مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱

DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

مقایسه اثر تغذیه برگی آمینوکلات گلیسین–روی، فنیل آلانین–روی و Zn-EDTA بر برخی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)

الهام خان پور[۱]، مهناز اقدسی[۱*]، وحید توللی[۲]، وحید روشن سروستانی[۳]

[۱] ایران، گرگان، دانشگاه گلستان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

[۲] ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، گروه علوم ومهندسی کشاورزی

[۳] ایران، شیراز، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۷

چکیده

همیشه بهار(***Calendula officinalis* L.**) گیاه دارویی ارزشمندی است که کاربردهای فراوان دارویی، بهداشتی و صنعتی دارد و همچنین به عنوان گیاه زینتی نیز استفاده می‌شود. در پژوهش حاضر، کارایی تغذیه برگی روی از منبع کلات مصنوعی و معمول **Zn-EDTA** و کمپلکس‌های مختلف اسیدآمینه-روی بر ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه همیشه بهار مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در قالب بلوک‌های کاملا تصادفی با ۷ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. تیمار برگی با **Zn-EDTA**، کمپلکس گلیسین–روی (**Zn-Gly**) و فنیل آلانین-روی (**Zn-Phe**) در غلظت‌های ۰، ۲۰ و۴۰ میلی‌گرم در لیتر انجام شد. گیاهان در دو نوبت یکی در مرحله ۶-۴ برگی و دیگری قبل از شروع گلدهی تیمار شدند. نتایج نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه، تعداد شاخه فرعی، تعداد گل در بوته، وزن‌تر وخشک گل، وزن هزار دانه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، کارتنوئید کل گلبرگ، فنل و فلاونوئید کل، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، محتوای روی برگ و درصد روغن دانه در تیمار **Zn-Gly** با غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد که در مقایسه با تیمار کلات مصنوعی **Zn-EDTA** و شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد. از طرفی دیگر داده‌های حاضر نشان داد تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را بر قطر گل ندارند. همچنین تیمار **Zn-Gly** در هر دو غلظت (۲۰ و۴۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث کاهش تعداد روزهای رسیدن به گلدهی در مقایسه با سایر تیمارها شد. داده‌های حاضر نشان داد که بین صفات فیزیولوژیکی در تیمارهای مورد بررسی، همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: آمینوکلات، روی (Zinc)، فنیل آلانین، گلیسین، همیشه بهار

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: Aghdasi1346@gmail.com

مقدمه

گیاهان دارویی مخازن غنی ازمواد اولیه اساسی بسیاری از داروها می‌باشند و از این جهت از ارزش و اهمیت خاصی در سلامت جوامع بشری به لحاظ درمان و پیشگیری از بیماری‌ها برخوردار هستند. همیشه بهار با نام علمی (*Calendula officinalis L.*) و نام انگلیسی Pot marigold، از خانواده Asteraceae و یکی از معروف‌ترین گیاهان دارویی است. منشأ آن مدیترانه، آسیای غربی و اروپای جنوبی است و از زمان‌های گذشته جهت مصارف زینتی و دارویی مورد استفاده بوده است (۱۵). مهمترین مواد مؤثره گیاه همیشه بهار شامل فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها است. همچنین دامنه وسیعی از ترکیبات شیمیایی ارزشمند شامل استروئیدها، ترپنوئیدها، فنولیک اسیدها، موسیلاژ و ویتامین E نیز در این گیاه شناسایی شده است (۳۴). امروزه از عصاره و اسانس این گیاه در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. همچنین این گیاه در درمان زخم معده و روده (۲۰)، سوختگی و ناراحتی‌های پوستی (۲۹) کاربرد دارد. شواهدی نیز مبنی بر اثرات ضدویروس HIV، ضدمیکروبی، ضداسپاسم و گرفتگی، ضدتومور (۵) و خاصیت آنتی اکسیدانی (۲۴) در عصاره گل-های این گیاه گزارش شده است. روغن حاصل از بذر این گیاه

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

دارای مصارف صنعتی (تهیه رنگ‌های نقاشی و نایلون) و دارویی می‌باشد (۲۱).

عنصر Zn^{+2} از جمله عناصر ریزمغذی است که در بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاهان نقش‌های مهمی را بر عهده دارد. این فلز به عنوان فعال‌کننده و کوفاکتور برخی آنزیم‌های حیاتی گیاه از جمله کربونیک آنهیدرازها، دهیدروژنازها، فسفولیپازها، آلکالین فسفاتازها، RNA پلیمرازها بوده و در متابولیسم پروتئین‌ها، قندها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها، فتوسنتز گیاه و بیوسنتز اکسین ایفای نقش می‌کند (۷).

مطالعات نشان می‌دهد که اسیدهای آمینه برای سوخت و ساز گیاهی و متابولیسم سلولی ضروری به نظر می‌رسند. اسیدهای آمینه در ساختمان پروتئین‌ها و پپتیدها شرکت داشته و نقش-هاس متعدد ساختاری، آنزیمی و متابولیکی را بر عهده دارند (۶). گلیسین ساده‌ترین اسیدآمینه است و در گیاهان، به طور مستقیم در سنتز کلروفیل نقش دارد. این اسیدآمینه با تشدید سنتز کلروفیل و درنتیجه افزایش جذب نور، سبب افزایش رشد و عملکرد گیاهان می‌گردد (۲۲). فنیل آلانین نیز از جمله اسیدهای آمینه آروماتیک است که در متابولیسم گیاه نقش دارد و علاوه بر نقش ساختاری، پیش‌ساز طیف گسترده‌ای از ترکیبات مهم، از جمله متابولیت‌های ثانویه گیاه است. ترکیبات مشتق شده از فنیل‌آلانین در محافظت از گیاه در برابر اشعه ماوراء بنفش (فلاونوئیدها و فنل‌های مختلف)، سیگنالینگ (ایزوفلاونوئیدها) و گرده‌افشانی (آنتوسیانین‌ها و فنیل پروپانوئید) نقش دارند (۳۱). در گیاهان برخی از انواع متابولیت‌های ثانویه، از طریق حذف یک ملکول آمونیاک از فنیل آلانین و تبدیل آن به سینامیک اسید مشتق می‌گردند. این واکنش توسط آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) کاتالیز می‌شود که آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها است (۴۲).

مقدار ترکیبات و مواد مؤثره گیاهان دارویی تحت تأثیر عوامل متعدد محیطی تغییر می‌کند که از جمله این موارد می‌توان به اثر تغذیه اشاره کرد. بیشتر کودهایی که برای تغذیه روی (Zinc) استفاده می‌شوند حاوی سولفات روی و کلات‌های مصنوعی این عنصر می‌باشند. اما با توجه به اینکه در برخی منابع از کلات‌های مصنوعی مانند EDTA یا EDDHA به عنوان آلاینده‌های بالقوه اکوسیستم‌ها ذکر شده است، لذا در کشاورزی پایدار کاربرد آنها توصیه نمی‌شود (۲۶). گزارش‌ها نشان می‌دهد که تیمار نور فلورسنت سفید در شرایط آزمایشگاه سبب شکسته‌شدن Fe-EDTA و تولید اسید گلی‌اکسیلیک و فرمالدئید می‌شود که اثر بازدارندگی بر رشد گیاهان دارند (۳۷). از طرفی این عوامل کلات‌کننده توسط گیاه قابل استفاده نمی‌باشند از این رو آمینوکلات‌ها، فرمولاسیون نسبتا جدیدی از کودها، به عنوان اشکال طبیعی و ایمن‌تر با عملکرد بیشتر و بدون عوارض جانبی معرفی شده‌اند. اسیدهای‌آمینه یک لیگاند طبیعی بوده که قادر هستند عناصر فلزی به ویژه روی را از طریق گروه‌های کربوکسیل کلات کرده و قابلیت جذب عنصر توسط گیاه افزایش دهند. علاوه بر این، اسیدهای آمینه منبع نیتروژن برای گیاهان نیز هستند (۳) و می‌توانند به طور مستقیم وارد مسیرهای متابولیسمی گیاه شوند (۱۴). در سال‌های اخیر،کارایی آمینوکلات‌های روی، در برخی گیاهان در مقایسه با سایر منابع حاوی روی مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از تیمار گیاه کاهو با آمینوکلات روی، افزایش عملکرد و جذب بیشتر عناصر را در مقایسه با تیمار $ZnSO_4$ نشان داد (۲۸). محققان نشان دادند که تیمار برگی آمینوکلات حاوی ریزمغذی‌های آهن، روی، مس و منگنز در سطوح مختلف (۰/۵، ۱/۵ و ۲ درصد) سبب افزایش عملکرد در گیاه فلفل (*Capsicum annuum*.) شده است (۱۲). نتایج تحقیقات Yuan و همکاران در بررسی تأثیر آمینوکلات-های روی و آهن بر عملکرد و مقدار این دو عنصر در دانه ۱۵ رقم برنج ایندیکا و ژاپونیکا نشان داد که مصرف آمینوکلات‌های آهن باعث افزایش ۱۴/۵ درصدی غلظت آهن در برنج قهوه‌ای شده است (۴۱). در تحقیق دیگر نشان داده شده که مقدار روی و پروتئین دانه گندم در گیاهان تیمار شده با آمینوکلات-ها (Zn-arginine، Zn-glycine و Zn-hystidine) بالاتر از گیاهانی بود که با $ZnSO_4$ تیمار شده بودند (۱۶).

از آنجا که گیاه همیشه بهار به عنوان یک گیاه دارویی از اهمیت خاصی برخوردار است و از طرف دیگر، عنصر غذایی روی (Zinc) به عنوان کوفاکتور در فعال‌سازی بسیاری از آنزیم‌های مسیر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه نقش داشته و آمینو کلات‌ها به عنوان شکل جدیدی از کودها عرضه می‌شوند از این رو در این پژوهش اثر محلول‌پاشی آمینوکلات سنتزی گلیسین-روی (Zn-Gly) و فنیل‌آلانین-روی (Zn-Phe) در مقایسه با کلات مصنوعی (Zn-EDTA) بر برخی ویژگی‌های

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

رشدی و فیزیولوژیکی گیاه همیشه بهار مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

محل اجرای پژوهش و مواد گیاهی:

این پژوهش در قالب طرح آماری کاملا تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار در گلخانه سازمان جهاد کشاورزی استان گلستان اجرا شد. بذرهای گل همیشه بهار از شرکت مزرعه سبز نمین تهران تهیه شد. بذور گیاه در مهرماه در داخل سینی مخصوص نشاء با بستری حاوی کوکوپیت و پیت ماس به نسبت مساوی و در عمق ۱ سانتی‌متری کاشته شدند. بعد از جوانه زنی در مرحله ۲ تا ۴ برگی در هر گلدان تعداد ۴ عدد گیاهچه یکنواخت کشت شد. بعد از استقرار گیاهچه‌ها، با تنک‌کردن تعداد آنها به ۲ عدد در هر گلدان کاهش یافت. خاک مورد استفاده در این آزمایش، مخلوطی از خاک باغچه و ماسه به نسبت مساوی بود. برای اطلاع از وضعیت فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در این آزمایش، قبل از انجام پژوهش، تجزیه و برخی از ویژگی‌های آن اندازه گیری شد (جدول ۱).

تیمارهای مورد بررسی شامل:

آمینوکلات سنتزی گلیسین-روی (Zn-Gly) و فنیل آلانین-روی (Zn-Phe) و کلات مصنوعی Zn-EDTA در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم در لیتر بود. محلول‌پاشی نمونه‌ها در ساعات ابتدایی و خنک روز و در دو مرحله، ۴ تا ۶ برگی (پس از استقرار گیاه) و شروع مرحله گلدهی انجام شد. در تیمار شاهد محلول‌پاشی با آب مقطر صورت گرفت. گل‌های گیاهان بعد از جمع‌آوری در سایه و در دمای اتاق خشک شده و جهت سنجش‌های لازم نگهداری شدند.

سنتز و شناسایی کمپلکس‌های روی-اسیدآمینه:

آمینوکلات‌های روی به نسبت مولی ۲ به ۱ آمینواسید به فلز و طبق روش قاسمی و همکاران (۲۰۱۳) تهیه شد. برای این کار، ۲ میلی‌مول از هر اسیدآمینه به آرامی به یک محلول Zn $(OAc)_2$(۱میلی‌مول) در ۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد همزده و سپس تقطیر شد. پس از تبخیر حلال واکنش، رسوب به دست آمده در دمای محیط خشک شد. کمپلکس‌های ساخته‌شده با استفاده از طیف سنج مادون قرمز (FT-IR) شناسایی شدند (۱۶).

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی:

در مرحله گلدهی کامل، صفات رویشی شامل ارتفاع گیاه، تعداد شاخه جانبی، تعداد گل‌ها در هر بوته، قطر گل، ، وزن‌تر و خشک گل، وزن هزار دانه و تعداد روزهای لازم جهت رسیدن به مرحله گلدهی در هر تیمار بررسی شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌های گل در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز خشک شده و سپس وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی و کارتنوئید گلبرگ:

سنجش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل و کاروتنوئید با عصاره‌گیری به روش آرنون انجام شد (۴). به این منظور مقدار ۰/۱ گرم از بافت‌تر برگ و گلبرگ توزین و با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد هموژن شد. سپس عصاره به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰سانتریفیوژ شد. جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UV-160A, Shimadzu Kyoto, Japan) در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد و در نهایت مقدار کلروفیل و کارتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید. در این رابطه‌ها، A: طول موج است.

$$\text{Chl a} = ۱۲/۷ (A_{663}) - ۲/۶۹ (A_{645})$$

$$\text{Chl b} = ۲۲/۹ (A_{645}) - ۴/۶۸ (A_{663})$$

$$\text{Total Chl} = ۸/۰۲ (A_{663}) + ۲۰/۲ (A_{645})$$

$$\text{Carotenoids} = [(۱۰۰۰ (A_{470} - ۱/۸ \text{ Chl a} - ۸۵/۰۲ \text{ Chl b})/۱۹۸]$$

اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید کل:

جهت عصاره‌گیری مقدار ۰/۱ گرم از نمونه‌های گل در ۵ میلی‌لیتر محلول متانول ۸۰٪ (V/V) هموژنیزه شد. سپس عصاره‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند. عصاره‌ها برای انجام آزمایشات بعدی در درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سنجش فنل کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu Reagent) اندازه‌گیری شد (۲۷). برای این منظور ۱/۶ میلی-

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

لیتر معرف فولین سیوکالتیوآبی (V/V) ٪ ۵ و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر در یک لوله آزمایش مخلوط شد و سپس ۲/. میلی-لیتر کربنات‌سدیم ٪۲ به آن اضافه و مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و دور از نور نگهداری شد. سپس جذب نمونه‌ها با اسپکتوفتومتر نوری در طول موج ۷۲۰ نانومتر خوانده شد. گالیک اسید به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید غلظت‌های فنل نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در نهایت داده‌ها بر اساس میلی-گرم گالیک اسید، بر گـرم وزن‌تر بیان گردید.

سنجش فلاوونوئید کل به روش آلومینیوم کلراید انجام شد (۱۰). در این روش ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره با ۷۲۰ میکرولیتر متانول، ۵۰ میکرولیتر محلول الکلی ٪۱۰ از $AlCl_3$، ۵۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۱/۴ میلی لیتر آب مقطر دوبار تقطیر مخلوط شد. بعد از ۳۰ دقیقه قرارگیری در دمای محیط، جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین غلظت-های فلاونوئید نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در نهایت داده‌ها بر اساس میلی‌گرم کوئرستین، بر گـرم وزن‌تر بیان گردید.

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز(PAL) :

بررسی فعالیت آنزیم در گلبرگ‌های گیاه بر اساس مقدار سینامیک اسید تولید شده انجام گرفت (۳۸). بدین منظور مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت‌تر نمونه‌ها با ۶/۵ میلی‌لیتر بافر تریس-HCL ۵۰ میلی‌مولار (pH =۸/۸) حاوی بتامرکاپتواتانول ۱۵ میلی‌مولار در هاون سرد شده سائیده شد. سپس عصاره به دست آمده با دور۵۰۰۰ .به مدت ۳۰ دقیقه در دمای چهاردرجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. در این روش از فنیل‌آلانین به عنوان سوبسترای آنزیمی استفاده و فعالیت آنزیم PAL بر اساس سرعت تشکیل اسیدسینامیک تعیین شد. در یک لوله آزمایش یک میلی‌لیتر از بافر استخراج بهمراه ۰/۵ میلی‌لیتر ال-فنیل آلانین ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۴ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر، یک میلی‌لیتر عصارهٔ آنزیمی مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در ادامه واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۶ مولار پایان یافت. غلظت سینامیک اسید با اندازه‌گیری میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی معادله $M^{-1}\ Cm^{-1}$ ۹۵۰۰ تعیین گردید. یک واحد از فعالیت PAL میکرومول از سینامیک اسید تولید شده در یک دقیقه است.

اندازه‌گیری مقدار عنصر روی:

برای اندازه‌گیری روی از روش خاکستر خشک استفاده شد (۱۱). در این روش مقدار ۰/۱ گرم پودر برگ گیاه، داخل بوته چینی ریخته شد. بوته‌ها در کوره و در دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس دمای کوره به آرامی به ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد و به مدت ۲/۵ساعت در این دما باقی ماند. خاکستر به دست آمده در ۱ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۶ نرمال محلول و سپس با آب مقطر تا ۱۵ میلی‌لیتر رقیق گردید. سپس مقدار عنصر روی توسط دستگاه جذب اتمی(AA-7000, Shimadzu Corporation, Japan) قرائت شد.

اندازه‌گیری محتوای روغن بذر:

محتوای روغن بذر از طریق روش هارا و رادین انجام شد (۱۸). بدین منظور بذرها دورن هاون کوبیده شد تا به صورت پودر بدست آیند. بذرهای پودرشده به نسبت ۴:۱ وزنی/حجمی با حلال هگزان نرمال و ایزوپروپانول به نسبت ۲ به ۳ مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط و در تاریکی قرار داده شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی در بشرهای از قبل وزن شده ریخته شد و در زیر هود و در دمای اتاق قرار گرفت تا حلال آن خارج شود. در نهایت در ته بشرها ماده غلیظی از اسید چرب باقی ماند که مجدد توزین شدند.

محاسبات آماری:

تجزیه وتحلیل داده‌های این پژوهش، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS21 آنالیز گردید و میانگین‌های موجود با استفاده از روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفت. رسم نمودارها و جداول با استفاده از نرم افزارEXEL13 صورت گرفت.

نتایج

شناسایی کمپلکس اسیدآمینه-روی:

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

برای تعیین ارتعاشات گروه‌های عاملی و ترکیبات احتمالی درگیر در سنتز کمپلکس‌های اسیدآمینه-روی، از اسپکتروفتومتر FT/IR مجهز به کریستال ATR به عنوان روشی پر قدرت و توسعه یافته، کارا، مؤثر و با نسبت سیگنال به نویز کمتر، مدل Tensor II کارخانه سازنده بروکر آلمان در محدوه ۳۵۰۰-۵۰۰ cm با رزولوشن ۴ cm، استفاده شد.

طیف‌های FT-IR آمینو کلات ساخته شده با استفاده از قرص KBr نشان داد که آمینو اسیدها به صورت لیگاند دو دندانه‌ای (گروه عاملی کربوکسیل و آمین) عمل کرده و و از طریق اتم اکسیژن و نیتروژن خود به فلز کوئوردینه شده و آمینو کلات-های روی تشکیل شده است. همچنین گروه های C=O غیر پیوندی ممکن است با کمپلکس مجاور و یا آب، پیوند هیدروژنی برقرار کنند و یا یک پیوند ضعیف با فلز کمپلکس مجاور خود تشکیل دهند. بنابراین فرکانس‌های ارتعاشی کمپلکس‌های آمینواسید تحت تأثیر کوئوردیناسیون و همچنین برهم کنش‌های بین مولکولی قرار می‌گیرد (شکل ۱).

صفات مورفولوژیکی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار منابع مختلف روی بر تمامی شاخص‌های مورد بررسی به استثنای قطر گل در سطح ۱٪ معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲)

داده‌های حاضر نشان داد که بالاترین مقدار ارتفاع گیاه (۱۸/۶۷±۰/۶۰۲ سانتی‌متر)، تعداد شاخه فرعی (۳/۶۷±۰/۸۱۶)، تعداد گل در بوته (۷/۱۷±۰/۸۹)، وزن‌ترگل (۲/۱۳±۰/۱۷۷ گرم) وزن‌خشک گل (۰/۳۱۶±۰/۰۱۴ گرم) و وزن هزار دانه (۱۰/۷±۰/۲۸۱ گرم) در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر تیمار Zn-Gly مشاهده می‌شود. از طرف دیگر کمترین مقدار ارتفاع گیاه (۱۶/۸۶±۰/۸۴۱ سانتی‌متر)، تعداد شاخه فرعی (۱/۸۳±۰/۷۵۳)، تعداد گل در بوته (۴/۳۳±۱/۰۳)، وزن-ترگل (۱/۳۲±۰/۱۸۲ گرم) وزن‌خشک گل (۰/۱۹۲±۰/۰۰۹ گرم) و وزن هزار دانه (۹/۲۸±۰/۴۰۴ گرم) در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین داده‌های حاصل نشان داد که تیمارهای مختلف اثر معنی‌داری بر قطر گل ندارند. در این پژوهش تیمار Zn-Gly در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش تعداد روزهای لازم جهت رسیدن به گلدهی (۱۱۵ روز) در مقایسه با سایر تیمارها شده است (جدول ۳).

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و کارتنوئید گلبرگ:

نتایج تجزیه واریانس داده‌های پژوهش حاضر نشان داد که محلول‌پاشی گیاه همیشه بهار با غلظت‌های مختلف امینو کلات‌ها سبب تفاوت معنی‌دار در سطح ۱٪ در مقدار رنگیزه-های فتوسنتزی در مقایسه با نمونه شاهد شده است (جدول ۴). در این تحقیق بالاترین مقدار کلروفیل a (۱/۶۸±۰/۰۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر)، کلروفیل b (۰/۴۲±۰/۰۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) و کلروفیل کل برگ (۲/۱۰±۰/۰۹۰میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) و کارتنوئید کل گلبرگ (۰/۹۸±۰/۰۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار Zn-Gly در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد. کمترین مقدار کلروفیل a (۱/۰۶±۰/۰۱۸میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر)، کلروفیل b (۰/۲۹±۰/۰۰۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر)، کلروفیل کل برگ (۱/۳۶±۰/۰۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) و کارتنوئید کل گلبرگ در نمونه شاهد (۰/۶۶±۰/۰۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) دیده شد (شکل ۲)

محتوی فنل و فلاونوئید کل:

با توجه به یافته‌های این تحقیق، محلول پاشی آمینوکلات‌های روی بر گیاه همیشه بهار در محتوای فنل و فلاونوئید کل در سطح ۱٪ اثر گذاشته است (جدول ۵). مقایسه میانگین داده-های حاصل از اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید کل در تیمارهای مورد بررسی نشان داد که تیمار Zn-Gly در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر به طور معنی‌داری سبب افزایش محتوای این دو فاکتور مورد بررسی شده است. نتایج حاضر نشان داد که تیمار ۴۰ میلی‌گرم در لیتر Zn-Gly سبب افزایش تقریبا دو برابری در مقدار فلاونویید کل در مقایسه با تیمار شاهد شده است. کمترین مقدار فنل کل و فلاونوئید کل در نمونه شاهد مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (شکل۳).

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز:

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد تیمار گیاه همیشه بهار با غلظت‌های مختلف کلات‌های روی تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪را در فعالیت این آنزیم در مقایسه با نمونه شاهد پدید آورد (جدول ۵). نتایج حاصل از

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

سنجش فعالیت آنزیم PAL نشـان داد کـه تیمار Zn-Gly در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم (۰±۶۴/۲/۰۸۸ میکرومـول بـر میلی-گرم وزن‌تر دردقیقه)، در مقایسه با تیمار کلات Zn-EDTA و شاهد شده است. همچنین نتایج بدست آمده نشان داد کمترین میزان فعالیت این آنزیم در نمونه شاهد (۱/۳۰±۰/۰۲۲ میکرومـول بـر میلی‌گرم وزن‌تر دردقیقه)، مشاهده شد (شکل ۴).

محتوای روغن بذر

مقایسه میانگین داده‌های پژوهش حاضر نشان داد که اثر تیمارهای مختلف آمینو کلات روی بر محتوای روغن بذر در مقایسه با شاهد در سطح احتمال یک درصد معنی دار بوده است (جدول ۵). بطوریکه بالاترین مقدار محتوای روغن بذر در تیمار Zn-Gly در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر(۱/۰۱±۱۸درصد) مشاهده شد که افزایش ۲۰ درصدی را نسبت به نمونه شاهد (۱/۱۷±۱۵درصد) نشان می‌دهد (شکل ۵).

محتوای روی:

نتایج تحقیق حاضر نشان داد تیمار گیاهان با منابع مختلف روی سبب افزایش معنی‌دار در جذب این عنصر در سطح ۱٪ شده است (جدول ۵). بالاترین مقدار روی در گیاهان تیمار شده با غلظت ۴۰ میلی گرم در لیتر از Zn-Gly مشاهده شد. در این تیمار مقدار روی در گیاهان مورد بررسی بیش از دو برابر گیاهان شاهد افزایش نشان داده است (شکل ۶).

داده‌های به دست آمده از تجریه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که بین صفات فیزیولوژیکی در تیمارهای مورد بررسی، همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۶).

جدول۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

بافت خاک	اسیدیته (pH)	هدایت الکتریکی (ds/m)	ماده آلی (%)	پتاسیم (mg/kg)	فسفر (mg/kg)	نیتروژن (%)	روی (mg/kg)
لومی- رسی	۷/۵۲	۰/۶	۱/۱	۲۶۷	۳۱/۴	۰/۱۱	۰/۶۵

جدول۲- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف آمینو کلات گلیسین–روی (Zn-Gly)، فنیل آلانین–روی (Zn-Phe) و Zn-EDTA بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*)

		میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع گیاه	تعداد شاخه فرعی	تعداد گل در بوته	قطر گل	وزن‌تر گل	وزن‌خشک گل	وزن‌هزار دانه
تیمار	۶	۲/۸۲**	۱/۹۹**	۶/۵۲**	۰/۲۹ ns	۰/۴۵۹**	۰/۰۱۱**	۱/۴۱**
خطا	۳۵	۰/۰۵	۰/۴۴	۱/۲	۰/۲۶	۰/۳۸	۰/۰۰۰۱	۰/۱۰۷
ضریب تغییرات(٪)		٪۵/۲	٪۲۹/۷	٪۲۲/۹	٪۱۰/۷	٪۱۷/۸	٪۱۶	٪۵/۴

**و * و ns بترتیب نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱و ۵ درصد و عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

جدول۳- اثر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف آمینو کلات گلیسین–روی (Zn-Gly)، فنیل آلانین–روی (Zn-Phe) و Zn-EDTA بر ویژگی‌های مرفولوژیکی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*). نتایج حاصل میانگین ۶ گیاه است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان نمی‌دهند.

تیمار	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	تعداد شاخه فرعی	تعداد گل در بوته	قطر گل (سانتی‌متر)	وزن‌تر گل (گرم)	وزن‌خشک گل (گرم)	وزن هزار دانه (گرم)	تعداد روز رسیدن به گلدهی
control	۱۶/۸۶±۰/۶۲۸^{d}	۱/۸۳±۰/۷۵۳^{d}	۴/۳۳±۱/۰۳^{d}	۴/۴۵±۰/۴۲۸^{a}	۱/۳۲±۰/۱۸۲^{e}	۰/۱۹۲±۰/۰۰۹^{e}	۹/۲۸±۰/۴۰۴^{d}	۱۲۹
Zn-Gly20	۱۷/۷۶±۰/۷۹۹^{bc}	۳/۰±۰/۶۳۲^{bc}	۶/۸۳±۱/۱۶۳^{b}	۴/۸۸±۰/۶۸۵^{a}	۲/۰۲±۰/۲۲۸^{cd}	۰/۲۵۶±۰/۰۰۷^{c}	۱۰/۲۸±۰/۳۷۱^{b}	۱۱۵
Zn-Gly40	۱۸/۶۷±۰/۶۰۲^{a}	۳/۶۷±۰/۸۱۶^{a}	۷/۱۷±۰/۸۹^{a}	۵/۱۰±۰/۴۰۹^{a}	۲/۱۳±۰/۱۷۷^{a}	۰/۳۱۶±۰/۰۱۴^{a}	۱۰/۷۲±۰/۲۸۱^{a}	۱۱۵
Zn-Phe20	۱۷/۶۳±۰/۸۹۱^{cd}	۲/۶۷±۰/۵۱۹^{c}	۶/۰±۱/۴۱^{c}	۴/۷۱±۰/۵۹۴^{a}	۱/۶۹±۰/۲۳۴^{cd}	۰/۲۵۹±۰/۰۰۸^{c}	۱۰/۱۹±۰/۳۲۹^{bc}	۱۲۲
Zn-Phe40	۱۸/۶±۰/۳۴۰ ^{ab}	۳/۰±۰/۶۳۲^{bc}	۶/۸۳±۱/۱۶^{b}	۵/۰±۰/۵۴۰^{a}	۲/۰۵±۰/۱۸۶^{ab}	۰/۳۱۲±۰/۰۰۷^{a}	۱۰/۵۷±۰/۲۷۸^{ab}	۱۲۲
Zn EDTA20	۱۷/۳۸±۰/۸۴۷^{cd}	۲/۳۳±۰/۵۱۶^{cd}	۵/۱۷±۰/۷۵۳^{c}	۴/۹۰±۰/۵۵۸^{a}	۱/۶۰±۰/۲۱۵^{d}	۰/۲۳۸±۰/۰۰۶^{d}	۹/۸۲±۰/۳۳۷^{c}	۱۲۹
Zn EDTA40	۱۷/۹۶±۰/۸۲۳^{bc}	۲/۸۳±۰/۷۵۳^{bc}	۶/۶۷±۰/۸۱۶^{bc}	۴/۹۸±۰/۳۴۳^{a}	۱/۸۹±۰/۱۱۷^{bc}	۰/۲۸۶±۰/۰۲۳^{b}	۱۰/۳۰±۰/۲۶۳^{b}	۱۲۶

جدول۴- تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف آمینو کلات گلیسین–روی (Zn-Gly) فنیل آلانین–روی (Zn- Phe) و Zn-EDTA بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*)

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل برگ	کارتنوئید کل گلبرگ
تیمار	۶	۰/۱۲۰**	۰/۰۰۶**	۰/۱۷۸**	۰/۰۳۶**
خطا	۱۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات(٪)		٪۱۳/۶	٪۱۲/۲	٪۱۳/۴	٪۱۲/۶

**و * بترتیب نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱و ۵ درصد می‌باشد.

جدول۵- تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف آمینو کلات گلیسین–روی (Zn-Gly)، فنیل آلانین–روی (Zn-Phe) وZn-EDTA بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی مورد بررسی در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*)

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		فنل کل	فلاونوئید کل	فعالیت آنزیم PAL	روغن دانه	میزان روی برگ
تیمار	۶	۰/۰۸۹**	۰/۱۶۰**	۰/۰۸۲**	۴/۳۱**	۰/۰۰۱
خطا	۱۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۵	۰/۰۱۲	۰/۵۱۶	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات		٪۶/۴	٪۱۲/۲	٪۱۳/۴	٪۱۲/۶	٪۲۱/۲

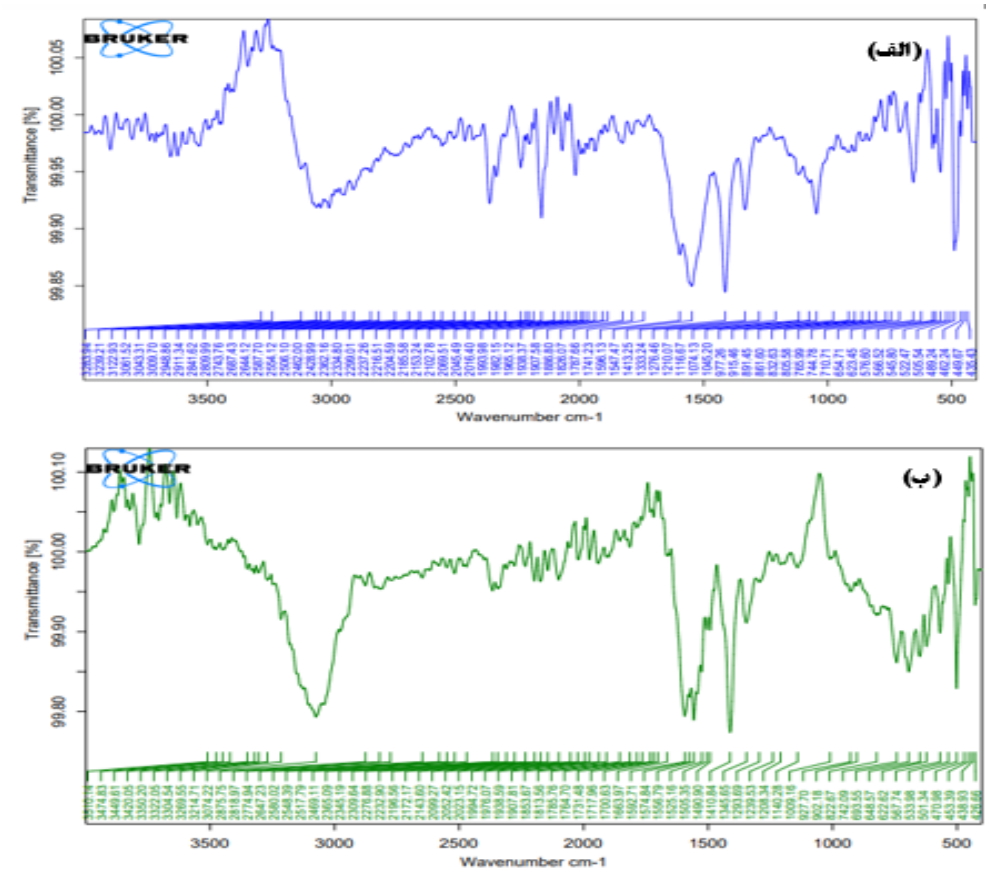
**و * بترتیب نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱و ۵ درصد می‌باشد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

جدول۶- تجزیه و تحلیل همبستگی اثر محلول-پاشی غلظت‌های مختلف آمینو کلات گلیسین–روی (Zn-Gly)، فنیل آلانین–روی (Zn-Phe) و Zn-EDTA با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون بر صفات فیزیولوژیک گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*)

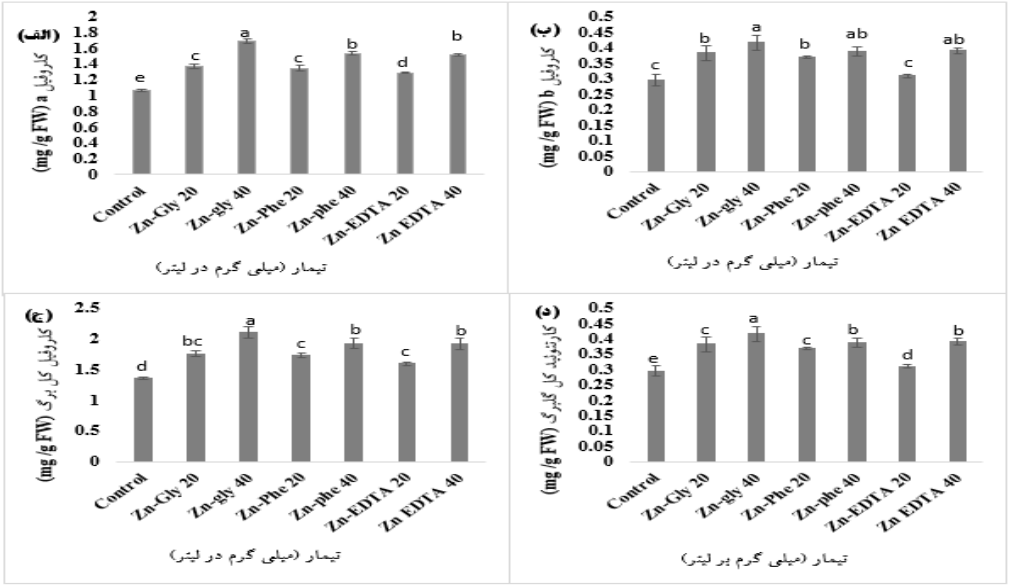
	کلروفیل کل برگ	کارتنوئید کل گلبرگ	فنل کل	فلاونوئید کل	فعالیت آنزیم PAL	محتوای روی	روغن دانه
کلروفیل کل برگ	۱						
کارتنوئید کل گلبرگ	۰/۹۳۲**	۱					
فنل کل	۰/۸۵۲**	۰/۸۸۹**	۱				
فلاونوئید کل	۰/۸۸۶**	۰/۹۰۵**	۰/۸۶۰**	۱			
فعالیت آنزیم PAL	.۰/۶۶۶**	۰/۷۶۲**	۰/۷۱۹**	۰/۷۵۸**	۱		
محتوای روی	۰/۸۵۴**	۰/۸۸۴**	۰/۸۲۴**	۰/۸۶۱**	۰/۶۲۳**	۱	
روغن دانه	۰/۶۹۸**	۰/۷۹۴**	۰/۶۷۰**	۰/۷۹۳**	۰/۸۱۷**	۰/۷۲۴**	۱

** نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

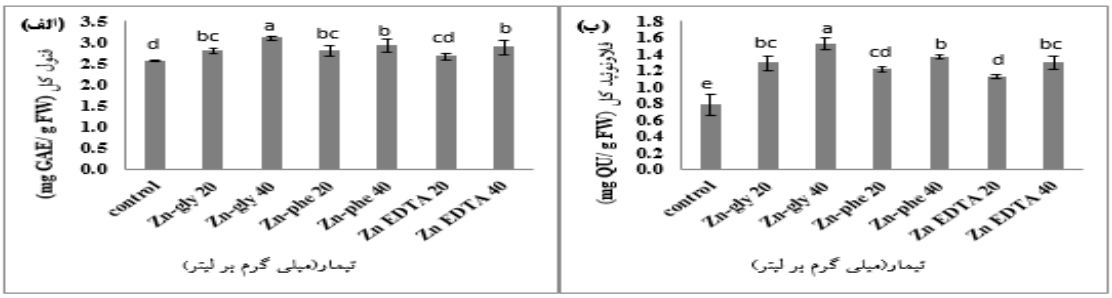


شکل۱- طیف FT-IR کمپلکس (الف) گلیسین-روی (Zn-Gly) و (ب) فنیل آلانین-روی (Zn-Phe)

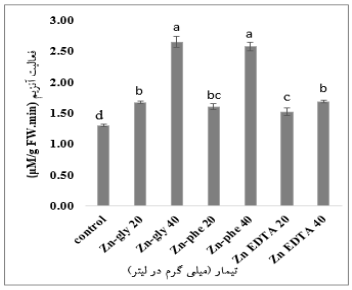
مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364



شکل۲ -اثر تیمار غلظت‌های مختلف آمینو کلات گلیسین–روی (Zn-Gly)، فنیل آلانین–روی (Zn-Phe) و Zn-EDTA بر مقدار الف) کلروفیلa، ب) کلروفیلb، ج) کلروفیل کل برگ، د) کارتنوئید کل گلبرگ درگیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*). هر ستون حاصل میانگین ۳ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان نمی‌دهند.

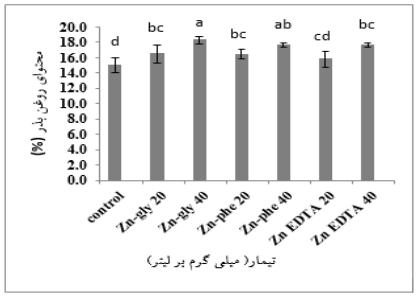


شکل۳- اثر تیمار غلظت‌های مختلف آمینو کلات گلیسین–روی (Zn-Gly)، فنیل آلانین–روی (Zn-Phe) وZn-EDTA بر مقدار الف) فنل کل، ب) فلاونوئید کل درگیاه همیشه بهار(*Calendula officinalis*). هر ستون حاصل میانگین ۳ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان نمی‌دهند.

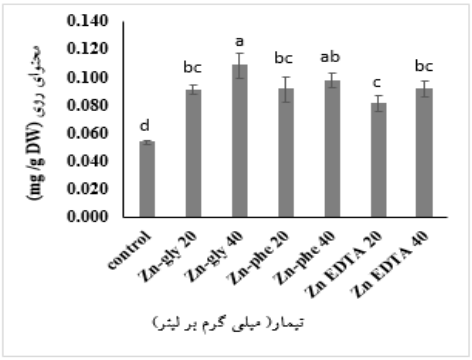


شکل ۴- اثر تیمار غلظت‌های مختلف آمینو کلات گلیسین–روی (Zn-Gly)، فنیل آلانین–روی (Zn-Phe) و Zn-EDTA بر فعالیت آنزیم PAL درگیاه همیشه بهار(*Calendula officinalis*). هر ستون حاصل میانگین ۳ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان نمی‌دهند.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364



شکل۵- اثر تیمار غلظت‌های مختلف آمینو کلات گلیسین–روی (Zn-Gly)، فنیل آلانین–روی (Zn-Phe) و Zn-EDTA بر محتوای روغن بذر گیاه همیشه بهار(*Calendula officinalis*). هر ستون حاصل میانگین ۳ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان نمی‌دهند.



شکل۶- اثر تیمار غلظت‌های مختلف آمینو کلات گلیسین–روی (Zn-Gly)، فنیل آلانین–روی (Zn-Phe) و Zn-EDTA بر محتوای روی در برگ گیاه همیشه بهار(*Calendula officinalis*). هر ستون حاصل میانگین ۳ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان نمی‌دهند.

بحث

در مطالعه حاضر مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محلول‌پاشی کلات Zn-Gly در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش معنی‌دار بر ارتفاع، تعداد شاخه فرعی، تعداد گل در بوته، ورن‌تر و خشک گل و وزن هزاردانه در مقایسه با تیمار کلات مصنوعی Zn-EDTA و شاهد شده است (جدول ۳). اثر مثبت آمینوکلات روی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاهان در نتایج پژوهشگران دیگر، فلفل (۱۲) برنج (۳۹) و گندم (۱۶) نیز گزارش شده است. نتایج تحقیقات دیگر محققان نشان داد که کاربرد محلول‌پاشی روی سبب بهبود زیست توده گیاه نعناع فلفلی شد (۲). دلیل برتری آمینوکلات Zn-Gly در مقایسه با تیمار Zn-EDTA را شاید بتوان به خاطر جذب و انتقال بهتر این عنصر در گیاه نسبت داد. این ترکیب با در دسترس قرار دادن سریع مواد غذایی در طی مراحل رشد گیاه و کمک به افزایش رشد رویشی و ظرفیت فتوسنتزی، موجب افزایش ویژگی‌های مورفولوژیکی شده است و ممکن است تا حدی نیز به دلیل نقش گلیسین در فرآیندهای مختلف زیستی، از جمله تقسیم سلولی و رشد سلول مربوط باشد. گلیسین ساده‌ترین اسیدآمینه موجود در طبیعت است و در مقایسه با سایر آمینو اسیدها با سرعت بیشتری توسط گیاه جذب می شود و می‌تواند اثرات مفیدی بر عملکرد و کیفیت گیاهان داشته باشد (۳۲) و از طرف دیگر آمینواسیدها خود از منابع نیتروژن برای تغذیه گیاه می‌باشند (۳).

نتایج تجزیه واریانس داده‌های پژوهش حاضر نشان داد که مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر تیمار روی قرار گرفته است (جدول۴). بیشترین مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در تیمار Zn-Gly در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. نتایج سایر محققان بر روی گیاهان نعناع فلفلی (۳۶)، چای (۲۳) و سیب زمینی شیرین (۴۰) نشان داد که تیمار این گیاهان با آمینوکلات روی سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود. افزایش فتوسنتز در گیاهان با محلول‌پاشی روی به طرق مختلف

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

مورد بحث قرار گرفته است مثلا اینکه روی، آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز را تحت تأثیر قرار می‌دهد که می‌تواند از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در فتوسنتز مانند کربنیک آنهیدراز، فسفو انول پیروات کربوکسیلاز باشد (۱۳). همچنین عنصر روی، در راه‌اندازی برخی آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل و نیز برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز در حفاظت از تخریب کلروفیل توسط رادیکال‌های فعال اکسیژن نقش اساسی دارد (۱).

ارزیابی کاربرد محلول‌پاشی کلات‌های روی در مطالعه حاضر روند مشابهی را در محتوای فنل و فلاونوئید کل در گیاه همیشه بهار نشان داد. به طوری‌که بیشترین مقدار فنل و فلاونوئید کل در تیمار Zn-Gly در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد که با نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده بر روی گیاهان ریحان (۳۳)، چای (۲۳)، گشنیز (۳۰) مطابقت دارد. گزارش شده است که روی، با تنظیم فتوسنتز و افزایش مقدار قند سبب افزایش مقدار ترکیبات فنلی در گیاهان مورد بررسی می‌شود (۳۵). چالکون سنتاز و چالکون ایزومراز آنزیم‌های کلیدی درگیر در مسیر بیوسنتز ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهان هستند. محلول‌پاشی روی، بیان ژن‌های مرتبط با این آنزیم‌ها را افزایش می‌دهد و تأثیر مثبتی بر غلظت این فاکتورها دارد (۳۵). فنیل‌آلانین آمونیالیاز آنزیم کلیدی در مراحل اولیه سنتز فنیل پروپانوئیدها و فلاونوئیدها است که گزارشاتی مبنی بر اثر کاربرد روی، بر رونویسی بیشتر ژن‌های مرتبط با این آنزیم در برخی گونه‌های گیاهی منتشر شده است که با یافته‌های حاضر در این تحقیق مطابقت دارد. به عنوان مثال نشان داده شده که کاربرد کود روی، سبب افزایش فعالیت آنزیم تیروزین آمونیالیاز (TAL) و فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) در گیاه گندم (۲۵)، چای (۲۳) می‌شود.

بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق، محلول‌پاشی آمینوکلات روی بر گیاه دارویی همیشه بهار می‌تواند موجب افزایش روغن دانه این گیاه شود. بیشترین درصد روغن در تیمار Zn-Gly در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۲۰ درصد افزایش داشت. محتوای روغن دانه همیشه بهار معمولا بین ۵ تا ۲۲ درصد است. روغن دانه همیشه بهار در صنعت کاربردهای مختلفی مثل تولید رنگ و چسب دارد. بایبوردی و مامدو (۸) گزارش کردند که روی، نقش کلیدی در بیوسنتز تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه و متابولیسم کربوهیدرات‌ها دارد که منجر به تجمع مواد جذب‌شده در دانه و در نتیجه افزایش عملکرد دانه می‌شود. روی، همچنین می‌تواند متابولیسم چربی‌ها را افزایش داده و از این طریق بر درصد روغن دانه تأثیر بگذارد. هم راستا با پژوهش حاضر کاکمک (۹) گزارش کرد در بین عناصر کم مصرف، روی، تشکیل متابولیت‌ها در گیاه کلزا را کنترل می‌کند و باعث افزایش در مقدار روغن دانه کلزا می‌شود. محققان متعددی کاربرد روی، به صورت محلول‌پاشی را بر روغن دانه بادام زمینی را مثبت گزارش کردند (۱۹).

بر اساس نتایج این پژوهش (جدول۵)، تأثیر تیمارهای به کاررفته در سطح احتمال ۱٪ بر غلظت روی در برگ گیاه همیشه بهار معنی‌دار بود و مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، بیشترین میزان غلظت روی، ناشی از محلول‌پاشی تیمار Zn-Gly در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بود (شکل ۶). گزارشات دیگری نیز از تأثیر بهتر کاربرد آمینواسیدها به صورت کلات با روی، در افزایش میزان روی، در گیاه گوجه فرنگی (۱۷) ، نعناع (۳۶) و چای (۲۳) دیده شده است. قاسمی و همکاران (۱۶) بیان داشتند جذب روی در شاخساره‌های گندم از منبع کلات‌های روی و اسیدآمینه گلیسین به طور معنی‌داری بیشتر از سولفات روی بود. همچنین یوان و همکاران (۴۱) بیان داشتند که عناصر وقتی به صورت کلات با اسیدآمینه در می‌آیند شعاع یونی آنها کوچک شده و در نتیجه مقاومت به نفوذ به داخل برگ برای آنها کاهش یافته بنابراین آسان‌تر و بیشتر وارد فضای دورن سلولی برگ شده و در بافت‌های گیاه منتقل می‌شوند.

نتیجه‌گیری

بطورکلی، نتایج این تحقیق حاکی از آن بود، که تغذیه برگی کلات‌های روی می‌تواند در بهبود ویژگی‌های

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

عملکردی و رشدی گیاه همیشه بهار مؤثر باشد. با توجه به نتایج این تحقیق، محلول‌پاشی هر دو شکل آمینوکلات‌های روی باعث بهبود پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار شد. اما محلول‌پاشی روی کلات شده با اسیدآمینه گلایسین در بسیاری از صفات مورد مطالعه نسبت به کلات مصنوعی EDTA عملکرد بهتری نشان داده است که بیانگر کارایی بهتر آمینوکلات گلیسین-روی (Zn-Gly) می‌باشد. اسیدهای آمینه از مهمترین مواد طبیعی کلات کننده هستند که نقش مهمی در جذب عناصر غذایی و همچنین انتقال آنها در داخل گیاه دارند. در تغذیه برگی گیاهان نیز مشخص شده که در بسیاری موارد شکل ترکیبی و کلات شده عناصر بهتر از شکل ساده آنها می‌باشد مخصوصاً اگر عناصر غذایی با موادی کلات کننده طبیعی به کار روند.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه گلستان جهت تامین بخشی ازهزینه‌های مالی این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱- آقایی، ا، شهایی‌وند، ص، اطهاری، م، نصیری، ی، ۱۴۰۱. تأثیر محلول‌پاشی روی و نانوذره روی بر رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی و ترکیبات اسانس ریحان سبز. مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۳۵(۲)، ۲۳۱-۲۱۸.

۲- رستمی، ق، مقدم، م، قاسمی پیربلوطی، ع، تهرانی‌فر، ع، ۱۳۹۹. اثر سولفات و نانوذرات آهن و روی بر زیست توده، مقدار و ترکیبات روغن‌های اسانسی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* .L)تحت تنش شوری. پژوهشهای گیاهی(مجله زیست شناسی ایران)، ۳۳(۳)، ۵۱۵-۵۰۵.

۳- سوری، م، ۱۳۹۴. کلات‌ها و آمینو کلات‌ها و نقش تغذیه‌ای آنها در گیاهان. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی، ۱۶۳ صفحه.

4-.Arnon, A., 1967. Method of chlorophyll measurements in plants. Agronomy Journal, 23,112-121.

5- Arora, D., Rani, A., Sharma, A., 2013. A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus Calendula. Pharmacognosy reviews, 7,179.

6- Azad, S., 2018. Amino acids: Its types and uses. Int J Clin Diagnostic Pathol, 1,13-16.

7- Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., Zhao, F., 2012. Function of nutrients: micronutrients. In: Marschner's mineral nutrition of higher plants. Elsevier, 191-248.

8- Bybordi, A., Mamedov, G., 2010. Evaluation of application methods efficiency of zinc and iron for canola (*Brassica napus* L.). Notulae Scientia Biologicae, 2, 94-103.

9- Cakmak, I., Kalayci, M., Kaya, Y., Torun, A., Aydin, N., Wang, Y., Arisoy, Z., Erdem, H., Yazici, A., Gokmen, O., 2010. Biofortification and localization of zinc in wheat grain. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, 9092-9102.

10- Chang, CC., Yang, MH., Wen, HM., Chern, JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10, 178-182.

11- Chapman, HD., Pratt, PF. (1962). Methods of analysis for soils, plants and waters. Soil Science, 93,68.

12- Datir, R., Apparao, B., Laware, S., 2012. Application of amino acid chelated micronutrients for enhancing growth and productivity in chili (*Capsicum annum* L.). Plant Sciences Feed, 2, 100-105.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

13- Fei, X., Fu XZ., Wang, NQ., Xi, JL., Huang, Y., Wei, Z., Ling, LL., Peng, LZ., 2016. Physiological changes and expression characteristics of ZIP family genes under zinc deficiency in navel orange (*Citrus sinensis*). Journal of integrative agriculture, 15, 803-811.

14- Garcia, A., Madrid, R., Gimeno, V., Rodriguez-Ortega, W., Nicolas, N., Garcia-Sanchez, F., 2011. The effects of amino acids fertilization incorporated to the nutrient solution on mineral composition and growth in tomato seedlings. Spanish Journal of Agricultural Research, 9, 852-861.

15- Gesch, R., 2013. Growth and yield response of calendula (*Calendula officinalis*) to sowing date in the northern USA. Industrial Crops and Products, 45, 248– 252.

16- Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, AH., Afyuni, M., Hadadzadeh, H., 2013. The effectiveness of foliar applications of synthesized zinc-amino acid chelates in comparison with zinc sulfate to increase yield and grain nutritional quality of wheat. European journal of agronomy, 45, 68-74

17- Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, AH., Hadadzadeh, H., Jafari, M., 2012. Synthesis of iron-amino acid chelates and evaluation of their efficacy as iron source and growth stimulator for tomato in nutrient solution culture. Journal of plant growth regulation, 31, 498-508.

18- Hara, A., Radin, NS., 1978. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. Analytical biochemistry, 90, 420-426.

19- Irmak, S., Cıl, AN., Yucel, H., Kaya, Z., 2015. Effects of zinc application on yield and some yield components in peanut arachis hypogaea in the easthern mediterranean region. Journal of Agricultural Sciences, 22, 109-116.

20- Jan, N., John, R., 2017. *Calendula officinalis*-an important medicinal plant with potential biological properties . Proc Indian Natn Sci Acad, 83, 769-787.

21- Kamble, S., Shinde, S., Mali, S., Jadhav, A., 2023. A Review on Preparation of Calendula Oil. Sumer J Med Healthc, 6(1), 1-7.

22- Khan, S., Yu, H., Li, Q., Gao, Y., Sallam, BN., Wang, H., Liu, P., Jiang, W., 2019. Exogenous application of amino acids improves the growth and yield of lettuce by enhancing photosynthetic assimilation and nutrient availability. Agronomy, 9, 266.

23- Li, F., Yao, X., Lu, L., Jiao, Y., 2023. Preparation of Zn−Gly and Se−Gly and Their Effects on the Nutritional Quality of Tea (*Camellia sinensis*). Plants, 12, 1049.

24- Lungu, L., Popa CV., Marinescu, M., Tecuceanu, V., Danet, AF., Bercu, V., 2019. Antioxidant capacity of some Calendula extracts by EPR spectroscopy. Romanian Reports in Physics, 71,1-15.

25- Ma, D., Sun, D., Wang, C., Ding, H., Qin, H., Hou, J., Huang, X., Xie, Y., Guo, T. 2017. Physiological responses and yield of wheat plants in zinc-mediated alleviation of drought stress. Frontiers in plant science, 8, 1-12.

26- Marschner, H., 2011. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press. London, UK.

27 Meda, A., Lamien, CE., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, OG., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food chemistry, 91, 571-577.

28- Mohammadi, P., Khoshgoftarmanesh, AH., 2014. The effectiveness of synthetic zinc (Zn)-amino chelates in supplying Zn and alleviating salt-induced damages on hydroponically grown lettuce. Scientia Horticulturae, 172, 117-123.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱
DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

29- Nicolaus, C., Junghanns, S., Hartmann, A., Murillo, R., Ganzera, M., Merfort, I., 2017. In vitro studies to evaluate the wound healing properties of *Calendula officinalis* extracts. Journal of ethnopharmacology, 196, 94-103.

30- Özbek, DG., Beysi, E., 2021. Effects of Zinc Application on Some Important Yield and Quality Characteristics of Coriander (*Coriandrum sativum* L.). Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 36, 381-390.

31- Pascual, MB., El-Azaz, J., De, La. Torre, FN., Cañas, RA., Avila, C., Cánovas, FM. 2016. Biosynthesis and metabolic fate of phenylalanine in conifers. Frontiers in plant science, 7, 1030.

32- Rosa, R., Franczuk, J., Zaniewicz-Bajkowska, A., Remiszewski, K., Dydiv, I., 2022. Effect of L-glycine on the growth and selected nutritional elements of butterhead lettuce. Journal of Ecological Engineering, 23.

33- Said-Al Ahl, H., Mahmoud, AA., 2010. Effect of zinc and/or iron foliar application on growth and essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress. Ozean Journal of Applied Sciences, 3, 97-111.

34- Shahane, K., Kshirsagar, M., Tambe, S., Jain, D., Rout, S., Ferreira, MKM., Mali, S., Amin, P., Srivastav, PP., Cruz, J., 2023. An updated review on the multifaceted therapeutic potential of *Calendula officinalis* L. Pharmaceuticals, 16, 611.

35- Song, CZ., Liu, MY., Meng, JF., Chi, M., Xi, ZM., Zhang, ZW., 2015. Promoting effect of foliage sprayed zinc sulfate on accumulation of sugar and phenolics in berries of Vitis vinifera cv. Merlot growing on zinc deficient soil. Molecules, 20, 2536-2554.

36- Tepecik, M., Esetlili BC., Oztürk, B., Anac, D., 2022. Effect of different fertilizers on peppermint-Essential and non-essential nutrients, essential oils and yield. Italian Journal of Agronomy, 17, 1921.

37- Vadas, TM., Zhang, X., Curran, AM., Ahner, BA., 2007. Fate of DTPA, EDTA, and EDDS in hydroponic media and effects on plant mineral nutrition. Journal of plant nutrition, 30, 1229-1246.

38- Wang, JW., Zheng, LP., Wu, JY., Tan, RX., 2006. Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and Taxol production induced by low-energy ultrasound in Taxus yunnanensis cell suspension cultures. Nitric Oxide, 15, 351-358.

39- Wei, Y., Shohag, M., Yang, X., 2012. Biofortification and bioavailability of rice grain zinc as affected by different forms of foliar zinc fertilization. PLOS ONE, 7(9).

40- Xu, M., Liu, M., Ma, Q., Wu, L., 2022. Glycine-chelated zinc lowered foliar phytotoxicity than excess zinc sulfate and improved zinc use efficiency in two sweet potato cultivars. Scientia Horticulturae, 295, 110880.

41- Yuan, L., Wu, L., Yang, C., Lv, Q., 2013. Effects of iron and zinc foliar applications on rice plants and their grain accumulation and grain nutritional quality. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93, 254-261.

42- Zhang, X., Liu, CJ., 2015. Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. Molecular plant, 8, 17-27.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۹۷-۲۱۱

DOI: 10.22034/jpr.2024.8459.3364

Comparison the effect of glycine-zinc, phenylalanine-zinc aminochlate and Zn-EDTA foliar application on some growth and physiological parameters of *Calendula officinalis* L plant

Elham Khanpoor[1], Mahnaz Aghdasi[1*], Vahid Tavallali[2], Vahid Rowshan Sarvestani[3]

[1] Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Golestan University, Gorgan, Iran

[2] Dept. of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.

[3] Dept. of Natural Resources, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Shiraz, Iran.

*Corresponding Author Email: Aghdasi1346@gmail.com

Abstract

The marigold plant (*Calendula officinalis* L.) is a valuable medicinal plant with numerous medicinal, health, and industrial applications, as well as being used as an ornamental plant. In the present study, the efficiency of foliar nutrition with artificial chelated zinc source and various complexes of amino acid-zinc on the growth and physiological characteristics of the marigold plant were evaluated. This experiment was conducted using completely randomized block design with 7 treatments and 3 replications. The foliar application treatments were: Zn-EDTA, glycine-zinc (Zn-Gly) and phenylalanine-zinc (Zn-Phe) at concentrations of 0, 20 and 40 mg/L. The treatments were done at two stages, the first at the stage of 4-6 leaves and the second before the beginning of flowering. The results indicated that the highest plant height, number of lateral branches, number of flowers, fresh and dry weight of flowers, thousand seed weight, photosynthetic pigments, total carotenoids in the petals, total phenols and flavonoids amount, PAL activity, leaf zinc content, and seed oil percentage were observed at the concentration of 40 mg/L of Zn-Gly treatment which showed a significant difference compared to Zn-EDTA treatment and the control. On the other hand, the present data showed that different treatments did not have any significant difference on the flower diameter. Additionally, the Zn-Gly treatment at both concentrations of 20 and 40 mg/L led a reduction in the number of days to flowering compared to other treatments. The current data indicated that there is a positive and significant correlation ($P<0.01$) between physiological parameters in different treatments.

Key words: Amino chelate, *Calendula officinalis*, Glycine, Phenylalanine, Zinc