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

DOI: 10.22070/HPN.2021.5613.1101

Effects of foliar application of fulvic acid and zinc oxide nanoparticle on some growth parameters and essential oils of lemon basil *(Melissa officinalis L.)*

Nasser Hamzeh Nourdoz [1] ***, Saeedeh Alizadeh Salteh*** [2] ***, Gholamreza Gohari*** [3*]

1- MSc, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
yashlyaprag89@gmail.com
2- Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
s.a.salte@gmail.com
3- Corresponding Author and Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran.
gohari.gh@maragheh.ac.ir

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

Abstract

Introduction: Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) of the family *Lamiaceae* is an aromatic perennial subshrub native to the eastern Mediterranean region and western Asia. Lemon balm is one of important medicinal crops in Iran. There are three subspecies of *Melissa officinalis* subsp. *officinalis*, subsp. *inodona* and subsp. *altissima*; however, only subsp. *officinalis* has a commercial value with characteristic lemony odor, which makes it favorite for cultivation in Iran. It has long been used for its soothing medicinal effects and herbal aromatic properties (Sari and Ceylan 2002) in folk therapy. This plant has been traditionally used to treat fever, catarrh, headaches, influenza and insomnia. Essential oil is also believed to have spasmolytic, sedative and moderate antibacterial characteristics. Humic acid can be classified as humin, humic acid, and fulvic acid depending on its solubility at different pH. Humic acid precipitates at low pH, but fulvic acid is soluble (Lee et al., 2004). There are many complex compounds in the fulvic acid fraction; thus, the exact chemical structure is not well known. Zinc has been considered as an essential micronutrient for metabolic activities in plants. It regulates the various enzyme activities and required in biochemical reactions leading to formations of chlorophyll and carbohydrates (Auld et al., 2001). Zinc Nano-particle is used in various agricultural experiments to understand its effect on growth, germination, and various other properties. Nano-particles with smaller particle size and large surface area are expected to be the ideal material for use as Zn fertilizer in plants. Application of micronutrient in the form of Nanoparticles (NPs) is an important route to release required nutrients gradually and in a controlled way, which is essential to mitigate the problems of soil pollution caused by the excess use of chemical fertilizers. Researchers have reported the essentiality and role of zinc for plant growth and yield (Laware, and Raskar et al., 2014). Nano scale titanium dioxide (TiO_2) was reported to promote growth and essential oil compounds in *Dracocephalum moldavica* (Gohari et al., 2020). In the present study the experiment was carried out to understand the effect of zinc oxide nanoparticle (ZnO NPs) and fulvic acid foliar application on growth and essential oil content of *Melissa officinalis* L..

Material and methods: The experiment was conducted in the research greenhouse at Varzeghan, East Azarbayjan province, Iran (longitude 46°43' E, latitude 38°42' N, altitude 1115 m). The study was done as factorial experiment using a completely randomized design (CRD) in three replications. Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) seedling were purchased from Zarrin Giah Company (Urmia, Iran). Tree plants were transplanted into each 10-kg pot containing soil. Then, planted pots irrigated with water every week. The foliar application treatments including fulvic acid (0, 10 and 25 mg/L) and ZnO NPs (0, 20 and 40 mg/L) were applied four weeks after transplanting into the pots. All plants were irrigated with water until harvest at the same manner and treated water. All measurements (morphological parameters, SPAD, leaf area, P and K concentrations, total phenolic contentment and antioxidant capacity, essential oil content) were performed at the harvest stage. Three technical replications were set for each measurement of the parameters.

Results and discussion: The results demonstrated that foliar application of fulvic acid and ZnO NPs could improve agronomic traits, SPAD, leaf area, P and K concentrations, total phenolic contentment and antioxidant capacity, essential oil content. These positive effects were more considerable at its moderate dose (10 and 20 mg/L fulvic acid and ZnO NPs, respectively) introducing it as the best treatment to enhancement of lemon balm performance especially its essential oil content. Gohari et al (2020) reported that application of TiO_2 enhanced essential oil content. Given that fulvic acid and ZnO NPs, individually, have promising effects on different plants processes, the idea of their combination in same time caused to its treated for doubled positive effects.

Conclusions: To be brief, the positive response of lemon balm to fulvic acid and ZnO NPs introduces organic and nanoparticle application as a supportive approach in plant production. This positive effect is more considerable by given attention to plant essential oil with importance in the cosmetic and pharmaceutical industries.

Keywords: Foliar application, Medicinal plants, Nanotechnology, Organic fertilizer, Secondary metabolite.

نشریه علمی تغذیه گیاهان باغی
دوره ۴، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۰، (ص ۳۰- ۱۷)
مقاله پژوهشی

DOI: 10.22070/HPN.2021.5613.1101

اثرات تغذیه برگی اسید فولویک و نانو اکسید روی بر برخی ویژگی‌های رشدی و اسانس گیاه بادرنجبویه *Melissa officinalis* L.

ناصر حمزه نوردوز [۱]، سعیده علیزاده سالطه [۲]، غلامرضا گوهری [۳*]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد،گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
yashlyaprag89@gmail.com

۲- دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
s.a.salte@gmail.com

۳- نویسنده مسئول و دانشیارگروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.
gohari.gh@maragheh.ac.ir

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

چکیده

به منظور بررسی اثرات محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید فولویک (۰، ده و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر) و نانواکسید روی (۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر) بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمایی گیاه بادرنجبویه آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با نه ترکیب تیماری و سه تکرار به اجرا در آمد. در ادامه برخی صفات ریخت شناختی (ارتفاع گیاه، قطر ساقه، وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه)، صفات فیزیولوژیکی (سطح برگ و رنگیزه‌های فتوسنتزی)، صفات بیوشیمایی (فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل)، غلظت پتاسیم، فسفر و محتوای اسانس گیاه بادرنجبویه اندازه‌گیری شد. کاربرد همزمان اسید فولویک و نانوذرات اکسید روی باعث افزایش معنی‌دار میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل و محتوای فنول کل گیاه بادرنجبویه گردید. بیشترین مقدار پتاسیم (۲۴/۵ میلی گرم بر گرم وزن خشک) در گیاهان تیمار شده با اسید فولویک ۲۵ میلی‌گرم در لیتر با نانو اکسید روی ۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید. همچنین، تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی باعث افزایش غلظت فسفر (۰/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در برگ‌های گیاه بادرنجبویه شد. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، تیمار ترکیبی اسیدفولویک با غلظت ده میلی‌گرم در لیتر با نانو اکسید روی با غلظت۲۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین درصد اسانس را با ۰/۲۹ درصد به خود اختصاص داد. چنین به نظر می‌رسد که کاربرد اسید فولویک و نانو اکسید روی می‌تواند با بهبود شرایط رشدی گیاه باعث افزایش عملکرد و تولید گیاه دارویی بادرنجبویه شود و از نظر اقتصادی به تولیدکنندگان این محصول کمک نماید.

کلمات کلیدی: تغذیه برگی، کود آلی، گیاهان دارویی، متابولیت‌های ثانویه، نانوتکنولوژی.

مقدمه

در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به دلیل اثبات اثرات مفید آن، ارزان بودن، نداشتن اثرات جانبی همچنین، سازگار بودن با محیط زیست روزبه‌روز در حال افزایش است (Joshi et al., 2004). بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) یکی از گیاهان دارویی مهم است که نقش مؤثری در تقویت حافظه و درمان آلزایمر دارد و به عنوان ضد تشنج، تسهیل‌کننده عمل هضم، رفع تپش قلب، سردرد و سرگیجه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bagdat and Cosge, 2006). امروزه به دلیل ارزش اقتصادی و تجاری ترکیبات استخراج شده از بادرنجبویه، زراعت و کشت آن به صورت تجاری در سطح وسیع افزایش یافته است (Hassan et al., 2019).

تغذیه برگی، روشی جهت کاهش تثبیت کودهای شیمیایی در خاک و در نتیجه کاهش خطرات محیطی از جمله آلودگی خاک و آب است. با این روش تغذیه می‌توان عناصر را در سریع‌ترین زمان در اختیار گیاه قرار داد. همچنین، تغذیه برگی می‌تواند در رشد گیاه و افزایش عملکرد آن مؤثر باشد (Alshaal and El-Ramady, 2017). از مهم‌ترین زمینه‌های تحقیقی در مورد گیاهان دارویی، بررسی شرایط مختلف تغذیه برگی و تأثیر آن بر میزان عملکرد کمی و کیفی این گیاهان است (Ashraf and Orooji, 2006).

ترکیبات هیومیک در کشاورزی ارگانیک در دسته اصلاح‌کننده‌ها و محرک‌های طبیعی قرار دارند. این ترکیبات علاوه بر تاثیر مستقیم بر رشد گیاه بعنوان محرک رشد، با تأثیر بر برخی ویژگی‌های رشدی، نقش مهمی در افزایش رشد و بهبود عملکرد گیاهان دارند (Arancon et al., 2006). مواد هیومیکی بر جذب عناصر غذایی و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان اثرات مثبتی دارد (Schiavon et al., 2010). اسیدهای فولویک مجموعه‌هایی از زنجیره‌های آلیفاتیک ضعیف و اسیدهای ارگانیک آروماتیک می‌باشند. قدرت تبادل یونی اسید فولویک بیشتر از اسید هیومیک است. این قدرت تبادل یونی بالا به دلیل حضور گروه کربوکسیل موجود در اسید فولویک می‌باشد (Petitt, 2004). همچنین، اسید فولویک دارای فنول کم و گروه آروماتیک کمتری در مقایسه با اسید هیومیک استخراج شده از همان منبع می‌باشد. اسید فولویک به عنوان فعال‌ترین ترکیب هیومیکی از طریق کلات‌کنندگی عناصر غذایی و با قدرت تبادل یونی بالا، جذب عناصر معدنی را در گیاهان افزایش می‌دهد که در نتیجه آن، مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی افزایش یافته و باعث افزایش کیفیت و کمیت محصول می‌گردد (Vaughan and Linehan, 2004; Swat et al., 2019). Sarkar و همکاران (2020) گزارش کردند که محلول‌پاشی اسید فولویک باعث بهبود ویژگی‌های کیفی و آنتی‌اکسیدانی آلبالو رقم گیسی گردید.

کشاورزی نانو شامل کاربرد نانو ذرات با اندازه یک تا ۱۰۰ نانومتر است که اثرات مفیدی بر رشد و عملکرد گیاهان دارند. موفقیت استفاده از فناوری نانو در سطوح مختلف، باعث ایجاد علاقه به معرفی فناوری نانو برای تولید روش‌های جدید در سیستم‌های کشاورزی و افزایش کیمت و کیفیت مواد غذایی شده‌است (Khodakovskaya and Biris, 2019). اگرچه مطالعات مربوط به تأثیر نانوذرات رو به افزایش است، اما هنوز اطلاعات در دسترس بسیار کم بوده و در بعضی موارد نتایج متناقض اثرات آن‌ها در مطالعات مختلف گزارش شده است به طوری که در بررسی اثر آن‌ها بر رشد و نمو گیاهان هر دو اثر منفی و مثبت گزارش شده است (Monica and Cremonini, 2009). در سال‌های اخیر نانو اکسید روی به‌طور گسترده‌ای در صنعت استفاده می‌شود. با این‌حال مطالعات چندانی در مورد سنتز و ظرفیت استفاده از آن در کشاورزی انجام نشده است (Faizan et al., 2020). عنصر روی یک جزء مهم از آنزیم‌های مختلف است که مسئول انجام بسیاری از واکنش‌های سوخت و ساز در گیاهان است (Avinash et al., 2010). عنصر روی برای سنتز آنزیم‌هایی که در سنتز تریپتوفان، که پیش‌ساز تولید ایندول

استیک اسید می‌باشد، ضروری است. این عنصر در فعالیت اکسین‌ها و سنتز پروتئین و افزایش سطوح RNA در گیاهان نقش مهمی دارد (Ravi et al., 2008). Adhikari et al., (2015) گزاش کردند که آبیاری گیاهان ذرت با نانو اکسید روی باعث بهبود رشد، گسترش سطح برگ و وزن خشک برگ ذرت شده است. همچنین، تیمار گیاهان ذرت با نانو ذرات اکسید روی عملکرد بهتری را نسبت به اکسید روی به دلیل خواص نانو داشتند. سطح تماس بالای نانو ذرات اکسید روی منجر به تماس بهتر بین نانو اکسید روی و عناصر خاک می‌شود به عبارت دیگر نانو ذرات اکسید روی بیشتر جذب می‌شوند که می‌تواند باعث افزایش رشد گیاهان شود (Ma et al., 2014). با توجه به اهمیت فراوان گیاه دارویی بادرنجبویه در تولید اسانس حاوی ترکیب‌های مفید در زمینه تولید داروهای گیاهی همچنین، تأثیر مثبت عناصر کم‌مصرف و اسید فولویک بر شاخص‌های رشدی و تولید اسانس، این آزمایش به منظور بررسی اثرات کاربرد همزمان این دو ترکیب در گیاه بادرنجبویه انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و نحوه اعمال تیمار

این آزمایش در گلخانه واقع در شهرستان ورزقان با مختصات جغرافیایی ۴۶ درجه و ۴۳ دقیقه طول شرقی و ۳۸ درجه و ۴۲ دقیقه عرض شمالی و با ارتفاع ۱۶۸۳ متر از سطح دریا در سال زراعی ۹۷-۹۸ انجام گرفت و مطالعات آزمایشگاهی نیز در آزمایشگاه تولید و فرآوری گیاهان دارویی گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه تبریز انجام شد. ابتدا نشاهای گیاه بادرنجبویه در اردیبهشت ماه از شرکت تعاونی زرین گیاه ارومیه تهیه و پس از انتقال نشاءهای بادرنجبویه به گلدان‌های ۱۰ لیتری، در شرایط یکسان تا رسیدن به مرحله مناسب (ده برگ حقیقی) برای محلول‌پاشی، با محلول یک چهارم هوگلند آبیاری شدند و تا انتهای ازمایش با آب معمولی ابیاری شدند. سپس تیمارهای مورد نظر با غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانو اکسید روی در سه تکرار به مدت سه هفته (هفته‌ای یک‌بار) اعمال شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با غلظت‌های مختلف اسیدفولویک (۰، ده و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر) و نانو اکسید روی (۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌صورت محلول‌پاشی برگی انجام گرفت. سرانجام در انتهای فصل رشد (مرحله تمام‌گل) گیاهان برداشت گردیدند. گلخانه مورد استفاده در این آزمایش دارای پوشش پلی اتیلنی و مجهز به سیستم سرمایش از نوع فن و پد بود و در طول آزمایش دمای گلخانه بین ۲۰ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی در حدود ۵۰ تا ۶۰ درصد و نور در محدوده ۵۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه کنترل گردید.

نانوذرات اکسید روی در آزمایشگاه نانوشیمی دانشگاه مراغه تهیه گردید. نانوذرات روی اکسید با روش سل ژل، با استفاده از پلی اتیلن گلیکول تهیه شد. ابتدا یک گرم از پلی اتیلن گلیکول در ۲۰ میلی‌لیتر اتانول در داخل یک بشر حل شد تا یک محلول شفاف ایجاد شود. سپس یک گرم از نیترات روی داخل محلول به دست‌آمده حل شد و در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد در حمام روغن، تا تشکیل شدن ژل ویسکوز همزده شد. ژل ویسکوز حاصل در دمای ۳۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت نیم ساعت خشک شد. برای به دست آوردن نانوذرات اکسید روی، پیش‌ماده متخلخل حاصل شده، به مدت شش ساعت در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد کلسینه شد و پودر شیری رنگ نانو اکسید روی به دست آمد.

اندازه‌گیری صفات

اندازه‌گیری صفات رشدی

ارتفاع گیاهان هر تکرار، با استفاده از متر فلزی اندازه‌گیری شد. تعداد شاخه‌های جانبی با شمارش تعداد شاخه‌های رشد کرده در هر بوته به‌دست‌آمد. به منظور اندازه‌گیری وزن تر و خشک، بخش هوایی و ریشه گیاهان بصورت جداگانه توسط ترازوی دیجیتال توزین

شده سپس به مدت ۴۲ ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و وزن خشک آن‌ها محاسبه شد. قطر ساقه با استفاده از کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری سطح برگ، ۲۰ برگ از هرگیاه انتخاب شد و با استفاده از دستگاه سنجش سطح برگ مدل (LI-Cor, Li 1300, USA) اندازه‌گیری گردید. شاخص نسبی کلروفیل برگ (SPAD) نمونه‌ها را با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج (Hansatech- Model-cl-01) در دو مرحله، که مرحله اول در اواسط دوره رشد و در مرحله دوم در اواخر دوره رشد اندازه‌گیری گردید. در هر نمونه‌برداری تعداد ده برگ جوان کاملا توسعه یافته از هر گیاه انتخاب و بعد از اندازه‌گیری، میانگین برای هر گیاه محاسبه گردید.

جدول ۱- نتایج آنالیز ویژگی‌های خاک

Table 1. The Soil analysis

pH	EC dS/m	OM %	Soil texture	FC %	$CaCo_3$ (mg/g)	K (mg/g)	P (mg/g)
7.1	0.72	1.11	Loamy Sand	23	0.010	0.224	0.33

اندازه‌گیری محتوای فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری محتوای فنول کل برگ از روش فولین سیکالتو استفاده گردید. بدین منظور نیم میلی‌لیتر از معرف فولین سیکالتو به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره برگ بادرنجبویه و استانداردهای اسید گالیگ اضافه و سپس به محلول حاصل چهار میلی‌لیتر سدیم کربنات یک مولار اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد (Kaur and Kapoor, 2000).

جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ بادرنجبویه از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی و با کمک ۲-۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد (Dehghan and Khoshkam, 2012). برای این منظور دو میلی‌لیتر از محلول اتانولی ۰/۱۵ میلی‌مولار DPPH به لوله آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر عصاره برگ بادرنجبویه اضافه شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه ورتکس مخلوط شد، بعد محلول به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق تثبیت گردید. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومترمدل (UV-Vis Camspec M350 spectrophotometer) قرائت گردید.

اندازه‌گیری غلظت فسفر و پتاسیم

غلظت پتاسیم از طریق روش نشر شعله ای و در طول موج در طول‌موج ۷۶۶/۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. همچنین، میزان فسفر برگ به روش رنگ سنجی وانادات-مولیبدات اندازه‌گیری شد. در این روش یون‌های ارتوفسفات در محیط اسیدی با محلول وانادات- مولیبدات کمپلکس زردرنگ فسفو وانادومولیبدات را تشکیل دادند که حداکثر جذب را در طول‌موج ۴۳۰ نانومتر نشان داد (Cottenie, 1980).

اندازه‌گیری محتوای اسانس

برای تعیین محتوای اسانس اندام‌های هوایی گیاهان در هوای معمولی و شرایط سایه به مدت پنج روز قرار داده شده و بعد از خشک شدن کامل و رسیدن به وزن ثابت، ۵۰ گرم از ماده خشک را آسیاب کرده و محتوای اسانس به روش تقطیر با آب بر مبنای روش پیشنهادی فارماکوپه اروپا و با استفاده از دستگاه کلونجر اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری

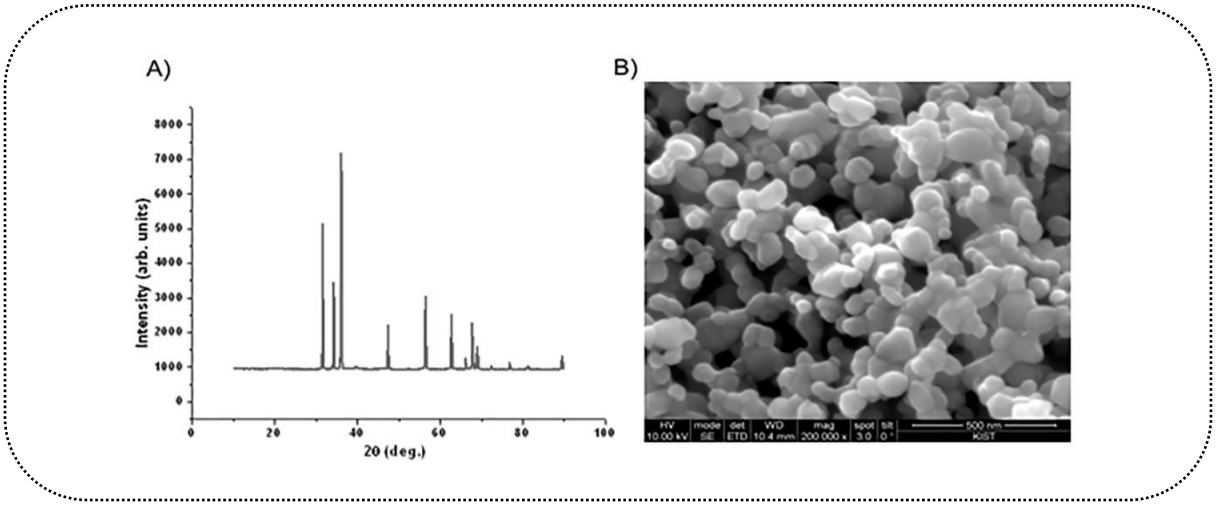
تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل و ارزیابی آنالیز واریانس، با استفاده از نرم‌افزار SAS System 18 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح

احتمال یک و پنج درصد انجام شد و نمودارها با نرم‌افزار Excel 2016 رسم گردید.

نتایج و بحث

آنالیز نانو ذره اکسید روی

از آنالیز XRD پراش اشعه ایکس به منظور تعیین نحوهٔ تشکیل ساختار و فاز نانوذرات سنتز شدهٔ اکسید روی استفاده شده است. بر اساس الگوی XRD بدست آمده می‌توان ساختار نانوذرات اکسید روی تهیه شده را به صورت دو زیر شبکهٔ یون‌های Zn^{2+} و O^{2-} در نظر گرفت به طوری که هر یون روی توسط یون‌های تتراهدرال اکسیژن در برگرفته شده‌اند و برعکس (شکل A.۱). علاوه بر این از آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی برای مطالعهٔ مورفولوژی سطح نانوذرات سنتز شدهٔ اکسید روی استفاده شد. همانطور که در شکل (B.۱) مشاهده می‌شود نانوذرات اکسید روی تجمع یافته به صورت کروی شکل در اندازه‌ای مابین ۸۰ الی ۱۰۰ نانومتر می‌باشند.



شکل ۱- نتایج آنالیز نانو ذره سنتز شده با استفاده از روش پراش اشعه ایکس (A) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (B).
Fig 2. FTIR spectrum (A), SEM image (B) of synthesized zinc oxide nanoparticle.

خصوصیات موروفولوژیکی گیاه بادرنجبویه

نتایج مقایسه میانگین صفات موفولوژیکی نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته (۴۱/۳۳ سانتی‌متر) مربوط به تیمار ترکیبی (۲۵ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی) بود و کمترین ارتفاع گیاه مربوط به تیمار شاهد (۳۳/۳ سانتی‌متر) و تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی بدون کاربرد اسید فولویک بود (شکل A.۲). کاربرد اسید فولیک به تنهایی و بدون حضور نانو اکسید روی تاثیر معنی‌داری بر ارتفاع گیاهان نداشت و چنین به نظر می‌رسد کاربرد جداگانه این دو ترکیب تاثیر زیادی ندارد ولی ترکیب تیماری این دو ماده اثر هم‌افزایی داشته و باعث بهبود شاخص‌های رشدی گردد.

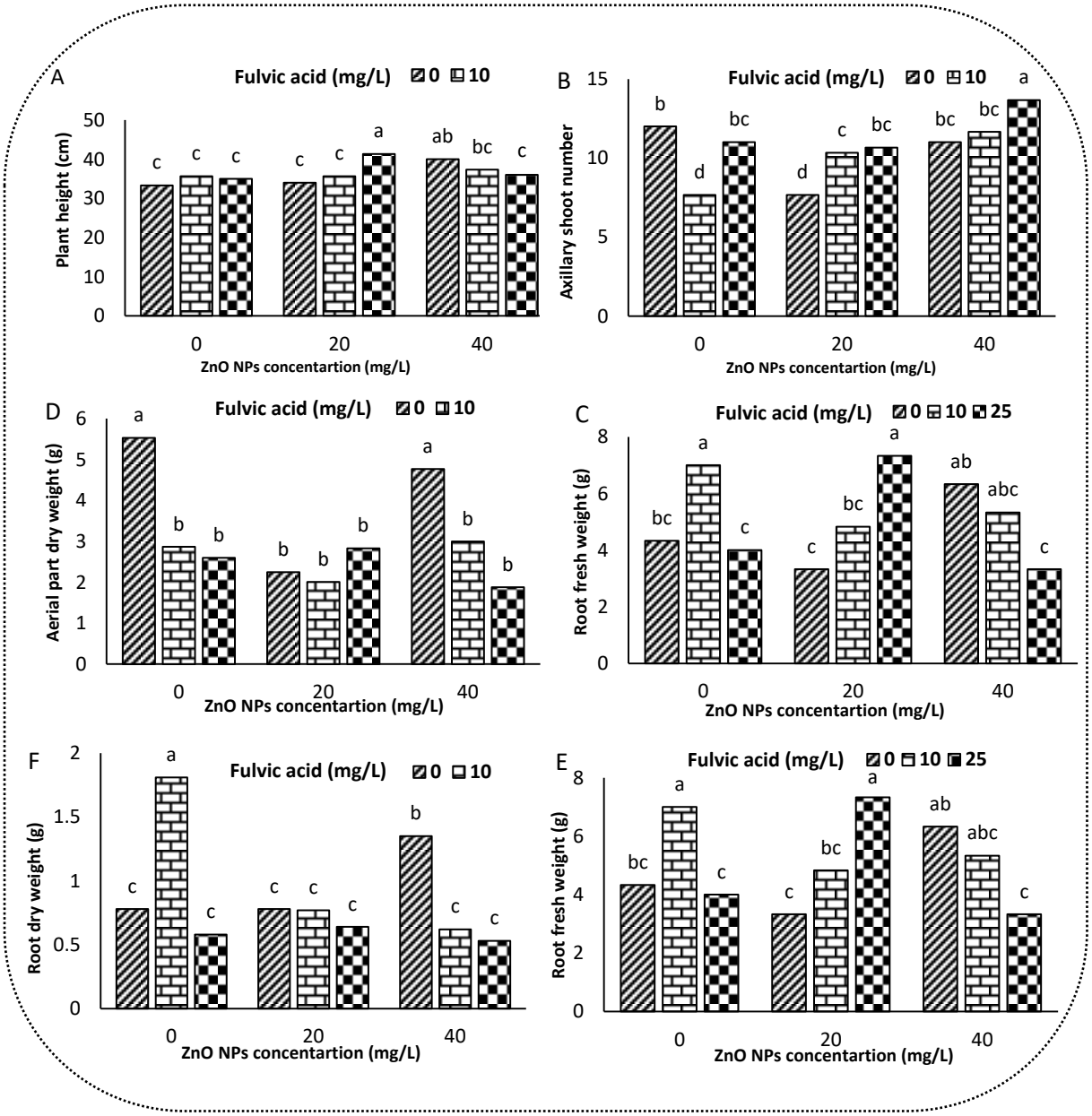
گیاهانی که با ۲۵ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک همراه با ۴۰ میلی‌لیتر نانو اکسید روی محلول‌پاشی شدند، دارای بیشترین تعداد شاخه‌های جانبی بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش همزمان غلظت نانو اکسید روی و فولویک اسید تعداد انشعابات در گیاهان تیمارشده افزایش یافت. همان‌طور که از نتایج مشخص است با افزایش غلظت اسید فولویک و نانو اکسید روی تعداد شاخه‌های جانبی در گیاه بادرنجبویه افزایش یافت (شکل B.۲). همچنین، بیشترین و کمترین وزن تر بخش هوایی گیاه به ترتیب در تیمار اسید فولویک ده میلی‌گرم در لیتر بدون

حضـور نـانوذره و ترکیـب تیمـاری نـانو اکسـید روی ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بـا اسـید فولویـک ده میلـی‌گـرم در لیتـر مشاهده گردید. با توجه به شـکل (C, D.۲) تیمـار ترکیبـی نانو اکسید روی ۲۰ میلی گرم در لیتر با اسـید فولویـک ۲۵ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با سـایر ترکیـب‌هـای تیمـاری دارای بیشترین وزن تر ریشه (۷/۳۳ گرم) داشت. همچنـین نتایج مقایسه میانگین وزن خشک ریشه نشـان داد کـه اثـر متقابل تیمارهای نانو اکسید روی و اسید فولویک معنـی‌دار نبود و فقط تیمار اسید فولویک ده میلی‌گرم بر لیتـر بـدون حضور نانوذره بیشترین وزن خشک ریشه را داشـت ولـی در مـابقی ترکیـب تیمـاری اخـتلاف معنـی‌داری مشـاهده نگردید (شکل E, F.۱). علاوه بر این، ترکیب تیماری بکـار برده شده در این پژوهش تاثیر معنی‌داری بر شاخص قطـر ساقه نداشت.

تأثیر مثبت روی و اسـید فولویـک بـر ارتفـاع گیاهـان دارویی در موارد متعـددی توسـط محققـین گـزارش‌شـده است. Olk et al., (2018) گـزارش کردنـد کـه میـزان ۱۰۰ میلـی‌گـرم در لیتـر روی باعـث افـزایش ارتفـاع گیاهـانی همچون جعفری، بادرنجبویـه، پـروانش و مـریم‌گلـی آبـی گردید. اسـید فولویـک و اسـید هیومیـک از طریـق اثـرات هورمونی و با تأثیر بر متابولیسم سلول‌هـای گیـاهی سـبب افزایش رشـد و ارتفـاع ایـن گیاهـان گردیـد (Olk et al., 2018). به نظر می‌رسد افزایش ارتفاع بوته در اثـر مصـرف روی به دلیل تاثیر ایـن عنصـر در سـنتز اکسـین باشـد بـه طوری که محلول‌پاشی روی سبب افزایش اکسـین شـده و این امر افزایش ارتفاع گیاه را به همراه داشته اسـت (Ravi et al., 2008). همچنـین، Tarraf et al., (1994) گـزارش کردند که محلول‌پاشی نانو کلات روی باعث افزایش تعداد شاخه‌های فرعی گیاه رزماری گردیـد. محلـول‌پاشـی روی میزان کلروفیـل و فعالیـت فتوسـنتزی گیـاه *Rosmarinus officinalis* را افزایش داد و سبب توسعه پوشش گیـاهی و افزایش شاخه، برگ و عملکرد این گیـاه شـد (Rizwan et al., 2019). عنصر روی با تاثیر در بیوسنتز کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و نیز با افزایش کارایی فتوسنتز منجر به افـزایش بیوماس درگیاهان گردید. همچنین، افزایش عملکـرد مـاده خشک با مصرف عناصر ریز مغذی همچون روی بـه دلیـل افزایش بیوسنتز اکسین در حضـور عنصـر روی و افـزایش فتوسنتز گیاه گنـدم شـد (Esfandiari et al., 2016). Said-Al Ahl and Abeer (2010) گـــزارش کردنـــد کـــه محلول‌پاشی کلات روی باعث افزایش وزن تـر و خشـک برگ گیاه ریحان شد.

سطح برگ و شاخص کلروفیل

بر اساس نتایج بدست آمده از این آزمایش، اثر متقابـل نانو اکسید روی و اسید فولویک بر شـاخص سـطح بـرگ معنی‌دار نبود ولی اثرات ساده غلظـت‌هـای مختلـف اسـید فولویک و نانو اکسید روی درسـطح احتمـال پـنج درصـد معنی‌دار شد. بر اساس نتایج بدست آمده با افزایش غلظـت اسید فولویک از صفر به ۴۰ میلی‌گرم در لیتر میـزان سـطح برگ کاهش معنی‌داری نشان داد ولی در مقابل بـا افـزایش غلظت نانو اکسید روی میزان این شاخص افزایش یافت که حاکی از اثرات متفاوت این دو تیمـار بـر شـاخص سـطح برگ بود (شکل ۳. A, B). تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتـر نـانو اکسـید روی باعـث افـزایش شـاخص کلروفیـل در گیـاه بادرنجوبیه گردید، با این وجود ترکیب تیماری نانو اکسـید روی و اسید فولویـک تـاثیر معنـی‌داری بـر ایـن شـاخص نداشت. (شکل ۳. C). با توجـه بـه اینکـه میـزان پـروتئین ارتباط مستقیمی با سطح نیتروژن گیاه دارد، لذا احتمال دارد اسـید فولویـک از طریـق افـزایش نیتـروژن گیـاه سـبب افـزایش سـطح بـرگ و میـزان پـروتئین درگیاهـان گـردد. چنین به نظر می‌رسد که اسـید فولویـک از طریـق افـزایش سنتز کلروفیل موجب افزایش ظرفیـت تولیـد رنگیـزه‌هـای فتوسـنتزی گـردد (Swat et al., 2019). همچنـین، اسـید فولویک باعث افزایش کلروفیل و محتوای آب برگ در گیاه ذرت شد (Aminifard et al., 2012).



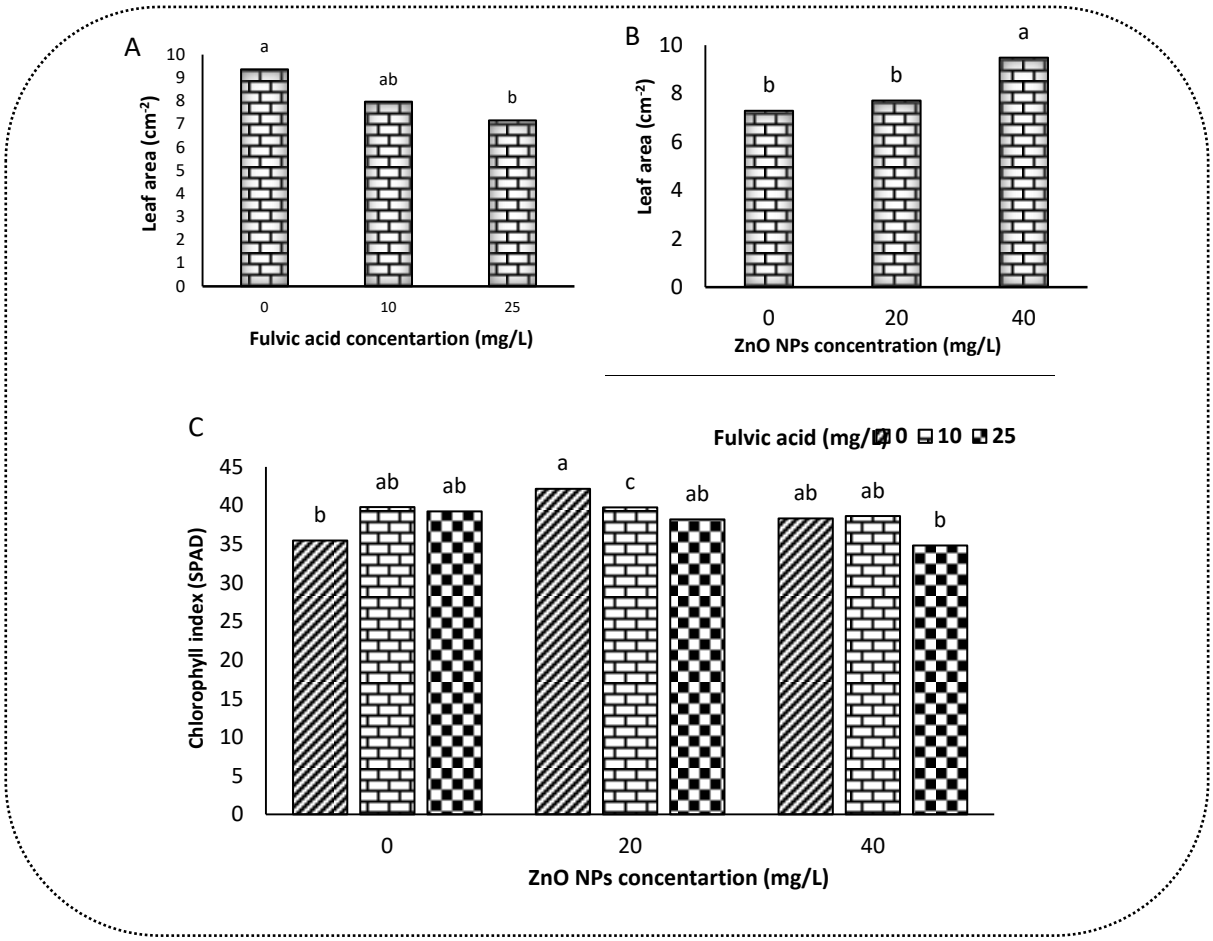
شکل ۲. اثرات محلول‌پاشی اسید فولویک و نانو ذره اکسید روی بر ارتفاع گیاه (A)، تعداد شاخه های جانبی (B)، وزن تر بخش هوایی گیاه (C)، وزن خشک بخش هوایی گیاه (D)، وزن تر ریشه (E) و وزن خشک ریشه (F) گیاه بادرنجبویه. حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

Fig 2. Effect of fulvic acid and zinc oxide nanoparticle foliar application on plant height (A), axillary shoot number (B), aerial part fresh weight (C), aerial part dry weight (D), root fresh weight (E), and root dry weight (F) of *M. officinalis* L. Different letters indicate significantly different values at $p < 0.05$.

محتوای فنول کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی

نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان داد که محلول‌پاشی ترکیب تیماری اسید فولویک و نانو اکسید روی باعث کاهش معنی‌دار در محتوای فنل کل گیاه بدرنجبویه گردید، به طوری که بافزایش غلظت نانو ذره اکسید روی میزان فنول کل کاهش پیدا کرد (شکل ۴. A). فنول‌ها بزرگ‌ترین گروه از متابولیت‌های ثانویه هستند که از پنتوز فسفات و مسیر شیکمیک اسید و فنیل پروپانوئید در گیاهان تولید می‌شوند و آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز آنزیم اصلی در ساخت ترکیبات فنولی است (Aberoumand and

Deokule, 2008). پژوهشگران نشان داده‌اند که ترکیبات هیومیکی از جمله اسید فولویک، باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز شده و درنتیجه باعث افزایش تولید ترکیبات فنولی گیاهان در پاسخ به شرایط نامساعد محیطی گردید (Luciano et al., 2015). Hernandez et al., (2015) گزارش کردند که محلول‌پاشی اسید هیومیک باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در برگ‌های کاهو گردید. در پژوهش حاضر نیز چنین به نظر می‌رسد که افزایش ترکیبات فنولی در گیاهان تیمار شده با اسید فولویک، به دلیل افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در گیاه بادرنجبویه باشد.

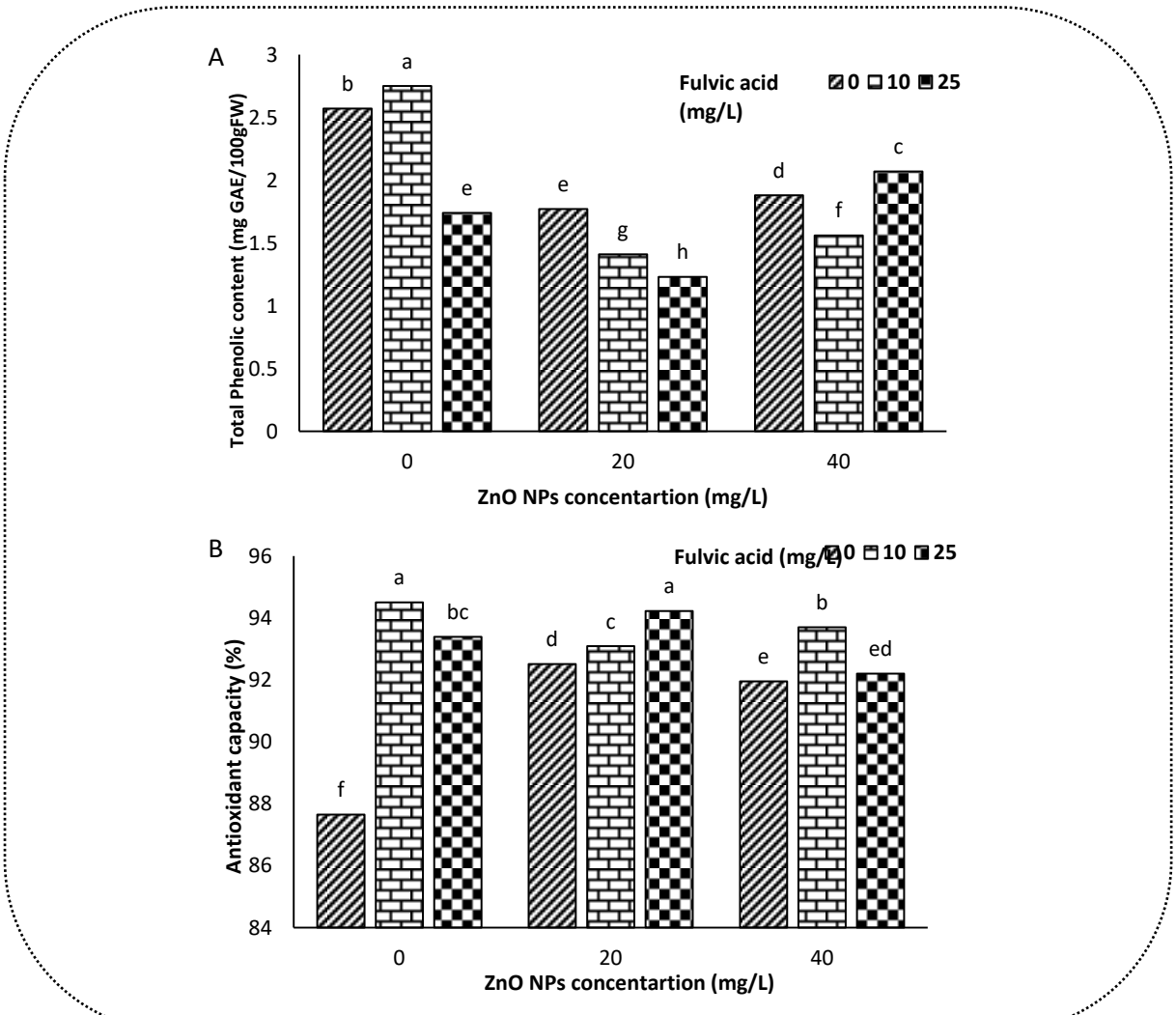


شکل ۳. اثرات محلول‌پاشی اسید فولویک و نانو ذره اکسید روی سطح برگ (A و B) و شاخص کلروفیل (C) گیاه بادرنجبویه. حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

Fig 3. Effect of fulvic acid and zinc oxide nanoparticle foliar application on leaf area (A and B) and chlorophyll index (C) of *M. officinalis* L. Different letters indicate significantly different values at $p < 0.05$.

کاربرد همزمان اسید فولویک و نانوذرات اکسید روی حاکی از افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه بادرنجبویه گردید. بر اساس نتایج این آزمایش، تیمار اسید فولویک (ده میلی‌گرم در لیتر) بدون حضور نانوذره اکسید روی و ترکیب تیماری اسید فولویک با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر به همراه نانو اکسید روی به غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب با ۹۴/۵۰ درصد و ۹۴/۲۲ درصد بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با گیاهان شاهد داشتند (شکل ۴. B). Khan et al., (2012) بیان نمودند که ترکیبات هیومیک از جمله اسید فولویک با افزایش حاصلخیزی خاک و بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مانند نفوذپذیری، تهویه، دانه‌بندی، ظرفیت نگهداری

آب در خاک، تحرک و در دسترس قراردادن مواد غذایی از طریق فعالیت شبه هورمونی می‌تواند سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گردند. همچنین، گزارش Zhang (2000) نشان داد که ترکیبات هیومیکی فعالیت شبه هورمونی مانند تنظیم‌کننده‌های رشدی نظیر اکسین و سایتوکنین دارند و با فزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه سبب بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی گردید. Aminifard et al., (2012) گزارش کردند که محلول‌پاشی اسید فولویک میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، کربوهیدارت و کارتنوئید میوه فلفل را افزایش داد.



شکل ۴. اثرات محلول‌پاشی اسید فولویک و نانوذره اکسید روی بر محتوای فنل کل (A) و ظرفیت آنتی اکسیدان کل (B) گیاه بادرنجبویه. حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

Fig 4. Effect of fulvic acid and zinc oxide nanoparticle foliar application on total phenol content (A), and antioxidant capacity (B) of *M. officinalis* L. Different letters indicate significantly different values at p < 0.05.

پتاسیم و فسفر برگ

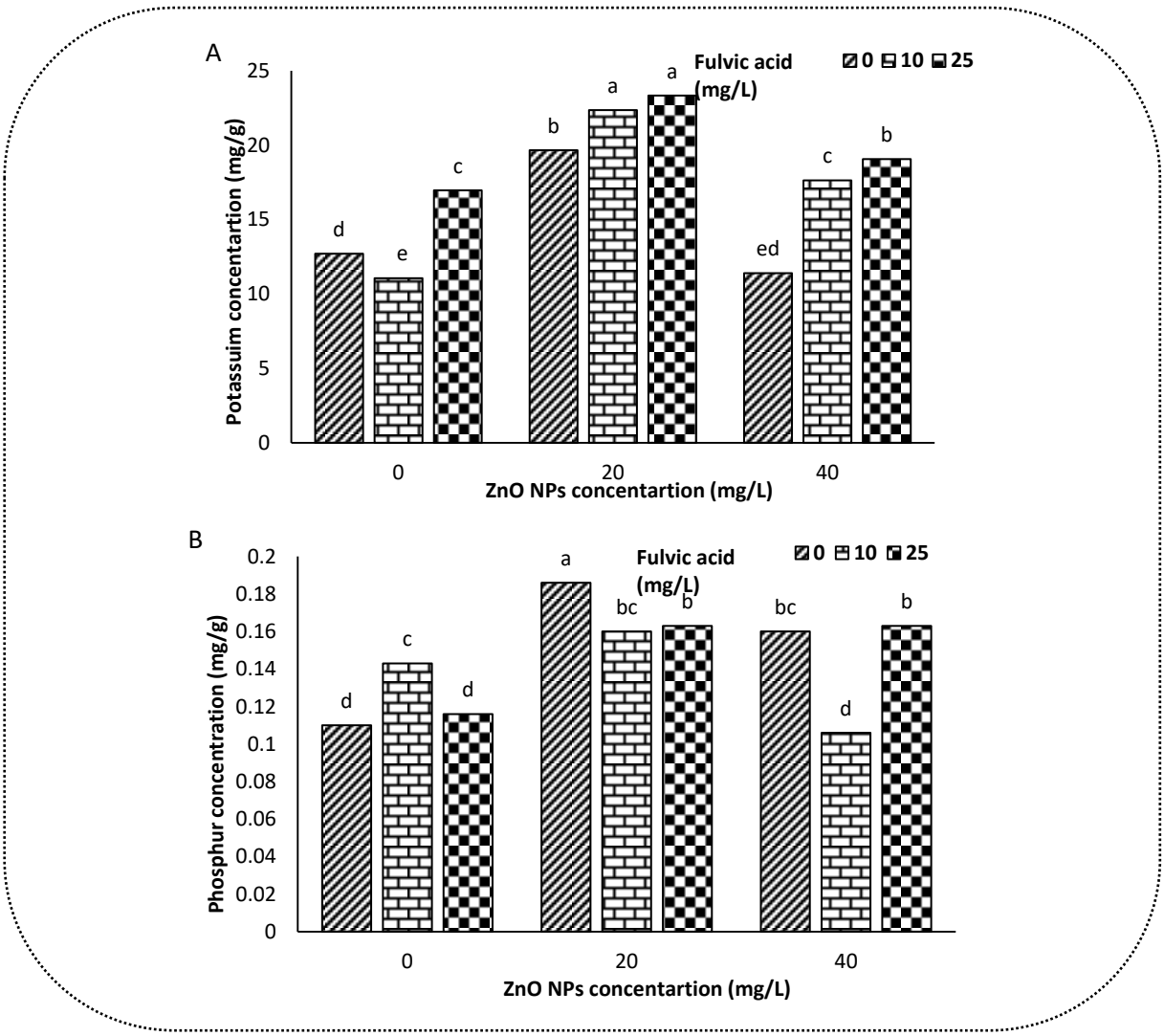
مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محلول‌پاشی گیاهان با غلظت‌های مختلف نانو اکسید روی و اسید فولویک باعث افزایش میزان غلظت پتاسیم و فسفر اندام هوایی گیاه بادرنجبویه گردید به طوری که بیشترین مقدار پتاسیم در گیاهان تیمار شده با اسید فولویک ۲۵ میلی‌گرم در لیتر با نانو اکسید روی با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید (شکل ۵. B)..برخلاف نتایج پتاسیم، کاربرد

ترکیب تیماری اسید فولویک و نانو اکسید روی تاثیر معنی‌داری بر غلظت فسفر در بخش هوایی گیاه نداشت، به طوری که کاربرد اسید فولویک با غلظت ده میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش غلظت فسفر اندام‌های هوایی گیاه گردید ولی با افزایش غلظت اسید فولویک میزان فسفر برگ کاهش پیدا کرد (شکل ۵. B). بر اساس نتایج پیشین، وجود پتاسیم در ترکیب اسید فولویک و اثرات شبه هورمونی این ماده باعث افزایش پتاسیم در برگ شده است (Sanchez et al., 2006). نقش اسید هیومیک در افزایش جذب عناصر غذایی، بستگی به نوع گیاه، خاک و ماده هیومیک دارد. بر همین اساس، Swat et al., (2019) گزارش کردند که مواد هیومیک همچون اسید فولویک منجر به افزایش تولید حامل‌های پروتئینی-یونی و در نتیجه افزایش جذب عناصر غذایی گردید. این مکانیزم توسط Nardi et al., (2012) در بررسی mRNA حامل‌های یونی در ریشه گیاه ذرت پس از تیمار اسید فولویک مورد تأیید قرار گرفت. به‌علاوه، اسید هیومیک از طریق تشکیل کمپلکس‌های پایدار با عناصر غذایی، به‌ویژه عناصر ریزمغذی مانند آهن و روی، منجر به افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود عملکرد گیاه گردید. همچنین، این پژوهشگران نشان دادند که اسید هیومیکی یک ترکیب پلیمری طبیعی است که بصورت مستقیم به عنوان ترکیب شبه‌هورمونی (اکسین و سایتوکینین) و یا غیرمستقیم از طریق افزایش جذب عناصر غذایی بر رشد گیاه اثرات مثبت داشت. علاوه بر این، Hernandez et al., (2015) گزارش کردند که ترکیبات هیومیک موجود در بستر کشت حاوی ورمی‌کمپوست باعث افزایش تعداد و کیفیت برگ‌های گیاه کاهو رقم Black seed Simpson گردید. محلول‌پاشی ترکیبات پایه هیومیکی همچون اسید فولویک بر انگورهای هدایت شده به صورت روسیمی، باعث افزایش جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ، عملکرد در هر تاک، وزن خوشه، وزن حبه و محتوای مواد جامد محلول و فنول کل میوه انگور رقم‌های Feteasca Regala و Riesling Italian شد (Popescu and Popescu, 2018). اسید فولویک با خاصیت کلات‌کنندگی فوق‌العاده خود و با تأثیر در نفوذپذیری غشای سلول‌های گیاه باعث افزایش جذب عناصر به سلول‌های گیاهی شد که این عامل می‌تواند دلیل اصلی افزایش غلظت فسفر در گیاه باشد (Swat et al., 2019).

محتوای اسانس

بر اساس نتایج بدست آمده بیشترین درصد اسانس (۰/۲۹ درصد) در تیمار ترکیبی اسیدفولویک ده میلی‌گرم در لیتر به همراه ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید مشاهده گردید (شکل ۶). با این حال، اختلاف معنی‌داری در بین سایر ترکیب‌های تیماری مشاهده نگردید. عنصر روی به‌عنوان اجزای فلزی آنزیم‌های مختلف عمل می‌کند و یا به عنوان یک کوفاکتور عملکردی، ساختاری و تنظیمی در ارتباط با متابولیسم ساکارید، فتوسنتز و ساخت پروتئین نقش دارد (Avinash et al., 2010). به طورکلی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس بادرنجبویه را ترکیبات ترپنی تشکیل می‌دهند. دی‌اکسید کربن و گلوکز پیش ماده‌های ساخت منوترپن‌ها و ساکاریدها منبع تولید انرژی برای ساخت متابولیت‌های اولیه و متابولیسم ترپنوئیدها هستند لذا تثبیت CO_2، متابولیت‌های اولیه و متابولیسم ساکارز ارتباط نزدیکی با انباشت اسانس در گیاهان دارند (De Sousa et al., 2004). از سوی دیگر، عنصر روی در فتوسنتز و متابولیسم ساکاریدها نقش دارد و ازآنجایی‌که CO_2 و گلوکز از منابع احتمالی کربن مورد استفاده در بیوسنتز ترپن‌ها هستند، بنابراین نقش روی در ساخت و تجمع اسانس بسیار مهم است (Misra et al., 2005). تغذیه گیاه می‌تواند عملکرد و محتوای اسانس گیاهان معطر را تحت تاثیر قرار دهد. Gohari و همکاران (2013) گزارش کردند که محلول‌پاشی عنصر روی باعث افزایش عمکلرد و محتوای اسانس گیاه ریحان در شرایط کشت هیدروپونیک گردید. علاوه بر این، مواد هیومیکی می‌توانند بر متابولیسم اولیه و جذب مواد مغذی تغییرات معنی‌داری داشته باشند و در ادامه بر ساخت

و ساز متابولیت‌های ثانویه بگذارند. تولید ترکیباتی همچون آلکالوئیدها، فنل‌ها و توکوفرول که مرتبط با مسیر شیکیمیک اسید هستند به وسیله مواد هیومیکی تحریک می‌شوند (Schiavon et al., 2010).

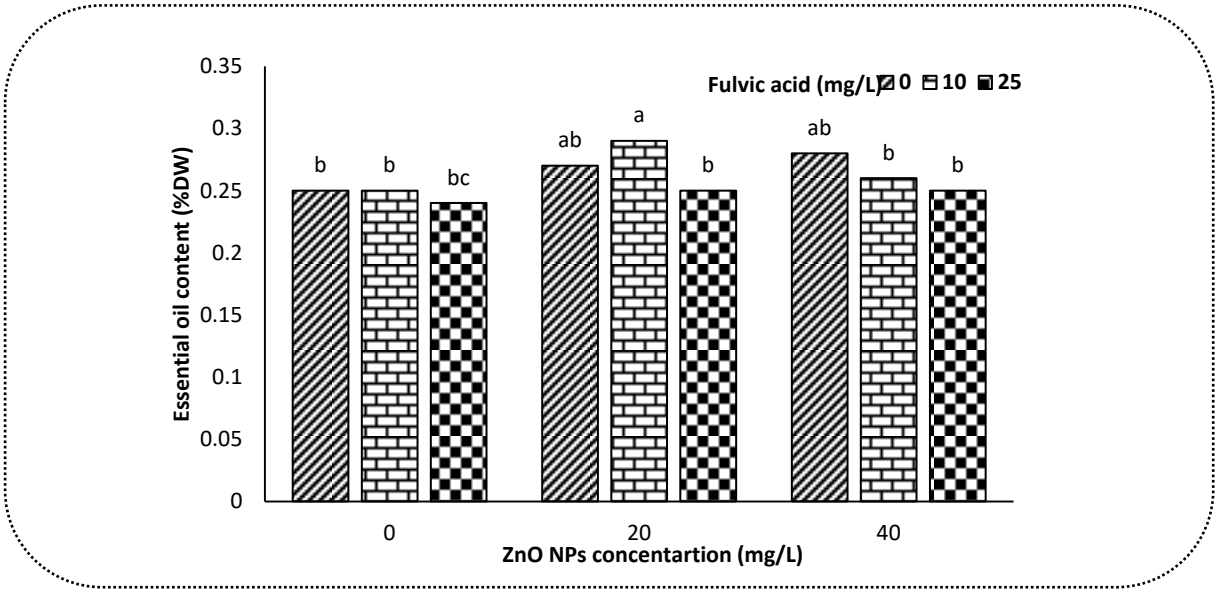


شکل۵. اثرات محلول‌پاشی اسید فولویک و نانوذره اکسید روی بر غلظت پتاسیم (A) و فسفر (B) گیاه بادرنجبویه. حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

Fig 5. Effect of fulvic acid and zinc oxide nanoparticle foliar application on potassium (A), and phosphor (B) concentration of *M. officinalis* L. Different letters indicate significantly different values at p < 0.01.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که بسیاری از صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه بادرنجبویه تحت تاثیر محلول‌پاشی اسید فولویک و نانو اکسید روی قرار گرفت. کاربرد جداگانه تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش نشان از تاثیر معنی‌دار اثرات ساده این ترکیبات در صفات اندازه‌گیری شده داشت. با این‌حال در اکثر صفات اثرات متقابل ترکیب تیماری نیز معنی‌دار بود و در کل باعث بهبود عملکرد و رشد گیاه بادرنجبویه گردید. بیشترین مقدار پتاسیم (۲۴/۵ میلی گرم بر گرم وزن خشک) در گیاهان تیمار شده با اسید فولویک ۲۵ میلی‌گرم در لیتر با نانو اکسید روی ۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید. همچنین، تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی باعث افزایش غلظت فسفر (۰/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)



شکل ۶. اثرات محلول‌پاشی اسید فولویک و نانوذره اکسید روی بر محتوای اسانس گیاه بادرنجبویه. حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

Fig 6. Effect of fulvic acid and zinc oxide nanoparticle foliar application on essential oil content of *M. officinalis* L. .Different letters indicate significantly different values at $p < 0.05$

در برگ‌های گیاه بادرنجبویه شد. علاوه بر این، کاربرد همزمان ترکیب تیماری اسید فولویک و نانوذرات اکسید روی باعث افزایش معنی‌دار میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنول کل گیاه بادرنجبویه گردید. بر اساس نتایج، تیمار ترکیبی اسیدفولویک با غلظت ده میلی‌گرم در لیتر با نانو اکسید روی با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین درصد اسانس را با ۰/۲۹ درصد به خود اختصاص داد. لذا چنین به نظر می‌رسد که کاربرد اسید فولویک و نانو اکسید روی می‌تواند با بهبود شرایط رشدی و افزایش عملکرد گیاه دارویی بادرنجبویه، از نظر اقتصادی به تولیدکنندگان این محصول کمک نماید.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای دکتر امینی به خاطر سنتز و تهیه نانوذرات اکسید روی در آزمایشگاه نانوشیمی دانشگاه مراغه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

Aberoumand, A., and Deokule, S. S. 2008. Comparsion of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. Pakistan Journal of Nutrition. 7(4): 582-585.

Adhikari, T., Kundu, S., Biswas, A. K., Tarafdar, J. C., and Subba Rao, A. 2015. Characterization of zinc oxide nano particles and their effect on growth of maize (*Zea mays* L.) plant. Journal of Plant Nutrition. 38(10): 1505-1515.

Alshaal, T., and El-Ramady, H. 2017. Foliar application: from plant nutrition to biofortification. Environment, Biodiversity and Soil Security.1(2): 71-83.

Aminifard, M. H., Aroiee, H., Nemati, H., Azizi, M., and Hawa, Z. E. 2012. Fulvic acid affects pepper antioxidant activity and fruit quality. African Journal of Biotechnology. 11(68): 13179-13185.

Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Lee, S., and Byrne, R. 2006. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. European Journal of Soil Biology. 42, 65-69.

Ashraf, M. M., and Orooj, A. 2006. Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachyspermum ammi* L. Sprague). Journal of Arid Environments. 64: 209-220.

Auld, D. S. 2001. Zinc coordination sphere in biochemical zinc sites. In Zinc Biochemistry, Physiology, and Homeostasis (pp. 85-127). Springer, Dordrecht.

Bagdat, R. B., and Cosge, B. 2006. The essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), its components and using fields. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi 21(1): 116-121.

Cottenie A. 1980. Soil and plant testing as a basis of fertilizer recommendations. FAO Bulletin, 82: 2-10.

Dehghan, G., and Khoshkam, Z. 2012. Tin (II)–quercetin complex: Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity. Food Chemistry. 131(2): 422-426.

De Sousa, A. C., Gattass, C. R., Alviano, D. S., Alviano, C. S., Blank, A. F., Alves, P. B. 2004. *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. Journal of pharmacy and pharmacology .56(5): 677-681.

Esfandiari, E., Abdoli, M., Mousavi, S. B., Sadeghzadeh, B. 2016. Impact of foliar zinc application on agronomic traits and grain quality parameters of wheat grown in zinc deficient soil. Indian Journal of Plant Physiology. 21(3): 263-270.

Faizan, M., Hayat, S., and Pichtel, J. 2020. Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Crop Plants: A Perspective Analysis. In Sustainable Agriculture Reviews. 41 (pp. 83-99). Springer, Cham.

Gohari, G., Mohammadi, A., Akbari, A., Panahirad, S., Dadpour, M. R., Fotopoulos, V., and Kimura, S. 2020. Titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. Scientific Reports. 10(1): 1-14.

Gohari, G., Hassanpouraghdam, M. B., Dadpour, M. R., and Shirdel, M. 2013. Influence of Zn Foliar Application on Growth Characteristics and Essential Oil Yield of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Under Salinity Stress. Journal of Soil and Plant Interaction. 4(3): 15-24. [In Farsi]

Hassan, R. A., Abotaleb, S. T., Hamed, H. B., and Eldeen, M. S. 2019. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Melissa officinalis* L. (Lemon Balm) Extracts. Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology. 10(9): 183-187.

Hernandez, O. L., Garcia, A. C., Huelva, R., Martinez-Balmori, D., Guridi, F., Aguiar, N. O., Olivares, F. L., and Canellas, L. P. 2015. Humic substance from vermicompost urban lettuce production. Agronomy for Sustainable Development. 35: 225-232.

Joshi, K., Chavan, P., Dnyaneshwar, W., and Bhushan, P. 2004. Molecular markers in herbal drugs technology. Current Science. 87: 816-165.

Kaur, C., and Kapoor, H.C., 2002. Antioxidant and total phenolic contents of some Asian vegetables. International Journal Food Science and Technology. 37: 153-161.

Khan, A., Guramni, A.R., Khan, M.Z., Hussain, F., Akhtar, M. E., and Khan, S., 2012. Effect of humic acid on growth, yield, nutrient composition, photosynthetic pigment and total sugar contents of peas (*Pisum sativum L.*). Journal of Chemical Society of Pakistan. 6:56-63.

Khodakovskaya, M. V., and Biris, A. S. 2019. *U.S. Patent No. 10,244,761*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Lee, C. H., Shin, H. S., Kang, K. H. 2004. Chemical and spectroscopic characterization of peat moss and its different humic fractions (Humin, Humic acid and fulvic acid). Journal of Soil and Groundwater Environment. 9(4): 42-51.

Luciano, P., Canellasa-Fabio, L., Olivaresa-Natália, O., Aguiara-Davey, L., Jonesb, A., Nebbiosoc, P., and Mazzeic, A. 2015. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. Scientia Horticulturae. 196, 15-27.

Ma, R., Levard, C., Judy, J. D., Unrine, J. M., Durenkamp, M., Martin, B., and Lowry, G. V. 2014. Fate of zinc oxide and silver nanoparticles in a pilot wastewater treatment plant and in processed biosolids. Environmental Science and Technology, 48(1): 104-112.

Misra, A., Srivastava, A. K., and Khan, A. 2005. Znacquisition and its role in growth, photosynthesis, photosynthetic pigments and biochemical changes in essential monoterpene oil (s) of Pelargonium graveolens. Photosynthetica. 43 (1): 153-165.

Monica, R. C., and Cremonini, R. 2009. Nanoparticles and higher plants. Caryologia. 62(2): 161-165.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., and Vianello, A. 2002. Physiology effects of humic substance on higher plants. Soil Biology and Biochemistry. 34: 1527-1536.

Olk, D. C., Dinnes, D. L., Scoresby, J. R., Callaway, C. R., and Darlington, J. W. 2018. Humic products in agriculture: potential benefits and research challenges—a review. Journal of Soils and Sediments. 18(8): 2881-2891.

Pettit, R. E. 2004. Organic matter, humus, humate, humic acid, fulvic acid and humin: their importance in soil fertility and plant health. CTI Research. 1-17.

Popescu, G. C., and Popescu, M. (2018). Yield, berry quality and physiological response of grapevine to foliar humic acid application. Bragantia. 77(2): 273-282.

Ravi, S., H.T. Channal, N.S. Hebsur, B.N. Patil, and P.R. Dharmatti. 2008. Effect of sulphur, zinc and iron nutrition on growth, yield, nutrient uptake and quality of safflower (*Carthamus tincturious*). Application of humic substances results in consistent increases in crop yield and nutrient uptake. Journal of Plant Nutrition. 32: 1407-1426.

Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hussain, A., and Waris, A. A. 2019. Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat. Chemosphere. 214, 269-277.

Said-Al Ahl, H., and Abeer, A. M. 2010. Effect of zinc and /or iron foliar application on growth and essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum L*.) under salt stress. Ozean Applied Sciences. 3(1): 97-111.

Sanchez, S. A., Sanchez Andreu, J., Juarez, M., Jorda, J., and Bermudez, D. 2006. Imporvement of iron uptake in table grape by addition of humic substancecs. Journal of Plant Nutrition 29(2): 259-272.

Sarkar, F., Amiri., M. E., and Hassani, A. 2020. Impacts of preharvest sprays of fulvic acid on qualitative and antioxidant properties of sour cherry cv. Gysy. Horticultural Plant Nutrition. 2(2): 93-106. [In Farsi]

Schiavon, M., Pizzeghello, D., Muscolo, A., Vaccaro, S., Francioso, O. and Nardi, S. 2010. High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolismin maize (*zea mays L*.). Journal of Chemical Ecology. 36: 662-669.

Swat, M., Rybicka, I., and Gliszczyńska-Świgło, A. 2019. Characterization of fulvic acid beverages by mineral profile and antioxidant capacity. Foods 8(12): 605-611.

Tarraf, Sh., El-Sayed, A. A., and Ibrahim, M. E. 1994. Effect of some micronutrients on *Rosmarinus afficinalis*. Journal Physiological Science. 18(1): 201-208

Vaughan, D., and Linehan, D. J. 2004. The growth of wheat plants in humic acid solutions under axenic conditions. Plant and Soil. 44: 445-449.

Zhang, X., and Schmidt, R. E. 2000. Hormone-containing products impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bent grass subjected to drought. Crop Science. 40: 1344-1349.