نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی
سال نهم / شماره چهارم / زمستان ۱۳۹۸

مقایسه روش محلول‌پاشی و مصرف خاکی آهن بر ویژگی فیزیولوژیکی- بیوشیمیایی و آهن فعال گیاه یونجه یکساله (*Medicago scutellata* L.) در مقادیر مختلف آهک در خاک

زهرا قشلاقی[۱]، رضا خراسانی[۲*]، محمد کافی[۳] و امیر فتوت[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۱۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۸)

چکیده

کاهش حلالیت آهن در خاک‌های آهکی منجر به بروز علائم زردبرگی در گیاه می‌شود. به‌منظور بررسی پاسخ گیاه یونجه یک‌ساله به کمبود مستقیم و غیر مستقیم آهن، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سه سطح آهک (صفر، چهار و هشت درصد) و پنج سطح آهن (صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم آهن بر کیلوگرم خاک و صفر و ۲/۱ میکرومولار آهن به‌صورت محلول‌پاشی) بود. دو غلظت صفر آهن در روش مصرف خاکی و محلول‌پاشی آهن به‌ترتیب به‌عنوان کنترل خاکی و محلول‌پاشی درنظر گرفته شد. نتایج نشان داد که افزودن هشت درصد آهک به خاک در تیمارهای کنترل موجب بروز علائم زردبرگی، کاهش غلظت کلروفیل، آهن کل و فعال برگ، پروتئین، محتوای نسبی آب برگ، شاخص پایداری غشا و افزایش غلظت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برگ نسبت به سطح صفر درصد آهک شد؛ درحالی که کاربرد خاکی و محلول‌پاشی آهن موجب بهبود علائم زردبرگی، افزایش غلظت کلروفیل، آهن و پروتئین برگ شد که با کاهش معنی‌دار غلظت ترکیبات فنولیک در هر سه سطح آهک همراه بود. کاربرد محلول‌پاشی برگی در سه سطح آهک، موجب افزایش در جذب آهن کل و فعال برگ نسبت به دو تیمار مصرف خاکی شد. درحالی که محلول‌پاشی آهن در دو سطح چهار و هشت درصد آهک، موجب کاهش معنی‌داری در غلظت ترکیبات فنولیک نسبت به دو تیمار مصرف خاکی شد. بیشترین غلظت کلروفیل برگی در بالاترین سطح آهک، در دو تیمار ۱۰ میلی‌گرم آهن بر کیلوگرم خاک و محلول‌پاشی آهن مشاهده شد. با توجه به نتایج حاصل، استفاده از روش محلول‌پاشی آهن در خاک‌های آهکی برای کاهش اثرات زردبرگی ناشی از آهک توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، زردبرگی، کربنات کلسیم، Fe-EDDHA

۱، ۲ و ۴. به‌ترتیب دانش‌آموخته دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳. استاد، گروه اگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: khorasani@um.ac.ir

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

مقدمه

آهن یکی از فراوان‌ترین عناصر در پوسته کره زمین محسوب می‌شود با این حال در محیط‌های غنی از اکسیژن، این عنصر در فرم فریک (Fe^{3+}) و عمدتاً به‌صورت اکسید و هیدروکسید یافت می‌شود که بسیار پایدار است و در pH طبیعی به‌ندرت به حالت محلول در می‌آید. به همین دلیل معمولاً غلظت آهن در خاک بسیار کمتر از غلظت مورد نیاز برای رشد بهینه گیاه است (۳۹). این مسئله به‌ویژه در خاک‌های آهکی که ۳۰ درصد خاک‌های زمین را تشکیل می‌دهند، تشدید می‌شود. گیاهان رشدیافته در خاک‌های آهکی معمولاً علائم کمبود آهن را به‌صورت زردبرگی (iron deficiency chlorosis, IDC) نشان می‌دهند؛ این پدیده یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی و یکی از عوامل محدودکننده در جذب آهن و سایر فلزات کم‌مصرف از جمله منگنز و مس (۱۱) محسوب می‌شود که نتیجه آن کاهش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی در خاک‌های آهکی است (۷). زردبرگی ناشی از آهک نتیجه عوامل متعددی است که فراهمی زیستی، جذب و یا مصرف آهن توسط گیاهان را محدود می‌کند (۱) در میان این عوامل، قلیائیت خاک یکی از رایج‌ترین عوامل ایجاد کننده این اختلال تغذیه‌ای است که معمولاً با حضور غلظت زیاد یون‌های بی‌کربنات و کربنات‌ها در محلول خاک یا آب‌های آبیاری همراه است (۱۹). غلظت‌های زیاد بی‌کربنات در محلول خاک، اگرچه به‌عنوان بافر عمل می‌کند اما pH محلول خاک را افزایش می‌دهد و از این‌رو موجب کاهش فراهمی آهن در محلول خاک می‌شود و همچنین به‌دلیل نفوذ این آنیون‌ها به داخل آپوپلاست سلول‌های ریشه و خنثی کردن دفع پروتون، جذب آهن توسط سلول‌های ریشه را کاهش می‌دهد؛ این اتفاق حتی در حضور منابعی از آهن مانند سکوسترین آهن (Fe (III) -EDDHA) که در رنج وسیعی از pH (۴-۹) قابلیت فراهمی آهن در محلول خاک را دارد، نیز اتفاق می‌افتد. (۳۲) بنابراین، زردبرگی ناشی از آهک یا کمبود غیرمستقیم آهن (IDC) فراتر از کمبود مستقیم آهن (Direct Deficiency, DD) در pH طبیعی است. هرچند زردبرگی در هر دو مورد رخ می‌دهد، اما کاملاً مشخص نیست که این دو علائم کاملاً معادل یکدیگر باشند. غلظت‌های زیاد بی‌کربنات در خاک‌های آهکی همراه با pH قلیایی باعث ایجاد سمیت در سلول‌های گیاهی از طریق تولید رادیکال‌های آزاد (ROS) می‌شوند. مطالعات اخیر نشان دادند که تجمع ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، یکی از مکانیسم‌های دفاع غیر آنزیمی گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو القا شده در شرایط تنش شوری و قلیائیت است. این ترکیبات علاوه بر اینکه به‌عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش عمل می‌کنند، به‌عنوان تعدیل‌کننده در جذب آهن نقش چندگانه‌ای دارند، فنولیک‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم حلالیت آهن را بهبود دهند که عمدتاً به‌دلیل قابلیت احیاکنندگی و تشکیل کلات در آنهاست یا استفاده مجدد از آهن آپوپلاستی ریشه را تسهیل کنند و با فعالیت آللوپاتی که دارند جوامع میکروبی ریزوسفر را تحت تأثیر قرار دهند تا به تولید سیدروفور و آکسین بپردازند (۳۷).

گیاهان مختلف در حساسیت و مقاومت خود به کمبود آهن متفاوت هستند. تنوع در توانایی جذب و انتقال آهن در گیاه در بسیاری از گونه‌ها مشاهده شده است. برخی از گونه‌ها به کمبود آهن با واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی واکنش نشان می‌دهند که در نتیجه آن آهن بیشتری جذب گیاه می‌شود. این گیاهان به‌عنوان گیاهان آهن کارا طبقه بندی می‌شوند (۱۴). یونجه یک‌ساله یکی از مهم‌ترین گیاهان خانواده لگوم است که به شرایط خاک‌های آهکی سازگار است و به‌طور طبیعی در زیستگاه‌هایی با شرایط خاک‌های آهکی و قلیایی رویش می‌کند، از ۳۴ گونه موجود در جهان؛ ۲۳ گونه آن در ایران یافت شده است (۱۵ و ۳۰). در مناطقی با اقلیم خشک و نیمه‌خشک ایران به دلایلی همچون کمی بارش، قلیایی بودن خاک‌ها و بالا بودن میزان آهک خاک، یونجه های یک‌ساله مناسب‌ترین لگوم‌ها برای اجرای تناوب غله – مرتع هستند. این گیاه دارای ارزش اقتصادی و زیست‌محیطی بسیاری است و می‌تواند در شرایط خاک‌های شور، قلیا و یا خاک های آلوده به عناصر سنگین رشد کند (۲). بر اساس اطلاعات موجود، هیچ‌گونه علائمی از

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

زردبرگی در این گیاه در شرایط رشد مزرعه (طبیعی) مشاهده نشده است. بر این اساس از این گیاه به‌عنوان یک گیاه مدل (مقاوم به شرایط آهکی خاک) برای شناسایی مکانیسم‌های سازگاری گیاه به زردبرگی ناشی از آهک استفاده شد.

پدیده IDC معمولاً با استفاده از مصرف خاکی کلات‌های مصنوعی آهن فریک کنترل می‌شود، اما این دسته از کودها به‌طور کامل نتوانسته‌اند در کاهش IDC در این خاک‌ها موفق باشند، این روش باید سالانه تکرار شود زیرا آهن به‌سرعت در خاک غیر متحرک می‌شود و از سوی دیگر، عوامل کلات‌کننده ممکن است جذب فلزات دیگر مانند منگنز، مس و نیکل را نیز برای گیاه تحت تأثیر قرار دهد (۳). با این حال محلول‌پاشی آهن اگر در زمان مناسب اعمال شود می‌تواند به‌عنوان یکی از روش‌های کارامد برای اصلاح زردبرگی محسوب شود (۱۰). روش محلول‌پاشی نسبت به روش کاربرد خاکی آهن به‌دلیل مصرف کمتر کودهای آهن از لحاظ اقتصادی سودآور و سازگار با محیط زیست محسوب می‌شود. پژوهش‌های زیادی همچنان در حال شناسایی روشی مؤثر برای بهبود وضعیت تغذیه آهن در گیاهان، به‌ویژه در شرایط خاک‌های آهکی هستند و باید با توجه به شرایط خاکی، نوع گیاه و نوع تنش مربوطه، بهترین روش مؤثر در بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه انتخاب شود تا بتواند علاوه بر کاهش اثرات کلروز کمبود آهن با کاهش مصرف کودها باعث حفاظت از محیط زیست شود. از این‌رو توجه به مدیریت تغذیه‌ای گیاهان و مکانیسم‌های سازگاری آنها به زردبرگی ناشی از آهک ضروری است تا بتوان رشد گیاهان را در شرایط خاک‌های آهکی از طریق رویکردهای مناسب بهبود بخشید. با توجه به مطالب بالا این پژوهش با دو هدف اصلی بررسی تأثیرات مصرف خاکی و محلول‌پاشی آهن بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه و شناسایی روشی کارامد برای اصلاح زردبرگی در شرایط خاک‌های آهکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تیمارهای آزمایش و نمونه‌برداری خاک

این آزمایش به‌صورت کشت گلدانی در سال ۱۳۹۶ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به اجرا درآمد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو شکل مصرف آهن با غلظت‌های مختلف (صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم آهن بر کیلوگرم خاک به‌صورت مصرف خاکی و صفر و ۲/۱ میکرومولار آهن به صورت محلول‌پاشی) و سه سطح آهک (صفر، چهار و هشت درصد) در سه تکرار روی گیاه یونجه یک‌ساله (*Medicago scutellata* (L.) Mill.) انجام گرفت. در این آزمایش غلظت صفر میلی‌گرم آهن بر کیلوگرم خاک به‌عنوان کنترل خاکی (Control-S) و غلظت صفر میلی‌گرم آهن بر لیتر آب، به مفهوم برگ‌پاشی با آب مقطر، به‌عنوان کنترل محلول‌پاشی (control-F) نام‌گذاری شد. در هر دو روش مصرف آهن، منبع آهن از کود سکوسترین آهن شش درصد (Fe-EDDHA) و آهک به‌صورت کربنات کلسیم خالص تأمین شد. انتخاب غلظت‌های آهن بر اساس عرف منطقه برای گیاهان زراعی و منابع موجود انتخاب شد (۳ و ۱۰) با توجه به هدف آزمایش و نیاز داشتن به خاکی با درصد کم آهک، خاک مورد نیاز در این آزمایش از منطقه کشاورزی اطراف چناران، مشهد- خراسان رضوی (عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۸ دقیقه شمالی؛ طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۶ دقیقه شرقی) جمع‌آوری شد و بعد از هوا خشک کردن از الک دو میلی‌متری عبور داده شد، بافت خاک و برخی از ویژگی‌های خاک نمونه‌برداری شده آزمایش و از این خاک برای اعمال تیمارها و ادامه آزمایش استفاده شد (جدول ۱). با توجه به نتایج آنالیز خاک و سطح بحرانی آهن قابل دسترس (Fe-DTPA) برای بیشتر گیاهان در خاک که معادل پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک گزارش شده است (۲۴)، خاک مورد استفاده در این آزمایش در شرایط کمبود آهن قرار داشت.

نحوه اعمال تیمارها

به‌منظور به تعادل رسیدن خاک اولیه با آهک، خاک به‌مدت دو ماه با صفر، چهار و هشت درصد آهک با ایجاد چرخه‌های مرطوب کردن (۵۰ درصد رطوبت زراعی) و هوا خشک کردن متوالی به تعادل رسید. سپس بر اساس تیمارها کود سکوسترین آهن به

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

جدول ۱. برخی از ویژگی‌های خاک نمونه‌برداری شده در آزمایش (فسفر و پتاسیم قابل استفاده برای گیاه)

EC_e	pH	CEC	نیتروژن کل	کربن آلی	کربنات کلسیم معادل کل	کربنات کلسیم معادل فعال	فسفر	پتاسیم	آهن قابل دسترس
(دسی‌زیمنس بر متر)		(سانتی‌مول بار مثبت بر کیلوگرم خاک)	(درصد)				(میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)		
۳/۹۸	۷/۷	۱۲/۲۱	۰/۱۰۲	۱/۲	۵/۷	۱/۹	۳۸/۵	۳۱۷/۴	۳/۶

خاک اضافه شد و در مورد تیمار محلول‌پاشی، بدون اضافه کردن کود سکوسترین آهن به خاک، بعد از کشت گیاه از روش محلول‌پاشی برگی (سه نوبت در ۲۱، ۲۸ و ۳۵ روز بعد از کشت گیاه، هر بار به‌میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر) استفاده شد.

کاشت بذر و نگهداری گیاهان

بذرهای یونجه یک‌ساله (اسکوتلاتا) بعد از استریل شدن در سطح خاک در گلدان‌های چهار کیلوگرمی کاشته شدند. بعد از اتمام کامل جوانه زنی بذرها (هفت روز)، تعداد گیاهچه‌ها در هر گلدان به ۲۰ عدد رسانده شد و تا اتمام زمان آزمایش (۴۶ روز بعد از کاشت بذر) کلیه گلدان‌ها در حد رطوبت زراعی با استفاده از سیستم آبیاری قطره‌ای اتوماتیک (دستگاه تایمر ۲۴ ساعته) آبیاری شدند. یک روز قبل از پایان آزمایش نمونه‌برداری از گیاهان برای اندازه‌گیری پارامترهای کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، شاخص پایداری غشا (MSI) و آهن فعال انجام شد.

برداشت گیاه و اندازه‌گیری غلظت آهن

در پایان دوره آزمایش از هر گلدان ۱۰ گیاه به‌طور تصادفی انتخاب و بلافاصله در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایش‌های بعدی (پروتئین، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل) نگهداری شد. بقیه گیاهان نیز بعد از تفکیک ریشه و برگ و اندازه‌گیری وزن تازه اندام‌ها، برای خشک‌شدن به آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند. پس از آماده‌سازی و هضم مرطوب نمونه‌ها، غلظت آهن در ریشه و برگ گیاه یونجه یک‌ساله با استفاده از دستگاه ICP-OES مدل (Spectro, Arcos, Germany) برحسب میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاهی اندازه‌گیری و گزارش شد (۱۸).

محتوای نسبی آب برگ و شاخص پایداری غشا (RWC, MSI):

RWC با استفاده از روش ویترلی و همکاران (۴۰) و با اندازه‌گیری وزن تازه، آب‌گیری‌شده و خشک نمونه‌های برگی به‌صورت درصد محاسبه شد. میزان پایداری غشا از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیتی برگ با استفاده از روش دیشموخت (۱۲) ارزیابی شد.

کلروفیل کل

به‌منظور عصاره‌گیری و تعیین کلروفیل کل، بافت تازه برگ با حلال استون ۸۰ درصد ساییده و عصاره‌گیری شد. سپس محلول مدنظر در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ g به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. میزان جذب نور در محلول حاصل در دو طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری و میزان کلروفیل کل با استفاده از روش آرنون (۵) برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ محاسبه شد.

سنجش غلظت پروتئین به روش برادفورد

به‌منظور استخراج پروتئین از برگ‌های گیاه یونجه اسکوتلاتا، یک گرم بافت تازه برگ در هاون چینی با بافر TRIC- HCl ۰/۰۵ مولار با (pH=۷/۵) به‌طور کامل در دمای صفر تا چهار درجه سانتی‌گراد ساییده شد. محلول حاصل پس از سانتریفیوژ به‌مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g و دمای چهار درجه سانتی‌گراد برای سنجش غلظت پروتئین محلول، با افزودن عصاره پروتئینی و

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

معرف بیوره استفاده و پس از دو دقیقه، جذب محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (۶).

آهن فعال (آهن عصاره‌گیری‌شده با ۱،۱۰ فنانترولین):

آهن فعال در بافت تازه برگ گیاه یونجه یک‌ساله به روش کاتیال و شارما (۲۰) اندازه‌گیری شد. در این روش از ۱،۱۰ فنانترولین برای استخراج آهن به‌عنوان معرف در محلول استخراج شده از بافت گیاهی استفاده شد و سپس مقدار تثبیت شده آهن فعال در محلول حاصل با دستگاه جذب اتمی قرائت شد.

اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل

استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بر اساس روش آلوارز پاریلا و همکاران با برخی اصلاحات انجام شد (۴). حدود ۲۰۰ میلی گرم برگ تازه پودر شده در نیتروژن مایع با محلول ۸۰ درصد متانول مخلوط شد، سپس محلول حاصل پس از شیک و سانتریفیوژ g ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه در چهار درجه سانتی‌گراد جمع‌آوری شد. حلال با استفاده از فریز درایر (Freeze Drier, FD-۴) برای ۷۲ ساعت در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد خشک و از عصاره خشک‌شده حاصل برای اندازه‌گیری محتوای کل فنولیک و فلاونوئیدها استفاده شد. اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل با روش فولین شیکالتو با کمی اصلاحات انجام شد (۲۷). عصاره خشک شده در مرحله قبل در متانول ۸۰ درصد حل سپس ۵۰۰ میکرولیتر ازمحلول حاصل با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین-شیکالتو ۱۰ درصد (v/v) مخلوط و پس از اضافه کردن کربنات سدیم، جذب در نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفوتومتر در ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ترکیبات فنلی به‌صورت میلی‌گرم معادل گالیک اسید (GAE) بر گرم وزن خشک برگ بیان شد. محتوای فلاونوئیدی نیز با استفاده از آزمون رنگ سنجی با توجه روش منی‌چینی و همکاران با کمی تغییرات جزئی، تعیین شد (۲۸). ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با آب مقطر دیونیزه و نیتریت سدیم پنج درصد مخلوط و پس از افزودن آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد و هیدروکسید سدیم ۰/۵ مولار، جذب محلول حاصل در ۴۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج به‌صورت میلی‌گرم معادل روتین (RuE) در هر گرم وزن خشک با استفاده از منحنی کالیبراسیون روتین (R^2=۰/۹۹۷) بیان شد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 13.0 ارزیابی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح پنج درصد و رسم نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Sigma Plot 11 صورت گرفت و برای ارزیابی روابط بین مقادیر کلروفیل برگ و غلظت آهن فعال و ترکیبات فنولیک برگ (شکل ۴ و ۷) مدل Least-squares fit linear models با معنی‌داری همبستگی در سطح ۰/۰۱ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش تیمار آهن و آهک بر وزن خشک ساقه، ریشه و همچنین نسبت وزن تازه ریشه به وزن خشک برگ در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش غلظت آهک از صفر تا هشت درصد وزن خشک ساقه و ریشه در تیمار Control-S با شیب بیشتری نسبت به تغییرات آن در تیمارهای ۵ Fe و ۱۰ Fe کاهش یافته است. بیشترین و کمترین وزن خشک ساقه و ریشه در تیمار محلول‌پاشی آهن به‌ترتیب در سطح آهک صفر و هشت درصد مشاهده شد؛ با افزایش غلظت آهک در خاک، وزن خشک ساقه و ریشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند. نتایج مربوط به نسبت وزن تازه ریشه به وزن خشک برگ نشان داد که با افزایش سطح آهک از صفر به چهار درصد در خاک، این نسبت در کلیه تیمارها روندی افزایشی داشته است. افزایش این نسبت عمدتاً مربوط به کاهش بیشتر زیست‌توده اندام هوایی نسبت به ریشه در شرایط تنش کمبود آهن است. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تیمار آهن و آهک بر وزن تازه و خشک برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

بیشترین وزن تازه و خشک برگ در تیمار محلول پاشی آهن

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثرهای اصلی و برهم‌کنش فاکتورها بر وزن تازه و خشک اندام‌های گیاه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		وزن تازه ریشه	وزن تازه برگ	وزن تازه ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	نسبت ریشه به برگ
سطح آهن	۴	۰/۲۹^{ns}	۰/۹۵*	۰/۰۹^{ns}	۰/۰۳**	۰/۰۸**	۰/۰۰۲**	۱/۰۶**
سطح آهک	۲	۱/۷۵**	۸/۵۷**	۰/۸۳*	۰/۲۱**	۰/۶۶**	۰/۰۱**	۰/۷۸**
سطح آهن × سطح آهک	۸	۰/۲۱^{ns}	۰/۳۲^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۰/۰۳**	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۰۱**	۰/۳۹**
خطا	۳۰	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۰۰۲	۰/۰۲	۰/۰۰۰۰۰۵	۰/۰۴

** و * به‌ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و ns بدون اختلاف معنی‌دار

(Fe-Foliar) و تیمار مصرف خاکی آهن (۱۰ Fe) مشاهده شد. با افزایش غلظت آهک از صفر تا هشت درصد در تیمارهای ۵ Fe و ۱۰ Fe نسبت ریشه به برگ افزایش یافت اما در تیمار محلول‌پاشی آهن (Fe-Foliar)، این نسبت به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که بیانگر این مطلب است که چون محلول‌پاشی آهن نسبت به تیمار کنترل موجب افزایش معنی‌داری در وزن تر و خشک برگ شده است به همین دلیل در این تیمار با افزایش غلظت آهک در خاک وزن تر ریشه بیشتر از وزن خشک برگ کاهش یافته است. مقایسه میانگین‌های اثر ساده سطوح آهک بر وزن خشک برگ، وزن تازه ساقه، برگ و ریشه نشان داد که افزایش غلظت آهک تا هشت درصد موجب کاهش معنی‌داری در وزن اندام‌های گیاهی شده است و وزن برگ بیشتر از وزن سایر اندام‌ها تحت تأثیر غلظت زیاد آهک در خاک قرار گرفته است.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش تیمار آهن و آهک بر RWC و MSI در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۳).افزایش غلظت آهک موجب کاهش شدیدی در RWC و MSI شد که یکی از دلایل آن می‌تواند مربوط به تأثیر غلظت‌های زیاد آهک در خاک روی افزایش اثر تنش اسمزی و همچنین یونی در گیاه باشد (۳۱). به عبارتی با افزایش غلظت آهک در خاک فراهمی و قابلیت استفاده آب در خاک برای گیاه کاهش یافته است که با افزایش نسبت وزن ریشه به برگ همراه بود. افزایش غلظت آهک از یک طرف با ایجاد اختلال در جذب آهن توسط گیاه، موجب ایجاد عدم تعادل در جذب سایر عناصر غذایی شده است و از طرفی به‌علت تأثیر و نقش یون‌های بی‌کربنات در افزایش pH رایزوسفر و تأثیر بر نفوذپذیری غشا موجب کاهش شاخص پایداری غشا و همچنین مقدار RWC می‌شود (۹ و ۲۹). افزایش غلظت کلسیم در خاک به‌واسطه حضور مقادیر زیاد آهک تا حدودی می‌تواند موجب کاهش جذب آهن در گیاه به‌علت وجود رابطه آنتاگونیسمی بین آنها شود، از طرفی جذب زیاد کلسیم توسط ریشه ممکن است موجب برهم زدن تعادل یونی و دفع پروتون‌ها شود که نتیجه آن رسوب آهن در آپوپلاست ریشه خواهد بود (۱). افزایش نسبت وزن ریشه به اندام هوایی در گیاهان در شرایط کمبود آهن با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت داشت (۱۶ و ۴۳). افزایش این نسبت یکی از مکانیسم‌های گیاه در شرایط کمبود آهن محسوب می‌شود که با افزایش تعداد ریشه‌های ثانویه و تمایز سلول‌ها در مریستم ریشه همراه است (۲۹). در مقایسه با این نتایج، گونه‌های دیگر مانند چغندرقند در شرایط کمبود آهن محدودیت رشد بیشتری را در ریشه‌ها نسبت به اندام هوایی نشان دادند (۳۶).

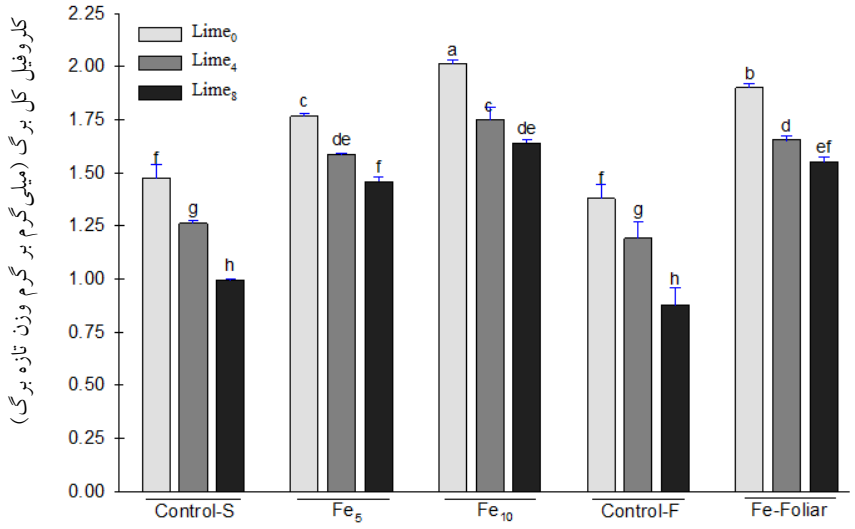
نتایج مربوط به غلظت کلروفیل در برگ‌های گیاه یونجه یک‌ساله نشان داد که هیچ اثری از زردبرگی در تیمار کمبود مستقیم آهن (Control-S Lime$_{0}$) مشاهده نشد در حالی‌که در تیمار کمبود غیر مستقیم آهن (Control-S Lime$_{8}$) علائم زردبرگی به وضوح مشاهده شد (شکل ۱). با افزایش

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس اثرهای اصلی و برهم‌کنش تیمارها بر پارامترهای فیزیولوژیکی و غلظت و جذب آهن در گیاه یونجه یک‌ساله

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		کلروفیل	محتوای نسبی آب برگ	شاخص پایداری غشا	غلظت آهن ریشه	جذب آهن برگ	جذب آهن فعال برگ	جذب آهن ریشه
سطح آهن	۴	۰/۶۱**	۲۹۰/۵۲**	۲۶۳/۸۳**	۲۴۶۹۶۳۴/۴۵**	۲۳۴۸۵/۰۵**	۱۵۰۴/۶۸**	۱۱۰۳۸۷۱/۴۴**
سطح آهک	۲	۰/۵۹**	۲۷۴۵/۱۵**	۲۵۲۹/۰۵**	۳۴۴۷۱۱/۴۱**	۵۵۴۹۵/۵۱**	۵۰۳۶/۱۵**	۶۹۰۴/۰۱^{ns}
سطح آهن × سطح آهک	۸	۰/۰۱*	۲۹/۷۹**	۲۷/۸۹**	۳۳۳۶۰۰/۱۷**	۹۶۸/۶۷^{ns}	۴۴/۸۹^{ns}	۲۳۵۱۹۴/۸۹**
خطا	۳۰	۰/۰۱	۸/۳۲	۷/۱۵	۳۳۵۳/۳۴	۴۳۹/۵۸	۳۱/۴۹	۴۱۵۲/۴۶

** و * به‌ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و ns بدون اختلاف معنی‌دار



شکل ۱. برهم‌کنش مصرف آهن (خاکی و محلول‌پاشی) و سطوح آهک بر غلظت کلروفیل برگ. حروف مشترک در ستون‌ها، طبق آزمون دانکن نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد بین تیمارها است.

غلظت آهک، مقدار کلروفیل در برگ گیاهان به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، در سطح صفر و چهار درصد آهک، بیشترین مقدار کلروفیل در تیمار ۱۰ Fe مصرف خاکی کود سکوسترین آهن مشاهده شد درحالی که در سطوح هشت درصد آهک، بین دو تیمار ۱۰ Fe مصرف خاکی آهن و تیمار محلول‌پاشی (Fe-Foliar) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

محلول‌پاشی آهن موجب افزایش معنی‌داری در غلظت کلروفیل در هر سه سطح آهک نسبت به تیمار کنترل شد (شکل ۱). این نتایج با گزارش‌های آبادیا و همکاران و آلوارز فرناندز و همکاران مبنی برتأثیر محلول‌پاشی کلات آهن (III) بر افزایش غلظت کلروفیل و آهن برگ مطابقت داشت (۱ و ۳). همچنین نتایج مطالعات قبلی نشان داد که محلول‌پاشی محلول‌های حاوی آهن همواره منجر به افزایش کلروفیل برگ شد به‌طوری که درصد افزایش آن تابع نوع منبع آهن مورد استفاده بود (۱۱). همچنین این پژوهشگران اعلام کردند که برگ‌پاشی آهن روی درختان گلابی در شرایط خاک‌های آهکی باعث بهبود غلظت کلروفیل در برگ شد (۱۱ و ۱۷).

نتایج واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش تیمار آهن و

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

آهک بر غلظت آهن کل و فعال (Fe^{2+}) برگ‌ها به‌ترتیب در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). مصرف خاکی آهن (۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، در سطح صفر درصد آهک موجب افزایش معنی‌داری در غلظت آهن در برگ‌های گیاه نسبت به تیمار کنترل خاکی (Control-S) شد، این در حالی است که در سطوح چهار و هشت درصد آهک در خاک، مصرف خاکی آهن با نرخ کمتری غلظت آهن در برگ‌ها را افزایش داده است (شکل ۲). محلول‌پاشی آهن نیز در هر سه سطح آهک باعث افزایش معنی‌داری در غلظت آهن برگ نسبت به تیمار کنترل محلول‌پاشی (Control-F) شد (شکل ۲)؛ به‌طوری که بیشترین غلظت آهن در برگ و در هر سه سطح آهک در تیمار محلول‌پاشی آهن مشاهده شد. نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌های برهم‌کنش مصرف خاکی و محلول‌پاشی آهن و سطوح آهک بر غلظت آهن فعال در برگ‌ها نشان داد که با افزایش غلظت آهک در خاک، در کلیه تیمارها، غلظت آهن دوظرفیتی در برگ گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۲).

مصرف خاکی و محلول‌پاشی آهن موجب افزایش معنی‌داری در غلظت آهن فعال برگ‌ها نسبت به تیمار کنترل در سه سطح آهک شد. محلول‌پاشی آهن موجب شد که غلظت آهن فعال در برگ‌ها با افزایش سطح آهک در خاک با شیب کمتری کاهش یابد به عبارتی غلظت آهن فعال در سطح هشت درصد آهک در خاک در تیمارمحلول‌پاشی بیشتر از تیمار ۱۰ Fe و ۵ Fe بوده است (شکل ۲). همان طور که اشاره شد زردبرگی تنها در تیمار کنترل با هشت درصد آهک (Control-S $Lime_{8}$) مشاهده شد (شکل ۱)، اگرچه بین غلظت آهن کل برگ‌ها در تیمار کنترل بین دو سطح چهار و هشت درصد آهک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲) اما چون غلظت آهن فعال در سطح آهک چهار درصد به‌طور معنی‌داری بیشتر از سطح آهک هشت درصد بود (شکل ۲)، درنتیجه علائم کلروز برگی در تیمار Control-S $Lime_{4}$ مشاهده نشد. غلظت آهن در برگ گیاه یونجه یک‌ساله بین دو سطح چهار و هشت درصد آهک در دو سطح مصرف خاکی آهن تفاوت معنی‌داری نداشت درحالی که میزان جذب آهن برگ با افزایش غلظت آهک از چهار به هشت درصد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۲) که علت آن اثر رقت و تأثیر غلظت بی‌کربنات حاصل از آهک در کاهش وزن خشک برگ است که نتیجه آن کاهش جذب آهن در سطوح بالای آهک در خاک است (۲۹).

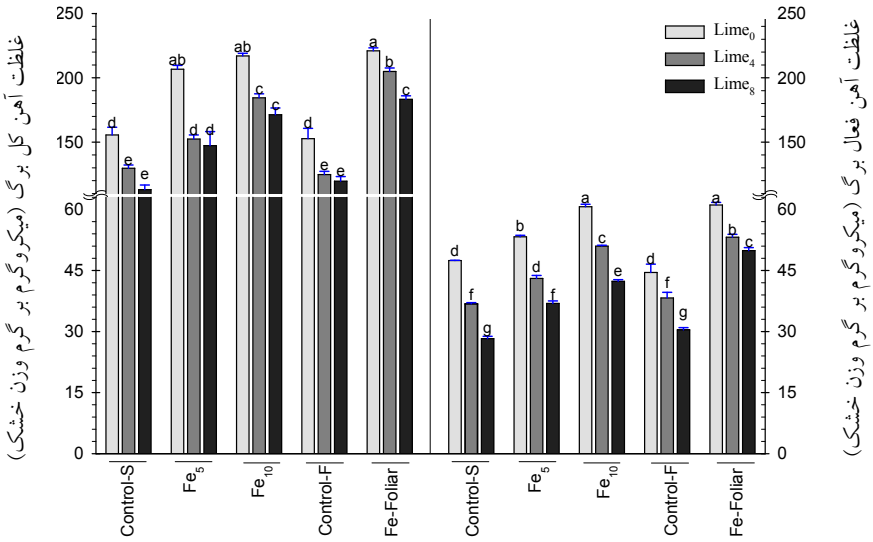
نتایج واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش تیمار آهن و آهک بر غلظت و جذب آهن ریشه گیاه یونجه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). میزان انتقال آهن از ریشه به برگ، در دو تیمار مصرف خاکی آهن (۵ و ۱۰ میلی‌گرم آهن در خاک) با افزایش غلظت آهک (از صفر تا هشت درصد) کاهش یافت، در صورتی که در تیمار کنترل (تیمار بدون آهن) افزایش غلظت آهک اثر افزایشی روی درصد انتقال آهن از ریشه به اندام هوایی داشته است (شکل ۲ و ۳). در تیمار ۱۰ میلی‌گرم آهن بر کیلوگرم خاک، درصد انتقال آهن از ریشه به اندام هوایی از ۲۰ درصد (سطح صفر درصد آهک) به هفت درصد (بالاترین سطح آهک) کاهش یافت. مطالعات انجام‌شده روی گیاه یونجه یک‌ساله نشان داد که پاسخ ریشه گیاه به کمبود مستقیم و غیرمستقیم آهن متفاوت است و در شرایط کمبود آهن در حضور آهک، تراوش ترکیبات فلاونوئیدی به خارج از ریشه نسبت به شرایط کمبود مستقیم آهن کاهش یافت که نتیجه آن کاهش غلظت کلروفیل و آهن برگ در شرایط حضور آهک، به‌دلیل عدم انتقال مناسب آهن از ریشه به برگ، بوده است (۳۳ و ۳۵). این نتایج همچنین مطابق نتایج چبی و همکاران است (۹). آنها گزارش کردند که در گیاه کاهو به‌عنوان یک گیاه استراتژی I در جذب آهن، حضور یون‌های بی‌کربنات موجب کاهش معنی‌داری در انتقال آهن از ریشه به برگ شده است. در تیمار کنترل درصد انتقال آهن از ریشه به برگ در سطح آهک صفر، چهار و هشت درصد به‌ترتیب ۲۱، ۲۸ و ۲۵ درصد بوده است که علت آن می‌تواند مربوط به پاسخ‌های متابولیکی گیاه در شرایط کمبود آهن باشد. همان‌طور که مطالعات بسیاری نشان داده است که گیاهان آهن کارا در شرایط کمبود آهن از مکانیسم‌هایی متفاوتی (کاهش اسیدیته رایزوسفر، تراوش‌های ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و اسیدهای آلی) برای افزایش جذب آهن توسط ریشه از محیط رشد و به‌دنبال آن افزایش

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس اثرهای اصلی و برهم‌کنش تیمارها بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی و غلظت آهن برگ در گیاه یونجه یک‌ساله

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		پروتئین	غلظت آهن برگ	غلظت آهن فعال برگ	فلاونوئید کل برگ	فنل کل برگ
سطح آهن	۴	۸۷/۶۹**	۱۰۳۴۸/۱۱**	۶۲۱/۸۶**	۲۷/۹۷**	۴۹۶/۸۴**
سطح آهک	۲	۵۹۹/۶۵**	۷۴۶۹/۵۱**	۹۴۳/۷۳**	۴۲/۶۳**	۸۲۹/۳۸**
سطح آهن × سطح آهک	۸	۴۷/۲۷*	۱۶۹/۲۸**	۷/۹۷**	۴/۶۰**	۱۰۵/۱۶^{ns}
خطا	۳۰	۱/۵۹	۷۲/۷۵	۰/۷۷	۰/۰۷	۱/۷۲

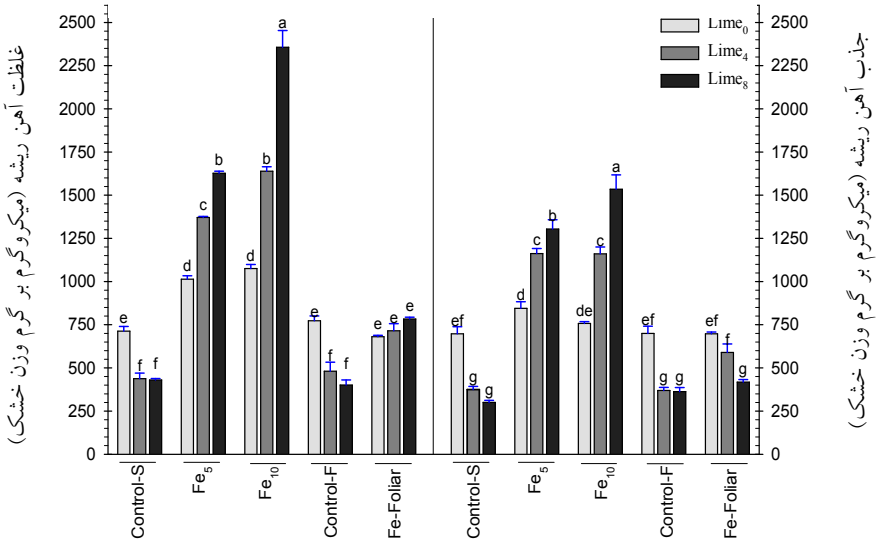
** و * به‌ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و ns بدون اختلاف معنی‌دار



شکل ۲. برهم‌کنش مصرف آهن (خاکی و محلول‌پاشی) و سطوح آهک بر غلظت آهن کل و آهن فعال در برگ گیاه یونجه یک‌ساله. حروف مشترک در ستون‌ها، طبق آزمون دانکن نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد بین تیمارها است.

انتقال آهن جذب شده از ریشه به برگ استفاده می‌کنند (۱۴ و ۲۵). در تیمار کنترل، افزایش غلظت آهک در خاک از چهار به هشت درصد، اثر معنی‌داری روی غلظت آهن ریشه گیاه یونجه نداشته است (شکل ۳). درحالی که در هر دو سطح مصرف خاکی آهن (۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، با افزایش غلظت آهک تا هشت درصد، موجب افزایش معنی‌داری در غلظت آهن در ریشه شد. در تیمار محلول‌پاشی آهن نیز بین سه سطح غلظت آهک تفاوت معنی‌داری در غلظت آهن ریشه مشاهده نشد که منطبق با نتایج آلوارز- فرناندز و همکاران مبنی بر کارایی کم انتقال آهن از برگ به ریشه در روش محلول‌پاشی است (۳). بیشترین غلظت آهن در ریشه در تیمار ۱۰ Fe مصرف خاکی آهن مشاهده شد. نتایج حاصل از این پژوهش هم‌راستا با مطالعات آبادیا و همکاران بود، آنها نشان دادند که غلظت آهن در ریشه گیاهان رشد یافته (گیاهان استراتژی I) در خاک‌های آهکی حتی ممکن است بیشتر از سایر گیاهان رشد یافته در خاک‌های غیر آهکی باشد، به این مفهوم که در حضور آهک، آهن توسط ریشه جذب شده اما به‌علت رسوب و غیر متحرک شدن آهن در آپوپلاست ریشه و یا حتی آپوپلاست برگ توانایی شرکت در فعالیت‌های متابولیکی گیاه را ندارد و در نتیجه علائم زردبرگی با وجود غلظت‌های زیاد آهن در برگ بروز می‌کند. همچنین مطالعات پژوهشگران نشان داد که غلظت آهن فعال (قابل استخراج) و همچنین جذب آهن کل در

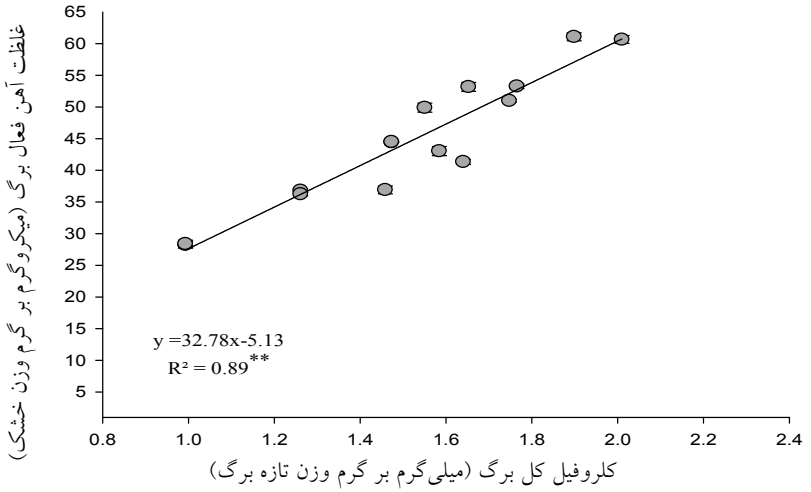
[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]



شکل ۳. برهم‌کنش مصرف آهن (خاکی و محلول‌پاشی) و سطوح آهک بر غلظت و جذب آهن ریشه گیاه یونجه یک‌ساله. حروف مشترک در ستون‌ها، طبق آزمون دانکن نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد بین تیمارها است.

برگ‌های گیاهان در شرایط IDC به مراتب کمتر از گیاهان رشد یافته در شرایط خاک‌های طبیعی است که این پدیده حاکی از انتقال ضعیف و ناکارامد آهن از ریشه به اندام هوایی در این شرایط است، همچنین سایر پژوهشگران گزارش کردند که یکی از مکانیسم‌های بی‌کربنات در کاهش جذب آهن در گیاه و ایجاد زردبرگی، مربوط به اثر این یون در غیرمتحرک‌سازی آهن در آپوپلاست ریشه است (۲۱، ۲۲ و ۲۶). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده مصرف خاکی و محلول‌پاشی آهن و سطوح آهک بر جذب آهن کل و فعال برگ‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳)؛ جذب آهن کل و فعال در برگ گیاه دارای الگوی مشابهی بود و بیشترین جذب آهن کل و فعال در برگ‌ها در تیمار محلول‌پاشی آهن به‌ترتیب ۲۴۱/۷ و ۲۹/۶۵ میکروگرم بر گیاه و کمترین جذب آهن کل و فعال در تیمار کنترل به‌ترتیب با ۱۲۹/۱۸ و ۳۶/۶۷ میکروگرم بر گیاه مشاهده شد. این در حالی است که آهن فعال در تیمار کنترل با ۲۸/۳ درصد از آهن کل در برگ، بیشترین درصد آهن فعال از کل را در بین کلیه تیمارها شامل شد. با افزایش غلظت آهن از صفر به ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک درصد آهن فعال از آهن کل کاهش یافت. همچنین جذب آهن کل و فعال، با افزایش غلظت آهک در خاک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری که اختلاف کاهش در میزان جذب بین دو سطح صفر و چهار درصد آهک به مراتب بیشتر از اختلاف کاهش بین دو سطح چهار و هشت درصد آهک بود. بین غلظت آهن فعال (Fe^{2+}) در برگ‌ها و میزان کلروفیل همبستگی مثبتی (R^2=۰/۸۹) مشاهده شد (شکل ۴) که مشابه این نتایج توسط سایر مطالعات نیز گزارش شده است (۱) گیاهان زمانی که با کمبود آهن مواجه می‌شوند در معرض مشکلات مربوط به عدم تعادل انرژی قرار می‌گیرند. در این شرایط با کمبود آهن درخواست انرژی و نیروی احیاکنندگی، به‌دلیل فعال‌سازی خروج پروتون و احیای آهن (III) و از سوی دیگر از کار افتادن فعالیت میتوکندریایی بیشتر می‌شود (۳۹). در حقیقت، از یک‌سو میتوکندری‌ها به‌عنوان اصلی‌ترین قربانیان کمبود آهن شناخته شده‌اند و از سوی دیگر بیوسنتز کلروفیل به‌شدت کاهش می‌یابد (۸ و ۴۱) که بیانگر همبستگی مثبت بین غلظت آهن فعال (Fe^{2+}) و میزان کلروفیل در برگ‌ها است. با توجه به همبستگی مثبت و قوی بین غلظت آهن فعال و کلروفیل برگ

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]



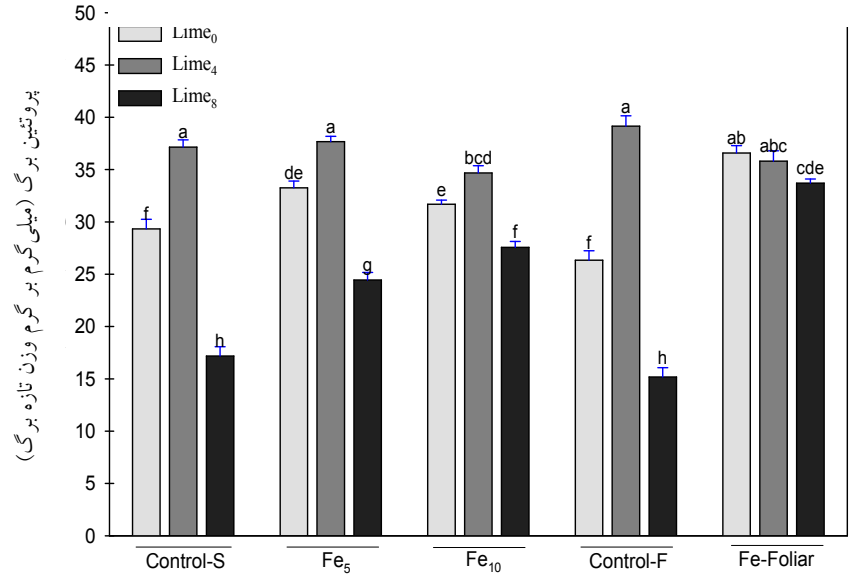
شکل ۴. همبستگی بین غلظت آهن فعال و میزان کلروفیل در برگ گیاه یونجه یک‌ساله

می‌توان نتیجه گرفت که غلظت آهن فعال در برگ‌ها می‌تواند شاخص بهتری برای بررسی زردبرگی در گیاه باشد. همان طور که نتایج نشان داد در برخی از تیمارها با غلظت‌های برابر آهن در برگ نتایج متفاوتی از غلظت کلروفیل و علائم زردبرگی مشاهده شد که تنها بخشی از آن مربوط به اثر رقت بود و علت اصلی آن وجود تفاوت‌های چشمگیر درغلظت‌های آهن فعال در برگ گیاه بوده است (پدیده پارادوکس آهن کلروزیز) که به اختلال فیزیولوژیکی کمبود آهن در گیاه اشاره دارد (۱).

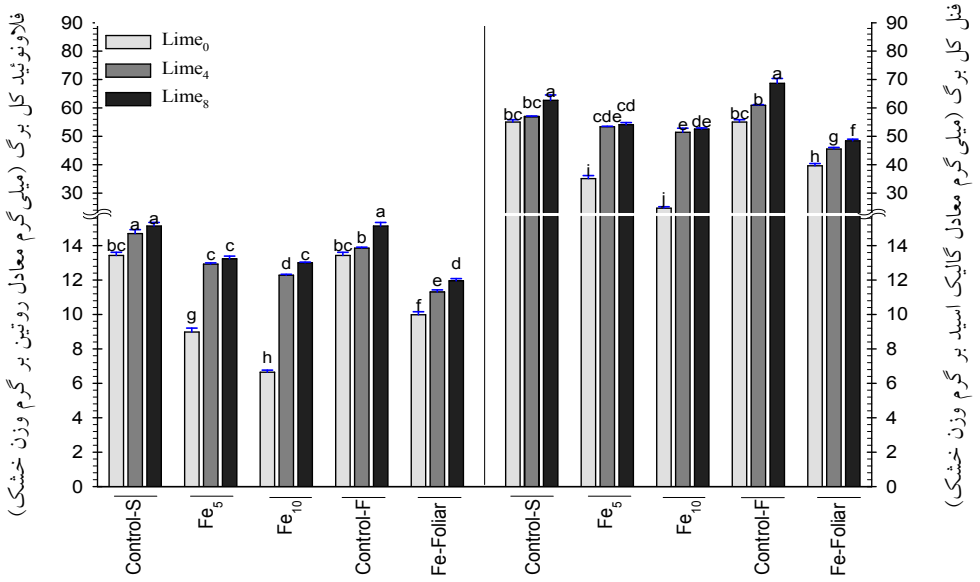
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش تیمار آهن و آهک بر غلظت پروتئین برگ‌ها، فنول و فلاونوئیدهای کل در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). مصرف خاکی کود سکوسترین آهن در دو سطح ۵ و ۱۰ میلی‌گرم آهن بر کیلوگرم خاک، موجب افزایش معنی‌داری در غلظت پروتئین برگ‌ها در دو سطح آهک صفر و هشت درصد نسبت به تیمار کنترل شد (شکل ۵). افزایش غلظت آهک در خاک از صفر تا چهار درصد، در تیمارهای ۰ Fe، ۵ Fe و ۱۰ Fe موجب افزایش معنی‌داری در غلظت پروتئین برگ‌ها شد که یکی از دلایل آن می‌تواند افزایش تولید پروتئین‌های تنشی در گیاه باشد (۸) درحالی که غلظت پروتئین در این تیمارها با افزایش مقدار آهک از چهار تا هشت درصد، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بین غلظت پروتئین در برگ‌ها در تیمار محلول‌پاشی آهن در سه سطح آهک در خاک، تفاوت چشمگیری مشاهده نشد. در دو سطح صفر و هشت درصد آهک غلظت پروتئین در این تیمار نسبت به تیمار کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. یکی از دلایل افزایش غلظت پروتئین در مراحل اولیه تنش و سپس کاهش آن با تشدید تنش، افزایش تولید ترکیبات فنولی و دفع رادیکال‌های آزاد برای افزایش مقاومت گیاه به کمبود آهن ناشی از حضور آهک در خاک است. (۱۶).

نتایج مقایسه میانگین برهم‌کنش مصرف خاکی و محلول‌پاشی آهن و سطوح آهک بر غلظت فنول و فلاونوئیدهای کل در برگ گیاه نشان داد که غلظت فنول کل در برگ‌های گیاه بیشتر از غلظت فلاونوئیدهای کل است (شکل ۶). غلظت این ترکیبات در برگ گیاه با مصرف خاکی آهن (۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) در هر سه سطح آهک به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل کاهش یافت. در هر سه سطح مصرف خاکی آهن (۰ Fe، ۵ Fe و ۱۰ Fe) غلظت فلاونوئید و فنول کل، با افزایش غلظت آهک در خاک از صفر تا هشت درصد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به گونه‌ای که نرخ افزایش غلظت این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بین دو سطح صفر و چهار درصد آهک در هر یک از تیمارها بیش از دو سطح چهار و هشت درصد آهک بوده است (شکل ۶). محلول‌پاشی آهن نیز به‌طور معنی‌داری باعث کاهش غلظت فنول و فلاونوئید کل

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]



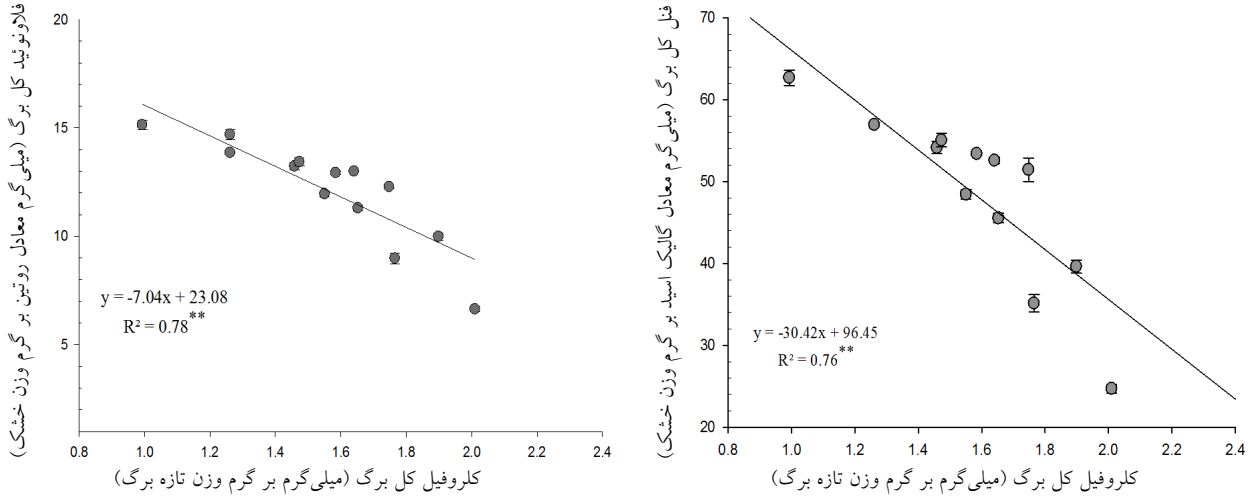
شکل ۵. برهم‌کنش مصرف آهن (خاکی و محلول‌پاشی) و سطوح آهک بر غلظت پروتئین در برگ یونجه یکساله. حروف مشترک در ستون‌ها، طبق آزمون دانکن نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد بین تیمارها است.



شکل ۶. برهم‌کنش مصرف آهن (خاکی و محلول‌پاشی) و سطوح آهک بر غلظت فنول و فلاونوئیدهای کل در برگ گیاه. حروف مشترک در ستون‌ها، طبق آزمون دانکن نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد بین تیمارها است.

در هر سه سطح آهک نسبت به تیمار کنترل شد. در بین دو سطح مصرف خاکی و محلول‌پاشی آهن، بیشترین غلظت فلاونوئید و فنول کل در برگ‌های گیاه در سطح آهک صفر و هشت درصد به‌ترتیب در تیمار محلول‌پاشی آهن و تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم آهن بر کیلوگرم خاک (۵ Fe و ۱۰ Fe) مشاهده شد و کمترین غلظت فلاونوئید و فنول کل در برگ‌های گیاه یونجه در سطوح صفر و هشت درصد آهک به‌ترتیب در تیمار ۱۰ میلی‌گرم آهن بر کیلوگرم خاک (۱۰ Fe) و محلول‌پاشی آهن مشاهده شد.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]



شکل ۷. همبستگی بین غلظت ترکیبات فلاونوئیدی و فنولی و میزان کلروفیل در برگ گیاه

نتایج هسی و واترز نشان داد که در شرایط IDC میزان بیان ژن‌های سنتز ریبوفلاوین در خیار افزایش یافت (۱۹) نتایج این پژوهشگران همچنین نشان داد که اگرچه بین کمبود آهن در pH نرمال و کمبود آهن در شرایط قلیائیت مسیرهای بیان ژن مشترکی وجود دارد و با یکدیگر هم‌پوشانی دارند اما این دو کاملاً مشابه یکدیگر نیستند. مطالعات متابولومیکس اخیر نشان داده است که در شرایط کمبود آهن و قلیائیت تغییرات متابولیکی ریشه گیاه متفاوت است (۳۸). مطالعات نشان داد که در شرایط کمبود آهن در ریشه گیاه یونجه یک‌ساله چندین ژن و پروتئین در مسیر سنتز ریبوفلاوین بیان می‌شود (۳۳، ۳۴ و ۳۵) نتایج نشان داد در این گیاه در شرایط کمبود آهن همراه با تنش قلیائیت، اگرچه غلظت فلاوین‌ها در ریشه گیاه افزایش یافت اما تنها فراوانی برخی از پروتئین‌های مسئول سنتز ریبوفلاوین در ریشه گیاه نسبت به شرایط کمبود آهن در pH نرمال افزایش یافت (۳۳). این در حالی است که در شرایط کمبود آهن همراه با تنش قلیائیت تراوش ترکیبات فلاوینی از ریشه گیاهان نسبت به کمبود آهن کاهش یافت (۳۵). نتایج حاصل از مطالعات نشان داد که بین غلظت کلروفیل و ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در برگ گیاه همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت (شکل ۷).

این نتایج نشان داد که تیمار کنترل (Control-S Lime$_x$) با علائم زردبرگی و با کمترین غلظت کلروفیل دارای بیشترین غلظت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بوده است. افزایش غلظت ترکیبات فنولیک (فنولی و فلاونوئیدی) در گیاه مثال خوبی از انعطاف پذیری متابولیکی است چرا که گیاهان می‌توانند با القای بیوسنتز این مواد در مسیرهای دوطرفه مختلف، به‌سرعت به تنش‌های محیطی و تغذیه‌ای پاسخ دهند (۱۳ و ۲۳).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد، پاسخ گیاه یونجه یک‌ساله (اسکوتلاتا) به کمبود آهن همراه با تنش قلیائیت (کمبود غیر مستقیم آهن)، متفاوت از کمبود مستقیم آهن بود. گیاه تنها در شرایط کمبود غیرمستقیم آهن (IDC) علائم زردبرگی را نشان داد که باعث ایجاد تغییراتی در ویژگی‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه شد، به‌عبارتی مکانیسم پاسخ گیاه یونجه یک‌ساله به زردی ناشی از آهک با کاهش شاخص پایداری غشا، محتوای نسبی آب برگ، غلظت پروتئین و افزایش غلظت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در برگ گیاه نسبت به شرایط کمبود مستقیم آهن همراه بود که نتیجه آن کاهش غلظت آهن فعال و کلروفیل در برگ گیاه بوده است. با توجه به نتایج حاصل، استفاده از روش محلول‌پاشی برگی Fe-EDDHA در خاک‌های آهکی برای کاهش اثرات زردبرگی ناشی از آهک توصیه می‌شود. این روش با افزایش

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

MSI، RWC پروتئین و کاهش غلظت ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی برگ نسبت به تیمار کنترل و مصرف خاکی آهن در سطوح چهار و هشت درصد آهک، از یک‌سو موجب افزایش قابلیت زیستی و جذب آهن کل و فعال در گیاه شد و از سوی دیگر با افزایش غلظت پروتئین و کاهش غلظت ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجب خوش‌خوراکی و افزایش ارزش غذایی یونجه یک‌ساله در شرایط کمبود آهن ناشی از حضور آهک در خاک شد.

منابع مورد استفاده

1. Abadía, J., S. Vázquez, R. Rellán-Álvarez, H. El-Jendoubi, A. Abadía, A. Álvarez-Fernández and A-F. López-Millán. 2011. Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. *Plant Physiology and Biochemistry* 49: 471–482.
2. Alford, C. M., J. M. Krall and S. D. Miller. 2003. Intercropping irrigated corn with annual legumes for fall forage in the high plains. *Agronomy Journal* 95:520–525.
3. Álvarez-Fernández, A., S. García-Marco and J. J. Lucena. 2005. Evaluation of synthetic iron (III)-chelates (EDDHA/Fe^{3+}, EDDHMA/Fe^{3+} and the novel EDDHSA/Fe^{3+}) to correct iron chlorosis. *European Journal of Agronomy* 22:119–130.
4. Alvarez-Parrilla, E., L. A. De La Rosa, R. Amarowicz and F. Shahidi. 2011. Antioxidant activity of fresh and processed jalapeño and serrano peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:163–173.
5. Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: phenol oxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiology* 24:1–15.
6. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248–254.
7. Briat, J. F., C. Curie and F. Gaymard. 2007. Iron utilization and metabolism in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 10:276–282.
8. Castagna, A., S. Donnini, and A. Ranieri. 2009. Adaptation to iron-deficiency requires remodelling of plant metabolism: An insight in chloroplast biochemistry and functionality. pp. 205-212, *In:* Ashraf, M., M. Ozturk, H. Athar (Eds.), Salinity and Water Stress. Tasks for Vegetation Sciences, vol 44. Springer, Dordrecht.
9. Chebbi, M., N. Msilini, T. Amdouni and Z. Ouerghi. 2013. Differential responses of two lactuca sativa varieties to bicarbonate-induced iron deficiency. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 9: 39–52
10. Chen, H., Z. Hu, X. Li, F. Zhang, J. Chen and M. Zhang. 2016. Iron fertilizers applied to calcareous soil on the growth of peanut in a pot experiment. *Archives of Agronomy and Soil Science* 62:1753–1764.
11. Chun-xia, L., C. Tie, G. Hai-yan, H. Qing-fang, Z. Yu-zheng and D. Rui-xia. 2017. Effect of foliar ferrous sulphate application on alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaf Fe content, photosynthetic capacity and yield. *Nature Environment and Pollution Technology* 15: 765-773.
12. Deshmukh, P., R. Sairam and D. Shukla. 1991. Measurement of ion leakage as a screening technique for drought resistance in wheat genotypes. *Indian Journal of Plant Physiology* 34:89–91.
13. Ferreira, J., M. Cornacchione, X. Liu and D. Suarez .2015. Nutrient composition, forage parameters, and antioxidant capacity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) in response to saline irrigation water. *Agriculture* 5:577–597.
14. García-Mina, J. M., E. Bacaicoa, M. Fuentes and E. Casanova. 2013. Fine regulation of leaf iron use efficiency and iron root uptake under limited iron bioavailability. *Plant Science* 198:39–45.
15. Ghanavati, F., H. Mozaffari, A. Masoumi and S. Kazempour. 2007. Morphological studies of pollen grains of Medicago species in Iran. *Iranian Journal of Crop Sciences* 9: 136-145. (In Farsi).
16. Gruber, B and H. Kosegarten. 2002. Depressed growth of non chlorotic vine grown in calcareous soil is an iron deficiency symptom prior to leaf chlorosis. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165:111–117.
17. Hamouda, H. A., M. F. El-Dahshouri, M. O. Hafez and N. G. Zahran. 2015. Response of le conte pear performance, chlorophyll content and active iron to foliar application of different iron sources under the newly reclaimed soil conditions. *International Journal of ChemTech Research* 8:1446-1453
18. Hseu, Z. Y. 2004. Evaluating heavy metal contents in nine composts using four digestion methods. *Bioresource Technology* 5:53–9
19. Hsieh, E. J and B. M. Waters. 2016. Alkaline stress and iron deficiency regulate iron uptake and riboflavin synthesis gene expression differently in root and leaf tissue: Implications for iron deficiency chlorosis. *Journal of Experimental Botany* 67:5671–5685.
20. Katyal, J. C and B. D. Sharma. 1984. Some modification in the assay of Fe^{2+} in 1-10, o-phenanthroline extracts of fresh plant tissues. *Plant and Soil* 79:449–450.
21. Kosegarten, H and H. Koyro. 2001. Apoplastic accumulation of iron in the epidermis of maize (*Zea mays*) roots grown in calcareous soil. *Physiologia Plantarum* 113:515-522

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

22. Kosegarten, H., B. Hoffmann, E. Rroco, F. Grolig, K. Gluesenkamp and K. Mengel. 2004. Apoplastic pH and FeIII reduction in young sunflower (*Helianthus annuus*) roots. *Physiologia Plantarum* 122:95-106.
23. Kallala, N., M. Wissal, K. Jelali, Z. Kais, H. Mhadhbi. 2018. Inoculation with efficient nitrogen fixing and indoleacetic acid producing bacterial microsymbiont enhance tolerance of the model legume Medicago truncatula to iron deficiency. *BioMed Research International* 2018:1-14.
24. Lindsay, W. L and W. A. Norvell. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal* 42:421-428.
25. López-Millán, A-F., F. Morales, A. Abadía and J. Abadía. 2001a. Iron deficiency associated changes in the composition of the leaf apoplastic fluid from field-grown pear (*Pyrus communis* L.) trees. *Journal of Experimental Botany* 52:1489–1498.
26. Masalha, J., H. Kosegarten, E. Omer and K. Mengel. 2000. The central role of microbial activity for iron acquisition in maize and sunflower. *Biology and Fertility of Soils* 30:433-439.
27. Medina-Juárez, L. Á., D. M. Molina-Quijada, C. L. Del Toro Sánchez, G. A. González-Aguilar and N. Gámez-Meza. 2012. Antioxidant activity of peppers (*Capsicum annuum* L.) extracts and characterization of their phenolic constituents. *Interciencia Journal* 37:588–593.
28. Menichini. F., R. Tundis, M. Bonesi, M. R. Loizzo, F. Conforti, G. Statti, B. De Cindio, P. J. Houghton and F. Menichini. 2009. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of Capsicum chinese Jacq. cv Habanero. *Food Chemistry* 114:553-560.
29. Msilini, N., H. Attia, M. Rabhi, N. Karray, M. Lachaâl and Z. Ouerghi. 2012. Responses of two lettuce cultivars to iron deficiency. *Experimental Agriculture* 48:523–535.
30. Noguchi, A., T. Yoshihara, A. Ichihara, S. Sugihara, M. Koshino, M. Kojima and Y. Masaoka .1994. Ferric phosphate-dissolving compound, alfafuran, from Alfalfa (*Medicago sativa* L.) in response to iron-deficiency stress. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 58:2312–2313.
31. Osuagwu, G. G. E., H. O. Edeoga and A. N. Osuagwu. 2010. The influence of water stress (drought) on the mineral and vitamin potential of the leaves Ocimum gratissimum L. *Recent Research in Science and Technology* 2:27-33.
32. Robin, A., G. Vansuyt, P. Hinsinger, J. M. Meyer, J. F. Briat and P. Lemanceau. 2008. Iron dynamics in the rhizosphere: Consequences for plant health and nutrition. *Advances in Agronomy* 99:183–225.
33. Rodríguez-Celma, J., G. Lattanzio, M. A. Grusak, A. Abadía, J. Abadía and A-F. López-Millán. 2011. Root responses of Medicago truncatula plants grown in two different iron deficiency conditions: Changes in root protein profile and riboflavin biosynthesis. *Journal of Proteome Research* 10:2590–2601.
34. Rodriguez-Celma, J., W-D. Lin, G-M. Fu, J. Abadia, A-F. Lopez-Millan and W. Schmidt. 2013. Mutually exclusive alterations in secondary metabolism are critical for the uptake of insoluble iron compounds by Arabidopsis and Medicago truncatula. *Plant Physiology* 162:1473–1485.
35. Rodríguez-Celma, J., S. Vázquez-Reina, J. Orduna, A. Abadía, J. Abadía, A. Álvarez Fernández and A-F. López-Millán. 2011b. Characterization of flavins in roots of Fe-deficient strategy I plants, with a focus on Medicago truncatula. *Plant and Cell Physiology* 6:45-52
36. Rombolà, A. D., Y. Gogorcena, A. Larbi, F. Morales, E. Balde, B. Marangoni, M. Tagliavini and J. Abadía. 2005. Iron deficiency-induced changes in carbon fixation and leaf elemental composition of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Plant and Soil* 271:39–45
37. Schmid, N. B., R. F. H. Giehl, S. Doll, H-P. Mock, N. Strehmel, D. Scheel, X. Kong, R. C. Hider and N. V. Wiren. 2014. Feruloyl-CoA 6'-Hydroxylase1-dependent coumarins mediate iron acquisition from alkaline substrates in Arabidopsis. *Plant Physiology* 164: 160–172.
38. Tato, L., P. De Nisi, S. Donnini and G. Zocchi. 2013. Low iron availability and phenolic metabolism in a wild plant species (*Parietaria judaica* L.). *Plant Physiology and Biochemistry* 72: 145-153.
39. Vigani, G and G. Zocchi .2009. The fate and the role of mitochondria in Fe-deficient roots of strategy I plants. *Plant Signaling and Behavior* 4: 375-379.
40. Whetherley, P. E. 1950. Studies in water relations of cotton plants: I. The field measurement of water deficit in leaves. *New Phytologist* 49: 81- 87.
41. Yeh, D. M., L. Lin and C. J. Wright. 2000. Effects of mineral nutrient deficiencies on leaf development, visual symptoms and shoot–root ratio of Spathiphyllum. *Scientia Horticulturae* 86: 223–233.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]

Journal of Crop Production and Processing
Vol. 9, No. 4, Winter 2020, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Comparison of Foliar and Soil Fe Fertilization on *Medicago scutellata* Physiological-Biochemical Characteristics and Active Iron in Soils Containing Different Amounts of Lime

Z. Gheshlaghi[1], R. Khorassani[2*], M. Kafi[3] and A. Fotovat[4]

(Received: November 5-2018; Accepted: February 27-2019)

Abstract

Reducing iron solubility in calcareous soils causes iron chlorosis symptoms in the plant. In order to investigate the response of *M. scutellata* to direct and indirect iron deficiency, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. The experimental factors included three levels of lime (0, 4 and 8%) and five levels of Fe (0, 5 and 10 mg Fe Kg soil^{-1} as soil application and 0 and 2.1 µM Fe as foliar spray). Zero Fe concentrations in soil and foliar Fe fertilization was considered as control-S and control-F treatment, respectively. The results showed that the amendment of 8% $CaCO_3$ in control treatments caused typical Fe deficiency symptoms, including decreases in chlorophyll, total and extractable leaf Fe concentration, protein, leaf relative water content, membrane stability index and increases in leaf total phenolic and flavonoid concentration when compared to 0% lime. The soil and foliar Fe fertilisation led to the improvement of Fe chlorosis, increases in chlorophyll, Fe, protein, and decreases in concentration of phenolic compounds in three levels of lime. The foliar Fe fertilization in three levels of lime increased total and extractable leaf Fe content, compared to two soil Fe treatments, but foliar Fe fertilization (in 4 and 8% of lime) yielded progressively lower leaf phenolic compounds. The highest leaf chl concentration in 8% lime was observed in 10 mg Fe Kg soil^{-1} and foliar Fe fertilization. The presented data indicate that the use of foliar application of Fe (Fe- EDDHA) is potent to reduce the effects of lime induced chlorosis in plants in calcareous soils.

Keywords: Calcium carbonate, Chlorosis, Fe-EDDHA, Phenolic and Flavonoids Compounds

1, 2, 4. PhD Graduate, Associate Professor and Professor, Respectively, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3. Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*: Corresponding Author, Email: khorasani@um.ac.ir

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1398.9.4.13.8]
[DOI: 10.47176/jcpp.9.4.28882]