مس و روی بر فعالیت آنتی‌اکسیدان کل. شاهد (MS) شامل ۲۷/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات آهن، ۸/٦ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی و ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس. حروف مشابه در بالای ستون‌ها بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد طبق آنالیز دانکن است.

بحث

نتایج پژوهش نشان‌دهنده اثرگذاری غلظت‌های مختلف عناصر ریزمغذی از جمله سولفات آهن، مس و روی بر صفات مورد ارزیابی بود. مس به‌عنوان یک عنصر کم مصرف در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی در گیاهان ضروری است (Marschner, 2012). این عنصر نقش اساسی در چندین عملکرد ازجمله رونویسی، حمل و نقل پروتئین، فسفوریلاسیون اکسیداتیو و متابولیسم آهن ایفا می‌کند (Seliem et al., 2021). با توجه به نتایج داده‌ها، غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس بیشترین اثر را در صفات مورفولوژیکی نشان داد. در همین راستا، مطالعه بر روی برخی از گیاهان نشان داد که سولفات مس اثر مثبت معنی‌دار بر افزایش رشد اندام هوایی و عملکرد گیاه داشته است (Javed et al., 2017; Zhang et al., 2024). با توجه به اینکه ریشه‌های گیاه اولین نقطه تماس گیاه با ترکیبات موجود در محیط کشت هستند سطوح اعمال‌شده از تیمارها تنها با افزایش ٤ برابری سولفات مس در مقایسه با شاهد باعث تحریک رشد ریشه شده است. Seliem و همکاران (۲۰۲۱) طی پژوهش خود بیان کردند سطوح پایین سولفات مس (۳۵ میلی‌گرم در لیتر) بهترین نتیجه را از نظر طول ریشه داشت. با این‌حال سطح مطلوب سولفات مس مورد نیاز بسته به گونه گیاهی متفاوت می‌باشد (Clemens, 2001). عنصر کم مصرف مس جزء حیاتی واکنش‌های انتقال الکترون است که توسط پروتئین‌هایی مانند سیتوکروم اکسیداز و پلاستوسیانین دخیل در فعالیت فتوسنتزی می‌باشد. بنابراین سطح مطلوب مس در محیط کشت MS به‌طور مثبت بر توسعه سیستم غشایی کلروپلاست و محتوای کلروفیل تأثیر می‌گذارد (Jain, 2009). در نتیجه باعث افزایش شاخساره و رشد در گیاه می‌شود. Ibrahim و همکاران (۲۰۱٦) در مطالعه اثر سولفات مس بر روی فیلودندرون گزارش کردند که سطح بالای مس باعث کاهش تعداد و وزن ریشه و در غلظت پایین اثر مثبتی بر رشد ریشه را نشان داده است. در مطالعه‌ای دیگر بر روی ریزازدیادی گیاه ریحان تحت تیمار سولفات روی گزارش شده است که غلظت ۱۷/۲ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی رشد ریشه را القا کرده است که با نتایج ما در این پژوهش مطابقت دارد (Verma et al., 2016). پژوهشی توسط Rehman و همکاران (۲۰۲۱) در بررسی اثر سولفات مس گزارش شده بیشترین قطر ساقه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سولفات مس به همراه نیتروژن حاصل شده است. افزایش قطر ساقه و ریشه تحت تیمار با غلظت بالای عناصر می‌تواند به علت تنظیمی

تاثیرگذار بر برخی از فرایندهای فیزیولوژیکی مانند تنظیم رشد و تقسیم سلولی باشند. در مجموع نتایج مطالعه عناصر ریزمغذی بر صفات مورفولوژیک و رشدی گیاه نشان می‌دهد گیاه در مواجه با مقادیر بالایی از عناصر در محیط کشت با بالا بردن تعداد برگ، ارتفاع، طول، قطر ریشه و ساقه به نوعی منجر به افزایش تحمل و مقاومت را باعث می‌شود.

تیمار سولفات مس و روی بیشترین اثر را بر رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد به‌طوری که با افزایش غلظت تیمارها مقدار کلروفیل‌ها و کاروتنوئید کل افزایش می‌یابد. روی به‌عنوان یک عنصر کم مصرف ضروری برای رشد گیاه و بیوسنتز کلروفیل مورد نیاز است و بر فعالیت آنزیم‌های مهمی مانند کربنیک آنهیدراز که حاوی اتم روی بوده و هیدراسیون دی اکسید کربن را کاتالیز می‌کند، اثر می‌گذارد (Pullagurala et al., 2018). روی در غلظت‌های بالا می‌تواند تولید H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپید را القا کند و منجر به کاهش بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی شود (Wang et al., 2018). مقادیر کلروفیل به‌عنوان یک شاخص قابل‌اعتماد در رابطه با آلودگی و سمیت عناصر در گیاهان طبقه‌بندی شده است (Mazaheri Tirani et al., 2018). طی مطالعاتی گزارش کرده‌اند که سولفات روی باعث افزایش قابل‌توجه مقادیر نسبی کلروفیل a، b و کل در گیاهان مورد بررسی شده است (Ruiz-Torres et al., 2021). مس یک جزء حیاتی از واکنش‌های انتقال الکترون است که توسط سیتوکروم اکسیداز و پلاستوسیانین دخیل در فعالیت فتوسنتزی انجام می‌گردد (Clemens, 2001). بنابراین سطح بهینه مس در محیط به‌طور مثبت بر توسعه غشایی کلروپلاست و کلروفیل‌ها تأثیر می‌گذارد. نتایج مطالعه Fatima و همکاران (۲۰۱۱) براثر روی و مس بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گزارش کرده‌اند که افزایش قابل‌توجهی در مقدار کاروتنوئید در سطح بهینه سولفات مس و روی در محیط کشت MS مشاهده شده است. Kalpana و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کرده‌اند این عناصر باعث بالا رفتن مقدار کاروتنوئید شده است که با نتایج این تحقیق در یک راستا هستند. سولفات مس در مطالعات تولید درون شیشه‌ای متابولیت‌های ثانویه موردتوجه زیاد قرار گرفته است چراکه باعث ایجاد تغییرات در ترکیبات شیمیایی و مقادیر نهایی این ترکیبات در شرایط کشت بافت می‌شود (Bota and Deliu, 2011). مشخص شده است که محدوده ۱۰-۱ میکرومول سولفات مس تولید متابولیت‌های ثانویه را تحریک می‌کند، اگرچه غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میکرومولار برای رشد گیاهچه مضر است و تغییرات مورد انتظار را برای تولید ترکیبات شیمیایی گیاهان ایجاد نمی‌کند (Deo and Nayak, 2011). مس پیش ماده چندین آنزیم متابولیک گیاهی مانند سیتوکروم اکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز است که بسیاری از آن‌ها با گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) واکنش می‌دهند (Miguel, 2023). چندین آنزیم وابسته به مس نیز در اکسیداسیون و هیدروکسیلاسیون ترکیبات فنلی دخیل هستند (George et al., 2008). با توجه به اهمیت عناصر در گیاهان، تحقیقات زیادی از تجمع فنل کل در گیاهان تحت تأثیر سولفات مس گزارش شده است (Khanna et al., 2019). همچنین در مطالعه‌ای دیگر افزایش قابل‌توجهی در محتوای فنل کل در اثر کاربرد روی گزارش شده است (Ibiang et al., 2018). در همین راستا پژوهشی با بررسی اثر سولفات مس و روی بر روی محتوای پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها، تجمع فلاونوئید در برگ و ریشه تحت تیمار با سولفات روی گزارش شده است (Badiaa et al., 2020). فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنلی با منشاء گیاهی به‌عنوان جذب‌کننده رادیکال‌های آزاد گزارش شده‌اند که با فعالیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی مثبتی دارند

(Singh et al., 2018). نشان داده شده است که عنصر روی بخشی از آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز است بنابراین فعالیت خاموش کردن ROS را افزایش می‌دهد (Ahmad et al., 2018). درنتیجه با توجه به استراتژی گیاه درزمینه‌ی تحمل در برابر عناصر، از کاربردهای برون‌زا برای بهبود متابولیسم آنتی‌اکسیدانی می‌توان استفاده کرد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که سولفات آهن، سولفات روی و سولفات مس تأثیر قابل‌توجهی بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی داشتند. تغییرات مشاهده شده در رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان‌دهنده تنظیم مستقیم و غیرمستقیم سولفات آهن، روی و مس در فرآیند فتوسنتز و فعالیت متابولیت‌های ثانویه ازجمله محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئید کل بوده است. افزایش سطح فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز به‌عنوان پاسخی مثبت در سطوح ۱۷/۲ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس در محیط کشت تعیین شد. بنابراین، این مطالعه ارائه‌دهنده الگوهای تنظیمی برای بهینه‌سازی شرایط درون شیشه بافت و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه با استفاده از این غلظت‌ها می‌باشد.

References

Ahmad, P., Alyemeni, M. N., Ahanger, M. A., Wijaya, L., Alam, P., Kumar, A. and Ashraf, M. (2018). Upregulation of antioxidant and glyoxalase systems mitigates NaCl stress in *Brassica juncea* by supplementation of zinc and calcium. Journal of Plant Interactions, 9145(1), 151-162.

Akowuah, G. A., Ismail, Z., Norhayati, I. and Sadikun, A. (2005). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. Food Chemistry, 93(2), 311-317.

Alam, N., Anis, M., Javed, S. B. and Alatar, A. A. (2020). Stimulatory efect of copper and zinc sulphate on plant regeneration, glutathione-S-transferase analysis and assessment of antioxidant activities in *Mucuna pruriens* L. (DC). Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 141, 155–166.

Alvarez, M. A. (2014). Plant Biotechnology for Health: From Secondary Metabolites to Molecular Farming. Springer, Buenos Aires.

Aravind, P. and Prassad, M. N. V. (2004). Zinc protects chloroplasts and associated photochemical functions in cadmium exposed *Ceratophyllum demersum* L., a fresh water macrophyte. Plant Science, 166, 1321-1327.

Badiaa, O., Yssaad, H. A. R. and Topcuoglu, B. (2020). Effect of heavy metals (copper and zinc) on proline, polyphenols and flavonoids content of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). Plant Archives Volume 20 No. 1, 2125-2137.

Bityutskii, N., Pavlovic, J., Yakkonen, K. and Maksimovic, V. (2014). Contrasting effect of silicon on iron, zinc and manganese status and accumulation of metal-mobilizing compounds in micronutrient-deficient cucumber. Plant Physiology and Biochemistry, 74, 205-211.

Bota, C. and Deliu, C. (2011). The effect of copper sulphate on the production of flavonoids in *Digitalis lanata* cell cultures. Farmacia, 59, 113–118.

Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z. and Zhao, F. (2012). Function of Nutrients: Micronutrients. In: P. Marschner (Ed.) Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. 3rd Ed Academic Press, London. Pp, 191-248.

Chang, Y. L., Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J. and Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. Journal of Agricultural and food chemistry, 50(13), 3713-3717.

Clemens, S. (2001). Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. Planta, 212, 475–486.

Deo, B. and Nayak, P. K. (2011). Study of copper phytotoxicity on in vitro culture of *Musa acuminata* cv. "Bantala". Sustainable Development, 3, 136–140.

Fatima, N., Ahmad, N. and Anis, M. (2011). Enhanced in vitro regeneration and change in photosynthetic pigments, biomass and proline content in *Withania somnifera* L. (Dunal) induced by copper and zinc ions. Plant Physiology and Biochemistry, 49, 1465-1471.

George, E. F., Hall, M. A. and Klerk, G. J. (2008). Plant Propagation by Tissue culture. Springer plus, New York.

Hegde, P. K., Rao, H. A. and Rao, P. N. (2014). A review on Insulin plant (*Costus igneus* Nak). Pharmacognosy Review, 8(15), 67-72.

Ibiang, Y. B., Innami, H. and Sakamoto, K. (2018). Effect of excess zinc and arbuscular mycorrhizal fungus on bioproduction and trace element nutrition of Tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom). Soil Science and Plant Nutrition, 00(00), 1-10.

Ibrahim, S. M., Hashish, K. I., Taha, L. S., Mazhar, A. A. and Kandil, M. M. (2016). In vitro culture protocol, micropropagation, acclimatization and chemical constituents of *Spathiphyllum cannifolium* plant under copper concentration effect. International Journal of PharmTech Research, 9, 33–41.

Jain, P., Kachhwaha, S. and Kothari, S. L. (2009). Improved micropropagation protocol and enhancement in biomass and chlorophyll content in *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni by using high copper levels in the culture medium. Scientia Horticulturae, 119, 315–319.

Javed, S. B., Alatar, A. A., Basahi, R., Anis, M., Faisal, M. and Husain, F. M. (2017). Copper induced suppression of systemic microbial contamination in *Erythrina variegata* L. during in vitro culture. Plant Cell, Tissue Organ Culture, 128, 249–258.

Jyothi, N., Priyanka, E., Tony, D. and Nadendla, R. (2015). *Chamaecostus cuspidatus* a short review on antidiabetic plant. Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences, 2(7), 1110-13.

Kalpana, M. M., Anbazhagan, V. and Natarajan, D. (2010). Dhanavel, Improved micropropagation method for the enhancement of biomass in *Stevia rebaudiana* Bertoni. Recent Research Science Technology, 2, 008-013.

Kaur, M. and Mannan, A. (2021). In- vitro antidiabetic activity of *Chamecostus cuspidatus*. International Journal of Pharmacognosy, 8(12), 496-501.

Khanna, K., Jamwal, V. L., Sharma, A., Gandhi, S. G., Ohri, P., Bhardwaj, R. and Ahmad, P. (2019). Supplementation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) alleviates Cadmium toxicity in *Solanum lycopersicum* by modulating the expression of secondary metabolites. Chemosphere, 230, 628-639.

Lichtenthaler, H. K. and Wellbum, A. R. (1983). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemistry Society Transcends, 11, 591–592.

Marschner, H. (2012). In: Marschner, P., Eds. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Vol. 89); Academic press, London.

Mazaheri Tirani, M., Madadkar-Haghjou, M., Sulieman, S. and Ismaili, A. (2018). Comparative evaluation of zinc oxide effects on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) grown in different media. Journal of Agricultural Science and Technology, 20, 787–802.

Miguel, J. F. (2023). Influence of High Concentrations of Copper Sulfate on In Vitro Adventitious Organogenesis of *Cucumis sativus* L. International Journal of Plant Biology, 14, 974–985.

Miralpeix, B., Rischer, H., Häkkinen, S., Ritala, A., Seppänen-Laakso, T., OksmanCaldentey, K., Capell, T. and Christou, P. (2013). Metabolic engineering of plant secondary products: which way forward. Current Pharmaceutical Design, 19, 5622–5639.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15(3), 473-497.

Ordone, A. A. L., Gomez, J. D. and Vattuone, M. A. (2008). Antioxidant activities of *Sechium edule* swartz extracts. Food Chemistry, 97, 452-458.

Pullagurala, V. L. R., Adisa, I. O., Rawat, S., Kalagara, S., Hernandez-Viezcas, J. A., Peralta-Videa, J. R. and Gardea-Torresdey, J. L. (2018). ZnO nanoparticles increase photosynthetic pigments and decrease lipid peroxidation in soil grown cilantro (*Coriandrum sativum*). Plant Physiology Biochem, 132, 120–127.

Rehman, M., Hamzah Saleem, M., Fahad, S., Maqbool, Z., Peng, D., Deng, G. and Liu, K. (2021). Medium nitrogen optimized *Boehmeria nivea* L. growth in copper contaminated soil. Chemosphere, 266- 128972.

Ruiz-Torres, N., Flores-Naveda, A., Barriga-Castro, E. D. Camposeco-Montejo, N. Ramírez-Barrón, S. Borrego-Escalante, F. Niño-Medina, G., Hernández-Juárez, A., Garza-Alonso, C., Rodríguez-Salinas, P. and García-López, J. I. (2021). Zinc Oxide Nanoparticles and Zinc Sulfate Impact Physiological Parameters and Boosts Lipid Peroxidation in Soil Grown Coriander Plants (*Coriandrum sativum*). Molecules, 26, 1998.

Seliem, M. K., El-Mahrouk, M. E., El-Banna, A. N., Hafez, V. M. and Dewir, V. H. (2021). Micropropagation of *Philodendron selloum*: Influence of copper sulfate on endophytic bacterial contamination, antioxidant enzyme activity, electrolyte leakage, and plant survival. South African Journal of Botany, 139, 230-240.

Singh, O. S., Pant, N. C., Laishram, M. L., Tewari, R. D., Joshi, k. and Pandey, C. (2018). Effect of CuO nanoparticles on polyphenols content and antioxidant activity in Ashwagandha (*Withania somnifera* L. Dunal). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7(2), 3433-3439.

Trettel, J. R., Gazim, Z. C., Gonçalves, J. E., Stracieri, J. and Magalhães, H. M. (2018). Effects of copper sulphate (CuSO4) elicitation on the chemical constitution of volatile compounds and the in vitro development of Basil. Scientia Horticulturae, 234, 19-26.

Verma, S. K., Sahin, G., Das, A. K. and Gurel, E. (2016). In vitro plant regeneration of *Ocimum basilicum* L. is accelerated by zinc sulfate. In Vitro Cellular & Developmental Biology, 52, 20–27.

Wang, X. P., Li, Q. Q., Pei, Z. M. and Wang, S. C. (2018). Effects of zinc oxide nanoparticles on the growth, photosynthetic traits, and antioxidative enzymes in tomato plants. Biologia Plantarum, 62, 801–808.

Zhang, Q., Waheed, A., Aili, A., Xu, H., Kuerban, A., Muhammad, M. and Sajjad Ali, S. (2024). Copper sulfate-induced stress in Spinach: Metabolic pathway disruption and plant response. Scientia Horticulturae, Volume 337: 113575, ISSN 0304-4238.