Journal of Horticultural Plants Nutrition
Vol.4, No.1, Spring & Summer 2021
Research Paper

DOI: 10.22070/HPN.2020.5811.1112

Evaluation of the effects of chelated plus Nano fertilizer on yield factors and some secondary metabolites in Marigold (*Calendula officinalis* L.)

Askar Ghani [1] ***, Saeideh Mohtashami*** [2*] ***, Mohammad Esmaeilpour*** [3] ***, Salma Jamalian*** [4]

1- Assistant Professor of Horticultural Science, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran.
askarghani@jahromu.ac.ir
2- Corresponding author and Assistant Professor of Agronomy, Department of Plant Genetic and Production, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran.
mohtashamis@yahoo.com
3- Assistant Professor of Agronomy, Department of Plant Genetic and Production, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran.
mps1362@yahoo.com
4- Assistant Professor of Agronomy, Department of Plant Genetic and Production, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran.
salmajamalian@gmail.com

Received Date: 2019/10/30 Accepted Date: 2020/11/25

Abstract

Introduction: In order to achieve desirable yield based on optimized nutritional management and cost reduction, Nano fertilizer utilization has become abundantly popular. Nano fertilizers accommodate the essential nutrients for the plants incorporated with special carriers at Nano scales. Whereas they exhibit many intense physical and chemical alterations, controlled release in Nano fertilizers is due to a sustained combination of carrier and the nutrients (Sempeho et al., 2014). Foliar application of MnO Nano particles on plants resulted in increased vegetative growth, improved fruit quality, maximum yield and photosynthetic pigments content. By using FeO Nano fertilizers, organic material, protein and lipid content in fruits were also enhanced (Shebl et al., 2019). ZnO nanoparticles increased legume yield in peanut and showed a higher rate of absorption compared to $ZnSo_4$ (Prasad et al., 2012). Strengthening antioxidant activity and increased total phenol after using Nano fertilizer supplements in rice was reported by Singh et al., 2013.

Material and methods: A pot factorial experiment based on completely randomized design with two factors and five replications was conducted. First factor included five levels of fertilizer concentrations (0, 1, 2, 3, 4 g L^{-1}) as foliar application and the second factor was comprised of two levels of foliar spraying (7 and 14 days' interval). The main growth and yield traits and some of the biochemical characteristics of Marigold flower extract were evaluated at this experiment.

Results and discussion: Seven days' interval of 1 g L^{-1} Nano fertilizer foliar application resulted in maximum plant height. The maximum plant height (48.10 cm), flower diameter (40.22 mm) and flower number (38.74) were noticed after 1 g L^{-1} Nano fertilizer at seven days' interval of foliar application. After seven days interval, by increasing Nano fertilizer concentration, decrease in plant height, flower diameter and flower number was also obvious, whereas fourteen days interval of 3 g L^{-1} Nano fertilizer increased both traits. Nano fertilizer utilization at fourteen days' interval resulted an increasing effect on flavone and flavonol content (9.08 mg Quercetin g DW^{-1}). Seven days' frequencies of 3 g L^{-1} Nano fertilizer foliar application, apparently increased total flavonoids (38.20 mg Quercetin g DW^{-1}). Increasing the Nano fertilizer concentration up to 3 g L^{-1}, increased total phenolic compounds and fourteen days' foliar application of Nano fertilizer significantly raised the contents of these compounds compared to seven days' intervals. By increasing Nano fertilizer concentration, antioxidant activity was reduced but fourteen days' intervals showed a significant increase in comparison with seven days. 3 g L^{-1} Nano fertilizer application with seven days' intervals improved most of the photosynthetic pigments.

Conclusions: Generally, these findings confirm the effectiveness of Nano fertilizer application in two intervals on yield factors and active substances contents in Marigold.

Keywords: Nano fertilizer, Phenolic compounds, Antioxidant activity, Photosynthetic pigments, Marigold.

نشریه علمی تغذیه گیاهان باغی
دوره ۴، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۰، (ص ۱۱۲- ۹۷)
مقاله پژوهشی

DOI: 10.22070/HPN.2020.5811.1112

بررسی تاثیر نانو کلات کامل بر شاخصه‌های عملکرد و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)

عسکر غنی [۱]، سعیده محتشمی [۲*]، محمد اسماعیل پور [۳]، سلما جمالیان [۴]

۱- نویسنده مسئول و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران.
askarghani@jahromu.ac.ir
۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران.
mohtashamis@yahoo.com
۳- استادیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران.
mps1362@yahoo.com
۴- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران.
salmajamalian@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۸ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۰۵**

چکیده

جهت دستیابی به عملکرد مطلوب با بهینه‌سازی تغذیه و کاهش هزینه‌ها، استفاده از نانوکودها رایج شده است. برای انجام این تحقیق، آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با ۲ فاکتور و ۵ تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل، غلظت‌های مختلف نانوکود شامل ۵ سطح (شاهد، یک، دو، سه و چهار گرم در لیتر) و فاکتور دوم شامل: دفعات محلول‌پاشی در دو سطح (هفت و چهارده روز یک‌بار) بود. بالاترین ارتفاع بوته (۴۸/۱۰ سانتی‌متر)، قطر گل (۴۰/۲۲ میلی‌متر) و تعداد گل (۳۸/۷۴) پس از کاربرد غلظت یک گرم در لیتر نانوکود در تیمار محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار مشاهده شد. غلظت یک گرم در لیتر نانوکود با محلول‌پاشی چهارده روز، بیشترین تأثیر افزایشی را در ارتباط با میزان فلاون و فلاونول (۹/۰۸ میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) نشان داد. دفعات محلول‌پاشی هفت‌روز با غلظت سه گرم در لیتر نانوکود، به طور معنی‌داری میزان فلاونوئید کل را افزایش (۳۸/۲۰ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) داد. در ارتباط با مقدار ترکیبات فنولی کل، افزایش غلظت تا سطح سه گرم در لیتر باعث افزایش این ترکیبات شد و محلول پاشی چهارده روز روند افزایشی معنی‌داری در این صفت در مقایسه با محلول‌پاشی هفت روز نشان داد. با افزایش غلظت نانوکود، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کاهش یافت اما دفعات محلول‌پاشی چهارده روز یک‌بار افزایش معنی‌داری در مقایسه با هفت روز نشان دادند. غلظت سه گرم در لیتر نانوکود با محلول-پاشی هفت روزه باعث بهبود بیشتر رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید.

کلمات کلیدی: نانوکود، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، رنگیزه های فتوسنتزی، همیشه بهار.

مقدمه

در سال‌های اخیر استفاده بی‌رویه و ناکارآمد از کودهای متداول منجر به هدر رفتن ۴۰ تا ۷۰ درصد از نیتروژن، ۱۰ تا ۹۰ درصد از فسفر و ۵۰ تا ۷۰ درصد از پتاسیم این نوع کودها و ایجاد مشکلات جدی در زمینه محیط زیست شده است (Wasupalli and Verma, 2011). برای غلبه بر این مشکلات، تکنولوژی‌های پیشرفته و راهکارهای نوین به کمک بشر آمده‌اند و از اصلاحات تکنیکی بسیار مفید سال‌های اخیر در زمینه کشاورزی فنآوری نانو است (Sugunan and Dutta, 2008). معرفی فنآوری نانو در کشاورزی از ابتدا به طور خاص با هدف افزایش عملکرد بر اساس بهینه‌سازی مدیریت تغذیه، ایجاد کمترین تلفات در کوددهی و کاهش کاربرد مواد شیمیایی صورت گرفته است (Chen et al., 2013). به عنوان مثال مواد مؤثره در کودهای معمول، اغلب حلالیت کمی در آب دارند و در نتیجه کمتر در دسترس گیاه قرار می‌گیرند و به مراتب مقادیر بیشتری از آنها جهت دستیابی به عملکرد بهینه مورد نیاز است. علاوه براین، بعضی از انواع کودها مستعد آبشویی، تشکیل رسوب و تبدیل شدن به مواد فرار هستند. این عوامل منجر به کاهش راندمان تولید و افزایش هزینه‌ها می‌شوند (Servin et al., 2015). این در حالی است که کودهای نانو پتانسیل بیشتری جهت رهاسازی مواد غذایی دارند و به صورت یکنواخت و پیوسته در طول نمو، این مواد را در اختیار گیاه قرار می‌دهند (Pirzadeh et al., 2019). کودهای نانو عناصر مورد نیاز را به صورت مخلوط شده با حامل‌هایی در مقیاس نانو در اختیار گیاه قرار می‌دهند. از آنجا که مواد در مقیاس نانو تغییرات شدیدی از نظر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی از خود نشان می‌دهند، رهاسازی کنترل شده در کودهای نانو به پایداری مخلوط حامل و مواد غذایی مربوط می‌شود. این مخلوط کشش سطحی زیادی دارد و برهمکنش‌های بین ملکولی قوی‌تری نشان می‌دهد. این ویژگی از حل شدن سریع آنها پس از اضافه کردن به خاک جلوگیری می‌کند (Sempeho et al., 2014). در سال‌های اخیر گزارشات متعددی در ارتباط با کاربرد کودهای نانو در کشاورزی منتشر شده است. طی مطالعه‌ای که در زمینه تأثیر اکسید ریزمغذی‌ها شامل روی، آهن و منگنز به شکل ذرات نانو روی رشد، عملکرد و کیفیت در کدو صورت گرفت، مشخص شد که محلول‌پاشی ذرات نانو اکسید منگنز روی گیاه منجر به بیشترین میزان رشد رویشی، بهترین ویژگی‌های کیفی در میوه، بالاترین عملکرد و بیشترین مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی شد. در عین حال پس از محلول‌پاشی با ذرات نانو اکسید آهن، حداکثر مقدار ماده آلی، پروتئین، چربی‌ها و انرژی در میوه قابل مشاهده بود (Shebl et al., 2019). محلول‌پاشی برگی نانوکودهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم و مخلوط ریزمغذی‌ها، افزایش ارتفاع گیاه و تعداد شاخساره-های جانبی در ماش سیاه را نشان داد (Marimuthu and Suredran, 2015). همچنین Abdel Aziz و همکاران، (2018)، گزارش کردند که نانوکودهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم رشد برگ‌ها را در گندم افزایش دادند. محلول‌پاشی برگی نانوکود نیتروژن، وزن خشک برگ را در گیاه نعناع فلفلی به میزان ۱۶۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (Rostami et al., 2017). در گیاه بادام زمینی، عملکرد محصول به صورت غلاف، پس از استفاده از نانوکود اکسید روی در مقایسه با سولفات روی افزایش معنی‌داری نشان داد. در این تحقیق نانو کود اکسید روی جذب بیشتری توسط گیاه نسبت به فرم شیمیایی روی نشان داد (Prasad et al., 2012). کاربرد کودهای نانو به صورت مکمل در برنج افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل را به همراه داشت. کاربرد اکسید روی به صورت نانوکود منجر به افزایش مقدار قند، پروتئین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در کلم و گوجه فرنگی شد (Singh et al., 2013).

همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) از جمله گیاهان دارویی و زینتی مهم تیره کاسنی (Asteraceae) می‌باشد. وجود مقادیر کمی اسانس، رزین و ساپونین ها، کالندونین، کلسترول، استرول، استراسیدلانوریک و ترکیبات

فلاونوئیدی در این گیاه گزارش شده است (Lebaschi et al., 2004; Pintea et al., 2003). کاربرد گلهای گیاه همیشه بهار شامل استفاده دارویی جهت مداوای بیماری‌های مربوط به معده و روده، مداوای زخم‌های پوستی، ضد التهاب، مصارف آرایشی و بهداشتی به منظور تهیه کرم‌های مختلف و استفاده در صنایع غذایی جهت رنگ کردن مواد غذایی از جمله پنیر وکره است. همچنین روغن بذر آن دارای مصارف صنعتی و دارویی است (Sepahvand et al., 2016). کاربرد کودهای نانو در کنار کاهش هزینه‌ها، پتانسیل تأمین یک یا تعداد بیشتری از عناصر غذایی با راندمان جذب بالا توسط گیاه دارند و این امر منجر به افزایش رشد و عملکرد و بهبود ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی شده است (Liu and Lal, 2015). از طرفی با توجه به اهمیت گیاه همیشه بهار به لحاظ دارا بودن ویژگی‌های دارویی ارزشمند و مصارف مهم صنعتی، تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر تیمارهای مختلف نانو کود کلات کامل بر شاخصه‌های عملکرد و برخی مواد مؤثره گیاه همیشه بهار انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی جهرم (فارس، جهرم، ۲۸ درجه و ۳۰ دقیقه عرض جغرافیایی، ۱۰۵۰ متر ارتفاع از سطح دریا) انجام شد. برای انجام این تحقیق آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با ۲ فاکتور و ۵ تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل، غلظت‌های مختلف نانوکود در ۵ سطح (شاهد، یک، دو، سه و چهار گرم در لیتر) بود. در تیمار صفر در زمان‌های هفت و چهارده روزه، محلول‌پاشی توسط آب معمولی انجام شد که به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. فاکتور دوم شامل: دفعات محلول‌پاشی در دو سطح (هفت روز یک‌بار و چهارده روز یک‌بار) بود. در این تحقیق از گلدان‌های ۷ کیلوگرمی استفاده شد و درون هر گلدان ۴ بوته گل همیشه بهار کشت گردید. بذر گیاه همیشه بهار حدود ۱۵ روز قبل از انتقال به گلدان اصلی داخل خزانه کشت گردید و در مرحله چهار برگی به گلدان‌های اصلی انتقال یافتند. خصوصیات اجزای کمی و کیفی خاک مورد استفاده در جدول ۱ ذکر شده است. بعد از گذشت دو هفته و اطمینان از رشد مجدد نشاها، اعمال تیمارها صورت گرفت. محلول‌پاشی بصورت منظم (هفت روز یا چهارده روز یک‌بار) در عصر ساعت ۱۶، به اندازه‌ای که تمام سطح گیاهان کاملا خیس شوند (به ازای هر گلدان ۲۰ میلی‌لیتر محلول با غلظت مورد نظر) انجام شد. در طی دوره تیماردهی گیاهان که حدود ۷۵ روز طول کشید برای گروه محلول‌پاشی ۷ روزه ۱۰ مرتبه و برای گروه محلول‌پاشی ۱۴ روزه ۵ مرتبه محلول‌پاشی صورت گرفت. مهمترین شاخصه‌های رشد و عملکرد شامل ارتفاع گیاه، تعداد شاخه جانبی، وزن خشک شاخساره، وزن خشک ریشه، قطر گل، تعداد گل، وزن خشک گل و عملکرد گل اندازه‌گیری شد. همچنین برخی از صفات بیوشیمیایی عصاره گل همیشه بهار شامل میزان فلاون و فلاونول، فلاونوئید کل، ترکیبات فنلی کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفت. رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل آ، ب، کل و میزان کاروتنوئید) برگ خشک بوته‌های همیشه بهار به منظور تاثیر تیمارها بر این صفات اندازه‌گیری شد. نانوکودکلات سوپر میکرو به کار برده شده در این تحقیق، ساخت ایران (شرکت فن‌آور سپهر پارمیس) شامل ۱۱ عنصر اساسی مورد نیاز گیاه به صورت یون‌های قابل‌جذب می‌باشد که در جدول شماره ۲ آورده شده است. در ادامه به شرح مختصر برخی صفات اندازه‌گیری شده پرداخته می‌شود.

عصاره‌گیری از نمونه‌های گل خشک شده، توسط حلال متانولی به نسبت ۵ به ۱ (حجمی-وزنی، ۲۵ میلی‌لیتر حلال به ۵ گرم نمونه گل) با استفاده از حلال متانول ۷۰ درصد به روش خیساندن در حلال انجام شد (Wojdylo et al., 2007). میزان فلاون و فلاونول به روش Popova و همکاران (2004) با اندکی تغییر اندازه‌گیری شد

و نتایج به صورت میلی‌گرم اکی‌والانت کوئرستین در گرم وزن خشک بیان شد. در ادامه برای رسم منحنی استاندارد، از غلظت‌های مختلف کوئرستین استفاده شد. اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم انجام شد. تبدیل داده‌های حاصل از جذب به غلظت‌های مختلف کوئرستین با رسم منحنی استاندارد کوئرستین (غلظت‌های ۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر) انجام شد و نتایج بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک بیان شد (Menichini et al., 2008). ترکیبات فنلی کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتئو[1] در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت‌های مختلف گالیک اسید به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و داده‌ها به صورت میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک بیان شد (Wojdylo et al., 2007). اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس آزمون دی‌پی‌پی‌اچ با اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره به ۵ میلی‌لیتر محلول دی‌پی‌پی‌اچ (۰/۰۰۴ درصد) با استفاده از روش Oke و همکاران (2009) با تغییرات جزئی انجام شد. اندازه‌گیری محتوی کلروفیل بر اساس روش Dere و همکاران (1998) با استفاده از حلال متانول و قرائت میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار Minitab نسخه ۱۹ و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

شاخصه‌های رشد و عملکرد

مطابق جدول ۳، غلظت کود نانو تنها بر صفات وزن خشک ریشه و وزن خشک شاخساره اثر معنی‌دار نشان داد و تأثیر دفعات محلول‌پاشی روی قطر گل و تعداد گل معنی‌دار بود. اثر متقابل غلظت کود نانو و دفعات محلول پاشی بر ارتفاع گیاه، قطر گل و تعداد گل، وزن خشک شاخساره و وزن خشک ریشه معنی‌دار بود اما تاثیر تیمارها بر وزن خشک گل و عملکرد گل معنی‌دار نگردید.

ارتفاع گیاه، تعداد ساقه جانبی، وزن خشک شاخساره و وزن خشک ریشه

همان‌طور که در جدول ۴ مشخص شده است، تیمار هفت روز یک‌بار محلول‌پاشی با غلظت یک گرم در لیتر نانوکود بالاترین ارتفاع بوته را نشان داد (۴۸/۱۰ سانتی‌متر) و کمترین میزان مربوط به تیمار شاهد در محلول‌پاشی چهارده روز یک‌بار و غلظت چهار گرم در لیتر نانوکود در محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار بود (به ترتیب ۳۹/۱۰ و ۴۱/۵۰ سانتی‌متر). در ارتباط با صفت ارتفاع بوته، محلول-پاشی هفت روز یک‌بار مؤثرتر از چهارده روز یک‌بار بود. در دفعات محلول‌پاشی چهارده روزه، غلظت یک گرم در لیتر نسبت به سایر غلظت‌های نانو کود منجر به کاهش ارتفاع بوته‌ها و در دفعات محلول‌پاشی هفت روزه، افزایش غلظت کود تنها در سطح یک گرم در لیتر باعث کاهش ارتفاع بوته شد (جدول ۴). وزن خشک شاخساره در غلظت دو گرم در لیتر نانوکود، در هر دو تیمار هفت و چهارده روز محلول‌پاشی، به طور معنی‌داری بیشتر از سایر غلظت‌ها بود. غلظت چهار گرم در لیتر کود نانو فقط در بازه زمانی چهارده روز یک‌بار محلول‌پاشی منجر به افزایش وزن خشک شاخساره شد. در دفعات محلول‌پاشی هفت روز، کمترین میزان مربوط به تیمارهای شاهد و غلظت یک گرم در لیتر (به ترتیب ۵/۳۷ و ۵/۰۵ گرم) بود. در دفعات محلول‌پاشی چهارده روز یک‌بار نیز کمترین میزان مربوط به تیمارهای شاهد و غلظت یک گرم در لیتر (به ترتیب ۵/۲۰ و ۵/۱۲ گرم) بود. در مورد صفت وزن خشک ریشه، در دفعات محلول‌پاشی هفت روز و چهارده روز (به ترتیب ۲/۷۵ و ۲/۹۵ گرم) پس از کاربرد غلظت دو گرم در لیتر نانوکود، بیشترین تأثیر مشاهده شد. در هر دو تیمار محلول‌پاشی هفت و چهارده روز یک‌بار، کمترین وزن خشک ریشه پس از کاربرد غلظت چهار گرم در لیتر نانو-کود مشاهده شد (جدول ۴). در یک پژوهش، ارتفاع گیاه، تعداد برگ و وزن تر و خشک گیاه مرزه، پس از کاربرد

1 . Folin-ciocalteu Sigma-Aldrich

نانو کود روی، افـزایش نشـان داد (Vafa et al., 2015). در سایر تحقیقات، محلول‌پاشی برگـی نـانو کـود آهـن رشـد رویشی در گیاه ریحان را افزایش داد که دلیل آن را افزایش تولید پروتئین خام و کربوهیدرات‌های محلول بیان کرده‌اند (Peyvandi et al., 2011). یکی از اثـرات مثبـت کودهـای نانو حـاوی عنصـر روی، القـای بیوسـنتز اکسـین، تقسـیم سلولی و جذب بهتر سایر عناصر معـدنی اسـت. مجموعـه این عوامل منجر به رشد بهتر گیـاه خواهـد شـد (Rezaei and Abbasi, 2014). تولید اکسـین طبیعـی در گیـاه و بـه دنبـال آن فعـال‌سـازی محـدوده وسـیعی از آنـزیم‌هـا در مسیرهای متعـدد بیوشـیمیایی موجـب تقویـت متابولیسـم کربوهیدرات‌ها (هم در فتوسـنتز و هـم در تبـدیل قنـد بـه نشاسته)، پروتئین‌ها، تشکیل دانه گرده و حفظ نفوذپـذیری غشاهای زیسـتی مـی‌شـود (Alloway, 2008). بـه عقیـده Abdel Aziz و همکاران، (2018)، پس از کاربرد کودهـای نانو، افزایش در دسترس بودن مواد غذایی به واسـطه نفـوذ آسان‌تر ذرات نانو از طریق روزنه‌های برگ منجر به افزایش رشد می‌شود. مطـابق تحلیـل Tanka Mahil and Kumar، (2019)، کودهای نانو نقـش مهمـی در بهبـود فرآینـدهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیـاه دارنـد و منجـر بـه القـای فعالیت‌های مریستمی و در نهایـت رشـد بیشـتر در ناحیـه انتهای شاخساره و ریشه شده و سـطح فتوسـنتز کننـده در گیاه را افزایش می‌دهند. تاثیر منفی غلظـت چهـار گـرم در لیتر بر برخی صفات در دفعات محلـول‌پاشـی هفـت روز، ممکن است به‌دلیل تجمع بالای عناصر و سمیت عناصر در دفعات محلول‌پاشی کوتاهتر باشد.

قطر گل و تعداد گل

از نظر قطـر گـل، بیشـترین میـزان (۴۰/۲۲ میلـی‌متـر) مربوط به غلظت یک گرم در لیتر در محلـول‌پاشـی هفـت روز یک‌بار بـود. در دفعـات محلـول‌پاشـی هفـت روز، بـا افزایش غلظت نانوکود، قطر گل کاهش یافت درحالی‌که در دفعات محلول‌پاشی چهارده روز، کمترین میـزان قطـر گـل (۲۷/۳۶ میلی‌متر) مربوط به تیمار شاهد بـود و بـا افـزایش غلظت نانوکود تا غلظت سه گرم در لیتر (۳۵/۳۴ میلی‌متـر) قطر گل افزایش نشان داد ولی افزایش غلظت بیشتر باعـث

جدول ۱. نتایج تجزیه فیزیکوشیمیایی و عناصر غذایی موجود در خاک مورد استفاده در تحقیق حاضر
Table 1. Physicochemical analysis and nutrient element exist in soil utilized at present study

اسیدیته Soil pH	هدایت الکتریکی EC (ds/m)	رطوبت خاک Soil Moisture (%)	نیتروژن N (mg/g)	فسفر P (mg/g)	پتاسیم K (mg/g)	کربن آلی OC (%)	آهن Fe (mg/kg)
7.33	3.81	38.00	1.80	.011	0.578	1.75	1.80
روی Zn (mg/kg)	مس Cu (mg/kg)	منگنز Mn (mg/kg)	شن Sand (%)	لای Silt (%)	رس Clay (%)	مواد خنثی شونده NV(%) (Total Neutralizing Value)	بافت خاک Soil Texture
1.44	0.60	5.40	71.44	16.4	12.16	57.50	Sandy loam

جدول ۲. میزان کمی و کیفی عناصر غذایی موجود در نانوکود استفاده شده در تحقیق حاضر
Table 2. Quantity and quality of nutrient elements from the Nano fertilizer applied in this research

آهن (%) Fe	منگنز (%)Mn	کلسیم (%) Ca	پتاسیم (%) K	فسفر (%) P	نیتروژن (%)N
4	2	1.5	2	4	5
نوع کود Fertilizer Type	مولیبدن (%) Mo	بر (%)B	مس (%)Cu	منیزیم (%)Mg	روی (%)Zn
Liquid	0.04	0.06	1	1	5

جدول ۳. تجزیه واریانس تأثیر غلظت و دفعات محلول‌پاشی نانوکود بر شاخصه‌های رشد و عملکرد گیاه همیشه بهار (*C. officinalis* L.)

Table 3. Analysis of variance of the effect of concentration and intervals of Nano fertilizer on growth and yield factors of Marigold (*C. officinalis* L.)

Source of Variation	df	Mean square							
		Plant height	Lateral shoot number	Shoot D.W.*	Root D.W.	Flower diameter	Flower number	Flower D.W.	Flower yield
Nano Fertilizer Concentration	4	8.32^{ns}	0.62^{ns}	2.23**	1.56**	21.82^{ns}	26.75^{ns}	0.0005^{ns}	0.36^{ns}
Foliar Spray Frequency	1	7.80^{ns}	1.29^{ns}	0.01^{ns}	0.06^{ns}	289.85**	226.85**	0.0029^{ns}	0.17^{ns}
Concentration Frequency*	4	82.48**	0.67^{ns}	1.15*	0.56*	53.53**	149.95**	0/0013^{ns}	0.54^{ns}
Error	40	19.91	0.32	0.31	0.15	10.18	16.12	0.001	0.39
CV	-	11.08	16.67	12.33	24.15	13.29	17.52	25.76	15.25

*و**: به ترتیب وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

* and ** Significant difference at 5 and 1 percent probability level, respectively

ns: Non significant

D.W.: dry weight

جدول ۴. تغییر در شاخصه‌های رشد در گل همیشه بهار *(C. officinalis* L.*)* تحت تاثیر غلظت و دفعات محلول‌پاشی نانو کود

Table 4. The effects of concentration and intervals of Nano fertilizer on growth properties of Marigold flower (*C. officinalis* L.)

Nano Fertilizer Concentration (g L^{-1})	Plant Height (cm)		Shoot Dry Weight (g)		Root Dry Weight (g)	
	Foliar Spray Frequency		Foliar Spray Frequency		Foliar Spray Frequency	
	Seven Days	Fourteen Days	Seven Days	Fourteen Days	Seven Days	Fourteen Days
Control	47.20 ^{ab}	39.10 ^{c}	5.37 ^{bc}	5.20 ^{c}	2.52 ^{ab}	1.87 ^{de}
1	48.10 ^{a}	42.20 ^{bc}	5.05 ^{c}	5.12 ^{c}	1.81 ^{de}	2.37 ^{bc}
2	42.45 ^{abc}	45.00 ^{ab}	6.35 ^{a}	6.70 ^{a}	2.75 ^{ab}	2.95 ^{a}
3	42.90 ^{abc}	46.80 ^{ab}	6.03 ^{ab}	6.02 ^{ab}	2.41 ^{bc}	2.29 ^{bcd}
4	41.50 ^{bc}	45.10 ^{ab}	5.52 ^{bc}	6.44 ^{a}	1.60 ^{e}	1.95 ^{cde}

* وجود حرف مشترک در هر ردیف و ستون در رابطه با هر صفت نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

*. Means followed by the same letters are not significantly different at 0.05 level according to LSD test

کاهش قطر گل گردید (جدول ۵). بیشترین تعداد گل (۳۸/۵۴ عدد) مربوط به غلظت یک گرم در لیتر، در تیمار محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار بود. در حالی‌که کمترین تعداد گل (۲۴/۹۰ عدد)، مربوط به شاهد در تیمار محلول-پاشی چهارده روز بود. در تیمار محلول‌پاشی هفت روز، افزایش غلظت نانوکود باعث کاهش تعداد گل شد. در صورتی‌که در دفعات محلول‌پاشی چهارده روز با افزایش غلظت تا میزان سه گرم در لیتر، افزایش تعداد گل (۳۵/۱۰ عدد) مشاهده شد و غلظت بیشتر مجددا باعث کاهش این صفت گردید. نتایج صفات رویشی در ارتباط با کاربرد نانوکود کامل نشان داد که غلظت‌های بالا همراه با دفعات محلول‌پاشی کوتاه (هفت روز)، نتایج مثبتی را به همراه نداشته است. در صورتی‌که در غلظت‌های بالاتر (مانند غلظت دو یا سه گرم در لیتر) و دوره محلول‌پاشی طولانی‌تر (چهارده‌روز) نتایج بهتری به دست آمده است (جدول ۵). بر اساس نتایج ارایه شده در جدول ۵، بیشترین تغییر در قطر گل و تعداد گل پس از محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار با کود نانو در غلظت یک گرم در لیتر مشاهده شد. در مورد شاخصه‌های زایشی گل، دفعات محلول‌پاشی به صورت هفت روز یک‌بار سبب تولید گل‌هایی با قطر

بیشتر و تعداد گل بیشتر شدند. گزارشات متعدد، مشابه یا ضد و نقیض در ارتباط با آزمایش حاضر وجود دارند. در این میان از کودهای نانو با ترکیبات متنوع بر گیاهان مختلف استفاده شده است. بر اساس نتایج Janmohammadi و همکاران (2016)، محلول‌پاشی برگی کود نانو TiO_2، اثر معنی‌داری روی تعداد پنجه بارده در گیاه گندم و جو نداشت چون در این گیاهان، تعداد پنجه به طور معمول با عوامل ژنتیکی کنترل می‌شوند و تغذیه کمتر تأثیرگذار است (Arora and Singh, 2004). محلول‌پاشی برگی گیاه نخود با کود نانو NPK، همزمان با افزایش فعالیت هورمون‌های مرتبط با رشد و تقویت فرآیندهای متابولیکی، گلدهی و اجزای عملکرد را افزایش داد (Drostkar et al., 2016). تأثیر نانوکود فسفر و ورمی‌کمپوست بر عملکرد، اجزای عملکرد و درصد اسانس گیاه بابونه آلمانی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که بیشترین تعداد گل در بوته و وزن تر و خشک گلها از تیمار دو گرم در لیتر نانوکود فسفر به دست آمد (Ashnavar et al., 2017). در طول چند سال گذشته بعضی از محققین گزارشاتی در مورد قابلیت بالای کودهای نانو جهت افزایش عملکرد ارائه داده‌اند. کاربرد محلول‌پاشی برگی این نوع کودها منجر به بهبود فاکتور-های مرتبط با عملکرد در گندم شد (Abdel Aziz et al., 2016). طبق تفسیر Drostkar و همکاران (2016)، افزایش عملکرد پس از کاربرد کودهای نانو دارای نیتروژن، فسفر و پتاسیم به صورت محلول‌پاشی در نخود، می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت هورمون‌های رشد، بهبود فرایند گلدهی و تشکیل دانه باشد. همچنین در ارتباط با گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa* L.)، اثرات مثبت نانوکود روی عملکرد بذر، وزن بذر، عملکرد بیولوژیکی و مقدار اسانس این گیاه به اثبات رسیده است (Azizi and Safaei et al., 2017).

مواد مؤثره

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۶، اثر غلظت کودنانو بر میزان فلاوون و فلاونول، میزان فلاونوئید کل، ترکیبات فنولی کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل همیشه بهار معنی‌دار بود. دفعات محلول‌پاشی روی میزان فلاوون و فلاونول، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی‌کل اثر معنی‌داری نشان داد. برهمکنش غلظت کود نانو و دفعات محلول‌پاشی، بر تمام صفات بیوشیمیایی معنی‌دار شد.

جدول ۵. تغییر در شاخصه‌های زایشی گل همیشه بهار (*C. officinalis* L.) تحت تاثیر غلظت و دفعات محلول‌پاشی نانو کود

Table 5. Change in reproductive factors of Marigold flower (*C. officinalis* L.) influenced by concentration and intervals of Nano fertilizer

	Flower Diameter (mm)		Flower Number	
	Foliar Spray Frequency		Foliar Spray Frequency	
Nano Fertilizer Concentration (g L^{-1})	Seven Days	Fourteen Days	Seven Days	Fourteen Days
Control	37.62 ^{ab}	27.32 ^{e}	37.70 ^{ab}	24.90 ^{d}
1	40.22 ^{a}	31.92 ^{cd}	38.74 ^{a}	29.34 ^{cd}
2	35.82 ^{bc}	32.08 ^{cd}	33.20 ^{bc}	34.80 ^{ab}
3	33.84 ^{bcd}	35.34 ^{bc}	29.30 ^{cd}	35.10 ^{ab}
4	34.29 ^{bcd}	31.05 ^{de}	33.60 ^{bc}	27.10 ^{d}

* وجود حرف مشترک در هر ردیف و ستون در رابطه با هر صفت نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

*Means followed by the same letters are not significantly different at 0.05 level according to LSD test

جدول ۶. تجزیه واریانس تأثیر غلظت و دفعات محلول‌پاشی نانوکود بر خصوصیات بیوشیمیایی عصاره و رنگیزه‌های فتوسنتزی گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)

Table 6. Analysis of variance of the effect of concentration and intervals of Nano fertilizer on biochemical traits and photosynthetic pigments of Marigold (*Calendula officinalis* L.) leaf extract (Mean square)

Source of Variation	df	Flavone and Flavonol	Total Flavonoid	Total Phenol Compounds	Antioxidant activity
Nano Fertilizer Concentration	4	23.61**	302.43**	19.27**	1392.68**
Foliar Spray Frequency	1	70.97**	2.88^{ns}	48.50**	5454.32**
Concentration × Frequency	4	18.87**	131.77**	16.87**	1406.53**
Error	40	1.88	5.60	0.11	1.51
CV	-	29.79	24.18	25.74	28.57
Source of Variation	df	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total Chlorophyll	Carotenoid content
Nano Fertilizer Concentration	4	0.10**	0.37**	0.74**	0.02**
Foliar Spray Frequency	1	0.16**	0.01^{ns}	0.28*	0.05**
Concentration × Frequency	4	0.05*	0.47**	0.78**	0.03**
Error	40	0.003	0.002	0.007	0.0004
CV	-	23.99	35.12	28.08	33.13

*و**: به ترتیب وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

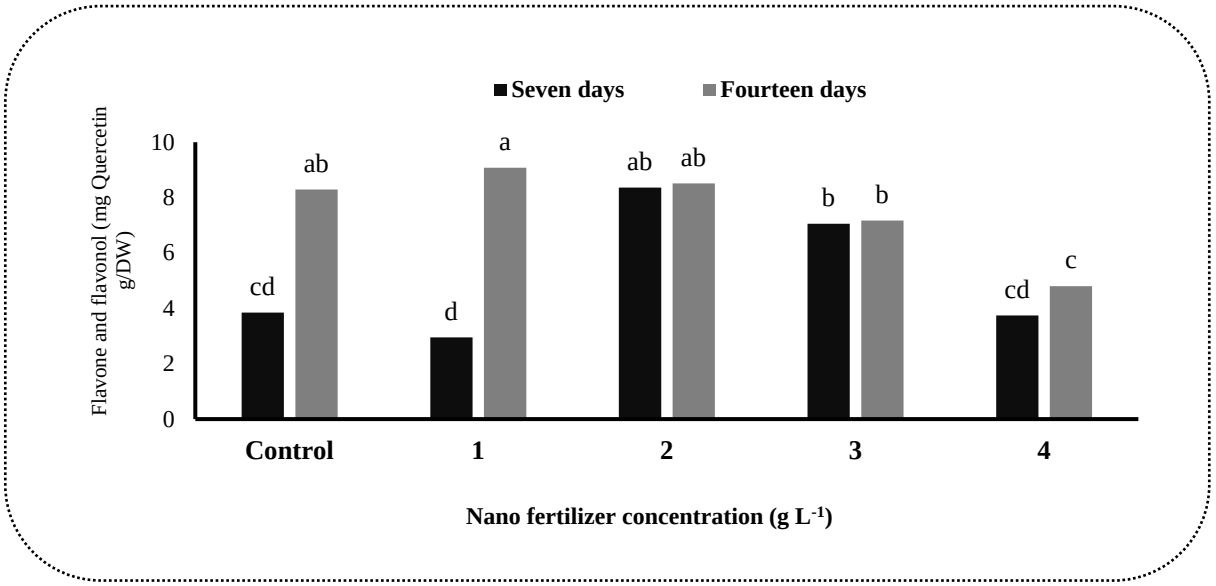
ns : عدم وجود اختلاف معنی‌دار

* and ** Significant difference at 5 and 1 percent probability level, respectively
ns: Non significant

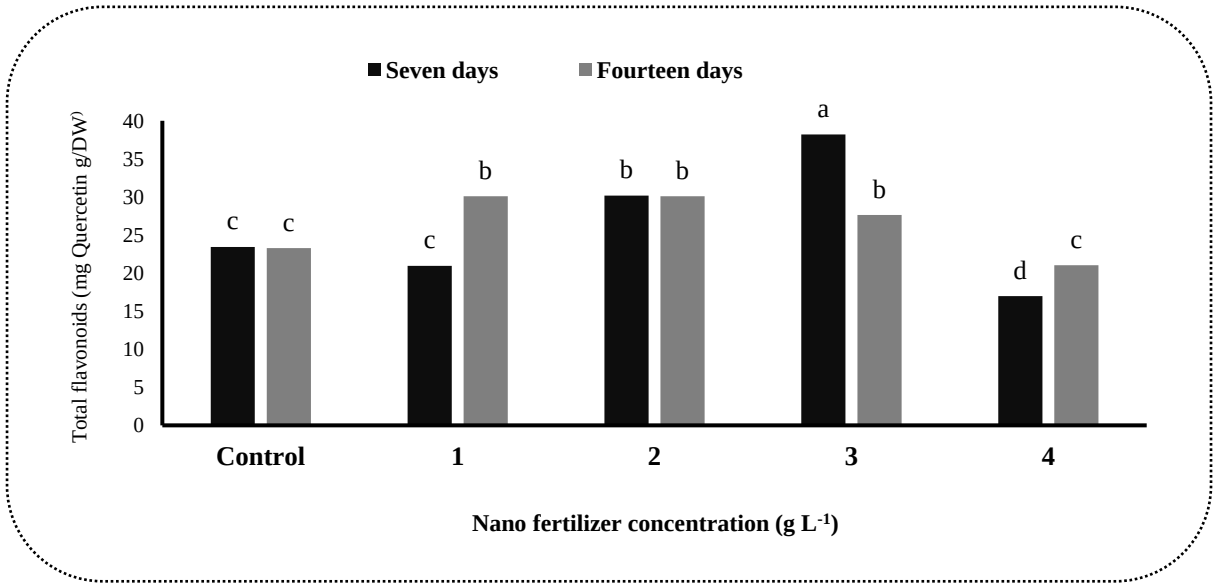
فلاون و فلاونول و فلاونوئید کل

بیشترین میزان فلاون و فلاونول (۹/۰۸ میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) مربوط به غلظت یک گرم در لیتر محلول‌پاشی چهارده روز است. در زمان محلول‌پاشی هفت‌روز، کمترین میزان در غلظت یک گرم در لیتر و بعد از آن تیمارهای شاهد و چهار گرم در لیتر بود. در حالی که بیشترین میزان مربوط به غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود و با افزایش غلظت، میزان این ترکیبات کاهش یافت. در تیمارهای محلول‌پاشی چهارده روز، بیشترین میزان مربوط به غلظت یک گرم در لیتر بود و افزایش غلظت باعث کاهش میزان این ترکیب شد (شکل a–۱). در بررسی اثرات ساده تیمارها مشخص گردید، بدون در نظر گرفتن دفعات محلول‌پاشی، بیشترین میزان فلاون و فلاونول (۸/۴۴ میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) مربوط به غلظت دو گرم در لیتر بود و کمترین میزان (۴/۲۷ میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) در غلظت چهار گرم در لیتر مشاهده گردید. همچنین محلول‌پاشی چهارده روز در مقایسه با هفت روز تاثیر بهتری بر این صفت داشته است (جدول ۷). بیشترین میزان فلاونوئید کل (۳۸/۲۰ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) مربوط به غلظت سه گرم در لیتر در تیمار محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار مشاهده شد (شکل b–۱). در دفعات محلول‌پاشی هفت روز، با افزایش غلظت تا سه گرم در لیتر، افزایش میزان فلاونوئید قابل تشخیص بود ولی در غلظت چهار گرم در لیتر میزان این ترکیب شدیدا کاهش یافت. در دفعات محلول‌پاشی چهارده روز، کمترین میزان مربوط به تیمارهای چهار گرم در لیتر و شاهد بود و بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل b–۱). بدون در نظر گرفتن دفعات محلول‌پاشی، افزایش غلظت کود تا سطح سه گرم در لیتر باعث افزایش میزان فلاونوئید کل گردید (۳۲/۹۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) و افزایش غلظت منجر به کاهش شدید (۱۹/۰۰ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) این ترکیب شد (جدول ۷). دفعات محلول‌پاشی، اثر

معنی‌داری از نظر آماری بر این صفت نداشت. Solanki و همکاران (2015)، گزارش کردند که کاربرد نانوکود منجر به افزایش تولید محصول از طریق افزایش جوانه زنی بذر، رشد دانهال، متابولیسم نیتروژن، فعالیت فتوسنتزی و سنتز کربوهیدراتها و پروتئین‌ها می‌شود. افزایش عملکرد کمی و کیفی محصول می‌تواند به دلیل توزیع یکنواخت مواد غذایی به تمامی قسمت‌های گیاه باشد.



(a)



(b)

شکل ۱. تاثیر غلظت و دفعات محلول‌پاشی نانو کود بر میزان فلاون و فلاونول (شکل بالا) و فلاونوئید کل (شکل پایین) در عصاره گل همیشه بهار (*C. officinalis* L.).

Figure 1. Effect of concentration and foliar application of Nano fertilizer on flavone and flavonol content (a) and total flavonoids (b) in Marigold (*C. officinalis* L.) flower extracts.

ترکیبات فنولی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج مربوط به اثرات متقابل غلظت و دفعات محلول‌پاشی بر میزان ترکیبات فنولی کل در شکل شماره ۲-a ارائه شده است. در تیمار دفعات محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار، افزایش غلظت تا سطح سه گرم در لیتر باعث افزایش این ترکیبات شد (۱۰/۳۱ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم نمونه خشک) و غلظت بیشتر به میزان زیادی این ترکیب را کاهش داد (۵/۰۱ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم نمونه خشک). در دفعات محلول‌پاشی چهارده روز، کمترین میزان مربوط به تیمارهای شاهد و غلظت چهار گرم در لیتر بود و بیشترین (۱۰/۳۵ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم نمونه خشک) میزان مربوط به تیمار یک گرم در لیتر بود. بین غلظت‌های دو و سه گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری از نظر آماری وجود نداشت. بررسی اثرات ساده غلظت کود بر میزان این ترکیب نشان داد که افزایش غلظت کود تا سطح سه گرم در لیتر باعث افزایش ترکیبات فنولی کل شد (۹/۷۵ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک) (جدول ۷). همین‌طور دفعات محلول‌پاشی نیز بر این صفت تأثیر معنی‌داری داشت و محلول‌پاشی چهارده روز یک‌بار باعث افزایش ۲۳ درصدی این ترکیب در مقایسه با محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار گردید (جدول ۷). بررسی اثرات متقابل غلظت و دفعات محلول‌پاشی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل همیشه بهار نشان داد که کمترین میزان این صفت (۲۲/۲۴ درصد)، مربوط به غلظت چهار گرم در لیتر محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار می‌باشد. به طور کل افزایش غلظت کود به جز در تیمار سه گرم در لیتر باعث کاهش این فعالیت گردید. تغییرات فعالیت آنتی-اکسیدانی در تیمارهای چهارده روز یک‌بار کمتر بود و بیشترین میزان (۷۹/۸۸ درصد) در تیمار یک گرم در لیتر مشاهده گردید. افزایش غلظت کود باعث کاهش جزئی این فعالیت شد (۲-b).

اثرات ساده غلظت و دفعات محلول‌پاشی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل همیشه بهار معنی‌دار شد. به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۸/۴۷ درصد) مربوط به تیمار شاهد و کمترین میزان (۴۷/۳۸ درصد) مربوط به غلظت چهار گرم در لیتر نانوکود بود. در واقع با افزایش غلظت نانوکود میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه همیشه بهار کاهش یافت. دفعات محلول‌پاشی نیز بر این صفت تفاوت معنی‌داری داشتند و محلول‌پاشی چهارده روز یک بار باعث افزایش ۲۷/۹ درصدی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه همیشه بهار شد (جدول ۷).

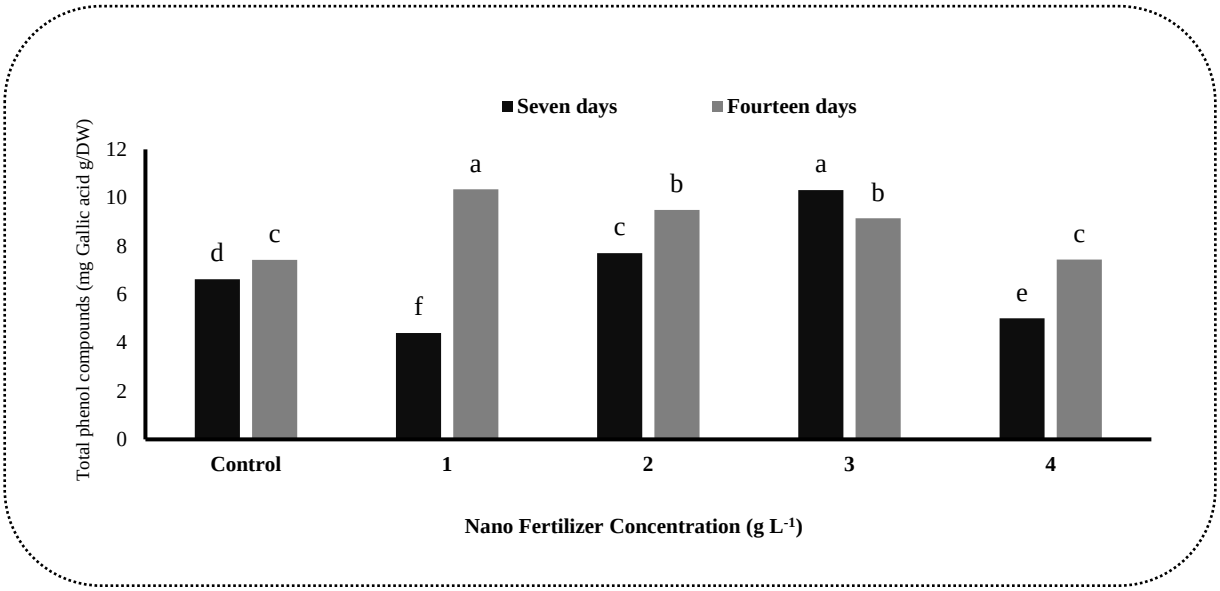
جدول ۷. مقایسه میانگین اثرات ساده غلظت کود نانو و دفعات محلول‌پاشی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی عصاره گل همیشه بهار (*C. officinalis* L.)

Table 7. Mean comparison of simple effect of concentration and intervals of Nano fertilizer on biochemical properties of Marigold (*C. officinalis* L.)

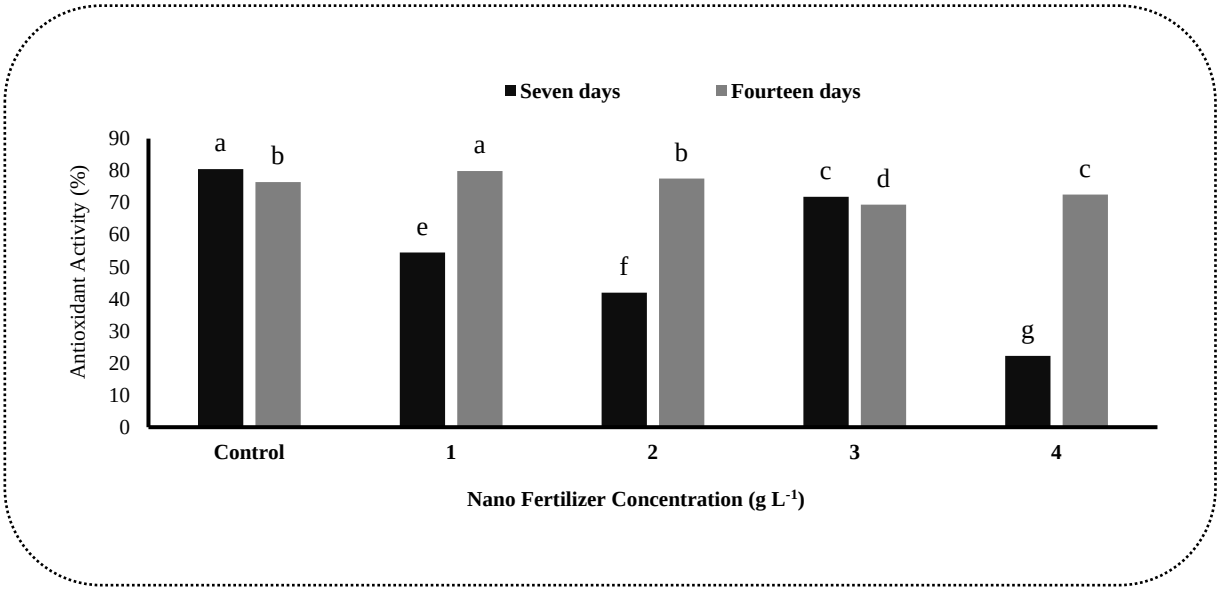
Nano Fertilizer Concentration (g L^{-1})	Flavone and Flavonol (mg Quercetin/g dry weight)	Total flavonoide (mg Quercetin/g dry weight)	Total phenolic compounds (mg Gallic acid/g dry weight)	Antioxidant activity (%)
Control	6.07^{bc}	23.35^{b}	7.03^{d}	78.47^{a}
1	6.02^{bc}	25.53^{b}	7.37^{c}	67.18^{c}
2	8.44^{a}	30.14^{a}	8.60^{b}	59.55^{d}
3	7.11^{ab}	32.91^{a}	9.75^{a}	70.63^{b}
4	4.27^{c}	19.00^{c}	6.23^{e}	47.38^{e}
Foliar Spray Frequency				
Seven Days	5.19^{B}	25.95^{A}	6.81^{B}	54.20^{B}
Fourteen Days	7.57^{A}	26.43^{A}	8.77^{A}	75.17^{A}

*وجود حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

* Means followed by the same letters are not significantly different at 0.05 level according to LSD test



(a)



(b)

شکل ۲. تاثیر غلظت و دفعات محلول‌پاشی نانو کود بر ترکیبات فنولی کل (شکل بالا) و فعالیت آنتی اکسیدانی (شکل پایین) عصاره گل همیشه بهار (*C. officinalis* L.)

Figure 2. Effect of concentration and foliar application of Nano fertilizer on total phenolic compounds (a) and antioxidant activity (b) in Marigold (*C officinalis* L.) flower extracts.

بنابرگزارش Mohammadghasemi و همکاران (2019)، پس از استفاده از کودهای نانو افزایش ویژگی‌هایی نظیر مقدار فنول کل، مقدار فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه بالنگوی شهری (*Lallemantia iberica*) مشاهده گردید. در تحقیق دیگری مشخص شده است که کاربرد نانوکود روی به شکل سولفات روی نتوانست در افزایش آنتوسیانین و فلاونوئید-های برگی نعناع، مؤثر باشد. اما نانو کود آهن به صورت اکسید آهن منجر به افزایش همین ترکیبات در برگ گیاه نعناع شد (Mohammadi et al., 2017). همچنین کاربرد

کودهای نانو روی و مس جهت بهبود صفات بیوشیمیایی گیاه ریحان، نظیر مقدار فنول کل و فلاونوئید کل توصیه شده است (Abbasifar et al., 2019). کاربرد کود نانو در گیاه برنج منجر به افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی شد. به احتمال قوی کاربرد این نوع کود به صورت مکمل و جذب بهتر آن از طریق سلول گیاهی منجر به تأمین عناصر کافی جهت افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شده است (Benzon et al., 2015). گزارشات مختلفی در ارتباط با تأثیر دفعات کوددهی بر شاخصه‌های عملکرد گیاهان مختلف وجود دارد. Badr و Abou *El*-Yazied (2007)، گزارش کردند که دفعات کود آبیاری در گیاه گوجه‌فرنگی روی توزیع نیتروژن به صورت نیترات بسیار اثر بخش است. جذب نیتروژن و راندمان استفاده از نیتروژن توسط گیاه با افزایش دفعات کوددهی بهتر صورت می‌گیرد. از سوی دیگر مشخص شده است که پس از کود آبیاری به صورت روزانه، یک روز در میان و هفتگی در پیاز، اثر معنی‌داری در ارتباط با عملکرد گیاه وجود ندارد (Patel and Rajput, 2005).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس بر رنگیزه‌های فتوسنتزی بجز اثر ساده دفعات محلول‌پاشی معنی‌دار گردید (جدول شماره ۵). نتایج مقایسه میانگین مربوط به این صفات در جدول شماره ۸ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در تیمار دفعات محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار، بالاترین میزان کلروفیل آ (۰/۷۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در غلظت سه گرم در لیتر کود نانو اندازه‌گیری شد بین تیمار شاهد و غلظت یک گرم در لیتر اختلاف معنی داری وجود نداشت. همچنین تیمارهای دو و چهار گرم در لیتر نانو کود در یک گروه قرار داشتند. در تیمار محلول‌پاشی چهارده روز، کمترین میزان در غلظت چهار گرم در لیتر مشاده شد و بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری از نظر آماری وجود نداشت. در محلول‌پاشی هفت روز، از نظر کلروفیل ب، با افزایش غلظت تا سطح سه گرم در لیتر باعث افزایش این فاکتور گردید (۱/۲۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) و با افزایش غلظت، میزان آن شدیدا کاهش یافت در حالی که در محلول‌پاشی چهارده روز، بیشترین میزان (۱/۱۲ میلی-گرم در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار شاهد و کمترین میزان در غلظت چهار گرم در لیتر کود نانو به دست آمد. ارتباط منفی بین افزایش غلظت کود و میزان کلروفیل ب مشاهده گردید. بالاترین میزان کلروفیل کل (۲/۰۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار، مربوط به غلظت سه گرم در لیتر کود نانو بود و کمترین میزان نیز در کاربرد غلظت چهار گرم در لیتر کود مشاهده شد و بقیه تیمارها در یک گروه قرار داشتند. در تیمارهای محلول‌پاشی چهارده روز یک‌بار، بالاترین میزان کلروفیل کل (۱/۷۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در تیمار شاهد و کمترین میزان در غلظت چهار گرم در لیتر کود نانو اندازه-گیری شد. افزایش غلظت نانوکود باعث کاهش میزان کلروفیل کل گردید (جدول ۸). در تیمار محلول‌پاشی هفت روزه نانو کود، کمترین میزان کاروتنوئید (۰/۱۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در غلظت سه گرم در لیتر اندازه‌گیری شد و بین سایر تیمارها اختلاف جزئی وجود داشت. در حالی که در محلول‌پاشی چهارده روز، کمترین میزان (۰/۱۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در تیمار شاهد و بیشترین میزان (۰/۳۵ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در غلظت یک گرم در لیتر کود نانو اندازه‌گیری شد و افزایش غلظت کود باعث کاهش میزان کاروتنوئید گردید (جدول ۸). پس از کاربرد نانو کود روی، افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گزارش Rezaei و Abbasi، (2014) ذکر شده است. مقدار کلروفیل در نخود نیز تحت تأثیر این کود افزایش نشان داد و یک ارتباط مستقیم بین مقدار عنصر روی در برگها و غلظت کلروفیل کل گزارش شده است (Akay et al., 2011). جذب و حرکت سریعتر عنصر روی به سوی دانه، پس از محلول پاشی برگی نانوکود، از طریق آوند آبکش و غشاهای متعددی که ناقل هایشان تحت کنترل عنصر روی هستند صورت می گیرد (Mekkdad et

(al., 2017. با توجه به نتایج پژوهش‌های سایر محققین، در آزمایش حاضر نیز، این احتمال وجود دارد که کاربرد نانو کود کامل با تأثیر بر کلروفیل و سایر رنگیزه‌ها روی شاخصه‌های رشد به طور غیر مستقیم اثر مثبت داشته‌اند که در این ارتباط نیاز به مطالعات بیشتر است. استفاده از نانو کود آهن در گیاه ریحان افزایش عملکرد و بهبود عملکرد اسانس را در پی داشت. در این تحقیق محلول‌پاشی برگی بیشتر از کاربرد خاکی نانوکود اثر بخش بود (Elfeky et al., 2013). Janmohammadi و همکاران (2016)، گزارش کرده‌اند که کاربرد کود نانو دی اکسید تیتانیوم در گیاه جو منجر به افزایش عملکرد دانه می‌شود. علت افزایش عملکرد، بهبود فرایند فتوسنتز از طریق تحریک فسفوریلاسیون چرخه ای و غیر چرخه ای یا خطی توسط دی اکسید تیتانیوم در مقیاس نانو است. این نوع کود با تأثیر مثبت روی ساختار های پیچیده فرایند فتوسنتز و متابولیسم نیتروژن، منجر به افزایش وزن تر و خشک گیاه نیز شده است (Gao et al., 2013).

جدول ۸. تاثیر غلظت و دفعات محلول‌پاشی نانو کود بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گل همیشه بهار (*C. officinalis* L.)

Table 8. The effects of concentration and intervals of Nano fertilizer on photosynthetic pigments of Marigold (*C. officinalis* L.)

	Chlorophyll a (mg/g dry weight)		Chlorophyll b (mg/g dry weight)		Total Chlorophyll (mg/g dry weight)		Carotenoid content (mg/g dry weight)	
	Foliar Spray Frequency		Foliar Spray Frequency		Foliar Spray Frequency		Foliar Spray Frequency	
Nano Fertilizer Concentration ($g\ L^{-1}$)	Seven Days	Fourteen Days	Seven Days	Fourteen Days	Seven Days	Fourteen Days	Seven Days	Fourteen Days
Control	0.51^{c}	0.66^{b}	0.61^{e}	1.12^{b}	1.12^{e}	1.78^{b}	0.21^{d}	0.11^{f}
1	0.47^{c}	0.60^{b}	0.65^{e}	0.86^{c}	1.12^{e}	1.46^{c}	0.20^{de}	0.35^{a}
2	0.37^{d}	0.62^{b}	0.74^{d}	0.84^{c}	1.11^{e}	1.45^{c}	0.17^{e}	0.24^{c}
3	0.77^{a}	0.63^{b}	1.27^{a}	0.61^{e}	2.04^{a}	1.24^{d}	0.14^{f}	0.29^{b}
4	0.37^{d}	0.53^{c}	0.44^{f}	0.42^{f}	0.81^{g}	1.00^{f}	0.21^{d}	0.25^{c}

* وجود حرف مشترک در هر ردیف و ستون در رابطه با هر صفت نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

*.Means followed by the same letters are not significantly different at 0.05 level according to LSD test

نتیجه‌گیری و پیشنهادات

در این آزمایش از بین شاخصه‌های رشد، ارتفاع گیاه با دفعات محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار و در غلظت یک گرم در لیتر نانوکود نتیجه بهتری را نشان داد. در حالی که در ارتباط با وزن خشک شاخساره و وزن خشک ریشه فواصل کوددهی طولانی‌تر (چهارده روز یک‌بار) با غلظت دو گرم در لیتر نانوکود، افزایش بیشتری را نتیجه دادند. با توجه به نتایج تحقیق حاضر و گزارشات مشابهی که در این ارتباط وجود دارد، این احتمال وجود دارد که دفعات محلول‌پاشی کوتاهتر نانو کود منجر به افزایش تولید اکسین و بهبود مسیرهای متابولیکی منتهی به رشد طولی گیاه می‌شود. سنجش و مقایسه صفات مرتبط با افزایش ارتفاع و وزن خشک گیاه در فواصل مختلف کوددهی این موضوع را شفاف‌تر می‌سازد. کاهش فواصل محلول‌پاشی با کود نانو در غلظت یک گرم در لیتر به صورت هفت روز یک‌بار قطر گل و تعداد گل را نیز افزایش داد که می‌توان این مشاهدات را به افزایش در دسترس بودن عناصر غذایی، بهبود فرآیند گلدهی از طریق هورمون‌های مرتبط و متابولیسم و سنتز بهتر کربوهیدرات‌ها نسبت داد. تاثیر منفی غلظت‌های بالاتر ممکن است به دلیل بیش‌بود این عناصر در بافت گیاه باشد. میزان فلاون و فلاونول و همین‌طور فعالیت آنتی‌اکسیدانی با دفعات محلول‌پاشی چهارده روز یک‌بار و غلظت یک گرم در لیتر بیشترین افزایش را نشان دادند. بیشترین میزان فلاونوئید کل با دفعات محلول‌پاشی

هفت روز یک‌بار و کاربرد نانوکود در غلظت سه گرم در لیتر حاصل شد. میزان فنول کل، کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل با دفعات محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار و غلظت سه گرم در لیتر و کارتنوئیدها با دفعات محلول‌پاشی هفت روز یک‌بار و غلظت یک گرم در لیتر، بیشترین افزایش را نشان دادند. به طور کلی، به منظور افزایش صفات ارتفاع، قطر گل و همین‌طور مقدار کارتنوئیدها در گیاه همیشه‌بهار پیشنهاد می‌شود که از غلظت های کمتر نانوکود و با دفعات محلول‌پاشی کوتاه‌تر استفاده شود. دفعات محلول‌پاشی طولانی‌تر در مورد صفات وزن خشک ریشه و شاخساره با کاربرد نانوکود در غلظت دو گرم در لیتر و در مورد میزان فلاون و فلاونول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، با غلظت یک گرم در لیتر نانوکود پیشنهاد می‌شود. توصیه می‌شود برای بهبود مقدار فنول کل، کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل، غلظت سه گرم در لیتر نانوکود و با دفعات محلول‌پاشی کوتاه‌تر استفاده شود. به طور کلی به نظر می‌رسد در دفعات محلول‌پاشی کوتاهتر باید از غلظت‌های کمتر (یک یا دو گرم در لیتر) و در دفعات محلول‌پاشی طولانی‌تر (چهارده روز) از غلظت‌های بالاتر (سه و چهار گرم در لیتر) نانوکود استفاده کرد. البته جهت سهولت در کار و کاهش هزینه‌های محلول‌پاشی فواصل محلول‌پاشی طولانی‌تر توجیه بیشتری دارد.

سپاسگزاری

این پژوهش از طرح تحقیقاتی به‌شماره JU-۱۰۹/۱۳۹۵ مصوب شورای پژوهشی دانشگاه جهرم استخراج شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت محترم آموزشی و پژوهشی دانشگاه جهرم جهت تامین برخی از هزینه‌های این پژوهش تشکر به عمل آورند.

منابع

Abdel-Aziz, H. M. M., Hasaneen, M. N. A., Aya, M. O. 2018. Foliar application of nano chitosan NPK fertilizer improves the yield of wheat plants grown on two different soils. The Egyptian Journal of Experimental Biology (Botany), 14(1): 63-72.

Akay, A. 2011. Effect of zinc fertilizer applications on yield and element contents of some registered chickpeas varieties. African Journal of Biotechnology, 10(61): 13090-13096.

Alloway, D. 2008. Zinc in soils and crop nutrition. Published by IZA and IFA Brussels, Belgium and Paris, France, 135p.

Arora, S., Singh, M. 2001. Interaction effect of zinc and nitrogen on growth and yield of barley (*Hordeum vulgare* L.) on typic ustipsamments. Asian Journal of Plant Sciences, 3(1): 101-103.

Ashnavar, M., Bahmanyar, M. E., Akbarpour, V., Ghorbani, N. 2017. Effect of nanophosphorus and vermicompost on yield and essence percentage in *Matricaria chamomilla*. Journal of Crop Improvement. 1: 177-187.

Azizi, M., Safaei, Z. 2017. The effect of humic acid and Farmex nanofertilizer on morphological traits, yield and essence content in *Nigella sativa*. Journal of Horticulture Science. 30(4): 671-680.

Badr, M. A., Abou El-Yazied, A. A. 2007. Effect of fertigation frequency from subsurface drip irrigation on tomato yield grown on sandy soil. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 1(3): 279-285.

Chen, H. C., Roco, M. C. Son, J. B., Jiang, S., Larson, C. A., Gao, Q. 2013. Global nanotechnology development from 1991 to 2012: patents, scientific publications and effect of NSF funding. Journal of Nanoparticle Research, 15:1951.

Dere, S., T., Gunes, R., Sivaci. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. Journal of Botany, 22: 13- 17.

Drostkar, E., Talebi, R., Kanouni, H. 2016. Foliar application of Fe, Zn and NPK nano-fertilizers on seed yield and morphological traits in chickpea under rainfed condition. Journal of Research in Ecology, 4(2): 221-228.

Elfeky, S. A., Mohammed, M. A., Khater, M., Osmen, Y. A. H., Elsherbini, E. 2013. Effect of magnetite nano-fertilizer on growth and yield of *Ocimum basilicum* L. International Journal of Indigenous Medicinal Plants, 46(3): 1286-1293.

Gao, J., Xu, G., Qian, H., Liu, P., Zhao, P., Hu, Y. 2013. Effects of nano-TiO_2 on photosynthetic characteristics of *Ulmus elongata* seedlings. Environmental Pollution, 176: 63-70.

Janmohammadi, M., Amanzadeh, T., Sabaghnia, N., Dashti, S. 2016. Impact of foliar application of nano micronutrient fertilizers and titanium dioxide nanoparticles on the growth and yield components of barley under supplemental irrigation. Acta Agriculturae Slovenica, 107(2): 265-276.

Lebaschi, M., Sharifi Ashoorabadi, A., Abbaszadeh, B. 2004. Hyperisin for efficient production of nitrogen. Medicinal and Aromatic Plant Research Journal, 20: 441-445.

Liu, R., Lal, R. 2015. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. Science of the Total Environment., 514: 131-139.

Marimuthu, S., Surendran, U. 2015. Effect of nutrients and plant growth regulators on growth and yield of black gram in sandy loam soils of Cauvery new delta zone, India. Cogent Food and Agriculture, 1(1): 1-9.

Mekkdad, A. A. A. 2017. Response of peanut nitrogen fertilizer levels and foliar zinc spraying rates in newly reclaimed sandy soild. Journal of Plant Production Mansoura University, 8(2): 153-159.

Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Loizzo, M.R., Conforti, F., Statti, G., De Cindio, B., Houghton, P.J., Menichini, F. 2009. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero. Food Chemistry, 114(2), 553-560.

Mohammadghasemi, V., Moghaddam, S., Rahimi, A., Pourakbar, L. 2019. Effects of nano-fertilizers on the antioxidant properties of *Lallemantia iberica*. XXIV Conference. Savetovanje o biotechnologiji, Cacak, Serbia.

Mohammadi, M., Majnoun Hosseini, N and Dashtaki, M. 2016. Effect of nano-ferric oxide and zinc sulfate on chlorophyll, anthocyanin, flavonoid and leaf mineral elements of peppermint (*Mentha piperita* L.) at Karaj climatic conditions. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 32(5): 770-783.

Oke, F., B., Aslim, S., Ozturk and S. Altundag. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. Food Chemistry, 112: 874-879.

Patel, N., Rajput, T. B. S. 2005. Effect of fertigation frequency on onion (*Allium cepa*) yield and soil nitrate-nitrogen. Indian Journal of Agricultural Science, 75(11): 725-730.

Peyvandi, M., Parande, H., Mirza, M. 2011. Comparison of the effects of nano-iron chelated with iron chelate on growth parameters and antioxidant and enzyme activity on *Ocimum basilicum*. New Cellular and Molecular Biotechnology Magazine, 1(4): 89-98.

Pintea, A., Bele, C., Andrei, S., Socaciu, C. 2003. HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. Acta Biologica Szegdiensis, 47(1-4): 37-40.

Pirzadah, T. B., Malik, B., Maqbool, T., Rehman, R. U. 2019. Development of nano-bioformulations of nutrients for sustainable agriculture. In: Prasad R, Kumar V, Kumar M, Choudhary D, (eds) Nanobiotechnology in bioformulations. Nanotechnology in life sciences. Springer, Cham, pp: 381-394.

Popova, M.P., V., Bankova, D., Butovska and V. Petkov. 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. Phytochemistry Analysis, 15(4): 235-240.

Prasad, T. N. V., Sudhakar, K. V. P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, v., Raja Reddy, K., Sreeprasad, T. S., Sajanalal, P. R., Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. Journal of Plant Nutrition, 35: 905-927.

Rezaei, M., Abbasi, H. 2014. Foliar application of nano-chelate and non-nanochelate of zinc on plant resistance physiological processes in cotton (*Gossipium hirsutum* L.). Iranian Journal of Plant Physiology, 4(4): 1137-1144.

Rostami, M., Movahedi, Z., Davari, M. R., Siahpoosh, S. 2017. Effect of foliar application of biofertilizer and nano-fertilizers on morpho-physilogical characteristics of peppermint (*Mentha piperita* L.). In: Tropentag 2017-Future Agriculture: Social-Ecological Transitions and Biocultural shifts. Malayer University, Iran.

Sempeho, S. I., Kim, H. T., Mubofu, E., Hilonga, A. 2014. Meticulous overview on the controlled release fertilizers. Adv. Chem. 16 pp.

Sepahvand. A., Sepahvand, F., Sepahvand, S., 2016. Evaluation of medicinal characteristics in *Calendula officinalis*. 7th Conference on Recent Research in Science and Technology. Elm Mehvaran Company. Kerman, Iran.

Servin, A., Elmer, W., Mukherjee, A., Torre-Roche, R. D., Hamdi, H., White, J. C., Bindraban, P., Dimkpa, C. 2015. A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. Journal Nanoparticle Research, 17: 92.

Shebl, A., Hassan, A. A., Salama, D. M. Abd El-Aziz, M. E., Mohamed, S., Abd Elwahed, A. 2019. Green synthesis of nanofertilizers and their application as a foliar for *Cucurbita pepo* L. Journal of Nanomaterials, 3476347. 11 pp.

Singh, D., Rathod, V., Ninganagouda, S, Herimath, J. Kulkarni, P. 2013. Biosynthesis of silver nanoparticles by endophytic fungi *Pencillium* sp. Isolated from Curcuma longa (turmeric) and its antibacterial activity against pathogenic Gram-negative bacteria. Journal of Pharmacy Research, 7: 448-453.

Solanki, P., Bhargava, A., Chipa, H., Jain, N., Panwar, J. 2015. Nano-fertilizers and their smart delivery system. In: Nanotechnologies in food and agriculture, Springer, Cham. Pp: 81-101.

Sugunan, A., Dutta, J. 2008. Pollution treatment, remediation and sensing. In: Harald K (ed) Nanotechnology, vol 3. Wiley-VCH, Weinheim, pp: 125-143.

Thanka Mahil, E. I., Kumar, B. N. A. 2019. Foliar application of nanofertilizers in agricultural crops. Journal of Farm Sciences, 32(3): 239-249.

Vafa, Z. N., Sirousmehr, A. R., Ghanbari, A., Khammari, E., Falahi, N. 2015. Effect of nano-zinc and humic acid in quantitative and qualitative characteristics of savory (*Satureja hortensis* L.). International Journal of Biosciences, 6: 124-136.

Wasupalli, G. K., Verma, D. 2011. Molecular interactions in self-assembled nano-structures of chitosan-sodium alginate-based polyelectrolyte complexes. International Journal of Biological Macromolecules, 114: 10-17.

Wojdylo, A., J. Oszmianski and R. Czemerys. 2007. Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs. Food Chemistry, 1005: 940-949.