

بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل ژربرا رقم دانی (*Gerbera jamesonii*) با کاربرد همزمان فولیک اسید و نانو کلات آهن

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

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ^۲ گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۷/۱۳)

چکیده

با توجه به اثرات مفید فولیک اسید و آهن در بهبود ویژگی‌های رشدی و گلدهی گیاهان، در این پژوهش تأثیر فولیک اسید و نانو کلات آهن بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل ژربرا رقم دانی بررسی شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور فولیک اسید در چهار غلظت صفر (به‌عنوان شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت محلول و کاربرد در پای بوته و نانو کلات آهن در چهار غلظت صفر (به‌عنوان شاهد)، ۱، ۲ و ۴ گرم در لیتر به صورت محلول‌پاشی با سه تکرار در شرایط گلخانه در گلدان و در محیط کشت هیدروپونیک اجرا شد. تیمارها و نیز اثرات متقابل آنها باعث افزایش شاخص‌های اندازه‌گیری شده نسبت به تیمار شاهد شدند. بیشترین تعداد برگ (۴۰ برگ) در تیمار فولیک اسید ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه ۴ گرم در لیتر نانو کلات آهن مشاهده شد. بیشترین قطر رزت (۹۳/۶۶ سانتی‌متر) در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید به همراه ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن به دست آمد. بیشترین میزان قند محلول و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید و غلظت ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن مشاهده شد. برای افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید و ۴ گرم در لیتر نانو کلات آهن بهترین تیمار بودند. به‌طور کلی کاربرد فولیک اسید و نانو کلات آهن در گیاهان زینتی می‌تواند اثرات مثبتی بر روی گیاه داشته باشد.

کلمات کلیدی: آنتوسیانین گلبرگ، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ژربرا، قطر گل، نانو کلات آهن

مقدمه

شاخه بریدنی است (Floraholland, 2014). تنوع زیاد رنگ، جذابیت استفاده از این گل را در تزئین باغ، مانند مرزهای علفی و پوششی، گلدانی و همچنین گل بریدنی به‌دلیل ماندگاری پس از برداشت زیاد آن، دو چندان نموده است (Chung et al., 2005). به‌دلیل تنوع رنگ و گل‌های جذاب در دسته گل‌ها و به‌عنوان گل خشک در صنایع دستی از آن استفاده می‌شود (Soad et al., 2011). یکی از فراوان‌ترین

ژربرا با نام علمی *Gerbera jamesonii*. متعلق به تیره Asteraceae، گیاهی دائمی، گرمسیری و حساس به سرما با ریشه‌های عمیق است که گل‌های مجزای آن روی ساقه کرکدار تشکیل می‌شوند (قاسمی‌قهنساره و کافی، ۱۳۹۱). این گل از مهم‌ترین گل‌های بریدنی تجاری با تقاضای داخلی و بین‌المللی است (Soad et al., 2011) و در رتبه پنجم بین‌المللی گل‌های

اشکال مواد آلی در طبیعت، ترکیبات هوموسی است. ترکیبات هوموسی مواد آلی، دارای دو نوع اسید آلی مهم به نام‌های هیومیک اسید، فولیک اسید و جز هیومین است. فولیک اسید از این ترکیبات هیومیکی است که اثرات سودمند بسیاری در افزایش مقاومت به خشکی، بهبود جذب مواد مغذی و کاهش آبخسویی کود دارد (Suh et al., 2014). اسیدهای فولیک مجموعه‌ای از زنجیره‌های آلیفاتیک ضعیف و اسیدهای ارگانیک آروماتیک هستند که در کلیه pHهای اسیدی، بازی و خنثی در آب قابل حل هستند. شکل و ترکیب این مولکول، کاملاً تغییرپذیر است (متقی، ۱۳۹۴). قدرت تبادل یونی فولیک اسید بیش از دو برابر هیومیک اسید است که این قدرت تبادل یونی زیاد، به دلیل حضور گروه کربوکسیل موجود در فولیک اسید است. فولیک اسید یک تامپون طبیعی و کلات‌کننده مناسب با قدرت تبادل یونی زیاد است که قدرت جذب عناصر معدنی را در گیاهان افزایش می‌دهد که در نتیجه آن، مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد و نیز باعث افزایش کیفیت و کمیت محصول می‌گردد (کربلایی قلیزاده، ۱۳۹۵). مواد هیومیکی با مکانیسم‌های مختلف سبب تسریع رشد در گیاهان می‌شوند. یکی از این مکانیسم‌ها به اثر مستقیم این ترکیبات بر رشد گیاه به دلیل افزایش جذب عناصر غذایی از محیط کشت و نیز افزایش نفوذپذیری سلول بر می‌گردد، از سوی دیگر به وجود ترکیبات شبه‌هورمونی این مواد، از جمله ترکیبات اکسینی و شبه اکسینی مربوط است که می‌توانند رشد سلول‌ها را تحت تأثیر قرار دهند (Atiyeh et al., 2002). با توجه به مشاهدات Ersingu و همکاران (۲۰۱۵) که با هدف بررسی تأثیر کاربرد فولیک اسید در غلظت‌های صفر و ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی پارامترهای رشد گل‌حنا (*Impatiens walleriana*) انجام شده بود، نتایج نشان داد که فولیک اسید بیشترین تأثیر را بر وزن تر و خشک ریشه و شاخه داشت. در مشاهدات Nasiri و همکاران (۲۰۱۵) درباره تأثیر هیومیک اسید، کریستالون و فولیک اسید (با غلظت‌های صفر، ۲ و ۴ در هزار) بر ویژگی‌های کمی و کیفی گل شمعدانی به صورت محلول‌پاشی، نتایج نشان داد که فولیک

اسید تأثیر معنی‌داری بر افزایش تعداد برگ، وزن تر و خشک ریشه و ساقه داشت که بیشترین تأثیر فولیک اسید روی صفات مورد نظر، در غلظت ۴ در هزار گزارش شد. مطالعات انجام‌شده توسط امینی‌فرد و احمدی (۱۳۹۷) نشان داد که در بررسی اثر فولیک اسید و کود دامی بر مواد مؤثره و فعالیت ضدرادیکالی گلبرگ زعفران، فولیک اسید تأثیر معنی‌داری بر آنتوسیانین گلبرگ داشت. در مشاهدات بیرق‌دار (۱۳۹۵)، با هدف بررسی تأثیر فولیک اسید در چهار سطح صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به صورت محلول‌پاشی در گل آهار، تأثیر مثبت غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید بر میزان کلروفیل، پروتئین و کاروتنوئید گزارش شد.

با استفاده از مواد نانو ساختار یا نانو مقیاس به عنوان حامل کودی یا ناقل کنترل‌کننده رهاسازی به منظور ایجاد کودهای هوشمند، فناوری نانو منشأ امیدواری‌های بسیاری در جهت عبور از محدودیت‌های تکنیکی موجود بر سر راه آزادسازی آرام و کنترل‌شده عناصر کودها شده است. نانو کودها راندمان مصرف بالایی دارند و می‌توانند به صورت مطلوب در نقطه مناسبی از ناحیه رشد ریشه عناصر غذایی خود را آزاد کنند (Lai, 2007). نانو کودها با رهاسازی تدریجی و آرام عناصر غذایی بهترین جایگزین برای کودهای مرسوم هستند. با بهره‌گیری از نانو کودها، عناصر غذایی به آرامی و با سرعتی مناسب در تمام فصل رشد گیاه آزاد می‌شوند و به دلیل کاهش آبخسویی، گیاهان قادر به جذب بیشتر عناصر خواهند بود و آلودگی‌های زیست‌محیطی کاهش می‌یابد (Chinnamuthu and Boopathi, 2009). نانو پودرها مخلوطی از ذره‌ها با ابعادی بین ۱ تا ۱۰ نانومتر هستند. این مواد بایستی با مواد مشابه خود که نانو نیستند خواص متفاوت فاحشی داشته باشند، ذخیره انرژی زیادتر به شکل شیمیایی، چگالی بسیار بیشتر مثل نسبت سطح به حجم زیادتر، هدایت الکتریکی بهتر، کارایی بهتر و پیشرفته‌تر مانند رسانش هدفمند از جمله این خواص است (Tantawy et al., 2014). با توجه به قطر نانو ذرات انتظار می‌رود سرعت جذب، انتقال و تجمع ذرات نانو بسیار بیشتر از ذرات معمول باشد. بالابودن کارایی جذب و سطح مخصوص

تحقیقی و تولیدی دانشگاه ارومیه انجام شد. در این آزمایش از رقم Dune ژربرا استفاده شد. پس از انتخاب رقم مورد نظر، نشاهای تهیه‌شده در گلدان‌های پلاستیکی کشت شدند. هر واحد آزمایشی شامل یک گلدان و هر گلدان حاوی یک گیاه بوده و مجموعاً ۴۸ واحد آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت. محیط کشت مورد استفاده غیرخاکی و مخلوطی از کوکوپیت (۵ درصد) و پرلایت (۳۰ درصد) و پیت ماس (۶۵ درصد) بود. تغذیه گیاه ژربرا سه بار در هفته و براساس ترکیب محلول غذایی که در جدول ۱ آورده شده است، صورت گرفت. لازم به ذکر است که عناصر میکرو نیز با غلظت مشخص به محلول غذایی اضافه می‌شدند.

در این آزمایش از دو تیمار شامل فولیک اسید Thomson Fulvico ۸۰ درصد فولیک اسید شرکت هومت و نانو کلات آهن ۹ درصد خضرا استفاده شد. پس از استقرار کامل گیاهان، تیمارهای موجود در این پژوهش شامل غلظت‌های مختلف فولیک اسید صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت محلول و کاربرد پای بوته و نانو کلات آهن در غلظت‌های صفر، ۱، ۲ و ۴ گرم در لیتر به صورت محلول پاشی اعمال شد (جدول ۲).

تعداد برگ، طول برگ، قطر رزت: پس از انتخاب سه گلدان به طور تصادفی، تعداد برگ در کل گیاه نیز با شمارش تعیین شد. طول برگ به وسیله خط‌کش اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری قطر رزت نیز (شامل قطر از نوک برگ‌های بیرونی مقابل هم از دو طرف) به وسیله خط‌کش انجام شد.

قند محلول: برای اندازه‌گیری قندهای محلول، ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی نگه‌داری شده در یخچال (تهیه عصاره: ۰/۵ گرم از بافت برگ در هاون با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد له گردید، سپس مایع رویی جدا و به لوله آزمایش به حجم ۲۵ میلی‌لیتر منتقل شد. سپس ۵ درصد اتانول ۷۰ درصد به بخش جامد باقی‌مانده اضافه و کاملاً شستشو گردید. این بخش از مایع رویی جدا و به لوله آزمایش به حجم ۲۵ میلی‌لیتر منتقل شد. در نهایت ۱۰ میلی‌لیتر عصاره به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۵۰۰ دور سانتریفیوژ شد) به کمک میکروپیت به

نانو ذرات در مقایسه با ذرات معمول، اثرگذاری بیشتر این ذرات را می‌تواند توجیه کند (Monica and Cremonini, 2003). نانو کود کلات آهن دارای بنیان یا کمپلکسی پایدار و قوی است که در بازه $11 < \text{pH} < 3$ ، یعنی بالاتر از استاندارد ملی ایران $\text{pH} = 8/3$ ، ۹ درصد آهن محلول در آب را در اختیار گیاهان قرار می‌دهد. از نقش‌های آهن تثبیت نیتروژن است که سبب افزایش رشد رویشی در گیاهان می‌شود (Borlotti et al., 2012). در مطالعات انجام‌شده توسط منتظری و همکاران (۱۳۹۱) افزایش تعداد برگ با کاربرد نانو کلات آهن روی بنفشه آفریقایی گزارش شده است. با توجه به مشاهدات Shahrekizad و همکاران (۲۰۱۵) روی آفتابگردان کاربرد نانو کود آهن سبب افزایش پارامترهای رشد از قبیل تعداد برگ، ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک آن شد. Kaviani و Fakouri Gaziani (۲۰۱۶) در بررسی محلول‌پاشی نانو کلات آهن در غلظت‌های صفر، ۰/۹، ۱/۸، ۳/۶ و ۴/۵ گرم بر لیتر و سایکوسل بر برخی ویژگی‌های رشدی، گلدهی و شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه بنت القنسول (*Euphorbia pulcherrima*)، بیان کردند که با افزایش غلظت نانو کلات آهن، محتوای کلروفیل نسبت به شاهد افزایش یافت و بیشترین تعداد برگ، طول ریشه، حجم ریشه و وزن تر و خشک را در تیمار ۱/۸ گرم بر لیتر نانو کلات آهن گزارش دادند. تأثیر مثبت این مواد توسط محققان دیگر نیز اثبات شده است. این مواد با بهبود جذب عناصر غذایی محیطی ایده‌آل را برای رشد گیاهان فراهم می‌کنند. با توجه به موارد ذکرشده و بنا به گزارش‌های متعدد مبنی بر عملکرد خوب فولیک اسید و نانو کلات آهن و در دسترس نبودن اطلاعات کافی درخصوص تأثیر این تیمارها در گیاهان زینتی و در محیط‌کشت هیدروپونیک، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر فولیک اسید به صورت محلول و کاربرد در پای بوته و کاربرد محلول‌پاشی نانو کلات آهن بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گل ژربرا انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سال‌های ۹۷-۹۶ در گلخانه‌های پژوهشی،

جدول ۱- برنامه غذایی مورد استفاده برای ژبررا

5Ca (NO ₃) ₂ -NH ₄ NO ₃ .10H ₂ O	Fe chelate 6%	K ₂ SO ₄	MAP	NH ₄ NO ₃	KNO ₃	Mg(NO ₂) ₂
75 gr	20 gr	87 gr	115 gr	100 gr	493 gr	210 gr

جدول ۲- درصد ترکیبات نانو کلات آهن مصرفی

Manganese	Zinc	Iron
۱%	۱%	۹%

مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار $\text{pH} = 7/5$ ، ۰/۲ میلی لیتر هیدروژن پراکسید ۱ درصد و ۰/۳ میلی لیتر عصاره استخراجی بود. (تهیه بافر فسفات: محلول اول شامل، ۹/۶ گرم سیتریک اسید حل شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر و محلول دوم شامل: ۷/۰۹ گرم دی سدیم هیدروژن فسفات حل شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر است. سپس از نمونه اول ۵/۲۲ میلی لیتر برداشته و با ۶۹/۵ میلی لیتر از نمونه دوم مخلوط و حجم محلول به ۲۰۰ میلی لیتر رسانده شد)، با اضافه کردن عصاره به محیط واکنش، تجزیه H_2O_2 به وسیله آنزیم شروع شد. سپس فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت کاتالاز از ضریب خاموشی $43/6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ استفاده شد (رابطه ۱).

رابطه ۱:

$$\text{units} \frac{\text{mM}}{\text{min}} = \frac{\text{doD}}{\text{min}(\text{slope})} \times \text{vol. of assay (0.0003)} / \text{Extinction coefficient (43.6)}$$

Extinction coefficient = ضریب خاموشی

doDmin = اختلاف دو عدد خوانده شده طی یک دقیقه

Vol. of assay = حجم محلول داخل سل

اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تمام تیمارها و تکرارها با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه گیری شد. محلول واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با $\text{pH} = 7$ (EDTA ۰/۱ میلی مولار، آسکوربات سدیم ۱ میلی مولار) ۰/۲ میلی لیتر (۲۰۰ میکرولیتر) H_2O_2 ۱ درصد و

داخل لوله آزمایش ریخته شد و ۳ میلی لیتر آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی گرم آنترون + ۱۰۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ۷۲ درصد) به آن اضافه شد. لوله های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند تا ماده رنگی تشکیل شود. پس از خنک شدن نمونه ها میزان جذب آنها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل 2100 unic) خوانده شد. برای تهیه استاندارد قند، از گلوکز محلول هایی با غلظت صفر تا ۱۲۰ میلی گرم در لیتر تهیه و کلیه مراحل آزمایش روی آنها انجام گردید و در نهایتاً میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد (Irigoyen et al., 1992).

آنتوسیانین گلبرگ: برای اندازه گیری آنتوسیانین گلبرگ از روش Wagner (۱۹۷۹) استفاده شد. ۰/۱ گرم از بافت تر گلبرگ به همراه ۱۰ میلی لیتر محلول متانول اسیدی (متانول و کلریدریک اسید) به نسبت حجمی ۱:۹۹ در هاون چینی کاملاً ساییده شد و سپس عصاره حاصل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. سپس عصاره ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند و فاز بالایی آنها جدا شد و در طول موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی معادل $\epsilon = 33000 \text{ mol.cm}^{-2}$ استفاده گردید. مقدار آنتوسیانین با استفاده از رابطه $A = \epsilon bc$ بر حسب میکرومول بر گرم وزن تازه محاسبه شد. در این رابطه A جذب نمونه، b عرض کووت بر حسب سانتی متر و c غلظت محلول مورد نظر است.

اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی: فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Aebi (۱۹۸۴) اندازه گیری شد.

لیتر فولیک اسید و ۴ گرم در لیتر نانو کلات آهن به دست آمد. لازم به ذکر است که کمترین تعداد برگ (۲۴ عدد) مربوط به غلظت ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن بدون کاربرد فولیک اسید بود.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۲) براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که هر چند بیشترین مقدار طول برگ (۶۴ سانتی‌متر) در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید بود اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف فولیک اسید و نانو کلات آهن وجود نداشت و فقط در تیمار شاهد کمترین مقدار طول برگ (۵۱/۶۶ سانتی‌متر) نسبت به بقیه تیمارها مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با اکثر تیمارها نداشت.

در این پژوهش فولیک اسید و نانو کلات آهن تغییرات معنی‌داری بر شاخص‌های مورفولوژی گل ژربرا نشان دادند. مواد هیومیکی با تأثیر بر نفوذپذیری غشا سلولی، کلاته‌کردن عناصر غذایی، افزایش کارایی کودها، جذب عناصر ریزمغذی، جذب اکسیژن، فسفر، تنفس و فتوسنتز بر رشد و نمو گیاه مؤثر هستند (نصیریپور و همکاران، ۱۳۹۳). Atiyeh و همکاران (۲۰۰۲) بیان کرده‌اند که مواد هیومیکی با مکانیسم‌های مختلف سبب تسریع رشد در گیاهان می‌شوند. یکی از این مکانیسم‌ها اثر مستقیم این ترکیبات و وجود ترکیبات شبه هورمونی، از جمله ترکیبات اکسینی و شبه اکسینی است که رشد سلول‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. خاصیت شبه هورمونی موجود در مواد هیومیکی سبب طولیل‌شدن برگ‌ها و افزایش تعداد برگ می‌شود. Nardi (۲۰۰۲) بیان کرده است که یکی دیگر از مکانیسم‌هایی که مواد هیومیکی منجر به افزایش رشد طولی می‌شوند مربوط به ترکیبات شبه جیبرلینی موجود در آنها است. افزایش تعداد و طول برگ در گیاهانی مانند شمعدانی Nasiri و همکاران (۲۰۱۵) و پوتوس (عباس‌زاده فاروجی، ۱۳۹۴) با کاربرد فولیک اسید گزارش شده است. Mohamadipoor و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که ترکیب‌های نانو آهن به‌علت کوچک‌بودن و حلالیت زیاد سریع توسط گیاهان جذب می‌شوند و کمبود مواد غذایی و نیازهای گیاهان را رفع می‌کنند، بنابراین در کاربرد این مواد معمولاً افزایش رشد گیاه

۰/۱ میلی‌لیتر (۱۰۰ میکرولیتر) عصاره استخراجی بود. سپس فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به صورت کاهش در جذب طی یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم از ضریب خاموشی $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد. رابطه ۲:

$$\text{Units } \frac{\text{mM}}{\text{min}} = \frac{do D}{\text{min}(sl\ ope)} \times \text{vol. of assay (0.0003)} / \text{Extinction coefficient (2.8)}$$

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش Updhyaya و همکاران (۱۹۸۵) انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار $\text{pH}=7$ ، ۱ میلی‌لیتر گایاکول ۱ درصد، گایاکول پراکسیداز به صورت افزایشی در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز از ضریب خاموشی $26/6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و فرمول زیر استفاده شد. رابطه ۳:

$$\text{Units } \frac{\text{mM}}{\text{min}} = \frac{do D}{\text{min}(sl\ ope)} \times \text{Vol of assay (0.0001)} / \text{Extinction coefficient (26.6)}$$

برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد بررسی، از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام گرفت. همچنین، برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel (2016) استفاده گردید.

نتایج و بحث

تعداد برگ و طول برگ: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل دو تیمار برای هر دو شاخص در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود ولی اثر اصلی نانو کلات آهن برای هر دو شاخص تأثیر معنی‌داری نداشت.

نتایج مقایسه میانگین (شکل ۱) نشان داد با افزایش غلظت نانو کلات آهن و فولیک اسید تعداد برگ افزایش یافت به طوری که بیشترین تعداد برگ در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در

جدول ۳- تجزیه واریانس غلظت‌های مختلف فولیک اسید و نانو کلات آهن بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل ژبراً رقم دانی

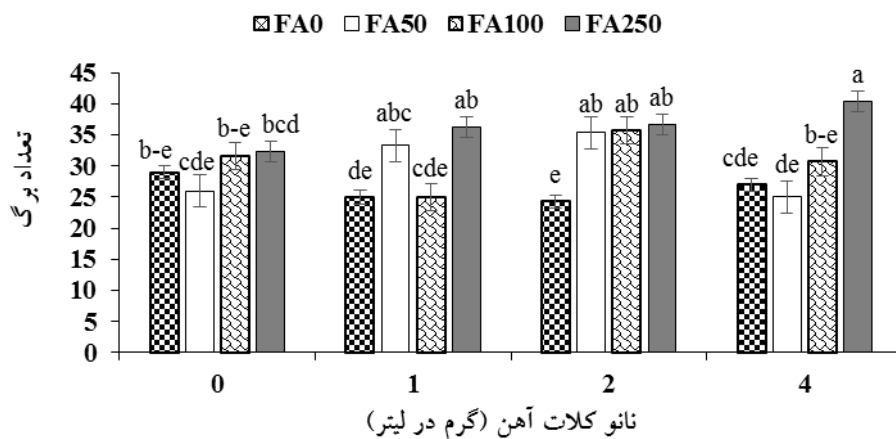
منابع تغییر	درجه آزادی	طول برگ	تعداد برگ	قطر رزت	قطر گل	تعداد غنچه	قند محلول
فولیک اسید	۳	۰/۰۱۱*	۲۰۹/۱۸۵**	۱۷/۲۲۲**	۰/۷۲۲ ^{ns}	۱/۵۵ ^{ns}	۶/۴۸۴**
نانو کلات آهن	۳	۰/۳۹۶ ^{ns}	۲۴/۶۳ ^{ns}	۱۲۸/۸۱۴**	۲/۵۱۳**	۰/۵۵۵ ^{ns}	۴/۴۳۲**
فولیک اسید × نانو کلات آهن	۹	۰/۰۰۷**	۴۸**	۵۶/۹۳۷**	۰/۸۶۵ ^{ns}	۰/۹۴۴ ^{ns}	۱/۶۰۳ ^{ns}
اشتباه آزمایشی	۳۲	۹/۱۳۰	۹/۴۱	۱۷/۸۱۶	۰/۴۱۱	۰/۵۴۱	۰/۷۲۳
ضریب تغییرات (درصد)		۵/۱۲۲	۹/۹۱	۵/۱۹۱	۵/۵۳۷	۱۴/۱۴	۱۶/۲۱

***، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و عدم معنی‌داری

ادامه جدول ۳-

منابع تغییر	درجه آزادی	آنتوسیانین گلبرگ	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	گاپاکول پراکسیداز	آهن
فولیک اسید	۳	۱/۳۹۵ ^{ns}	۵/۰۶۷**	۱۵/۵۸**	۱۳/۶۶**	۱۶۸۱/۳۹**
نانو کلات آهن	۳	۱/۵۴۶**	۲۵/۴۷**	۲۳/۲۱**	۳۸/۶۹**	۷۸۱۸۴/۴۸**
فولیک اسید × نانو کلات آهن	۹	۳/۵۸۵**	۳/۵۱**	۷/۱۰**	۸/۷۹**	۳۰۰۲/۲۵**
اشتباه آزمایشی	۳۲	۱/۳۵۲	۰/۰۷۶	۰/۰۶۳	۰/۰۵۷	۳۴۰/۱۰
ضریب تغییرات (درصد)		۱۴/۱۳	۶/۶۶	۴/۶۴	۵/۰۹	۹/۲۰

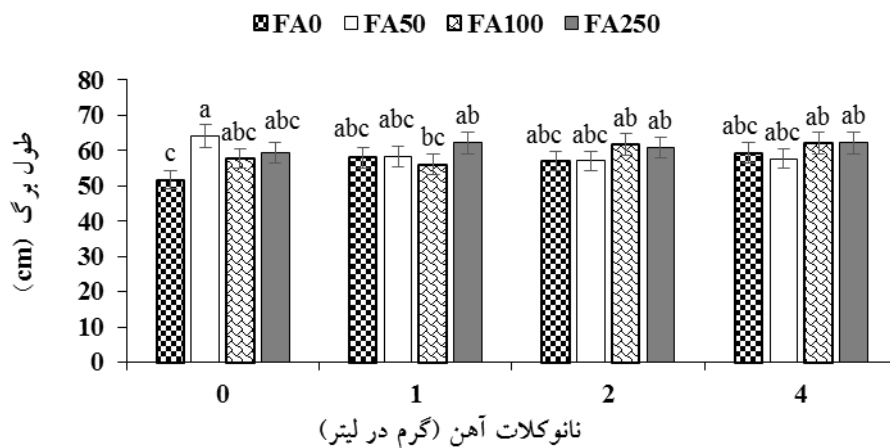
***، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و عدم معنی‌داری



شکل ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف فولیک اسید و نانو کلات آهن بر تعداد برگ ژبراً رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است).

(۱۳۹۲) و اسفناج (Ladan Moghadam et al., 2012) با کاربرد نانو کلات آهن گزارش شده است که با نتایج این پژوهش

رخ می‌دهد. افزایش تعداد و طول برگ در گیاه پامچال (هادی درآباد و همکاران، ۱۳۹۶)، زعفران (بقایی و ملکی فراهانی،



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف فولیک اسید و نانو کلات آهن بر طول برگ ژبررا رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است).

گفت که با اعمال تیمار نانو کلات آهن شرایط تغذیه‌ای گیاه بهبود می‌یابد و به‌دنبال آن مواد فتوسنتزی گیاه افزایش می‌یابد و این مواد شرایط را برای بهبود رشد رویشی گیاه فراهم کرده و قطر رزت افزایش می‌یابد.

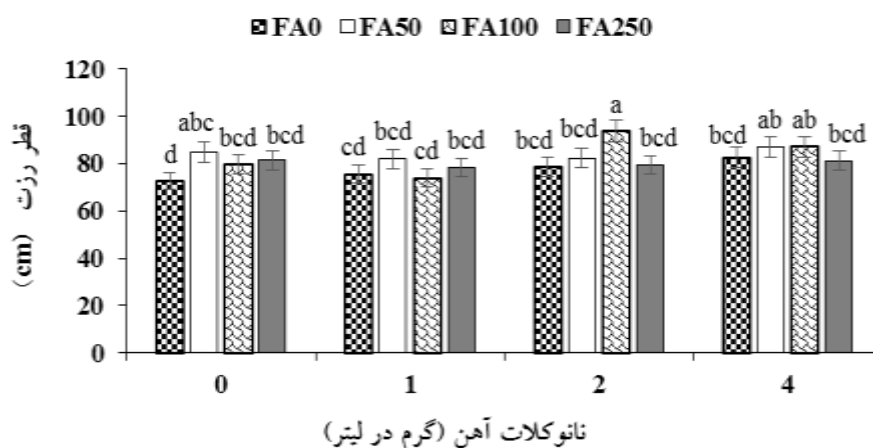
قطر گل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد اثر اصلی فولیک اسید و اثر متقابل دو تیمار بر قطر گل تأثیر معنی‌داری نداشتند اما نانو کلات آهن در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر قطر گل داشت.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۴) نشان داد که در هر سه غلظت نانو کلات آهن، قطر گل نسبت به شاهد افزایش یافت ولی فقط در غلظت ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن این تأثیر نسبت به شاهد معنی‌دار بود. با توجه به نمودار بیشترین قطر گل (۱۲/۱۶ سانتی‌متر) در غلظت ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن و کمترین قطر گل (۱۱/۱۲ سانتی‌متر) در تیمار شاهد بود. قطر گل از صفات کیفی مهم در گل‌ها محسوب می‌شود و هر چه گل‌ها بیشتر باز شوند کیفیت بهتری خواهند داشت. استفاده از کودهای نانو سبب افزایش جذب عناصر غذایی و در نتیجه افزایش طول و عرض برگ و قطر گل آذین می‌شود (احمدپور گهرت، ۱۳۹۲). وجود کربوهیدرات‌ها برای باز شدن گل‌ها لازم است این ماده تولیدشده از فتوسنتز تجمع‌یافته سبب جذب بیشتر آب می‌شود که با جذب آب بیشتر و حفظ فشار تورژسانس سلول‌ها، شادابی گلبرگ زیاده شده و در نهایت

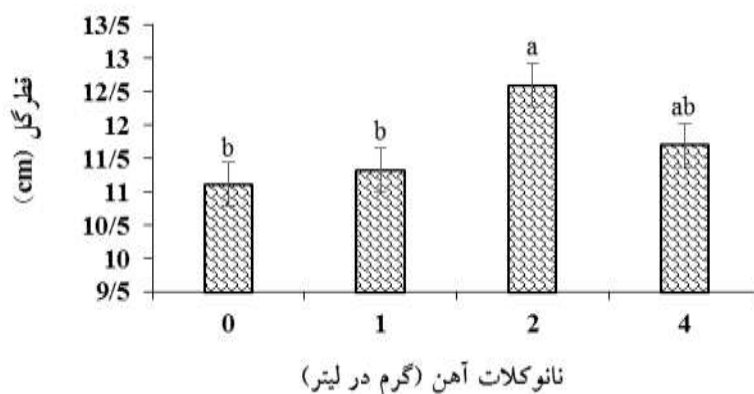
مطابقت دارد.

قطر رزت: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی و متقابل فولیک اسید و نانو کلات آهن بر قطر رزت در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳) نشان داد که تأثیر تیمارهای مختلف بر قطر رزت روند مشخصی نداشت. بیشترین قطر رزت (۹۳/۶۶ سانتی‌متر) مربوط به تیمار فولیک اسید ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نانو کلات آهن ۲ گرم در لیتر بود. کمترین مقدار نیز مربوط به تیمار شاهد (۷۲/۶۶ سانتی‌متر) بود هر چند که با اغلب تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت.

فولیک اسید به‌عنوان فعال‌ترین ترکیب هیومیکی از طریق حل نمودن مواد معدنی در آب و انتقال راحت آنها به گیاه سبب افزایش رشد گیاه می‌شود (Samavat and Malakuti, 2005). افزایش در قطر رزت در این پژوهش را می‌توان به تأثیر فولیک اسید در افزایش تقسیم سلولی و در نتیجه افزایش رشد گیاه دانست. همچنین می‌توان گفت که خاصیت شبه هورمونی فولیک اسید سبب افزایش رشد و گسترش اندام هوایی شده است. رحمانی و همکاران (۱۳۹۲) بیان کرده‌اند که عناصر غذایی نظیر آهن با افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه در نتیجه افزایش کلروفیل برگ سبب افزایش سرعت رشد گیاه، ارتفاع گیاه، رشد بیشتر اندام هوایی گیاه، توسعه سطح و قطر تاج پوشش گیاه می‌شوند. در مورد تأثیر نانو کلات آهن نیز می‌توان



شکل ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف فولیک اسید و نانوکلات آهن بر قطر رزت گل ژبررا رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است).



شکل ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف نانو کلات آهن بر قطر گل ژبررا رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است).

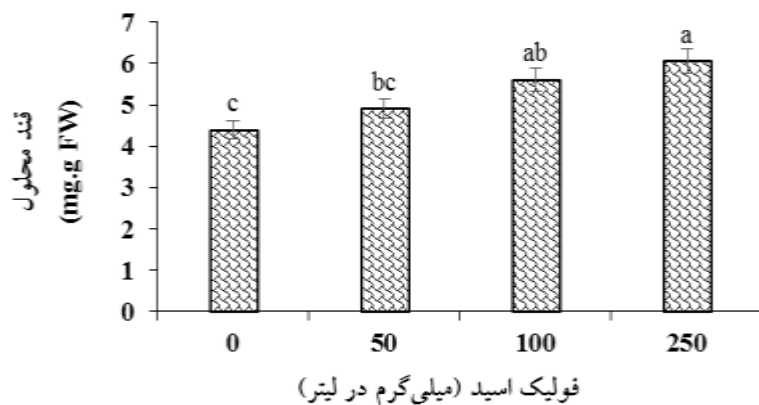
افزایش غلظت فولیک اسید مقدار قند محلول نیز افزایش یافت، غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد داشتند، اما بین این دو تیمار اختلاف معنی‌داری نبود. به عبارت دیگر اگر چه با افزایش غلظت فولیک اسید قند محلول نیز افزایش یافت، اما این تفاوت معنی‌دار نبود. با توجه به نمودار بیشترین قند محلول (۶/۰۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مربوط به تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید و کمترین مقدار قند محلول (۴/۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده گردید.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۶) نشان داد غلظت‌های مختلف نانو کلات آهن سبب افزایش مقدار قند محلول شدند

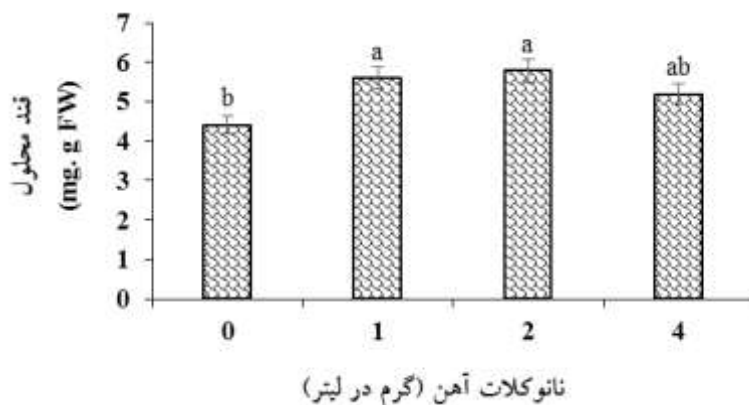
باعث افزایش قطر گل می‌شود (قادری و نظری دلجو، ۱۳۹۶؛ Ichimora and Goto, 2002). در این پژوهش نیز افزایش قطر گل در غلظت ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن را می‌توان به افزایش فتوسنتز، کاهش از دست‌دهی آب، کوچک شدن منفذ روزنه و در نهایت کاهش تعرق توسط نانو کلات آهن نسبت داد.

قند محلول: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر اصلی فولیک اسید و نانو کلات آهن در سطح احتمال ۱ درصد بر قند محلول معنی‌دار شد اما اثر متقابل دو تیمار معنی‌دار نبود.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۵) نشان داد که با



شکل ۵- تأثیر غلظت‌های مختلف فولیک اسید بر قند محلول ژبربرا رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است).

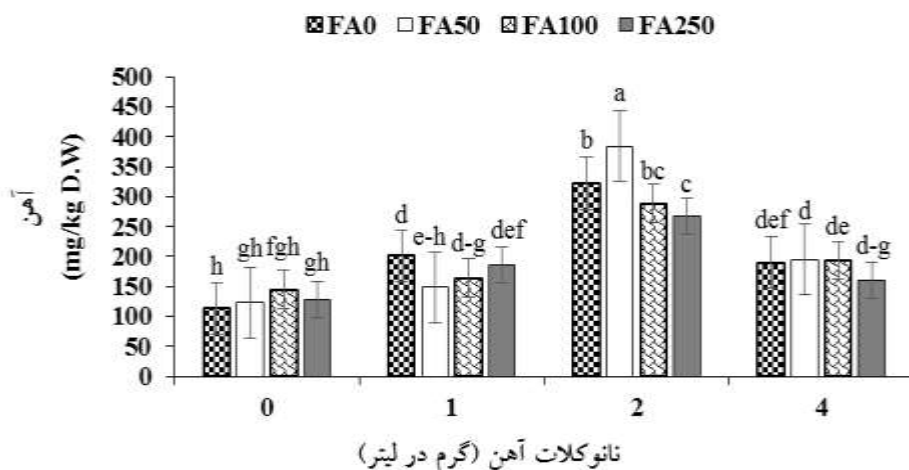


شکل ۶- تأثیر غلظت‌های مختلف نانو کلات آهن بر قند محلول ژبربرا رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است).

حذف رادیکال‌های آزاد هستند (Tavakkoli *et al.*, 2016). مواد هیومیکی، محرک آنزیم آلفا آمیلاز و دیگر آنزیم‌های هیدرولیزکننده است که در افزایش کربوهیدرات‌های گیاهی و سطح آنتوسیانین‌ها مؤثر هستند (ادریسی، ۱۳۸۸). احتمال می‌رود که فولیک اسید به دلیل داشتن فعالیت شبه هورمونی باعث افزایش جذب عناصر معدنی همانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم در گیاهان می‌شود که این امر سبب بهبود فتوسنتز و افزایش مقدار قند محلول تولیدی شده است. کمبود آهن سبب به هم خوردن تعادل غذایی و تغییر میزان عناصر موجود در گیاه می‌شود و در رشد گیاه اختلال ایجاد می‌کند (Pestana *et al.*, 2005) و این آثار در نهایت باعث تخلیه و کاهش کربوهیدرات و ذخایر آهن و ایجاد تنش برای گیاه می‌شود

و در تیمار ۱ و ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده شد. با افزایش غلظت نانو کلات آهن به ۴ گرم در لیتر مقدار قند محلول کمی کاهش یافت اما این کاهش دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها و تیمار شاهد نبود. با توجه به نمودار بیشترین قند محلول (۵/۸۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن و کمترین مقدار قند محلول (۴/۴۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار شاهد بود.

قندها محصول اصلی فتوسنتز هستند و منبع تأمین انرژی برای بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه محسوب می‌شوند (Werner *et al.*, 2008). قندها به عنوان عامل اسمزی برای حفظ تورژسانس سلول‌ها، محافظ اسمزی، ذخیره کربن و



شکل ۷- تأثیر غلظت‌های مختلف فولیک اسید و نانو کلات آهن بر مقدار آهن برگ ژیرا رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد است).

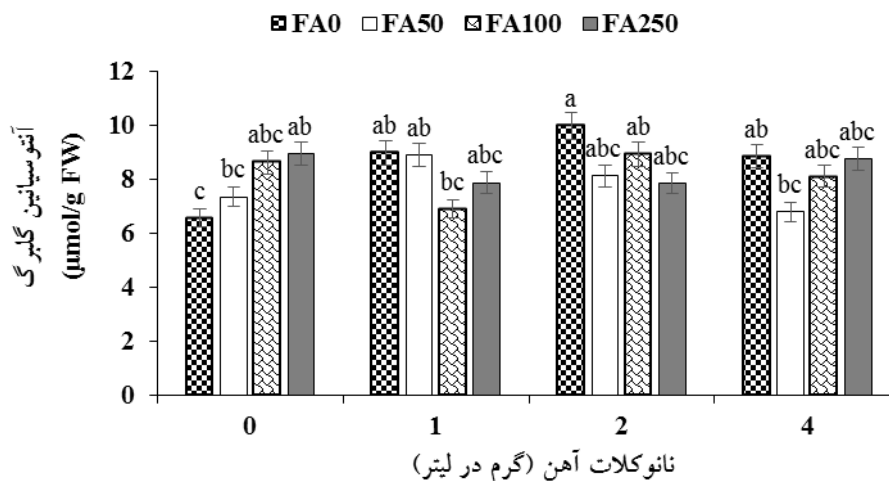
معنی‌دار نبود.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۸) نشان داد که بیشترین میزان آنتوسیانین گلبرگ (۹/۹۹ میکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به نانو کلات آهن با غلظت ۲ گرم در لیتر بود. هر چند که با اغلب تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار آنتوسیانین نیز (۶/۵۷ میکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار شاهد بود. لازم به ذکر است که در شرایط بدون کاربرد نانو کلات آهن و با افزایش غلظت فولیک اسید، آنتوسیانین گلبرگ نیز افزایش یافت ولی با کاربرد همزمان فولیک اسید و نانو کلات آهن افزایش آنتوسیانین گلبرگ روند ثابتی را دنبال نکرد.

انواع یون‌های فلزی مثل آهن، آلومینیوم، کلسیم، منیزیم، مس و روی در ساختار رنگدانه‌ها دخالت نموده و رنگ گلبرگ‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این امر احتمالاً نتیجه تشکیل کمپلکس‌های ویژه یون - رنگدانه و یا دخالت آنزیم‌های خاص طی فرایندهای متابولیکی مؤثر در بیوسنتز، تخریب، تجمع و انتقال انواع رنگدانه‌ها است (Ellestad, 2006). کاربرد مواد هیومیکی به دلیل بهبود ساختار غشا سیتوپلاسم و حفظ آنتوسیانین، کاهش نشت یونی را در پی دارد (دولتیان، ۱۳۹۲). عاملی که سبب کاهش غلظت آنتوسیانین می‌گردد، کاهش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمینولیز است که

(Alvarez-Fernandez et al., 2006). در گیاهان دچار کمبود آهن به دلیل مقدار کم کلروفیل، کاهش انتقال الکترون، مقدار کم فرودکسین و کاهش ساخت دوباره فرودکسین، مقدار نشاسته و قند کمتر است. علت دیگر کاهش کربوهیدرات جلوگیری از تولید مجدد ریبولوز بیس فسفات (ماده اولیه دی اکسید کربن در چرخه کلوین) است. این امر سبب کاهش فتوسنتز و احتمالاً تثبیت دی‌اکسید کربن برگ‌هایی که دچار کمبود آهن هستند می‌شود (خوشگفتارمنش، ۱۳۸۶). با توجه به نقش آهن در فعالیت آنزیم رویسکو (ریبولوز بیس فسفات کربوکسیلاز)، که به طور مستقیم در بیان ژن این آنزیم دخیل است و نقش مهمی که این آنزیم در سیکل کربن و فتوسنتز در گیاهان سه کربنه دارد و بخش عمده پروتئین کلروپلاست را این آنزیم تشکیل می‌دهد، کمبود این عنصر با کاهش فتوسنتز همراه است (Bertamini et al., 2001). پس می‌توان گفت با توجه به نقش کاربردی آهن در فرایند فتوسنتز، کاربرد نانو کلات آهن باعث افزایش بیوسنتز کربوهیدرات‌ها شده است (شکل ۷).

آنتوسیانین گلبرگ: با توجه به (جدول ۳) اثر متقابل فولیک اسید و نانو کلات آهن و همچنین اثر اصلی نانو کلات آهن برای آنتوسیانین گلبرگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود اما اثر اصلی فولیک اسید در آنتوسیانین گلبرگ



شکل ۸- تأثیر غلظت‌های مختلف فولیک اسید و نانو کلات آهن بر آنتوسیانین گلبرگ ژبررا رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است).

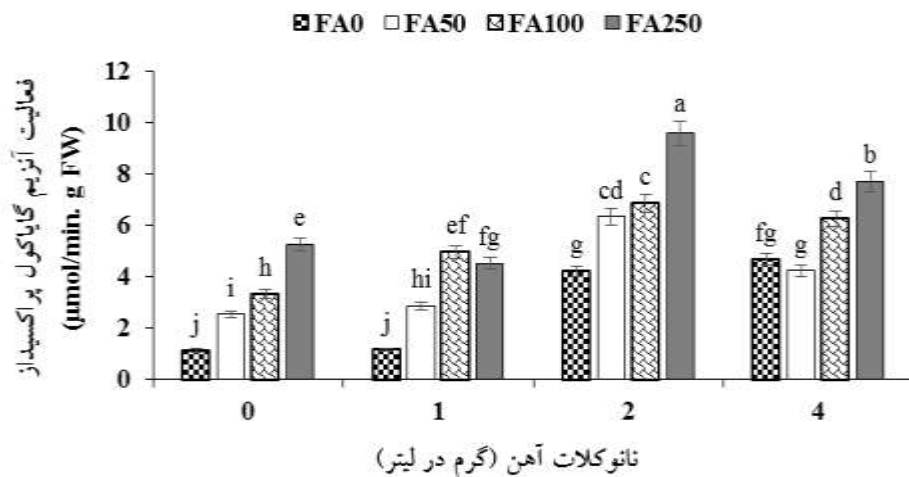
کربوهیدرات‌های گیاهی بوده و از این طریق باعث افزایش آنتوسیانین در گیاه می‌شوند (ادریسی، ۱۳۸۸). به واسطه افزایش مقدار رنگدانه‌های غیرآنژیومی توسط کاربرد آهن، از تخریب کلروفیل جلوگیری شده و به‌طور غیرمستقیم مقدار آنتوسیانین افزایش یافته است (نخعی، ۱۳۹۰; Leng *et al.*, 2000) که احتمالاً دلیل افزایش آنتوسیانین با کاربرد نانو کلات آهن همین باشد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی و اثر متقابل تیمارهای فولیک اسید و نانو کلات آهن در سطح احتمال ۱ درصد بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار شدند.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۹) نشان داد که در غلظت‌های مختلف نانو کلات آهن، با افزایش غلظت فولیک اسید میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز افزایش یافت. با توجه به نمودار بیشترین میزان فعالیت گایاکول پراکسیداز (۹/۵۸ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید و ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن و کمترین میزان فعالیت این آنزیم (۱/۱۲ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد.

آنزیم اصلی بیوستنز ترکیبات فنلی (PAL) است (Sakihama *et al.*, 2002). پایداری آنتوسیانین‌ها به‌وسیله کپسوله‌کردن رنگدانه کمکی افزایش می‌یابد (Cavalcanti *et al.*, 2011). کوپیگمانتاسیون پدیده‌ای است که در آن رنگدانه‌های ناپایدار با ترکیبات آلی در نقش کوپیگمنت، تشکیل تجمع یا کمپلکس مولکولی می‌دهند و در طی این عمل پایداری‌شان افزایش می‌یابد. رنگدانه کمکی می‌تواند یک ماده متفاوت از آنتوسیانین، یک ساختار متصل به آنتوسیانین و یا یک فلز باشد. حتی در برخی موارد تجمع خود آنتوسیانین‌ها در کنار هم می‌تواند آنها را از تخریب در برابر عوامل مختلف حفظ نماید (Gordillo *et al.*, 2012). احتمالاً تیمار نانو کلات آهن باعث تشکیل کمپلکس پایدار آنتوسیانین- فلز می‌گردد و در نهایت باعث پایداری آنتوسیانین شده است.

لازم به ذکر است که آنتوسیانین‌ها نیز مشابه فلاونوئیدها، رنگیزه‌های محافظ بوده که گیاه را در برابر تنش محافظت می‌کنند. در گیاهان تولید آنتوسیانین تحت تأثیر عوامل مختلف داخلی و خارجی مانند نور، دما، کربوهیدرات، هورمون‌های گیاهی و تنش آبی است. این عوامل اکثراً از طریق تأثیر بر عوامل رونویسی بر میزان آنتوسیانین تأثیر می‌گذارند (Kim *et al.*, 2006). خواص جیبرلین مواد هیومیک، محرک آنزیم آلفا آمیلاز و دیگر آنزیم‌های هیدرولیزکننده مؤثر در افزایش



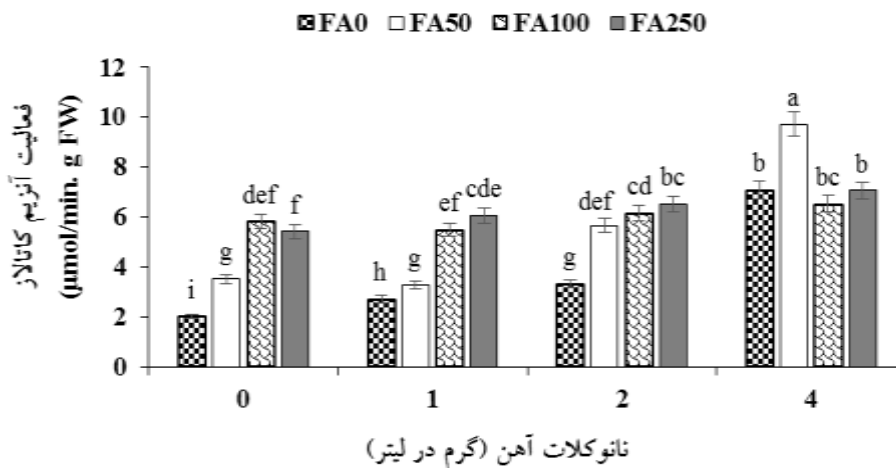
شکل ۹- تأثیر غلظت‌های مختلف فولیک اسید و نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز زبربر رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است).

بیشترین غلظت فولیک اسید فعالیت این آنزیم افزایش یافت. در غلظت ۴ گرم در لیتر نانو کلات آهن، غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید بیشترین فعالیت این آنزیم (۶/۷۵ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) را نشان داد و غلظت‌های بیشتر کاهش معنی‌داری را نشان دادند. کمترین میزان این فعالیت (۱/۳۳ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار شاهد بود.

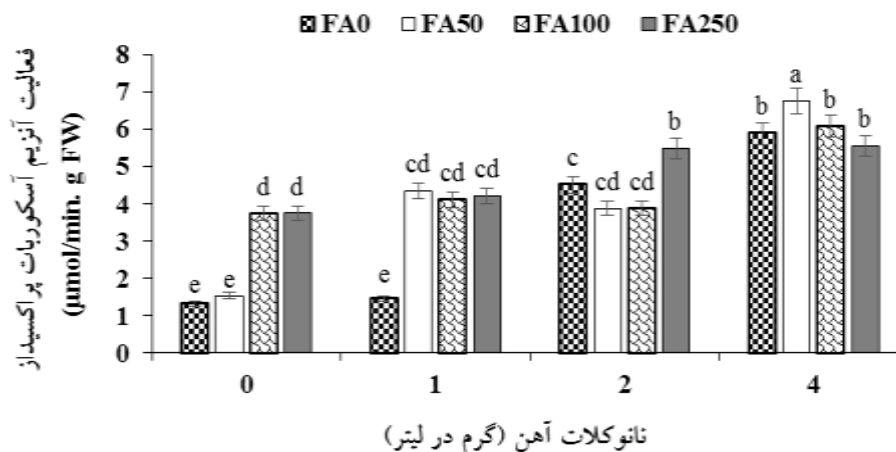
در شرایط طبیعی رشد، گونه‌های اکسیژن فعال توسط سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه حذف می‌شوند، اما زمانی که گیاهان در شرایط تنش قرار می‌گیرند میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به شدت افزایش می‌یابد به طوری که بر میزان فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی غلبه کرده و در نتیجه تنش اکسیدی رخ می‌دهد که در نهایت باعث صدمه به پروتئین، DNA، RNA و غشای سلولی می‌شود و پراکسیداسیون لیپیدی رخ می‌دهد (Kumar et al., 2014). گایاکول پراکسیداز جز دسته‌ای از گلیکوپروتئین‌ها است که در سیتوسول، دیواره سلولی و واکوئل قرار دارد. ترکیبات فنلی مانند گایاکول به‌عنوان دهنده الکترون به هیدروژن پراکسید عمل می‌کنند. آنزیم گایاکول با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث خنثی‌سازی و کاهش انواع اکسیژن فعال می‌شود (Ashraf and Harris, 2004; Petrov and VanBreusegem, 2012). فعالیت آنزیم

فعالیت آنزیم کاتالاز: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱۰) نشان داد که تمامی تیمارها افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد داشتند که تا غلظت ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن، با افزایش غلظت فولیک اسید میزان فعالیت آنزیم کاتالاز روند افزایشی داشت. در غلظت ۴ گرم در لیتر نانو کلات آهن فقط غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد و غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم نشان دادند. با توجه به نمودار، بیشترین فعالیت این آنزیم (۹/۷ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید و غلظت ۴ گرم در لیتر نانو کلات آهن، و کمترین میزان این آنزیم (۲/۰۱ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد بود.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱۱) نشان داد که تمامی تیمارها سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد شدند تا غلظت ۱ گرم در لیتر نانو کلات آهن با افزایش غلظت فولیک اسید فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز روند ثابتی را طی کرد ولی در غلظت ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن با افزایش غلظت فولیک اسید به ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم مشاهده نشد ولی در



شکل ۱۰- تأثیر غلظت‌های مختلف فولیک اسید و نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم کاتالاز ژبررا رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است).



شکل ۱۱- تأثیر غلظت‌های مختلف فولیک اسید و نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ژبررا رقم دانی (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است).

گونه‌های فعال اکسیژن بوجود آمده است (Hasanuzzaman *et al.*, 2017).

فولیک اسید یک ماده پر انرژی است که موجب تحریک متابولیسم گیاه، تحریک فعالیت آنزیم‌ها، افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی و همچنین یک سم‌زدای طبیعی است (متقی، ۱۳۹۴). با کاربرد فولیک اسید میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تا حدودی افزایش یافته است که این افزایش بیانگر فعال‌شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی برای از بین‌بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در تنش‌های احتمالی است. می‌توان

کاتالاز شاخص مناسبی از وضعیت تغذیه‌ای آهن در گیاهان است. این آنزیم به تجزیه هیدروژن پراکسیداز به آب و اکسیژن کمک می‌کند. تنش‌های غیرزیستی مختلف در گیاهان منجر به تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال و باعث آسیب به پروتئین‌ها، چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها و DNA می‌شود. برای مقابله با تنش اکسیداتیو در گیاهان دفاع آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز برای محافظت از گیاهان فعالیت می‌کند. سیستم‌های دفاعی ضد اکسندانه آنزیمی در گیاهان به‌منظور کاهش خسارت اکسیداتیو ایجادشده به‌وسیله

پورفیرین است و به‌عنوان گروه پروستتیک نقش ویژه‌ای را در متابولیسم گیاهی ایفا می‌کند (Bannister et al., 1987). غلظت ۴ گرم در لیتر نانو کلات آهن در این پژوهش حداکثر افزایش را نشان داد که احتمالاً این افزایش به‌علت توانایی گیاه در ذخیره‌سازی بیشتر آهن آزاد شده از نانو آهن است (Moaveni, 2014). در خصوص بهبود فعالیت این آنزیم‌ها با افزایش در غلظت‌های فولیک اسید را می‌توان به این دلیل نسبت داد که احتمالاً فولیک اسید به‌دلیل خاصیت شبه هورمونی، از طریق حفظ نفوذپذیری غشا، بهبود بخشیدن تقسیم سلولی و طول شدن سلول، رشد گیاهان را در شرایط متفاوت محیطی افزایش می‌دهد (Abbas and Hammad, 2017).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از تأثیر مثبت فولیک اسید و نانو کلات آهن بر گل ژبررا است. نتایج این پژوهش نشان داد که فولیک اسید و نانو کلات آهن باعث افزایش مقادیر شاخص‌های اندازه‌گیری شد. استفاده از غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید و غلظت ۴ گرم در لیتر نانو کلات آهن می‌تواند بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گل ژبررا مفید و تأثیرگذار باشد.

گفت که فولیک اسید سبب تقویت سیستم دفاعی گیاه شده است. پژوهشگران معتقدند که ترکیبات نانو آهن به‌علت کوچک‌بودن و حلالیت بالا سریع‌تر توسط گیاهان جذب می‌شوند و کمبودهای مواد غذایی و نیازهای گیاهان را برطرف می‌کنند. بنابراین با کاربرد این مواد شرایط بهینه برای رشد گیاه ایجاد می‌شود و از ایجاد هر گونه شرایط تنشی در گیاه جلوگیری می‌شود (Mohamadipoor et al., 2013) شاید دلیل کاهش فعالیت این آنزیم در تیمارهای با کاربرد ۴ گرم در لیتر نانو کلات آهن همین باشد. به‌عبارتی احتمال دارد که کاهش فعالیت این آنزیم در غلظت‌های زیاد به‌دلیل نیاز کمتر سلول‌ها برای متابولیسم آنتی‌اکسیداتیو پس از اعمال تیمار با نانو کلات آهن باشد، چون ممکن است نانو کلات آهن به‌طور مستقیم برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته باشد و با پاک‌سازی این گونه‌های فعال اکسیژن، از افزایش فعالیت آنزیم جلوگیری کند (آزاد قوجه بیگلو، ۱۳۹۶). عسگری و همکاران (۱۳۹۳) طی پژوهشی در گیاه پروانش افزایش ۵۱ درصدی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز را در مقایسه با گیاهانی که هیچ آهنی دریافت نکرده بودند گزارش کرده‌اند. در این پژوهش فقدان آهن موجب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز شده است. با توجه به اینکه این آنزیم حاوی آهن است احتمالاً تحت تأثیر کمبود آهن قرار گرفته است. کمبود آهن در گیاهان، نه تنها موجب کلروز می‌شود بلکه فعالیت آنزیم‌های مشخص مانند کاتالاز را کاهش می‌دهد. زیرا این آنزیم دارای آهن

منابع

- آزاد قوجه بیگلو، ح.، فاخری، ب. ع.، مهدی‌نژاد، ن. و پرمون، ق. (۱۳۹۶) محلول‌پاشی نانو کلات آهن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد گل ژنوتیپ‌های بابونه تحت تنش خشکی. به‌زراعی کشاورزی ۱۹: ۲۷۱-۲۵۷.
- احمدپور گهرت، ح. (۱۳۹۲) بررسی سطوح مختلف کود نانو سوپرمیکرو کامل یازده عنصر و ورمی‌کمپوست بر رشد و نمو گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد واحد جیرفت، ایران.
- ادریسی، ب. (۱۳۸۸) فیزیولوژی پس از برداشت گل‌های بریده. انتشارات پیام دیگر، اراک.
- امینی‌فرد، م. ح. و احمدی، ف. (۱۳۹۷) ارزیابی اثر فولیک اسید و کود دامی بر مواد مؤثره کلاله و فعالیت ضدرادیکالی گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.). نشریه زراعت و فناوری زعفران ۶: ۴۲۸-۴۱۵.
- بقایی، ن. و ملکی‌فراهانی، س. (۱۳۹۲) مقایسه کود کلات آهن با بنیان‌های نانو و میکرو بر عملکرد کمی و تخصیص مواد فتوسنتزی زعفران (*Crocus sativus* L.). نشریه پژوهش‌های زعفران زراعی ۱: ۱۶۹-۱۵۶.

بیرقدار، س. (۱۳۹۵) بررسی تأثیر فولیک اسید در جوانه‌زنی، مراحل رشد و مقاومت به تنش در گل آهار (*Zinnia elegans*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه اراک، ایران.

خوش‌گفتارمنش، ا. ح. (۱۳۸۶) مبانی تغذیه گیاه. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

دولتیان، ن. (۱۳۹۲) اثر هیومیک اسید بر صفات کمی و کیفی توت‌فرنگی رقم سلوا در شرایط گلخانه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

رحمانی، ا.، میرزا، م. و طبایی عقدایی، س. ر. (۱۳۹۲) تأثیر انواع و مقادیر مختلف کودهای شیمیایی و دامی بر عملکرد کمی و کیفی اسانس گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۹: ۷۵۹-۷۴۷.

عباس‌زاده فاروجی، ر. (۱۳۹۴) بررسی اثر تیمار ترکیبی هیومیک اسید و فولیک اسید به صورت کود آبیاری بر روی برخی صفات کمی و کیفی دو گونه زینتی (شمعدانی و سینداپسوس). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

عسگری، م.، امیرجانی، م. ر. و صابری، ط. (۱۳۹۳) بررسی اثرات نانو کود آهن بر رشد برگ، مقدار کربوهیدرات آنتی‌اکسیدان‌های پرویش (*Catharanthus roseus*). فرایند و کارکرد گیاهی ۳: ۵۵-۴۳.

قادری، خ. و نظری دلجو، م. ج. (۱۳۹۶) تغییرات مورفوفیزیولوژیک و کیفیت گل شاخه بریده ژبررا (*Gerbera jamesonii*) تحت تأثیر تلقیح بستر کشت با فارچ‌های مایکوریزا در سیستم بدون خاک. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۸: ۳۸-۲۷.

قاسمی قهساره، م. و کافی، م. (۱۳۹۱) گلکاری علمی و عملی، جلد اول، انتشارات مؤلف.

کربلایی قلیزاده، ش.، میرحمودی، ت. و خلیلی اقدم، ن. (۱۳۹۵) تغییرات صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) متأثر از پرایمینگ بذر با فولیک اسید و هیدروژن پراکسید. نشریه علمی- پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی

۱۰: ۸۸-۷۳.

نخعی، ف. (۱۳۹۰) بررسی اثرات محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اوره، بوریک اسید، آهن، مس، روی در زمان‌های متفاوت، بر خصوصیات میوه زرشک (*Berberis vulgaris* L.). هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران.

نصیرپور، م.، خوش‌قلب، ح. و نعمتی، س. ح. (۱۳۹۳) بررسی کاربرد هیومیک اسید، کلسیم و بور بر خصوصیات شیمیایی و کیفی گوجه‌فرنگی. دومین همایش ملی مهندسی و مدیریت کشاورزی محیط‌زیست و منابع طبیعی پایدار، تهران، دانشگاه شهید بهشتی، ایران.

متقی، د. (۱۳۹۴) فولیک اسید و نقش آن در کشاورزی. مقاله تخصصی واحد تحقیق و توسعه شرکت سبز محصول داتیس.

منتظری، ش.، کاویانی، ب. و صداقت حور، ش. (۱۳۹۱) بررسی تأثیر نانو کودهای روی و آهن بر روی صفات رویشی گیاه بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionatha*). اولین همایش ملی توسعه پایدار کشاورزی و محیط‌زیست سالم، همدان، ایران.

هادی درآباد، پ.، اسماعیل‌پور، ب.، چمنی، ا.، قنبری، ع.، و حیدری، ح. ر. (۱۳۹۶) تأثیر ترکیب اسید هومیک و نانو کلات آهن بر روی صفات مورفولوژیکی گیاه پامچال در شرایط درون‌شیشه. اولین همایش ملی و اولین همایش بین‌المللی علوم محیط‌زیست، همدان، ایران.

Abbas, N. A. and Hammad, H. S. (2017) The effect of vernalization and sprayed gibberellins and humic acid on the growth and production of cabbage (*Brassica oleracea* Var. *capitata*). Journal of Environmental Science and Pollution Research 3: 181-185.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121-126.

Alvarez-Fernandez, A., Abadia, J. and Abadia, A. (2006) Iron deficiency, fruit yield and fruit quality. In: Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms. Developments in Plant and Soil Sciences. (eds. Barton, L. L. and Abadia, J.) Pp. 437-448. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Ashraf, M. and Harris, P. J. C. (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166: 3-16.

- Atiyeh, R. M., Lee, S. and Edwards, C. A. (2002) The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. *Bioresource Technology* 84: 7-14.
- Bannister, J. V., Bannister, W. H. and Rotills, G. (1987) Aspects of the structure, function and application of superoxide dismutase. *CRC Critical Reviews in Biochemistry* 22: 111-180.
- Bertamini, M., Nedunchezian, N. and Borghi, B. (2001) Effect of iron deficiency induced changes in photosynthetic pigments, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and photosystem activities in field grown grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. *Photosynthetica* 39: 59-65.
- Borlotti, A., Vigani, G. and Zocchi, G. (2012) Iron deficiency affects nitrogen metabolism in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. *BMC Plant Biology* 12: 189-195.
- Cavalcanti, R., Santos, D. and Meireles, M. (2011) Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems. An overview. *Food Research International* 44: 499-509.
- Chinnamuthu, C. R. and Boopathi, M. P. (2009) Nanotechnology and agroecosystem. *Plant Nutrition and Soil Science* 168: 558-573.
- Chung, Y. M., Yi, Y. B., Cho, Y. C., Kim, J. B. and Kwon, O. C. (2005) A new high-yielding red cut flower gerbera cultivar with strong peduncle, Misty Red. *Korean Journal of Breeding* 37: 273-274.
- Ellestad, G. A. (2006) Structure and chiroptical properties of supramolecular flower pigments. *Chirality* 18: 134-144.
- Ersingu, A., Sezen, I., Aytatli, B. and Ercisli, S. (2015) Effect of humic and fulvic acid application on growth parameters in *Impatiens walleriana* L. *Akademik Ziraat Dergisi* 4: 37-42.
- Floraholland (2014) Facts and figures. Available online at: <https://www.floraholland.com/media/>
- Gordillo, B., Pulido, F., Gilete, M., Miret, M. and Heredia, F. (2012) Comprehensive colorimetric study of anthocyanic copigmentation in model solutions. Effects of pH and molar ratio. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 2896-2905.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Rahman, A., Anee, T. I., Alam, M. U., Bhuiyan, T. F. and Fujita, M. (2017) Approaches to enhance salt stress tolerance in wheat. *Wheat Improvement, Management and Utilization in Tech* 151-187.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Plant Physiology* 84: 55-60.
- Ichimora, K. and Goto, R. (2002) Extension of vase life of cut *Narcissus tazetta* Var. *chinensis* flower by combined treatment with STS and Gibberlin GA3. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 71: 216-230.
- Kaviani, B. and Fakouri Gaziani, M. V. (2016) The effect of iron nano chelate fertilizer and cycocel (CCC) on some quantity and quality characters of *Euphorbia pulcherrima* Willd. *Journal of Medical and Bioengineering* 5: 41-43.
- Kim, J. S., Lee, B. H., Kim, S. H., Ok, K. H. and Cho, K. Y. (2006) Response to environmental and chemical signals for anthocyanin biosynthesis in nonchlorophyllous corn (*Zea mays* L.) leaf. *Journal of Plant Biological* 49: 16-25.
- Kumar, S., Yadav, P., Jain, V. and Malhotra, S. P. (2014) Isozymes of antioxidative enzymes during ripening and storage of ber (*Ziziphus mauritiana* Lamk.). *Food Science and Technology* 51: 329-334.
- Ladan Moghadam, A., Vattani, H., Baghaei, N. and Keshavarz, N. (2012) Effect of different levels of fertilizer nano iron chelates on growth and yield characteristics of two varieties of spinach (*Spinacia oleracea* L.): varamin 88 and viroflay. *Research Applied Sciences, Engineering and Technology* 4: 4813-4818.
- Lai, R. (2007) Soil science in the era of hydrogen economy and 10 billion people. The Ohio State University, USA 1-9.
- Leng, P., Itamura, H., Yamamura, H. and Deng, M. (2000) Anthocyanin accumulation in apple and peach shoots during cold acclimation. *Scientia Horticulturae* 83: 43-50.
- Moaveni, P. (2014) Study the priming of nano iron on biochemical traits of Sorghum (*Sorghum Bicolor* L.). *Trends in Life Science* 3: 102-108.
- Mohamadipoor, R., Sedaghatoor, S. H. and Mahboub-Khomami, A. (2013) Effect of application of iron fertilizer in two methods foliar and soil application on growth characteristics of *Spathyphyllum illusion*. *European Journal of Experimental Biology* 3: 232-240.
- Monica, R. C. and Cremonini, R. (2003) Nanoparticles and higher plants. *Caryologia* 22: 121-122.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867-880.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. and Vianello, A. (2002) Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1527-1536.
- Nasiri, Z., Khalighi, A. and Matlabi, E. (2015) The effect of humic acid, fulvic acid and kristalon on quantitative and qualitative characteristics of geranium. *International Journal of Biosciences* 6: 34-41.
- Pestana, M., Beja, P., Correia, P. J., de Varennes, A. and Faria, E. A. (2005) Relationships between floral nutrients and fruit quality in orange trees grown in a calcareous soil. *Tree Physiology* 24: 761-767.
- Sakihama, Y., Michael, F., Cohen, S., Grace, C. and Hideo, Y. (2002) Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics- induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177: 67-80.
- Samavat, S. and Malakuti, M. (2005) Important use of organic acid (humic and fluvic) for increase quantity and quality agriculture productions. *Water and Soil Researchers Technical* 463: 1-13.

- Shahrekizad, M., Gholamalizadeh Ahangar, A. and Mir, N. (2015) EDTA-coated Fe₃O₄ nanoparticles: a novel biocompatible fertilizer for improving agronomic traits of sunflower (*Helianthus Annuus*). Journal of Nano Structures 5: 117-127.
- Soad, M. M. I., Lobna, S. T. and Eid, R. A. (2011) Extending postharvest life and keeping quality of gerbera cut-flowers using some chemical preservatives. Journal of Applied Sciences Research 7: 1233-1239.
- Suh, H. J., Yoo, K. S. and Suh, S. G. (2014) Effect of foliar application of fulvic acid on plant growth and fruit quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Horticulture, Environment and Biotechnology 55: 455-461.
- Tantawy, A. S., Salama, Y. A. M., Abdel-Mawgoud, A. M. R. and Ghoname, A. A. (2014) Comparison of chelated calcium with nano calcium on alleviation of salinity negative effects on tomato plants. Middle East Journal 3: 912-916.
- Tavakkoli, M. M., Roosta, H. R. and Hamidpour, M. (2016) Effects of alkali stress and growing media on growth and physiological characteristics of gerbera plants. Journal of Agricultural Science and Technology 18: 453-466.
- Petrov, V. D. and Van Breusegem, F. (2012) Hydrogen peroxide - a central hub for information flow in plant cells. Aob Plants 14: 1-13.
- Updhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N. and Smith, B. N. (1985) Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in sensing soybean leaves. Journal of Plant Physiology 121: 453-467.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole / extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplast. Plant Physiology 64: 88-93.
- Werner, T., Holst, K., Pors, Y., Guivarch, A., Mustroph, A., Chriqui, D., Grimm, B. and Schmulling, T. (2008) Cytokinin deficiency causes distinct changes of sink and source parameters in tobacco shoots and roots. Journal of Experimental Botany 59: 2659-2672.

Improvement the morphological and physiological characteristics of *Gerbera jamesonii* cv. Dune. with simultaneous application of fulvic acid and iron nano chelate

Soheila Hajizadeh¹, Zohreh Jabbarzadeh^{1*} and MirHassan Rasouli-Sadaghiani²

¹Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, ²Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University

(Received: 06/03/2019, Accepted: 05/10/2019)

Abstract

Relating to the beneficial effects of fulvic acid and iron in the improvement of growth and flowering characteristics of plants, in this research, the effect of fulvic acid and iron nano chelate was investigated on morphological and physiological characteristics of *Gerbera* cv. Dune. This experiment was conducted as a factorial based on a completely randomized design with two factors fulvic acid with 4 concentrations of 0 (control), 50, 100 and 250 mg/L as drench and iron nano chelate at 4 concentrations of 0 (control), 1, 2 and 4 gr/L as foliar application, with three replications in greenhouse conditions in pot and in hydroponic conditions. The treatments and interaction effects of fulvic acid and iron nano chelate increased measured indices compared to the control. All of the treatments increased leaf length significantly and petal anthocyanin compared to the control. The highest leaf number (40 leaves) and leaf anthocyanin (8.37 μ M/g F.W.) were observed in treatment of 250 mg/L fulvic acid and 4 g/L iron nano chelate. The highest rosette diameter (93.66 cm) was obtained in the treatment of 100 mg/L fulvic acid and 2 g/L iron nano chelate. The highest soluble sugar and guaiacol peroxidase enzyme activity were observed in the concentration of 250 mg/L fulvic acid or the concentration of 2 g/L iron nano chelate. For increasing catalase and ascorbate enzyme activity, 50 mg/L fulvic acid and 4 g/L iron nano chelate were the best treatments. In general, application of fulvic acid and iron nano chelate in ornamental plants can have a positive effect on the plant.

Keywords: Antioxidant enzymes, Flower diameter, *Gerbera*, Iron nano chelate, Petal anthocyanin