

تأثیر اسیدهای آلی کربوکسیل‌دار سبک و برخی کلات‌های مصنوعی بر جذب و انتقال روی در دو رقم گندم با روی- کارایی مختلف

شیرین هفت برادران^{۱*}، امیرحسین خوشگفتارمنش^۱ و مجید افیونی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱/۲۵)

چکیده

کمبود روی در انسان را که عموماً به علت کمبود روی قابل استفاده در رژیم‌های غذایی بروز می‌کند، می‌توان با افزایش غلظت روی قابل جذب در محیط رشد گیاه برطرف نمود. ترشحات ریشه و اسیدهای آلی ناشی از تجزیه مواد آلی بر قابلیت جذب روی مؤثرند. بنابراین، هدف این آزمایش آبکشت، بررسی اثر برخی اسیدهای آلی بر جذب و انتقال روی در دو رقم گندم با روی- کارایی مختلف بود. دو سطح روی (۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار)، شش اسید آلی (اسیدهای کربوکسیلیک طبیعی سیتریک، تارتاریک، اگزالیک، سالیسیلیک، EDTA و آمینواسید ال- متیونین) و ارقام گندم کویر (روی- ناکارآمد) و بک‌کراس روشن (روی- کارآمد) انتخاب شد. نتایج نشان داد که قابلیت جذب گونه‌های آزاد و کمپلکسی روی کاملاً متفاوت بود. در رقم کویر، فعالیت Zn^{2+} در محلول غذایی با وزن خشک اندام هوایی همبستگی منفی و با غلظت روی اندام هوایی همبستگی مثبت داشت؛ در حالی که گونه کمپلکسی روی روند عکس داشت. در بک‌کراس روشن، نتایج برعکس کویر بود. پاسخ ارقام گندم به اسیدهای آلی نیز متفاوت بود. تیمار EDTA، در رقم کویر کمترین و در بک‌کراس روشن بیشترین غلظت روی اندام هوایی (به ترتیب ۱۸/۸ و ۹۹/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) را داشت. اسید تارتاریک و اسید سیتریک در رقم کویر کمترین (به ترتیب ۲۶/۷ و ۵۸/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) و در رقم بک‌کراس روشن بیشترین غلظت روی ریشه (اسید تارتاریک ۸۳/۲ و اسید سیتریک ۹۸/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) را به همراه داشتند. فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو رقم گندم با غلظت روی ریشه رابطه عکس داشت. براساس نتایج این پژوهش، تفاوت پاسخ ارقام مختلف گندم به اسیدهای آلی به سازوکارهای خاص هر گیاه در مورد روی- کارایی مربوط می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای آلی، ترشحات ریشه، رقم بک‌کراس روشن، رقم کویر، عناصر کم‌مصرف

مقدمه

زیادی بر فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک انسان از جمله رشد، تولید مثل، پاسخ‌های ایمنی و توسعه رفتار عصبی دارد (۱۹). در گیاه، این عنصر تنظیم‌کننده فعالیت برخی آنزیم‌ها بوده و در برخی آنزیم‌ها نیز نقش ساختاری به عهده دارد. از آن جمله، می‌توان به نقش روی در عملکرد و تکامل ساختار غشای

کمبود روی یکی از مهمترین مشکلات تغذیه‌ای انسان در سراسر جهان است (۱۴، ۳۵، ۳۷ و ۴۴). حدود ۴۰٪ جمعیت جهان از کمبود عناصر کم‌مصرف، از جمله روی، رنج می‌برند (۸ و ۲۱). با توجه به نقش‌های اساسی روی، کمبود آن تأثیر

۱. گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sh.haftbaradaran@gmail.com

سلولی و تکمیل ساختمان بیش از ۳۰۰ نوع آنزیم گیاهی، از جمله سوپراکسیداز دسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT)، اشاره کرد. این آنزیم‌ها در حفاظت گیاه در برابر آسیب‌های ناشی از انباشتگی ترکیبات اکسیدانی مؤثرند (۵).

کمبود روی در انسان به علت کمبود روی قابل استفاده در رژیم‌های غذایی است. ارتباط مستقیمی بین کمبود روی در انسان و غلظت ناچیز روی در خاک و محصولات غذایی شناخته شده است. در این رابطه، ارتباط آشکاری بین غلظت کم روی در خاک‌های آناتولی مرکزی، کمبود روی در گندم و کمبود روی در کودکان بیان شد (۴، ۹، ۱۴ و ۱۸). بنابراین، یکی از مهمترین گام‌ها در جهت رفع کمبود روی، تأمین روی در محصولات زراعی از طریق برطرف کردن کمبود روی در محیط رشد گیاه (خاک) است. ولی باید توجه کرد که آنچه کمبود روی در محصولات زراعی را تشدید می‌کند، غلظت کم روی کل خاک نیست؛ بلکه محدودیت شکل قابل جذب روی برای گیاه است. بنابراین، مدیریت خاک که بدون افزودن مقادیر زیاد کود روی به خاک سبب افزایش قابلیت جذب زیستی روی شود باید مورد توجه قرار گیرد (۴۵). یکی از راهکارهای افزایش حلالیت روی خاک توسط گیاه، ترشح اسیدهای آلی کربوکسیل‌دار از ریشه‌ها است (۳۰). آمینواسیدهایی مانند هیستیدین و متیونین و سایر ترکیبات سبک وزن کلات‌کننده مانند EDTA (اتیلن دی آمین تترا استیک اسید، به عنوان یک کلات مصنوعی) و اسیدهای آلی مانند سیترات، با روی کمپلکس‌های قابل جذب تشکیل می‌دهند و بنابراین بر قابلیت جذب روی تأثیرگذارند (۲۳). در بیشتر محلول‌های خاک، دست‌کم یک گروه اسید کربوکسیلیک تحت عنوان اسیدهای کربوکسیلیک سبک (با جرم مولکولی کم) جدا می‌شود که اسیدهای ضعیف هستند (۳۸). اسیدهای کربوکسیلیک سبک در بسیاری از فرایندها و واکنش‌های شیمیایی خاک شرکت می‌کنند. عملکرد این ترکیبات به عنوان لیگاند، افزایش دهنده مقدار کل کاتیون‌های محلول مانند آهن و آلومینیوم محلول خاک از طریق ایجاد کمپلکس با کاتیون فلزی است (۱۶، ۱۷،

۲۴ و ۳۲). اخیراً شواهدی مبنی بر جذب فعال کمپلکس‌های فلزی با لیگاندهای آلی سبک وزن (به ویژه سیترات) توسط ریشه برخی گیاهان، از جمله گندم، به دست آمده است (۲، ۶ و ۷). در مورد کمپلکس روی با کلات‌های آلی تحقیقات محدودی انجام شده است. نوک و همکاران (۲۰۰۸) جذب کلات‌های روی به دانه را بررسی کردند. آنها ۱/۲۵ میلی‌مولار EDTA یا EDDS روی را به صورت ترکیب با ۵/۰ میلی‌مولار EDTA یا EDDS (اتیلن دی آمین دی سوکسینیک اسید)، قبل و همزمان با گل‌دهی گندم به محلول آبکشت افزودند و دریافتند که مقداری از EDTA و EDDS قبل از گل‌دهی به بافت‌هایی که تشکیل دانه می‌دهند، منتقل شده بود. آزمایش‌های گل‌دانی و هیدروپونیک نشان داده‌اند که کمپلکس روی با کلات‌های مصنوعی مانند EDTA غلظت روی محلول در ریزوسفر را تا حد زیادی افزایش داد. ولی کاهش جذب روی توسط گیاه را به همراه داشت، زیرا کمپلکس از طریق حامل‌های یون‌های فلزی قادر به عبور از غشای سلولی نبود (۲۲ و ۲۸). با این وجود، یافته‌هایی مبنی بر جذب EDTA و EDDS به اندام هوایی گیاه و جذب بیشتر عناصر فلزی در حضور آنها وجود دارد. زیرا نوار کاسپاری که مانند سد در آندودرم است، کاملاً نسبت به کلات‌ها نفوذ ناپذیر نیست و فلزات ممکن است بتوانند به صورت کمپلکس با کلات به اندام هوایی منتقل شوند. این موضوع ممکن است از طریق انتقال از مسیر سیمپلاسمی به آپوپلاسمی قابل توجه باشد (۶، ۱۴، ۳۹، ۴۰ و ۴۱).

با توجه به این که تأثیر لیگاندهای آلی بر قابلیت استفاده روی خاک و جذب آن توسط گیاه نیازمند شناخت صحیح نقش و عملکرد این ترکیبات است، استفاده از محیط آبکشت برای بررسی دقیق‌تر ضروری است. بنابراین، با توجه به مطالعات اندک در این زمینه، هدف از این پژوهش بررسی اثر برخی اسیدهای آلی در جذب و انتقال روی در دو رقم گندم با روی-کارایی متفاوت در محیط آبکشت و مقایسه کارایی این لیگاندهاست. روی-کارایی را می‌توان نسبت تولید دانه یا وزن خشک اندام هوایی گیاه در شرایط کمبود روی به شرایط بدون

جدول ۱. ترکیب محلول غذایی پایه محیط آبهکشت برای گیاه گندم (هولگند)

عناصر کم مصرف	عناصر پر مصرف
1.0 μM H_3BO_3	2.0 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$
0.02 μM $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$	0.1 mM KCl
100 μM FeCl_3	1.0 mM MgSO_4
0.5 μM MnSO_4	0.88 mM K_2SO_4
0.2 μM CuSO_4	0.25 mM KH_2PO_4
0.1 μM NiCl_2	1.0 mM MES [2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid]

کمبود تعریف کرد (۲۰). از نقطه نظر زراعی و در مفهوم کاربردی آن، کارایی یک عنصر غذایی در یک ژنوتیپ مشخص گیاهی عبارت است از توانایی تولید عملکرد زیاد در یک خاک که از نظر یک یا چند عنصر غذایی، فقیر و دچار کمبود باشد (۳۱).

مواد و روش‌ها

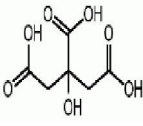
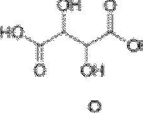
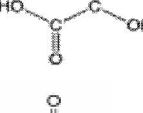
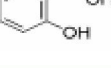
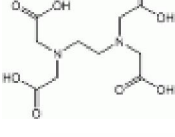
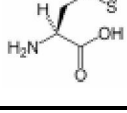
این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و در سه تکرار در محیط آبهکشت انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل دو رقم مختلف گندم از لحاظ روی-کارایی (کویر و بک‌کراس روشن بهاره به ترتیب روی-ناکارآمد و روی-کارآمد) (۲۶ و ۲۷)، دو سطح روی (۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار سولفات روی) و اسیدهای آلی مختلف (اسید سیتریک، اسید تارتاریک، اسید سالیسیلیک، اسید اگزالیک، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) و اسید آمینه ال-متیونین) (جدول ۲) در دو سطح صفر و ۵۰۰ میکرومولار بود.

بذرهای ارقام گندم مورد نظر قبل از کاشت با محلول یک در هزار قارچ کش ضدعفونی شده و در ماسه سترون شده کشت شدند. محلول‌های غذایی تهیه شده (جدول ۱) (۱۰) در ظروف پلی اتیلنی با ظرفیت ۷ لیتر ریخته شده و به منظور جلوگیری از ورود نور به محلول‌ها، اطراف ظروف با پلاستیک مشکی ضخیم پوشانده شد. تیمارهای ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار روی به صورت نمک سولفات روی ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) پس از تهیه محلول غذایی پایه اعمال شد. تیمار ۵۰۰ میکرومولار اسیدهای آلی کربوکسیل دار (جدول ۲)، پس از انتقال نشاها به محلول غذایی

طی یک هفته به صورت تدریجی اعمال شد تا از تجزیه زیستی آنها جلوگیری شود (۳۰). حدود دو هفته پس از کاشت بذرهای در ماسه، نشاهای گندم از جعبه کاشت به محلول غذایی حاوی سطوح مختلف روی انتقال داده شدند، به طوری که هر تکرار شامل ۱۶ بوته گندم بود. هوادهی ریشه‌ها به طور منظم در هر روز انجام شد. پ-هاش محلول‌ها نیز به طور منظم هر دو روز یکبار اندازه‌گیری شد و در صورت کاهش یا افزایش، به ترتیب به وسیله هیدروکسید سدیم و اسید کلریدریک در محدوده ۵/۵-۶ ثابت نگهداشته شد. محلول غذایی هر هفته تعویض شد.

پس از گذشت ۴۵ روز، گیاهان برداشت شده و ساقه از ۲ سانتی متری بالای طوقه جدا شد. سپس ریشه و اندام هوایی به طور جداگانه توزین شده و به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌های گیاه به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس درون خشک‌کن قرار داده شدند. سپس وزن خشک ریشه و اندام هوایی تعیین شد. نمونه‌های گیاهی خشک شده، آسیاب شدند و با روش میکروفر (EPA Method 3051) هضم شدند (۱). نیم گرم از پودر خشک نمونه‌ها درون لوله‌های مخصوص میکروفر (CEM Corp., Matthews, NC) XP 1500 plus Teflon-PFA قرار داده شد و ۵ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ، ۲ میلی لیتر آب اکسیژنه و ۲ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر شده به آن افزوده گردید. بعد از هضم نمونه‌های گیاهی در داخل میکروفر، محلول هضم شده از کاغذ صافی واتمن (شماره ۴۲) عبور داده شد و با استفاده از آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. غلظت عنصر روی عصاره‌های گیاهی به وسیله دستگاه جذب اتمی پرکین المر مدل AA200 اندازه‌گیری شد.

جدول ۲. ویژگی‌های اسیدهای کربوکسیلیک مورد استفاده (شرکت تولیدکننده: Merck)

نام تجاری اسید	فرمول شیمیایی	جرم مولکولی (گرم بر مول)	ساختار مولکولی
اسید سیتریک	$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$	۲۱۰/۱۴	
اسید تارتاریک	$C_4H_6O_6$	۱۵۰/۰۸۷	
اسید اگزالیک	$C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$	۱۲۶/۰۷	
اسید سالیسیلیک	$C_6H_4(OH)COOH$	۱۳۸/۱۲	
مونوهیدروکسی بنزوئیک اسید			
پلی آمینو کربوکسیلیک اسید	$C_{10}H_{16}N_2O_8$	۳۷۲/۲۴	
ال-متیونین	$C_5H_{11}NO_2S$	۱۲۱/۱۶	
اسید آمینه غیر قطبی			

حسب دقیقه، c ضریب تصحیح آنزیم کاتالاز (۱۰۰۰۰ × ۴/۳۹)، v حجم کوئت بر حسب لیتر و m وزن ریشه بر حسب گرم می‌باشد. فعالیت نهایی گونه‌های مختلف فلزی موجود در محلول غذایی، با استفاده از مدل رایانه‌ای MINTQA2 (۳) پیش‌بینی شد (جدول ۳). همبستگی بین فعالیت گونه‌های آزاد یا کمپلکسی روی و صفات اندازه‌گیری شده بررسی شد و صفاتی که ضریب تبیین (R^2) بیشتری داشتند بیان شدند. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه آماری شد.

نتایج و بحث

عملکرد وزن خشک ریشه و اندام هوایی

بیشترین و کمترین وزن خشک ریشه رقم کویر به ترتیب در حضور تیمارهای EDTA و اسید تارتاریک مشاهده شد. در حالی که رقم بکراس روشن بیشترین و کمترین وزن خشک ریشه را

جهت تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه از روش کم‌کمک و مارشور (۱۱) استفاده شد. به این منظور، ۰/۲۵ گرم ریشه تازه از هر تیمار با ۱ میلی‌لیتر بافر ۱٪ ترایتون همگن شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ g قرار داده شد. سپس محلول صاف رویی جدا شده و در ظرف دیگری قرار داده شد. صد میکرولیتر از این محلول را با ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات حاوی آب اکسیژنه مخلوط کرده و شدت جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در این محلول توسط دستگاه طیف‌سنج در زمان‌های صفر و ۷۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$[1] \quad = (\Delta abc \div t) \times c \times v \times (1 \div m) \times 10^6$$

(میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن مرطوب) فعالیت آنزیم کاتالاز که Δabc اختلاف شدت جذب طول موج ۲۴۰ نانومتر در نمونه در زمان‌های صفر و ۷۰ ثانیه، t زمان قرائت جذب دوم بر

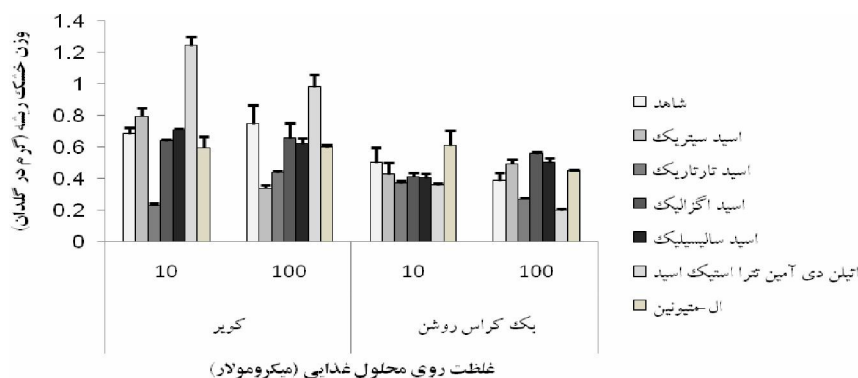
جدول ۳. لگاریتم منفی (-log) فعالیت گونه‌های غالب روی در محلول غذایی تیمارهای مختلف پیش‌بینی شده با نرم افزار MInteqa2

تیمار								گونه‌های مختلف روی
Zn ₂ E	Zn ₂ O	Zn ₂ T	Zn ₂ C	Zn ₁ E	Zn ₁ O	Zn ₁ T	Zn ₁ C	
۸/۹۸	۴/۵۸	۴/۳۱	۴/۶۱	۱۰/۱۲	۵/۶۵	۵/۳۱	۵/۶۶	Zn ²⁺
-	-	-	۴/۲۶	-	-	-	۵/۲۳	Zn-Citrate ⁻
-	-	-	۸/۵۹	-	-	-	۹/۴۹	Zn(Citrate) ₂ ⁴⁻
-	-	-	۵/۵۸	-	-	-	۶/۵۵	ZnH-Citrate
-	-	۴/۶۱	-	-	-	۵/۵۹	-	Zn-Tartarate
-	-	۶/۲۹	-	-	-	۷/۲۵	-	Zn (Tartarate) ₂ ²⁻
-	-	۷/۶۳	-	-	-	۸/۶۱	-	ZnH-Tartarate ⁺
-	۵/۹۳	-	-	-	۶/۷۹	-	-	Zn (Oxalate) ₂ ²⁻
-	۴/۲۳	-	-	-	۹/۱۴	-	-	Zn-Oxalate
۴/۱۸	-	-	-	۵/۱۸	-	-	-	Zn-EDTA ²⁻
۶/۲۵	-	-	-	۷/۲۵	-	-	-	ZnH-EDTA ⁻
-	-	-	-	۱۱/۹۱	-	-	-	ZnOH-EDTA
۱۰/۳۵	-	-	-	-	-	-	-	ZnH ₂ -EDTA
۱۰/۹۲	-	-	-	-	-	-	-	ZnO-EDTA

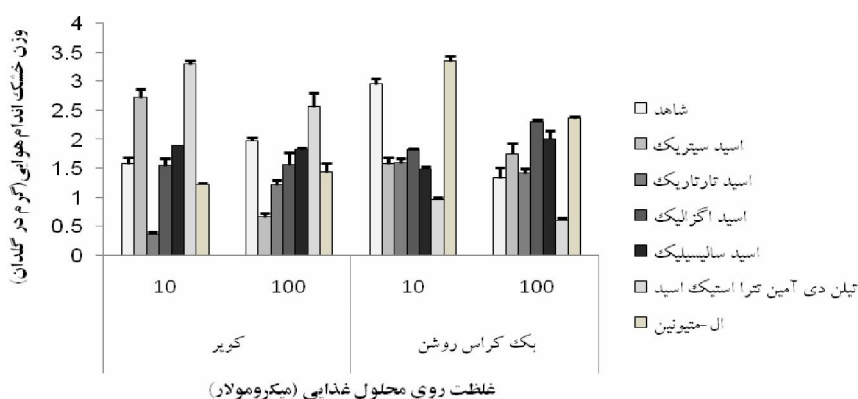
Zn₂ و Zn₁ به ترتیب سطوح ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار روی و C، T، O و E به ترتیب تیمارهای ۵۰۰ میکرومولار اسید سیتریک، تارتاریک، اگزالیک و EDTA است.

کرد که گیاهان برای جذب و انتقال کلات‌ها، انرژی صرف می‌کنند و همین امر سبب کاهش رشد ریشه و اندام هوایی آنها می‌شود. دکوک و میشل (۱۵) گزارش کردند که با افزایش بار کمپلکس، جذب یون‌های فلزی توسط گیاه کاهش می‌یابد. افزایش غلظت روی از ۱۰ به ۱۰۰ میکرومولار در تیمار شاهد (بدون حضور کلات‌های آلی) در رقم کویر سبب افزایش ولی در رقم بک‌کراس روشن سبب کاهش عملکرد وزن خشک اندام هوایی شد. کارلن (۲۵) و لئراگان (۲۹) بیان داشتند که در غلظت کمتر روی، نسبت رشد ریشه به رشد کل گیاه بیشتر است. ولی با افزایش غلظت روی در محلول غذایی و افزایش رشد اندام هوایی، نسبت رشد ریشه به کل گیاه کاهش می‌یابد. در هر دو رقم گندم، افزایش غلظت روی سبب کاهش در بیشترین مقادیر عملکرد (تیمارهای EDTA و اسید سیتریک در رقم کویر و تیمارهای شاهد و ال-متیونین در بک‌کراس

به ترتیب در تیمارهای ال-متیونین و EDTA داشت (شکل ۱). بیشترین و کمترین عملکرد وزن خشک اندام هوایی رقم کویر به ترتیب مربوط به تیمارهای EDTA و اسید تارتاریک بود. در حالی که در رقم بک‌کراس روشن، بیشترین و کمترین وزن خشک اندام هوایی به ترتیب در حضور ال-متیونین و EDTA مشاهده شد (شکل ۲)، که با توجه به نقش ال-متیونین به عنوان پیش‌ساز هورمون اتیلن (هورمون افزایش‌دهنده رشد) و توانایی این رقم در جذب گونه‌های کمپلکسی سبک‌تر (جرم مولکولی ال-متیونین ۱۲۱/۱۶ گرم بر مول در برابر جرم مولکولی EDTA ۳۷۲/۲۴) (جدول ۲) منطقی به نظر می‌رسد. هم‌چنین در این رقم، کمترین عملکرد وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار EDTA بود که با توجه به جرم مولکولی زیاد این لیگاند و داشتن ۴ بار منفی، جذب نیاز به صرف انرژی داشته و عملکرد کاهش می‌یابد. رنگل (۳۴) بیان



شکل ۱. تأثیر کاربرد اسیدهای آلی مختلف و سطوح متفاوت روی بر عملکرد وزن خشک ریشه (گرم در گلدان) دو رقم گندم



شکل ۲. تأثیر کاربرد اسیدهای آلی مختلف و سطوح متفاوت روی بر عملکرد وزن خشک اندام هوایی (گرم در گلدان) دو رقم گندم

میکرومولار EDTA، وزن خشک ریشه و به ویژه اندام هوایی کمتری نسبت به گیاهان رشد کرده در تیمار فاقد EDTA داشتند. نیز در بررسی دو رقم گندم در خاک مشاهده کردند وزن خشک اندام هوایی و جذب روی به علت تفاوت در ترشح اسید مالئیک بین دو رقم متفاوت بود.

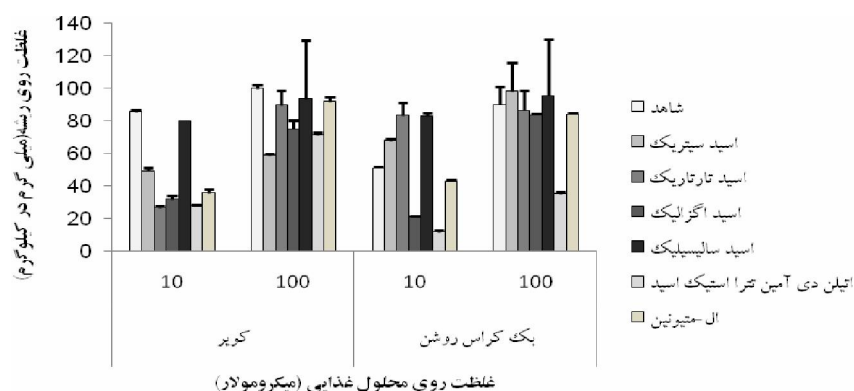
غلظت روی ریشه

در هر دو رقم کویر و بک کراس روشن، افزایش غلظت روی از ۱۰ به ۱۰۰ میکرومولار، سبب افزایش غلظت روی ریشه شد (شکل ۳).

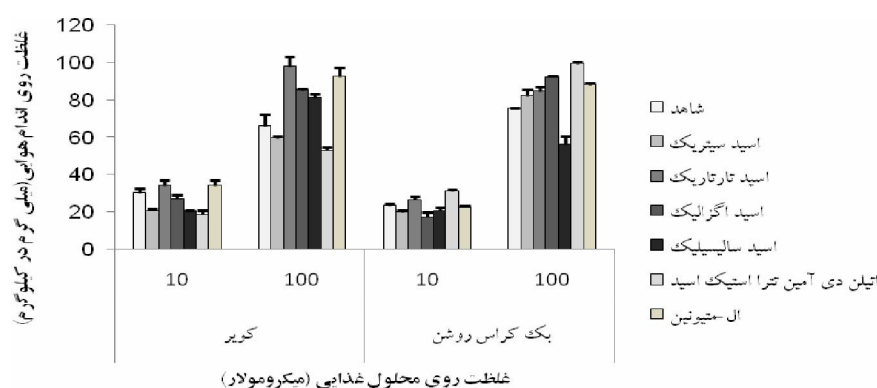
بیشترین و کمترین غلظت روی ریشه رقم کویر به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و اسید تارتاریک و در رقم بک کراس روشن به ترتیب مربوط به شاهد و EDTA بود (شکل ۳).

روشن) شد. بنابراین، احتمالاً سطح ۱۰۰ میکرومولار روی باعث سبب ایجاد سمیت و افت عملکرد در هر دو رقم شده است. ولی افت عملکرد در رقم بک کراس روشن مشهودتر بود، که احتمالاً به دلیل کارایی مصرف بهتر این رقم نسبت به رقم کویر بوده که سبب شده اثر سمیت روی را بیشتر بروز دهد.

تفاوت عملکرد وزن خشک اندام هوایی دو رقم گندم در حضور EDTA احتمالاً به کارایی ارقام مختلف برای جذب گونه‌های مختلف روی مربوط می‌شود. چن و همکاران (۱۳) بیان داشتند که اثر عوامل کلات‌کننده بر جذب اندام هوایی بین گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. رنگل (۳۳) با انجام آزمایشی به منظور بررسی تأثیر کلات EDTA در دو رقم گندم به این نتیجه رسید که گیاهان رشد کرده در تیمار حاوی ۱۰۰



شکل ۳. تأثیر کاربرد اسیدهای آلی مختلف و سطوح متفاوت روی بر غلظت ریشه (میلی گرم در کیلوگرم) دو رقم گندم



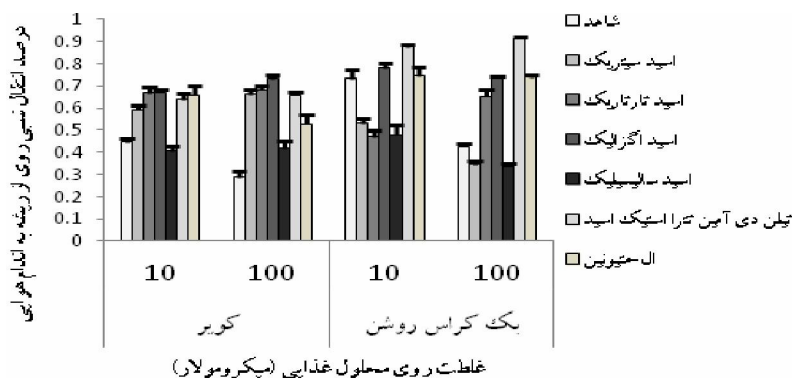
شکل ۴. تأثیر کاربرد اسیدهای آلی مختلف و سطوح متفاوت روی بر غلظت ریشه (میلی گرم در کیلوگرم) دو رقم گندم

غلظت روی اندام هوایی

در هر دو رقم گندم، افزایش غلظت روی از ۱۰ به ۱۰۰ میکرومولار سبب افزایش غلظت روی اندام هوایی در تمامی تیمارهای اسید آلی شد (شکل ۴).

بیشترین و کمترین غلظت روی اندام هوایی در رقم کویر به ترتیب مربوط به اسید تارتاریک و EDTA ولی در رقم بک کر اس روشن به ترتیب مربوط به EDTA و اسید اگزالیک بود (شکل ۴) که احتمالاً اثر رقت سبب این تفاوت نسبت به نتایج وزن خشک اندام هوایی شده است. تیمار EDTA در رقم کویر کمترین و در رقم بک کر اس روشن، بیشترین غلظت روی اندام هوایی را داشت. نتایج رنگل (۳۳) نشان داد که غلظت روی اندام هوایی در رقم ناکارآمد (Durati) نسبت به رقم کارآمد (Aroona) در حضور کمپلکس Zn-HEDTA بیشتر بوده

است. نوک و همکاران (۳۰) افزایش غلظت آهن و روی را در اندام هوایی گندم در حضور EDTA مشاهده کردند. هم چنین آنها بیان کردند که به دلیل بروز اثر رقت اگرچه دانه گیاهان تیمار شده با EDDS در حین تشکیل گل، آهن و روی بیشتری جذب کردند، ولی مقدار محصول آنها کاهش یافت. تندی و همکاران (۳۹) نیز مشاهده کردند تیمارهای EDTA و EDDS غلظت آهن و روی اندام هوایی را افزایش دادند و بیان کردند این موضوع همراه با جذب معنی دار عوامل کلات کننده بود. شواهد زیادی وجود دارد که نشان می دهد عوامل کلات کننده جذب اندام هوایی شده و جذب فلزاتی که در حالت عادی به مقدار زیاد جذب نمی شوند مانند سرب را تسهیل می کنند، که از آن جمله می توان به یافته های واسیل و همکاران (۴۲)، کولینز و همکاران (۱۴) و شاید و همکاران (۳۶) اشاره کرد.



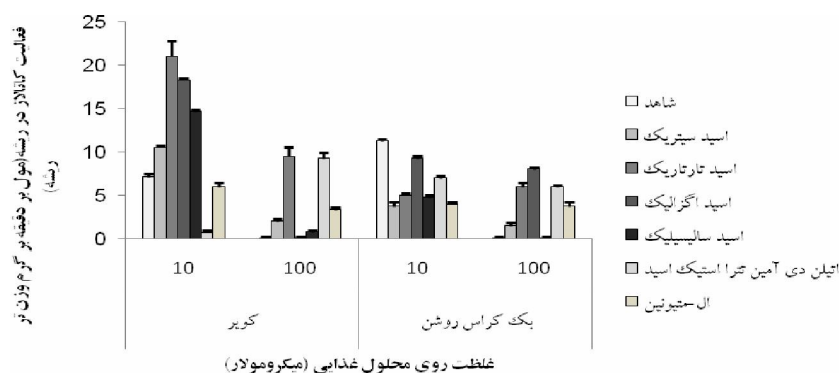
شکل ۵. تأثیر کاربرد اسیدهای آلی مختلف و سطوح متفاوت روی بر انتقال نسبی ریشه به اندام هوایی (%). دو رقم گندم

انتقال نسبی روی از ریشه به اندام هوایی

تأثیر کاربرد اسیدهای آلی مختلف و سطوح متفاوت روی نشان داد که در هر دو سطح ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار روی، در رقم کویر، کاربرد اسیدهای آلی (به غیر از اسید سالیسیک در سطح ۱۰ میکرومولار روی) موجب افزایش انتقال نسبی روی از ریشه به اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد شد. تیمار اسید آگزالیک در سطح ۱۰۰ میکرومولار روی بیشترین و تیمار شاهد در سطح ۱۰۰ میکرومولار روی کمترین تأثیر را در انتقال روی از ریشه به اندام هوایی داشتند (شکل ۵). در حالی که در رقم بک کراس روشن، تنها کاربرد اسید آگزالیک، EDTA و آل- متیونین در سطح ۱۰ میکرومولار روی موجب افزایش انتقال روی از ریشه به اندام هوایی شد. در سطح ۱۰۰ میکرومولار روی، در این رقم، تمامی تیمارها به غیر از اسید سالیسیلیک و اسید سیتریک، انتقال نسبی روی از ریشه به اندام هوایی را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. بیشترین و کمترین درصد انتقال روی از ریشه به اندام هوایی رقم بک کراس روشن به ترتیب در حضور EDTA و اسید سالیسیلیک مشاهده شد (شکل ۵).

غلظت روی در اندام هوایی تحت تأثیر غلظت روی در ریشه و درصد انتقال روی از ریشه به اندام هوایی در هر تیمار بود. به عنوان مثال، در سطح ۱۰ میکرومولار روی در ریشه رقم کویر، غلظت روی در حضور اسید سالیسیلیک بیشینه بود. ولی به دلیل این که اسید سالیسیلیک کمترین درصد انتقال نسبی روی از ریشه به اندام هوایی را داشت، کمترین غلظت روی

اندام هوایی در حضور این تیمار مشاهده شد. احتمالاً اسید سالیسیلیک بهتر از همه تیمارها توانسته سرعت پخشیدگی روی از محلول غذایی به سطوح جذب ریشه که مرحله کندکننده جذب است، را برای رقم ناکارای کویر افزایش دهد؛ ولی به خودی خود نتوانسته جذب ریشه شود. وانگ و همکاران (۴۳) در آزمایشی آبکشت، با بررسی اثر کمپلکس‌های مختلف روی بر گیاه گندم از دو ترکیب EDTA و NTA استفاده کردند و جذب فیزیکی (پخشیدگی)، شیمیایی (سرعت تفکیک کمپلکس‌های فلز) و بیولوژیک (انتقال) را در نبود و حضور لیگاند با استفاده از دو مدل FALM (تعیین فعالیت یون آزاد) و BLM (تعیین لیگاند زیستی) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که جذب روی در حضور لیگاند به طور معنی‌داری افزایش یافت و میزان افزایش، با افزایش سرعت تفکیک کمپلکس افزوده شد، که علت را افزایش سرعت پخشیدگی یون آزاد روی به سطح ریشه در حضور لیگاند دانستند. هم‌چنین، غلظت روی در ریشه کویر در حضور اسید تارتاریک از همه کمتر بود. ولی بیشینه بودن درصد انتقال نسبی منجر به بیشینه شدن غلظت روی اندام هوایی در حضور این تیمار شد. احتمالاً مقادیر کم روی ریشه در این تیمار سبب کاهش وزن خشک ریشه شده و برای انتقال زیاد روی در حضور این تیمار نیز انرژی زیادی صرف شده است. بنابراین انتظار می‌رود علی‌رغم غلظت زیاد روی اندام هوایی رقم کویر در این تیمار، وزن خشک اندام هوایی کاهش یابد و از طرفی

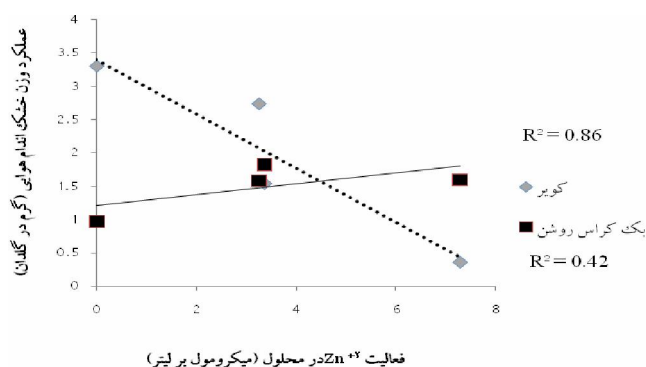


شکل ۶. تأثیر کاربرد اسیدهای آلی مختلف و سطوح متفاوت روی بر فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه (مول بر دقیقه بر گرم تر ریشه)

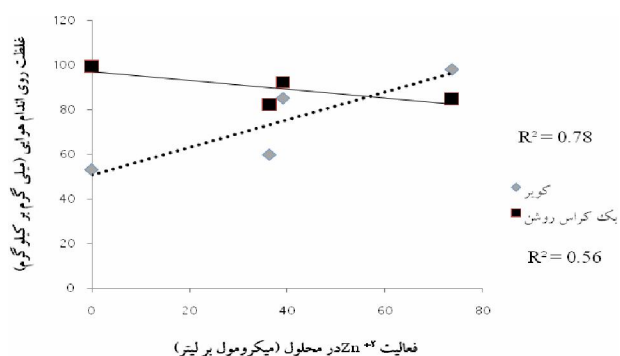
جدول ۴. فعالیت گونه‌های مختلف روی در محلول غذایی حاوی ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار روی و برخی اسیدهای آلی پیش بینی شده با نرم‌افزار Minteqa2

اسیدهای آلی	یون آزاد روی (Zn^{2+}) (مول بر لیتر)		$(Zn-L)^n$ (مول بر لیتر)	
	۱۰ میکرومولار	۱۰۰ میکرومولار	۱۰ میکرومولار	۱۰۰ میکرومولار
اسید سیتریک	$3/25 \times 10^{-6}$	$3/64 \times 10^{-5}$	$6/42 \times 10^{-6}$	$6/05 \times 10^{-5}$
اسید تارتاریک	$7/28 \times 10^{-6}$	$7/38 \times 10^{-5}$	$2/54 \times 10^{-6}$	$2/45 \times 10^{-5}$
اسید اگزالیک	$3/36 \times 10^{-6}$	$3/92 \times 10^{-5}$	$7/92 \times 10^{-10}$	$5/85 \times 10^{-5}$
اتیلن دی آمین تترا استیک اسید	$1/14 \times 10^{-10}$	$1/56 \times 10^{-9}$	$9/94 \times 10^{-6}$	$9/94 \times 10^{-5}$

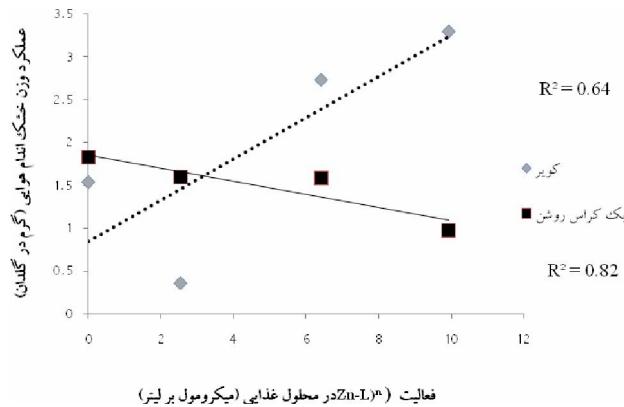
L لیگاند و n بار کمپلکس است که برای اسید تارتاریک و اسید اگزالیک صفر، برای اسید سیتریک، ۱- و برای EDTA، ۲- است.



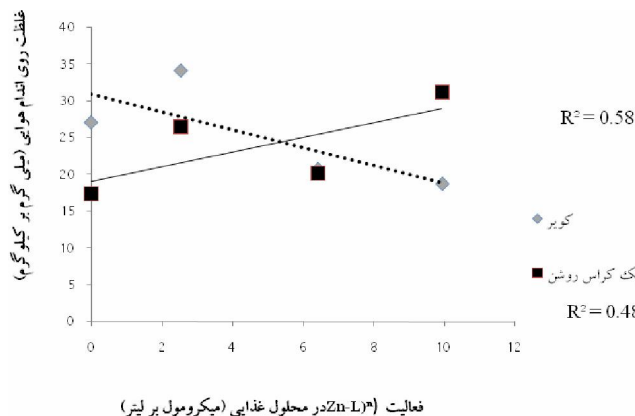
شکل ۷. همبستگی بین فعالیت یون آزاد روی (Zn^{2+}) و عملکرد وزن خشک اندام هوایی دو رقم گندم در محلول حاوی ۱۰ میکرومولار روی



شکل ۸. همبستگی بین فعالیت یون آزاد روی (Zn^{2+}) و غلظت روی اندام هوایی دو رقم گندم در محلول حاوی ۱۰۰ میکرومولار روی



شکل ۹. همبستگی بین فعالیت کمپلکس روی-کلات و عملکرد وزن خشک اندام هوایی دو رقم گندم در محلول حاوی ۱۰ میکرومولار روی. n بار کمپلکس است که برای اسید اگزالیك و اسید تارتاریك صفر، برای اسید سیتريك ۱- و برای EDTA برابر ۲- است.



شکل ۱۰. همبستگی بین فعالیت کمپلکس روی-کلات و غلظت روی اندام هوایی دو رقم گندم در محلول حاوی ۱۰ میکرومولار روی. n بار کمپلکس است که برای اسید اگزالیك و اسید تارتاریك صفر، برای اسید سیتريك ۱- و برای EDTA برابر ۲- است.

این موضوع را می‌توان به تولید آنزیم کاتالاز در شرایط تنش نسبت داد.

نتیجه‌گیری

پاسخ ارقام گندم از لحاظ رشد رویشی و جذب گونه‌های آزاد و کمپلکسی روی (جدول ۴) کاملاً متفاوت بود (شکل‌های ۱۰-۷)، که احتمالاً به فیزیولوژی متفاوت دو رقم مربوط می‌شود. نوع اسیدهای آلی موجود در مسیرهای حرکت عناصر (آپوپلاسمی، سیمپلاسمی و آوندها) و ترشح شده از ریشه و نوع و شکل توسعه ریشه‌های ارقام گندم متفاوت بوده است. رقم بک‌کراس روشن (روی-کارا) علاوه بر جذب Zn^{2+} ، توانایی جذب

کم بودن وزن خشک اندام هوایی نیز سبب بیشینه شدن غلظت روی اندام هوایی به دلیل اثر رقت شود. نتیجه مشابه در مورد تیمار EDTA در رقم بک‌کراس روشن، در هر دو سطح ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار روی مشاهده شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه

بیشترین و کمترین فعالیت کاتالاز در ریشه کوبیر به ترتیب مربوط به اسید تارتاریك و شاهد بود. در حالی که در بک‌کراس روشن، به ترتیب مربوط به شاهد و اسید سالیسیلیك بود (شکل ۶). در هر دو رقم، فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه با غلظت روی ریشه رابطه عکس داشت، که

گونه‌های لیگاندی روی را نیز دارد. لذا، گونه‌های کمپلکسی با اندازه مولکولی کوچکتر که قادر به عبور از این مسیرها هستند (مانند روی-اسید تارتاریک و روی-ال متیونین) را جذب کرده و از این طریق زیست‌توده هوایی خود را گسترش داده است. رقم کویر (روی-ناکارا) احتمالاً راهکار ویژه‌ای برای جذب روی ندارد و برای جذب کلاتی موفق‌تر بوده که بتواند در برابر رسوب یا واکنش روی با سایر عوامل، مانع پایداری باشد (EDTA به دلیل وجود ۴ بار منفی). از طرفی، ممکن است در تیمار EDTA، نیاز شدید رقم کویر به روی و کمبود Zn^{2+} در محلول، شیب غلظت شدیدی ایجاد کند که گونه کمپلکسی را وادار به تفکیک کند.

منابع مورد استفاده

۱. خان محمدی، ز.، ا. م. خوشگفتارمنش و ا. مللی. ۱۳۸۹. روش‌های تجزیه گیاه. انتشارات جهاد دانشگاهی، واحد صنعتی اصفهان.
۲. مشیری، ف.، م. معز اردلان، م. م. طهرانی و غ. ثوابی. ۱۳۸۹. کارایی روی در ارقام مختلف گندم در یک خاک آهکی دچار کمبود روی. مجله آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۴(۱): ۱۴۵-۱۵۳.
3. Allison, J.D., D.S. Brown and K.J. Novo-Gradac. 1991. MINTEQA2/ PRODEFA2, A geochemical assessment model for environmental systems: Ver. 3.0 User's manual. Environ. Res. Lab., US Environmental Protection Agency, Athens, GA.
4. Baize, D., L. Bellanger and R. Tomassone. 2009. Relationships between concentrations of trace metals in wheat grains and soil. *Agron. Sustain. Dev.* 29: 297-312.
5. Behl, R.K., M. Osaki, J. Wasaki, T. Watanabe and T. Shinano. 2003. Breeding wheat for zinc efficiency improvement in semi-arid climate: A review. *TROP.* 12: 295-312.
6. Bell, P.F., M.J. McLaughlin, G. Cozens, D.P. Stevens, G. Owens and H. South. 2003. Plant uptake of ^{14}C -EDTA, ^{14}C -citrate, and ^{14}C -histidine from chelator-buffered and conventional hydroponic solutions. *Plant Soil.* 253: 311-319.
7. Berkelaar, E. and B.A. Hale. 2003. Accumulation of cadmium by durum wheat roots: Bases for citrate-mediated exceptions to the free ion model. *Environ. Sci. Technol.* 22: 1155-1161.
8. Bouis, H. 1996. Enrichment of food staples through plant breeding: A new strategy for fighting micronutrient malnutrition. *Nutr. Rev.* 54: 131-137.
9. Cakmak, I., A. Yilmaz and M. Kalayci. 1996. Zinc deficiency as a critical problem in wheat production in Central Anatolia. *Plant Soil* 180: 165-172.
10. Cakmak, I., B. Erenoglu, K. Y. Gülüt, R. Derici and V. Römhild. 1998. Light-mediated release of phytosiderophores in wheat and barley under iron or zinc deficiency. *Plant Soil.* 202: 309-315.
11. Cakmak, I. and H. Marschner. 1993. Effect of zinc nutritional status on activities of superoxide radical and hydrogen peroxide scavenging enzymes in bean leaves. *Plant Soil.* 156: 127-130.
12. Cakmak, I., M. Kalayci, H. Ekiz, H. J. Braun, Y. Kilinc and A. Yilmaz. 1999. Zinc deficiency as a practical problem in plant and human nutrition in Turkey: A NATO-science for stability project. *Field Crops Res.* 60: 175-188.
13. Chen, Y.X., Q., Lin, Y.M., Luo, Y.F., He, S.J., Zhen, Y.L., Yu, G.M. Tian and M.H. Wang. 2003. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Chemosphere.* 50: 807-811.
14. Collins, R.N., G. Merrington, M.J. McLaughlin and C. Kundsén. 2002. Uptake of intact zinc-ethylene-diaminetetraacetic acid from soil is dependent on plant species and complex concentration. *Environ. Sci. Technol.* 21: 1940-1945.
15. Dekock, P.C. and R.L. Mitcheli. 1957. Uptake of chelated metals by plants. *Soil Sci.* 84: 55-62.
16. Drever, J.I. and L.L. Stillings. 1997. The role of organic acids in mineral weathering. *Colloids Surf. A* 120: 167-181.
17. Fox, T.R. 1995. The influence of low-molecular-weight organic acids on properties and processes in forest soils. PP. 43-62. *In:* McFee, W.W. and J.M. Kelly (Eds.), Carbon Forms and Functions in Forest Soils, Soil Sci. Soc. Am., Madison, WI.
18. Frossard, E., M. Bucher, F. Machler, A. Mozafar and R. Hurrell. 2000. Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn and Ca in plants for human nutrition: Review. *J. Sci. Food Agric.* 80: 861-879.
19. Gibson, R.S. 2006. Zinc, the missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. *Proc. of the Nutr. Soc.* 65: 51-60.
20. Graham, R.D. and J.S. Marschner. 1992. Selecting zinc-efficient cereal genotypes for soils of low zinc status. *Plant*

- Soil. 146: 241-250.
21. Graham, R.D. and R.M. Welch. 1996. Breeding for Staple-Food Crops with High Micronutrient Density. International Food Policy Research Institute, Washington, D.C.
 22. Halvorson, A.D. and W.L. Lindsay. 1977. The critical Zn^{2+} concentration for corn and the nonabsorption of chelated zinc. Soil Sci. Soc. Am. J. 41: 531-534.
 23. Huang, J.W., J. Chen, W.R. Berti and S.D. Cunningham. 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environ. Sci. Technol. 31: 800-805.
 24. Hue, N.V., G.R. Craddock and F. Adams. 1986. Effect of organic acids on aluminium toxicity in subsoils. Soil Sci. Soc. Am. J. 50: 28-34.
 25. Karlen, D.L., G.E., Varvel, D.G. Bullock and R.M. Cruse. 1994. Crop rotations for the 21st century. Adv. Agron. 53: 1-45.
 26. Khoshgoftarmanesh, A.H., H. Shariatmadari, N. Karimian, M. Kalbasi and M.R. Khajehpour. 2004. Zinc efficiency of wheat cultivars grown on a saline calcareous soil. J. Plant Nutr. 27: 1953-1962.
 27. Khoshgoftarmanesh, A.H., H. Sadrarhami, R. Sharifi, D. Afyuni and R. Schulin. 2009. Selecting zinc-efficient wheat genotypes with high grain yield using a stress tolerance index. Agron. J. 101: 1409-1416.
 28. Laurie, S.H., N.P. Tancock, S.P. McGrath and J.R. Sanders. 1991. Influence of complexation on the uptake by plants of iron, manganese, copper and zinc. J. Exp. Bot. 42: 509-513.
 29. Loneragan, J.F., G.J. Krik and M.J. Webb. 1987. Translocation and function of Zn in roots. J. Plant Nutr. 10: 1247-1254.
 30. Nowack, B., R. Schulin and B.H. Robinson. 2006. A critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction. Environ. Sci. Technol. 40: 5225-5232.
 31. Peck, N., D.L. Grunes, R.M. Welch and G.E. MacDonald. 1980. Nutritional quality of vegetable crops as affected by phosphorus and zinc fertilizers. Agron. J. 72: 528-534.
 32. Pohlman, A.A. and J.G. McColl. 1988. Soluble organics from forest litter and their role in metal dissolution. Soil Sci. Soc. Am. J. 52: 265-271.
 33. Rengel, Z. 2002. Chelator EDTA in nutrient solution decreases growth of wheat. J. Plant Nutr. 25 (8): 1709-1725.
 34. Rengel, Z., G.D. Batten. and D.E. Crowley. 1999. Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portions of field crops. Field Crops Res. 60: 27-40.
 35. Ryan, M.H., J.K. McInerney, I.R. Record and J.F. Angus. 2008. Zinc bioavailability in wheat grain in relation to phosphorus fertilizer, crop sequence and mycorrhizal fungi. J. Sci. Food Agric. 88: 1208-1216.
 36. Schaidler, L.A., D.R. Parker and D.L. Sedlak. 2006. Uptake of EDTA-complexed Pb, Cd and Fe by solution- and sand-cultured *Brassica juncea*. Plant Soil. 287: 377-391.
 37. Singh, B., S.K.A. Natesan, B.K. Singh and K. Usha. 2005. Improving zinc efficiency of cereals under zinc deficiency. Current Sci. 88: 36-44.
 38. Smith, R.M., A.E. Martell and R.J. Motekaitis. 1998. Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes. NIST Standard Reference Database 46 Version 5.0, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg.
 39. Tandy, S., R. Schulin and B. Nowack. 2006a. Uptake of metals during chelant-assisted phytoextraction with EDDS related to the solubilized metal concentration. Environ. Sci. Technol. 40: 2753-2758.
 40. Tandy, S., R. Schulin and B. Nowack. 2006b. The influence of EDDS on the uptake of heavy metals in hydroponically grown sunflowers. Chemosphere. 62: 1454-1463.
 41. Tanton, T.W. and S.H. Crowdy. 1972. Water pathways in higher plants. II. Water pathways in roots. J. Exp. Bot. 23: 600-618.
 42. Vassil, A.D., Y., Kapulnik, I. Raskin and D.E. Salt. 1998. The role of EDTA in lead transport and accumulation by mustard. Plant Physiol. 117: 447-453.
 43. Wang, P., D.M. Zhou, X.S. Luo and L.Z. Li. 2008. Effect of Zn-complexes on zinc uptake by wheat (*Triticum aestivum*) roots: a comprehensive consideration of physical, chemical and biological processes on biouptake. Plant Soil. 316: 177-192.
 44. Welch, R.M. 2002. The impact of mineral nutrients in food crops on global human health. Plant Soil. 247: 83-90.
 45. White, J.G. and R.J. Zasoski. 1999. Mapping soil micronutrients. Field Crops Res. 60: 11-26.