اثر محلول‌پاشی آهن و روی بر برخی صفات بیوشیمیایی گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) تحت کمبود نیتروژن

زینب اصل محمدی[۱]، نیر محمدخانی[۱*] و مسلم ثروتی[۲]

[۱] **ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، گروه گیاهان دارویی**

[۲] **ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، گروه علوم خاک**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۴

چکیده

یکی از مهمترین علل محدود کننده رشد گیاهان کمبود مواد غذایی خاک است. نیتروژن به عنوان یکی از عناصر غذایی پرمصرف و ضروری برای تولید گیاه به شمار می‌رود که کمبود آن در بسیاری از مناطق کشور رایج است. یکی از روش‌های تامین نیاز غذایی گیاهان، کاربرد عناصر به صورت تغذیه برگی است. در مطالعه حاضر اثر محلول‌پاشی عناصر میکرو (آهن و روی) بر برخی صفات رشدی و بیوشیمیایی گیاه آویشن باغی از جمله طول و وزن خشک ریشه و اندام هوایی، سطح برگ، محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل، قند محلول، پرولین و آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و محتوای اسانس تحت کمبود نیتروژن مورد ارزیابی قرار گرفت. به همین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار در گلخانه به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایش شامل کمبود نیتروژن در دو سطح نرمال و کمبود و محلول‌پاشی عناصر کم‌مصرف (آهن و روی) در سه سطح شاهد، یک درصد و دو درصد از منبع سولفات آهن و سولفات روی بود. نتایج حاصل نشان داد که اثر محلول‌پاشی بر فاکتورهای رشدی معنی‌دار بود، در گیاهان نرمال (هوگلند کامل) محلول‌پاشی باعث افزایش طول اندام هوایی و آهن ۲٪ باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی شد. محلول‌پاشی همچنین محتوای نسبی آب برگ را در گیاهان تیمار شده با هوگلند کامل افزایش داد. کمبود نیتروژن باعث کاهش محتوای کلروفیل و افزایش کاروتنوئید نسبت به شاهد شد. محتوای قند محلول، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ریشه و برگ گیاه آویشن در شرایط کمبود نیتروژن افزایش یافت. محلول‌پاشی با عناصر کم-مصرف باعث بهبود کمبود نیتروژن شد و به طور کلی عنصر روی نسبت به آهن اثر بارزتری بر فاکتورهای بیوشیمیایی داشت. ترکیب اصلی اسانس آویشن تیمول بود که در شرایط کمبود نیتروژن و همچنین تحت محلول‌پاشی با عناصر کم‌مصرف افزایش یافت. بین قند برگ با فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز برگ و ریشه همبستگی مثبت معنی داری ($P<۰/۰۱$، $r>۰/۷$) وجود داشت و بین فعالیت کاتالاز گیاه با فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز آن نیز همبستگی مثبت معنی داری ($r>۰/۹$) مشاهده شد.

واژه های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، پرولین، قند محلول، کاتالاز، *Thy*mus *vulgaris*.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۴۲۰۲۶۰۰، پست الکترونیکی: n.mohammadkhani@urmia.ac.ir

مقدمه

گیاه آویشن باغی با نام علمی *Thymus vulgaris* L. از تیره نعناعیان و دارای ساختار بوته‌ای و چند ساله است (۵۱). اسانس آویشن آنتی بیوتیک بسیار قوی بوده و مونوترپن‌های موجود در این گیاه نیز دارای اثرات ضد تشنجی، ضد التهاب و ضد سرفه هستند (۳۹). مهم‌ترین ترکیبات آویشن عبارتند از: تیمول، کارواکرول، پاراسیمن و تیو کاریوفیلن (۵۱).

اثر قابل توجه عنصر نیتروژن در افزایش میزان محصول از یک سو و کاهش میزان آن در خاک از سوی دیگر، باعث

شده است که محققان به طور فزاینده‌ای به مطالعه اثر نیتروژن در انواع گیاهان بپردازند، برای مثال گیاهانی که علائم کمبود نیتروژن دارند رشد کند داشته و ضعیف هستند و بطور شاخص گیاهان رنگ پریده می‌باشند و با پیشرفت کمبود برگ‌های مسن زرد رنگ می‌شوند. کمبود باعث کاهش کیفیت محصول و پیری زود هنگام گیاه می-شود (۲).

جهت افزایش کمی و کیفی و تولید مناسب گیاهان عالی، تغذیه معدنی آن‌ها امری مهم و ضروری به نظر می‌رسد. در این بین عناصر ریز مغذی جایگاه ویژه‌ای دارند و باید توجه بیشتری به آن‌ها معطوف گردد. این عناصر در سطح کمی مصرف می‌شوند، اما اعمال حیاتی بسیار مهمی مانند فرآیند فتوسنتز وتنفس را در گیاهان کنترل می‌کنند. کاربرد ریزمغذی‌ها به روش محلول‌پاشی می‌تواند وضعیت رشد گیاه را بهبود بخشد (۳۷). مواد غذایی را می‌توان به عنوان کود تهیه کرد و به شکل محلول‌پاشی به عنوان یک شکل تغذیه‌ای به طور مستقیم در اختیار برگ‌های گیاه قرار داد (۱۰).

محلول‌پاشی عناصر غذایی یکی از روش‌های معمول تأمین نیاز غذایی گیاهان عالی است که کارایی آن وقتی شرایط خاک برای دسترسی عناصر نامناسب است، بیشتر از مصرف خاکی کود می‌باشد (۲۱). Ramroudi و همکاران (۴۱) بیان نمودند که کاربرد محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی می‌تواند نقش مفیدی بر بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاهان از جمله اسفرزه (*Plantago ovata* Forsk) ایفا نماید. عناصر ریز مغذی اثرات سودمند زیادی روی گیاهان دارند زیرا آن‌ها در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نیتروژن، همچنین در مقاومت گیاه به شرایط نامطلوب محیطی و دیگر فرآیندها دخیل می‌باشند (۳۳). تاثیر مثبت استفاده از عناصر ریز مغذی بر رشد محصول ممکن است به نقش این عناصر در بهبود جذب مواد غذایی، فتوسنتز و سینک بهتر و نیز نقش حیاتی این عناصر در فرایندهای بیوشیمایی مختلف یاشد (۲۷). این عناصر برای رشد طبیعی گیاهان مورد نیاز هستند و ضمن شرکت در ساختار بعضی از اندامک‌ها، در بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه دخالت دارند (۴۴).

گیاهان در شرایط محیطی متفاوت، برای تنظیم پتانسیل اسمزی درون سلول، مواد محلول با وزن مولکولی کم و سازگار را تولید و تجمع می‌دهند. این مواد عموما شامل اسیدهای آمینه، قندها محلول واسیدهای آلی می‌باشد که در بین آن‌ها احتمالا پرولین گسترده‌ترین نوع اسمولیت است (۱). تجمع قندهای محلول در قسمت‌های مختلف گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی مختلف افزایش می‌یابد. محققین زیادی به نقش قندهای محلول در حفاظت سلول-ها در برابر تنش‌ها اشاره کرده‌اند (۲۲). پرولین یک شاخص قابل اطمینان برای مطالعه اثر تنش‌های محیطی روی گیاهان است (۱۷). برخی اظهار داشتند که تجمع پرولین در گیاهان عالی، واکنشی عمومی به تنش است و در پایداری ساختارهای غشایی و پروتئین‌ها، خنثی سازی رادیکال‌های آزاد و تنظیم پتانسیل اسمزی در شرایط تنش نقش اساسی دارد (۲۶). ریزمغذی روی در سنتز کربوهیدرات و سوخت و ساز پروتئین و اسیدهای آمینه‌ای مانند پرولین نقش اساسی دارد (۲۹). تجمع پرولین در شرایط تنش به دلیل فعال شدن بیوسنتز و غیر فعال شدن تجزیه آن است (۱۶) و در همه اندامک‌های گیاهی تحت تنش به ویژه برگ‌ها افزایش می‌یابد.

طی تنش کلروفیل‌ها در کلروپلاست تجزیه و ساختارهای تیلاکوئید ناپدید و باعث تولید اکسیژن فعال همراه با کاهش و تجزیه کلروفیل می‌شود (۴۶). سلول‌های گیاهی برای مقابله با آثار منفی تنش‌های محیطی از سازوکارهای دفاعی ویژه‌ای برخوردارند که از همکاری آنزیم آنتی های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز (۱۳) و آنتی اکسیدان‌های کارتنوئید، آسکوربات و گلوتاتیون تشکیل شده است. همکاری این اجزا با یکدیگر سبب تشکیل چرخه‌های بسیار مهمی نظیر

آسکوربات -گلوتاتیون، مهلر و گزانتوفیل خواهد شد (۳۴). اجزای این چرخه‌ها سازوکارهای دفاعی است که سلول را قادر می‌سازد تا از تولید فرم‌های فعال اکسیژن پیشگیری کند یا اینکه آن‌ها را جمع‌آوری کند و آثار مضر آن‌ها را کاهش دهد (۵۳). نتایج بررسی مختلف حاکی از آن است که یون‌های فلزی همچون آهن، روی، مس، منگنز و منیزیم به عنوان کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیم های آنتی اکسیدانی مشارکت می-کنند و در شرایط کمبود عناصر ریزمغذی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاهش می‌یابد. همین امر به افزایش حساسیت گیاهان به تنش‌های محیط می‌انجامد (۱۵).

با توجه با مطالب ذکر شده انتظار می‌رود که با محلول‌پاشی عناصر آهن و روی در گیاه آویشن اثرات ناشی از کمبود نیتروژن را که در اغلب خاک‌های ایران حاکم است تعدیل نموده و از طرف دیگر نیز از اثرات نامطلوب ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای نیتروژنه و هدررفت سرمایه ملی و آلوده‌شدن محیط زیست جلوگیری به‌عمل آورد. لذا هدف از پژوهش حاضر اثر محلول پاشی آهن و روی بر فاکتورهای رشدی از جمله طول ریشه و اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، محتوای نسبی آب برگ و سطح برگ، محتوای کلروفیل، قند محلول، پرولین و آنزیم های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز و همچنین اجزا تشکیل دهنده اسانس گیاه آویشن باغی تحت شرایط کمبود نیتروژن می‌باشد.

مواد و روشها

به‌منظور ارزیابی اثر محلول‌پاشی عناصر میکرو (آهن و روی) بر برخی صفات بیوشیمایی گیاه آویشن از جمله کلروفیل، قند محلول، پرولین و آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت کمبود نیتروژن آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی به صورت فاکتوریل دو عاملی ۵×۲، که فاکتور اول شامل دو سطح نیتروژن خاک (هوگلند کامل و کمبود نیتروژن) و فاکتور دوم شامل محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی در ۵ سطح (آهن ۱٪، آهن ۲٪، روی ۱٪، روی ۲٪ و شاهد (محلولپاشی با آب مقطر)) در سه تکرار در گلخانه مرکز آموزش عالی شهید باکری دانشگاه ارومیه به اجرا در آمد. برای این منظور، نشاءهای یک ماهه آویشن از شرکت زرین گیاه ارومیه تهیه و در گلدان‌هایی با عمق و قطر ۱۸ سانتی‌متر کاشته شد. خاک استفاده شده دارای بافت لوم شنی (جدول ۱) بود. آستانه کمبود برای نیتروژن ۰/۱ تا ۰/۲ درصد و میزان نیتروژن خاک اولیه ۰/۰۳۸ درصد بود، پس خاک اولیه کمبود نیتروژن داشت. نشاءهای کاشته‌شده ابتدا با محلول غذایی هوگلند یک چهارم، سپس با یک دوم و نهایتا با محلول تمام قدرت (حاوی نمک‌های موجود در محلول غذایی هوگلند با غلظت کامل) آبیاری شدند. دوره‌های آبیاری هر دو روز یکبار بود به این ترتیب که یکبار با آب معمولی و پس از دو روز با محلول غذایی هوگلند آبیاری انجام شد، و به همین ترتیب تا پایان دوره تیمار گیاه ادامه داشت. دوره‌های آبیاری هر دو روز یکبار بود به این ترتیب که یکبار با آب معمولی آبیاری و پس از دو روز آبیاری با محلول غذایی هوگلند انجام شده و به همین ترتیب تا پایان دوره تیمار آبیاری گیاه ادامه داشت. کمبود نیتروژن بر گیاهان سه ماهه در مرحله رشد رویشی اعمال شد به این صورت که ابتدا نیتروژن محلول غذایی به نصف و پس از گذشت ۱۵ روز به یک چهارم و در نهایت به صفر کاهش یافت. هم‌زمان با اعمال کمبود نیتروژن محلول‌پاشی عناصر میکرو (سولفات آهن و سولفات روی) در غلظت‌های یک و دو درصد در سه مرتبه و هر ۱۵ روز یکبار تکرار شد. بعد از ۴۵ روز که علائم کمبود و اسپری در گیاه مشخص شد، اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان در مرحله رشد رویشی و قبل از گلدهی برداشت شدند.

جدول ۱- مشخصات خاک اولیه

بافت خاک (٪)			کربنات کلسیم	ماده آلی	هدایت الکتریکی	واکنش	محتوای روی	محتوای آهن	محتوای فسفر	نیتروژن
شن	سیلت	رس	معادل (٪)	(٪)	(دسی زیمنس بر متر)	خاک	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	کل (٪)
۷۷/۵	۷/۵	۱۵	۱۷	۱/۳۸	۲/۷۱	۷/۴۴	۱/۶۶	۷/۲۱	۵/۸۸	۰/۰۳۸

اندازه‌گیری فاکتورهای رشدی: فاکتورهای رشدی شامل طول ریشه و اندام هوایی، سطح برگ و وزن خشک ریشه و اندام هوایی بود. قسمتی از اندام هوایی برای استخراج اسانس در سایه خشک شد، قسمتی دیگر در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی نگهداری شد و قسمتی برای تعیین وزن خشک اندام هوایی مورد ارزیابی قرار گرفت. طول اندام هوایی و ریشه با خط‌کش اندازه گیری شد. سپس گیاهان در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفتند و وزن خشک اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیولوژیکی

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ: برای سنجش محتوای نسبی آب برگ از هر گلدان ۵ برگ از قسمت میانی گیاه انتخاب شد و برای جلوگیری از اتلاف آب برگ در اثر تعرق، برگ‌ها بلافاصله در پاکت‌های پلاستیکی قرار داده و به آزمایشگاه منتقل و سپس به وسلیه ترازو با دقت ۰/۰۰۱ توزین شدند. پس از آن نمونه‌ها به مدت شش ساعت در ظرف‌های حاوی آب مقطر قرار گرفتند و پس از رسیدن به حالت آماس دوباره توزین شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شده و مجدداً توزین شدند. محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه گردید (۱۱).

$$RWC= (FW- DW / TW-DW) \times 100$$

FW: وزن تر برگ، DW: وزن خشک برگ، TW: وزن آماس برگ

اندازه‌گیری سطح برگ: سطح برگ با اسکن کردن برگ توسط اسکنر و به کمک نرم‌افزار Compu Eye اندازه‌گیری شد (۹).

اندازه گیری محتوای رنگیزه های فتوسنتزی

میزان کلروفیل a، b ، کل و کاروتنوئیدهای (کاروتن و گزانتوفیل) برگ‌های گیاهان شاهد و تیمار به روش Lichtenthaler & Wellbum (۳۱) اندازه گیری شد. رنگیزه‌های بافت تر برگی با استون ٪ ۸۰ استخراج شد و جذب نمونه ها در ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتراندازه گیری شد.

میزان کلروفیل a، b ، کل و کاروتنوئیدها طبق معادلات زیر محاسبه شد:

کلروفیل a =۱۲/۲۵ $A_{۶۶۳}$ − ۲/۷۹۸ $A_{۶۴۶}$

کلروفیل b =۲۱/۵ $A_{۶۴۶}$ −۵/۱ $A_{۶۶۳}$

کلروفیل کل =۷/۱۵ $A_{۶۶۳}$ −۱۸/۷۱ $A_{۶۴۶}$

میزان کاروتنوئیدها = (۱۰۰۰ $A_{۴۷۰}$ −۱/۸۲ a کلروفیل −۸۵/۰۲ b کلروفیل) /۱۹۸

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی

سنجش محتوای قند محلول و پرولین: میزان قندهای محلول به روش فنل سولفوریک (۲۰) سنجش شد. در این روش ۰/۰۵ گرم ماده خشک برگ و ریشه با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ هموژنیزه شده به مدت یک هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا قندهای محلول آزاد شوند. بعد از یک هفته لوله‌ها سانتریفیوژ شدند و بر روی دو میلی‌لیتر از محلول رویی، یک میلی‌لیتر فنل ۵٪ (w/v) و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ (w/v) اضافه شد. بعد از یک ساعت میزان جذب نمونه ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر تعیین شد. برای تعیین غلظت قندهای محلول منحنی استانداردی با غلظت‌های مشخص

از گلوگز رسم و معادله منحنی تغییرات غلظت قندهای محلول به‌دست آمده برای تعیین غلظت‌های مجهول قندهای محلول مورد استفاده قرار گرفت.

پرولین با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۲) اندازه-گیری شد. در این روش ۰/۰۵ گرم ماده خشک برگ و ریشه در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ به مدت ۷۲ ساعت هموژنیزه و بعد سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی در لوله آزمایش با ۲ میلی‌لیتر معرف نین-هیدرین (۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ نرمال ، ۳۰ میلی-لیتر اسید استیک گلاسیال، ۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین) مخلوط و به مدت یک ساعت در بن ماری جوش قرار داده شد. بعد از یک ساعت نمونه‌ها در آب یخ قرار داده شدند و ۴ میلی‌لیتر تولوئن به آن‌ها اضافه گردید. بعد از هم زدن نمونه‌ها با ورتکس میزان جذب در ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف پرولین (۳۰-۳ µg/l) رسم شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو: برای استخراج عصاره‌های گیاهی، بافت تر برگ و ریشه (۰/۵ g) با بافر استخراج (بافر تریس-اسید کلریدریک ۰/۰۵ M با ۷/۵ =pH، ۳ mM $MgCl_2$، ۱ mM EDTA) (۵ mM) در هاون له شد. عصاره‌های آنزیمی استفاده شده برای تعیین فعالیت آسکوربات پراکسیداز حاوی ۲ mM آسکوربات نیز بود. هموژنات حاصل در ۵۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت (محلول رویی) برای تعیین فعالیت آنزیم-های آسکوربات پراکسیداز (APX) و کاتالاز (CAT) استفاده شد (۲۳).

محلول واکنش APX (آسکوربات پراکسیداز) (۳ml) شامل بافر فسفات (pH=۷) (۵۰ mM)، H_2O_2 ۱٪ (W/V) (۰/۰۲ ml)، آسکوربات (۰/۵ mM)، EDTA (۰/۱ mM) و عصاره آنزیمی (۰/۱ mM) بود. فعالیت آسکوربات پراکسیداز به صورت کاهش در جذب آسکوربات با mM^{-} $^{1}cm^{-1}$ ε= ۲/۸ در مدت ۱ دقیقه در ۲۹۰ nm سنجش شد (۸).

ضریب خاموشی/ (حجم عصاره× اختلاف جذب آسکوربات در یک دقیقه) = فعالیت آسکوربات پراکسیداز

محلول واکنش CAT (کاتالاز) (۳ml) شامل بافر فسفات (pH=۷) (۵۰ mM)، H_2O_2 ۱٪ (W/V) (۰/۰۲ ml) و عصاره آنزیمی (۵۰µl) بود. واکنش با افزودن عصاره آنزیمی شروع شد. فعالیت کاتالاز به صورت کاهش در جذب H_2O_2 در مدت یک دقیقه با ε= ۰/۰۳۶ $mM^{-1}cm^{-1}$ در ۲۴۰ nm ثبت شد. یک واحد آنزیمی برای فعالیت کاتالاز به صورت مقدار آنزیم مورد نیاز برای اکسیده کردن ۱ µl H_2O_2 در هر دقیقه تعریف می‌شود (۳۲).

استخراج اسانس و آنالیز ترکیبات آن: اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب به نسبت ۱ به ۵ ماده خشک به آب (w/v) و با کلونجر انجام شد. آنالیز GC/MS ترکیبات اسانس با کروماتوگرافی گازی Thermo Finnigan که با مس اسپکترومتری (model GC TRACE; TRACE MS plus) جفت شده بود، انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار (SPSS نسخه ۲۴) انجام و تفاوت بین تیمارها (محلول‌پاشی عناصر کم مصرف (آهن و روی) با دو سطح ۱و ۲ درصد و نیتروژن در دو سطح دارای کمبود و بدون کمبود) با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) و دوطرفه (GLM) تعیین شد. برای تعیین اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس فاکتورهای رشدی آویشن (جدول ۲) نشان داد که اثر تیمار کمبود نیتروژن روی همه‌ی فاکتورهای مورفولوژیکی و محتوای نسبی آب برگ

به جزء طول ریشه و اندام هوایی و همچنین اثر محلول-پاشی و تأثیر متقابل تیمار × محلول‌پاشی در همه‌ی فاکتورها به‌جز سطح برگ طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود.

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) فاکتورهای رشدی و فیزیولوژیکی گیاه آویشن تحت کمبود نیتروژن و محلول‌پاشی با عناصر آهن و روی

منبع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه	طول هوایی	اندام	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	محتوای نسبی آب برگ	سطح برگ
کمبود نیتروژن	۱	۰/۰۴۸ ns	۰/۶۴۵ ns		۵/۱۳۴ *	۹۸/۰۳۱ **	۹۰۲/۲۲۴ **	۱/۳۲۱ **
محلول‌پاشی	۴	۱۰۰/۵۸۰ **	۴۳/۵۵۲ **		۵/۴۶۶ **	۴۱/۶۱۱ **	۷۶/۹۰۶ **	۰/۰۴۸ ns
کمبود نیتروژن × محلول‌پاشی	۴	۶۴/۴۴۸ **	۲۷/۰۵۲ **		۶/۰۸۸ **	۲۲/۰۵۹ **	۶۶/۷۵۲ **	۰/۱۴۶ ns
خطا	۲۰	۶/۳۰۳	۵/۸۵۵		۰/۷۴۰	۲/۸۹۲	۶/۲۰۵	۰/۰۸۳
ضریب تغییرات (CV)	-	۱۷/۰۵۵	۸/۵۵۰		۲۸/۷۶۱	۲۰/۲۹۶	۹/۶۲۱	۲۱/۱۷۶

ns، * و ** به ترتیب نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

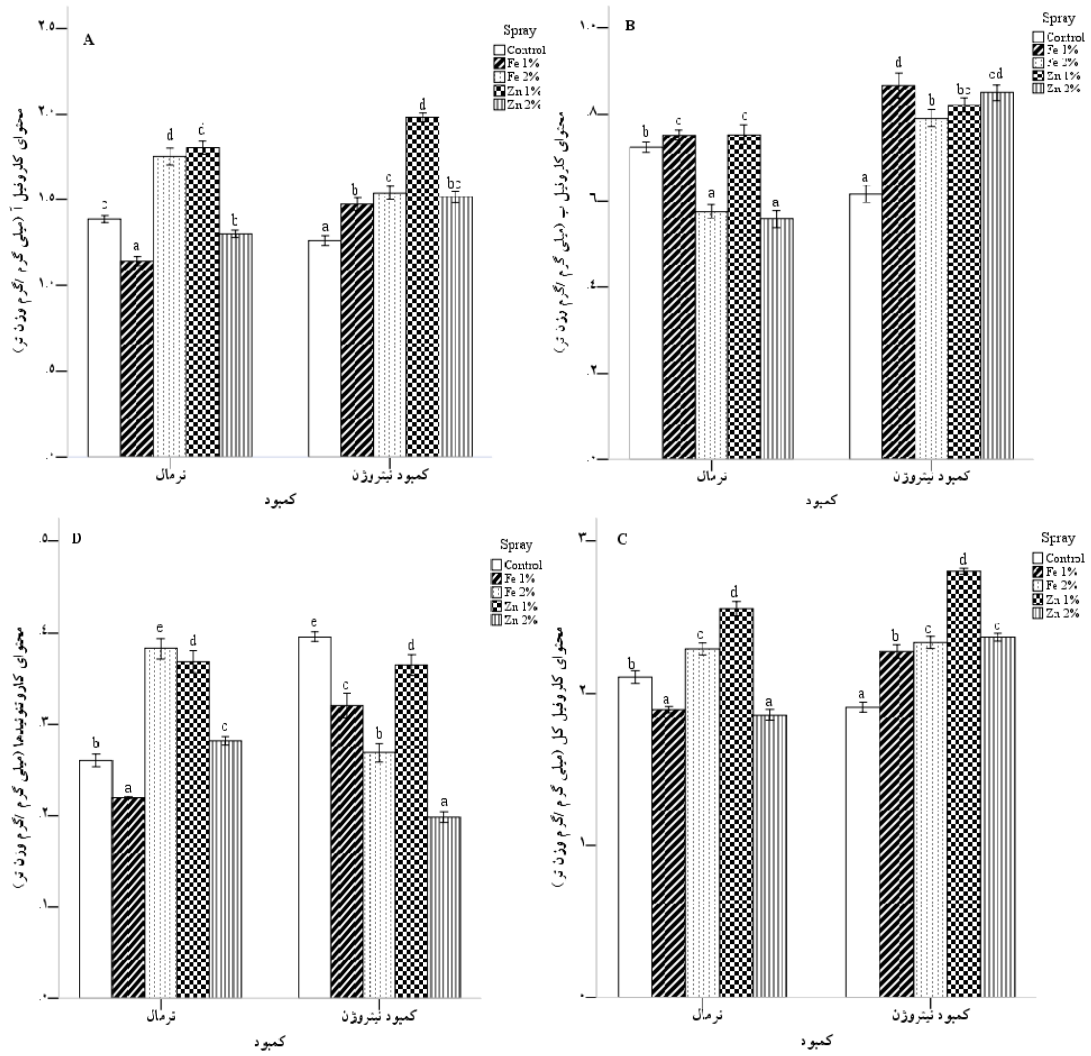
جدول ۳- **تجزیه** واریانس (میانگین مربعات) اثر محلول‌پاشی عناصر آهن و روی بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاه آویشن تحت کمبود نیتروژن

منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	قند اندام هوایی	قند ریشه	پرولین اندام هوایی	پرولین ریشه	آسکوربات پراکسیداز برگ	آسکوربات پراکسیداز ریشه	کاتالاز برگ	کاتالاز ریشه
کمبود نیتروزن	۱	۰/۰۴۶ **	۰/۱۰۳ **	۰/۲۸۵ **	۰/۰۰۰ *	۴۱۲/۰۵۰ **	۴۰/۳۳۹ **	۰/۳۴۹ **	۰/۰۰۲ ns	۲/۸۱۵ **	۳/۵۲۹ **	۷۴/۶۱۰ **	۸۶۲۹/۱۴۶ **
محلول‌پاشی	۴	۰/۳۷۶ **	۰/۰۲۴ **	۰/۴۳۹ **	۰/۰۱۵ **	۱۱۰/۲۸۴ **	۲/۷۹۵ **	۰/۱۲۰ **	۰/۰۲۰ **	۰/۰۵۶ **	۰/۱۶۰ **	۲۴/۱۰۶ **	۳۴۸/۴۹۶ **
کمبود نیتروزن× محلول‌پاشی	۴	۰/۰۸۱ **	۰/۰۳۵ **	۰/۱۱۶ **	۰/۰۱۸ **	۷۷/۴۵۳ **	۶/۳۲۷ **	۰/۱۸۵ **	۰/۰۲۱ **	۰/۰۰۲ ns	۰/۰۰۹ **	۲۸/۳۹۹ **	۴۱/۰۸۹ **
خطا	۲۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۶۲×۱۰$^{-۴}$	۰/۰۵۷	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۱/۹۷۳	۴/۱۷۱
ضریب تغییرات	-	۱۶/۸۳۱	۱۴/۹۳۹	۱۳/۱۷۱	۲۲/۲۷۴	۱۹/۰۱۲	۲۱/۱۵۷	۲۲/۲۱۵	۱۰/۸۸۹	۲۰/۷۲۹	۱۷/۷۶۶	۱۹/۰۸۹	۲۱/۸۷۳

ns، * و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار و معنی داری در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر کمبود نیتروژن، محلول‌پاشی و اثر متقابل کمبود و محلول-پاشی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید)، قند محلول، پرولین (به جز اثر کمبود بر پرولین ریشه) و آنزیم‌های. آنتی اکسیدان (به جز اثر متقابل کمبود × محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ) ریشه و اندام هوایی گیاه آویشن طبق آنالیز دانکن در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود.

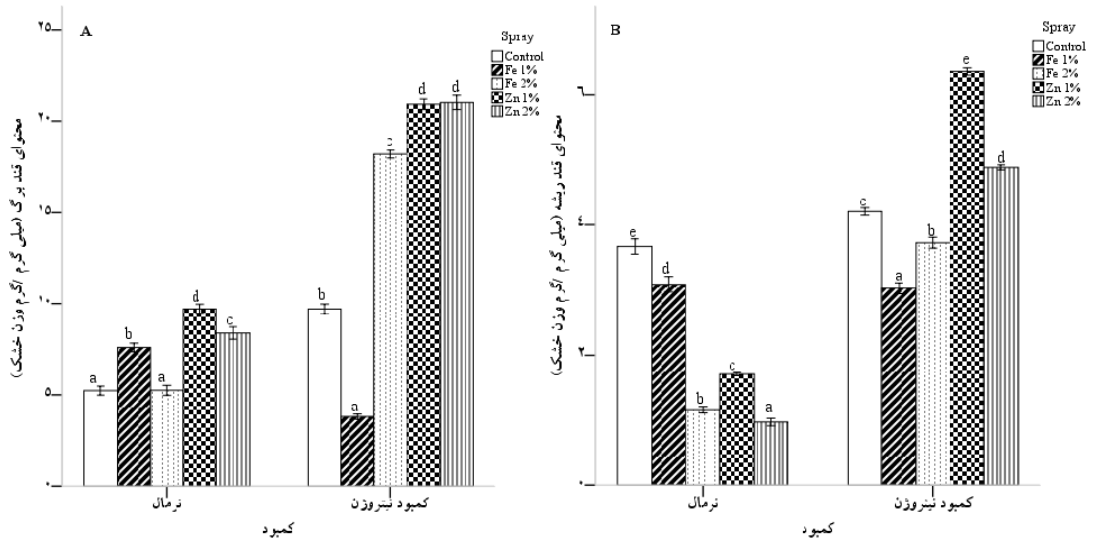
کمبود نیتروژن باعث کاهش کلروفیل a ، b و کلروفیل کل در گیاه آویشن شد، ولی محلول‌پاشی میزان آن‌ها را افزایش داد (شکل۱). در افزایش کلروفیل a و کلروفیل کل بیشترین تاثیر مربوط به روی یک درصد بود و در افزایش محتوای کلروفیل b، آهن یک درصد بیشترین تاثیر را به خود اختصاص دادند. در شرایط نرمال آهن دو درصد و روی دو درصد باعث افزایش کلروفیل a و آهن یک درصد و روی یک درصد باعث افزایش کلروفیل b شد، ولی بین آن‌ها اختلاف معنی دار مشاهده نشد. همچنین محلول‌پاشی با آهن دو درصد و روی یک درصد باعث افزایش کلروفیل کل در شرایط نرمال شد.



شکل ۱- اثر محلول‌پاشی آهن و روی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کلروفیل کل (C) و کاروتنوئید (D) های برگ گیاه آویشن باغی تحت کمبود نیتروژن. حروف غیر مشابه در بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس مقایسه میانگین Duncan ($P<0.05$) می‌باشد.

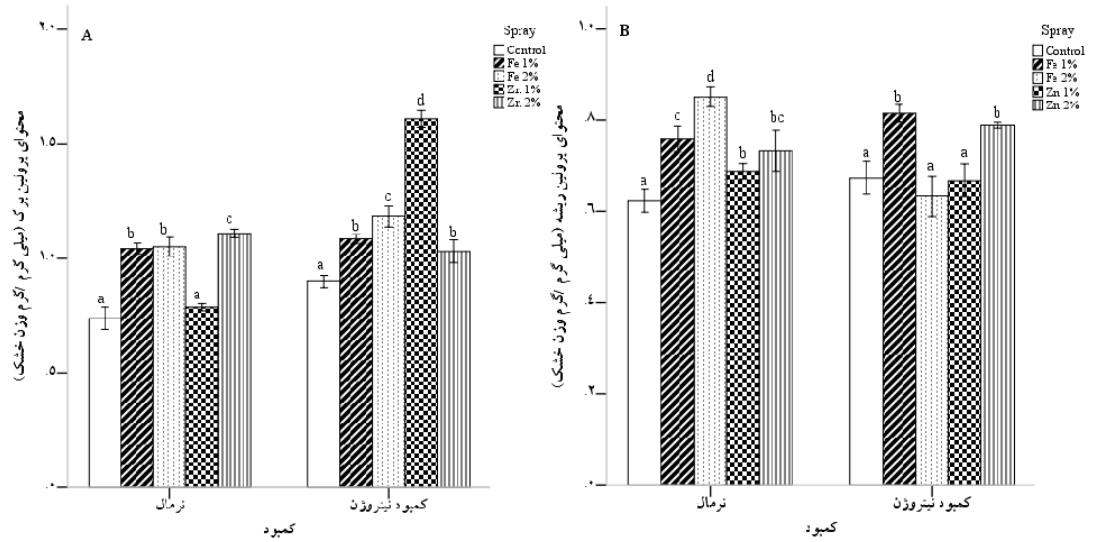
محتوای کاروتنوئید گیاه تحت کمبود نیتروژن افزایش یافته و محلول‌پاشی میزان آن را نسبت به شاهد کاهش داد، کمترین مقدار کاروتنوئید مربوط به محلول‌پاشی با روی دو درصد بود. در شرایط نرمال محلول‌پاشی با هر دو سطح روی و آهن دو درصد مقدار کاروتنوئید گیاه را نسبت به شاهد بدون محلول‌پاشی افزایش داد و بیشترین تاثیر مربوط به آهن دو درصد بود (شکل ۱).

محتوای قند محلول در اندام هوایی و ریشه گیاه آویشن تحت کمبود نیتروژن افزایش یافت (شکل ۲). محلول‌پاشی با هر دو سطح روی به طور چشمگیری مقدار آن را در تیمار کمبود افزایش داد. در گیاه نرمال نیز هر دو سطح روی و آهن یک درصد میزان قند اندام هوایی را نسبت شاهد بدون محلول‌پاشی افزایش داد و بیشترین تاثیر مربوط به محلول‌پاشی با روی یک درصد بود. همچنین در شرایط نرمال، محلول‌پاشی قند ریشه را کاهش داد وکمترین مقدار قند مربوط به روی دو درصد بود.



شکل ۲- اثر محلول‌پاشی آهن و روی بر محتوای قند محلول برگ (A) و ریشه (B) گیاه آویشن باغی تحت کمبود نیتروژن حروف غیر مشابه در بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس مقایسه میانگین Duncan ($P<0.05$) می‌باشد.

محلول‌پاشی محتوای پرولین اندام هوایی را هم در تیمار کمبود نیتروژن و هم در شرایط نرمال افزایش داد (شکل ۳). در گیاه تحت کمبود بیشترین مقدار پرولین مربوط به روی یک درصد و در شرایط نرمال بیشترین تاثیر مربوط به روی دو درصد بود و نیز بین سطوح آهن اختلاف معنی داری مشاهده نشد. محلول‌پاشی همچنین محتوای پرولین ریشه را در شرایط نرمال افزایش داد و بیشترین تاثیر را آهن دو درصد به خود اختصاص داد. در شرایط کمبود محلول‌پاشی با آهن یک درصد و روی دو درصد میزان پرولین ریشه را افزایش داد ولی بین آن‌ها اختلاف معنی داری مشاهده نشد.



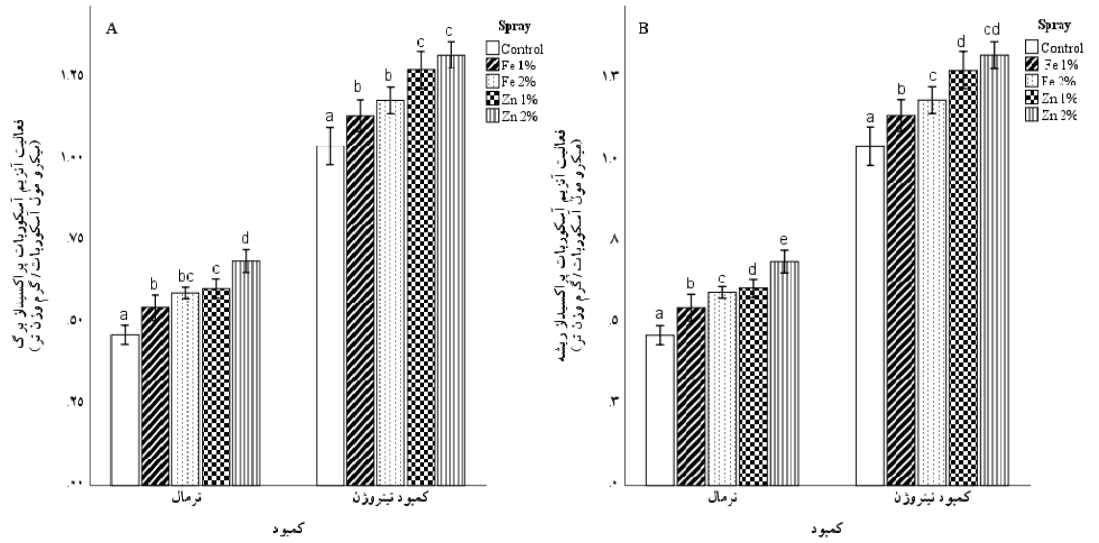
شکل ۳- اثر محلول‌پاشی آهن و روی بر محتوای پرولین برگ (A) و ریشه (B) گیاه آویشن باغی تحت کمبود نیتروژن حروف غیر مشابه در بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس مقایسه میانگین Duncan ($P<0.05$) می‌باشد.

کمبود نیتروژن باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ و ریشه گیاه آویشن شد و محلول‌پاشی هم در تیمار کمبود و هم در شرایط نرمال فعالیت این آنزیم را افزاش داد، ولی تاثیر محلول‌پاشی در شرایط کمبود بیشتر بود. همچنین بیشترین تاثیر درمحلول-پاشی با روی مشاهده شد و نیز سطح دوم هر دو عنصر در افزایش فعالیت آنزیم نقش موثرتری را به خود اختصاص دادند.

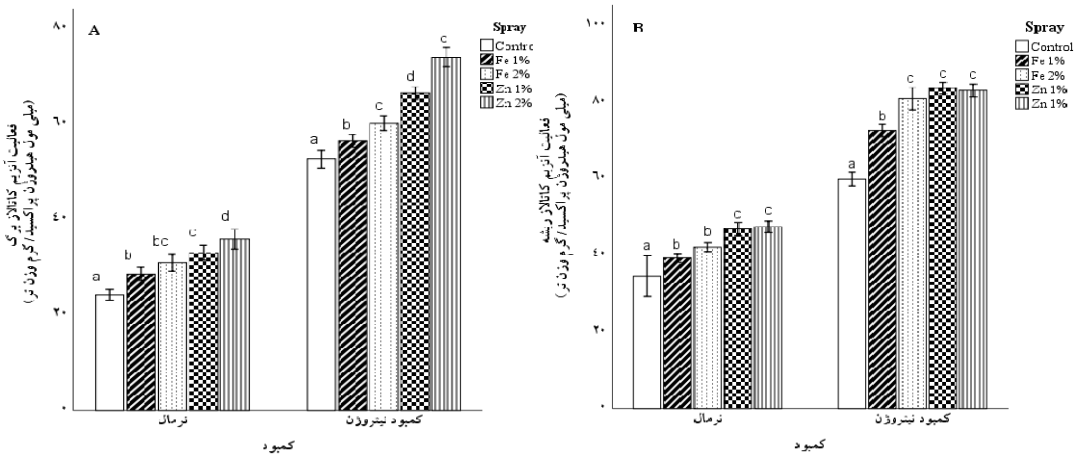
فعالیت آنزیم کاتالاز نیز همانند آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ و ریشه گیاه آویشن تحت کمبود نیتروژن افزایش یافت و محلول‌پاشی در افزایش فعالیت این آنزیم هم در تیمار کمبود و هم در شرایط بدون کمبود نقش موثری داشت (شکل ۵). بیشترین تاثیر محلول‌پاشی در تیمار کمبود مشاهده شد و نتایج نشان داد که تاثیر عنصر روی در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر از آهن است. در ریشه گیاه تحت شرایط نرمال، بین سطوح عناصر محلول-پاشی شده و در شرایط کمبود نیز بین سطوح روی و آهن دو درصد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

محتوای پارا سیمن (Para-cymene)، کارواکرول (Carvacrol) و تیمول (Thymol) در گیاه تحت کمبود نسبت به گیاه شاهد افزایش یافت. برای مثال محتوای پارا سیمن (Para-cymene) از ۱۷/۰۳٪ در شاهد به ۲۴/۶۰٪ در تیمار تحت کمبود افزایش یافت. کارواکرول (Carvacrol) نیز از ۱/۹۴٪ در شاهد به ۲/۴۳٪ در تیمار کمبود افزایش یافت. تیمول (Thymol)، پارا سیمن (Para-cymene) و گاما ترپینن (Gamma-terpinene) به ترتیب بیشترین ترکیب اسانس را تشکیل دادند.

محتوای تیمول هم در گیاهان شاهد (هوگلند کامل) و هم در گیاهان تحت کمبود نیتروژن با محلول‌پاشی افزایش یافت، میزان افزایش در گیاهان شاهدبیشتر بود و بیشترین مقدار را محلول‌پاشی روی ۲٪ به میزان ۵۴/۳۷٪ به خود اختصاص داد. محتوای پارا سیمن در گیاهان بدون کمبود با محلول‌پاشی افزایش یافت اعمال کمبود نیتروژن نیز باعث افزایش چشم گیری در مقدار آن شد، اما در تیمار کمبود محلول‌پاشی باعث کاهش آن شد. ۱و۸ سینئول (Cineole-۱،۸) در شاهد و کمبود وجود نداشت اما محلول‌پاشی با آهن ۱٪ و هر دو سطح روی در تیمار شاهد و آهن ۲٪ و هر دو سطح روی در تیمار کمبود باعث تولید این ترکیب در اسانس شد و بیشترین تاثیر را روی ۲٪ به خود اختصاص داد.



شکل ۴- اثر محلول‌پاشی آهن و روی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی(A) و ریشه (B) گیاه آویشن باغی تحت کمبود نیتروژن
حروف غیر مشابه در بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس مقایسه میانگین Duncan ($P<0.05$) می‌باشد.



شکل ۵- اثر محلول‌پاشی آهن و روی بر فعالیت آنزیم کاتالاز اندام هوایی(A) و ریشه(B) گیاه آویشن باغی تحت کمبود نیتروژن حروف غیر مشابه در بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس مقایسه میانگین Duncan ($P<0.05$) می‌باشد.

کامفور (Camphor) و ۴-ترپینئول (Terpineol-4) در گیاه شاهد حضور نداشته ولی محلول‌پاشی و اعمال کمبود نیتروژن باعث تولید این ترکیبات شد. کارواکرول Carvacrol به طور کلی تحت محلول‌پاشی افزایش یافت. در گیاهان تحت کمبود محلول‌پاشی با هر دو سطح آهن باعث افزایش آلفا پینن، کارواکرول و بورنئول نسبت به محلول‌پاشی با آب مقطر شد. محتوای ترکیب ۴-ترپینئول (Terpineol-4) در تیمارکمبود ۱۸/۰٪ بود و مقدار آن در آهن ۱٪ به ۲/۲۹٪ افزایش یافت. تیمیل متیل اتر (Thymyl methyl ether) در تیمار کمبود وجود نداشت و محلول-پاشی با آهن باعث تولید آن شد و بیشترین تاثیر مربوط به آهن ۱٪ بود که مقدار ترکیب در این سطح برابر با ۲/۱۹٪ بود.در تیمار کمبود همچنین ترکیب ۱و۸ سینئول در محلول‌پاشی با آب مقطر و آهن ۱٪ وجود نداشت ولی آهن ۲٪ باعث سنتز آن به میزان ۰/۷۰٪ شد (جدول ۴).

جدول ۴- **اثر محلول‌پاشی عناصر آهن و روی بر** ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس آویشن **تحت کمبود نیتروژن**

نام ترکیب	RI	هوگلند کامل				کمبود نیتروژن				
		صفر	آهن ۱٪	آهن ۲٪	روی ۱٪	روی ۲٪	صفر	آهن ۱٪	آهن ۲٪	روی ۱٪	روی ۲٪
Alpha.-thujene	۹۲۹	۱/۲۷	۱/۱۳	۰/۸۳	۱/۰۸	۱/۱۰	۰/۸۸	۰/۹۹	۰/۸۸	۰/۸۰	۰/۸۶
Alpha.-pinene	۹۳۴	۰/۹۵	۰/۹۰	۰/۷۶	۰/۷۹	۰/۷۴	۰/۵۷	۰/۶۸	۰/۸۰	۰/۶۲	۰/۷۹
Beta.-myrcene	۹۹۰	۰/۲۸	۱/۰۳	۰/۷۰	۱/۰۱	۰/۸۹	۰/۸۵	۰/۶۶	۰/۶۶	۰/۸۴	۰/۷۸
Alpha.-terpinene	۱۰۱۷	۲/۶۸	۲/۱۹	۱/۳۸	۲/۱۵	۱/۸۰	۱/۹۵	۱/۶۵	۱/۳۱	۱/۹۳	۱/۵۵
Para-cymene	۱۰۲۵	۱۷/۰۳	۱۹/۶۸	۲۹/۸۷	۱۸/۱۸	۱۷/۱۵	۲۴/۶۰	۲۲/۶۵	۲۲/۶۹	۱۷/۸۰	۱۹/۶۷
Cineole-۱،۸	۱۰۳۲	-	۰/۳۵	-	۰/۲۵	۰/۳۵	-	-	۰/۷۰	۰/۲۷	۰/۷۴
Gamma.-terpinene	۱۰۶۰	۱۸/۱۸	۱۷/۳۶	۸/۷۳	۱۵/۵۳	۱۳/۱۷	۱۵/۱۷	۱۲/۱۷	۷/۸۱	۱۵/۱۲	۱۱/۱۹
Linalooll	۱۰۹۹	۲/۷۹	۱/۴۴	۲/۳۶	۱/۶۴	۲/۲۸	۲/۳۰	۱/۶۴	۲/۱۳	۲/۲۲	۲/۱۸
Camphor	۱۱۴۸	-	۰/۳۹	۰/۷۵	۰/۲۰	۰/۲۸	۰/۲۲	-	۰/۵۳	۰/۲۹	۰/۶۱
Borneol	۱۱۶۸	۱/۵۳	۱/۲۸	۱/۹۸	۱/۲۰	۰/۶۶	۰/۹۱	۱/۵۲	۱/۷۶	۱/۶۳	۱/۹۶
Terpineol-4	۱۱۷۹	-	-	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۲۳	۰/۱۸	۰/۲۹	-	۰/۳۰	۰/۳۸
Thymyl methyl ether	۱۲۳۵	-	-	۱/۵۱	-	۱/۱۹	-	۲/۱۹	۰/۴۸	۰/۷۶	۰/۳۴
Thymol	۱۲۹۲	۴۳/۸۷	۴۷/۴۸	۴۱/۶۶	۵۰/۲۰	۵۴/۳۷	۴۴/۸۹	۴۸/۷۹	۵۱/۴۰	۴۹/۹۹	۵۱/۸۴
Carvacrol	۱۳۰۵	۱/۹۴	۲/۱۷	۲/۳۶	۲/۳۶	۱/۸۰	۲/۴۳	۲/۶۹	۲/۹۳	۲/۱۹	۲/۶۵

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق Rezaei و همکاران (۴۵) روی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) تحت محلول‌پاشی با عناصر ریزمغذی آهن، روی و منگنز نشان دادند که بیشترین ارتفاع بوته از تیمار محلول‌پاشی با روی و کمترین ارتفاع بوته از تیمار شاهد به‌دست آمد. نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر نیز گویای اثرات مثبت محلول‌پاشی آهن و روی بر طول اندام هوایی در گیاه آویشن باغی است که بیشترین طول اندام هوایی در محلول‌پاشی با آهن دو درصد و کمترین طول مربوط به شاهد محلول‌پاشی شده با آب مقطر در گیاهان نرمال مشاهده شد.

نیتروژن از مهمترین عوامل محدودکننده تولید محصولات گیاهی است. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که کاهش دسترسی به نیتروژن عملکرد کوانتومی انتقال الکترون فتوسیستم II و حداکثر کارایی آن را کاهش می‌دهد، همچنین کمبود نیتروژن باعث تخریب فتوسیستم II می‌شود (۱۸). رابطهٔ مثبت و قوی بین میزان نیتروژن و کلروفیل گیاه به اثبات رسید به همین دلیل می توان از میزان کلروفیل برای تعیین وضعیت نیتروژن در گیاهان استفاده کرد (۳۸). نتایج پژوهشی نشان داد که شاید نیتروژن مؤثرترین عنصر موجود در کود کامل (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) ۲۰ –۲۰–۲۰ بوده است که توانسته، باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل و کاروتنوئید شود (۶). Mohamed و همکاران (۳۵) گزارش کردند که محلول‌پاشی برگی با عناصر آهن و روی باعث افزایش درصد ماده خشک ریشه و ساقه می‌شود همچنین جذب نیتروژن و فسفر را افزایش می‌دهد. به همین دلیل محلول‌پاشی با این عناصر می‌تواند اثرات منفی ناشی از کمبود نیتروژن را جبران کند.

Borji Abad و همکاران (۱۴) بیان کردند که تاثیر مصرف خاکی و محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی بر شاخص‌های کلروفیل معنی‌دار بود. بیش‌ترین شاخص‌های کلروفیل برگ از محلول‌پاشی چای ترش با آهن حاصل شد که نسبت به شاهد افزایش ۲۹ درصدی را نشان داد. همچنین Peyvandi و همکاران (۴۰) با بررسی که روی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) انجام دادند، دریافتند که استفاده از کود آهن و نانو کود آهن باعث افزایش محتوی کلروفیل شدند. عنصر آهن یک کوفاکتور مهم برای تعدادی از آنزیم‌هاست که در مسیر بیوسنتز کلروفیل نقش دارند (۴۷).

عناصر ریز مغذی، آنزیم‌های دخیل در سنتز کلروفیل مانند کربنیک دهیدروژناز، تریپتوفان سنتتاز و غیره را فعال کرده و محلول‌پاشی آن‌ها باعث افزایش انواع کلروفیل می‌گردد (۳۶). محلول‌پاشی برگی با عناصر ریزمغذی چه به صورت منفرد و چه ترکیبی، مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل را در مقایسه با تیمارهای شاهد تحت شرایط شوری و بدون شوری افزایش می‌دهد (۱۹). در مطالعه حاضر نیز محلول-پاشی با عناصر ریز مغذی، کاهش کلروفیل که ناشی از کمبود نیتروژن بود را تعدیل کرد و باعث بهبود وضعیت رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه شد. کاهش مقدار کلروفیل در برگ های گیاهان ممکن است به دلیل تخریب بیشتر کلروفیل نسبت به سنتز آن تحت شرایط تنش باشد (۵۲). همچنین در گلرنگ محلول‌پاشی روی موجب افزایش کلروفیل شد. علت آن به نقش این عنصر در سوخت و ساز نیتروژن و ساخت کلروفیل نسبت داده شده است (۲۸). نتایج یک بررسی نشان داد که همبستگی مثبتی بین روی و میزان کلروفیل برگ گیاهان وجود دارد (۵۴)، هر چند روی به طور مستقیم بر تشکیل کلروفیل مؤثر نیست، بر غلظت عناصر غذایی درگیر در تشکیل کلروفیل یا عناصری مانند آهن و منیزیم مؤثر است که قسمتی از مولکول کلروفیل محسوب می‌شود (۲۸). تحریک رشد رویشی به وسیله محلول‌پاشی با عنصر روی ممکن است به دلیل کمبود این عنصر در خاک و همچنین نقش آن در افزایش جذب مواد معدنی، افزایش تقسیم سلولی و افزایش تجمع کلروفیل در برگ‌های گیاه باشد (۴۸). نتایج این مطالعه نیز تاثیر مثبت روی را در افزایش انواع کلروفیل به ویژه در شرایط کمبود نشان داد. همچنین

نتایج نشان داد که بین محتوای کلروفیل a با کلروفیل کل همبستگی مثبت معنی داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (r=۰/۹۳۲). کاروتنوئیدها گروهی از رنگدانه های نارنجی و زرد هستند که محلول در چربی اند و در غشای کلروپلاست یافت می شوند و وظیفهٔ آن‌ها جمع آوری انرژی و حفاظت نوری است. در پژوهشی دیگر بر روی گیاه گلرنگ، محلول‌پاشی آهن در مقایسه با شاهد میزان کاروتنوئید را به طور معنی‌داری افزایش داد (۲۴). افزایش نیتروژن در گیاه، باعث افزایش میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها شده که به دنبال آن کلروفیل، توانایی جذب نور خورشید، تولید مواد فتوسنتزی و در نهایت عملکرد گیاه افزایش می‌یابد (۱۸). در این پژوهش کمبود نیتروژن محتوای کاروتنوئید گیاه را نسبت به شرایط نرمال از نظر میزان نیتروژن خاک، افزایش داد و این افزایش می‌تواند بیانگر نقش مثبت کاروتنوئید در تعدیل شرایط نامطلوب برای گیاه باشد و از این رو نتایج حاصل با نتایج گزارش فوق از نظر افزایش محتوای کاروتنوئید همخوانی ندارد. عناصر ریز مغذی اثرات سودمند زیادی بر روی گیاهان دارند زیرا آن‌ها در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نیتروژن، همچنین در مقاومت گیاه به شرایط نامطلوب محیطی و دیگر فرآیندها دخیل می‌باشند (۳۳). نتایج مطالعه حاضر نیز نتایج گزارش فوق را تایید می‌کند، زیرا محلول‌پاشی با روی هم در ریشه و هم در اندام هوایی در شرایط کمبود نیتروژن که شرایط نامطلوبی را برای رشد گیاه ایجاد کرده بود باعث افزایش قند محلول در گیاه شد تا به تعدیل این شرایط کمک کند. همچنین نتایج نشان داد که قند اندام هوایی با محتوای آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز برگ و ریشه همبستگی مثبت معنی داری (p<۰/۰۱، r>۰/۷) دارد. عناصر ریز مغذی برای رشد طبیعی گیاهان مورد نیازند، زیرا در بسیاری از واکنش‌های بیوشیمایی گیاه دخالت دارند و تاثیر مثبت در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی و معطر دارند (۴۲). برخی محققان علت افزایش عملکرد دانه به واسطهٔ محلول پاشی با عناصر ریزمغذی را به نقش مهم این عناصر در افزایش میزان کلروفیل، فعالیت‌های کاتالیزوری فرایندهای سوخت و سازی و حفظ آماس سلولی در گیاه و افزایش پرولین نسبت دادند که موجب می‌شود گیاه عناصر مورد نیاز خود را برای افزایش اسمولیت‌ها بهتر و راحت تر در اختیار داشته باشد بدین ترتیب، سلول به فعالیت‌های حیاتی خود حتی در شرایط تنش ادامه دهد (۴۹). در این پژوهش نیز نتایجی مشابهی از تاثیر مثبت محلول‌پاشی در افزایش پرولین گیاه به دست آمد که نتایج گزارش فوق را تصدیق می‌کند.

در مطالعه حاضر کمبود نیتروژن باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد، همچنین محلول‌پاشی با آهن و روی میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را افزایش داد (شکل ۴). آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب تجزیه هیدروژن پراکسید به آب با استفاده از آسکوربات به‌عنوان بستر عمل می‌کند. در عمل این آنزیم الکترون اضافی موجود در هیدروژن پراکسید به دی هیدروآسکوربات منتقل‌شده و موجب تولید آب نیز می‌شود. این آنزیم نقش کلیدی در چرخه گلوتاتیون- آسکوربات دارا است (۴۳). افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اثر تنش در گیاه بابونه گزارش گردیده است (۱۳). کمبود نیتروژن نیز همانند پژوهش بالا به علت ایجاد شرایط نامطلوب باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد. آهن فلزی فعال است که در بسیاری از فرایندهای گیاهی از قبیل فتوسنتز، تنفس میتوکندریایی، آسیمیلاسیون نیتروژن، بیوسنتز هورمون‌ها، تولید و پاکسازی انواع اکسیژن فعال و حفاظت اسمزی تاثیر زیادی دارد (۲۵). بین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ با آسکوربات پراکسیداز ریشه و کاتالاز برگ و ریشه همبستگی مثبت معنی داری مشاهده شد (r>۰/۹). گیاهان در بین همه ریز مغذی‌ها، بیشترین نیاز را به آهن دارند، زیرا این عنصر بخشی از گروه

کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیا است (۳۰). آهن یکی از عناصر مهم در واکنش‌های اکسایش-کاهش، در گیاهان است. نقش این عنصر در تثبیت نیتروژن و فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است (۴). طی پژوهشی مصرف ریزمغذی آهن موجب افزایش ۴۲ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز شد (۳). نتایج حاصل از این تحقیق نیز تاثیر مثبت آهن را در افزایش فعالیت کاتالاز نشان می‌دهد ولی تاثیر محلول‌پاشی با عنصر روی اثرات چشمگیرتری در افزایش فعالیت این آنزیم داشت. مشاهده شد که همبستگی مثبت معنی داری بین فعالیت کاتالاز گیاه با فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز آن در سطح احتمال یک درصد وجود دارد ($r>۰/۹$). نتایج یک مطالعه نشان داد که منوترپن‌ها قسمت عمده ترکیبات شناسایی شده اسانس آویشن را در سه دوره رشد تشکیل دادند و سزکوئی ترپن‌ها سهم کمتری داشتند (۷). در مطالعه‌ای روی گیاه گل گاوزبان باغی، عناصر ریزمغذی آهن، روی، مس و منگنز اثر قابل توجهی بر روی اسانس، کاروتنوئید، فلاونوئید، و فاکتورهای رشدی داشتند (۵۰). پژوهش مقدم و همکاران (۵) نشان داد که محلول-پاشی عنصر آهن سبب افزایش تعداد و اندازه کرک‌های ترشحی شد. این امر به‌نوبه خود سبب افزایش میزان اسانس در ریحان مقدس شده است.

نتیجه‌گیری کلی

در پژوهش حاضر، کمبود نیتروژن باعث کاهش محتوای کلروفیل و افزایش کاروتنوئید نسبت به شاهد شد. همچنین اعمال کمبود نیتروژن باعث افزایش محتوای قند محلول، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ریشه و اندام هوایی گیاه آویشن شد. به نظر می‌رسد که کمبود نیتروژن باعث ایجاد شرایط نامناسب برای گیاه آویشن شده و از این رو گیاه با افزایش میزان قند محلول، پرولین و آنزیم-های آنتی‌اکسیدان در صدد تعدیل این اثرات نامطلوب بر آمده است. تیمول (Thymol)، پارا سیمن (Para-cymene) و گاما ترپینن (Gamma-terpinene) به ترتیب بیشترین ترکیب اسانس را تشکیل دادند، که محلول‌پاشی هم در شرایط بدون کمبود و هم طی کمبود نیتروژن باعث افزایش آن‌ها در ترکیب اسانس شد. بنابراین محلول‌پاشی با عناصر میکرو اثر مثبتی در بهبود کمبود نیتروژن داشت. به طور کلی عنصر روی نسبت به آهن نتایج مطلوب‌تری را بر فاکتورهای اندازه‌گیری شده نشان داد. لذا انتظار می‌رود که بتوان با محلول‌پاشی عناصر آهن و روی در گیاهان آویشن اثرات ناشی از کمبود نیتروژن که در اغلب خاک‌های ایران حاکم است را بهبود بخشید.

منابع

۱- امیدی، ح؛ موحدی پویا، ف و موحدی پویا، ش. (۱۳۹۰). اثر هورمون سالسیلیک اسید و خراش دهی بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و محتوی پرولین، پروتئین و کربوهیدرات محلول گیاهچه کهورک (*Prosopis farcta* L.) در شرایط شوری. تحقیقات مرتع و بیابان ایران زمستان، ۱۸(۴): ۶۰۸-۶۲۳.

۲- طباطبایی، ج. ۱۳۹۳. مبانی تغذیه معدنی گیاهان. انتشارات دانشگاه تبریز. ۵۴۴ صفحه.

۳- عسکری، م؛ امیرجانی. م. ر و صابری؛ ط . (۱۳۹۳). بررسی اثرات نانو کود آهن بر رشد برگ، مقدار کربوهیدرات و آنتی اکسیدان-های پریوش. فرایند و کارکرد گیاهی،۳(۷): ۴۳-۵۵.

۴- قربانی جاوید، م؛ مرادی، ف؛ اکبری، غ. ع و الله دادی، ا. (۱۳۸۵). نقش برخی متابولیت ها در ساز و کار تنظیم اسمزی در یونجه یکساله برگ بریده (*Medicago laciniata* L.) در تنش خشکی. مجله علوم زراعی ایران، ۸(۲): ۹۰-۱۰۵.

۵- مقدم، ا؛ محمودی سورستانی،م؛ رمضانی، ز؛ فرخیان فیروزی، ا و اسکندری، ف. (۱۳۹۵). تأثیر محلولپاشی آهن بر تعداد و اندازه کرک‌های ترشحی و درصد و اجزای اسانس گیاه دارویی ریحان مقدس (*Ocimum sanctum* L.) در برداشت‌های اول و دوم. دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۲(۱): ۱۷۴-۱۸۸.

۶- آروین، پ. (۱۳۹۸). مطالعه سطوح مختلف نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر پارامترهای فیزیولوژیکی، مرفولوژیکی و محتوای اسانس در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۳۲(۲): ۴۶۴-۴۷۳.

۷- حبیب وش، ف و دانشگر، م. (۱۳۹۸). تغییرات اسانس سرشاخه-های آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen.) در مراحل مختلف رشد. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۳۲(۲): ۴۲۸-۴۳۸.

8- Asada K, Chen, GX. 1989. Ascorbate peroxidase in Tea leaves: occurrence of two isozymes and differences in their enzymatic and molecular properties. *Plant Cell and Physiol*ohy, 30, 987-998.

9- Bakr, E.M. 2005. A new software for measuring leaf area, and area damaged by *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Applied Entomology,* 129(3), 173-175.

10- Baloch QB, Chachar QI, Tareen MN. 2008. Effect of foliar application of macro and micro nutrients on production of green chilies (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology,* 4(2), 177-184.

11- Barr, H.D., Weatherley, P.E., 1962. Are-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. Aust. *Journal of Biological Sciences*, 15, 413-428.

12- Bates LS, Waldron RP, Teare ID. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil Journal*, 39, 205-208.

13- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt, KV. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91(2), 179-194.

14- Borji Abad A, Galavi M, Ramroudi M. 2014. The effect of density on morphological characteristics and use of micro-nutrients and indicators of chlorophyll of sour teas. *The National Conference of Medicinal plants and Sustainable Agriculture.* Shahid Mofattah Faculty of Hamedan, Hamedan, Iran.

15- Cacmak I. 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytologist*, 146, 185-205.

16- Çiçek N, Çakirlar H. 2002. The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. Bulgarian *Journal of Plant Physiology*, 28(1-2), 66-74.

17- Claussen W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science*, 168, 241-248.

18- Conming L, Zang J. 2000. Photosynthetic CO2 assimilation chlorophyll fluorescence and photoihibiton as affected by nitrogen deficiency in maize plants. *International Journal of Plant Sciences,* 151, 135-143.

19- Curie C, Briat JF. 2003. Iron transport and signaling In plants. *Annual Review of Plant Biology*, 54, 183-206.

20- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Roberts, PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Annal Chemistry*, 28, 350–356.

21- Erdal I, Kepenek K, Kizilgos I. 2004. Effect of Foliar Iron Applications at different Growth Stages on Iron and Some Nutrient Concentrations in Strawberry Cultivars. *Turkish Journal of Agricure and Forstry*, 28, 421-427.

22- Finkelstein RR, Gibson SI. 2001. ABA and sugar interactions regulating development: Cross-talk or voices in a crowd. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 26-32.

23- Garratt LH, Janagoudar BS, Low KC, Power JB, Davey MR. 2002. Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. *Biology and Medicine*, 33, 502-511.

24- Ghorbanpour M. 2015. Major essential oil constituents, total phenolics and flavonoids content and antioxidant activity of Salvia officinalis plant in response to nano-titanium dioxide. *Indian Journal of Plant Physiology* 20 (3), 249 - 256.

25- Hansch R, Mendel RR. 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12, 259-266.

26- Hussain A, Ghaudhry MR, Wajad A, Ahmed A, Rafiq M, Ibrahim M, Goheer AR. 2004. Influence of water stress on growth, yield and radiation use efficiency of various wheat cultivars. *International Journal of Agricultural Biology*, 6, 1074-1079.

27- Kalidasu G, Sarada CT, Reddy Y. 2008. Influence of micronutrients on growth and yield of coriander (*Coriandrum sativum*) in rainfed vertisols. *Journal of Spices and Aromatic Crops*. Volume 17 (2): 187-189 (2008)

28- Kaya C, Higgs D. 2002. Response of tomato (*Lycopersicom esculentum* L.) cultivars to foliar

application of zinc when grown in sand culture at low zinc. *Scientia Horticulturae*, 93, 53-64.

29- Kobraee S, Shamsi K, Rasekhi B. 2011. Effect of micronutrients application on yield and yield components of soybean. *Annals of Biological Research*, 2 (2), 476-482.

30- Ladan 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 Applied Sciences, *Engineering and Technology*, 4(12), 4813-4818.

31- Lichtenthaler HK, Wellbum AR. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemistry Society Transcends*, 11, 591–592.

32- Maehly AC, Chance B. 1959. The assay of catalase and peroxidase. *Interscience Publishers*, New York.

33- Massoud AM, Abou Zeid MYB, akry MA. 2005. Response of Pea plants grown in silty clay soil to micronutrients and Rhizobium incubation. *Egyptian Journal of Applied Science*, 20, 329-346.

34- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410.

35- Mohamed M, El-Fouly, Zeinab M. Mobarak, Zeinab A. Salama. 2011. Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat Triticum aestivum L. *African Journal of Plant Science* Vol. 5(5), pp. 314-322, May 2011.

36- Mohammadazeh Toutounchi P, Amirnia R. 2016. Effect of foliar application of micronutrients on some morphological traits of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32(2), 301-308.

37- Movahhedi Dehnavi M, Moddares Sanavi AM, Sorooshzadeh A, Jalali Javaran M. 2004. Changes in proline, total soluble sugars, chlorophyll (SPAD) and chlorophyll fluorescence in winter safflower varieties under drought stress and foliar application of zinc and manganese. Desert, 9(1), 93-110.

38- Movahhedy dehnavy M, Modarres Sanavy SAM, Mokhtassi Bidgoli A. 2009. Foliar application of zinc and manganese improves seed yield and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown under water deficit stress. *Crops Products*, 30, 82-92.

39- Mozaffarian, V., 2013. Indentification of medicinal and aromatic plants of Iran. Farhang moaser. Tehran. pp 579 - 89.

40- Peyvandi M, Parandeh H, Mirza M. 2011. Comparison of Nano with chelated iron chelated iron on growth performance and activity of antioxidant enzymes basil. *What's New in Cellular and Molecular Biology Biotechnology Journal,* 4(1), 89-99.

41- Ramroudi M, Keikha Jaleh M, Galavi M, Seghatoleslami MJ, Baradran R. 2011. The effect of various micronutrient foliar applications and irrigation regimes on quantitative and qualitative yields of isabgol (*Plantago ovata* Forsk.). *Journal of Agroecology* 3(3), 277-289.

42- Ramroudi M, Keilha Jaleh M, Galavi M, Seghatoleslami MJ, Baradran R. 2011. The effect of various micronutrient foliar applications and irrigation regimes on quantitative and qualitative yields of isabgol (*Plantago ovata* Forsk.). *Journal of Agroecology*. 3(2), 219-226.

43- Raven EL. 2000. Peroxidase-catalyzed oxidation of ascorbate. Structural, spectroscopic and mechanistic correlations in ascorbate peroxidase. *Subcellular Biochemistry*, 35, 317–49.

44- Ravi S, Channal HT, Hebsur NS, Patil BN, Dharmatti PR. 2008. Effect of sulphur, zinc and iron nutrition on growth, yield, nutrient uptake and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L). *Karnataka Journal Agriculture Science*, 32, 382-385.

45- Rezaei, C.A., Zehtab, S.S., Pirzad, A. and Rahimi, A. 2015. Effect of foliar application of micronutrients iron, zinc and manganese on yield, yield components, and seed oil of calendula. *Journal of Horticultural Science,* 29(1), 95-102.

46- Samira RK, Rao KV, Saivastava GC. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress; antioxidant activity and osmolyte concentration. *International Journal of Plant Sciences*, 163, 1037-1046.

47- Sarani S, Heidari M, Glavi M, Siahsar BA. 2013. Effects of salinity and iron on growth, photosynthetic pigments and electrophoresis bands in two genus chamomile (*Matricaria chamomilla* L. and *Anthemis nobilis* L.). *Iranian*

Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 29(4), 732-746.

48- Sheikha SA, Al-Malki FM. 2011. Growth and chlorophyll responses of bean plants to chitosan applications. Eur. *International Journal of Science and Research* 50 (1), 124–134

49- Thalooth AT, Tawfik MM, Magda Mohamed H. 2006. A comparative study on the effect of foliar application of zinc, potassium and magnesium on growth, yield and some chemical constituents of mungbean plants grown under water stress conditions. World *Journal Agricultural Science*, 2, 37-46.

50- Yadegari, M., 2013. Foliar Application of Fe, Cu, Mn and B on growth, yield, and essential oil yield of marigold (*Calendula officinalis*). *Journal of Applied Science and Agriculture,* 8(5), 559-567.

51- Yadegari, M., 2015. Foliar application of micronutrients on essential oils of borago, thyme and marigold. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition,* 15 (4), 949-964.

52-) J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q, Liu L. 2001. Water deficit induced senescence and its relationship to the remobilization of pre-stored carbon in wheat during grain filling. *Agronomy Journal*, 93, 196-206.

53- Zahedi H, Tohidi Moghadam HR. 2011. Effect of drought stress on antioxidant enzymes activities with zeolite and selenium application in canola cultivars. *Research on crops*, 12(2), 388-392.

54- Zarrouk O, Gogorcena Y, Gomez-Aparisi J, Betran JA, Moreno MA. 2005. Influence of Almond peach hybrids root stocks on flower and leaf mineral concentration, yield, vigor of two peach cultivars. *Scientia Horticulturae,* 106, 502-514.

Effect of iron and zinc foliar application on some biochemical traits of Thymus (*Thymus vulgaris* L.) plant under nitrogen deficiency

Asle Mohammadi Z.[1], Mohammadkhani N.[1] and Servati M.[2]

[1] Dept. of Medicinal Plants, Shahid Bakeri High Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

[2] Dept. of Soil Science, Shahid Bakeri High Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

Abstract

One of the most important causes limiting the growth of plants is soil nutrient deficiency. Nitrogen is considered as one of the essential nutrients for plant production and its deficiency is common in many parts of the country. One of the ways to provide nutrients for plants is foliar application of them. In present study the effect of soluble micronutrients (iron and zinc) on some of the biochemical traits of thyme, including length and dry weights of root and leaf, leaf area, relative water content, chlorophyll, soluble sugar and proline contents and catalase and ascorbate peroxidase enzymes activity and essential oil constitutes was evaluated under nitrogen deficiency. Therefore, an experiment was done as factorial in a completely randomized design with three replications in greenhouse. Treatments included nitrogen deficiency at two levels of normal and deficiency and foliar spraying of micronutrients (iron and zinc) in three levels of control, one percent and two percent of the source iron sulfate and zinc sulfate. The results showed that leaf nutrition had a significant effect on growth factors, in normal plants (full strength Hoagland), spraying cause increase in shoot length and Fe 2% cause increase in shoot dry weight. Foliar spraying also increased the relative water content in normal plants. nitrogen deficiency reduced the chlorophyll content and increased carotenoids content compare to control. soluble sugar and proline contents and the activity of antioxidant enzymes increased in roots and leaves of thyme plant in nitrogen deficiency conditions. Spraying micronutrients improved nitrogen deficiency conditions, and in general, zinc nutrient had a more significant effect on biochemical factors compare to iron. The main constitute of thyme essential oil was thymol, that increased under nitrogen deficiency and also leaf nutrition by micronutrients. There was a significant correlation ($P<0.01$, $r>0.7$) between sugar content of leaves and peroxidase catalase enzymes activities in leaves and roots, also there was a significant correlation ($r>0.9$) between catalase activity and ascorbate peroxidase activity of plant.

Key words: Ascorbate peroxidase, Leaf nutrition, Proline, Soluble sugar, *Thymus vulgaris*