Archive of SID
DOI: 10.22059/ijswr.2020.306193.668669 تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۵۱، شماره ۱۱، بهمن ماه ۱۳۹۹ (ص ۲۹۶۳-۲۹۵۳)

The Effect of Various Sources of Iron on the Nitrate Accumulation in Lettuce (*Lactuca sativa* L.)

NEDA BAHRAMI[1], MAHBBOOBEH JALALI[1*], ALI AKBAR ZARE[2]
1. Department of Soil Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
2. Department of Soil Sciences, College of Agriculture, Isfahan University, Isfahan, Iran.
(Received: July. 23, 2020- Revised: Sep. 11, 2020- Accepted: Sep. 15, 2020)

ABSTRACT

High nitrate concentrations, especially in leafy vegetables, is a great threat to human health. Various factors play a role in reducing nitrate accumulation in vegetables, one of which is the availability of iron. The purpose of this study was to compare the effect of different sources of iron on the accumulation of nitrate in lettuce in hydroponic system. Therefore, the experiment was performed in a completely randomized design with 4 treatments and 5 replications. Treatments included different sources of iron including iron sulfate, iron chelate (Fe-EDTA) and iron amino chelate with the same iron concentration of 20 µM. An iron free solution was also considered as control. The results showed that iron amino chelate application increased root dry weight (138%), shoot dry weight (59%), stomatal conductance (80%), photosynthesis rate (107%), chlorophyll content (91%), Fv/Fm (60%) and iron concentration of shoots (113%) as compared to the control. Also, iron amino chelate increased the activity of nitrate reductase (168%), nitrite reductase (33%) and glutamine synthetase (67%) enzymes compared to the control. Application of iron amino chelate, iron chelate and iron sulfate reduced the nitrate concentration by 55%, 11% and 18% compared to control, respectively. Generally, the results showed that the application of iron amino chelate reduced nitrate accumulation by increasing the activity of enzymes involved in nitrate metabolism. According to the results, iron amino chelate can be used to reduce nitrate concentration and increase lettuce yield in hydroponic cultivation.

Keywords: Amino Chelate, Hydroponic, Iron, Iron chelate, Nitrate.

* Corresponding Author's Email: jalali.mah@lu.ac.ir
www.SID.ir

Archive of SID

تأثیر منابع مختلف آهن بر تجمع نیترات در کاهو (*Lactuca sativa* L.)

ندا بهرامی[۱]، محبوبه جلالی[*۱]، علی‌اکبر زارع[۲]

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۲. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۲- تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۶/۲۱- تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۶/۲۵)

چکیده

غلظت زیاد نیترات مخصوصا" در سبزیجات برگی، تهدید بزرگی برای سلامت انسان محسوب می‌شود. عوامل مختلفی در کاهش تجمع نیترات در سبزیجات نقش دارند که یکی از این عوامل، فراهمی عنصر آهن است. در این آزمایش، به منظور بررسی و مقایسه اثر منابع مختلف آهن بر تجمع نیترات کاهو در سیستم هیدروپونیک، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۵ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل منابع مختلف آهن از جمله سولفات آهن، کلات آهن (Fe-EDTA) و آمینوکلات آهن با غلظت آهن یکسان ۲۰ میکرومولار بودند. یک محلول غذایی بدون آهن نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که کاربرد آمینوکلات آهن موجب افزایش وزن خشک ریشه (۱۳۸ درصد)، وزن خشک اندام‌های هوایی (۵۹ درصد)، هدایت روزنه‌ای (۸۰ درصد)، سرعت فتوسنتز (۱۰۷ درصد)، میزان کلروفیل (۹۱ درصد)، Fv/Fm (۶۰ درصد) و غلظت آهن اندام‌های هوایی (۱۱۳ درصد) نسبت به شاهد شد. همچنین، آمینوکلات آهن بر میزان فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز (۱۶۸ درصد)، نیتریت ردوکتاز (۳۳ درصد) و گلوتامین سنتتاز (۶۷ درصد) نسبت به شاهد افزود. استفاده از آمینوکلات، کلات آهن و سولفات آهن موجب کاهش به ترتیب ۵۵، ۱۱ و ۱۸ درصدی غلظت نیترات نسبت به شاهد شد. به طور کلی، نتایج نشان داد که کاربرد آمینوکلات آهن موجب کاهش تجمع نیترات از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم نیترات شد. با توجه به نتایج، آمینوکلات آهن می‌تواند برای کاهش غلظت نیترات و افزایش عملکرد کاهو در کشت هیدروپونیک استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آهن، آمینوکلات، کلات آهن، نیترات، هیدروپونیک.

مقدمه

نیتروژن فراوان‌ترین عنصر غذایی در گیاه بوده و به دلیل شرکت در ساختمان پروتئین‌ها، بازهای پورینی، آلکالوئیدها، کلروفیل و هورمون‌های گیاهی دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشد (Pourreza, 2016). این عنصر به دو شکل آمونیم و نیترات جذب گیاه می‌شود. گیاهان عمدتاً جذب یون نیترات را ترجیح می‌دهند (Dordas & Siouslas, 2008). نیترات به عنوان مهمترین منبع تأمین نیتروژن، به طور گسترده‌ای در تولید سبزیجات، مخصوصا" در سیستم کشت هیدروپونیک مورد استفاده قرار می‌گیرد. سبزیجات در بسیاری از کشورهای جهان به دلیل ارزش غذایی فراوانی که دارند، از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشند و تقریباً ۸۵ درصد نیترات موجود در رژیم غذایی انسان از طریق مصرف سبزیجات، مخصوصا سبزیجات برگی می‌باشد (Santamaria, 2006).

نیترات در بدن انسان بالغ به نیتریت تبدیل شده و در ترکیب با آمین‌ها، به نیتروزآمین تبدیل شده که از عوامل اصلی ایجاد سرطان می‌باشد. پژوهش‌های زیادی بر روی کاهش انباشت نیترات در سبزی‌ها صورت گرفته است. در اغلب این پژوهش‌ها، عوامل مؤثر بر انباشت نیترات در سه گروه عوامل تغذیه‌ای، ژنتیکی و محیطی بررسی شده‌اند (Chung *et al.*, 2003). با توجه به این که تغییر عوامل محیطی و ژنتیکی نسبتا" دشوار است، عمدتاً نقش عوامل تغذیه‌ای نسبت به دو عامل دیگر به مراتب از اهمیت مدیریتی بیشتری برخوردار است (Chung *et al.*, 2003). در این میان، عنصر آهن به عنوان یکی از مهمترین عناصر کم‌مصرف، جایگاه ویژه‌ای در رشد گیاهان و کاهش تجمع نیترات در گیاهان دارد (Lindsay, 1972). آهن در ساخت پروتئین‌های آهن و گوگرددار مثل فرودوکسین که برای احیاء نیترات و متابولیسم آن و تولید پروتئین مورد نیاز می‌باشد شرکت داشته و کمبود آن باعث تجمع نیترات در گیاه می‌شود (Kholdebarin and Eslamzadeh, 2005).

یکی از مهمترین عوامل مؤثر بر میزان تجمع نیترات در گیاهان، میزان فتوسنتز است. تجمع نیترات در گیاهان ارتباط

* نویسنده مسئول: jalali.mah@lu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مستقیمی با میزان کربوهیدرات‌های گیاه دارد که در طی فرآیند فتوسنتز تولید می‌شود (Bian *et al.*, 2016). از آنجا که این محصولات می‌توانند کربن و انرژی مورد نیاز برای کاهش میزان نیترات را در گیاه فراهم کنند (Bian *et al.*, 2016)، بنابراین فرض بر این است که هر عاملی که بر میزان فتوسنتز گیاه مؤثر باشد، بر غلظت نیترات گیاه اثرگذار خواهد بود. یکی از این عوامل، فراهمی میزان آهن برای گیاه است. مطالعات نشان داده که نقش عنصر آهن در انباشت نیترات در گیاهان، مربوط به نقش این عنصر در فعالیت‌های آنزیمی مؤثر در احیاء و متابولیسم نیترات است (Marschner, 1995).

در همین راستا، بررسی فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، به عنوان اولین آنزیم مؤثر در احیا و متابولیسم نیترات دارای اهمیت بسیار است، بدین گونه که نیترات در حضور این آنزیم به آمونیوم تبدیل می‌شود و مانع انباشت نیترات در بافت‌های گیاهی می‌گردد. میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بسته به نوع گیاه و شرایط تغذیه‌ای آن متفاوت است (Campbell, 1999). در واقع می‌توان گفت که در شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان، توانایی گیاهان مختلف در جذب و احیاء نیترات متفاوت است که یکی از دلایل آن تفاوت در میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز است.

آنزیم نیترات ردوکتاز به عنوان یک آنزیم تنظیمی و محدودکننده مقدار نیترات گیاهی شناخته شده است. نحوه تغییرات فعالیت این آنزیم در گیاهان و گونه‌های مختلف و شرایط و مکان‌های محیطی، تفاوت‌های بارزی نشان داده است و عمده‌ی این تفاوت‌ها، منشاء ژنتیکی دارند. نیترات در سیتوسول سلولی گیاهان به وسیله آنزیم نیترات ردوکتاز به نیتریت تبدیل می‌شود. سپس، نیتریت به وسیله آنزیم نیتریت ردوکتاز به آمونیوم یا آمونیاک احیاء می‌شود. این ترکیبات به ساختار ترکیبات آلی وارد شده و ترکیبات NADH و NADPH تولید شده، به عنوان عامل دهنده الکترون برای فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز عمل خواهند کرد. بنابراین، سنتز آنزیم نیترات ردوکتاز به وسیله نیترات کنترل می‌شود و این یون سنتز آنزیم را القاء می‌کند (Campbell, 1999). از این رو، هر عاملی که منجر به کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه شود، به نحوی با تجمع نیترات در اندام هوایی گیاه مرتبط می‌باشد.

جهت رفع کمبود بسیاری از عناصر غذایی، کودهای کلاته مصنوعی منابع مؤثری هستند، هرچند اغلب گران بوده و ممکن است به راحتی در دسترس کشاورزان نباشند. اسیدهای آمینه به عنوان یکی از مهمترین مواد کلات‌کننده طبیعی مطرح هستند و امروزه از این ویژگی آنها در بحث تغذیه و تولید انواع کودهای کلاته به نام آمینوکلات، استفاده وسیعی می‌شود. کاربرد کلات‌های آمینواسیدی باعث تسهیل در جذب و انتقال عناصر غذایی در درون گیاه و در نتیجه بهبود رشد و نمو گیاهان می‌گردد (Souri and Hatamian, 2019; Souri, 2019). همچنین، نشان داده شده که اسیدهای آمینه تأثیر کلات‌کنندگی بر عناصر، مخصوصاً عناصر کم‌مصرفی مثل آهن دارند و زمانی که همراه با این عناصر به کار روند باعث تسهیل در جذب و انتقال درون گیاه می‌شوند (Souri and Hatamian, 2019; Souri, 2019).

مطالعات نشان داده که استفاده از آمینوکلات‌های حاوی آهن باعث بهبود جذب و انتقال آهن، روی و نیتروژن در گیاه شده و می‌توانند جایگزین کلات‌های سنتزی مثل Fe-EDTA گردند (Souri *et al.*, 2018; Rodríguez-Lucena et al., 2010). با استفاده از کلات‌های آمینواسیدی، می‌توان عناصر مورد نیاز گیاه را به سهولت و به میزان بیشتری فراهم کرد (Souri *et al.*, 2018). تأثیر اسیدهای آمینه در افزایش عملکرد نیز توسط پژوهشگران گزارش شده است (Souri *et al.*, 2018; Rodríguez-Lucena et al., 2010). این افزایش محصول احتمالا" به دلیل تأثیر اسیدهای آمینه در تنظیم رشد و افزایش کارآیی مصرف نیتروژن می‌باشد. اسیدهای آمینه به احتمال زیاد در افزایش تولید و فعالیت برخی آنزیم‌های محرک رشد در گیاه نقش مثبت داشته‌اند. اسیدهای آمینه از طریق ریشه و سطح برگ جذب می‌شوند و بدون انجام عمل احیا وارد ساختار پروتئین‌ها می‌شوند (Souri *et al.*, 2018). علاوه بر این، آمینوکلات‌ها باعث بهبود متابولیسم نیتروژن و رشد و نمو گیاه می‌شود. گیاهان با کاربرد آمینو اسید از طریق ریشه قادر خواهند بود تا عناصر غذایی بیشتری از محیط ریشه جذب کنند. همچنین، آمینو اسیدها باعث تسهیل انتقال عناصر غذایی در سیستم آوندی از طریق بهبود نفوذپذیری غشای سلولی می‌شوند (Franco *et al.*, 1994).

طبق آمار منتشر شده از سوی سازمان کشاورزی و خوار و بار جهانی (FAO) در سال ۲۰۰۵ کاهو در میان سبزی‌های برگی، بیشترین سطح زیر کشت و تولید را داشته به طوری‌که مقام اول جهان و ایران را به خود اختصاص داده است. کاهو یکی از مهمترین سبزی‌های برگی است که عمدتاً برای مصارف تازه‌خوری استفاده می‌شود. این گیاه به عنوان یکی از مهمترین اجزای رژیم غذایی، از بیشترین انباشت‌گرهای نیترات (بیشتر از ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) محسوب می‌شود (Dejon and Stekbaut, 1995).

به دلیل اثرات سوء نیترات بر سلامتی انسان، امروزه توجه زیادی به تجمع این یون در سبزیجات شده است و به عنوان یک شاخص بیولوژیک کیفی در سبزیجات در نظر گرفته شده است (Chen et al., 2004). بنابراین پایش و نظارت بر غلظت نیترات در سبزیجات برگی و یافتن راه حلی برای کاهش آن ضروری است.

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده از آهن به عنوان یک عنصر ضروری مورد نیاز گیاه یکی از راه‌های بهبود عملکرد و همچنین کاهش انباشت نیترات در گیاه عنوان شده است. بدیهی است که استفاده از منابعی از آهن که کارایی جذب این عنصر را افزایش دهند، می‌تواند مفید باشند. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف تأثیر منابع کودی آهن بر تجمع نیترات کاهو در سیستم هیدروپونیک صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر منابع مختلف آهن بر تجمع نیترات، عملکرد و صفات فیزیولوژیک کاهو، آزمایشی در قالب طرح کاملا" تصادفی با ۴ تیمار و ۵ تکرار به صورت هیدروپونیک در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان انجام گرفت. تیمارهای مورد مطالعه در این تحقیق، شامل آمینوکلات آهن، سولفات آهن و فریک اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (Fe-EDTA) با غلظت یکسان ۲۰ میکرومولار بود. محلول غذایی بدون آهن نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در این مطالعه آمینوکلات آهن با استفاده از آمینو اسید لیزین به عنوان عامل کمپلکس کننده تهیه شد. ۲ میلی‌مول لیزین را در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و سپس محلول مذکور به آرامی به محلول سولفات آهن (یک میلی‌مول) به همراه ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. این مخلوط به مدت دو ساعت در حالی که به شدت هم‌زده می‌شد، گرم شد. تبخیر حلال در دمای اتاق باعث تولید آمینوکلات‌های آهن شد. محصول تولید شده با اتانول شسته و سپس هوا خشک گردید (Ghasemi *et al.*, 2012).

جهت کشت گیاه و اعمال تیمارها، ابتدا بذرهای کاهو رقم گریت لیک در سدیم هیپوکلریت یک درصد برای ۳۰ ثانیه استریل و سپس به‌طور کامل با آب دیونیزه شسته شدند. جوانه‌زنی در بستر شنی که از قبل با اسید کلریدریک رقیق و آب مقطر شسته شده بود، طی مدت ۷ روز انجام گرفت. گیاهچه‌ها با ارتفاع ۲ تا ۴ سانتی‌متری به ظروف پلاستیکی ۲۰ لیتری حاوی محلول غذایی منتقل و از محلول غذایی پایه جانسون استفاده شد. ترکیب نمک‌های محلول غذایی به شرح ذیل بود: ۵ میلی‌مولار $Ca(NO_3)_4H_2O$، ۰/۲ میلی‌مولار KH_2PO_4، ۰/۲ میلی‌مولار K_2SO_4، ۰/۳ میلی مولار $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۱ میلی مولار NaCl، ۷ میکرومولار $MnSO_4.7H_2O$، ۰/۷ میکرومولار $ZnCl_2$، ۰/۸ میکرومولار $CuSO_4.5H_2O$، ۲ میکرومولار H_3BO_3 و ۰/۸ میکرومولار$NaMoO_4.2H_2O$. در طول آزمایش میانگین شرایط دمایی ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد (میانگین روزانه) و رطوبت نسبی ۸۵-۷۰ درصد با شدت نور۷۴۰-۶۵۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و طول دوره نوری ۲/۸±۱۶ بود.

در طول آزمایش، هر سه روز یک‌بار محلول غذایی تعویض و همچنین جهت جلوگیری از ورود نور به منطقه ریشه و محلول غذایی، اطراف ظروف پلاستیکی حاوی محلول غذایی با پلی‌اتیلن مشکی به‌طور کامل محافظت شد. در هنگام تعویض محلول غذایی، تمام ظرف‌ها با دترجنت، آب‌مقطر، آب دوبار تقطیر و اسید سولفوریک یک مولار شسته می‌شدند. اعمال تیمارهای آهن (سولفات آهن، آمینوکلات آهن و کلات آهن) بعد از انتقال نشاها آغاز شد. گیاهان پس از دو ماه رشد و در مرحله ۱۵ برگی به طور کامل از گلدان‌ها برداشت شدند و قسمت‌های هوایی و ریشه از هم جدا و توزین شدند. به منظور اندازه‌گیری کلروفیل، قسمتی از نمونه‌ها داخل فریزر نگه‌داری شد و بقیه نمونه‌ها جهت خشک شدن در دستگاه آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

میزان کلروفیل برگی در هر تیمار با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر (شرکت سازنده Agilent: کشور آمریکا و مدل Cary-Eclipse) انجام شد. همچنین فلورسانس متغیر به حداکثر (Fv/Fm)، هدایت روزنه‌ای و سرعت فتوسنتز با دستگاه Chlorophyll Fluorimeter (مدل Hansatech LID Pocket PEA) اندازه‌گیری شد. پارامترهای ذکر شده در قسمت میانی پهنک ۱۰ عدد از برگ‌های توسعه یافته اندازه‌گیری شد. جهت تخمین سطح برگ از دستگاه سطح برگ سنج Gate House مدل 4cht Aok با دقت ۰/۰۱ سانتی‌متر مربع استفاده شد.

جهت اندازه‌گیری غلظت نیترات اندام هوایی، نمونه‌های گیاهی پس از انتقال به آزمایشگاه با دستمال، کاملا" تمیز شدند. سپس نمونه‌ها خرد شده و بسته به بافت گیاهی به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه خشک‌کن تا رسیدن به وزن ثابت قرار داده شدند. غلظت نیترات در نمونه های خشک و آسیاب شده با استفاده از روش دی آزو (Singh, 1988) که بر پایه احیای نیترات به نیتریت در مجاورت پودر روی و هیدورژن است تعیین شد. به این صورت که یون‌های نیتریت ایجاد شده با نمک سولفانیل آمید تولید ترکیبات دیازنوم می‌کنند که در مجاورت آن (۱- نفتیل) اتیلن‌دی‌آمین، کمپلکس رنگی در طول موج ۵۴۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر مدل PhotonixAr 2015 اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های دخیل در آسیمیلاسیون نیترات، تکه‌های تازه نمونه‌ها همراه با محلول عصاره‌گیری با نسبت ۱ به ۵ جرمی- حجمی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد توسط آسیاب خرد شدند. محلول عصاره‌گیری شامل محلول فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار بافر شده در pH برابر با ۷/۵ و محتوی ۲ میلی مولارEDTA ، ۱/۵ درصد کازئین محلول، ۲

www.SID.ir

Archive of SID

میلی‌مولار دی تیوتریتول (DTT) و یک درصد پلی وینیل پلی پیرولیدون (PVP) بود. مخلوط حاصل صاف شده و به مدت ۵ دقیقه و ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول صاف رویی مجددا" به مدت ۲۰ دقیقه و ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی جدا شده و فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز، نیتریت ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز در این عصاره اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برگ به روش پیشنهادی استوارت و همکاران (Stewart *et al.*,1972) با استفاده از سولانیلیک اسید محلول در اسید کلریدریک ۲ نرمال و محلول نفتیل اتیلن دی آمید (۰/۰۲ درصد) و اندازه‌گیری میزان جذب نیتریت در طول موج ۵۴۰ نانومتر، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل PhotonixAr 2015 انجام شد. برای تهیه منحنی استاندارد از نیتریت سدیم استفاده شد.

فعالیت آنزیم نیتریت ردوکتاز بر اساس میزان کاهش غلظت نیتریت در محیط واکنش اندازه‌گیری شد. غلظت نیتریت پس از انکوباتور کردن محلول بالا در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه، به روش رنگ‌سنجی و پس از تشکیل کمپلکس آزو با سولفانیل آمید و ان یک نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل PhotonixAr 2015 اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم نیتریت ردوکتاز نیز بر مبنای مقدار نیتریت کاسته شده در هر گرم بافت گیاهی تازه در دقیقه بیان شد (Kaiser & Lewis, 1984).

فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز به روش رنگ سنجی پس از ایجاد کمپلکس گلوتامیل هیدروکسیمات در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Kaiser & Lewis, 1984). فعالیت این آنزیم بر مبنای میکروگرم گلوتامیل هیدروکسیمات در یک گرم وزن تازه بافت گیاهی در یک دقیقه بیان شد.

جهت اندازه‌گیری غلظت آهن اندام‌های هوایی، ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه خشک شده و آسیاب شده توزین و در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت قرار داده شد تا تبدیل به خاکستر شود. سپس، ۵ میلی‌لیتراسید کلریدریک ۲ نرمال، به هر نمونه اضافه و در نهایت توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده و غلظت آهن بعد از عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل 240FS AA ساخت کشور آمریکا) اندازه‌گیری شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSSنسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. نمودارها و اشکال با استفاده از نرم-افزار اکسل (*Excel*) رسم شد.

نتایج و بحث

عملکرد و ویژگی‌های فیزیولوژیک

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر تیمار آهن بر وزن تر و خشک ریشه، وزن تر اندام هوایی، عدد کلروفیل‌متر و سرعت فتوسنتز خالص در سطح احتمال پنج درصد و وزن خشک اندام هوایی، سطح برگ، Fv/Fm و هدایت روزنه‌ای در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). اثر منابع مختلف آهن بر تعداد برگ در بوته معنی‌دار نبود (جدول ۱).

نتایج جدول مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کاربرد آمینوکلات آهن موجب افزایش وزن خشک ریشه (۱۳۸ درصد) و وزن خشک اندام‌های هوایی (۵۹ درصد) نسبت به شاهد شد (جدول ۲).

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس اثر منابع مختلف آهن بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکرد کاهو

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن تر ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک ریشه	سطح برگ
تیمار آهن	۳	۸۵/۱۳ *	۱۲/۳۸۳ **	۲۶/۹۷ *	۱۰۸/۵۴ *	۰/۸۵**
خطا	۱۶	۲۳/۱۰۲	۱/۴۱۸	۳/۴۲	۳۴/۴۴	۰/۰۶۴
ضریب تغییرات	-	۹/۷۱	۹/۲۵	۷/۸۷	۱۸/۰۳	۱۶/۴۶
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		Fv/Fm	عدد کلروفیل‌متر (SPAD)	تعداد برگ در بوته	هدایت روزنه‌ای	سرعت فتوسنتز خالص
تیمار آهن	۳	۴۶۳/۴۲ **	۱۱/۴۲ *	۲۰/۵۴ ns	۱۵۳/۷۰۱ **	۱۵۸۴/۹۵ *
خطا	۱۶	۷۴/۶۳	۰/۶۳۲	۲/۴۶۶	۱۰۸/۴۸	۳۵۲/۴۳
ضریب تغییرات	-	۱۰/۴۲	۸/۵۱	۱۳/۴۳	۱۲/۷۴	۱۷/۸۶

ns: عدم معنی‌داری، **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و * اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین منابع مختلف آهن بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکرد کاهو

تیمار	وزن تر ریشه (گرم در گیاه)	وزن خشک ریشه (گرم در گیاه)	وزن تر اندام هوایی (گرم در گیاه)	وزن خشک اندام هوایی (گرم در گیاه)	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)
شاهد	۴/۱ ±۰/۲۴ b	۰/۳۴ ±۰/۰۰ d	۱۷۵/۷±۱۰/۲ bc	۶/۱ ±۰/۲ d	۲۷۱۴/۲ ±۹۵/۷ c
سولفات آهن	۶/۴ ±۰/۵۲ a	۰/۶۰ ±۰/۰۵ b	۱۹۶/۳±۱۲/۵ b	۷/۳ ±۰/۱ c	۳۳۷۲/۴ ±۱۰۷/۴ b
آمینوکلات آهن	۶/۱ ±۰/۴۲ a	۰/۸۱ ±۰/۰۶ a	۲۳۰/۶±۱۶/۱ a	۹/۷ ±۰/۶ a	۴۰۰۱/۵ ±۱۸۶/۵ a
کلات آهن	۷/۲ ±۰/۷۱ a	۰/۴۳ ±۰/۰۳ c	۱۸۲/۵ ±۱۴/۶ b	۸/۱ ±۰/۵ b	۳۴۶۰/۸ ±۱۱۸/۶ b

تیمار	عدد کلروفیل‌متر شاخص (SPAD)	Fv/Fm	هدایت روزنه‌ای (مول بر متر مربع بر ثانیه)	سرعت فتوسنتز خالص (میکرومول دی اکسید کربن بر متر مربع در ثانیه)
شاهد	۱۵/۶ ±۱/۱۲ d	۰/۴۷ ±۰/۰۱ cd	۰/۱۰ ±۰/۰۰۲ c	۲/۹۸ ±۰/۱ d
سولفات آهن	۲۳/۳ ±۱/۷۳ bc	۰/۵۲ ±۰/۰۳ c	۰/۱۴ ±۰/۰۰۴ bc	۴/۱۴ ±۰/۳ c
آمینوکلات آهن	۲۹/۸ ±۱/۰۸ a	۰/۷۵ ±۰/۰۶ a	۰/۱۸ ±۰/۰۱ a	۶/۱۸±۰/۵ a
کلات آهن	۲۵/۱ ±۱/۱ b	۰/۶۲ ±۰/۰۵ b	۰/۱۲ ±۰/۰۰۹ c	۵/۱ ±۰/۵ b

میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

آمینواسیدها از اجزای تشکیل‌دهنده پروتئین‌ها هستند که نقش قابل توجهی در متابولسیم و تشکیل پروتئین دارند و از طریق تشکیل پروتوپلاسم، تقسیم سلولی و رشد گیاه می‌توانند سبب افزایش ماده خشک شوند. همچنین به‌نظر می‌رسد بخشی از افزایش بیشتر عملکرد در شرایط استفاده از آهن کلات شده با آمینواسید به‌دلیل تأمین بخشی از نیتروژن مورد نیاز گیاه (هر چند در مقدار کم) و یا اثر تحریک‌کنندگی ناشی از اسیدآمینه باشد. در واقع، آمینو اسید موجود در آمینوکلات‌ها باعث بهبود جذب عناصر غذایی و در نتیجه افزایش عملکرد گیاه می‌شود (Souri and Aslani, 2018). همچنین Amaliotis *et al.* (2002) گزارش کردند که یک رابطه خطی معنی‌دار بین غلظت آهن و عملکرد گیاه وجود دارد. به طوری‌که در اثر مصرف آهن، مقدار کلروفیل، فتوسنتز و رشد رویشی گیاه افزایش یافته و این امر باعث افزایش سطح کربن‌گیری و در نتیجه افزایش میزان ماده خشک تولیدی در گیاه می‌گردد. Amin *et al.*(2011)، Rafie *et al.* (2017) و Ghasemi *et al.* (2013) نیز افزایش عملکرد پیاز و گندم با محلول‌پاشی اسیدآمینه‌ها را گزارش نمودند. Jie *et al.* (2008) نیز گزارش کردند که عملکرد برنج در شرایط استفاده از آمینوکلات روی و آهن (۷۳-۲۲ درصد) در مقایسه با سولفات روی و آهن (۳۵-۱۱ درصد) و همچنین روی و آهن کلات شده با EDTA (۶۳-۱۵ درصد) بیشتر بود.

بیشترین وزن تر اندام هوایی (۲۳۰/۶ گرم) در تیمار آمینوکلات آهن مشاهده شد ولی تفاوت معنی‌داری بین سایر تیمارها در این صفت مشاهده نشد. کاربرد آمینوکلات آهن، کلات آهن و سولفات آهن به ترتیب باعث افزایش ۴۹، ۷۶ و ۵۶ درصدی وزن تر ریشه نسبت به شاهد شد، اما تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارهای آهن وجود نداشت (جدول ۲). تحقیقات انجام گرفته روی گیاهان نیز نشان داده‌اند که گیاهانی که با آهن محلول‌پاشی شده بودند وزن تر بیشتری داشتند (Said-Al Ahl and A. Mahmoud, 2009).

بیشترین میزان سطح برگ در تیمار آمینوکلات آهن (۴۰۰۱/۵ سانتی‌متر مربع) و کمترین میزان آن در تیمار شاهد (۲۷۱۴/۲ سانتی‌متر مربع) مشاهده شد. تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمار سولفات آهن و کلات آهن از نظر این صفت مشاهده نشد (جدول ۲). Thon *et al.* (1981) اشاره کردند که آمینو اسیدها یک منبع نیتروژن قابل جذب برای سلول‌های گیاهی فراهم می‌کنند که این نیتروژن در مقایسه با سایر منابع معدنی نیتروژن خیلی سریع‌تر توسط سلول ها جذب می‌شود. این ویژگی آمینو اسیدها می‌تواند سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و شاخص سطح برگ شود.

کاربرد آمینوکلات آهن موجب افزایش هدایت روزنه‌ای (۴۴ درصد)، سرعت فتوسنتز (۱۰۷ درصد) و میزان کلروفیل (۹۱ درصد) نسبت به شاهد شد (جدول ۲). آمینو اسید استفاده شده در مطالعه حاضر لیزین بود که این آمینو اسید علاوه بر این که در ساختمان پروتئین‌ها نقش دارد، به عنوان پیش‌ساز گلوتامات نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. گلوتامیک اسید نقش قابل توجهی در افزایش غلظت کلروفیل دارد، به طوری‌که مسیر بیوسنتز کلروفیل با اسید گلوتامیک آغاز می‌شود که به ۵-آمینولولینین اسید (ALA) تبدیل می‌شود. دو مولکول ALA متراکم شده و باعث تشکیل پورفوبیلینوژن (PBG) می‌شود. سپس چهار مولکول PBG برای تشکیل پروتوپورفیرین IX به هم متصل می‌شوند. فاز بعدی مسیر بیوسنتز کلروفیل تشکیل حلقه پنجم (حلقه E) است که در این مرحله منیزیم وارد عمل می‌شود. این مسیر شامل کاهش یکی از پیوندهای دوگانه در حلقه D، با استفاده از NADPH است. این فرآیند توسط نور در آنژیوسپرم‌ها هدایت می‌شود و توسط آنزیمی به نام پروتوکلروفیلیلید اکسیدورودکتاز

www.SID.ir

Archive of SID

(POR) انجام می‌شود. آخرین مرحله در مسیر بیوسنتز کلروفیل، اتصال دم فیتول است که توسط آنزیمی به نام کلروفیل سنتتاز کاتالیز می‌شود (Porra *et al.*, 1989).

آهن از جمله عناصر ضروری برای رشد و تولید مثل گیاهان است که در فرآیند فتوسنتز، تنفس، جذب و ساخت نیتروژن و همچنین در ساخت و تکوین کلروپلاست در گیاهان نقش دارد. نقش آهن در فرآیند فتوسنتز و تنفس به واسطه شرکت آن در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا در کلروپلاست و میتوکندری است که آهن در آنها به عنوان گروه‌های دهنده - گیرنده الکترون شرکت می‌کند (Marschner, 1995). گزارش شده است که ماده مشترک برای ساخت کلروفیل و هیم، اسید دلتا-آمینولوولینیک است که میزان تشکیل آن به وسیله آهن مهار می‌شود. به کار رفتن آهن و یا منیزیم، به عنوان اتم مرکزی در درون تتراپیرول، به ترتیب به تشکیل کوآنزیم‌های هیم و منیزیم- پروتوپورفیرین منجر می‌شود. ثابت شده است که آهن برای تشکیل پروتوکلروفیلید از منیزیم- پروتو پورفیرین لازم است (Marschner, 1995). افزایش محتوی کلروفیل می‌تواند ضمن بهبود فتوسنتز، سنتز کربوهیدرات‌ها را افزایش و به دنبال آن سبب افزایش ماده خشک گیاه شود. میزان Fv/Fm حداکثر عملکرد کوآنتومی واکنش فتوشیمیایی فتوسیستم نشان می‌دهد و یک پارامتر مهم برای تعیین وضعیت دستگاه فتوسنتزی می‌باشد. فتوسیستم I و II هر دو حاوی پروتئین‌های آهن‌دار می‌باشد که آهن در فتوسیستم II برای شکستن آب مهم است. در نتیجه، کمبود آهن ممکن است منجر به کاهش فعالیت فتوسیستم II می‌شود (Hulsebosch *et al.*, 1996).

ویژگی‌های بیوشیمیایی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر منابع مختلف آهن بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، آنزیم گلوتامین سنتتاز و غلظت آهن در سطح احتمال یک درصد و بر غلظت نیترات و فعالیت آنزیم نیتریت ردوکتاز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس اثر منابع مختلف آهن بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی کاهو

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		غلظت نیترات	فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز	فعالیت آنزیم نیتریت ردوکتاز	فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز	غلظت آهن
تیمار آهن	۳	۳۴۲/۱۲ *	۱۵۳۶/۸۶ **	۵۲۰۹/۱۲ *	۱۹۸/۶۵ **	۱/۶۴۷**
خطا	۱۶	۲۱/۸۷	۵۴۲۰/۱۱	۲۵۴/۲۷	۳۵/۷۶	۰/۴۷۳
ضریب تغییرات	-	۱۴/۰۷	۵/۱۷	۱۹/۶۰	۲۲/۱۷	۸/۹۶

ns: عدم معنی‌داری، **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و * اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تیمار آمینوکلات آهن به ترتیب باعث کاهش ۳۹، ۳۱ و ۵۵ درصدی غلظت نیترات نسبت به کلات آهن، سولفات آهن و شاهد شد. تفاوت آماری معنی‌داری در غلظت نیترات بین دو تیمار سولفات آهن و کلات آهن مشاهده نشد (شکل ۱). افزایش غلظت آهن در محلول غذایی اگرچه موجب افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در اندام هوایی شد، اما به دلیل کاهش شدید وزن تر و خشک اندام هوایی، میزان فعالیت آنزیم در کل اندام هوایی تیمار کلات آهن به اندازه‌ای نبوده است که بتواند با انباشت نیترات در گیاه مقابله کند. به عبارتی، میزان ورودی نیترات به گیاه بیشتر از سرعت احیاء و جذب خالص آن بوده است. به همین دلیل غلظت نیترات در اندام هوایی تیمار کلات آهن در محلول غذایی افزایش یافت.

مطالعات نشان داد که کاربرد عناصر کم‌مصرف به صورت آمینوکلات نسبت به فرم‌های شیمیایی باعث کاهش معنی‌دار غلظت نیترات در گیاهان مخصوصاً سبزیجات برگی شده است (Souri, 2016; Rafie *et al.*, 2017). Mobini *et al.* (2014) گزارش کردند که اضافه نمودن مخلوطی از آرژینین، هیستیدین و اسیدهای آمینه باعث کاهش تجمع نیترات در سوخ گیاه پیاز می‌شود. این کاهش همراه با افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز و افزایش تولید آمونیوم و اسید آمینه در سوخ پیاز می‌باشد. آنان همچنین تأکید کردند که مخلوطی از اسیدهای آمینه در کاهش تجمع نیترات در غده پیاز مؤثرتر از تیمار جداگانه آرژنین و هیستدین بود. برخی محققان، نقش اصلی تأثیر آسید آمینه در جذب و آسیمیلاسیون نیترات را به دلیل تأثیر آن بر آنزیم‌های مؤثر در متابولیسم نیترات می‌دانند (Liu *et al.*, 2014).

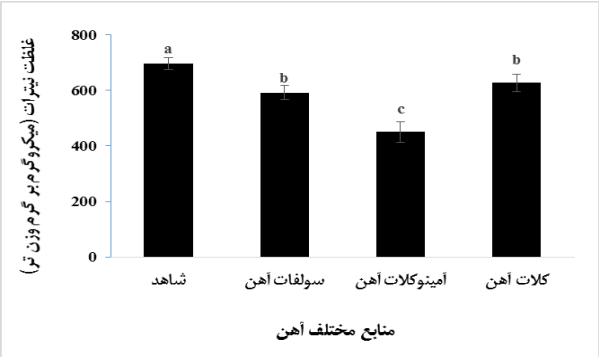
آمینو اسیدها جذب نیترات اضافی توسط ریشه‌ها را کم کرده و بنابراین باعث کاهش تجمع نیترات در گیاهان مخصوصا" سبزیجات برگی می‌شوند (Ertani *et al.*, 2009). همچنین گزارش شده است که گیاهان برای تعیین میزان جذب نیترات از محیط، دارای یک سیستم حمل و نقل تخصصی هستند. ژن‌های درگیر در این سیستم، به انتقال دهنده‌های نیترات و ژن‌های دخیل در احیای نیترات متعلق هستند (Tsay *et al.*, 2007). سیستم انتقال

www.SID.ir

Archive of SID

نیترات در گیاهان تحت تأثیر دو فاکتور غلظت و فرم نیتروژن مورد استفاده قرار دارد (Tsay *et al.*, 2007; Zanin *et al.*, 2015). در واقع، غلظت بالای اسیدهای آمینه در تیمار آمینوکلات آهن باعث مهار رونویسی ژن $HvNRT_2$ در ریشه‌ها شده و از سنتز mRNA رمزگذاری کننده انتقال دهنده‌های نیترات جلوگیری می‌کند (Vidmar *et al.*, 2000). همچنین از آنجا که اسیدهای آمینه محصول نهایی جذب و کاهش نیترات هستند، بنابراین غلظت بالای آمینواسیدها در بافت‌های گیاه باعث ممانعت از جذب نیترات شده است.

تأثیر منابع مختلف آهن بر فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز، نیتریت ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز در جدول (۴) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت هر سه آنزیم مذکور در تیمار آمینوکلات آهن مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم نیتریت ردوکتاز بین سولفات آهن، کلات آهن و شاهد مشاهده نشد. آمینوکلات آهن به ترتیب باعث افزایش ۱۶۸، ۳۳ و ۶۷ درصدی فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، نیتریت ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز نسبت به تیمار شاهد شد.



شکل ۱- تأثیر منابع مختلف آهن بر غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو
میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

جدول ۴- تأثیر منابع مختلف آهن بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی کاهو

تیمار	فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز (میکرومول نیتریت بر میلی‌گرم وزن تر بر دقیقه)	فعالیت آنزیم نیتریت ردوکتاز (میکرومول نیتریت بر میلی‌گرم وزن تر بر دقیقه)	فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز (میکرومول گلوتامین هیدروگزامات بر گرم وزن تر بر دقیقه)
شاهد	۳/۴ ±۰/۲ de	۸/۵ ±۰/۳۵ c	۰/۹۹ ±۰/۰۲ d
سولفات آهن	۵/۴ ±۰/۶ c	۸/۳ ±۰/۲۹ c	۱/۱۸±۰/۰۹ c
آمینوکلات آهن	۹/۱ ±۰/۳۷ a	۱۱/۳ ±۰/۹۵ a	۱/۶۵±۰/۱۳ a
کلات آهن	۷/۱ ±۰/۴۳ b	۹/۴ ±۰/۴۷ bc	۱/۳۲ ±۰/۱۱ b

میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

نتایج این مطالعه نشان داد که در حضور کلات‌های آهن، فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز، نیتریت ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز در مقایسه با شاهد افزایش یافت. مطالعات بورلوتی و همکاران (Borlotti *et al.*, 2012) نشان داد که میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاهانی که کمبود آهن دارند کاهش یافت و علت آن را به نقش این عنصر به عنوان جزء فلزی در ساختار آنزیم نیترات ردوکتاز مربوط دانست. در واقع، افزایش کاربرد آهن به محیط رشد گیاه، با تسهیل در جذب نیترات و انتقال بیشتر آن به اندام‌های هوایی و افزایش سوخت و ساز گیاه و در نهایت با احیای بیشتر نیترات سبب کاهش انباشت آن در گیاه می‌شود (Timmermans *et al.*, 1994). نتایج این مطالعه نیز نشان داد که در حضور آهن به دلایلی از جمله افزایش میزان فتوسنتز، افزایش عملکرد گیاه (اثر رقت) و بهبود فعالیت آنزیمی گیاه، انباشت نیترات کاهش یافت.

Liu *et al.* (2014) گزارش کردند که اولین واکنش دفاعی گیاهان به غلظت زیاد نیترات در محلول غذایی، کاهش نسبت طول ریشه به وزن خشک اندام هوایی با گذشت زمان است. آنها این امر را بیانگر نوعی خودتنظیمی گیاه در مقابله با افزایش غلظت نیترات دانستند. به عبارتی گیاه با عدم گسترش ریشه و در مقابل با توسعه و گسترش اندام هوایی، در مواجه با افزایش نیترات از خود واکنش دفاعی نشان می‌دهد که می‌توان گفت این اتفاق در تیمار کلات آهن برای مقابله با غلظت زیاد نیترات اتفاق افتاده است. افزایش غلظت آهن در محلول غذایی اگرچه موجب افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در اندام هوایی شد، اما به دلیل کاهش شدید وزن تر و خشک اندام هوایی، میزان فعالیت آنزیم در کل اندام هوایی تیمار کلات آهن به اندازه‌ای نبوده است که بتواند با انباشت نیترات در گیاه مقابله کند. به عبارتی میزان ورودی نیترات به گیاه بیشتر از سرعت احیاء و جذب خالص آن بوده است. به همین دلیل غلظت نیترات در اندام هوایی تیمار کلات آهن در محلول غذایی افزایش یافت.

احیای نیترات در گیاه به فعالیت آنزیم نیترات و نیتریت ردوکتاز وابسته است. بدیهی است که هر چه فعالیت این آنزیم‌ها بیشتر باشد، انباشت نیترات در گیاه کاهش خواهد یافت. همچنین گزارش شده است که آهن به دلیل توسعه متابولیسم نیتروژن و فعال کردن واکنش‌های اکسید و احیا و انتقال الکترون باعث کاهش غلظت نیترات می شود (Borlotti *et al.*, 2012). مطالعات

www.SID.ir

Archive of SID

نشان داد که کاربرد اسیدهای آمینه باعث افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز و نیتریت ردوکتاز و بنابراین غلظت پایین‌تر نیترات در گیاه شده است (Wenke *et al.*, 2009).

غلظت آهن

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین غلظت آهن به مقدار ۴۲۶/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم از مصرف آمینو کلات آهن به دست آمد. تفاوت معنی‌داری در غلظت آهن بین تیمارهای سولفات آهن و کلات آهن مشاهده نشد (شکل ۲). آمینوکلات آهن به ترتیب باعث افزایش ۲۵، ۴۲ و ۱۱۳ درصدی غلظت آهن اندام هوایی نسبت به تیمار سولفات آهن، کلات آهن و شاهد شد.

شکل ۲- تأثیر منابع مختلف آهن بر غظت آهن در اندام هوایی کاهو

میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تأثیر منابع مختلف آهن بر صفات کمی و بیوشیمیایی گیاه یکسان نبود و آهن کلات شده با آمینواسید در مقایسه با دو منبع دیگر آهن تأثیر بیشتری در افزایش وزن خشک گیاه و پارامترهای فتوسنتزی گیاه داشت. با توجه به یکسان بودن غلظت آهن در تیمارهای مورد بررسی، کارایی بالاتر کمپلکس آهن- آمینواسید در مقایسه با سولفات آهن و کلات آهن ممکن است به‌دلیل نقش اسیدآمینه همراه در فرآیندهای مختلف زیستی، از جمله تقسیم سلولی و رشد سلول باشد. اسیدهای آمینه می‌توانند به افزایش جذب، جابجایی و حتی انتقال مجدد آهن در گیاه کمک کنند که با توجه به غلظت بیشتر آهن برگ در تیمار آهن کلات شده با آمینواسید، می‌توان بیان نمود که آمینواسید به افزایش جذب آهن کمک کرده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد به طور کلی، کاربرد آهن باعث افزایش عملکرد و بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه کاهو نسبت به تیمار شاهد شد. در بین منابع مختلف آهن استفاده شده در این مطالعه، آمینوکلات آهن تأثیر بهتری بر ویژگی‌های ذکر شده داشت. در واقع، کاربرد آهن به شکل آمینوکلات به طور معنی‌داری باعث افزایش عملکرد، افزایش پارامترهای فتوسنتزی (کلروفیل، Fv/Fm، هدایت روزنه‌ای و سرعت فتوسنتز)، افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در احیای نیترات (آنزیم نیترات ردوکتاز، نیتریت ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز)، افزایش غلظت آهن و در نهایت کاهش نیترات اندام خوراکی گیاه کاهو نسبت به سولفات آهن و کلات آهن شد. بنابراین با توجه به نتایج فوق، آمینوکلات آهن می‌تواند برای کاهش غلظت نیترات و افزایش عملکرد کاهو در کشت هیدروپونیک استفاده شود.

سپاس‌گزاری

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند که از جناب آقای دکتر رضا ترک و حسن عبداللهی مقدم برای کمک در انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی نمایند.

"هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

Amaliotis, D., Velemis, D., Bladenopoulou, S., and Karapetsas, N. (2002). Leaf nutrient levels of strawberries in relation to crop yield. *Acta Horticulturae*, 567: 447-450.

Amin, A.A., Gharib, A.E.F., El-Awadia, M., and Rashad, E.S.M. (2011). Physiological response of onion plants to foliar application of putrescine and glutamine. *Scientia Horticulturae*, 129: 353-360.

Borlotti, A., Vigani, G., and Zocchi, G. (2012). Iron deficiency affects nitrogen metabolism in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. *BMC Plant Biology*, 12: 189.

Bian, Z.H., Cheng, R.F., Yang, Q.C., Wang, J., and Lu, C.G. (2016). Continuous light from red, blue, and green light-emitting diodes reduces nitrate content and enhances phytochemical concentrations and antioxidant capacity in lettuce. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 141: 186–195.

Campbell, W.H. (1999). Nitrate reductase structure, function and regulation: Bridging the Gap between Biochemistry and Physiology. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 277-303. doi:10.1146/annurev.arplant.50.1.277.

Chen, B.M., Wang, Z.H., Li, S.X., Song, H.X., and Wang, X.N. (2004). Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. *Plant Science*, 167: 635-643.

Chung, S.Y., Kim, J., Kim, M., Hong, M.K., Lee, J.O.

www.SID.ir

Archive of SID

and Song, I.S. (2003). Survey of nitrate and nitrite contents grown in Korea. *Food Additives and Contaminants*, 20: 621-628.

Dejon, C.W., and Stekbaut, W. (1995). Nitrate in food commodities vegetable origin and the total diet in Belgium, Ghent University. Faculties Bio-Ingenious Wetenschappen (FLTBW) 15: 625-631.

Dordas, C.A., and Sioulas, C. (2008). Safflower yield, chlorophyll content, photosynthesis, and water use efficiency response to nitrogen fertilization under rainfed conditions. *Industrial Crops and Products*, 27: 75-85.

Ertani, A., Cavani, L., Pizzeghello, D., Brandellero, E., Altissimo, A., and Ciavatta, C. (2009). Biostimulant activity of two protein hydrolyzates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172: 237-244. doi.org/10.1002/jpln.200800174.

Franco, J.A., Banon, S., and Madrid, R. (1994). Effects of a protein hydrolysate applied by fertigation on the effectiveness of calcium as a corrector of blossom-end rot in tomato cultivated under saline conditions. *Scientia Horticulturae*, 57: 283-292.

Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A. H., Hadadzadeh, H., and Jafari, M. (2012). Synthesis of iron-amino acid chelates and evaluation of their efficacy as iron source and growth stimulator for tomato in nutrient solution culture. *The Journal of Plant Growth Regulation*, 31: 498-508.

Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A.H., Afyuni, M., and Hadadzadeh, H. (2013). The effectiveness of foliar applications of synthesized zinc-amino acid chelates in comparison with zinc sulfate to increase yield and grain nutritional quality of wheat. *European Journal of Agronomy*, 45: 68-74.

Hulsebosch, R.J., Hoff, A.J., and Shuvalov, V.A. (1996). Influence of KF, DCMU and removal of Ca^{2+} on the lightspin EPR signal of the cytochrome b-559 Fe(III) ligated by OH- in chloroplasts. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1277: 103-106.

Jie, M., Raza, W., Chun, Xu, Y., and Shen, Q. R. (2008). Preparation and optimization of amino acid chelated micronutrient fertilizer by hydrolyzation of chicken waste feathers and the effects on growth of rice. *Journal of Plant Nutrition*, 31: 571-582.

Kaiser, J.J., and Lewis, O.A.M. (1984). Nitrate reductase and glutamine synthetase activity in leaves and roots of nitrate-fed *Helianthus annuus* L. *Plant and Soil*, 70: 127–130.

Kholdebarin, B., and Eslamzadeh, T. (2005). Mineral nutrition of higher plants. Shiraz University press, Issue 1, pp 494.

Liu, C.W., Sung Y., Chen B.C., and Lai H.Y. (2014). Effects of nitrogen fertilizers on the growth and nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *International Journal of Eenvironmental Research and Public Health*, 11: 4427-4440.

Lindsay, W.L. (1972). Zinc in soils and plant nutrition. *Advances in Agronomy*, 24: 147–186.

Marschner, H. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plant. 2nd Ed. Academic Press, New York.

Mobini, M., Khoshgoftarmanesh, A.H., and Ghasemi, S. (2014). The effect of partial replacement of nitrate with arginine, histidine, and a mixture of amino acids extracted from blood powder on yield and nitrate accumulation in onion bulb. *Scientia Horticulturae*, 176: 232-237.

Porra, R.J., Thompson, W.A., and Kriedemann, P.E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophyll a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica Biophysica Acta*, 975: 384–394.

Pourreza, J. (2016). Evaluating the wheat (*Triticum aestivum*) yield loss caused by wild oat (*Avena fatua*) interference at Nitrogen Different Levels. *The Plant Production (Scientific Journal of Agriculture)*, 40: 41-52.

Rafie, M., Khoshgoftarmanesh, A., Shariatmadari, H., Darabi, A., and Dalir, N. (2017). Influence of foliar-applied Zn in the form of mineral and complexed with amino acids on yield and nutritional quality of onion under field conditions. *Scientia Horticulturae*, 216: 160-168.

Rodríguez-Lucena, P., Hernández-Apaolaza, L., and Lucena, J.J. (2010). Comparison of iron chelates and complexes supplied as foliar sprays and in nutrient solution to correct iron chlorosis of soybean. *Journal of plant nutrition and soil science*, 173: 120-126. doi:10.1002/jpln.200800256.

Santamaria, P. (2006). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86: 10–17.

Said-Al Ahl, H.A.H., and Mahmoud, A. (2009). Effect of spraying with zinc and/or iron on growth and chemical composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) harvested at three stages of development. *Journal of Medicinal Food*, 3: 97-111.

Singh J.P. 1988. A rapid method for determination of nitrate in soil and plant extracts. *Plant and Soil*, 110: 137-139.

Souri, M. (2016). Aminochelate fertilizers: the new approach to the old problem; a review. *Open Agriculture*, 1: 118-123. doi: https://doi.org/10.1515/opag-2016-0016.

Souri, M.K. Naiji, M., and Aslani, M. (2018). Effect of Fe-Glycine Aminochelate on Pod Quality and Iron Concentrations of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Under Lime Soil Conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49:2, 215-224, DOI: 10.1080/00103624.2017.1421655.

Souri, M.K., and Aslani, M. (2018). Beneficial effects of foliar application of organic chelate fertilizers on French bean production under field conditions in a calcareous soil. *Advances in Horticultural Science*, 32: 265- 272.

Souri, M.K., and Hatamian, M. (2019). Aminochelates in plant nutrition: a review, *Journal of Plant*.

www.SID.ir

Archive of SID

Nutrition, 42:1, 67-78, DOI: 10.1080/01904167.2018.1549671.

Stewart G.R., Lee, J.A., and Orebamjo, T.O. (1972). Nitrogen metabolism of halophyte: Nitrate reductase activity and utilization. *New Phytologist*, 72: 539-546.

Timmermans, K.R., Stolte, W., and de Baar, H.J.W. (1994). Iron-mediated effects on nitrate reductase in marine phytoplankton. *Marine Biology*, 121: 389–396. https://doi.org/10.1007/BF00346749.

Thon, M., Maretzki, A., Korner, E., and Soki, W.S. (1981). Nutrient uptake and accumulation by sugar cane cell culture in relation to growth cycle. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1: 3-14.

Tsay, Y.F., Chiu, C.C., and Tsai, C.B. (2007). Nitrate transporters and peptide transporters. *FEBS Letters*, 581: 2290–2300.

Vidmar, J.J., Zhuo, D., Siddiqi, M.Y., Schjoerring, J.K., Touraine, B., and Glass, A.D. (2000). Regulation of high-affinity nitrate transporter genes and high-affinity nitrateinflux by nitrogen pools in roots of barley. *Plant Physiology*, 123: 307–318.

Wenke, L., Lianfeng, D., and Qichang, Y. (2009). Biogas slurry added amino acids decreasednitrate concentrations of lettuce in sand culture. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 59: 260–264.

Zanin, L., Zamboni, A., Monte, R., Tomasi, N., Varanini, Z., Cesco, S., and Pinton R. (2015). Transcriptomic analysis highlights reciprocal interactions of urea and nitrate for nitrogen acquisition by maize roots. *Plant and Cell Physiology*, 56 (3): 532–48.

www.SID.ir