

اثر اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر بهبود برخی ویژگی‌های رشدی و میزان عناصر برگ‌ی ژربرا (*Gerbera jamesonii* L. 'Dune')

سهیلا حاجی‌زاده^۱، زهره جبارزاده^{۱*}، میرحسن رسولی صدقیانی^۲

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

۲. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

✉ z.jabbarzadeh@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۲۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۶

چکیده

ژربرا یکی از زیباترین و پرطرفدارترین گل‌های بریدنی تجاری در جهان است و جایگاه چهارم را در این گروه از گل‌ها دارد. با توجه به اهمیت گل‌ها و گیاهان زینتی، ارائه راهکارهایی برای بهبود کمیت و کیفیت این گیاهان ضروری به نظر می‌رسد. برای بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و میزان عناصر برگ‌ی ژربرا رقم Dune آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی با دو فاکتور و سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل اسیدفولویک در ۴ غلظت صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت کاربرد در محیط کشت و نانوکلات آهن در ۴ غلظت صفر، ۱، ۲ و ۴ گرم در لیتر به صورت محلول‌پاشی بود که در گلدان و در شرایط آب‌کشتی به کار رفت. شاخص‌های اندازه‌گیری شده در این پژوهش شامل: تعداد برگ، وزن تر و خشک برگ و ریشه، حجم ریشه و میزان جذب برخی عناصر غذایی بودند. نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت نانوکلات آهن و اسیدفولویک، تعداد برگ افزایش یافت به طوری که بیشترین تعداد برگ در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک و ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن به دست آمد. تیمار نانوکلات آهن به تنهایی باعث افزایش مقدار وزن تر برگ شد، ولی این افزایش تنها در غلظت ۴ گرم در لیتر نسبت به شاهد معنی‌دار بود. وزن تر ریشه در تمامی تیمارهای اسیدفولویک و نانوکلات آهن افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. حجم ریشه نیز با کاربرد غلظت‌های مختلف اسیدفولویک افزایش یافت ولی افزایش آن تنها در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک معنی‌دار بود. میزان جذب پتاسیم با افزایش غلظت نانوکلات آهن به ۴ گرم در لیتر و افزایش غلظت اسیدفولویک نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. میزان جذب فسفر در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک و جذب آهن و روی در غلظت ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن به ترتیب با ۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک به بیشترین میزان خود رسیدند. نتایج این پژوهش نشان داد که اسیدفولویک و نانوکلات آهن با تأثیر بر جذب بهینه عناصر، سبب بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: جذب عناصر، حجم ریشه، وزن تر و خشک برگ، مواد هیومیکی، نانوکودها.

مقدمه

ژبر^۱ از تیره میناسانان (Asteraceae) گیاهی دائمی، چندساله و علفی بوده که دارای گل‌های رنگارنگ زیبایی می‌باشد و به‌عنوان گل بریدنی، گلدانی و باغچه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. گل‌های آن دارای رنگ‌های متنوع شامل زرد، نارنجی، صورتی، قرمز، بنفش و سفید می‌باشند (Dole & Wilkins, 2005).

اثرهای مفید مواد هیومیکی در خاک بر هیچ‌کس پوشیده نیست ولی ریشه‌هایی که در سامانه‌های آبکشی کشت می‌یابند از این اثرها بی‌بهره‌اند. مسئله مهم این است که مواد هیومیکی نه تنها در ساختار خاک تأثیر دارند بلکه در رشد و نمو گیاه نیز مؤثرند (Nardi et al., 2021). کشت گیاهان در سامانه‌های آبکشی با یک مسئله مهم روبه‌رو است و آن نبود توازن مواد غذایی مورد استفاده در محیط کشت گیاه است. کاربرد مواد زیست محرک به‌عنوان روشی مؤثر در بهبود تعادل مواد غذایی و رشد گیاه مطرح است. بدین منظور، مواد هیومیکی نظیر اسیدهیومیک و اسیدفولویک بسیار مناسب هستند. پژوهشگران، دلایل مختلفی ذکر کرده‌اند که مواد هیومیکی وقتی در ناحیه ریشه به‌کار برده می‌شوند اثرهای بسیار خوبی در رشد و نمو گیاه دارند. البته برخی هم کاربرد آن به‌صورت محلول‌پاشی برگ‌ی را تأیید کرده‌اند (Jung et al., 2021). چندین سال است که اثرهای مفید اسیدهای فولویک و هیومیک، هم در محیط‌های خاکی و هم آبکشی در حال بررسی است. این دو ماده باوجود اینکه در بسیاری از موارد اثرهای مشابهی دارند ولی تفاوت‌های ساختاری دارند. اسیدفولویک دو تفاوت اساسی با اسیدهیومیک دارد. یکی اینکه این ماده هم در pHهای اسیدی و هم قلیایی قابل حل است. دوم اینکه وزن مولکولی کمتری نسبت به اسیدهیومیک دارد، بنابراین حلالیت بیشتر و قابلیت استفاده بیشتری دارد. لازم به ذکر است که در منابع مختلف، کاربردهای برگ‌ی و کاربرد در محیط کشت این ماده گزارش شده است که هرکدام اثرهای متفاوتی در گیاه دارند. هر دو نوع کاربرد، باعث افزایش رشد شاخساره و ریشه می‌شوند ولی کاربرد در محیط ریشه باعث افزایش فعالیت آنزیم $H^+ATPase$ غشاء پلاسمایی ریشه شده و رشد آن را تحریک می‌کند. همچنین کاربرد در محیط ریشه نقش کلات کنندگی عناصر و نیز توانایی حفظ pH در محدوده ۵/۵ تا ۶/۵ دارد (De Hita et al., 2020). نکته جالب توجه اینکه، مواد هیومیکی به‌صورت مستقیم قادر به تحریک رشد گیاهان با تغییر بیان ژن‌ها و عملکرد آنزیم‌ها می‌شوند (Lee et al., 2019). این مواد هیومیکی وقتی در محیط ریشه استفاده می‌شوند وارد ریشه شده و انتقال از ریشه به شاخساره از طریق تعرق انجام می‌گیرد و فعالیت برخی آنزیم‌ها و پروتئین‌ها نظیر پمپ‌های K^+ ، فسفولیپاز A_2 و $H^+ATPase$ تحت تأثیر مواد هیومیکی قرار می‌گیرد (Russell et al., 2006). در پژوهشی که با هدف بررسی تأثیر اسیدهیومیک و اسیدفولویک بر برخی صفات ریخت‌شناسی گیاه شمعدانی در غلظت‌های ۰، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر به‌صورت کودآبیاری انجام شده بود، بهبود اکثر صفات ریخت‌شناسی گزارش شده است (Abbaszadeh Faruji et al., 2018). در مطالعه‌ای که با بررسی تأثیر کاربرد اسیدفولویک در غلظت‌های صفر و ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی پارامترهای رشد حنأ^۲، به‌صورت کاربرد در محیط کشت انجام شده بود، نتایج نشان داد که تیمار ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسیدفولویک، بیشترین تأثیر را بر ویژگی‌های رشدی گیاه داشت (Ersingu et al., 2015). در پژوهشی، تأثیر اسیدهیومیک و فولویک بر رشد و عملکرد گیاه کاهو به سه روش کاربرد در محیط کشت، کودآبیاری و محلول‌پاشی بررسی شد. نتایج نشان



داد که بیشترین مقدار از عناصر NPK در غلظت ۱۳ کیلوگرم در هکتار با کاربرد محلولپاشی به دست آمد که این افزایش در تیمار اسیدفولویک بیشتر از اسیدهیومیک بود (Taha et al., 2016).

نانوکودها مواد با قطر یک تا ۱۰۰ نانومتر و بسیار واکنش پذیر هستند که مصرف آنها موجب می شود عناصر غذایی، به تدریج و کنترل شده در اختیار گیاه قرار گیرند. این مواد، با رهاسازی تدریجی و آرام عناصر غذایی، بهترین جایگزین برای کودهای مرسوم هستند. با بهره گیری از نانوکودها، عناصر غذایی به آرامی و با سرعتی مناسب در تمام فصل رشد گیاه آزاد می شوند و به دلیل کاهش آبشویی، گیاهان قادر به جذب بیشتر عناصر خواهند بود و آلودگی های زیست محیطی کاهش می یابد (Chinnamuthu & Boopathi, 2009). مزیت دیگر نانوکودها این است که با تغییر دادن فرمولاسیون کودها می توان کودهای هوشمند تولید کرد، به طوری که سرعت رهاسازی عناصر غذایی کود، برابر با الگوی جذب گیاه باشد. همچنین به دلیل برخورداری از تغذیه مناسب و فراهم بودن عناصر غذایی، مقاومت گیاه در برابر تنش های محیطی و بیماری ها افزایش یافته و میزان مصرف سموم شیمیایی و آفت کش ها کاهش می یابد و به دلیل کاهش مصرف کود از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه می باشد (Khoshkalam et al., 2015). با کودهای نانو، ترکیبات به سرعت جذب گیاهان می شوند و مواد مغذی و ضروری برای گیاه تأمین می شود. بنابراین با استفاده از مواد نانو، رشد گیاه افزایش پیدا می کند (Askari et al., 2014). در پژوهشی، با کاربرد نانوکلات آهن و کلات آهن معمولی در گیاه آفتابگردان، افزایش پارامترهای رشد با کاربرد نانوکود آهن گزارش شد (Shahrekizad et al., 2015). در پژوهش دیگری، مصرف ریزمغذی آهن موجب افزایش ۵۱ و ۴۲ درصدی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و کاتالاز شد (Mohamadipoor et al., 2013). مزایای استفاده از نانوکود کلات آهن شامل افزایش متابولیسم گیاهان و جذب بیشتر و مؤثرتر عناصر و کودهای اصلی و همچنین رساندن هدفمند عناصر کم مصرف به بافت های مشخص گیاهان می باشد (Rasouli et al., 2014).

با توجه به موارد فوق می توان گفت، محلولپاشی نانوکودها جایگزین مناسبی برای مقابله با کمبود آهن است. اگرچه مطالعات بیشتری مورد نیاز است، اما کودهای با اندازه نانو، کارایی مصرف مواد مغذی را بهبود داده و مشکلات زیست محیطی مرتبط با میزان مصرف کود را کاهش می دهند. روش دیگر برای مقابله با کمبود آهن، استفاده از مواد هیومیک است. در بسیاری از مطالعات، هنگامی که مواد هیومیک در خاک یا به صورت محلولپاشی روی برگ ها به کار برده می شوند، جذب آهن و رشد گیاه را به عنوان کلات کننده و محرک زیستی افزایش می دهند. در پژوهش های مختلفی کاربرد مواد هیومیک و کلات های آهن (هرکدام به تنهایی) باعث بهبود جذب آهن شده اند، اما پژوهش های کمی روی کاربردهای محلولپاشی نانو آهن همراه با مواد هیومیکی انجام شده است (Zimbovskaya et al., 2020). بر همین اساس، هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر کاربرد اسیدفولویک (به صورت کاربرد در محیط کشت) و محلولپاشی برگ گیاه نانو کلات آهن در محیط آبکشتی بر ویژگی های ریخت شناسی و جذب عناصر غذایی در گیاه ژربرا می باشد.

مواد و روش ها

باهداف بررسی تأثیر نانوکلات آهن و اسیدفولویک بر برخی ویژگی های ریخت شناسی و نیز جذب عناصر ژربرا رقم Dune پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور و سه تکرار و هر تکرار شامل دو گلدان (در کل، ۹۶



گیاه) در گلخانه‌های پژوهشی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. تیمارهای مورد مطالعه عبارت بودند از: اسید فولویک (Thomson Fulvico ساخت شرکت هومت) در چهار غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر به صورت کاربرد در محیط کشت و نانوکلات آهن ۹٪ (خضرا، شرکت صدور احراق شرق) در چهار غلظت ۰، ۱، ۲ و ۴ گرم در لیتر به صورت محلول پاشی که حدود دو ماه بعد از استقرار کامل گیاهان و هر ۱۵ روز یکبار، به مدت ۴ ماه اعمال شد. در این پژوهش، از نشاهای کشت بافتی ۶-۴ برگی ژبررا استفاده شد. محیط کشت مورد استفاده در این پژوهش، غیرخاکی و مخلوطی از کوکوپیت (۵٪) و پرلایت (۳۰٪) و پیت ماس (۶۵٪) بود. برای گیاهان دمای روز ۲۵-۲۰ و دمای شب ۱۶-۱۳ درجه سلسیوس و شدت نور ۵۰۰-۴۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه تنظیم شد. تغذیه گیاه ژبررا سه بار در هفته و براساس ترکیب محلول غذایی که در جدول ۱ آورده شده است، صورت گرفت. لازم بذکر است که عناصر کم مصرف نیز با غلظت مشخص به محلول غذایی اضافه می شدند (جدول ۲). به این منظور، استوک 40X تهیه شد و برای هر ۱۰۰۰ لیتر مقدار ۱۲۵ میلی لیتر از آن استفاده شد.

جدول ۱- برنامه غذایی مورد استفاده در ژبررا برای ۱۰۰۰ لیتر.

Table 1- Nutrition program used in gerbera for 1000 L.

نیترات منیزیم	نیترات پتاسیم	نیترات آمونیم	مونو آمونیم فسفات	سولفات پتاسیم	کلات آهن ۶٪	آمونیم کلسیم نیترات
Mg (NO ₃) ₂	KNO ₃	NH ₄ NO ₃	MAP	K ₂ SO ₄	Fe chelate 6%	5Ca (NO ₃) ₂ -NH ₄ NO ₃ . 10H ₂ O
210 g	493 g	100 g	115 g	87 g	20 g	75 g

*MAP: Mono Ammonium Phosphate

جدول ۲- میزان عناصر کم مصرف مورد استفاده برای تهیه استوک 40x ژبررا.

Table 2- The amount of micro elements used to prepare 40x Gerbera stock.

سولفات منگنز	اسیدبوریک	مولیبدات آمونیوم	سولفات روی	سولفات مس
MnSO ₄	H ₃ BO ₃	Mo(NH ₄) ₆	ZnSO ₄	CuSO ₄
24 g	15 g	15 g	12 g	10 g

اندازه گیری تعداد برگ، وزن تر و خشک برگ و ریشه

بدین منظور، پس از انتخاب ۳ گلدان به طور تصادفی، تعداد برگ در کل گیاه با شمارش تعیین شد. پس از برداشت برگ و ریشه، نمونه‌ها، بلافاصله توسط ترازوی دیجیتالی (METTLER, PJ300) و با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شدند. برای تعیین وزن خشک برگ و ریشه گیاهان هر گلدان، ابتدا نمونه‌ها پس از قرارگیری در پاکت کاغذی، در آون با دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت (برای برگ) و ۷۲ ساعت (برای ریشه) قرار گرفتند و پس از خارج نمودن نمونه‌ها از آون، مجدداً به کمک ترازوی دیجیتالی اندازه گیری شدند.

حجم ریشه

اندازه گیری به وسیله حجم آب جابجا شده توسط ریشه‌ها محاسبه شد و افزایش حجم بر حسب سانتی متر مکعب بیان شد.



عمر گلجایی

برای تعیین عمر گلجایی ژربرا، گل‌ها پیش از به گرده نشستن چیده شدند، سپس در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و شرایط محیطی دمای 20 ± 3 درجه سلسیوس، رطوبت ۷۰٪ و دوره نوری ۱۰/۱۴ ساعت (۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی) قرار داده شدند. هر دو روز یکبار بازبرش گل‌ها صورت می‌گرفت. زمان پایان عمر گل، وقتی که ۳۰٪ گل‌های زبانه‌ای پژمرده شدند تعیین شد (Haghighi et al., 2014).

اندازه‌گیری میزان نیترات برگ

برای اندازه‌گیری نیترات، ابتدا عصاره گیاهی تهیه گردید. برای تهیه عصاره، ۱/۰ گرم از برگ‌هایی که قبلاً در آون ۷۲ درجه خشک شده بودند، توزین شده در لوله‌های آزمایش با کمک آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. این لوله‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار داده شدند، سپس به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژ ۶۰۰۰ دور قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری نیترات، بافر تهیه شد. برای اندازه‌گیری ابتدا ۵/۰ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده داخل لوله آزمایش ریخته شد سپس به هرکدام از لوله‌ها ۸/۰ میلی‌لیتر اسیدسالیسیلیک ۵٪ اضافه شد. بعد از ۲۰ دقیقه، ۱۹ میلی‌لیتر NaOH ۲ نرمال اضافه شد سپس شدت رنگ با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر خوانده شد. بعد از انجام محاسبات مقدار نیترات برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش گردید (Cataldo et al., 1975).

$$10 \times 0.1 \times 0.37 \div 0.27 \times \text{میزان جذب} = \text{میزان نیترات (میلی گرم بر گرم وزن خشک)}$$

اندازه‌گیری میزان فسفر برگ

اندازه‌گیری میزان فسفر به روش کالری متری (رنگ زرد مولبیدات وانادات) به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر^۱ (UV-2100) در طول موج ۴۷۰ نانومتر انجام شد (Ohayama et al., 1991).

اندازه‌گیری میزان پتاسیم برگ

میزان پتاسیم توسط دستگاه شعله‌سنج (فلیم‌فتومتر^۲، فاطر ۴۰۵) اندازه‌گیری شد. برای کالیبره کردن دستگاه فلیم‌فتومتر ابتدا سری‌های استاندارد و سپس نمونه‌ها به دستگاه داده شد و سپس قرائت‌ها یادداشت شد و بعد از انجام محاسبات، مقدار پتاسیم برحسب درصد گزارش گردید (Mizukoshi et al., 1994).

اندازه‌گیری میزان آهن برگ

اندازه‌گیری آهن با دستگاه جذب اتمی در عصاره به روش هضم خشک و استفاده از HCl ۲ مولار انجام شد. نمونه‌های استاندارد و عصاره با دستگاه جذب اتمی با طول موج ۲۴۸/۳ نانومتر اندازه‌گیری شدند. غلظت آهن در نمونه‌ها با استفاده از سامانه قرائت دستگاه و یا با استفاده از منحنی کالیبراسیون به دست آمد و براساس میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گزارش گردید (Ryan et al., 2001).



اندازه‌گیری میزان روی برگ

اندازه‌گیری روی به روش جذب اتمی شعله‌ای در عصاره به روش هضم به‌طریق سوزندان خشک و استفاده از CI انجام شد. برای اندازه‌گیری روی، ابتدا محلول‌های استاندارد و سپس میزان جذب در طول‌موج ۲۱/۹ نانومتر قرائت و با رسم منحنی کالیبراسیون غلظت روی در نمونه‌ها به‌دست‌آمده و به‌صورت میلی گرم در کیلوگرم وزن خشک گزارش گردید (Ryan et al., 2001).

واکاوی داده‌ها

واکاوی واریانس و مقایسه میانگین صفات موردبررسی به‌وسیله نرم‌افزار SAS نسخه 9.1 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۱ یا ۵٪ انجام شد و نمودارها با نرم‌افزار EXCEL رسم شدند.

نتایج و بحث

تعداد برگ

نتایج واکاوی واریانس (جدول ۳) نشان داد که برهمکنش دو تیمار بر تعداد برگ در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود ولی اثر اصلی نانوکلات آهن تأثیر معنی‌داری نداشت.

نتایج مقایسه میانگین (شکل ۱) نشان داد با افزایش غلظت نانوکلات آهن و اسیدفولویک تعداد برگ افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین تعداد برگ در غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک و ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن به‌دست‌آمد. لازم به ذکر است که کمترین تعداد برگ، مربوط به تیمار ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن بدون کاربرد اسیدفولویک بود.

جدول ۳- نتایج واکاوی واریانس مربوط به اثرهای تیمارهای اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر شاخص‌های ریخت‌شناسی ژبرای رقم Dune.

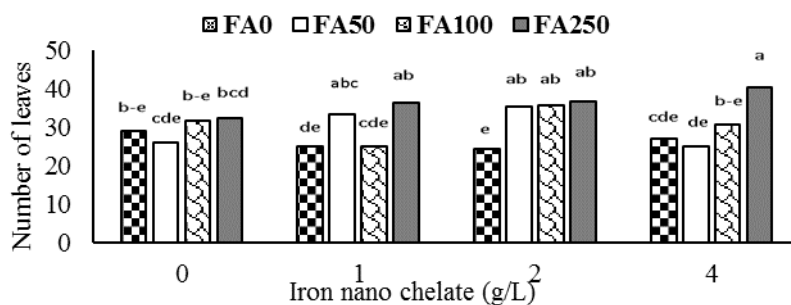
Table 3- The results of analysis of variance related to the effects of fulvic acid and iron nano-chelate treatments on morphological indices of *Gerbera jamesonii* cv. Dune.

میانگین مربعات Mean squares								
منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	تعداد برگ‌ها Number of leaves	وزن تر برگ Leaf fresh weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight	حجم ریشه Root volume	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	عمر گلجایی Vase life
اسید فولویک Fulvic acid	3	209.185**	212.42**	6.79**	9545.83**	1854.46**	5.39 ^{ns}	3.187 ^{ns}
نانوکلات آهن Iron nano-chelate	3	24.63 ^{ns}	38.72*	1.48 ^{ns}	3401.38 ^{ns}	2073.55**	43.41 ^{ns}	17.187**
اسید فولویک*نانوکلات آهن Fulvic acid*Iron nano-chelate	9	48**	28.40 ^{ns}	0.88 ^{ns}	2393.51 ^{ns}	179.05**	30.51 ^{ns}	11.298 **
خطای آزمایش Experimental error	32	9.41	13.08	0.52	1229.166	55.59	27.16	1.687
ضریب تغییرات CV (%)		9.91	14.16	17.37	3.12	7.35	23.79	11.742

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ *معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ns: نبود معنی‌داری

**Significant at 1% level of probability, * Significant at 5% level of probability, ns: non-significant





شکل ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر تعداد برگ‌های ژربرا رقم Dune (حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

Figure 1- Effect of different concentrations of fulvic acid and iron nano-chelate on the number of leaves of *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at 5% level using DMRT test).

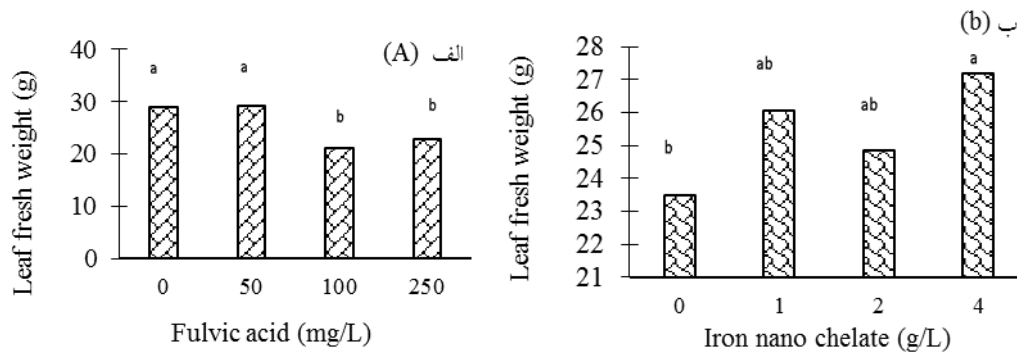
وزن تر و خشک برگ

نتایج حاصل از واکاوی واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که تنها اثر اصلی اسیدفولویک در سطح احتمال ۱٪ و اثر اصلی نانوکلات آهن در سطح احتمال ۵٪ تأثیر معنی‌داری بر وزن تر برگ داشتند. همچنین نتایج نشان داد که فقط اثر اصلی اسیدفولویک در سطح احتمال ۱٪، بر وزن خشک برگ معنی‌دار بود.

نتایج مقایسه میانگین اثر اسیدفولویک (شکل ۲ الف) نشان داد که غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک سبب افزایش وزن تر برگ شده ولی اختلاف معنی‌داری با شاهد ندارد و با افزایش غلظت اسیدفولویک، وزن تر برگ کمتر شده است. لازم به ذکر است که بیشترین مقدار وزن تر برگ مربوط به تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک بود که افزایش ۳۹ درصدی نسبت به کمترین مقدار (تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسیدفولویک) داشت. نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی نانوکلات آهن بر وزن تر برگ (شکل ۲ ب) نشان داد که با افزایش غلظت‌های نانوکلات آهن، وزن تر برگ افزایش پیدا کرد، هرچند که این افزایش فقط در غلظت ۴ گرم در لیتر، نسبت به شاهد معنی‌دار بود. با توجه به شکل، بیشترین میزان وزن تر برگ که مربوط به تیمار ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن بود، افزایش حدود ۱۷ درصدی نسبت به شاهد داشت.

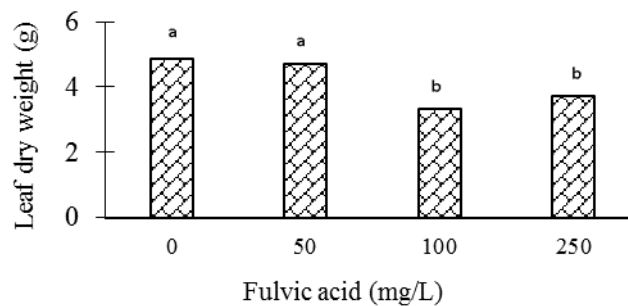
وزن خشک برگ

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳) نشان داد که با افزایش غلظت اسیدفولویک مقدار وزن خشک برگ کاهش یافت به‌طوری‌که بیشترین وزن خشک برگ در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسیدفولویک بود، هرچند که اختلاف معنی‌داری با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک نداشت.



شکل ۲- تأثیر اسیدفولویک (الف) و نانوکلات آهن (ب) بر وزن تر برگ ژربرا رقم *Dune* (حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

Figure 2- Effect of fulvic acid (a) and iron nano-chelate (b) on the leaf fresh weight of *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at the 5% probability level respectively).



شکل ۳- تأثیر اسیدفولویک بر وزن خشک برگ ژربرا رقم *Dune* (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

Figure 3- Effect of fulvic acid on the leaf dry weight *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at 5% level using DMRT test).

همان‌طور که در قسمت مقدمه ذکر شد، اسیدفولویک دارای وزن مولکولی کم و از نظر بیولوژیکی بسیار فعال است. به دلیل وزن کم و اندازه کوچک، این مولکول قابلیت استفاده آسانی برای گیاه دارد. کاربرد این ماده در محیط ریشه می‌تواند پاسخ‌های فیزیولوژیکی در شاخساره‌ها را به سبب نقش تنظیم‌کنندگی این ماده در عمل اکسین سبب شود، از جمله این پاسخ‌ها می‌توان به باز شدن روزنه‌ها با واسطه تنظیم‌کنندگی فسفولیپاز A_2 اشاره کرد (Russell et al., 2006). لازم به ذکر است که باز شدن روزنه‌ها هم سبب افزایش تبادلات گازی شده، فتوسنتز افزایش یافته، بالطبع افزایش فتوسنتز نیز باعث افزایش رشد گیاه از جمله افزایش تعداد برگ خواهد شد. در این پژوهش، غلظت‌های زیاد اسیدفولویک باعث افزایش تعداد برگ شده و احتمالاً این افزایش تعداد برگ باعث شده گیاه مواد غذایی را بیشتر صرف تولید برگ کند و نتواند اندازه برگ‌ها و وزن تر و خشک آن‌ها را افزایش دهد.

آهن یک عنصر ضروری برای رشد گیاهان است. امروزه نانوکودها فناوری نوینی هستند که با کوچک کردن اندازه ذرات در مقیاس نانو، امکان جذب بسیار بیشتری را فراهم می‌آورند. به دلیل آنکه با به کارگیری نانوکودها زمان و سرعت رهاسازی عناصر، با نیاز غذایی گیاه منطبق و هماهنگ می‌شود لذا گیاه قادر به جذب بیشترین مقدار مواد غذایی بوده و در نتیجه آن،

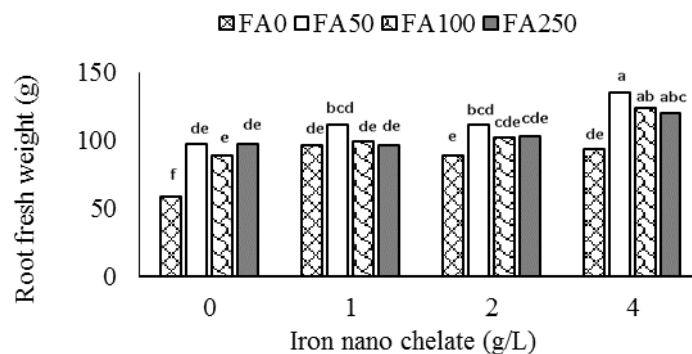


عملکرد افزایش می‌یابد (Naderi & Danesh-Shahraki, 2013). نانوذرات می‌توانند از طریق منافذ دیواره سلولی (۲ تا ۲۰ نانومتر) به داخل سلول وارد می‌شوند. بعد از ورود به سیتوپلاسم، می‌توانند با اتصال به اندامک‌های مختلف، باعث تغییر عملکرد فیزیولوژیکی سلول‌ها شوند (Rico *et al.*, 2011). مطالعات نشان داده‌اند که نانوذرات آهن، به‌آسانی از طریق برگ یا ریشه جذب شده و در قسمت‌های رویشی مثل برگ‌ها تجمع پیدا کرده و رشد گیاه اتفاق می‌افتد. کاربرد برگ آهن یک روش مؤثر و اقتصادی و نیز پیش‌شرطی برای استفاده کارآمد آن در گیاه است، به‌عبارتی، آهن از طریق برگ‌ها به‌صورت مؤثری جذب شده و اثر واضح آن به‌صورت افزایش سبزیگی برگ نمود پیدا خواهد کرد (Bastani *et al.*, 2018). با توجه به موارد فوق، می‌توان گفت کاربرد محلول‌پاشی برگ نانوکلات آهن احتمالاً سبب جذب سریع‌تر آهن در برگ‌ها شده و به‌دلیل افزایش فعالیت فتوسنتزی سبب افزایش وزن برگ شده است.

وزن تر ریشه و حجم ریشه

نتایج حاصل از واکاوی واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که برهمکنش اسیدفولویک و نانوکلات آهن در سطح احتمال ۱٪ بر وزن تر ریشه معنی‌دار بود. همچنین با توجه به نتایج حاصل از واکاوی واریانس داده‌ها مشاهده شد که تنها اثر اصلی اسیدفولویک بر حجم ریشه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۴) نشان داد که تمامی تیمارها سبب افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه نسبت به شاهد شدند. تیمارها روند ثابتی نداشتند ولی تمامی تیمارها توانستند وزن تر ریشه را نسبت به شاهد افزایش دهند. لازم به ذکر است که بیشترین مقادیر وزن تر ریشه در کاربرد توأم ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن همراه با غلظت‌های مختلف اسیدفولویک بود.



شکل ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر وزن تر ریشه ژبریا رقم Dune (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

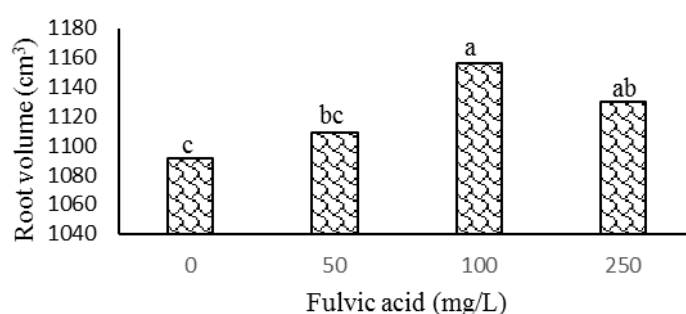
Figure 4- Effect of different concentrations of fulvic acid and iron nano-chelate on the root fresh weight of *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at 5% level using DMRT test).

نمو ریشه ازجمله ویژگی‌هایی است که تحت تأثیر مواد هیومیکی قرار می‌گیرد، به‌ویژه تشکیل ریشه‌های جانبی (انشعاب ریشه) به‌شدت افزایش می‌یابد (Cha *et al.*, 2017). برای این انشعاب ریشه دو دلیل مهم ذکر شده است یکی ویژگی شبه هورمونی (ویژگی اکسینی) مواد هیومیکی است که مسیرهای متابولیکی خاصی را در گیاهان فعال می‌کنند و باعث این انشعاب می‌شوند. دلیل دوم اینکه در حضور مواد هیومیکی، نیتریک اکسید در گیاه تولید شده و باعث انشعاب ریشه می‌شود.



(Zandonadi et al., 2010). آهن به دلیل نقشی که در سنتز کلروفیل دارد سبب افزایش فتوسنتز و در نتیجه افزایش ذخیره‌ی کربوهیدراتی می‌شود و رشد ریشه را تقویت می‌کند و سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی می‌شود (Rahmani et al., 2014). به نظر می‌رسد افزایش مقدار عناصر غذایی ارتباط نزدیکی با رشد ریشه دارد، به طوری که نتایج این تحقیق نشان داد که با کاربرد نانوکلات آهن رشد ریشه نیز تحریک شده است.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۵) نشان داد که تمامی غلظت‌های اسیدفولویک باعث افزایش در حجم ریشه شدند ولی این افزایش در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک نسبت به شاهد معنی دار بود.



شکل ۵- تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک بر حجم ریشه ژربرا رقم Dune (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

Figure 5- Effect of fulvic acid on the root volume of *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at 5% level using DMRT test).

با وجود اینکه مواد هیومیکی باعث افزایش تحریک رشد ریشه و اندام هوایی می‌شوند ولی اثربخشی آن بر سامانه ریشه مشهودتر است. مواد هیومیکی به‌ویژه با وزن مولکولی کم (مانند اسیدفولویک) می‌توانند باعث رشد ریشه‌های جانبی، طولی شدن ریشه‌ها و افزایش تعداد تارهای کشنده شوند. مکانیسمی که در این مورد ذکر شده است به اثرهای مواد هیومیکی در انتقال قطبی اکسین و مسیر سیگنالی نیتریک اکسید مرتبط است. مواد هیومیکی در گیاه، ایندول استیک اسید و سایر مولکول‌ها نظیر فنیل استیک اسید، ایندول بوتیریک اسید، کربوکسیل اسیدها و اسیدهای آمینه را در برگرفته و فعالیت شبه اکسینی از خود نشان می‌دهند (Tahiri et al., 2016). با توجه به موارد فوق، افزایش حجم ریشه در اثر کاربرد اسیدفولویک در پژوهش حاضر دور از انتظار نیست.

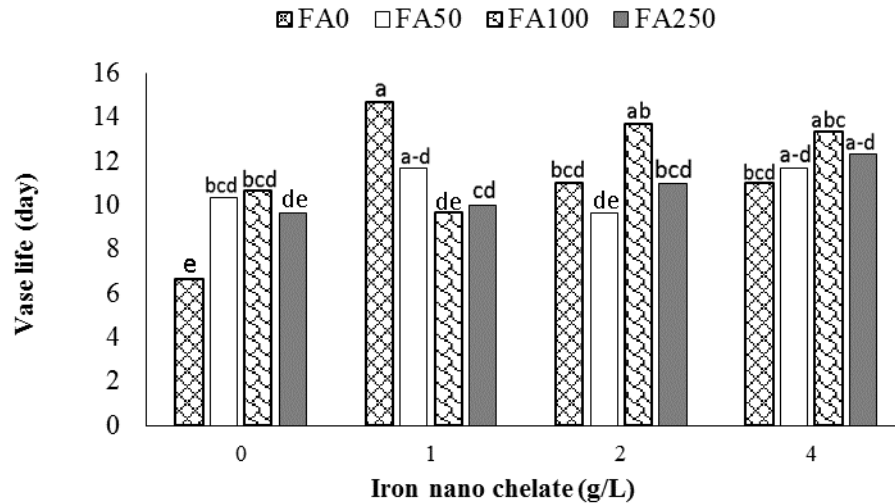
نتایج حاصل از واکاوی واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که اثر اصلی اسیدفولویک و نانوکلات آهن، همچنین برهمکنش دو تیمار در سطح احتمال ۱٪ بر مقدار پتاسیم، آهن و روی معنی دار شد. در مورد عنصر فسفر نیز اثر اصلی اسید فولویک و برهمکنش دو تیمار در سطح احتمال ۱٪ و اثر اصلی نانوکلات آهن در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شد.

عمر گلجایی

نتایج حاصل از واکاوی واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که برهمکنش اسیدفولویک و نانوکلات آهن در سطح احتمال ۱٪ تأثیر معنی داری بر عمر گلجایی داشت. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۶) نشان داد که اغلب تیمارها باعث افزایش معنی دار عمر گلجایی نسبت به شاهد شدند. کاربرد توأم اسیدفولویک و نانوکلات آهن روند مشخصی در افزایش عمر



گلجایی نداشت ولی در تیمار نانوکلات آهن ۴ گرم در لیتر، کاربرد اسیدفولویک در هر غلظتی توانست عمر گلجایی را نسبت به شاهد افزایش دهد.



شکل ۶- تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر عمر گلجایی گل ژبررا رقم Dune (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۱٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

Figure 5- Effect of fulvic acid on vase life of *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at 1% level using DMRT test).

مواد هوموسی می‌توانند نقش مهمی در کیفیت گل‌های بریدنی ایفا نمایند. این مواد با افزایش رشد ریشه، بهبود غلظت عناصر غذایی در بافت‌های گیاه و شاید با خواص شبه هورمونی می‌توانند باعث حفظ کیفیت گل‌ها پس از برداشت شوند. اسیدفولویک با افزایش جذب عناصر غذایی، کلات کردن عناصر و فعالیت شبه هورمونی، می‌تواند کیفیت و کمیت گل بریدنی ژبررا را بهبود بخشد (Yazdani, 2010). خاصیت شبه سایتوکینینی مواد هیومیک باعث افزایش عمر پس از برداشت گل‌های بریدنی می‌شود. این مواد باعث تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها شده و کاهش تعرق را به همراه دارند (Morard et al., 2011). کمبود برخی عناصر از جمله نیتروژن، آهن، منیزیم و منگنز باعث کاهش در میزان کلروفیل و کاهش فتوسنتز می‌شود که در نهایت منجر به کاهش کربوهیدرات گل می‌گردد که کاهش کربوهیدرات‌ها باعث کاهش کیفیت و کاهش عمر پس از برداشت گل‌های بریدنی می‌شود. می‌توان علت افزایش عمر گلجایی توسط کاربرد نانوکلات آهن در این پژوهش را به کاهش از دست دهی آب، کوچک شدن منفذ روزنه و در نتیجه کاهش تعرق در اثر اعمال نانو کلات آهن و همچنین ساختار هیدروکربنی بدون اتیلن نانوکلات آهن ربط داد (Lu et al., 2010; Maleki Farahani et al., 2015). نتایج این پژوهش با نتایج بیگی و چمنی (Bagi & Chamani, 2016) در خصوص تأثیر ماده هیومیکی و نانوکلات آهن روی گل رز و همچنین با نتایج جمالی‌مقدم و حسن‌پوراصیل (Jamali Moghadam & Hassanpour Asil, 2021) در سوسن (*Lilium* LA Hybrid) مطابقت دارد.



جدول ۴- نتایج واکاوی واریانس مربوط به اثرهای تیمارهای اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر جذب عناصر برگ ژبرای رقم *Dune*.

Table 4- The results of analysis of variance related to the effects of fulvic acid and iron nano-chelate treatments on leaf uptake elements of *Gerbera jamesonii* cv. *Dune*.

میانگین مربعات Mean squares						
منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	نیترات Nitrate	فسفر Phosphorus	پتاسیم Potassium	آهن Iron	روی Zinc
اسیدفولویک Fulvic acid	3	0.001**	0.036**	0.33**	1681.39**	443.60**
نانوکلات آهن Iron nano-chelate	3	0.003**	0.002 ^{ns}	0.76**	78184.48**	478.87**
اسیدفولویک * نانوکلات آهن Fulvic acid*Iron nano-chelate	9	0.0006**	0.01**	0.64**	3002.25**	390.39**
خطای آزمایش Experimental error	32	0.00001	0.0008	0.003	340.10	10.22
ضریب تغییرات CV (%)		2.30	8.92	1.79	9.20	8.25

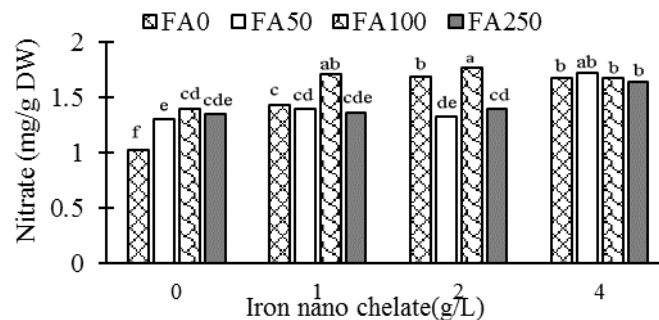
**معنی دار در سطح احتمال ۱٪؛ *معنی دار در سطح احتمال ۵٪؛ NS: نبود معنی داری

**Significant at 1% level of probability, * Significant at 5% level of probability, ns: non-significant

نیترات

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۷) نشان داد که کاربرد هر دو تیمار در مقدار نیترات تأثیر معنی داری نسبت به شاهد داشتند. در غلظت صفر نانوکلات آهن، با افزایش غلظت اسیدفولویک روند افزایشی بود اما بین تیمارهای اسیدفولویک اختلاف معنی داری وجود نداشت. در غلظت‌های ۱ و ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن، کمترین و بیشترین غلظت‌های تیمار اسیدفولویک تقریباً روند ثابتی در افزایش مقدار نیترات داشتند ولی غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک تأثیر بهتری نسبت به سایر تیمارها داشت. در غلظت ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن، تمامی تیمارها تقریباً به یک اندازه سبب افزایش مقدار نیترات شدند و اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند. باین حال بیشترین مقدار نیترات (۱/۷۷ میلی گرم در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک و دو گرم در لیتر نانوکلات آهن بود و کمترین مقدار نیترات (۱/۲۰ میلی گرم در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار شاهد بود.





شکل ۷- تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر نیترات برگ‌زبر بر رقم **Dune** (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۱٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

Figure 7- Effect of different concentrations of fulvic acid and iron nano-chelate on the nitrate *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at 1% level using DMRT test).

اسیدفولویک یکی از ترکیبات هیومیکی می‌باشد که اثرهای سودمند بسیاری در اصلاح خاک، افزایش مقاومت به خشکی، بهبود جذب مواد مغذی، ثبات pH و کاهش آبشویی کود دارد (Suh et al., 2014). نانوکودها در واقع مواد بسیار ریزی هستند که حاوی یک یا چند عنصر غذایی می‌باشند که سبب افزایش رشد گیاه می‌گردند و یا ممکن است حاوی یک یا چند ماده نانو باشند که دسترسی عناصر غذایی را برای گیاه افزایش می‌دهند (Liu & Lal, 2015). هوموس به‌طور مستقیم باعث افزایش جذب عناصر غذایی ماکرو مثل نیتروژن، فسفر، گوگرد و عناصر کم مصرف مثل آهن، روی، منگنز و مس می‌شود و با تحرک بخشی و افزایش فعالیت‌های میکروبیولوژیکی، جذب عناصر را افزایش می‌دهد. در این پژوهش نیز احتمالاً افزایش مقدار نیترات، روی و آهن به این دلیل باشد (Forghani & Javanmard, 2005). اسیدفولویک به‌عنوان فعال‌ترین ترکیب هیومیکی از طریق کلات‌کنندگی عناصر غذایی و با قدرت تبادل یونی بالا، جذب عناصر معدنی را در گیاهان افزایش می‌دهد و از این طریق سبب افزایش کمیت و کیفیت محصول می‌گردد (Saffar & Jami Moeini, 2016).

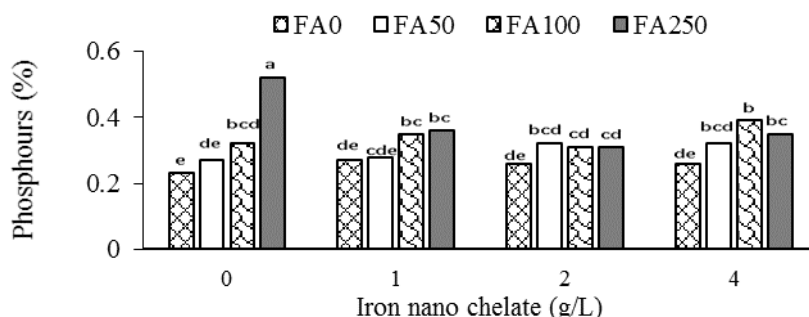
آهن در ترکیب با آنزیم‌های نیترات ردوکتاز (در سیتوپلاسم) و نیتريت ردوکتاز (در کلروپلاست) نیز شرکت دارد، در نتیجه، علاوه بر تثبیت نیتروژن، بر مقدار احیای نیتروژن در گیاه اثر مستقیم دارد (Marschner, 2012). احتمالاً تأثیر نانوکلات آهن در این پژوهش بر میزان نیترات هم به این دلیل باشد. به‌تازگی نشان داده شده است که کاربرد آهن در هنگام کمبود نیتروژن، سبب افزایش میزان نیتروژن شده‌است (Shi et al., 2012). همچنین در پژوهشی روی خیار، مشخص گردیده که کمبود آهن سبب کاهش ۳۵ درصدی نیترات در برگ‌ها و کاهش ۸۰ درصدی فعالیت نیترات ردوکتاز در هر دو قسمت برگ و ریشه می‌شود (Borlotti et al., 2012).

فسفر

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۸) نشان داد که در شرایط بدون کاربرد نانوکلات آهن، با افزایش غلظت اسیدفولویک میزان جذب فسفر نیز افزایش یافت به‌طوری‌که در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک به حداکثر مقدار خود رسید. با توجه به نمودار بیشترین میزان جذب فسفر با افزایش دو برابری نسبت به شاهد مربوط به تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک بدون کاربرد نانوکلات آهن بود که نسبت به تمامی تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود و کمترین مقدار فسفر



نیز مربوط به تیمار شاهد بود که تفاوت معنی داری با تیمارهای بدون کاربرد اسیدفولویک و تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک تا غلظت ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن نداشت.



شکل ۸- تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر عنصر فسفر برگ ژربرا رقم Dune (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

Figure 8- Effect of different concentrations of fulvic acid and iron nano-chelate on the phosphorus *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at the 5% level using DMRT test).

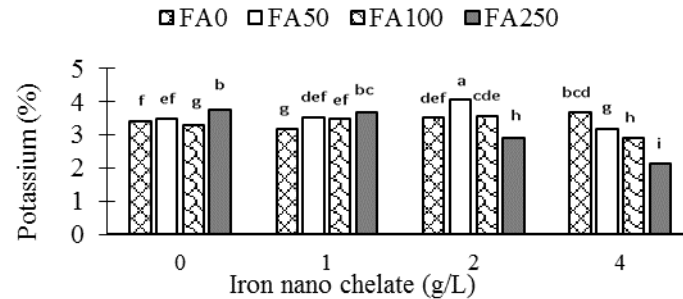
فسفر بیشتر به صورت یون فسفات یک ظرفیتی ($H_2PO_4^-$) طی فرایند انتشار جذب گیاه می‌شود و به صورت فسفات غیر آلی (موجود در واکوئل)، فسفات آلی (فسفات قند در سیتوپلاسم و کلروپلاست) و یا به شکل پیوند پرانرژی با فسفات وجود دارد. اسیدفولویک، فعالیت آنزیم‌هایی مثل ترانس آمیناز، اینورتاز و آلکالین فسفاتاز را افزایش می‌دهد (Parandian, 2011) که به احتمال در این پژوهش نیز اسیدفولویک با ترکیب و ایجاد کمپلکس با آنزیم فسفاتاز باعث افزایش جذب فسفر در گیاه شده است. مواد هوموسی می‌توانند از طریق خاصیت کلات کنندگی، ترکیبات نامحلول حاوی فسفر را قابل حل سازند و علاوه بر فسفر، سایر عناصر غذایی را از این طریق در اختیار گیاه قرار دهند (Selim & Mosa, 2012; Denre *et al.*, 2014). کاهش فسفر با کاربرد آهن می‌تواند به دلیل اثرهای آنتاگونیستی بین فسفر و آهن باشد (El-Shazly & Dris, 2004). در تیمار بدون کاربرد نانوکلات آهن بیشترین میزان فسفر به دست آمد که احتمالاً به خاطر موضوع آنتاگونیستی باشد. از طرفی، افزایش جذب عناصری مانند فسفر در حضور مواد هیومیکی به کاهش سرعت رسوب آن‌ها توسط این مواد نسبت داده می‌شود (Mackowiak *et al.*, 2001)، که با نتایج این پژوهش نیز مطابقت دارد. باتوجه به اینکه در غلظت‌های بدون کاربرد اسیدفولویک کمترین مقدار جذب فسفر به دست آمده و با افزایش غلظت اسیدفولویک و نانوکلات آهن مقدار عنصر فسفر افزایش یافته است (هرچند اختلاف معنی داری نبود)، چنین به نظر می‌رسد که کاربرد اسیدفولویک اثر منفی ناشی از رقابت بین دو عنصر را بهبود بخشیده است.

پتاسیم

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۹) نشان داد که تا غلظت ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن، با افزایش غلظت اسیدفولویک میزان جذب پتاسیم افزایش یافت اما در غلظت ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن تا غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک سبب افزایش میزان جذب حداکثر پتاسیم شد و غلظت‌های بیشتر سبب کاهش معنی دار در جذب این عنصر شد. در غلظت ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن با افزایش غلظت اسیدفولویک میزان جذب پتاسیم به کمترین مقدار رسید. لازم به ذکر است که



بیشترین میزان پتاسیم، مربوط به تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک و ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن بود که دارای اختلاف معنی داری نسبت به تمامی تیمارها بود و کمترین مقدار پتاسیم، در تیمار ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن همراه با ۲۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک مشاهده شد.



شکل ۹- تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر عنصر پتاسیم برگ ژربرا رقم Dune (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

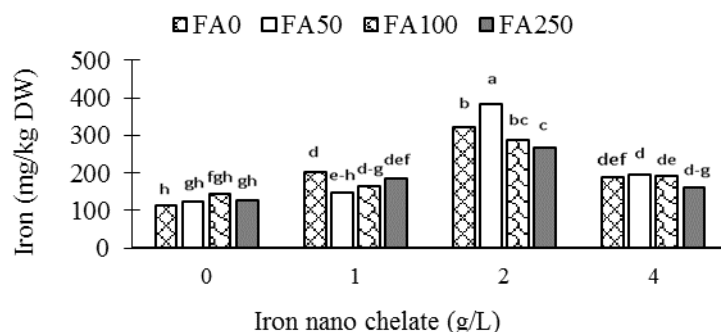
Figure 9- Effect of different concentrations of fulvic acid and iron nano-chelate on the potassium *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at 5% level using DMRT test).

نقش حیاتی پتاسیم در فتوسنتز به دلیل تأثیر مستقیم آن در رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی و جذب دی‌اکسیدکربن اثبات شده است (Dastyaran, 2015). مواد هیومیکی به دلیل دارا بودن اسیدهای آمینه آزاد باعث جذب سریع عناصر غذایی از جمله پتاسیم می‌شوند (Ghosh et al., 2000). در غلظت ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن افزایش پتاسیم مشاهده می‌شود، که احتمالاً کاربرد نانوکلات آهن سبب بهبود سامانه فتوسنتزی گیاه شده که نتیجه آن تولید انرژی بیشتر می‌باشد و از این طریق غلظت عناصری مانند پتاسیم را که به صورت فعال و با صرف انرژی، جذب گیاه می‌شوند را افزایش داده است (Maghsoudi & Najafi, 2016).

آهن

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱۰) نشان داد که در غلظت‌های ۱ و ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن تیمارهای مختلف تقریباً به یک اندازه بر میزان جذب آهن تأثیر داشتند و اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ولی در غلظت ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن، غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک سبب افزایش میزان آهن شد و غلظت‌های بیشتر اسیدفولویک سبب کاهش معنی دار در مقدار این عنصر شدند (هرچند که این کاهش در دو تیمار معنی دار نبود). با توجه به نمودار، بیشترین مقدار آهن در بین تیمارها مربوط به تیمار ترکیبی ۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک و تیمار ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن بود که دارای اختلاف معنی داری با تمامی تیمارها بود و کمترین مقدار آهن، مربوط به تیمار شاهد بود هرچند که اختلاف معنی داری با تیمارهای مختلف اسیدفولویک در غلظت بدون کاربرد نانوکلات آهن و غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک در غلظت ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن نداشت.



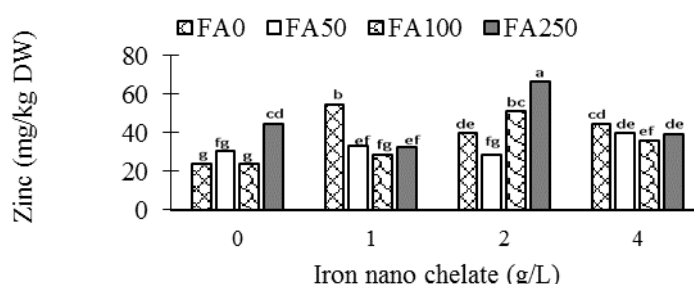


شکل ۱۰- تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر مقدار آهن برگ ژبررا رقم **Dune** (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

Figure 10- Effect of different concentrations of fulvic acid and iron nano-chelate on iron *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at 5% level using DMRT test).

روی

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱۱) نشان داد که در غلظت بدون کاربرد نانوکلات آهن، با افزایش غلظت اسیدفولویک به ۲۵۰ میلی گرم در لیتر میزان جذب روی نیز افزایش یافت. در غلظت ۱ و ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن، با افزایش غلظت اسیدفولویک میزان جذب روی نیز کاهش یافت هرچند که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف اسیدفولویک نبود. در غلظت ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن، با افزایش غلظت اسیدفولویک میزان جذب افزایش یافت به‌طوری‌که به حداکثر مقدار خود رسید. در بین تمامی غلظت‌های اسیدفولویک و نانوکلات آهن بیشترین میزان جذب روی، در تیمار ترکیبی ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر اسیدفولویک و ۲ گرم بر لیتر نانوکلات آهن بود و کمترین مقدار روی، در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدفولویک بدون کاربرد نانوکلات آهن به دست آمد.



شکل ۱۱- تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر مقدار عنصر روی برگ ژبررا رقم **Dune** (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن می‌باشد).

Figure 11- Effect of different concentrations of fulvic acid and iron nano-chelate on zinc *Gerbera jamesonii* cv. Dune (Non-identical letters indicate a significant difference at 5% level using DMRT test).

مواد هوموسی با وزن مولکولی کم، تأثیر بیشتری بر جذب آهن توسط گیاه دارند (Sanchez et al., 2006). مواد هیومیک، با تشکیل کمپلکس‌های آلی محلول، از رسوب اکسیدهای آهن جلوگیری کرده و پخشیدگی آهن به سمت ریشه گیاه را افزایش

می‌دهند (De Santiago & Delgado, 2007). اثر تحریک‌کنندگی مواد هیومیکی در نگهداری روی و آهن بسته به غلظت‌های مؤثر آن می‌باشد (Clapp et al., 2001).

وجود مواد هوموسی چه در خاک و چه در محلول‌های غذایی با کمپلکس کردن و انحلال‌پذیری عناصر، به‌خصوص عناصر کم‌مصرف، در دسترس بودن این عناصر را افزایش می‌دهند (Pinto et al., 2004). می‌توان گفت که مواد هیومیک از طریق تشکیل کلات‌های پایدار با آهن و روی سبب افزایش حلالیت و کاهش تثبیت این عناصر می‌شوند و ضمن افزایش قابلیت جذب این عناصر سبب افزایش دسترسی گیاهان به این عناصر می‌گردند (Ghosh et al., 2000). تغذیه برگ‌ی باعث می‌شود که میزان مصرف عناصر ماکرو کمتر شود. استفاده از محلول‌پاشی برگ‌ی به‌عنوان یک روش سریع ذخیره عناصر کم مصرف می‌باشد، چراکه بسیاری از عناصر ریزمغذی تثبیت می‌شوند (El-Mohamedy & Ahmed, 2009). می‌توان افزایش غلظت آهن برگ را به‌دلیل ریز بودن ذرات نانوکلات آهن و بهبود ناشی از جذب آسان‌تر و سریع‌تر آهن توسط اندام‌ها در روش محلول‌پاشی و انتقال بیشتر آن به گیاه دانست.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که اسیدفولویک و نانوکلات آهن می‌توانند سبب بهبود یا افزایش ویژگی‌های ریخت‌شناسی گیاه ژربرا شوند. با کاربرد این مواد در غلظت‌های مناسب مقدار شاخص‌های ریخت‌شناسی و جذب عناصر افزایش یافت. همچنین در پژوهش‌های مختلف تأثیر این مواد در غلظت‌های مناسب برای گیاهان مختلف به اثبات رسیده است.

منابع

- Abbaszadeh Faruji, R., Shoor, M., Tehranifar, A., Abedy, B., Safari, N. (2018). Effects of Humic Acid and Fulvic Acid on some Morphological Characteristics of Geranium. *Journal of Horticultural Science*, 32(1), 35-50. (In Persian with English abstract).
- Askari, M., Amirjani, M., Saberi, T. (2014). Evaluation of the effects of iron nanofertilizer on leaf growth, antioxidants and carbohydrate contents of *Catharanthus roseus*. *Journal of Plant Process and Function*, 3(7), 43-56. (In Persian with English abstract).
- Bagi, H., Chamani, E. (2016). Effects of iron nanoparticles and humic acid on growth, development and vase life of cut rose flower cv. White Nablus under hydroponic conditions. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 7(3), 103-112. (In Persian).
- Bastani, S., Hajiboland, R., Khatamian, M., Saket Oskou, M. (2018). Nano iron (Fe) complex is an effective source of Fe for tobacco plants grown under low Fe supply. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 18(2), 524-541.
- Borlotti, A., Vigani, G., Zocchi, G. (2012). Iron deficiency affects nitrogen metabolism in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. *BMC Plant Biology*, 12, 189-195.
- Cataldo, D.A., Maroon, M., Schrader, L.E., Youngs, V.L. (1975). Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 6(1), 71-80.
- Cha, J.Y., Kim, T.W., Choi, J.H., Jang, K.S., Khaleda, L., Kim, W.Y., Jeon, J.R. (2017). Fungal laccase-catalyzed oxidation of naturally occurring phenols for enhanced germination and salt tolerance of *Arabidopsis thaliana*: A green route for synthesizing humic-like fertilizers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 65, 1167-1177.
- Chinnamuthu, C.R., Boopathi, M.P. (2009). Nanotechnology and agroecosystem. *Plant Nutrition and Soil Science*, 168, 558-573.
- Clapp, C.E., Chen, Y., Hayes, M.H.B., Cheng, H.H. (2001). *Plant growth promoting activity of humic substances*. In: Swift, R.S., Sparks, K.M. (Eds.), understanding and managing organic matter in Soils, sediments and waters. International Humic Science Society, Madison, pp. 243-255.
- Dastyaran, M. (2015). Effect of humic acid and exogenous putrescine on vase life and leaf macro elements status



- of hydroponic cultured Rose. *Agricultural Communications*, 3(1), 43-49.
- De Hita, D., Fuentes, M., Fernández, V., Olaetxea, M., García-Mina, J.M. (2020). Discriminating the short-term action of root and foliar application of humic acids on plant growth: Emerging role of jasmonic acid. *Frontiers in Plant Science*, 11, 493.
- De Santiago, A., Delgado, A. (2007). Effects of humic substances on iron nutrition of lupin. *Biology and Fertility of Soils*, 43, 829-836.
- Denre, M., Ghanti, G., Sarkar, K. (2014). Effect of humic acids application on accumulation of mineral nutrition and pungency in garlic (*Allium sativum* L.). *International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research*, 5, 7-12.
- Dole, J.M., Wilkins, F.H. (2005). *Floriculture, principles and species*. Prentice Hall Upper Saddle River New Jersey. Pp. 356-360.
- El-Mohamedy, R.S.R., Ahmed, M.A. (2009). Effect of biofertilizers and humic acid on control of dry root rot disease and improvement yield quality of Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(2), 127- 137.
- El-Shazly, S.M., Dris, R. (2004). Response of 'Anna' apple trees to foliar sprays of chelated iron, manganese and zinc. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 2, 126-130.
- Ersingu, A., Sezen, I., Aytatli, B., Ercisli, S. (2015). Effect of humic and fulvic acid application on growth parameters in *Impatiens walleriana* L. *Akademik Ziraat Dergisi*, 4(1), 37-42.
- Forghani, A., Javanmard, A. (2005). Effect of several additives on humic and fulvic acid of different soils. Ninth Congress of Soil Science of Iran. Karaj. (In Persian).
- Ghosh, S.Ch., Asanuma, K.A., Kusutani, A., Toyota, M. (2000). Nitrogen distribution and uptake efficiency traits of potato under different nitrogen regimes. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3(6), 943-948.
- Haghighi M., Nikbakht A., Xia Y.P., Pessarakli M. (2014). Influence of humic acid in diluted nutrient solution on growth, nutrient efficiency and postharvest attributes of gerbera. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 45, 177-188.
- Jamali Moghadam, H., Hassanpour Asil, M. (2021). Improving morpho-physiological characteristics and extending vase life of Lily (*Lilium* LA Hybrid) cv. Original Love using gibberellic acid and humic acid. *Flower and Ornamental Plants*, 6(1), 49-70. (In Persian with English abstract).
- Jung, H., Kwon, S., Kim, J-H., Jeon, J-R. (2021). Which Traits of Humic Substances Are Investigated to Improve Their Agronomical Value? *Molecules*, 26(3), 760-770.
- Khoshkalam, A., Talebi Atouee, M., Bakhshi Ganjeh, M., Ahmadi Gol, F.A., Meftahi, M. (2015). Nano technology and its development in agriculture. *Nanotechnology*, 45(1), 1-12. (In Persian).
- Lee, J.G., Yoon, H.Y., Cha, J.Y., Kim, W.Y., Kim, P.J., Jeon, J.R. (2019). Artificial humification of lignin architecture: Top-down and bottom-up approaches. *Biotechnology Advances*, 37, 107-116.
- Liu, R., Lal, R. (2015). Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the Total Environment*, 514, 131-139.
- Lu P., He Sh., Li H., Cao J., Xu H.L. (2010). Effects of nano-silver treatment on vase life of cut rose cv. Movie Star flowers. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8(2), 1118-1122.
- Mackowiak, C.L., Gross, P.K., Bugbee, B.G. (2001). Beneficial effects of humic acid on micronutrient availability to wheat. *Soil Science Society of America Journal*, 65, 1744-1750.
- Maghsoudi, M.R., Najafi, N.A. (2016). Investigation the effect of nano-fertilizers microelements on plant nutrition. *Journal of Areas Management*, 4(2), 115-132. (In Persian with English abstract).
- Maleki Farahani S., Khaledi A., Sharghi Y. (2015). Effect of nano iron chelate fertilizer on iron absorption and saffron (*Crocus sativus* L.) quantitative and qualitative characteristics. *Asian Journal of Biological Science*, 8(2), 72-82.
- Marschner, H. (2012). Mineral nutrition of higher plants. 3rd ed. New York, USA. 672p.
- Mizukoshi, K., Nishiwaki, T., Ohtake, N., Minagawa, R., Kobayashi, K., Ikarashi, T., Ohayama, T. (1994). Determination of tungstate concentration in plant materials by HNO₃-HClO₄ digestion and colorimetric method using thiocyanate. *Plant Analysis and Methods*, 46, 51-56.
- Mohamadipoor, R., Sedaghatpoor, S., Mahboub-Khomami, A. (2013). Effect of application of iron fertilizers in two methods 'foliar and soil application' on growth characteristics of *Spathiphyllum illusion*. *European Journal of Experimental Biology*, 3, 232-240.



- Morard P., Eyheraguibel B., Morard M., Silvestre J. (2011). Direct effects of humic- like substances on growth, water and mineral nutrition of various species. *Journal of Plant Nutrition*, 34, 46-59.
- Naderi, M.R., Danesh-Shahraki, A. (2013). Nanofertilizers and their roles in sustainable agriculture. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(19), 2229-2232.
- Nardi, S., Schiavon, M., Francioso, O. (2021). Chemical Structure and Biological Activity of Humic Substances Define Their Role as Plant Growth Promoters. *Molecules*, 26(8), 2256-2276.
- Ohayama, T., Ito, M., Kobayashi, K., Araki, S., Yasuyoshi, S., Sasaki, O., Yamazaki, T., Sayoma, K., Tamemura, R., Izuno, Y., Ikarashi, T. (1991). Analytical procedures of N, P and K content in plant and manure materials using $H_2SO_4-H_2O_2$ Kjeldahl digestion Method. Bulletin of the Faculty of Agriculture, Niigata University. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 43, 111-120.
- Parandian, F. (2011). Investigation the effect of fulvic and humic acid on qualitative and quantitative indices of liliun cv. Birindisi. MSc Thesis, Islamic Azad University of Garmsar. (In Persian).
- Pinto, A.P., Mota, A.M., Varennes, A., Pinto, F.C. (2004). Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by Sorghom plants. *Science of the Total Environment*, 326(1-3), 239-247.
- Rahmani, A., Mirza, M., Tabaei Aghdai, S. (2014). Effects of different fertilizers (macro and micro elements) on quantity and quality of essential oil and other byproducts of *Rosa damascena* Mill. In Iran. *Iranian Journal of Medicinal and aromatic plants*, 29(4 (62)), 747-759. (in Persian with English abstract).
- Rasouli, M., Khodabakhshzadeh, S., Ahmadi Ghoreh Jilee, E., Afrouzi, Kh. (2014). Investigation the applications and effects of nano fertilizers in improved production of agricultural products. Special study: effect of iron nano chelate on Vitis production and garden plants. First National Conference on Nanotechnology; Advances and Applications. Hamedan, Iran. (In Persian).
- Rico, C.M., Majumdar, S., Duarte-Gardea, M., Peralta-Videa, J.R., Gardea-Torresdey, J.L. (2011). Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3485-3498.
- Russell, L., Stokes, A.R., Macdonald, H., Muscolo, A., Nardi, S. (2006). Stomatal responses to humic substances and auxin are sensitive to inhibitors of phospholipase A2. *Plant and Soil*, 283, 175-185.
- Ryan, J., Estefan, G., Rashid, A. (2001). Soil and plant Analysis: Laboratory Manual. ICARDA, ALEPPO.
- Saffar, M., Jami Moeini, M. (2016). Effect of organic acid spray on sorghum growth characteristics and protein content of aerial organs. Third National Congress of Environmental and Agricultural Research of Iran. Hamedan. (In Persian).
- Sanchez, A.S., Andreu, J.S., Juarez, M., Jorda, J., Bermudez, D. (2006). Improvement of Iron uptake in table grape by addition of humic substances. *Journal of Plant Nutrition*, 29, 259-272.
- Selim, E.M., Mosa, A.A. (2012). Fertigation of humic substances improves yield and quality of broccoli and nutrient retention in a sandy soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 175, 273-281.
- Shahrekizad, M., Gholamalizadeh Ahangar, A., Mir, N. (2015). EDTA-coated Fe_3O_4 nanoparticles: a novel biocompatible fertilizer for improving agronomic traits of sunflower (*Helianthus annuus*). *Journal of Nano Structures*, 5, 117-127.
- Shi, R., Weber, G., Koster, J., Reza-Hajirezaei, M., Zou, C., Zhang, F. (2012). Senescence-induced iron mobilization in source leaves of barley (*Hordeum vulgare*) plants. *New Phytologist*, 195, 372-383.
- Suh, H.Y., Yoo, K.S., Suh, S.G. (2014). Tuber growth and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.) as affected by foliar or soil application of fulvic and humic acids. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, 55, 183-189.
- Taha, A A., Omar, M., Ghazy, M.A. (2016). Effect of humic and fulvic acids on growth and yield of lettuce plant. *Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering*, 7(8), 517-522.
- Tahiri, A., Delparte, F., Muhovski, Y., Ongena, M., Thonart, P., Druart, P. (2016). Change in ATP-binding cassette B1/19, glutamine synthetase and alcohol dehydrogenase gene expression during root elongation in *Betula pendula* Roth and *Alnus glutinosa* L. Gaertn in response to leachate and leonardite humic substances. *Plant Physiology and Biochemistry*, 98, 25-38.
- Yazdani B. (2010). Effect of different concentrations of humic acid and fulvic acid on the qualitative and quantitative characteristics of *Gerbera jamesonii*. Master's Thesis. Isfahan University of Agricultural Sciences. (In Persian).
- Zandonadi, D.B., Santos, M.P., Dobbss, L.B., Olivares, F.L., Canellas, L.P., Binzel, M.L., Okorokova-Facanha,



- A.L., Facanha, A.R. (2010). Nitric oxide mediates humic acid-induced root development and plasma membrane H⁺-ATPase activation. *Planta*, 231, 1025–1036.
- Zimbovskaya, M.M., Polyakov, A.Y., Volkov, D.S., Kulikova, N.A., Lebedev, V.A., Pankratov, D.A., Konstantinov, A.I., Parfenova, A.M., Zhilkibaev, O.T., Perminova, I.V. (2020). Foliar application of humic-stabilized nanoferrhydrite resulted in an increase in the content of iron in wheat leaves. *Agronomy*, 10,1891.





Effect of fulvic acid and iron nano-chelate on improving growth characteristics and leaf elements content of gerbera (*Gerbera jamesonii* L. 'Dune')

Soheila Hajizadeh¹, Zohreh Jabbarzadeh^{1*} MirHassan Rasouli-Sadaghyani²

1. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia

2. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia

✉ z.jabbarzadeh@urmia.ac.ir

Abstract

Gerbera is one of the most beautiful and popular commercial cut flowers in the world and has taken the fourth place among this group of flowers. Considering the importance of flowers and ornamental plants, it seems necessary to improve the quantity and quality of these plants. A factorial experiment was conducted to investigate the effect of different concentrations of fulvic acid and iron nano-chelate on the morphological characteristics and the amount of leaf elements of *Gerbera jamesonii* 'Dune', based on a completely randomized design with two factors and three replications. The treatments included fulvic acid in 4 concentrations of 0, 50, 100 and 250 mg L⁻¹ as drench and iron nano-chelate in 4 concentrations of 0, 1, 2 and 4 g L⁻¹ as foliar application that applied in pot and in hydroponic conditions. The characteristics measured in this research were: the number of leaves, fresh and dry weight of leaves and roots, root volume, vase life and absorption rate of some nutrients. The results of the research showed that with the increase in the concentration of iron nano-chelate and fulvic acid, the number of leaves increased, so that the maximum number of leaves was obtained at the concentration of 250 mg L⁻¹ of fulvic acid and 4 g L⁻¹ of iron nano-chelate. Iron nano-chelate treatment alone caused an increase in leaf fresh weight, but this increase was significant only at a concentration of 4 g L⁻¹ compared to the control. Root fresh weight was significantly increased in all fulvic acid and iron nano-chelate treatments. The root volume also increased with the application of different concentrations of fulvic acid, but its increase was significant only at the concentration of 100 mg L⁻¹ of fulvic acid compared to the control. The amount of potassium absorption decreased with the increase in the concentration of iron nano-chelate and fulvic acid. Phosphorus absorption at a concentration of 250 mg L⁻¹ of fulvic acid and iron and zinc absorption at a concentration of 2 g L⁻¹ of iron nano-chelate with 50 and 250 mg L⁻¹ of fulvic acid reached their maximum, respectively. The results of this research showed that fulvic acid and iron nano-chelate improve the growth characteristics of gerbera by affecting the optimal absorption of elements.

Keywords: Element absorption, Humic substances, Leaf fresh and dry weight, Nano fertilizers, Root volume.