بررسی پاسخ فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی توده بومی *Cyamopsis tetragonoloba* L. منطقه ایرانشهر به محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی

صفورا بزی[1و5*]، علی موافقی[2]، جعفر ولی‌زاده[2]، محرم ولی‌زاده[4]

[1]دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[2]استاد، گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[3]استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

[4]استادیار مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و زینتی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

[5]مربی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور زاهدان، زاهدان، ایران

تاریخ دریافت: ۰۰/٤/۲٦ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۵/۳۱

چکیده

از آنجایی که تغذیه گیاهان با عنصر روی، یک راهکار برای بهبود رشد و نمو گیاهان و جبران کمبود روی در خاک است، در این تحقیق، به‌منظور بررسی اثر تغذیه‌ای نانو ذرات اکسید روی با اندازه ۴۰ نانومتر بر ویژگی‌های مورفولوژیک، صمغ دانه و فراورده‌های فیتوشیمیایی برگ توده بومی گیاه گوار (*Cyamopsis tetragonoloba* L) از ایرانشهر، آزمایشی کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. سنجش میزان صمغ گوار به روش فنل–سولفوریک اسید، میزان فنل کل به روش معرف فولین–سیوکالتیو و میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید انجام گرفت. کشت بذرها در در اوایل خردادماه ۱۳۹۷، در گلخانه دانشگاه سیستان و بلوچستان انجام شد. تیمارها شامل شش غلظت مختلف نانو ذرات اکسید روی ۰ (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بودند که به‌صورت محلول‌پاشی برگی در دو مرحله (۲۰ و ۲۷ روز پس از کشت بذرها) بر گیاهان گوار اعمال شدند. از میان صفات اندازه‌گیری شده، با افزایش غلظت نانو ذرات، کاهش تدریجی و معنی داری در تعداد دانه در غلاف مشاهده شد. در حالی‌که اثر غلظت نانو ذرات بر طول غلاف و طول ریشه معنی دار نبود، اما طول ساقه، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه، سطح برگ، تراکم روزنه‌ها، وزن خشک برگ، وزن ۵۰۰–دانه، وزن خشک غلاف، با افزایش غلظت نانو ذرات تا تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات اکسید روی، افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند. در این تیمار، صمغ دانه، فنل کل و فلاونوئید کل به‌ترتیب به میزان ۲/۵۵، ۲/۱۰ و ۱/۳۴ برابر نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان دادند. بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان با هدف بهبود ویژگی‌های رشد و افزایش میزان صمغ دانه، فنل و فلاونوئید برگ گیاه گوار از نانو ذرات اکسید روی با ویژگی‌های به‌کار رفته در این پژوهش استفاده نمود و با افزایش صمغ گوار از کاربردهای دارویی آن بهره برد.

واژه‌های کلیدی: ایرانشهر، فلاونوئید، فیتوشیمیایی، گوار، نانو ذرات اکسید روی.

*نویسنده مسئول: bazzi@tabrizu.ac.ir

مقدمه

جنس *Cyamopsis* از خانواده Fabaceae دارای ۴ گونه است که این پژوهش بر روی یک توده محلی از گونه گوار (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) به نام توده ایرانشهر انجام گرفت. این گونه که گوار نام دارد، خاستگاه آن به هند، پاکستان و آفریقا نسبت داده شده است. به ترتیب هندوستان و پس‌ازآن پاکستان بزرگترین تولید کنندگان این گیاه هستند. در هندوستان، امروزه علاوه بر مصارف صنعتی گوار و استفاده آن در طب مدرن، غلاف‌های جوان گوار و دانه‌های رسیده به‌عنوان ماده غذایی پروتئینی استفاده می‌شود. همچنین، بخش‌های مختلف این گیاه به‌عنوان خوراک دام و همچنین به عنوان کود سبز برای غنی کردن خاک به‌کار می‌رود (Dzyubenko et al., 2017). صمغ این گیاه نوعی پلی ساکارید غیر یونی محلول در آب است که از اندوسپرم خردشده گوار به دست می‌آید (Achayuthakan and Suphantharika, 2008). مولکول گالاکتومانان در صمغ گوار، از یک اسکلت خطی واحدهای مانوز با پیوندهای β (1→4) با شاخه‌های جانبی ساخته‌شده از واحدهای گالاکتوز با پیوند α (1→6) به نسبت ۲:۱ تشکیل‌شده است (Mudgil et al., 2016). این ماده اهمیت ویژه‌ای در صنایع مختلف ازجمله صنایع غذایی، صنایع داروسازی و پزشکی دارد (Gupta and Verma, 2014). از جمله در کنترل بسیاری از مشکلات سلامت از قبیل دیابت، حرکات روده، بیماری‌های قلبی و سرطان کولون سودمند است (Mudgil et al., 2014). همچنین در درمان افت قند، کاهش چربی و فعالیت ضد میکروبی مؤثر است. مشتقات گلیکوزیله شده صمغ گوار با تغییرات شیمیایی آن برای فعالیت‌های ضدالتهابی به‌کار می‌رود (Gupta and Verma, 2014). این ماده در کاهش عوارض سویه بتاکروناویروس SARS-COV-2 (Archer and Kramer, 2020) که مسئول پاندمی COVID-19 است نیز مؤثر شناخته شده است (Kim et al., 2020). صمغ گوار در صنعت داروسازی به‌عنوان غلظت دهنده شربت‌ها و عامل اتصال‌دهنده و تجزیه‌کننده در قرص‌ها به کار می‌رود (Walia, 2005). همچنین، به علت توانایی تجزیه شدن توسط برخی آنزیم‌های ویژه، برای آزاد کردن دارو در روده بزرگ استفاده می‌شود (Gupta and Verma, 2014). کشت معمول این گیاه در هندوستان در فصل بارندگی[1] است اما می‌توان از روش آبیاری نیز برای پرورش آن استفاده نمود. این گیاه عمدتاً در شرایطی با منابع آبی محدود، در نواحی خشک و نیمه‌خشک رشد می‌کند (Bhatt et al., 2017). به‌طوری‌که به آن لقب «محصول غیر تشنه» داده‌شده است (Sultan et al., 2013). در مناطقی که کمبود آب اجازه کشت انواع مختلف محصولات را نمی‌دهد، گوار می‌تواند به عنوان یک محصول جایگزین در مناطق خشک و نیمه خشک ایران کشت شود (Meftahizadeh et al., 2019). این گیاه برای جوانه‌زنی مناسب، به دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتی گراد و برای رشد رویشی خوب به دمای ۳۸-۳۲ درجه سانتی‌گراد نیاز دارد و دمای ۴۶-۴۵ درجه سانتی گراد برای این گیاه قابل تحمل است (Singh, 2014). گوار یک گیاه کوتاه روز است، بهترین طول دوره نوری در فصل رشد گوار از ۱۲/۷ ساعت تا ۸/ ۱۳ساعت متفاوت است که به خوبی با آب و هوای خشک و نیمه خشک کشورهای هندوستان و پاکستان سازگار است. (Arkhimandritova et al., 2020). گوار می‌تواند در خاک های مختلفی رشد کند ولی بهترین نتیجه زمانی به‌دست می‌آید که در زمین مرتفع با خاک لومی-شنی یا لومی و دارای زهکشی خوب کشت شود. در خاک های خیلی سنگین و غرقابی رشد خوبی ندارد.

1. Kharif

خاک باید به خوبی شخم زده شده باشد و عاری از علف هرز و کلوخ باشد (Singh, 2014). اثر مثبت نانو ذرات اکسید روی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و صمغ گوار (Raliya and Tarafdar, 2013)، اثر مثبت و افزایشی عنصر روی بر ویژگی‌های مورفولوژیک گوار (Meena et al., 2006)، اثرات دارویی صمغ گوار (Archer and Kramer, 2020)، کاربردهای صنعتی آن (Bhatt et al., 2017)، بررسی اثر زمان کشت بر ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی چند توده مختلف این گیاه (Meftahizadeh et al., 2019) در مطالعات پیشین گزارش شده است.

از آنجائی که روی یک عنصر معدنی مهم موردنیاز برای فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها است (Khater and Abd-allah, 2017)، کمبود این عنصر می‌تواند سبب بروز اختلال در رشد و نمو گیاهان شود (Schulten et al., 2019). به دلیل اینکه کمبود روی ممکن است به علت غلظت کم این عنصر در خاک و یا کاهش جذب آن توسط ریشه گیاه رخ دهد (Zhang et al., 2018)، اسپری برگی مواد مغذی معدنی در مقایسه با تغذیه از راه خاک، در غلظت‌های مناسب می‌تواند روش مؤثری برای جذب بهتر عناصر غذایی باشد (Fageria et al., 2009). همچنین از آنجائیکه نانو ذرات ازجمله نانو ذرات اکسید عناصر به علت داشتن اندازه کوچک می‌توانند خواص شیمیایی منحصربه‌فردی نشان دهند (Khan et al., 2017)، تغذیه گیاه با نانو ذرات اکسید روی می‌تواند موجب دسترسی بهتر گیاه به عنصر روی و بهبود شرایط گیاه شود (Sturikova et al., 2018). مسئله مهم دیگر در ارتباط با عنصر روی، کمبود آن در اکثر خاک‌های جهان است که یکی از گسترده‌ترین مشکلات سلامت عمومی به شمار می‌رود. بنابراین استفاده از روی برای تغذیه گیاه می‌تواند گامی موثر برای حمایت از سلامت انسان نیز باشد (Zhang et al., 2018). بر این اساس و به دلیل اهمیت گوار در برآورده ساختن نیازهای غذایی و دارویی بشر و نیز امکان کشت و توسعه این گیاه در مناطق خشک کشور، همچنین به علت اینکه تاکنون سنجش اثر نانو ذرات اکسید روی بر توده بومی گوار از ایرانشهر انجام نشده است، و نیز ضرورت عنصر روی برای بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاهان و تامین سلامت عمومی انسان، در این پژوهش از نانو ذرات اکسید روی در غلظت‌های مختلف به‌صورت محلول‌پاشی برگی برای تغذیه گیاه گوار استفاده شد و اثر این نانو ذرات بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه گوار مورد سنجش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

سنتز نانو ذرات اکسید روی به روش هم رسوبی انجام گرفت (Kazemi Oskuee et al., 2013). برای سنجش اندازه و ویژگی‌های نانو ذرات سنتز شده از دستگاه XRD مدل D8 Advance Bruker AXS در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه سیستان و بلوچستان استفاده شد که اندازه نانو ذرات را برابر ۴۰ نانومتر و ساختار بلوری ورتزیت را برای نانو ذرات سنتز شده نشان داد. برای انجام عملیات کاشت گوار، بذرهای نوعی توده محلی گوار به نام توده ایرانشهر، از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بلوچستان در شهر ایرانشهر واقع در استان سیستان و بلوچستان تهیه شد. ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی توده محلی ایرانشهر توسط پژوهشگران دیگر نیز بررسی شده است (Meftahizadeh et al., 2019). بذرها در اوایل خردادماه ۱۳۹۷، در گلخانه دانشگاه سیستان و بلوچستان، واقع در شهر زاهدان با مشخصات جغرافیایی ۶۰ درجه و ۵۳ دقیقه طول شرقی و ۲۹ درجه و ۲۸ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۳۷۰ متر

از سطح دریا و میانگین بارندگی سالیانه ۹۴/۲ میلی‌متر کشت شدند. میانگین دمای گلخانه ^{o}C ۲۵ و میانگین رطوبت ۳۰٪ بود. بذرها به فاصله ۱۰ سانتی متر از هم روی پشته گلخانه به عمق دو سانتی‌متری در خاک لومی- رسی با ۳۰٪ ورمی کمپوست کشت شدند و هر سه روز یک‌بار آبیاری قطره ای، در هر نوبت به مدت ۴ ساعت توسط قطره چکان‌هایی با دبی خروجی دو لیتر در ساعت انجام شد. برای اعمال تیمارها، محلول‌های نانو ذرات اکسید روی سنتز شده در غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر با استفاده از آب مقطر تهیه شدند. سپس در دو مرحله روی سطح برگ گیاهان اسپری شدند. مرحله اول تیمارها بیست روز پس از کشت و مرحله دوم یک هفته بعد از مرحله اول انجام شد (Torabian et al., 2016). این آزمایش با ۳ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. برداشت مرحله اول، یک ماه پس از کشت بذرها، برای اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک، میزان صمغ، فنل و فلاونوئید انجام گرفت. برداشت مرحله دوم حدود ۵۰ روز پس از برداشت اول، برای اندازه‌گیری صفات مربوط به غلاف‌ها و دانه‌ها انجام شد.

برای اندازه‌گیری و سنجش پارامترهای مربوط به ویژگی‌های مورفولوژیک، طول ریشه و ساقه گیاهان برداشت‌شده، با خط کش ارزیابی شد. سطح برگ و تعداد روزنه‌ها با استفاده از نرم‌افزار Image-j برآورد شد (Schindelin et al., 2012). سپس ریشه از بخش هوایی جدا شد و پس از خشک شدن گیاهان، وزن خشک آن‌ها نیز ارزیابی شد. در برداشت دوم، وزن ۵۰۰ دانه، وزن خشک غلاف، طول غلاف و تعداد دانه در غلاف اندازه‌گیری شد (Meftahizadeh et al., 2019).

نظر به اینکه صمغ دانه گوار از پلی‌ساکارید گالاکتومانان تشکیل شده است، برای سنجش میزان صمغ، مقدار پلی‌ساکاریدهای اندوسپرم دانه اندازه‌گیری شد (Hellebust and Craigie, 1978). ۰/۱ گرم پودر صمغ گوار ابتدا به‌منظور حذف منوساکاریدها و الیگوساکاریدهای آن، به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد جوشان، روی هیتر قرار داده شد. پس از سانتریفوژ و حذف رو شناور، این عمل دوباره تکرار شد. رسوب به‌دست‌آمده همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطری که به‌وسیله اسیدکلریدریک اسیدی شده بود (اسیدیته ۳/۵)، مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری $^{96^{\circ}C}$ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برای سنجش مقدار صمغ در محلول به‌دست‌آمده، از روش فنل- سولفوریک اسید استفاده گردید (Nielsen, 2010).

برای اندازه‌گیری میزان فنل کل و فلاونوئید کل، مقدار ۰/۱ گرم برگ خشک گوار در ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ همگن و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد. فاز رو شناور به‌عنوان عصاره گیاهی، برای سنجش فنل و فلاونوئید کل استفاده شد. برای اندازه‌گیری فنل کل، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی با ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲٪، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین- سیوکالتیو ۵۰٪ مخلوط شد. پس از ۳۰ دقیقه، جذب محلول‌ها با استفاده از دستگاه طیف‌سنج در طول‌موج ۷۲۰ نانومتر در مقایسه با شاهد ثبت شد. از گالیک اسید برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. فنل کل موجود در عصاره بر اساس میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم وزن خشک برگ بیان شد (Mianabadi et al., 2015). سنجش فلاونوئیدهای کل با اضافه کردن ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید ۱۰٪ و

۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به ۵۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی انجام شد. پس از ورتکس و گذشت زمان ۴۰ دقیقه، جذب این مخلوط در مقایسه با شاهد در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فلاونوئید کل بر پایه منحنی استاندارد رسم شده با غلظت‌های متفاوتی از کوئرستین محاسبه شد و بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم بافت خشک گیاه بیان گردید (Mianabadi et al., 2015).

روش تحلیل داده‌ها: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفت و نتایج به‌صورت میانگین سه تکرار ± SE (خطای استاندارد) ارائه شد. سطح معنی‌داری تفاوت بین تیمارها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون دانکن ارزیابی شد.

نتایج

اثر نانو ذرات اکسید روی بر طول ساقه، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه، تراکم روزنه‌ها و وزن خشک برگ معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش غلظت تیمار نانو ذرات اکسید روی، طول ساقه، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه، سطح برگ، تراکم روزنه‌ها و وزن خشک برگ به‌ترتیب به میزان ۱/۶۴، ۲/۳۳، ۱/۵، ۱/۶۰، ۱/۶۰، ۱/۳۹ برابر نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان دادند اما تیمارها، اثر معنی‌داری بر طول ریشه نداشتند (جدول ۳).

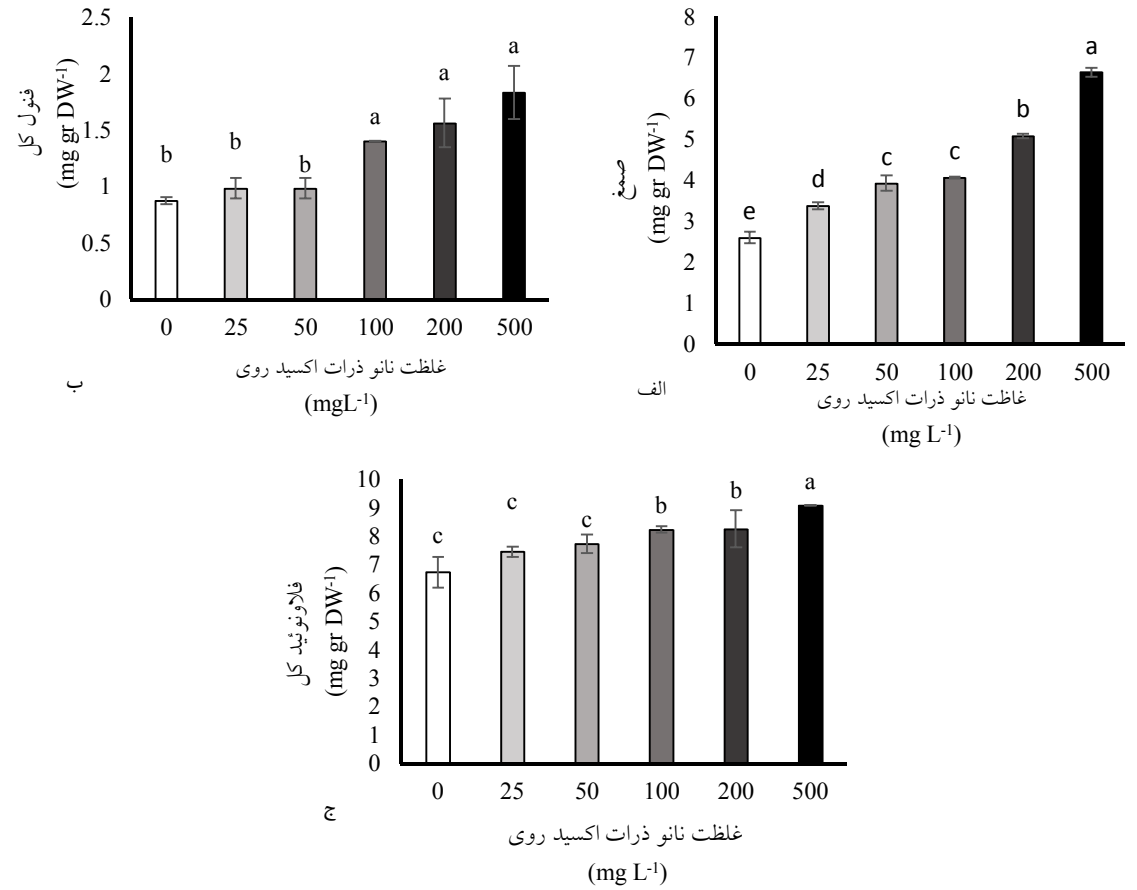
اثر نانو ذرات اکسید روی بر وزن ۵۰۰ دانه، وزن خشک غلاف، تعداد دانه در غلاف، میزان صمغ، فنل کل و فلاونوئید کل معنی‌دار بود (جدول ۲). تیمارهای آزمایش موجب افزایش معنی‌دار وزن ۵۰۰ دانه به میزان ۱/۲۸ برابر و وزن خشک غلاف به میزان ۰/۰۴۱ برابر در مقایسه با تیمار شاهد شدند. درحالی‌که تعداد دانه در غلاف ۷/۱۳ برابر نسبت به شاهد کاهش نشان داد. اما تیمارها اثر معنی‌داری بر طول غلاف‌ها نداشتند (جدول ۳).

نانو ذرات اکسید روی به تدریج موجب افزایش معنی‌دار مقدار صمغ دانه، فنل کل و فلاونوئید کل نسبت به تیمار شاهد شدند (جدول ۲). در تیمار غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات اکسید روی، مقدار صمغ دانه، فنل کل و فلاونوئید کل به ترتیب به میزان ۲/۵۵، ۲/۱۰ و ۱/۳۴ برابر نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان دادند (شکل ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید روی بر صفات مربوط به ساقه، ریشه و برگ یک توده بومی گیاه گوار از منطقه ایرانشهر

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		طول ساقه (سانتی‌متر)	وزن خشک ساقه(گرم)	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک ریشه(گرم)	سطح برگ (سانتی‌مترمربع)	تراکم روزنه‌ها (تعداد در سانتی‌مترمربع)	وزن خشک برگ(گرم)
غلظت‌نانوذرات	۵	۷۹/۹۲**	۰/۰۲۰**	۲/۵۳ ns	۰/۴۲**	۲۱/۴۰**	۴۱/۱۵**	۱/۹۱**
اشتباه آزمایش	۱۲	۱۳/۶۱	۰/۰۰۲	۶/۳۳	۰/۰۴	۰/۳۶	۲/۴۶	۰/۴۱
درصدضریب تغییرات	-	۰/۲۲	۰/۲۶	۰/۲۰	۰/۳	۰/۱۴	۰/۱۶	۰/۱۳

**و ns به‌ترتیب: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و غیر معنی‌دار بودن



شکل ۱: اثر غلظت نانو ذرات اکسید روی بر میزان صمغ (الف)، فنل کل (ب) و فلاونوئید کل(ج) در یک توده بومی گیاه گـوار از منطقه ایرانشهر. میله‌های خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد میانگین داده‌ها هستند. حروف مشابه نشانه عـدم وجـود اخـتلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است

جدول ۲: تجزیه واریانس تاثیر غظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید روی بر صفات مربوط به دانه، غلاف، صمغ، فنل کل و فلاونوئید کل یک توده بومی گیاه گوار از منطقه ایرانشهر

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		وزن ۵۰۰ دانه (گرم)	وزن خشک غلاف(گرم)	طول غلاف (سانتی‌متر)	تعداد دانه در غلاف	صمغ (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	فنل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)
غلظت‌نانوذرات (میلی‌گرم بر لیتر)	۵	۴/۴۷**	۰/۰۰۵**	۰/۱۶ ns	۱/۳۰**	۶/۰۲**	۰/۴۴**	۱/۹۳**
اشتباه آزمایش	۱۲	۰/۶۸	۰/۰۰۱	۰/۲۷	۰/۲۱	۰/۰۳	۰/۰۶	۰/۴۳
درصد ضریب تغییرات	-	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۳۱	۰/۳۲	۰/۱۱

** و ns به‌ترتیب: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و غیر معنی‌دار بودن

جدول ۳: اثر تیمارهای مختلف نانو ذرات اکسید روی بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیتوشیمیایی یک توده بومی گیاه گوار از منطقه ایرانشهر

غلظت نانو ذرات اکسید روی(میلی‌گرم بر لیتر)	طول ساقه (سانتی متر)	وزن خشک ساقه(گرم)	طول ریشه (سانتی متر)	وزن خشک ریشه(گرم)	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	تراکم روزنه ها (تعداد در سانتی‌متر مربع)	وزن خشک برگ (گرم)	وزن ۵۰۰ دانه(گرم)	وزن خشک غلاف(گرم)	طول غلاف (سانتی‌متر)	تعداد دانه در غلاف
۰	۲۰/۱۰±۲/۳۹c	۰/۱۸±۰/۰۱ c	۱۰/۱۳±۱/۹۵a	۰/۰۲±۰/۰۱b	۱۲/۸۸±۰/۶۹c	۱۶/۵۳±۱/۲٤ d	۰/۰۷۶±۰/۰۰۳b	۱۳/۳۳±۰/۰۵b	۰/٤۱۳±۰/۰۰٤b	۵/۱۲±۰/۱۵a	۸/۸۶±۰/۰۵a
۲۵	۲۰/٤۱±۲/۳۲c	۰/۲۳±۰/۰۱c	۱۰/٤۱±۱/۳۹a	۰/۰۲±۰/۰۲b	۱۸/۰۷± ۰/۱۳b	۲۱/۱۳±۰/۷۵ c	۰/۰۸۰± ۰/۰۱۰b	۱۵/۶۵±۰/۱۲a	۰/۵۱۰±۰/۰۱۵a	۵/۶۹±۰/٤۸a	۸/۵۳±۰/۰۱b
۵۰	۲۳/۶۶±۱/۸۷ bc	۰/۳۱±۰/۰۳b	۱۰/۸۰±۰/۹۸a	۰/۰۳±۰/۰۱ab	۱۸/۷۰±۰/۱۱b	۲۱/۶۰±۰/۳۰c	۰/۰۸۳±۰/۰۰۳b	۱۵/۷۵±۰/۱۰a	۰/۵۰۶±۰/۰۲٤a	۵/۳۹±۰/۳۱a	۷/۸۳±۰/۰۶c
۱۰۰	۲۸/۰۶±۲/۷۷ ab	۰/۳۳±۰/۰۳b	۱۰/±۹۰ ۱/٤۱a	۰/۰۳±۰/۰۱ab	۱۸/۸۹±۰/۱۹b	۲۳/٤۳±۰/۶۶bc	۰/۰۸۳ ±۰/۰۰۶b	۱۵/۷۸±۰/۰۹a	۰/٤۷۰±۰/۰۱۰ab	۵/۲۹±۰/۳٤a	۷/۶۰±۰/۰۷cd
۲۰۰	۲۸/۹۳±۱/۹۲ ab	۰/۳۳±۰/۰۱b	۱۲/۶۳±۱/۳۳a	۰/۰٤±۰/۰۲ab	۱۹/۱۱±۰/۳۲b	۲۶/۱۳±۱/٤۳ab	۰/۰۸۶ ±۰/۰۰۳b	۱۵/۸۵±۰/۱۰a	۰/٤۵۳±۰/۰۱۹bc	۵/۱۹±۰/۱۶a	۷/۵۰±۰/۰۲d
۵۰۰	۳۳/۰۳±۱/۰۷ a	۰/٤۲±۰/۰۱a	۱۱/۰۹±۱/٤۶a	۰/۰۳±۰/۰۱ab	۲۰/۶۳± ۰/۲۷a	۲۶/۵۳±۰/٤۶a	۰/۱۰۶±۰/۰۰۳a	۱۷/۰۸±۱/۱۵a	۰/٤۳۰±۰/۰۰۵bc	۵/۰۳±۰/۲۰a	۷/۱۳±۰/۰۹e

داده‌ها میانگین تکرارها ± خطای استاندارد را نشان می‌دهند. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است

بحث

با افزایش غلظت تیمار نانو ذرات اکسید روی، طول ساقه، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه، سطح برگ، تراکم روزنه‌ها و وزن خشک برگ نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان دادند (جدول ۳). در پژوهش‌های دیگری نیز ازجمله لوبیا (Salama DM et al., 2019) و برنج (Singh et al., 2018) افزایش رشد و بیومس بخش هوایی، در گندم افزایش وزن خشک ریشه (Hussain et al., 2018) در گیاه گوار (Raliya and Tarafdar, 2013) و سویا (López-Moreno et al., 2010)، افزایش طول ریشه و در بادام‌زمینی (Adiga et al., 2018) افزایش تراکم روزنه و سطح برگ گیاهان تحت اثر عنصر روی یا نانو ذرات اکسید روی گزارش شده است.

با توجه به اینکه وزن دانه و وزن غلاف افزایش نشان داد، احتمالا علت کاهش تعداد دانه در غلاف، جبران مقداری از انرژی صرف شده برای افزایش وزن خشک غلاف و وزن دانه‌ها باشد. اثر متفاوت نانو ذرات برصفات مختلف مربوط به غلاف در یک پژوهش بر روی گیاه سویا نیز نشان داده شده است. نانو ذرات اکسید روی هیچ گونه اثری بر تعداد دانه در سویا نداشتند، اما موجب افزایش تعداد غلاف‌ها شدند (Priester et al., 2012). در یک پژوهش مشابه، بهترین عملکرد دانه و غلاف در محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در گیاه بادام‌زمینی به دست آمد (Parmar, 2016). مشابه نتایج پژوهش حاضر، نانو ذرات اکسید روی موجب افزایش وزن دانه در لوبیا شدند. اما برخلاف نتایج بدست آمده که کاهش تعداد دانه در غلاف گوار را نشان داد، در لوبیا به‌کارگیری نانو ذرات اکسید روی موجب افزایش تعداد دانه شد (Salama DM et al., 2019). اثرات متفاوت نانو ذرات بر گیاهان می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی از جمله گونه گیاه، نوع و ویژگی‌های نانو ذرات، غلظت و نحوه به‌کارگیری نانو ذرات بر گیاه باشد. حتی گونه های متفاوت گیاهان در برابر نانو ذراتی با ویژگی‌های متفاوت، واکنش‌های مختلفی نشان می دهند. برخی از نانوذرات پارامترهای رشد را در برخی از گیاهان تحریک می کنند، با این حال، اثرات متناقضی روی برخی دیگر ایجاد می‌کنند (Nair, 2016). مطالعه دیگری بر روی گیاه سویا، کاهش تولید دانه را در گیاهان قرار گرفته در معرض غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات اکسید روی نشان داد (Yusefi-Tanha et al., 2020).

با جذب نانو ذرات اکسید روی از راه برگ، برخی واکنش‌های فیزیولوژیک مانند متابولیسم کربوهیدرات‌ها و تشکیل کلروفیل به نحو مناسبتری انجام می شوند و در نتیجه رشد گیاه افزایش می‌یابد (Song et al., 2015). افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌تواند به دلیل نقش عنصر روی در افزایش سنتز اکسین باشد (Morffy and Strader, 2020). نقش روی در رشد سلول و حفظ ساختار غشاهای سلولی ثابت شده است (Siddiqui et al., 2019). روی با تنظیم بیان مجموعه‌ای از ژن‌های مربوط به انتقال عناصر غذایی، آنتی اکسیداسیون، متابولیسم کربوهیدرات و اسیدهای آمینه، متابولیسم ثانویه و اجزاء دیواره سلولی می‌تواند باعث بهبود رشد گیاه شود (Sun et al., 2020).

طبق نتایج به‌دست آمده. در این پژوهش، اثر نانو ذرات اکسید روی بر مقدار صمغ، فنل کل و فلاونوئید کل افزایشی بود (شکل ۱). در پژوهش مشابهی، افزایش ۵/۸۵ درصد در میزان صمغ گوار نشان داده شده است (Meena et al., 2006). در پژوهشی دیگر این مقدار در غلظت‌های بسیار پایین‌تر نانو ذرات اکسید روی به ۷/۵ درصد افزایش رسید (Raliya and Tarafdar, 2013).

در این این پژوهش، با افزایش غلظت نانو ذرات، مقدار صمغ دانه که نوعی پلی ساکارید است افزایش یافت. بنابراین شاید بتوان افزایش میزان صمغ را مربوط به افزایش واکنش‌های فتوسنتزی وابسته به عنصر روی که مسئول متابولیسم کربوهیدرات در گیاهان هستند، نسبت داد (Blasco et al., 2019; Castillo-González et al., 2018). به‌طور مشابه، افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در اثر محلول‌پاشی با روی در گیاه لوبیا سبز نشان داده شده است (El-Tohamy and El-Greadly, 2007).

در تیمار غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات اکسید روی، با افزایش غلظت نانو ذرات اکسید روی، میزان فنل‌ها و فلاونوئیدهای برگ گوار افزایش نشان دادند. برخلاف نتایج پژوهش حاضر، در گیاه *Lilium ledebourii* Bioss نانو ذرات اکسید روی در غلظت‌های مختلفی، موجب کاهش میزان فنل و فلاونوئیدها شدند (Chamani et al., 2015). افزایش فنل‌ها در گیاهان رزماری و نعناع با افزایش میزان روی (Mohsenzadeh and Moosavian, 2017) و افزایش فلاونوئیدها در گیاه ذرت با افزایش تنش فلزات سنگین توسط پژوهشگران دیگر نیز نشان داده شده است (Kulbat, 2016). عنصر روی می‌تواند با اثر بر بیان ژن‌های مسیر سنتز فنیل پروپانوئید موجب افزایش فنل کل شود همچنین از کاهش بیان ژن *VvPAL* جلوگیری می‌کند این ژن در مسیر تولید فنیل پروپانوئید نقش مهمی دارد و باعث افزایش ترکیبات فنلی می‌گردد. همچنین عنصر روی با افزایش آنزیم ریبولوز بیس فسفات و آنزیم کربنیک انهیدراز با افزایش مقدار کلروفیل می‌تواند بر فتوسنتز اثرگذار باشد و با افزایش متابولیسم کربوهیدرات‌ها موجب افزایش فنل‌ها شود (Song et al., 2015). عنصر روی بر آنزیم‌های شالکون سینتاز و شالکون ایزومراز اثر فعال‌کننده دارد که این آنزیم‌ها نیز در سنتز فلاونوئیدها نقش دارند. همچنین سه ژن *VvCHS, VvMYBF1, VvFLS4* تحت تأثیر عنصر روی موجب افزایش ترکیبات فلاونوئیدی می‌شوند (Song et al., 2015)

نتیجه‌گیری نهایی

در این پژوهش، محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی با اندازه متوسط ۴۰ نانومتر با غلظت‌های مختلف بر روی برگ‌های یک توده بومی گیاه گوار از منطقه ایرانشهر باعث بهبود تدریجی ویژگی‌های مورفولوژی و میزان صمغ، فنل و فلاونوئید در این گیاه شد. موثرترین غلظت این نانو ذرات برای بهبود ویژگی‌های رشد، بیوشیمیایی و فیتوشیمیایی گوار، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر که بالاترین غلظت اعمال شده بود، تعیین شد. به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی، استفاده از نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برای افزایش میزان صمغ گوار به هدف استفاده در صنایع دارویی و نیز بهبود رشد و ویژگی‌های فیتوشیمیایی این گیاه پیشنهاد می‌شود.

References

1. Achayuthakan, P., and Suphantharika, M. 2008. Pasting and rheological properties of waxy corn starch as affected by guar gum and xanthan gum. Carbohydrate Polymers. 71(1):9-17.
2. Adiga, J.D., B.M. Muralidhara, P. Preethi, pathi, L. and Kalaivanan, D. 2018. Effect of zinc and boron application on leaf area, photosynthetic pigments, stomatal number and yield of cashew. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 7(1):1786-1795.
3. Archer, D., and Kramer, D. 2020. The use of microbial accessible and fermentable carbohydrates and/or butyrate as supportive treatment for patients with coronavirus SARS-CoV-2

infection. Frontiers in Medicine. 7(292):5-7.
4. Arkhimandritova, S., Shavarda, A. and Potokina, E. 2020. Key metabolites associated with the onset of flowering of guar genotypes *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. BMC Plant Biology. 20:1-10.
5. Bhatt, R.K., Jukanti, A.K. and Roy, M.M. 2017. Cluster bean *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub., an important industrial arid legume. Legume Research. 40(2):207-214.
6. Blasco, B., Navarro-León, E. and Ruiz, J. 2019. Study of Zn accumulation and tolerance of HMA4 TILLING mutants of *Brassica rapa* grown under Zn deficiency and Zn toxicity. Plant Science. 287:110201.
7. Castillo-González, J., Ojeda-Barrios, D., Hernández-Rodríguez, A., González-Franco, A., Robles-Hernández, L. and López-Ochoa, G. 2018. Zinc metalloenzymes in plants. Interciencia. 43(4):242-248.
8. Chamani, E., Karimi Ghalehtaki, S., Mohebodini, M. and Ghanbari, A. 2015. The effect of zinc oxide nano particles and humic acid on morphological characters and secondary metabolite production in *Lilium ledebourii* Bioss. Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding. 4(2):11-19.
9. Dzyubenko, N.I., Dzyubenko, E.A., Potokina, E.K. and Bulyntsev, S.V. 2017. Clusterbeans *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) taub. Properties, use, plant genetic resourses and expected introduction in Russia. Sel'sskokhozyaistvennaya Biologiya. 52(6):1116-1128.
10. El-Tohamy, W.A., and El-Greadly, N.H.M. 2007. Physiological responses, growth, yield and quality of snap beans in response to foliar application of yeast, vitamin E and zinc under sandy soil conditions. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 1(3):294-299.
11. Fageria, N.K., Filho, M.P.B. and Moreira, A. 2009. Foliar fertilization of crop plants. J. Plant Nutr. 32(6):1044-1064.
12. Gupta, A.P. and D. Verma, K. 2014. Guar gum and their derivatives: A research profile. International Journal of Advanced Research. 2(1):680-690.
13. Hellebust, J.A., and Craigie, J.S. 1978. Handbook of physiological and biochemical methods Cambrige univ, New York and London.512.
14. Hussain, A., and Ali S. 2018. Zinc oxide nanoparticles alter the wheat physiological response and reduce the cadmium uptake by plants. Environmental Pollution. 242:1518-1526.
15. Kazemi Oskuee, R., Hamid, M.H.N.A., Kargar, H., Darroudi, M., Sabouri, Z. and Khorsand Zak, A. 2013. Sol–gel synthesis, characterization, and neurotoxicity effect of zinc oxide nanoparticles using gum tragacanth. Ceramics International. 39(8):9195-9199.
16. Khan, I., Saeed, K. and Khan, I. 2017. Nanoparticles: properties, applications and toxicities. 2017. Arabian Journal of Chemistry. 12(7):908-931.
17. Khater, R.M., and Abd-allah, W.H.A. 2017. Effect of some trace elements on growth, yield and chemical constituents of *Ocimum bacilicum* plants. Egyptian Journal of Desert Research. 23(1):1-23.
18. Kim, D., Lee, J.-Y., Yang, J.S., Kim, J.W., Kim, V.N. and Chang, H. 2020. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. Cell. 181(4): 914-921.e10.
19. Kulbat, K. 2016. The role of phenolic compounds in plant resistance. Biotechnology and Food Sciences. 80(2):97-108.
20. López-Moreno, M.L., De la Rosa, G., Hernández-Viezcas, J.A., Castillo-Michel, H., Botez, C.E., Peralta-Videa, J.R. and Gardea-Torresdey, J.L. 2010. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO_2 nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. Environmental Science & Technology. 44(19): 7315-7320.
21. Meena, K.R., Dahama, A.K. and Rerager, M.L. 2006. Effect of phosphorus and zinc fertilization on

growth and quality of clusterbean *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. Annuals of Agricultural Ressearch. 27(3): 224-226.

22. Meftahizadeh, H., Ghorbanpourb, M. and Asareh, M.H. 2019. Comparison of morphological and phytochemical characteristics in guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) landraces and cultivars under different sowing dates in an arid environment. Industrial Crops and Products. 140:111606.
23. Mianabadi, M., and Hoshani, M. 2015. Antimicrobial and anti-oxidative effects of methanolic extract of *Dorema aucheri* boiss. Jourrnal of Agricultural Science and Technology. 17(3):623-634.
24. Mohsenzadeh, S., and Moosavian, S.S. 2017. Zinc sulphate and nano-zinc oxide effects on some physiological arameters of *Rosmarinus officinalis*. American Journal of Plant Sciences. 08(11):2635-2649.
25. Morffy, N., and Strader, L. 2020. Old town roads: routes of auxin biosynthesis across kingdoms. Current Opinion in Plant Biology. 55:21-27.
26. Mudgil, D., Barak, S. and Khatkar, B.S. 2014. Guar gum: processing, properties and food applications International Journal of Food Science and Technology. 51(3):409-418.
27. Mudgil, D., Barak, S. and Khatkar, B.S. 2016. Effect of partially hydrolyzed guar gum on pasting, thermo-mechanical and rheological properties of wheat dough. International Journal of Biological Macromolecules. 93:131-135.
28. Nair, R. 2016. Effects of nanoparticles on plant growth and development p. 95-118, In C. Kole, et al., (eds.). Plant Nanotechnology Springer, Cham. 383.
29. Nielsen, S.S. 2010. Phenol-Sulfuric acid method for total carbohydrates, p. 177, In S. S. Nielsen, (ed.) Food Analysis Laboratory Manual. Springer, Boston, MA, Boston.
30. Parmar, S. 2016. Effect of ZnO nanoparticles on germination, growth and yeild of ground nut (*Arachis hypogaea* L.) Doctor of philosophy, Anand Agricultural, India. Anand.
31. Priester, J.H., Ge, Y., Mielke, R.E., Horst, A.M., Cole, S. and Priester, J.H. 2012. Soybean susceptibility to manufactured nanomaterials with evidence for food quality and soil fertility interruption. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 109(37):14734-14735.
32. Raliya, R., and Tarafdar, J.C. 2013. ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). Agricultural Research. 2(1):48-57.
33. Salama D.M., Osman, S.A., Abd El-Aziz, M.E., and Abd Elwahed, M.S.A. 2019. Effect of zinc oxide nanoparticles on the growth, genomic DNA, production and the quality of common dry bean (*Phaseolus vulgaris*). Biocatal Agric Biotechnol. 18101083.
34. Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J., Hartenstein, V. Eliceiri, K., Tomancak, P. and A. Cardona. 2012. An open-source platform for biological-image Nature Methods. 9676–682
35. Schulten, A., Bytomski, L., Quintana, J., Bernal, M. and Krämer, U. 2019. Do *Arabidopsis squamosa* promoter binding protein-like genes act together in plant acclimation to copper or zinc deficiency? Plant Direct. 3:1-14.
36. Siddiqui, Z., Parveen, A., Ahmad, L. and Hashem, A. 2019. Effects of graphene oxide and zinc oxide nanoparticles on growth, chlorophyll, carotenoids, proline contents and diseases of carrot. Scientia Horticulturae. 249:374-382.
37. Singh, A., Prasad, S.M. and Singh, S. 2018. Impact of nano ZnO on metabolic attributes and fluorescence kinetics of rice seedlings. Environmental Nanotechnology Monitoring and Management. 9:42-49.
38. Singh, R. 2014. Improved cultivation practices for clusterbean in kharif and summer season improved cultivation practices for clusterbean in kharif and

summer season. Indian Council of Agricultural Research (ICAR). Central Arid Zone Research Institute, Jodhpur.
39. Song, C., Liu, M., Meng, J., Chi, M., Xi, Z. and Zhang, Z. 2015. Promoting effect of foliage sprayed zinc sulfate on accumulation of sugar and phenolics in berries of *Vitis vinifera* cv. Merlot growing on zinc deficient soil Molecules. 20(2): 2536-2554.
40. Sturikova, H., Krystofova, O., Huska, D. and Adam, V. 2018. Zinc, zinc nanoparticles and plants. Journal of Hazardous Matererials. 349:101-110.
41. Sultan, M., Zakir, N., Ashiq Rabbani, M., Shinwari, Z.K. and Shahid Masood, M. 2013. Genetic diversity of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) landraces from Pakistan based on RAPD markers. Pakistan Journal of Botany. 45(3):865-870.
42. Sun, L., Wang, Y., Wang, R., Zhang, P., Ju, Q. and Xu, J. 2020. Physiological, transcriptomic and metabolomic analyses reveal zinc oxide nanoparticles modulate plant growth in tomato. Environmental Science: Nano. 7(11):3587-3604.
43. Torabian, S., Zahedi, M. and Khoshgoftarmanesh, A. 2016. Effect of foliar spray of zinc oxide on some antioxidant enzymes activity of sunflower under salt stress. Journal of Agricultural Science and Technology. 18(4):1013-1025.
44. Walia, N. 2005. Guar gum as a gelling agent for plant tissue culture media. In Vitro Cellular and Developmental Biology- Plant. 41:258-261.
45. Yusefi-Tanha, E., Fallah, S., Rostamnejadi, A. and Pokhrel, L.R. 2020. Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) as a novel nanofertilizer: Influence on seed yield and antioxidant defense system in soil grown soybean (*Glycine max* cv. Kowsar). Science of the Total Environment. 738:140240.
46. Zhang, T., Sun, H., Lv, Z., Cui, L., Mao, H. and Kopittke, P.M. 2018. Using synchrotron-based approaches to examine the foliar application of $ZnSO_4$ and ZnO nanoparticles for field-grown winter wheat. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 66(11):2572-2579.

Investigation of phytochemical and morphological response of a local *Cyamopsis tetragonoloba* L. mass to foliar application of zinc oxide nanoparticles

Bazzi, S.[1, 5,*], Movafeghi, A.[2,*], Valizadeh, J.[3], Valizadeh, M.[4]

[1]Ph.D Student, Department of Plant Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Professor, Department of Plant Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3]Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran
[4]Asistant Professor, Research Center of Medicinal and Ornamental Plants, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran
[5]Instructor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University of Zahedan, Zahedan, Iran

Received: 17-7-2021; Accepted: 22-8-2021

Abstract

Since supplementation of plants with zinc is a solution to improve plant growth and compensate for zinc deficiency in soil, in this study to investigate the nutritional effect of 40 nm zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) on morphological characteristics, seed gum and phytochemical products of leaves of a native mass of *Cyamopsis tetragonoloba* L (Gguar plant) from Iranshahr a completely randomized experiment with three replicates was conducted at the University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran in mid-May 2018. Guar gum content, total phenol content and total flavonoid content were determined by the phenol-sulfuric acid, the Folin–Ciocalteu reagent, and colorimetric aluminum chloride methods, respectively. Seed cultivation was carried out in the greenhouse of Sistan and Baluchestan University in early June 2018. The treatments consisted of six different concentrations of ZnO-NPs including 0 (control), 25, 50, 100, 200, and 500 mg L^{-1} by foliar application of guar plants in two stages (20 and 27 days after sowing seeds). Based on the results, with increasing the concentration of nanoparticles, the number of seeds in pod gradually decreased, but no significant difference was observed in pod length and root length. However, stem length, stem dry weight, root dry weight, leaf area, stomata density, leaf dry weight, 500-seed weight, pod dry weight gradually increased, with the maximum increase observed in the 500 mg L-1 treatment compared to the control. In this treatment, seed gum, total phenol and total flavonoids increased by 2.55, 2.10 and 1.34 times compared to the control treatment, respectively. According to the results, ZnO-NPs nanoparticles with the properties used in this study can be used to improve the growth characteristics and increase the amount of seed gum, phenol and flavonoids of guava leaves and obtain the benefits of their medicinal applications.

Keywords: Iranshahr, Flavonoid, Phytochemical, *Cyamopsis tetragonoloba* L, Zinc oxide nanoparticles