تأثیر کلات آهن نانو بر غلظت عناصر غذایی کم‌مصرف، رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ و عملکرد کاهو (*Lactuca sativa* L.) در کشت بدون خاک

صبا میرزاییان دهکردی[1]، شهرام کیانی* و علیرضا حسین‌پور

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۹)

چکیده

سکوسترین ۱۳۸ آهن یکی از رایج‌ترین کودهایی است که به‌عنوان منبع آهن در کشت‌های بدون خاک مورد استفاده می‌گیرد اما به‌دلیل قیمت زیاد منجر به افزایش هزینه تولید می‌شود. این پژوهش به‌منظور بررسی اثر کلات آهن نانو (حاوی آهن، روی و منگنز) بر غلظت عناصر کم‌مصرف، رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ و عملکرد دو رقم کاهو در مقایسه با سکوسترین ۱۳۸ آهن به‌صورت کشت بدون خاک انجام شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل تیمار کودی آهن و نوع رقم کاهو (ترسا و کالیفرنیا) در سه تکرار در دانشگاه شهرکرد انجام شد. بوته‌های کاهو با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن در محلول غذایی از کودهای سکوسترین ۱۳۸ آهن و کلات آهن نانو با فرض تأمین و یا عدم تأمین روی و منگنز مورد نیاز گیاه توسط کلات آهن نانو تغذیه شدند. نتایج نشان داد بین کلروفیل کل برگ، کاروتنوئید برگ، وزن تازه ریشه و بخش هوایی و غلظت آهن بخش هوایی در گیاهان کاهوی تغذیه شده با غلظت ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از هر دو منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین روی و منگنز) و سکوسترین ۱۳۸ آهن تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. بیش‌ترین وزن تازه بخش هوایی کاهو (۴۳۶ گرم بر گیاه) با کاربرد ۴۰ میکرومول بر لیتر از سکوسترین ۱۳۸ آهن حاصل شد که با مقدار آن (۳۸۷ گرم بر گیاه) در اثر کاربرد همین غلظت از منبع کلات آهن نانو تفاوت معنی‌داری نداشت. براساس نتایج، کلات آهن نانو می‌تواند یک جایگزین مناسب برای سکوسترین ۱۳۸ آهن در کشت هیدروپونیک کاهو باشد، اگرچه هنوز پژوهش‌های بیش‌تری برای ارزیابی دقیق خطر بالقوه آن برای محیط زیست و امنیت غذایی مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: ارقام کاهو، سکوسترین ۱۳۸ آهن، کلروفیل برگ، محلول غذایی

مقدمه

آهن از جمله عناصر کم‌مصرف گیاه است که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک حضور دارد. آهن در فرآیندهای فتوسنتزی مانند تشکیل کلروفیل، سیتوکروم‌ها و فرودکسین‌ها نقش داشته و در آسیمیلاسیون (جذب و ساخت) نیتروژن شامل تثبیت نیتروژن مولکولی (آنزیم نیتروژناز) و آسیمیلاسیون نیترات (آنزیم‌های نیترات ردوکتاز و نیتریت ردوکتاز) ایفای وظیفه می‌کند. آهن همچنین برای ساخت پروتئین‌ها و تکوین کلروپلاست‌ها در گیاه مهم است (۲۱).

در محلول‌های غذایی مورد استفاده در کشت‌های

۱- گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: shkiani2002@yahoo.com

هیدروپونیک به‌منظور حفظ حلالیت آهن در محلول غذایی، از کلات‌کننده‌های مصنوعی مانند Fe-EDTA، Fe-DTPA و Fe-EDDHA استفاده می‌شود. پژوهش‌های انجام شده حاکی از آن است که کاربرد این کلات‌های مصنوعی می‌تواند منجر به کاهش فراهمی دیگر عناصر کم‌مصرف مانند روی، مس و منگنز در محلول غذایی شود. از طرف دیگر کلات‌های فوق نسبت به تجزیه نوری حساس بوده و تجزیه آن‌ها علاوه بر تولید ترکیبات مضر برای رشد گیاه منجر به کاهش فراهمی آهن برای گیاه می‌شود (۱ و ۳۵). قیمت زیاد و نقش آن در افزایش هزینه سبد کودهای شیمیایی مصرفی در کشت‌های هیدروپونیک از دیگر دلایلی است که استفاده از این کودها را با تردید مواجه می‌سازد.

برای افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی و غلبه بر مشکلات موجود، نانوکودها ممکن است بهترین گزینه موجود باشند. نانوکودها به‌منظور تنظیم رهاسازی عناصر غذایی بسته به مقدار نیاز گیاهی ساخته شده و گزارش‌های موجود حاکی از آن است که کارایی آن‌ها در مقایسه با کودهای معمول مورد استفاده در بخش کشاورزی بیش‌تر است (۱۷). نانوکودها با آزادسازی انتخابی عناصر غذایی در طول زمان و یا برحسب شرایط محیطی در کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی نقش مؤثری دارند. نانوکودهای کندرها با قابلیت کنترل رهاسازی عناصر غذایی همچنین در بهبود کیفیت خاک از طریق کاهش آثار مخرب ناشی از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی مؤثر هستند (۳۳). در سال‌های اخیر استفاده از نانوکپسول‌های حاوی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه با قابلیت رهاسازی آرام به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته است (۸).

منظری توکلی و همکاران (۲۰) با بررسی مقایسه کارایی منابع مختلف آهن بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک کاهو در شرایط کشت بدون خاک بیان کردند که در سطح صفر بی‌کربنات بین دو کود سکوسترین ۱۳۸ آهن و کلات آهن نانو از نظر غلظت آهن بخش هوایی و ریشه، غلظت روی ریشه، میزان کلروفیل a و کلروفیل b برگ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. پیوندی و همکاران (۲۷) با مقایسه تأثیر نانوکلات آهن و سکوسترین ۱۳۸ آهن بر رشد گیاه ریحان بیان کردند بیش‌ترین وزن تازه بخش هوایی و ریشه ریحان در اثر کاربرد نانوکود کلات آهن حاصل شده است. روستا و همکاران (۲۹) در پژوهش‌های خود درباره تأثیر کلات آهن نانو، سکوسترین ۱۳۸ آهن و سولفات آهن بر رشد ارقام کاهو بیان کردند بیش‌ترین مقدار وزن تازه و خشک گیاه و وزن تازه ساقه و ریشه در گیاهان تیمار شده با نانوکود کلات آهن در مقایسه با سکوسترین ۱۳۸ آهن و سولفات آهن مشاهده شد. در این راستا آن‌ها بیان کردند بیش‌ترین غلظت آهن برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ و رشد رویشی در گیاهان تیمار شده با کلات آهن نانو مشاهده شد. نتایج پژوهش‌های انجام شده روی اسفناج حاکی از آن است کاربرد نانوذرات اکسید آهن با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر منجر به افزایش معنی‌دار وزن تازه و خشک بخش هوایی و همچنین غلظت آهن در قسمت هوایی اسفناج در مقایسه با نیترات آهن شده است (۱۴). گزارش شده است تأمین مجدد آهن منجر به پاسخ زیست‌توده گیاهی و میزان کلروفیل برگ در گیاهان تنباکو شد اگرچه پاسخ نسبت به کمپلکس آهن نانو (Fe(III)-EDTA) با اندازه ذرات ۲۰ نانومتر نسبت به کلات آهن غیرنانو (Fe(III)-EDTA) به‌ویژه از طریق ریشه سریع‌تر بود. از طرف دیگر گیاهان تأمین مجدد شده با کمپلکس آهن نانو، غلظت آهن کم‌تر، اما کارایی مصرف آهن بیش‌تری نسبت به گیاهان تأمین مجدد شده با کلات آهن غیرنانو داشتند (۵). پژوهش‌های انجام شده در مورد کودهای نانو حاکی از آن است که عناصر موجود در این کودها آزاد شده و پس از جذب توسط گیاه به قسمت‌های هوایی انتقال یافته است (۱۱، ۲۳ و ۲۸). از طرف دیگر در کودهای نانو، زمان و سرعت رهاسازی عناصر غذایی با نیازهای غذایی گیاه هم‌خوانی بیش‌تری داشته و بنابراین گیاه قادر به جذب بیش‌ترین مقدار عناصر غذایی است (۲۴). رهاسازی پایدار غلظت نرمال آهن از منبع نانو از دیگر ویژگی‌های کودهای آهن نانو است که منجر به افزایش رشد

گیاه شده است (۹). بر اساس پژوهش‌های انجام شده تحرک کودهای آهن نانو نسبت به کودهای آهن غیرنانو در آوندهای چوب و آبکش گیاه تنباکو بیش‌تر بوده است (۵). گزارش شده است افزودن نانوذرات اکسیدهای آهن (Fe_2O_3) ممکن است باعث تولید گونه‌های اکسیژن فعال در گیاهان شده که این ترکیبات به‌عنوان یک مولکول پیام‌دهنده باعث تحریک رشد گیاه می‌شوند (۳۰). از طرف دیگر نانوذرات اکسیدهای آهن با تنظیم مقدار هورمون‌های رشدی و ظرفیت آنتی-اکسیدانی گیاه، رشد گیاه بادام زمینی را در کشت گلدانی در یک خاک با بافت شنی بهبود بخشیدند (۳۰). در همین راستا گزارش شده است گیاهان ذرت تیمار شده با نانوذرات اکسیدهای آهن، فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدانی کم‌تری داشتند. این یافته نشان‌دهنده این است که تحت شرایط تنش آهن، کاربرد نانوذرات باعث ایجاد تنش کم‌تری ناشی از اکسیژن فعال در مقایسه با کاربرد Fe-DTPA در ذرت شده است (۹). با توجه به موارد فوق پژوهش حاضر سعی دارد کارایی نانوکود کلاته آهن در مقایسه با سکوسترین ۱۳۸ آهن را بر غلظت عناصر غذایی کم‌مصرف، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ و عملکرد دو رقم کاهو در شرایط کشت بدون خاک مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل تیمار کودی آهن و نوع رقم در سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه شهرکرد روی گیاه کاهو به‌صورت کشت بدون خاک انجام شد. تیمار کودی آهن شامل شش سطح بود که عبارتند از: T_1 – مصرف آهن از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (Fe-EDDHA) به مقدار ۲۰ میکرومول بر لیتر، T_2 – مصرف آهن از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن به مقدار ۴۰ میکرومول بر لیتر (مقدار توصیه شده در فرمولاسیون مورد استفاده برای کشت کاهو)، T_3 – مصرف آهن از منبع کلات آهن نانو (حاوی آهن، روی و منگنز) به مقدار ۲۰ میکرومول بر لیتر (در این تیمار با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز مورد نیاز گیاه توسط کلات آهن نانو، مابقی نیاز گیاه به این دو عنصر از منابع سولفات روی و سولفات منگنز تأمین شد)، T_4 – مصرف آهن از منبع کلات آهن نانو به مقدار ۲۰ میکرومول بر لیتر (در این تیمار با فرض عدم نقش کلات آهن نانو در تأمین منگنز و روی، کل روی و منگنز مورد نیاز از منابع سولفات روی و سولفات منگنز تأمین شد)، T_5 – مصرف آهن از منبع کلات آهن نانو به مقدار ۴۰ میکرومول بر لیتر (تأمین روی و منگنز مورد نیاز گیاه مشابه تیمار سوم بود)، و T_6 – مصرف آهن از منبع کلات آهن نانو به مقدار ۴۰ میکرومول بر لیتر (تأمین روی و منگنز مورد نیاز گیاه مشابه تیمار چهارم بود). لازم به ذکر است کلات آهن نانو از شرکت خضرا تهیه شد. این کود دارای ۹ درصد آهن محلول در آب بوده و قابلیت مصرف به‌صورت خاکی، تغذیه برگی و کود-آبیاری را دارد. از طرف دیگر این کود حاوی ۰/۹۲ درصد روی، ۰/۹۶ درصد منگنز، ۹/۵ درصد گوگرد و ۹/۹ درصد سدیم است. از آنجایی که بر اساس گزارش شرکت سازنده این کود جزو کودهای کندرها بوده و از طرف دیگر کارایی این کود در تأمین روی و منگنز گیاه در پژوهش‌های انجام شده مورد بررسی قرار نگرفته بود بنابراین در چیدمان تیمارها طوری عمل شد تا کارایی این کود در تأمین روی و منگنز مورد نیاز گیاه مورد سنجش قرار گیرد. از طرف دیگر با توجه به پاسخ متفاوت ارقام مختلف کاهو نسبت به کودهای مختلف آهن محلول غذایی (روستا و همکاران، ۲۰۱۵) از دو رقم ترسا[1] و کالیفرنیا[2] استفاده شد. به‌منظور اجرای آزمایش بذرهای کاهو پس از ضدعفونی توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد، در سینی کشت نشای حاوی کوکوپیت و پرلیت کاشته شده و روزانه توسط آب مقطر آبیاری شدند. در هفته اول مهرماه ۱۳۹۳، نشاهای کاهو در مرحله دو تا سه برگی به ظروف پلاستیکی ۲ لیتری حاوی محلول غذایی هوادهی شده منتقل شدند. برای هوادهی محلول‌های غذایی از

1. Teresa
2. California

جدول ۱. برخی از ویژگی‌های شیمیایی آب مورد استفاده برای تهیه محلول غذایی.

Table 1. Some chemical properties of the water used for the preparation of nutrient solution.

رسانایی الکتریکی	پ.هاش	سدیم	پتاسیم	کلسیم	منیزیم	نیتروژن نیتراته	کلرید
EC	pH	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	$N\text{-}NO_3^-$	Cl^-
($dS\ m^{-1}$)		($mmol\ L^{-1}$)					
0.45	7.6	0.2	0.1	1.5	0.8	0.23	1.3

پمپ آکواریوم استفاده شد. در ضمن برای هر تیمار آزمایشی ۲ ظرف در نظر گرفته شده و در درون هر ظرف یک نشای کاهو کشت شد. ظروف حاوی گیاهان آزمایشی در یک گلخانه با دمای ۳±۲۳ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰±۶۰ درصد بر روی سکو چیده شدند.

برای تهیه محلول غذایی از آب شرب دانشگاه شهرکرد استفاده شد. بدین منظور ابتدا pH، رسانایی الکتریکی و غلظت سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، نیترات و کلر آن با استفاده از روش‌های معمول اندازه‌گیری شد (۲). فرمولاسیون عناصر غذایی مورد استفاده برای تهیه محلول غذایی بدین صورت بود. غلظت نیترات، آمونیوم، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و گوگرد در محلول غذایی به‌ترتیب برابر با ۱۹/۰، ۱/۲۵، ۲/۰، ۱۱/۰، ۴/۵، ۱/۰ و ۱/۲ میلی‌مولار بود. همچنین غلظت عناصر غذایی کم‌مصرف برای مس، بور، منگنز، روی و مولیبدن به‌ترتیب برابر ۰/۷۵، ۳۰، ۵/۰، ۴/۰ و ۰/۵ میکرومولار بود (۷). با لحاظ کردن غلظت عناصر غذایی موجود در آب (جدول ۱)، محاسبات لازم برای حصول به غلظت‌های مورد نظر در محلول‌های غذایی مورد استفاده انجام شد. رسانایی الکتریکی محلول‌های غذایی تهیه شده بین ۲/۸ تا ۲/۹ دسی-زیمنس بر متر بود. همچنین pH محلول‌های غذایی با استفاده از محلول یک مولار اسید سولفوریک روی ۵/۴±۰/۲ تنظیم شد (۷).

پس از انتقال نشاهای کاهو به ظروف حاوی محلول غذایی از محلول یک چهارم غلظت (تنها برای عناصر پرمصرف) استفاده شد که به‌تدریج و با افزایش رشد گیاه از محلول با غلظت کامل استفاده شد. محلول غذایی گیاهان هر هفته تعویض شده و در این مدت، سطح محلول هر روز کنترل شده و در صورت کاهش حجم، با استفاده از آب مقطر به حجم اولیه رسانده شد. pH محلول غذایی نیز هر دو روز یکبار اندازه‌گیری شده و با افزودن اسید سولفوریک و یا سود یک مولار روی ۵/۴±۰/۲ تنظیم شد. سپس مراقبت‌های زراعی معمول در حین دوره داشت در گلخانه تا زمان برداشت در هفته آخر آبان ۱۳۹۳ صورت گرفت.

پیش از برداشت، از گیاهان نمونه‌برداری شده و مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و مقدار کاروتنوئیدهای برگ اندازه‌گیری شد. بدین منظور یک گرم از بافت تازه برگ، توزین و به قطعات کوچکی تقسیم شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به آن افزوده شده و در یک آون چینی به‌خوبی له شد. به‌دنبال آن مخلوط حاصله به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول روئین به بالون ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری انتقال یافت. این کار تا جایی تکرار شد که مخلوط باقیمانده بی‌رنگ شد. سپس حجم بالون ژوژه با استون ۸۰ درصد به حجم رسانده شد. در نهایت میزان جذب محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شده و غلظت کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها به‌ترتیب با استفاده از روابط (۱) تا (۴) محاسبه شد:

$$\text{Chlorophyll a (mg g}^{-1}) = [12.7\ (OD_{663}) - 2.69\ (OD_{645})] \times V \times W / 1000 \quad [1]$$

$$\text{Chlorophyll b (mg g}^{-1}) = [22.9\ (OD_{645}) - 4.68\ (1OD_{663})] \times V \times W / 1000 \quad [2]$$

$$\text{Total chlorophyll (mg g}^{-1}) = [20.2\ (OD_{645}) + 8.02\ (OD_{663})] \times V \times W / 1000 \quad [3]$$

$$\text{Carotenoids (mg g}^{-1}) = [7.6\ (OD_{480}) - 1.49\ (OD_{510})] \times V \times W / 1000 \quad [4]$$

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمار کودی و رقم بر غلظت عناصر غذایی در ریشه و بخش هوایی کاهو.

Table 2. Variance analysis (mean squares) for the effects of fertilizer treatment and cultivar on shoot and root nutrients concentration in lettuce.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	ریشه Root			بخش هوایی Shoot			
		آهن Fe	منگنز Mn	روی Zn	آهن Fe	منگنز Mn	روی Zn	مس Cu
تیمار کودی Fertilizer treatment	5	233462**	538**	20594**	9154**	406**	731**	7.59**
رقم کاهو Lettuce cultivar	1	2145^{ns}	163^{ns}	1763^{ns}	107^{ns}	128^{ns}	81.0^{ns}	1.91^{ns}
تیمار کودی × رقم کاهو Fertilizer treatment × Lettuce cultivar	5	40342^{ns}	43^{ns}	2377^{ns}	5824^{ns}	3.4^{ns}	59.8^{ns}	0.18^{ns}
خطا Error	24	34180	103	925	2559	31.5	63.2	0.38

^{ns} غیرمعنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

^{ns} Non significant, ** Significant at 1%

در این روابط OD: میزان جذب در طول موج‌های مورد نظر، V: حجم محلول نهایی برحسب میلی‌لیتر و W: وزن تازه برگ برحسب گرم است (۳۱).

پس از گذشت ۸ هفته بوته‌ها برداشت شده و بخش هوایی و ریشه گیاه از یکدیگر جدا شده و وزن تازه نمونه‌ها توسط ترازوی رقومی اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها پس از شستشو توسط آب معمولی و آب مقطر به‌مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا خشک شوند. بدنبال آن نمونه‌ها با استفاده از آسیاب برقی خرد شده و غلظت آهن، منگنز، مس و روی موجود در نمونه‌ها پس از هضم خشک و ترکیب با HCl با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۱۰). نتایج حاصله توسط نرم‌افزار آماری (SAS) تجزیه و تحلیل شده و برای مقایسه و دسته‌بندی میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت آهن، منگنز و روی ریشه کاهو: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار کودی بر غلظت آهن، منگنز و روی ریشه کاهو در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. درحالی که اثر رقم کاهو و برهمکنش تیمار کودی با رقم کاهو بر غلظت آهن، منگنز و روی ریشه کاهو معنی‌دار نشد (جدول ۲). بین کاربرد آهن با غلظت ۲۰ میکرومول بر لیتر از منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز، تیمار T_3) با کاربرد آهن با همین غلظت از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (تیمار T_1) از نظر غلظت آهن ریشه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در هم‌خوانی با نتایج این پژوهش، منظری توکلی و همکاران (۲۰) عنوان کردند در سطح صفر بی‌کربنات، تفاوت غلظت برای آهن و روی ریشه بین گیاهان کاهوی تغذیه شده با سکوسترین ۱۳۸ آهن و نانوکلات آهن دیده نشد. اما کاربرد آهن با غلظت ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز، تیمار T_5) موجب افزایش معنی‌دار غلظت آهن ریشه نسبت به کاربرد آهن با همین غلظت از منبع سکوسترین ۱۳۸ (تیمار T_2) آهن شد (جدول ۳). این مسئله نشان‌دهنده آن است که در غلظت ۴۰ میکرومول بر لیتر، کلات آهن نانو توانایی بیش‌تری در تأمین آهن مورد نیاز گیاه در مقایسه با سکوسترین ۱۳۸ آهن داشته است.

جدول ۳. مقایسه میانگین تأثیر تیمار کودی بر غلظت عناصر غذایی ریشه و بخش هوایی کاهو.

Table 3. Mean comparisons of the effect of fertilizer treatment on shoot and root nutrients concentration in lettuce.

تیمار کودی Fertilizer treatment	غلظت آهن Fe concentration (µmol L^{-1})	آهن Fe	منگنز Mn	روی Zn	آهن Fe	منگنز Mn	روی Zn	مس Cu
		(mg kg^{-1})						
		ریشه Root			بخش هوایی Shoot			
T_1	20	585^{d}	19.0^{c}	46.0^{e}	123^{c}	12.2^{c}	30.0^{c}	4.7^{a}
T_2	40	765^{cd}	30.5^{bc}	97.3^{de}	187^{bc}	14.4^{c}	34.2^{c}	4.2^{b}
T_3	20	670^{cd}	35.6^{b}	108.1^{cd}	194^{bc}	30.7^{a}	50.3^{ab}	4.3^{b}
T_4	20	844^{bc}	37.3^{ab}	156.9^{bc}	239^{a}	32.0^{a}	47.4^{b}	2.6^{c}
T_5	40	992^{ab}	47.9^{a}	192.2^{ab}	207^{ab}	25.8^{ab}	58.6^{a}	2.9^{c}
T_6	40	1109^{a}	36.7^{b}	213.3^{a}	168^{bc}	23.9^{b}	52.0^{ab}	1.9^{c}

T_1 و T_2: به‌ترتیب ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن، T_5 و T_3: به‌ترتیب ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از کلات آهن نانو با فرض تأمین روی و منگنز مورد نیاز گیاه توسط این کود، T_4 و T_6: به‌ترتیب ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از کلات آهن نانو با فرض عدم تأمین روی و منگنز مورد نیاز گیاه توسط این کود؛ میانگین‌ها در هر ستون با حروف مشابه بدون اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

T_1 and T_2: 20 and 40 µmol L^{-1} of Fe from Fe-EDDHA, respectively, T_3 and T_5: 20 and 40 µmol L^{-1} of Fe from nano iron chelate, respectively (provided that this fertilizer can supply required Zn and Mn for the plant), T_4 and T_6: 20 and 40 µmol L^{-1} of Fe from nano iron chelate, respectively (provided that this fertilizer is not able to supply required Zn and Mn for the plant); Data in each column with the same letter are not statistically different at 0.05 probability level based on LSD Test.

کاربرد آهن با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز، به‌ترتیب در تیمارهای T_3 و T_5) منجر به افزایش معنی‌دار غلظت منگنز و روی ریشه در مقایسه با کاربرد آهن با همین غلظت‌ها از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (به‌ترتیب در تیمارهای T_1 و T_2) شد. بنابراین به‌نظر می‌رسد کاربرد آهن از منبع کلات آهن نانو در تأمین غلظت روی و منگنز ریشه مؤثرتر از سکوسترین ۱۳۸ آهن بوده است (جدول ۳). این در حالی است که منظری توکلی و همکاران (۲۰) عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین غلظت روی ریشه در گیاهان کاهوی تغذیه شده با سکوسترین ۱۳۸ آهن و نانوکلات آهن را گزارش کردند. شایان ذکر است کاربرد آهن با غلظت ۴۰ میکرومول بر لیتر از منبع کلات آهن نانو با فرض عدم تأمین بخشی از روی و منگنز (تیمار T_6) باعث کاهش معنی‌دار غلظت منگنز ریشه نسبت به کاربرد آهن با همین غلظت از منبع کلات آهن نانو با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز (تیمار T_5) شد (جدول ۳). دلیل احتمالی این یافته می‌تواند سمیّت حاصل از بیش‌بود روی و منگنز در تیمار T_6 و به دنبال آن کاهش رشد ریشه باشد.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت آهن، منگنز، روی و مس بخش هوایی کاهو: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار کودی بر غلظت آهن، منگنز، روی و مس بخش هوایی کاهو در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. درحالی که اثر رقم کاهو و برهمکنش تیمار کودی با رقم کاهو بر غلظت آهن، منگنز، روی و مس بخش هوایی کاهو معنی‌دار نشد (جدول ۲). بین کاربرد آهن با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز، به‌ترتیب در تیمارهای T_3 و T_5) و کاربرد آهن با همین غلظت‌ها از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (تیمارهای T_1 و T_2) از نظر غلظت آهن بخش هوایی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳). این نتیجه نشان‌دهنده آن است که کلات آهن نانو همچون سکوسترین ۱۳۸ آهن در تأمین آهن مورد نیاز بخش هوایی گیاه مؤثر عمل کرده است. در هم‌خوانی با نتایج این پژوهش گزارش شده است در سطح صفر بی‌کربنات

بین غلظت آهن بخش هوایی کاهو در گیاهان کوددهی شده با کلات آهن نانو و سکوسترین ۱۳۸ آهن تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (۲۰). با این وجود روستا و همکاران (۲۹) گزارش کردند بیش‌ترین غلظت آهن برگ، رنگدانه گیاهی و رشد رویشی در گیاهان تیمار شده با کلات آهن نانو در مقایسه با سکوسترین ۱۳۸ آهن و سولفات آهن در کشت هیدروپونیک کاهو مشاهده شد. به‌طور مشابه کاربرد نانوذرات اکسید آهن با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر منجر به افزایش معنی‌دار غلظت آهن در بخش هوایی، وزن تازه و خشک بخش هوایی در مقایسه با نیترات آهن در کشت هیدروپونیک اسفناج شده است (۱۴). همچنین رویی و همکاران (۳۰) گزارش کردند بیش‌ترین غلظت آهن اندام هوایی در کشت خاکی بادام زمینی با کاربرد نانوذرات آهن با غلظت‌های ۱۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک دیده شد که به‌طور معنی‌داری از غلظت آهن بخش هوایی در گیاهان تیمار شده با کلات آهن Fe-EDTA با غلظت ۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بیش‌تر بود.

کاربرد آهن با غلظت ۲۰ میکرومول بر لیتر از منبع کلات آهن نانو با فرض عدم تأمین بخشی از روی و منگنز (تیمار T_4) باعث افزایش معنی‌دار غلظت آهن بخش هوایی کاهو نسبت به همین منبع با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز (تیمار T_3) شد (جدول ۳). به‌نظر می‌رسد علت افزایش غلظت آهن، کاهش رشد بخش هوایی کاهو ناشی از سمیّت روی و منگنز در گیاهان کوددهی شده با کلات آهن نانو با فرض عدم تأمین بخشی از روی و منگنز باشد. کاربرد آهن با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز، به‌ترتیب در تیمارهای T_3 و T_5) باعث افزایش معنی‌دار غلظت منگنز و روی بخش هوایی کاهو نسبت به کاربرد آهن با همین غلظت‌ها از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (به‌ترتیب در تیمارهای T_1 و T_2) شد (جدول ۳). بنابراین به‌نظر می‌رسد کلات آهن نانو نسبت به سکوسترین ۱۳۸ آهن در افزایش غلظت منگنز و روی بخش هوایی کاهو تأثیر بیش‌تری داشته است. این یافته با نتایج روستا و همکاران (۲۹) در بررسی تأثیر کودهای مختلف آهن بر رشد کاهو در کشت بدون خاک مبنی بر تأثیر مثبت کلات آهن نانو بر افزایش معنی‌دار غلظت منگنز بخش هوایی کاهو نسبت به کود سکوسترین ۱۳۸ آهن همخوانی دارد. کاربرد آهن با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (به‌ترتیب در تیمارهای T_1 و T_2) موجب افزایش معنی‌دار غلظت مس بخش هوایی نسبت به کاربرد آهن با همین غلظت‌ها از منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز، به‌ترتیب در تیمارهای T_3 و T_5) شد (جدول ۳). بنابراین به نظر می‌رسد کاربرد سکوسترین ۱۳۸ آهن نسبت به مصرف کلات آهن نانو تأثیر بیش‌تری بر افزایش غلظت مس بخش هوایی کاهو داشته است. در همین زمینه گزارش شده است کاربرد سکوسترین ۱۳۸ آهن نسبت به کلات آهن نانو منجر به افزایش معنی‌دار غلظت روی در بخش هوایی کاهو شده است (۲۹). در این میان افزایش غلظت آهن از ۲۰ به ۴۰ میکرومول بر لیتر از هر دو منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن و کلات آهن نانو باعث کاهش معنی‌دار غلظت مس بخش هوایی کاهو شد (جدول ۳). دلیل احتمالی این کاهش می‌تواند آثار آنتاگونیستی بین آهن و مس باشد. به‌طور مشابه قاسمی و رونقی (۱۲) عنوان کردند کاربرد سکوسترین ۱۳۸ آهن منجر به کاهش جذب منگنز، روی و مس در گندم در یک خاک آهکی شد.

نتایج این پژوهش نشان داد آهن رهاشده از کلات آهن نانو توسط ریشه جذب و به بخش هوایی کاهو منتقل شده است. در همین زمینه مقدم و همکاران (۲۲) عنوان کردند کلات آهن نانو به‌عنوان منبع غنی و شناخته شده آهن برای گیاه است زیرا پایداری زیادی داشته و به‌طور تدریجی آهن را در بازه pH ۳ تا ۱۱ آزاد می‌کند. مزیت دیگر این کود داشتن نسبت زیاد آهن فرو به فریک است (۱۳). نانوذرات به‌وسیله پیوند با پروتئین‌های ناقل، از طریق آکواپورین‌ها، کانال‌های یونی یا اندوسیتوز وارد سلول‌ها می‌شوند. همچنین نانوذرات

جدول ۴. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمار کودی و رقم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ، وزن تازه ریشه و بخش هوایی کاهو.

Table 4. Variance analysis (mean squares) for the effects of fertilizer treatment and cultivar on leaf photosynthetic pigments, and root and shoot fresh weights of lettuce.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid	وزن تازه Fresh weight	
						ریشه Root	بخش هوایی Shoot
تیمار کودی Fertilizer treatment	5	0.0028^{ns}	0.0036*	0.022^{ns}	0.004^{ns}	144.4^{ns}	23240**
رقم کاهو Lettuce cultivar	1	0.012*	0.0004^{ns}	0.009^{ns}	0.014*	3.36^{ns}	26896**
تیمار کودی × رقم کاهو Fertilizer treatment × Lettuce cultivar	5	0.004^{ns}	0.0023^{ns}	0.020^{ns}	0.005*	145.6^{ns}	3330^{ns}
خطا Error	24	0.0027	0.0010	0.013	0.002	97.5	1937

^{ns} غیرمعنی‌دار، * معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

^{ns} Non significant, * Significant at 5%, ** Significant at 1%

ممکن است با ناقلین غشا یا ترشحات ریشه، تشکیل کمپلکس داده و متعاقب آن بتوانند به درون گیاهان منتقل شوند (۳۴). در همین زمینه باستانی و همکاران (۵) گزارش کردند احتمالاً کمپلکس آهن نانو توانایی زیادتری در برهمکنش با ناقلین و آنزیم فریک کلات ردوکتاز ریشه نسبت به آهن حاصله از Fe-EDTA داشته باشد. این مکانیسم به‌عنوان پایه‌ای برای کارایی بیش‌تر کلات‌های آهن در مقایسه با نمک‌های آهن پیشنهاد شده است (۱۹). تحرک بیش‌تر آهن نانو نسبت به Fe-EDTA در آوند چوبی و آبکش و محبوس شدن کم‌تر آن در ریشه یا برگ نیز می‌تواند به تثبیت کم‌تر آهن در ریشه و آپوپلاست برگ مربوط باشد. فرض بر این است که آهن نانو به‌دلیل اندازه کم‌تر و تحرک بیش‌تر، کم‌تر در معرض رسوب درون آپوپلاست گیاه قرار دارد (۵). در همین راستا پژوهش‌های انجام شده در اسفناج حاکی از افزایش میزان تولید به‌دلیل جذب آهن نانو از طریق ریشه‌ها و سپس انتقال آن به قسمت‌های هوایی است (۱۴). نتایج این پژوهش نشان داد غلظت آهن، منگنز و روی در ریشه بیش‌تر از غلظت این عناصر در بخش هوایی کاهو بود. غلظت بیش‌تر این عناصر در ریشه به‌واسطه نقش تارهای کشنده به‌عنوان اولین مسیر جذب عناصر غذایی از محیط رشد است (۱۵).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ کاهو: نتایج تجزیه واریانس نشان داد تنها اثر رقم کاهو بر میزان کلروفیل a برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). به‌طوری که مقدار کلروفیل a برگ در رقم کالیفرنیا (۰/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از رقم ترسا (۰/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) بود. تفاوت بین ارقام کاهو از نظر میزان کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ در پاسخ به کودهای مختلف آهن در پژوهش روستا و همکاران (۲۹) نیز گزارش شده است. بر اساس نتایج، اثر تیمار کودی بر میزان کلروفیل b برگ کاهو در سطح احتمال پنج درصد معنی‌داری شد. درحالی که اثر رقم کاهو و برهمکنش تیمار کودی با رقم کاهو بر مقدار کلروفیل b برگ معنی‌دار نبود (جدول ۴). بین کاربرد آهن با غلظت ۲۰ میکرومول بر لیتر از منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز، تیمار T_3) با کاربرد آهن با همین غلظت از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (تیمار T_1) از نظر میزان کلروفیل b برگ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. اما کاربرد آهن با غلظت ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل b برگ نسبت به کاربرد آهن با همین غلظت از منبع کلات آهن نانو (با فرض

جدول ۵. مقایسه میانگین تأثیر تیمار کودی بر میزان کلروفیل b برگ، کلروفیل کل برگ و کاروتنوئید برگ ارقام کاهو.

Table 5. Mean comparisons of the effect of fertilizer treatment on leaf chlorophyll b, leaf total chlorophyll and leaf carotenoid of lettuce cultivars.

تیمار کودی Fertilizer treatment	غلظت آهن (میکرومول بر لیتر) Fe concentration (μmol L^{-1})	کلروفیل b برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) Leaf Chlorophyll b (mg g^{-1} fresh weight)	کلروفیل کل برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) Leaf total chlorophyll (mg g^{-1} fresh weight)	کاروتنوئید برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) Leaf carotenoid (mg g^{-1} fresh weight)	
				ترسا Teresa	کالیفرنیا California
T_1	20	0.29^{ab}	0.63^{a}	0.18^{b}	0.25^{b}
T_2	40	0.31^{a}	0.70^{a}	0.18^{b}	0.24^{b}
T_3	20	0.33^{a}	0.73^{a}	0.20^{b}	0.35^{a}
T_4	20	0.33^{a}	0.81^{a}	0.24^{b}	0.23^{b}
T_5	40	0.27^{b}	0.68^{a}	0.21^{b}	0.19^{b}
T_6	40	0.30^{ab}	0.74^{a}	0.20^{b}	0.21^{b}

T_1 و T_2: به‌ترتیب ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن، T_3 و T_5: به‌ترتیب ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از کلات آهن نانو با فرض تأمین روی و منگنز مورد نیاز گیاه توسط این کود، T_4 و T_6: به‌ترتیب ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از کلات آهن نانو با فرض عدم تأمین روی و منگنز مورد نیاز گیاه توسط این کود؛ میانگین‌ها در هر ستون (و ردیف) با حروف مشابه بدون اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.

T_1 and T_2: 20 and 40 μmol L^{-1} of Fe from Fe-EDDHA, respectively, T_3 and T_5: 20 and 40 μmol L^{-1} of Fe from nano iron chelate, respectively (provided that this fertilizer can supply required Zn and Mn for the plant), T_4 and T_6: 20 and 40 μmol L^{-1} of Fe from nano iron chelate, respectively (provided that this fertilizer is not able to supply required Zn and Mn for the plant); Data in each column (and row) with the same letter are not statistically different at 0.05 probability level based on LSD Test.

تأمین بخشی از روی و منگنز، تیمار T_5) شد (جدول ۵). این مسئله نشان‌دهنده آن است که در غلظت ۲۰ میکرومول بر لیتر آهن، هر دو کود با تأمین آهن مورد نیاز گیاه تأثیر یکسانی بر میزان کلروفیل b برگ داشته اما در غلظت ۴۰ میکرومول بر لیتر، تأثیر سکوسترین ۱۳۸ آهن بر افزایش میزان کلروفیل b برگ از کلات آهن نانو بیش‌تر بوده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار کودی، رقم کاهو و برهمکنش آن‌ها بر کلروفیل کل برگ معنی‌دار نبود (جدول ۴). نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر رقم کاهو و برهمکنش تیمار کودی با رقم کاهو بر میزان کارتنوئید برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). در رقم ترسا بین میزان کارتنوئید برگ در گیاهان تغذیه شده با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز، به‌ترتیب در تیمارهای T_3 و T_5) و گیاهان تغذیه شده با همین غلظت‌ها از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (به‌ترتیب در تیمارهای T_1 و T_2) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. به‌طور مشابه نیز در رقم کالیفرنیا بین میزان کارتنوئید برگ در گیاهان تغذیه شده با غلظت ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز، تیمار T_5) و سکوسترین ۱۳۸ آهن (تیمار T_2) تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ۵). این مسئله نشان‌دهنده آنست که هر دو کود کلات آهن نانو و سکوسترین ۱۳۸ آهن با تأمین آهن مورد نیاز گیاه، تأثیر یکسانی بر میزان کارتنوئید برگ داشته‌اند.

گیاهان برای کارکرد بهینه سیستم فتوسنتزی به عناصری مانند آهن نیاز دارند. حداقل ۸۰ درصد آهن موجود در گیاهان در برگ‌ها جای دارد که عنصری کلیدی در فرایند انتقال الکترون در فتوسنتز است (۱۸). هر دو کلروفیل a و b نقش مهمی در فتوسنتز به واسطه جذب نور از طریق سیستم انتقال الکترون دارند که این نقش از طریق پروتئین‌های حاوی آهن و گوگرد ایفا می‌شود (۳۲). پروتئین‌های حاوی آهن و گوگرد از خوشه‌های Fe-S تشکیل شده و وظیفه اصلی آن‌ها انتقال الکترون از طریق وضعیت‌های اکسایشی Fe^{2+}/Fe^{3+} است (۴). پروتئین‌های حاوی آهن و گوگرد و نقش آن‌ها در تولید کلروفیل جزو مراحل حیاتی در فرآیند تولید انرژی، رشد و توسعه گیاهان است (۴). پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهند ۳۰ درصد افزایش در میزان فتوسنتز گیاه می‌تواند افزایش ۱۰ درصدی در رشد نسبی گیاه ایجاد کند (۱۶). مشابه با نتایج این

پژوهش، نعمتی و همکاران (۲۴) گزارش کردند تغذیه برگی غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم بر لیتر دو کود Fe-EDTA و کلات آهن نانو منجر به ایجاد تفاوت معنی‌داری از نظر کلروفیل a، b و مجموع دو کلروفیل در گیاه نعناع فلفلی نشد. همچنین امیدی نرگسی و همکاران (۲۵) روی ۱۳ رقم گندم از سکوسترین ۱۳۸ آهن و نانوکود کلات آهن در محیط کشت بدون خاک استفاده کردند. آن‌ها بیان کردند شاخص میزان کلروفیل برگ تحت تأثیر منبع کودی قرار نگرفته است. به‌طور مشابه پیوندی و همکاران (۲۷) در مقایسه تأثیر کودهای مختلف آهن بر رشد ریحان گزارش کردند بین نانوکود کلات آهن و کود کلات آهن از نظر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل برگ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین دو کود نانوکلات آهن و سکوسترین ۱۳۸ آهن از نظر میزان کلروفیل a و b برگ کاهو در پژوهش‌های منظری توکلی و همکاران (۲۰) در شرایط کشت بدون خاک نیز دیده شده است که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. با این وجود در برخی دیگر از پژوهش‌های انجام شده، تأثیر کودهای آهن نانو در افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ بیش‌تر بوده است. به‌عنوان مثال عسکری و همکاران (۳) بیان کردند میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و میزان پروتئین به‌طور معنی‌داری با افزایش غلظت نانوذرات آهن از ۵ تا ۳۰ میکرومول بر لیتر در مقایسه با کاربرد Fe-EDTA در گل پریوش افزایش یافت. همچنین باستانی و همکاران (۵) گزارش کردند زیست‌توده گیاهی و میزان کلروفیل برگ در گیاهان تنباکو با تأمین مجدد آهن از منبع کمپلکس آهن نانو (Fe(III)-EDTA) در مقایسه با کلات آهن Fe-EDTA سریعتر افزایش یافت. در این راستا پیوندی و همکاران (۲۶) بیان کردند کاربرد نانوکود کلات آهن باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل کل در مقایسه با کلات آهن در گیاه مرزه شد. روستا و همکاران (۲۹) نیز گزارش کردند گیاهان رشد کرده با کلات آهن نانو دارای کلروفیل کل و کاروتنوئید بیش‌تری در مقایسه با گیاهان رشد کرده با سکوسترین ۱۳۸ آهن بودند.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن تازه ریشه و بخش هوایی کاهو: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار کودی، رقم کاهو و برهمکنش آن‌ها با همدیگر بر وزن تازه ریشه کاهو معنی‌دار نشد. درحالی که اثر تیمار کودی و رقم کاهو بر وزن تازه بخش هوایی کاهو در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). بین وزن تازه بخش هوایی گیاهان کاهوی تغذیه شده با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع کلات آهن نانو (با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز، به‌ترتیب در تیمارهای T_3 و T_5) و گیاهان کاهوی تغذیه شده با همین غلظت‌ها از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (به‌ترتیب در تیمارهای T_1 و T_2) تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۶). این مسئله نشان‌دهنده کارایی یکسان کلات آهن نانو در تأمین آهن مورد نیاز کاهو مانند کود سکوسترین ۱۳۸ آهن برای دستیابی به عملکرد مطلوب است. در هم‌خوانی با نتایج این پژوهش امیدی نرگسی و همکاران (۲۵) در مقایسه دو کود سکوسترین ۱۳۸ آهن نانو و غیرنانو عنوان کردند بین دو کود از نظر وزن خشک ریشه، شاخساره و کل تفاوت معنی‌داری در ۱۳ رقم گندم مورد آزمایش مشاهده نشده است. با وجود کارایی یکسان دو کود کلات آهن نانو و سکوسترین ۱۳۸ آهن از نظر وزن تازه بخش هوایی کاهو، در برخی از پژوهش‌ها نقش کلات آهن نانو بر بهبود رشد گیاه بیش‌تر از کودهای آهن غیرنانو بوده است. در این زمینه عسکری و همکاران (۳) گزارش کردند طول ریشه، وزن تازه و خشک ریشه و ساقه گل پریوش به‌طور معنی‌داری با افزایش غلظت نانوذرات آهن از ۵ تا ۳۰ میکرومول بر لیتر در مقایسه با کلات آهن Fe-EDTA افزایش یافت. روستا و همکاران (۲۹) عنوان کردند بیش‌ترین مقدار وزن تازه و خشک گیاه و وزن تازه ساقه و ریشه در کاهوی تیمار شده با کلات آهن نانو در مقایسه با سکوسترین ۱۳۸ آهن و سولفات آهن مشاهده شد. در پژوهشی دیگر کاربرد نانوذرات اکسید آهن با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر منجر به افزایش معنی‌دار وزن تازه و خشک بخش هوایی و همچنین غلظت آهن در بخش هوایی اسفناج در مقایسه با نیترات آهن در شرایط هیدروپونیک شده است (۱۴). جو و همکاران (۱۵) گزارش کردند کاربرد نانوذرات اکسید آهن با اندازه

جدول ۶. مقایسه میانگین تأثیر تیمار کودی بر وزن تازه ریشه و بخش هوایی ارقام کاهو.

Table 6. Mean comparisons of the effect of fertilizer treatment on root and shoot fresh weights of lettuce cultivars.

تیمار کودی Fertilizer treatment	غلظت آهن (میکرومول بر لیتر) Fe concentration (µmol L^{-1})	وزن تازه ریشه (گرم بر گیاه) Root fresh weight (g $plant^{-1}$)		وزن تازه بخش هوایی (گرم بر گیاه) Shoot fresh weight (g $plant^{-1}$)
		ترسا Teresa	کالیفرنیا California	
T_1	20	80.0[a]	69.0[a]	415[ab]
T_2	40	66.0[a]	68.0[a]	436[a]
T_3	20	67.0[a]	57.6[a]	365[b]
T_4	20	65.6[a]	61.3[a]	275[c]
T_5	40	64.0[a]	79.6[a]	387[ab]
T_6	40	62.6[a]	66.0[a]	308[c]

T_1 و T_2: به‌ترتیب ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن، T_3 و T_5: به‌ترتیب ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از کلات آهن نانو با فرض تأمین روی و منگنز مورد نیاز گیاه توسط این کود، T_4 و T_6: به‌ترتیب ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر آهن از کلات آهن نانو با فرض عدم تأمین روی و منگنز مورد نیاز گیاه توسط این کود؛ میانگین‌ها در هر ستون (و ردیف) با حروف مشابه بدون اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.

T_1 and T_2: 20 and 40 µmol L^{-1} of Fe from Fe-EDDHA, respectively, T_3 and T_5: 20 and 40 µmol L^{-1} of Fe from nano iron chelate, respectively (provided that this fertilizer can supply required Zn and Mn for the plant), T_4 and T_6: 20 and 40 µmol L^{-1} of Fe from nano iron chelate, respectively (provided that this fertilizer is not able to supply required Zn and Mn for the plant); Data in each column (and row) with the same letter are not statisticallydifferent at 0.05 probability level based on LSD Test.

۲۰ نانومتر با روکش EDTA منجر به افزایش ۸ برابری زیست‌توده گیاه شاه درخت باغی در مقایسه با کاربرد Fe-EDTA شده است. همچنین کاربرد نانوذرات اکسید آهن با روکش EDTA در گیاه شاه درخت باغی باعث افزایش ۸ برابری زیست‌توده کل و افزایش ۱/۴ برابری میزان تولید کلروفیل در مقایسه با گیاهان تیمار شده با با کلات آهن Fe-EDTA شد (۶). در پژوهش‌های انجام شده تولید بیش‌تر ماده خشک در پاسخ به کاربرد ریشه‌ای کمپلکس آهن نانو در مقایسه با کمپلکس آهن غیرنانو به این دلایل نسبت داده شده است: انتقال سریعتر آهن در آوند چوبی از ریشه به ساقه، تقسیم یکسان آهن در یک بازه زمانی نسبتاً کوتاه بین برگ‌هایی با سن مختلف، و از طرف دیگر اختصاص آهن بیش‌تر به برگ‌های جوان در طول دوره رشد بعدی. دلیل احتمالی این یافته سطح ویژه بیش‌تر نانوذرات (۳۴) است که آن‌ها را از نظر جذب و فعالیت بهتر از نمونه‌های غیرنانو خود می‌کند (۵).

کاربرد آهن با غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکرومول بر لیتر از منبع نانوکود کلاته آهن با فرض عدم تأمین بخشی از روی و منگنز (به‌ترتیب در تیمارهای T_4 و T_6) منجر به کاهش معنی‌دار وزن تازه بخش هوایی کاهو در مقایسه با کاربرد آهن با همین غلظت‌ها از منبع کلات آهن نانو با فرض تأمین بخشی از روی و منگنز (به‌ترتیب در تیمارهای T_3 و T_5) شد (جدول ۶). این مسئله احتمالاً به‌دلیل بروز سمّیت ناشی از بیش‌بود دو عنصر روی و منگنز در محلول غذایی مورد استفاده در تیمارهای T_4 و T_6 بوده و نشانگر آن است که کلات آهن نانو در تأمین بخشی از روی و منگنز نیز مؤثر بوده و نیازی به تأمین کامل این دو عنصر از کودهای دیگر نیست. عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین وزن تازه بخش هوایی در گیاهان تغذیه شده با آهن با غلظت ۴۰ میکرومول بر لیتر از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (تیمار T_2) و کلات آهن نانو (تیمار T_5) با غلظت یکسان روی و منگنز در محلول غذایی، نشان‌دهنده نقش مؤثر نانوکود در تأمین و رهاسازی آهن، منگنز و روی مورد کاهو بوده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد کلات آهن نانو همچون سکوسترین ۱۳۸ آهن قادر به تأمین آهن مورد نیاز کاهو در شرایط کشت بدون خاک بوده و علاوه بر تأمین آهن مورد نیاز گیاه، قادر به تأمین مداوم دو عنصر منگنز و روی نیز است. بر این اساس کلات آهن نانو آهن می‌تواند به‌عنوان کود مطمئنی برای تأمین آهن، روی و منگنز در کشت بدون خاک کاهو مطرح باشد. با این وجود هنوز پژوهش‌های بیش‌تری برای ارزیابی دقیق خطر بالقوه آن برای محیط زیست و امنیت غذایی مورد نیاز است.

منابع مورد استفاده

1. Albano, J.P., Miller, W.B., 2001. Photodegradation of Fe DTPA in nutrient solutions, effects of irradiance, wavelength and temperature. *HortScience* 36: 313–316.
2. Ali Ehyayi, M., Behbehanizadeh, A.A., 1993. Methods of Soil Analysis. Soil and Water Research Institute Press, Tehran. (in Persian)
3. Askary, M., Amirjani. M.R., Saberi, T., 2017. Comparison of the effects of nano-iron fertilizer with iron-chelate on growth parameters and some biochemical properties of *Catharanthus roseus*. *Journal of Plant Nutrition* 40: 974–982.
4. Balk, J., Lobreaux, S., 2005. Biogenesis of iron-sulfur proteins in plants. *Trends in Plant Science* 10(7): 324–331.
5. Bastani, S., Hajiboland, R., Khatamian, M., Saket-Oskoui, M., 2018. Nano iron (Fe) complex is an effective source of Fe for tobacco plants grown under low Fe supply. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 18 (2): 524–541.
6. Boutchuen, A., Zimmerman, D., Aich, N., Mohammad Masud, A., Arabshahi, A., Palchoudhury, S., 2019. Increased plant growth with hematite nanoparticle fertilizer drop and determining nanoparticle uptake in plants using multimodal approach. *Journal of Nanomaterials.* 2019: 1–11. doi.org/10.1155/2019/6890572.
7. Dekreij, C., Voogt, W., Baas, R., 2003. Nutrient Solutions and Water Quality for Soilless Cultures. Research Station for Floriculture and Greenhouse Vegetables, Naaldwijk.
8. DeRosa, M.C., Monreal, C., Schnitzer, M., Walsh, R., Sultan, Y., 2010. Nanotechnology in fertilizers. *Nature Nanotechnology* 5: 91–94.
9. Elanchezhian, R., Kumar, D., Ramesh, K., Kumar Biswas, A., Guhey, A., Kumar Patra. A., 2017. Morpho-physiological and biochemical response of maize (*Zea mays* L.) plants fertilized with nano-iron (Fe_3O_4) micronutrient. *Journal of Plant Nutrition* 40(14): 1969–1977.
10. Emami, A., 1996. Methods of Plant Analysis. Soil and Water Research Institute Press, Tehran, 128 pp. (in Persian)
11. Ghafariyan, M.H., Malakouti, M.J., Dadpour, M.R., Stroeve, P., Mahmoudi, M., 2013. Effects of magnetite nanoparticles on soybean chlorophyll. *Environmental Science and Technology* 47(18): 10645–10652.
12. Ghasemi Fasaei, R., Ronaghi, A., 2008. Interaction of iron with copper, zinc, and manganese in wheat as affected by iron and manganese in a calcareous soil. *Journal of Plant Nutrition* 31(5): 839–848.
13. Hokmabadi, H., Haidarinezad, A., Barfeie, R., Nazaran, M., Ashtian, M., Abotalebi, A., 2006. A new iron chelate introduction and their effects on photosynthesis activity, chlorophyll content and nutrients upake of pistachio (*Pistacia vera* L.). In: 27th International Horticaltural Congress and Exhibitions, Seoul, Korea, August 13–19.
14. Jeyasubramanian, K., Upeksha Gopalakrishnan Thoppey, U., Sobhin Hikku, G., Selvakumar, N., Subramania, A., Krishnamoorthy, K., 2016. Enhancement in growth rate and productivity of spinach grown in hydroponics with iron oxide nanoparticles. *RSC Advances* 6: 15451–15459.
15. Ju, M., Navarreto-Lugo, M., Wickramasinghe, S., Milbrandt, N.B., McWhorter, A., Samia, A.C.S., 2019. Exploring the chelation-based plant strategy for iron oxide nanoparticle uptake in garden cress (*Lepidium sativum*) using magnetic particle spectrometry. *Nanoscale.* 11: 18582–18594. doi.org/10.1039/c9nr05477d.
16. Kirschbaum, M.U.F., 2011. Does enhanced photosynthesis enhance growth? Lessons learned from CO_2 enrichment studies. *Plant Physiology* 155(1): 117–124.
17. Liu, X., Feng, Z., Zhang, S., Zhang, J., Xiao, Q., Wang, Y., 2006. Preparation and testing of cementing nano-subnano composites of slow or controlled release of fertilizers. *Scientia Agriculture Sinica* 39: 1598–1604.
18. López-Millán, A.F., Duy, D., Philippar, K., 2016. Chloroplast iron transport proteins – function and impact on plant physiology. *Frontiers in Plant Science* 7: 1–12. doi.org/10.3389/fpls.2016.00178.
19. Lucena, J.J., Hernandez-Apaolaza, L., 2017. Iron nutrition in plants: an overview. *Plant and Soil* 418: 1–4.
20. Manzari Tavakoli, M., Bagheri, V., Roosta, H., 2015. Comparison of efficiency of different Fe sources on growth and physiological characteristics of lettuce under alkaline conditions in hydroponic system. *Journal of Soil and Plant Interactions* 5(4): 41–49. (in Persian with English abstract)
21. Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Second ed., Academic Press, London.
22. Moghadam, A., Vattani, H., Baghaei, N., Keshavarz, N., 2012. Effect of different levels of fertilizer nano-iron chelates on growth and yield characteristics of two varieties of spinach (*Spinacia oleracea* L.): Varamin 88 and Viroflay. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology* 4(12): 4813–4818.
23. Mohamadipoor, R., Sedaghathoor, S., Mahboub-Khomami, A., 2013. Effect of application of iron fertilizers in two methods 'foliar and soil application' on growth characteristics of *Spathyphyllum illusion*. *European Journal of Experimental Biology* 3(1): 232–240.
24. Nemati Lafmejani, Z., Ashraf Jafari, A., Moradi, P., Ladan Moghadam, A., 2018. Impact of foliar application of iron-chelate and iron nano particles on some morpho-physiological traits and essential oil composition of peppermint (*Mentha piperita* L.,). *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 21(5): 1374–1384.
25. Omidi Nargesi, S., Zahedi, M., Eshghizadeh, H.R., Khoshgoftarmanesh, A.H., 2015. Screening wheat genotypes in

response to ordinary chelate and nano-iron chelate fertilizers in nutrient solution**.** *Journal of Soil and Plant Interactions* 6(4): 123–133. (in Persian with English abstract)
26. Peyvandi, M., Kamali Jamakani, Z., Mirza, M., 2012. The effect of nano Fe chelate and Fe chelate on the growth and activity of some antioxidant enzymes of *Satureja hortensis*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 5: 25–32. (in Persian with English abstract)
27. Peyvandi, M., Parande, H., Mirza, M., 2011. Comparison of nano Fe chelate with Fe chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum basilicum*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 4: 89–98. (in Persian with English abstract)
28. Pozveh, Z.T., Roya, R. Fatemeh, R., 2014. Changes occurring in canola (*Brassica napus* L.) in response silver nanoparticles treatment under in vitro conditions. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences* 4: 797–807.
29. Roosta, H.R., Jalali, M., Vakili Shahrbabaki, S.M.A., 2015. Effect of nano Fe-chelate, Fe-EDDHA and $FeSO_4$ on vegetative growth, physiological parameters and some nutrient elements concentrations of four varieties of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in NFT system. *Journal of Plant Nutrition* 38(14): 2176–2184.
30. Rui, M., Ma, C., Hao, Y., Guo, J., Rui, Y., Tang, X., Zhao, Q., Fan, X., Zhang, Z., Hou, T., Zhu, S., 2016. Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (*Arachis hypogaea*). *Frontiers in Plant Science* 7: 1–10. doi.org/10.3389/fpls.2016.00815.
31. Saini, R.S., Sharma, K.D., Dhankhar, O.P., Kaushik, R.A., 2001. Laboratory Manual of Analytical Techniques in Horticulture. Agrobios, India.
32. Senge, M.O., Ryan, A.A., Letchford, K.A., MacGowan, S.A. and Mielke, T., 2014. Chlorophylls, symmetry, chirality, and photosynthesis. *Symmetry* 6(3): 781–843. doi.org/10.3390/sym6030781.
33. Suman, P.R., Jain V.K., Varma, A., 2010. Role of nano materials in symbiotic fungus growth enhancement. *Scientific Correspondence* 99: 1189–1191.
34. Tripathi, D.K., Singh, S., Singh, S., Pandey, R., Singh, V.P., Sharma, N.C., Prasad, S.M., Dubey, N.K., Chauhan, D.K., 2017. An overview on manufactured nanoparticles in plants: uptake, translocation, accumulation and phytotoxicity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110: 2–12.
35. Vadas, T.M., Zhang, X., Curran, A.M., Ahner, B.A., 2007. Fate of DTPA, EDTA and EDDS in hydroponic media and effect on plant mineral nutrition. *Journal of Plant Nutrition* 30: 1229–1246.

The Effect of Nano Iron Chelate on the Micronutrients Concentration, Leaf Photosynthetic Pigments and Yield of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) in Soilless Culture

S. Mirzaeyan Dehkordi[1], Sh. Kiani* and A.R. Hosseinpur

(Received: 13 June 2021; Accepted: 31 August 2021)

Abstract

Sequestrene 138 Fe (Fe-EDDHA), one of the most common fertilizers, is used as a source of iron (Fe) in soilless cultures, but its high price leads to increased production costs. This experiment was conducted to investigate the effect of nano iron chelate (consisting of Fe, Zn and Mn) in comparison with Fe-EDDHA on the micronutrients concentration, leaf photosynthetic pigments and yield of two lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars in soilless culture. A factorial experiment using completely randomized design was carried out with two factors of iron fertilizers and lettuce cultivars (Teresa and California) and three replications at Shahrekord University. Lettuce plants were nourished with 20 and 40 µmol L^{-1} of Fe in nutrient solution from sources of Fe-EDDHA and nano iron chelate (provided that this fertilizer can supply or is not able to supply Zn and Mn required for the plant). The results indicated no significant difference between the application of 40 µmol L^{-1} of Fe from either nano iron chelate (provided that this fertilizer can supply Zn and Mn required for the plant) or Fe-EDDHA fertilizers in respect to leaf chlorophyll and carotenoid contents, root and shoot fresh weights, and shoot Fe concentrations of the studied lettuce cultivars. Although the highest shoot fresh weight (436 g $plant^{-1}$) was obtained in 40 µmol L^{-1} of Fe as Fe-EDDHA, it was not significantly different with shoot fresh weight (387 g $plant^{-1}$) gained by application of 40 µmol L^{-1} of Fe as nano iron chelate. Based on the results, nano iron chelate might be an ideal substitution for the Fe-EDDHA in soilless culture of lettuce, however further research is still required to completely evaluate its potential risks to the environment and food safety.

Keywords: Leaf chlorophyll, Lettuce cultivars, Nutrient solution, Sequestrene 138 Fe.

Background and Objective: Iron (Fe) is one of the essential micronutrients for plant growth and plays an important role in photosynthetic processes. Generally, synthetic-Fe fertilizers are used to supply Fe in nutrient solutions in soilless cultures. Synthetic chelates (i.e., Fe-EDTA, Fe-DTPA and Fe-EDDHA) are effective sources of Fe for nutrient solutions but they are expensive and vulnerable to photodegradation. Recently, nano iron chelates have been synthesized and used as sources of Fe for plants. In this context, Roosta et al. (1) reported that the highest values of leaf Fe, plant pigments and vegetative growth of lettuce plants were obtained in plants treated with nano iron chelate in nutrient film technique. This research was carried out to elucidate the effect of nano iron chelate in comparison with Fe-EDDHA on the shoot and root

1- Soil Science and Engineering Department, Faculty of Agriculture, Shahrekord University
* Corresponding Author, Email: shkiani2002@yahoo.com

micronutrients concentration, leaf photosynthetic pigments and yield of two lettuce cultivars.

Methods: A factorial experiment using completely randomized design was conducted with the two factors of iron fertilizers and lettuce cultivars (Teresa and California) and three replications in hydroponic culture. Iron fertilizer treatments were: T_1 and T_2 indicating 20 and 40 μmol L^{-1} of Fe as Fe-EDDHA, respectively, and T_3 and T_5 representative of 20 and 40 μmol L^{-1} of Fe as nano iron chelate, respectively (provided that this fertilizer can supply Zn and Mn required for the plant). In T_3 and T_5 treatments, part of Zn and Mn in the nutrient solution was supplied from nano iron chelate and the remaining amounts were supplied from zinc sulfate and manganese sulfate, respectively. In T_4 and T_6 treatments, 20 and 40 μmol L^{-1} of Fe as nano iron chelate were applied, respectively (provided that this fertilizer is not able to supply Zn and Mn required for the plant). In T_4 and T_6 treatments, all applied amounts of Zn and Mn in the nutrient solution were supplied from zinc sulfate and manganese sulfate, respectively, and the ability of nano iron chelate in supplying these elements was ignored. Lettuce seedlings were transferred in 2 L plastic vessels (one plant per vessel) containing aerated nutrient solutions. Eight weeks after transplanting, chlorophyll a, b and (a+b), and carotenoids were quantified using Saini method (2). Then, plants were harvested and fresh weights of shoot and root were determined. Plant organs were dried and dry weights of shoot and root were measured. Plant samples were ground for nutrient analysis and concentrations of Fe, Mn, Zn and Cu were measured using atomic absorption spectrometer.

Results: The results revealed no significant difference between the application of 20 μmol L^{-1} of Fe from either nano iron chelate or Fe-EDDHA fertilizers in terms of root and shoot Fe concentrations, leaf total chlorophyll content, leaf chlorophyll b content as well as shoot fresh weight. Also, addition of 40 μmol L^{-1} of Fe from nano iron chelate (provided that this fertilizer can supply Zn and Mn required for the plant) and Fe-EDDHA fertilizers had both the same effect on the leaf chlorophyll and carotenoid contents, root and shoot fresh weights and shoot Fe concentration. Results showed that application of 20 and 40 μmol L^{-1} of Fe as nano iron chelate significantly increased Mn and Zn contents in root and shoot as compared with Fe-EDDHA. Based on the results, nano iron chelate can release Zn and Mn in the nutrient solution for production of lettuce.

Conclusions: The sustainable release of nutrients from nano iron chelate showed that this fertilizer may be used as a source of Fe, Zn and Mn for lettuce plants and could be a promising substitution for Fe-EDDHA in nutrient solutions. Further studies on the potential risk to the environment and food safety of this fertilizer need to be considered.

References:

1. Roosta, H.R., Jalali, M., Vakili Shahrbabaki, S.M.A., 2015. Effect of nano Fe-chelate, Fe-EDDHA and $FeSO_4$ on vegetative growth, physiological parameters and some nutrient elements concentrations of four varieties of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in NFT system. *Journal of Plant Nutrition* 38(14): 2176–2184.
2. Saini, R.S., Sharma, K.D., Dhankhar, O.P., Kaushik, R.A., 2001. Laboratory Manual of Analytical Techniques in Horticulture. Agrobios, India.