



Evaluation of Spraying Time and Cobult Nanoparticle Fertilizer, Using Chemical and Green Chemistry Methods on Morphophysiological Indices of Cowpea (*Vigna unguiculata* L.)

Mahlegha Keykha¹ | Mehdi Dahmardeh^{2✉}  | Issa Khammari³  | Ziba Sori Nezami⁴ 

1. Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: Kaikha_mahlagha@uoz.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: dr.dahmardeh@uoz.ac.ir
3. Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: ikhamari@uoz.ac.ir
4. Department of chemistry, Faculty of Science, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: soori@uoz.ac.ir

Article Info

ABSTRACT

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 29 March 2021
Received in revised form:
23 August 2021
Accepted: 28 August 2021
Published online:
17 December 2022

Keywords:

Green chemistry,
leaf feeding,
leaf iron,
legume,
plant height.

In order to evaluation of the spraying time and cobult nanoparticle fertilizer using chemical and green chemistry methods on morphophysiological indices of cowpea, this research was conducted in a factorial experiment in the experiment was conducted Randomized Complete Block Design (RCBD) with three replications in Agricultural Research Institute University of Zabol in 2017. The experimental included 4 levels of treatments: (Cobult nanoparticles of plant origin, chemical origin, plant and chemical composition and control), as the first factor and time of spraying in 2 levels (Step 4 leaf and Step 6 leaf as the second factor). The plant density of cowpea was 20 plants/m² and irrigation was performed twice a week. The results of analysis of variance showed that the time of foliar application and application of nano particles of chemical and plant origin had a significant effect on all studied traits. Based on the results of average comparison, the highest amount of chlorophyll a (13.25 μ g/g leaf), chlorophyll b (7.50 μ g/g leaf), carotenoids (3.63 μ g/g leaf), as well as plant height (34.84 %), number of pods per plant (28.26%), biological yield (45.64%), economic yield (59.10) compared to control treatment, iron (0.26 ppm) and leaf protein (46/14 ppm) was obtained from the six-leaf stage and from the combined application of cobalt nanoparticles with chemical and plant origin. In terms of all the measured traits, it seems that the simultaneous application of cobalt nanoparticles chemically and vegetative, through improving the photosynthetic system, increasing leaf duration and photosynthesis, will lead to increased biological and economic yield.

Cite this article: Keykha, M., Dahmardeh, M., Khammari, I., & Sori Nezami, Z. (2022). Evaluation of Spraying Time and Cobult Nanoparticle Fertilizer, Using Chemical and Green Chemistry Methods on Morphophysiological Indices of Cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *Journal of Crops Improvement*, 24 (4), 1279-1291.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jci.2021.321202.2532>



ارزیابی زمان محلول‌پاشی و کود نانوذره کبالت به‌روش شیمیایی و شیمی سبز بر برخی شاخص‌های زراعی و کیفی لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.)

مه‌لقا کیخا^۱ | مهدی دهمرده^۲ | عیسی خمیری^۳ | زیبا سوری نظامی^۴

۱. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی زابل، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: Kaikha_mahlagha@uoz.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی زابل، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: dr.dahmardeh@uoz.ac.ir
۳. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی زابل، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: ikhamari@uoz.ac.ir
۴. گروه شیمی، دانشکده علوم زابل، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: soori@uoz.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

به‌منظور ارزیابی تأثیر زمان محلول‌پاشی و کود نانوذره کبالت بر شاخص‌های زراعی و کیفی لوبیا چشم‌بلبلی این پژوهش در سال زراعی ۹۶-۹۷ به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل انجام شد. تیمارهای آزمایش در چهار سطح، شامل عدم کاربرد نانوذره کبالت، نانوذره با منشأ گیاهی، نانوذره با منشأ شیمیایی و ترکیب نانوذره گیاهی و شیمیایی، به‌عنوان فاکتور اول و زمان محلول‌پاشی در دو سطح چهار و شش‌برگی (به‌عنوان فاکتور دوم) بودند. تراکم کاشت لوبیا چشم‌بلبلی ۲۰ بوته در مترمربع بود و آبیاری دو بار در هفته انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که زمان محلول‌پاشی و کاربرد کود نانوذره با منشأ شیمیایی و گیاهی، اثر معنی‌داری بر تمامی صفات موردبررسی داشتند. براساس نتایج مقایسه میانگین، بیش‌ترین میزان کلروفیل a (۱۳/۲۵ میکروگرم در گرم برگ)، کلروفیل b (۷/۵۰ میکروگرم در گرم برگ)، کاروتنوئید (۳/۶۳ میکروگرم در گرم برگ)، هم‌چنین ارتفاع بوته (۳۴/۸۴ درصد)، تعداد نیام در بوته (۲۸/۲۶ درصد)، عملکرد بیولوژیک (۴۵/۶۴ درصد)، عملکرد اقتصادی (۵۹/۱۰) نسبت به تیمار شاهد، آهن (۰/۲۶ پی‌پی‌ام) و پروتئین برگ (۱۴/۴۶ پی‌پی‌ام)، از مرحله شش‌برگی و از کاربرد توام کود نانوذره کبالت با منشأ شیمیایی و گیاهی به‌دست آمد. از نظر تمام صفات مورد اندازه‌گیری، به‌نظر می‌رسد کاربرد هم‌زمان نانوذره کبالت به‌صورت شیمیایی و گیاهی، از طریق بهبود سیستم فتوسنتزی، افزایش دوام برگ و میزان فتوسنتز، منجر به افزایش عملکرد بیولوژیک و اقتصادی خواهد شد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۰۹

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۶/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۹/۲۶

کلیدواژه‌ها:

ارتفاع بوته،

آهن برگ،

تغذیه برگ،

حبوبات،

شیمی سبز.

استناد: کیخا، م.، دهمرده، م.، خمیری، ع. و سوری نظامی، ز (۱۴۰۱). ارزیابی زمان محلول‌پاشی و کود نانوذره کبالت به‌روش شیمیایی و شیمی سبز بر برخی شاخص‌های زراعی و کیفی لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.). *به‌زراعی کشاورزی*، ۲۴ (۴)، ۱۲۷۹-۱۲۹۱.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jci.2021.321202.2532>



۱. مقدمه

حبوبات بعد از غلات، دومین منبع مهم غذایی برای انسان به‌شمار می‌روند. پایین بودن میزان پروتئین در غلات و بالا بودن آن در حبوبات (۳۲-۱۸ درصد)، توجه مردم کشورهای در حال توسعه را به مصرف حبوبات به‌عنوان منبع مهم تأمین‌کننده پروتئین جلب نموده و حبوبات را به‌عنوان مکمل غذایی مناسب برای غلات مطرح کرده است (Koocheki & Banayan Aval, 2009). لوبیا چشم‌بلبلی^۱، متعلق به خانواده بقولات، گیاهی علفی، یک ساله، محصول مهم زراعی محسوب می‌شود که به‌طور وسیعی در مناطق گرم آفریقا، آسیا و آمریکا رشد می‌کند و اغلب به‌عنوان گیاهی با سازگاری زیاد به دماهای بالا و خشکی، نسبت به سایر گونه‌های حبوبات مورد توجه می‌باشد (Ehlers & Hall, 1997). امروزه نانوذرات (NP)^۲ سنتز شده به‌طور گسترده، جایگاه خود را در انواع زمینه‌ها، کاربردها و محصولات به‌دلیل ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی پیدا کرده‌اند. بنابراین هر ساله، شاهد ورود اجتناب‌ناپذیر نانوذرات به محیط‌زیست هستیم. تعامل این ذرات با گیاهان و مجموعه میکروبی خاک به‌دلیل قابلیت‌های مهم آن‌ها منجر به اثرات ویژه‌ای بر محیط‌زیست و همچنین تولید محصولات غذایی شده است (Mazaherinia *et al.*, 2010). عناصر کم‌مصرف برای رشد طبیعی گیاهان مورد نیاز هستند. که علاوه بر شرکت در ساختار بعضی از اندامک‌ها، در برخی از واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه نیز دخالت دارند (Ravi *et al.*, 2008). غلظت‌های مطلوب کبالت در گیاهان بین ۰/۱ تا ۱۰ میکروگرم بر وزن خشک است (Bakkaus *et al.*, 2005). گفته می‌شود کبالت (Co) برای لگوم‌ها یک عنصر ضروری است. زیرا سبب تأثیر مثبت بر فعالیت باکتری ریزوبیوم در تثبیت نیتروژن اتمسفری می‌شود (Rahman Khan & Mahmud Khan, 2010). همچنین این عنصر که در ساختمان ویتامین B12 به‌کار رفته است، برای لگوم‌ها می‌تواند ضروری باشد (Gad, 2006). کبالت از طریق تنظیم مقدار آب مورد استفاده گیاه از طریق کاهش میزان تبخیر، باعث مقاومت گیاه در برابر خشکی شده (DalCorso *et al.*, 2014) و با جلوگیری از بیوسنتز اتیلن، در به‌تأخیر انداختن فرایند پیرشدن برگ‌ها نقش دارد (Yamaguchi *et al.*, 2019). بنابراین برای برطرف کردن نیاز گیاه به عناصر غذایی، افزایش عملکرد و همچنین بهبود کیفیت محصول به‌دلیل کارایی پایین مصرف خاکی در این مناطق، تغذیه برگه‌ای یا کشت هیدروپونیک می‌تواند مؤثر و مفید واقع شود (Rafique *et al.*, 2015). در سال‌های اخیر چگونگی تأثیر محلول پاشی عناصر به‌فرم نانوذرات بر رشد و عملکرد گیاهان مورد توجه قرار گرفته است. نانوکودها به آسانی جذب گیاهان می‌شوند و از کودهای شیمیایی نیز کارآمدتر هستند. با محیط‌زیست سازگار بوده، آلودگی ندارند و همچنین مانع افزایش شوری خاک و سبب افزایش کیفیت خاک می‌شوند (Mazaherinia *et al.*, 2010). مطالعات گوناگونی روی ارزیابی و درک تعاملات میان نانوذرات با میکروبیوم‌های خاک انجام شده است. که نتایج ضد و نقیضی را گزارش کرده‌اند. اثرات نانوذرات روی عواملی همچون فراوانی، رشد و تغییرات ریخت‌شناسی میکروبیوم‌ها طبق شواهد جمع‌آوری شده است. تحت شرایط میدانی، سه نانوذره کبالت، نیکل و آهن هیچ‌گونه سمیتی را بر *Rhizobium* و *Bradryhobozobium* در تثبیت نیتروژن نشان نداده‌اند (Mishra *et al.*, 2017). تماس نانوذرات با گیاه همانند جذب و تجمع در بیوماس گیاه، تأثیرات زیادی در سرنوشت و انتقال آن‌ها در محیط دارند (Mahajan *et al.*, 2011). جذب و انتقال نانوذرات به ترکیب، شکل، سایز، غلظت‌های مختلف و آناتومی گیاه بستگی دارد (Ma *et al.*, 2010). با توجه به رشد جمعیت و افزایش تقاضا برای غذا و تأمین امنیت غذایی و نقش حبوبات به‌عنوان مهم‌ترین منبع پروتئین در تغذیه انسان، این آزمایش با هدف بررسی کاربرد کود نانوذره کبالت بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه لوبیا چشم‌بلبلی به اجرا در آمد.

1. *Vigna unguiculata* L.
2. Nanoparticle

۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش طی سال زراعی ۱۳۹۶-۹۷ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل واقع در شهرستان زهک اجرا شد. پژوهشکده کشاورزی در ۳۵ کیلومتری جنوب‌شرقی شهرستان زابل در موقعیت جغرافیایی ۶۱ درجه و ۴۱ دقیقه طول شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی و ارتفاع ۴۹۵ متر از سطح دریا قرار دارد. آب‌وهوای منطقه براساس طبقه‌بندی کوپن جزو اقلیم‌های خشک و بسیار گرم با تابستان گرم و خشک می‌باشد (ایستگاه هواشناسی زهک). آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. قبل از کاشت از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری مزرعه نمونه خاک تهیه و به آزمایشگاه ارسال شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آنالیز خاک در جدول (۱) ارائه شده است.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری

عمق خاک (cm)	کربن آلی (%)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	نیترژن (%)	واکنش خاک (pH)	هدایت الکتریکی (ds.m ⁻¹)	سدیم (ppm)	بافت خاک
۰-۳۰	۰/۷۲	۱۱/۳	۲۸۰/۰۰	۰/۰۶۰	۷/۸	۲/۹۳	۵۷/۵۶	لومی شنی

تیمارهای آزمایشی براساس کمبود عناصر میکرو در منطقه شامل نانوذره کبالت در چهار سطح شامل نانوذره کبالت با منشأ گیاهی، نانوذره کبالت با منشأ شیمیایی، ترکیب نانوذره گیاهی و شیمیایی و شاهد (عدم استفاده از نانوذره)، به‌عنوان فاکتور اول و زمان محلول‌پاشی در دو سطح چهار و شش‌برگی، به‌عنوان فاکتور دوم بودند. هر کرت شامل چهار ردیف کشت، فاصله بین هر کرت ۵۰ سانتی‌متر، فاصله بین ردیف‌های کشت ۳۰ سانتی‌متر و فاصله دو بوته روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر بود. کود فسفر از منبع سوپرفسفات به‌مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، کود پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم به‌مقدار ۵۰ کیلوگرم در هکتار و کود نیترژن از منبع اوره به‌مقدار ۵۰ کیلوگرم در هکتار براساس نیاز خاک منطقه استفاده شد. کشت به‌روش خطی و طول هر خط کاشت سه متر در نظر گرفته شد. تاریخ کاشت ۲۵ فروردین ماه و کشت با دست انجام شد. آبیاری براساس شرایط اقلیمی و نیاز گیاه به‌صورت کرتی و دو بار در هفته انجام شد. محلول‌پاشی طی دو مرحله رشد اولیه گیاه انجام شد. مرحله اول در زمان چهاربرگی و مرحله دوم در زمان شش‌برگی گیاه انجام شد. وجین علف‌های هرز مانند اویارسلام، خارشتر و پیچک صحرایی در طول اجرای طرح به‌صورت دستی در سه مرحله، قبل از رسیدگی کامل نیام‌ها صورت گرفت. برداشت از اوایل خردادماه ۹۷، قبل از گلدهی گیاه به‌منظور بررسی صفات فیزیولوژیکی و برداشت نهایی برای عملکرد اقتصادی و بیولوژیکی و صفات مورفولوژیکی در تاریخ ۲۲ شهریورماه ۱۳۹۷ انجام شد.

۱.۲ سنتز نانوذرات کبالت به روش شیمیایی

جهت سنتز نانوذرات به روش شیمیایی، از دستگاه سونوشیمی (ULTRASONIC HOMOGENIZER مدل FAPAN، ساخت چین) استفاده شد (شکل ۱). ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱۵ مولار کلرید کبالت با محلول اشباع بی‌کربنات سدیم مخلوط و رسوب کربنات کبالت تشکیل شده با استفاده از کاغذ صافی از محلول جدا و چندین مرتبه شست‌وشو داده شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ مولار سوکسینیک‌اسید به آن افزوده و بر روی هیتر با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. محلول را هم‌زده، pH آن به هفت رسانده شد. سپس در حمام آب گرم قرار داده و آب آن خارج شد. جامدهای تشکیل‌شده به‌مدت دو ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد کلسینه شدند (Purushothaman & Nagarajan, 2009).



شکل ۱. دستگاه سونوشیمی FAPAN مدل ULTRASONIC HOMOGENIZER

۲.۲. سنتز نانوذرات کبالت به روش گیاهی

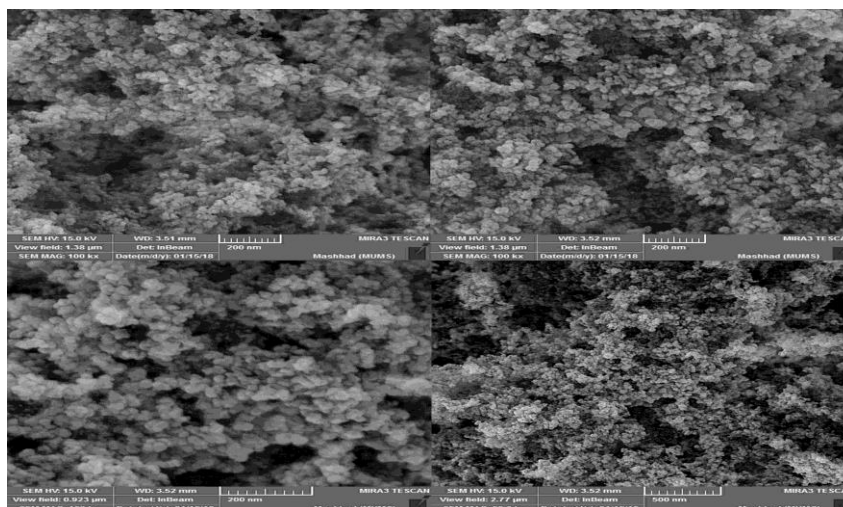
در روش شیمی سبز مانند روش شیمیایی، برای تهیه نانوذره، میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱۵ مولار کلرید کبالت به‌همراه محلول اشباع بی‌کربنات سدیم مخلوط، سپس رسوب کربنات کبالت تشکیل‌شده با استفاده از کاغذ صافی از محلول جدا و چندین مرتبه شست‌وشو داده شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ مولار عصاره‌ی گیاه رازیا، به آن اضافه و روی هیتر با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. گیاه رازیا استریکتا *Rhazya stricta* متعلق به خانواده خرزهره از جمله گیاهان دارویی است، که در ایران منحصراً در برخی از رویشگاه‌های جنوب شرق استان سیستان و بلوچستان پراکنش دارد. فیتوشیمی برگ رازیا شامل فلاونوئید، آلکالوئیدها، گلیکوزوئیدها، تریپن‌ها و تانن می‌باشد. که خاصیت ضدسرطانی، دیابت و بیماری‌های خاصی مانند سفلیس، گل‌درد، دندان‌درد و بیماری‌های چشمی دارد. محلول را هم‌زده، pH آن به هفت رسانده شد. محلول در حمام آب گرم قرار داده شد و آب آن خارج شد. جامدهای به‌دست آمده به‌مدت دو ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد کلسینه شدند.

۲.۳. سنتز نانوذرات کبالت مخلوط

۱۲ میلی‌گرم از نانو ذرات با منشأ گیاهی با ۱۲ میلی‌گرم از نانو ذرات منشأ شیمیایی ترکیب و در یک لیتر آب حل شد.

۲.۴. آنالیز ذرات کبالت

جهت تعیین مورفولوژی و سایز نانوذرات کبالت، ذرات کبالت جهت آنالیز SEM (میکروسکوپ الکترونی روبشی که قابلیت عکس‌برداری از سطوح با بزرگنمایی ۱۰ تا ۵۰۰۰۰۰ برابر، با قدرت تفکیکی کم‌تر از یک تا ۲۰ نانومتر و بسته به نوع نمونه را دارد)، به آزمایشگاه دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد ارسال شد. نتایج به‌دست‌آمده از این آنالیز اندازه ذرات را با میانگین ۵۰-۶۰ نانومتر تأیید کرد (شکل ۲). اولین محلول‌پاشی در زمان چهاربرگی و دومین محلول‌پاشی در مرحله شش‌برگی انجام گرفت.



شکل ۲. تصویر SEM نانو ذرات کبالت به‌روشن سونوشیمی (الف) سنتز شیمیایی، (ب) سنتز سبز

اندازه‌گیری صفات مورد ارزیابی

ارتفاع بوته

پس از رسیدن گیاه به ارتفاع نهایی و مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، قبل از برداشت نهایی با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای با استفاده از متر از قسمت طوقه تا انتهای‌ترین قسمت ساقه، پنج بوته از هر کرت به‌صورت تصادفی انتخاب و میانگین آن برای هر کرت محاسبه شد.

تعداد نیام در بوته

پس از رسیدگی گیاه و پس از رسیدگی کامل نیام‌ها در بوته، از هر کرت پنج بوته به‌طور تصادفی انتخاب و تعداد نیام‌ها شمارش شد.

عملکرد بیولوژیک

برای اندازه‌گیری عملکرد بیولوژیک، بوته‌ها از قسمت طوقه از دو خط میانی با حذف اثر حاشیه و مساحت $1/2$ مترمربع کف بر شدند. اندام هوایی بوته شامل ساقه و برگ در آزمایشگاه با آون در دمای 70°C درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و سپس جهت اندازه‌گیری وزن خشک با ترازوی دیجیتال با دقت 0.01 توزین شدند.

عملکرد اقتصادی

پس از رسیدگی کامل گیاه هنگامی که نیام‌ها قهوه‌ای و دانه‌ها سخت شدند در تاریخ ۲۲ شهریورماه سال ۹۷، از دو خط میانی با حذف اثر حاشیه و مساحت $1/2$ مترمربع از هر کرت عملکرد دانه براساس هکتار به‌دست آمد.

پروتئین برگ

در پایان رسیدگی فیزیولوژیک، اندازه‌گیری پروتئین به‌روش Bradford (1976) انجام شد.

آهن برگ

جهت اندازه‌گیری آهن برگ از روش خاکسترگیری خشک استفاده شد (Wilson, 1983).

غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید)

نمونه‌برداری از برگ‌های تازه گیاه قبل از گلدهی (اوایل خردادماه) صورت گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئیدها، مقدار ۰/۲ گرم بافت تازه گیاهی در هاون چینی ساییده شد. ۲۰ میلی‌متر استون ۸۰ درصد به آن اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. سپس جذب محلول بالای در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر تعیین و با استفاده از فرمول‌های زیر مقادیر برحسب (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) به‌دست آمد (Arnon, 1976).

$$\text{Chlorophyll a} = (11/75 \times A_{664} - 2/350 \times A_{645})$$

$$\text{Chlorophyll b} = (1/8/61 \times A_{645} - 3/960 \times A_{664})$$

$$\text{Carotenoides} = 1000(A_{470}) - 2/270(\text{mg chl. a}) - 81/4(\text{mg chl. b})/227$$

$$\text{Chlorophyll a} = (11/75 \times A_{664} - 2/350 \times A_{645})$$

V حجم محلول سانتریفیوژ شده، A جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵، ۴۷۰ نانومتر و W وزن تر نمونه برحسب گرم.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های آماری و نتایج پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

۳. نتایج و بحث

۳.۱. ارتفاع بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثرات زمان محلول‌پاشی، کود نانو و هم‌چنین اثرات متقابل این دو بر ارتفاع بوته، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش‌ترین ارتفاع بوته (۶۵/۲۶ سانتی‌متر) مربوط به تیمار محلول‌پاشی در مرحله شش‌برگی با کاربرد کود نانو با منشأ گیاهی و شیمیایی و کم‌ترین آن (۴۸/۴۰ سانتی‌متر) مربوط به تیمار محلول‌پاشی در مرحله شش‌برگی بدون کاربرد کود نانو (شاهد) به‌دست آمد. که بیانگر افزایش ۳۴/۸۴ درصدی ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد بود. در بررسی تأثیر عناصر کم مصرف بر لوبیا چیتی، مشاهده شد که محلول‌پاشی این عناصر بر ارتفاع بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (Nasrollahzadeh Asl & Gorbannezhad, 2014). که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد.

جدول ۲. تجزیه واریانس صفات زراعی و فیزیولوژیکی گیاه لوبیا چشم‌بلبلی تحت تأثیر زمان محلول‌پاشی و کود نانوذرات کبالت

منبع تغییرات	درجه آزادی	کاروتنوئید	کلروفیل b	کلروفیل a	پروتئین برگ	آهن برگ	عملکرد اقتصادی	عملکرد بیولوژیک	تعداد نیام در بوته	ارتفاع بوته
تکرار	۲	ns۰/۷۵	*۱/۹۸	ns۰/۱۷	ns۱/۹۷	ns۰/۰۰۱۲	ns۲۸۷/۲۲	ns۱۰۲۱/۲۲	ns۲/۵۹	ns۲/۹۸
زمان محلول‌پاشی	۱	ns۰/۳۹	ns۱/۰۹	ns۴/۲۱	**۱۳۵/۴۴	**۰/۰۰۵۶	*۶۶۷۲۲/۵۱۲	ns۱۸۶۷۸۵/۸	**۳۱/۶	**۶۰/۴۸
نانوذره کبالت	۳	*۰/۹۰	*۲/۳۰	ns۳/۰۸	**۵۰/۷۹	ns۰/۰۰۰۲	ns۲۴۱۶۳/۸۱	*۱۹۴۵۲۸/۲	**۱۱/۲	**۸۴/۰۳

زمان محلول پاشی × نانوذرات	۳	*۰/۹۰	**۳/۹۳	**۲۳/۲۸	**۳۵/۷۴	ns۰/۰۰۰۳	**۹۸۲۲۱/۸۱	*۳۲۱۲۸۲/۸	**۴۰/۶۶	**۹۶/۲۱
خطا	۱۴	۰/۲۳	۰/۴۵	۲/۱۰	۲/۳۱	۰/۰۰۰۲	۱۴۸۴/۶	۵۸۴۲۶/۷	۲/۲۵	۹/۲۱
ضریب تغییرات (%)	۱۷/۴۴	۱۱/۳۳	۱۳/۷۲	۱۴/۸۴	۶/۶۰	۱۱/۱۶	۷/۹۹	۱۴/۸۶	۵/۲۰	

* و ** به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns عدم معنی داری می باشد.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل زمان محلول پاشی و نانوذرات کبالت بر صفات زراعی و فیزیولوژیکی لوبیا چشم بلبلی

زمان محلول پاشی	نانوذرات	کاروتنوئید (mg.gr ⁻¹)	کلروفیل b (mg.gr ⁻¹)	کلروفیل a (mg.gr ⁻¹)	پروتئین برگ (ppm)	آهن برگ (ppm)	عملکرد اقتصادی (kg.ha ⁻¹)	عملکرد بیولوژیک (kg.ha ⁻¹)	تعداد نیام در بوته	ارتفاع بوته (cm)
شاهد		۲/۵۵b	۴/۸۱cd	۹/۴۹c	۱۲/۸۲ab	۰/۲۳c	۷۹۶d	۲۵۸۰c	۸/۷d	۵۹/۶۶ab
نانوذره شیمیایی		۲/۸۵ab	۶/۱۷b	۱۲/۴۵ab	۶/۳۴d	۰/۲۱c	۱۰۲۱bc	۲۸۸۱bc	۹/۹c	۵۸/۴۶b
۴ برگگی	نانوذره گیاهی	۲/۸۰ab	۵/۸۹bc	۱۱/۵۰abc	۱۰/۳۸bc	۰/۳۴ab	۱۰۸۹b	۲۹۸۰bc	۹/۷cd	۶۰/۲۰ab
	نانوذره مخلوط	۲/۴۴b	۶/۱۷b	۱۰/۴۸abc	۱/۹۳e	۰/۲۴abc	۱۳۹۰a	۳۲۰۰b	۱۱/۲ab	۶۱/۲۶ab
شاهد		۲/۲۲b	۶/۵۲ab	۱۰/۸۱abc	۱۱/۱۵bc	۰/۲۵ab	۸۹۰cd	۲۶۲۰c	۹/۲cd	۴۸/۴۰c
نانوذره شیمیایی		۲/۳۲b	۶/۳۱ab	۶/۸۰d	۱۴/۹۳a	۰/۲۶a	۱۰۰۱bc	۲۹۹۵bc	۱۰/۱bc	۶۰/۷۳ab
۶ برگگی	نانوذره گیاهی	۳/۵۰a	۴/۴۲d	۹/۷۰bc	۹/۹۳c	۰/۲۶a	۱۱۲۵b	۳۱۲۰b	۱۰/۱۲bc	۵۲/۵۰c
	نانوذره مخلوط	۳/۶۳a	۷/۵۰a	۱۳/۲۵a	۱۴/۴۶a	۰/۲۶a	۱۴۱۶a	۳۸۱۶a	۱۱/۸a	۶۵/۲۶a
LSD		۰/۸۵	۱/۱۸	۲/۵۳	۲/۶۶	۰/۰۲	۱۵۶	۵۲۵	۱/۱۲	۵/۳۱

حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشد.

گیاه برای رشد به موادی که طی مرحله فتوسنتز ساخته شده، نیاز دارد. هر چقدر فرآورده های حاصل از فتوسنتز بیش تر باشد، رشد و شاخه دهی در گیاه افزایش می یابد (Ayas & Gulser, 2005). در پژوهشی گزارش شده است که افزایش فراهمی و جذب سریع تر مواد غذایی ساخته شده حاصل از فتوسنتز، سبب افزایش ارتفاع بوته و به دنبال آن افزایش تعداد شاخه های جانبی در نخود شده است (Shabani & Armin, 2017). افزایش مصرف کودهای نانوذره کبالت به دلیل افزایش سطح سبز گیاهی و کلروفیل برگ، سبب افزایش فتوسنتز و انتقال مواد فتوسنتزی به نقاط مختلف گیاه از جمله ساقه ها و در نتیجه افزایش قطر ساقه می شود (Mortvedt, 2003). Jalili & Ganj Abadi (2014) نیز گزارش دادند که تأثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف بر ارتفاع بوته در گیاه لوبیا چیتی، معنی دار بود و تیمار محلول پاشی، بالاترین ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد را به خود اختصاص داد.

۳.۲. تعداد نیام در بوته

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثرات زمان محلول پاشی، کودنانو و همچنین اثرات متقابل این دو در سطح احتمال یک درصد، بر تعداد نیام در بوته، معنی دار بود. بیش ترین تعداد نیام در بوته مربوط به تیمار محلول پاشی در مرحله شش برگگی با کاربرد کود نانو با منشأ گیاهی و شیمیایی و با افزایش ۲۸/۲۶ درصدی نسبت به تیمار شاهد (محلول پاشی در مرحله چهاربرگی و بدون کاربرد کودنانو) به دست آمد. تأثیر محلول پاشی عناصر ریزمغذی بر تعداد نیام در لوبیا چیتی معنی دار بود. چنان که به نظر می رسد، عناصر ریزمغذی مقدار فتوسنتز در گیاه را با تقویت سیستم فتوسنتزی افزایش داده و مواد غذایی بیش تری به اندام های زایشی منتقل شده است. در نتیجه تعداد بیش تری از گل ها تلقیح یافته و به نیام تبدیل شده و در نتیجه آن تعداد نیام در بوته افزایش یافته است (Nasrollahzadeh Asl & Gorbannezhad, 2014). Roshdi et al. (2012) نیز گزارش کردند که محلول پاشی عناصر کم مصرف سبب افزایش سنتز برخی از آنزیم های محرک رشد شده است که این امر منجر به تلقیح بیش تر گل ها و در نتیجه افزایش تعداد نیام ها در لوبیا چیتی شده است.

۳.۳. عملکرد بیولوژیک

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، نشان داد که زمان محلول پاشی بر عملکرد بیولوژیک بی‌تأثیر بود. اما اثرات کاربرد کود نانوذره کبالت و برهم‌کنش زمان محلول پاشی و کاربرد کود نانوذره در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار به‌دست آمد. براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳)، تیمار زمان محلول پاشی در مرحله شش‌برگی با کاربرد کود نانو با منشأ گیاهی و شیمیایی، با ۳۸۱۶ کیلوگرم در هکتار، افزایش ۴۵/۶۴ درصدی عملکرد نسبت به تیمار شاهد (۲۶/۲۰ کیلوگرم در هکتار) را نشان داد. به‌نظر می‌رسد، بالاتر بودن عملکرد بیولوژیک به علت رشد رویشی، به‌دلیل کاربرد کود نانوذره کبالت حاصل شده است. در نتیجه بالاتر بودن وزن تر و وزن خشک بوته، علت افزایش عملکرد بیولوژیک در این شرایط بوده است. با توجه به نتایج، می‌توان چنین اظهار کرد که دسترسی به کود نانوذره کبالت، تأثیر بسیار زیادی در تولید ماده خشک در اندام‌های هوایی و در نتیجه افزایش عملکرد بیولوژیک لوبیا چشم‌بلبلی داشته است. که این امر می‌تواند باعث فتوسنتز و تولید مواد فتوسنتزی بیشتر و به‌دنبال آن وجود عناصر آوندی بیشتر جهت انتقال سریع‌تر مواد پرورده به سایر اندام‌های گیاه شود. این نتیجه با نتایج پژوهش‌گران دیگر در رابطه با عملکرد بیولوژیک مطابقت دارد (Mortvedt, 2003). (Roshdi et al., 2012) مشاهده کردند که مصرف کودهای کم‌مصرف، تأثیر معنی‌داری بر میزان عملکرد بیولوژیک در لوبیا چیتی داشت. نتایج نشان داد، بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک را تیمار دو بار محلول پاشی و کم‌ترین را تیمار شاهد به‌ترتیب به‌میزان ۶۰۶۶/۵ و ۴۸۳۱/۵ کیلوگرم در هکتار به خود اختصاص دادند.

۳.۴. عملکرد اقتصادی

براساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثرات کاربرد کود نانو بر عملکرد دانه غیرمعنی‌دار، اما زمان محلول پاشی و اثرات متقابل این دو به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار به‌دست آمد. بیش‌ترین عملکرد دانه، از کاربرد کود نانو با منشأ گیاهی و شیمیایی، در مرحله شش به‌میزان ۱۴۱۶ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد. که نسبت به تیمار شاهد (۸۹۰ کیلوگرم در هکتار)، افزایش ۵۹/۱۰ درصدی را نشان داد. محلول پاشی عناصر کم‌مصرف در لوبیا چیتی، بر عملکرد دانه معنی‌دار بود و موجب افزایش عملکرد دانه نسبت به تیمار شاهد شد. عناصری که در فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه مشارکت دارند، مقدار تولید شیره پرورده در گیاه را بالا برده و در صورتی که میزان انتقال مواد فتوسنتزی به اندام‌های گیاهی در مرحله گلدهی به‌خوبی انجام شود، سبب افزایش تعداد دانه در گیاه می‌شود. هم‌چنین علت بالا بودن تعداد دانه در گیاه را می‌توان به عدم وجود محدودیت منبع در شرایط مصرف کودهای ریزمغذی نسبت داد (Ganj Abadi & Jalili, 2014). تأثیر محلول پاشی عناصر ریزمغذی بر عملکرد دانه در لوبیا چیتی، معنی‌دار بود. براساس نتایج، بیش‌ترین مقدار عملکرد دانه در تیمار محلول پاشی عناصر کم‌مصرف و کم‌ترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد (Nasrollahzadeh Asl & Gorbannezhad, 2014). (Roshdi et al., 2012) در پژوهشی مشاهده کردند که محلول پاشی عناصر کم‌مصرف، از طریق افزایش فتوسنتز و هم‌چنین دوام سطح برگ، عملکرد دانه در لوبیا چیتی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. به‌طوری که کم‌ترین و بیش‌ترین میزان عملکرد دانه را دو تیمار شاهد و تیمار دو بار محلول پاشی، به‌ترتیب با میانگین ۱۴۸۶/۵ و ۲۳۷۹/۶ کیلوگرم در هکتار به خود اختصاص دادند. هم‌چنین بیش‌ترین عملکرد نیام در واحد سطح، به‌میزان ۲/۲۹ کیلوگرم در مترمربع از کاربرد هم‌زمان کودهای ریزمغذی در لوبیا سبز به‌دست آمد (Gheyrati Arani et al., 2013).

۳.۵. آهن برگ

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، نشان داد اثر زمان محلول پاشی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار، اما کاربرد کود نانوذرات

کبالت و اثرات متقابل این دو، بر میزان آهن برگ بی‌تأثیر بود. بیش‌ترین میزان آهن برگ (۰/۲۶ پی‌پی‌ام)، در شرایط محلول‌پاشی مرحله شش‌برگی و از تیمار کودنانو با منشأ شیمیایی و گیاهی به‌دست آمد، که با تیمار شاهد یکسان بود و در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۳). فراهم‌آوری و دسترسی به عنصر آهن سبب تولید بیش‌تر کلروفیل و IAA می‌شود که می‌تواند باعث به تأخیر انداختن پیری و فرسودگی گیاه شده و طول دوره فتوسنتز را افزایش دهد. این امر باعث بهبود تولید کربوهیدرات، انتقال آن برای رشد دانه‌ها و هم‌چنین افزایش عملکرد می‌شود. آهن در ساخته‌شدن رنگیزه‌هایی هم‌چون کلروفیل، کاروتن و گزانتوفیل در گیاهان ضروری است. در بررسی تأثیر کاربرد نیتروژن، مولیبدن و کبالت بر لوبیا چیتی، اثر متقابل این عناصر بر غلظت آهن برگ معنی‌دار بود. بیش‌ترین غلظت آهن برگ به مقدار ۴۹۰/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از تیمار $N_{2000}Mo_{0.6}Co_{0.006}$ به‌دست آمد (Khadem Moghadam Igdelou *et al.*, 2020). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج پژوهش Ziaeyan & Rajaie (2009)، Haghghatnia & Rajaei (2003) و Kikha *et al.* (2005) مطابقت دارد.

۳.۶. پروتئین برگ

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، اثر سطوح کودنانو، زمان محلول‌پاشی و هم‌چنین اثرات متقابل آن‌ها بر پروتئین برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که تیمار زمان محلول‌پاشی در مرحله شش‌برگی و تیمار کودنانو با منشأ شیمیایی و گیاهی، به میزان ۱۴/۴۶ پی‌پی‌ام، بیش‌ترین مقدار پروتئین برگ به‌دست آمد (جدول ۳). یکی از مهم‌ترین شاخص‌ها جهت ارزیابی کیفیت علوفه، مقدار پروتئین خام است (Ross *et al.*, 2005; Lithourgidis *et al.*, 2006). محلول‌پاشی نانوکودهای ریزمغذی تأثیر معنی‌داری بر عملکرد پروتئین نخود داشت (Veisi *et al.*, 2019). هم‌چنین Kordi *et al.* (2016) گزارش کردند که اثر سطوح مختلف عنصر ریزمغذی روی، تأثیر مثبتی بر میزان پروتئین دانه و کاه در لوبیا داشت.

۳.۷. رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید)

نتایج تجزیه واریانس داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش، نشان داد که اثر سطوح کودنانو و زمان محلول‌پاشی بر میزان کلروفیل a، بی‌تأثیر، اما اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات - متقابل (جدول ۳)، نشان داد که بیش‌ترین میزان کلروفیل a، به‌میزان ۱۳/۲۵ میلی‌گرم در گرم برگ از تیمار محلول‌پاشی در مرحله شش‌برگی و کاربرد کود نانو با منشأ شیمیایی و گیاهی به‌دست آمد (جدول ۳). کاربرد کبالت، بر میزان کلروفیل a، در دو رقم لوبیا چیتی خمین و تلاش مؤثر و معنی‌دار بود (Sharafi *et al.*, 2012).

نتایج نشان داد که اثر زمان محلول‌پاشی بر میزان کلروفیل b، غیرمعنی‌دار، اما اثر کاربرد کود نانو و اثرات متقابل آن‌ها، به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان کلروفیل b، در شرایط محلول‌پاشی در مرحله شش‌برگی و از تیمار کاربرد کودنانو با منشأ شیمیایی و گیاهی، به‌میزان ۷/۵۰ میلی‌گرم در گرم برگ به‌دست آمد (جدول ۳). براساس نتایج به‌دست آمده از پژوهش Sharafi & Ranjbar (2011)، یک روند افزایشی (تا ۲۰ میلی‌گرم کلریدکبالت) و سپس یک‌روند کاهش (از ۷۰ میلی‌گرم کبالت) بر میزان کلروفیل a و b مشاهده شد. غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۲۰ میلی‌گرم کلریدکبالت باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل a و b نسبت به تیمار شاهد شد. به‌نظر می‌رسد غلظت‌های کم کبالت (۲۰ میلی‌گرم و کم‌تر) تأثیر مثبتی بر میزان کلروفیل‌های لوبیا چیتی داشته باشد. هم‌چنین با افزایش غلظت کبالت خاک در دو رقم لوبیا چیتی خمین و تلاش، در هر دو رقم میزان کلروفیل b، نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (Sharafi *et al.*, 2012).

اثر سطوح کود نانوذره کبالت و اثرات متقابل آن با زمان محلول پاشی بر میزان کاروتنوئید، در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اما زمان محلول پاشی، تأثیری بر میزان کاروتنوئید نداشت (جدول ۲). بیش‌ترین (۳/۶۳ میلی‌گرم در گرم برگ) و کم‌ترین (۲/۲۲ میلی‌گرم در گرم برگ) میزان کاروتنوئید، به ترتیب از تیمار محلول پاشی در مرحله شش‌برگی و کاربرد کود نانو با منشأ شیمیایی و گیاهی و محلول پاشی در مرحله شش‌برگی و از تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۳). Shamloo & Roozbahani (2015) گزارش دادند که کاربرد عناصر ریزمغذی، سبب افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی (مجموع کلروفیل‌ها و کاروتنوئید)، عملکرد و اجزای عملکرد در لوبیا شد.

۴. نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد کاربرد مخلوط نانوذره کبالت در مرحله شش‌برگی به صورت محلول پاشی هم بر صفات مورفولوژیکی و هم بر صفات کیفی اثر معنی‌دار و مثبت را نشان می‌دهد. از آنجایی که در اکثر خاک‌های مناطق ایران با کمبود عناصر ریزمغذی از جمله کبالت مواجه هستیم، بنابراین با کاربرد محلول پاشی عناصر کم‌مصرف از این طریق می‌توان به رفع این نواقص پرداخت. استفاده از محلول پاشی کودها به ویژه کودهای حاوی عناصر کم‌مصرف یکی از اقتصادی‌ترین روش‌های مصرف کود در کشاورزی می‌باشد و گیاه نیز پاسخ بهتر و سریع‌تری به استفاده از کود نشان می‌دهد. بنابراین استفاده از عناصر ریزمغذی گامی مناسب و مؤثر در جهت افزایش عملکرد گیاه لوبیا چشم‌بلبلی، غنی‌سازی بذرها، رفع سوءتغذیه ناشی از کمبود این عناصر و روشی برای تأمین سلامت جامعه باشد.

۵. تشکر و قدردانی

از همکاری و مساعدت مدیر و کارکنان محترم پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۶. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع مورداستفاده

- Arnon, A. N. (1976). Method of extraction of chlorophyll in plants. *Agronomy Journal*, 23, 121-122.
- Ayas, H., & Gulser, F. (2005). The effects of sulfur and humic acid on yield components and macronutrient contents of spinach (*Spinacia Oleracea* Var. *Spinoza*). *Journal of Biological Sciences*, 5(6), 801-804.
- Bakkaus, E. B., Gouget, B., Gallien, J. P., Khodja, H., Carrot, F., Morel, J. L., & Collins, R. (2005). Concentration and distribution of cobalt in higher plants: the use of micro-pixe spectroscopy. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 231(1-4), 350-356.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- DalCorso, G., Manara, A., Piasentin, S., & Furini, A. (2014). Nutrient metal elements in plants. *Metallomics*, 6(10), 1770-1788.
- Ehlers, J. D., & Hall, A. E. (1997). Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Field Crops Research*, 53(1-3), 187-204.

- Gad, N. (2006). Increasing the efficiency of nitrogen fertilization through cobalt application to pea plant. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 2(6), 433-442.
- Ganj Abadi, F., & Jalili, F. (2014). Effect of nitrogen sources and solubilization of micronutrients on agronomic characteristics and yield of cowpea. *Research in Crop Sciences*, 7(35), 39-54. (In Persian).
- Gheyrati Arani, L., Sharifi, T., & Sheykhi, M. R. (2013). Effect of micronutrient application at different growth stages on growth and yield of common bean (cv. Sanrey). *Agroecology Journal*, 9(3), 35-47. (In Persian).
- Haghighatnia, G., & Rajaei, M. (2003). Investigating the effect of the amount and method of consumption of trace elements on canola yield. 8th Congress of Soil Sciences, 254-259. (In Persian).
- Keikha, Gh. Fanaei, H. R., Polshakan Pahlavan, M. R & , Akbari Moghadam, A. R. (2005). Investigation of the effects of foliar application of zinc, zinc and iron on quantitative and qualitative yield of canola. 9th Iranian Soil Science Congress. Tehran. 149-153. (In Persian).
- Khadem Moghadam Igdelou, N., Golchin, A., & Farhadi, Kh. (2020). The effects of nitrogen, molybdenum, and cobalt application on pod yield and nutrient content of bean leaf (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Crops Improvement*, 22(2), 217-229. (In Persian).
- Koocheki, A., & Banayan Aval, M. M. (2009). Pulse Crops. Mashhad: University Jihad Publications, 236p. (In Persian).
- Kordi, S., Marsafari, M., Tahmasebi, Z., Shahkarami, Gh., Gerami, L., Taghizadeh, A. A., & Ghanbari, F. (2016). Effect of Foliar Application of Zinc on yield, grain and straw protein of bean (*Phaseolus vulgaris*) under water deficit stress in Ilam weather conditions. *Applied Field Crops Research*, 29(2), 105-114. (In Persian).
- Lithourgidis, A. S., Vasilakoglou, I. B., Dhima, K. V., Dordas, C. A., & Yiakoulaki, M. D. (2006). Forage yield and quality of common vetch mixtures with oat and triticale in two seeding ratios. *Field crops Research*, 99(2-3), 106-113.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., & Kolmakov, A. (2010). Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment*, 408(16), 3053-3061.
- Mahajan, P., Dhoke, S. K., & Khanna, A. S. (2011). Effect of nano-ZnO particle suspension on growth of mung (*Vigna radiata*) and Gram (*Cicer arietinum*) seedlings using plant agar method. *Journal of Nanotechnology*, pp: 1-7.
- Mazaherinia, S., Astaraei, A. R., Fotovat, A., & Monshi, A. (2010). Nano-iron-oxide particles efficiency on Fe, Mn, Zn and Cu concentrations in wheat plant. *World Applied Sciences Journal*, 7(1), 36-40. (In Persian).
- Mishra, S., Keswani, C., Abhilash, P. C., Fraceto, L., & Singh, H. B. (2017). Integrated approach of agri-nanotechnology: challenges and future trends. *Frontiers in Plant Science*, 8, 307-315.
- Mortvedt, J. J. (2003). Research techniques with micronutrient fertilizers for use in deficient crop production, National Fertilizer and Environmental Research Center Tennessee USA, 267-275.
- Nasrollahzadeh Asl, A., & Gorbannezhad, H. (2014). Effect of biological and mineral phosphorus fertilizers together with microelement sprayings on yield and component of yield in pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*, 8(4), 451-464. (In Persian).
- Purushothaman, K., & Nagarajan, G. (2009). Performance, emission and combustion characteristics of a compression ignition engine operating on neat orange oil. *Renewable Energy*, 34(1), 242-245.
- Rafique, E., Yousra, M., Mahmood-ul-Hassan, M., Sarwar, S., Tabassam, T., & Choudhary, T. K. (2015). Zinc application affects tissue zinc concentration and seed yield of pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Pedosphere*, 25(2), 275-281.
- Rahman Khan, M., & Mahmud Khan, M. (2010). Effect of varying concentrations of nikel and cobalt on the plant growth and yield of chickpea. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(6), 1036-1046.

- Ravi, S., Channal, H. T., Hebsur, N. S., Patil, B. N., & Dharmatti, P. R. (2008). Effect of sulphur, zinc and iron nutrition on growth, yield, nutrient uptake and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L). *Karnataka Journal Agriculture Science*, 21(3), 382-385.
- Roshdi, M., Boyaghchi, D., & Rezadoust, S. (2012). Effect of micronutrients on growth and yield of pinto bean under irrigation– cutback treatments. *Journal of Crop production and processing*, 2(5), 131-142. (In Persian).
- Ross, S. M., King, J. R., O'Donovan, J. T., & Spaner, D. (2005). The productivity of oats and berseem clover intercrops. I. Primary growth characteristics and forage quality at four densities of oats. *Grass and forage science*, 60(1), 74-86.
- Shabani, R., & Armin, M. (2017). The effect of foliar application of urea and humic acid in rain-fed conditions on yield and yield components of chickpea. *Crop Science Research in Arid Regions*, 1(1), 77-88. (In Persian).
- Shamloo, A., & Roozbahani, A. (2015). Effect of amino acids and microelements on the rate of photosynthetic pigments content and yield of red bean (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Journal of Plant Ecophysiology*, 7(21), 136-150. (In Persian).
- Sharafi, M., & Ranjbar, A. (2011). Determining the tolerance and damage threshold of bean pigments to cobalt. The first national congress of modern agricultural sciences and technologies, 19-21. University of Zanjan. (In Persian).
- Sharafi, M., Ranjbar, A., & Beigi Harchegani, H. (2012). The comparison of the effect of soil cobalt concentration on chlorophyll a.b and total chlorophyll density in two cultivars of pinto bean khomein and talash. *Crop Physiology Journal*, 3(12), 55-68. (In Persian).
- Veisi, A., Pasari, B., & Rokhzadi, A. (2019). Investigating the effect of humic acid and micronutrient nano fertilizers on the response of rainfed chickpea (*Cicer arietinum* L.) in autumn cultivation. *Crop Physiology Journal*, 10(40), 93-110. (In Persian).
- Wilson, J. R. (1983). Effects of water stress on in vitro dry matter digestibility and chemical composition of herbage of tropical pasture species. *Australian Journal of Agricultural Research*, 34(4), 377-390.
- Yamaguchi, T., Tsukada, C., Takahama, K., Hiroto, T., Tomioka, R., & Takenaka, C. (2019). Localization and speciation of cobalt and nickel in the leaves of the cobalt-hyperaccumulating tree *Clethra barbinervis*. *Trees*, 33(2), 521-532.
- Ziaeyan, A. H., & Rajaie, M. (2009). Combined effect of zinc and boron on yield and nutrients accumulation in corn. *International Journal of Plant Production*, 3(3), 35-44. (In Persian).