

پاسخ خصوصیات فیزیولوژیکی اکوتیپ‌های گندم سرداری به محلول پاشی آهن و اسید هیومیک قبل و بعد از گل‌دهی در شرایط دیم

Response of Physiological Characteristics of Sardary Wheat Ecotypes to Foliar Application of Humic Acid Before and After Flowering in Dryland Conditions

نسرین تیموری^۱، غلامرضا حیدری^{۲*}، فرزاد حسین پناهی^۳، عادل سی و سه مرده^۴ و یوسف سهرابی^۵

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۶/۰۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۷/۱۶

چکیده

برای تأمین محصول کافی در غلات و عمدتاً گندم که پایه اصلی تغذیه در بیش‌تر جوامع به‌شمار می‌رود، افزایش عملکرد این گیاه در واحد سطح، بسیار ضرورت دارد. در این میان، نقش عناصر غذایی در افزایش عملکرد در واحد سطح بسیار مهم است به‌منظور بررسی اثر محلول پاشی اسید هیومیک و آهن روی خصوصیات فیزیولوژیکی و عملکرد اکوتیپ‌های گندم سرداری آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کردستان، در سال زراعی ۹۱-۹۲ اجرا گردید. مطالعه به‌صورت طرح کرت‌های دوبار خرد شده با سه فاکتور و در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای موردبررسی عبارت بودند از: ۱۳ اکوتیپ سرداری + رقم آذر ۲ (۱۴ سطح) به‌عنوان فاکتور اصلی. زمان محلول پاشی به‌عنوان فاکتور فرعی در دو سطح، و نوع کود محلول پاشی شده به‌عنوان فاکتور فرعی در چهار سطح. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محلول پاشی با اسید هیومیک و آهن اثر معنی‌داری روی صفات موردبررسی داشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود که محلول پاشی در اکوتیپ‌ها باعث افزایش عملکرد دانه در اکوتیپ‌های گندم شد. به‌طور کلی محلول پاشی با اسید هیومیک، آهن و مخلوط آن‌ها به‌ترتیب باعث افزایش ۴۶/۴۴، ۳۱/۴۲ و ۴۲/۷۴ درصدی عملکرد دانه نسبت به شاهد شدند. در مقایسه با تیمار شاهد میزان غلظت آهن دانه به میزان ۲۱/۹۵ درصد در اثر محلول پاشی با کود آهن افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: پروتئین، پرولین، ریزمغذی، صفات کیفی

مقدمه

نقش غلات در تغذیه انسان به جهت تأمین انرژی، بسیار حائز اهمیت است. در این میان گندم از مهم‌ترین غلات به‌ویژه در ایران است. سازمان خواروبار کشاورزی جهانی میزان تولید گندم در سال ۲۰۱۴ در ایران را ۱۳/۱ میلیون تن اعلام کرده است. ایران رتبه دوازدهم تولید گندم در جهان را به خود اختصاص داده است (فائو^۱، ۲۰۱۴). نقش غلات در تغذیه انسان به جهت تأمین انرژی، بسیار حائز اهمیت است. در این میان، گندم مهم‌ترین گیاه زراعی دنیا بوده و غذای اصلی بیش از ۳۰ درصد مردم جهان را تأمین می‌کند (حسن‌زاده قورت تپه و همکاران، ۱۳۸۷). مصرف زیاد کودهای شیمیایی در وارسته‌های اصلاح شده برای افزایش تولید موجب استهلاک بیش‌ازحد زمین‌های کشاورزی، کاهش کیفیت باروری خاک‌ها و هدر رفتن بسیاری از اراضی می‌گردد (های و مای^۲، ۱۹۹۸). امروزه آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی یکی از اجزای مهم پروژه‌های اصلاح نباتات به شمار می‌رود. یکی از پیامدهای اجتناب‌ناپذیر کشاورزی مدرن که مبتنی بر استفاده از وارسته‌های اصلاح شده برای افزایش عملکرد و کیفیت است، کاهش تنوع ذخایر ژنتیکی بوده است (ارزانی، ۱۳۸۷). گندم سرداری که از بین توده‌های بومی ایران انتخاب و اصلاح شده است، یک رقم نیمه‌زمستانه، ریشک‌دار با دانه‌های بیضی‌شکل و زردرنگ است که مقاومت خوبی در برابر سرما و بیماری زنگ دارد، اما نسبت به سیاهک حساس است. از سایر خصوصیات این رقم می‌توان به کیفیت نانواپی خوب، حساسیت به ورس و مقاومت به ریزش دانه اشاره کرد میزان عملکرد آن در شرایط دیم ۱/۵ تا ۲ تن بوده و قابل‌کشت در مناطق دیم و سرد کوهستانی کشور است (خدابنده، ۱۳۸۹). آمارهای جهانی نشان می‌دهند که حدود ۵۰ درصد از خاک‌های تحت کشت غلات در جهان از نظر روی قابل‌دسترس و حدود ۳۰ درصد از نظر کمبود آهن مشکل دارند. مصرف زیاد و یکنواخت غلات با غلظت‌های پائین عناصر کم‌مصرف از دلایل عمده برای گسترش جهانی کمبودهای آهن و روی در کشورهای درحال توسعه می‌باشد (ککمک^۳، ۲۰۰۲). آهن از عناصر ضروری و کم‌مصرف در گیاهان است. این عنصر در تثبیت ازت و فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم نقش مؤثری دارد (رنگل^۴ و همکاران، ۲۰۰۰). استفاده از انواع اسیدهای آلی به‌منظور افزایش عملکرد و کیفیت محصول گیاهان زراعی و باغی موردتوجه قرار گرفته است. مقادیر بسیار کم اسیدهای آلی

اثرات قابل‌ملاحظه‌ای در بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک دارند. علاوه بر این، به‌دلیل وجود ترکیبات هورمونی در آن‌ها از اثرات مفیدی در افزایش تولید و بهبود کیفیت محصول گیاهان زراعی برخوردار هستند. اسید هیومیک و اسید فولیک از منابع مختلف نظیر خاک، هوموس، پیت، لیگنیت اکسید شده، زغال‌سنگ و غیره استخراج می‌شوند که در اندازه مولکولی و ساختار شیمیایی متفاوت هستند (سباهاتین^۵، ۲۰۰۵).

در آزمایشی اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک و نیتروژن بر گندم دوروم موردبررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اسید هیومیک سبب افزایش معنی‌داری در وزن خشک ساقه و ریشه گندم شد. همچنین نتایج نشان داد که عملکرد دانه، باروری سنبله و محتوی پروتئین دانه در هر دو تیمار افزایش یافت که این افزایش در محلول‌پاشی نیتروژن با اسید هیومیک به‌صورت هم‌زمان بسیار بیش‌تر بود (دلفاین^۶ و همکاران، ۲۰۰۵).

نتایج آزمایشات در بررسی اثر اسید هیومیک بر روی گندم نشان داد که تعداد دانه، ارتفاع گیاه و تعداد سنبله از صفاتی بودند که بیش‌ترین پاسخ را به اسید هیومیک نشان دادند (آلاکان^۷، ۲۰۰۸).

در آزمایشی جهت بررسی اثر اسید هیومیک بر عملکرد گندم بهاره مشاهده شد که اسید هیومیک دسترسی به فسفر و سایر عناصر غذایی را افزایش داد و همچنین سبب افزایش معنی‌داری در عملکرد شد. البته نتایج نشان داد که افزایش غلظت اسید هیومیکی مصرفی سبب کاهش دسترسی به فسفر و مقادیر خیلی بالا اثر معنی‌داری بر عملکرد نداشتند و اسید هیومیک بهترین اثر را در مقادیر پایین نشان داد. نتایج آزمایشات نشان داد که اسید هیومیک اثرات مستقیم و مثبتی را بر رشد و عملکرد گندم داشت (واقان و لینهان^۸، ۲۰۰۴).

عملکرد دانه گندم در تیمارهای محلول‌پاشی و عدم محلول‌پاشی نشان داد که در صورت استفاده از عناصر ریزمغذی آهن و روی، عملکرد دانه گندم در مقایسه با شاهد (عدم محلول‌پاشی) به میزان ۹۳۵ کیلوگرم در هکتار افزایش می‌یابد (مارالیان و همکاران، ۱۳۸۷). در یک آزمایش در اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر روی گندم دوروم نتایج نشان داد که اسید هیومیک سبب افزایش وزن ساقه و ریشه گندم شد همچنین باعث افزایش عملکرد، باروری سنبله و افزایش میزان پروتئین گندم شد (دلفاین و همکاران، ۲۰۰۵).

5. Sebahatiin
6. Delfine
7. Ulukan
8. Vaughan and Linehan

1. FAO
2. Hai and Mi
3. Cakmak
4. Rengel

کود آهن مورد استفاده در آزمایش با نام تجاری آبرون^۱ تولیدی شرکت مانورت^۲ کشور اسپانیا با آهن مایع کمپلکس شده با اسید لیگنوسولفونیک که حاوی ۰.۵٪ آهن قابل حل در آب است بود. مشخصات اسید هیومیک مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است. کود آهن و اسید هیومیک با غلظت چهار در هزار که براساس دستور شرکت سازنده برای محصولات زراعی مشخص شده بود استفاده گردید و با سم پاش پشتی در مزرعه پخش شد. محلول پاشی قبل از گل دهی در تاریخ ۲۹ اردیبهشت و در بعد از گل دهی در ۲۵ خرداد انجام شد.

استخراج پروتئین محلول برگ

یک گرم بافت تر نمونه های برگ پرچم در دو مرحله قبل و بعد از گل دهی جهت استخراج پروتئین محلول برگ برداشت شد. سپس با ۵ میلی لیتر بافر تریس-HCl ۰/۰۵ مولار با pH= ۷/۵ در دمای ۴-۰ درجه سانتی گراد به خوبی ساییده و محلول حاصل به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ یخچال دار در دمای ۴ درجه سانتی گراد، سانتریفیوژ گردید (برادفورد^۳، ۱۹۷۹). محلول رویی برای سنجش غلظت پروتئین محلول و بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش غلظت پروتئین

جهت سنجش غلظت پروتئین از روش برادفورد استفاده شد. ۵ میلی لیتر از محلول برادفورد به همراه ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل، در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت گردید. مقدار پروتئین نمونه ها با توجه به نسبت وزن خشک به وزن تر برگ ها به صورت غلظت (برحسب میلی گرم بر گرم وزن خشک) ارائه شد. به منظور اندازه گیری پروتئین محلول برگ از روش برادفورد (۱۹۷۶)، استفاده شد. بلافاصله بعد از خارج کردن نمونه ها از فریزر، ۰/۵ گرم از نمونه ها در هاون حاوی ۵ میلی لیتر بافر تریس-HCl ۰/۱ نرمال با pH ۷/۴ و ۰/۱٪ گلیسرول در یک بستر یخی هموزن گردید و سپس به لوله های سانتریفیوژ منتقل شد. این نمونه ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، از عصاره رویی مربوطه به هر واحد آزمایشی به ۴ عدد میکروتیوپ کوچک به منظور اندازه گیری غلظت پروتئین و فعالیت های آنزیمی منتقل شده و در فریزر و دمای

هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر محلول پاشی آهن و اسید هیومیک بر میزان غلظت ریزمغذی آهن و روی دانه و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، پروتئین محلول برگ و مطالعه تفاوت پاسخ اکوتیپ های مختلف گندم سرداری می باشد.

مواد و روش ها

آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کردستان واقع در شهرستان دهگلان در ارتفاع ۱۸۶۶ متر از سطح دریا و در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی و طول ۴۷ درجه شرقی واقع در ۴۵ کیلومتری شرق شهر سنندج در شرایط دیم اجرا شد. بر اساس یک آمار ۱۳ ساله، (۲۰۰۰ تا ۲۰۱۲) میزان نزولات سالیانه در منطقه ۳۶۱/۴ میلی متر بود، که در سال زراعی ۹۲-۹۱ به طور میانگین ۳۴۰/۵ میلی متر بود. زمین آزمایش در پاییز بعد از مساعد شدن هوا با گاو آهن شخم زده شد و برای تسطیح و خرد شدن کلوخه ها از دیسک استفاده شد. قبل از عملیات کاشت باتوجه به نتایج تجزیه خاک، کود نیتروژنه به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار از منبع کود اوره، کود پتاسه به میزان ۲۵ کیلوگرم در هکتار از منبع سولفات پتاسیم و کود فسفره به میزان ۶۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سوپر فسفات تریپل با خاک مخلوط گردید. کشت توسط بذارکار غلات دانه ریز با فاصله ردیف ۲۰ سانتی متر و تراکم ۳۵۰ بوته در مترمربع صورت گرفت. آزمایش به صورت طرح کرت های دو بار خرد شده با سه فاکتور در سه تکرار انجام شد و ابعاد هر کرت فرعی فرعی ۳×۱ مترمربع بود. فاکتورهای مورد بررسی عبارت بودند از: اکوتیپ های سرداری و رقم آذر ۲ در ۱۴ سطح (رقم آذر ۲ (شاهد) و اکوتیپ های ریژاو، خوشاب، تودار، باغچه مریم، تازه آباد، تلوار، قطره زمین، صوفیان، آویهنک، سی و سه مرده، بهار سبز، گاودره، کلاته) به عنوان فاکتور اصلی، زمان محلول پاشی به عنوان فاکتور فرعی در دو سطح (قبل از گل دهی، بعد از گل دهی) و نوع کود محلول پاشی شده به عنوان فاکتور فرعی فرعی در چهار سطح (بدون محلول پاشی، محلول پاشی آهن، محلول پاشی اسید هیومیک، محلول پاشی مخلوط (اسید هیومیک و آهن)). باتوجه به رایج بودن کشت رقم آذر ۲ و رقم سرداری در منطقه غرب و به خصوص در استان کردستان در این آزمایش با انتخاب رقم آذر ۲ به عنوان شاهد و اکوتیپ های مختلف گندم سرداری سعی بر این است که رقم و اکوتیپ برتر باتوجه به شرایط منطقه شناسایی شده و در مطالعات محققان و معرفی رقم برتر در مناطق کوهستانی به خصوص کردستان مورد استفاده قرار گیرد.

1. Iron
2. Manvert
3. Bradford

منحنی استاندارد در طول موج ۵۹۵ نانومتر تعیین شد. در نهایت مقدار پروتئین با توجه به نسبت وزن خشک به وزن تر به صورت غلظت بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک ارائه شد.

$$\text{پروتئین} = \frac{\text{میزان پروتئین محاسبه شده} \times \text{حجم نمونه}}{\text{درصد ماده خشک} \times \text{وزن نمونه}} \times 1000$$

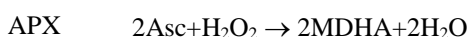
۴۲- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور اندازه‌گیری غلظت پروتئین محلول به ۰/۹۹ میلی‌لیتر از عصاره رویی نمونه‌های برگ ۰/۰۱ میلی‌لیتر محلول برادفورد اضافه شد. پس از طی مراحل فوق میزان جذب نور با توجه به مقدار پروتئین این نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و با توجه به

جدول ۱: مشخصات اسید هیومیک مورد استفاده در آزمایش

Table 1: Characteristics of applied humic acid in experiment

نام تجاری	درصد اسید فولیک	درصد اکسید پتاسیم	درصد اسید هیومیک
Trade name	Percentage of Folic acid	Percentage of potassium oxide	Percentage of Humic acid
Humax 95-WGS	15	5	80

پراکسید هیدروژن را با استفاده از آسکوربات طبق معادله زیر به آب احیاء می‌شود.



فعالیت ویژه آنزیم آسکوربیت پراکسیداز به صورت تعداد میکرومول H_2O_2 تجزیه شده در دقیقه میلی گرم گزارش شد.

$$A = \frac{A_{290} \times df \times 10000}{\epsilon t}$$

A: فعالیت ویژه آنزیم بر حسب میکرومولار H_2O_2 تجزیه شده در یک دقیقه و در یک میلی‌لیتر عصاره پروتئینی

ΔA_{290} : تفاضل جذب ۲۹۰ نانومتر در شروع و پایان واکنش. df: فاکتور رقت (df=10). ۱۰۰۰: جهت تبدیل میلی‌مولار به میکرومولار. t: مدت زمان واکنش آنزیم. ϵ : ضریب خاموشی پراکسید هیدروژن ($2/\lambda \text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

سنجش غلظت پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین بافت برگ از روش بیتس^۴ (1982)، استفاده شد. ابتدا ۰/۲ گرم بافت برگ در بوتله چینی ریخته شد، سپس با ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۰/۳٪ به خوبی سائیده شد و هموژنات حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۸۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. ۲ میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده به همراه ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در لوله‌های دردار ریخته شدند. پس از بستن درب لوله‌ها، به مدت یک ساعت لوله‌ها در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. به هریک از لوله‌ها پس از سرد شدن، مقدار ۴ میلی‌لیتر تولون اضافه گردید و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه لوله‌ها تکان داده شدند. فاز قرمز رنگ رویی که حاوی پرولین محلول در تولون

اندازه‌گیری کلروفیل با روش SPAD

به منظور اندازه‌گیری شاخص کلروفیل برگ از دستگاه کلروفیل‌متر دستی^۱ استفاده شد، به این ترتیب که در اوایل گل‌دهی، با استفاده از کلروفیل‌متر مقدار کلروفیل در سه قسمت برگ پرچم (بالا، وسط، پایین) در هر کرت از میانگین ۱۰ بوته در تمامی تیمارهای مورد بررسی ثبت گردید و میانگین این سه قسمت در دستگاه کلروفیل‌متر برای هر برگ در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش مک آدام^۲ و همکاران (1992)، صورت گرفت، برای اندازه‌گیری یک میلی‌لیتر مخلوط واکنش، شامل ۸۱۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات pH=۶/۶، ۲۰ میکرولیتر محلول نمونه و ۹۰ میکرولیتر گوئیکول یک درصد به عنوان الکترون‌دهنده مورد استفاده قرار گرفت. از مخلوط واکنش بدون عصاره آنزیمی به عنوان شاهد اسپکتروفتومتر استفاده شد. مخلوط واکنش در کووت ریخته شد و قبل از اندازه‌گیری سرعت واکنش، ۹۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد به عنوان پذیرنده الکترون به مخلوط واکنش اضافه شد. مقدار جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۱۸۰ ثانیه در ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت و سپس تغییرات آنزیمی بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش ناکانو و اسادا^۳ (1978)، اندازه‌گیری گردید آنزیم آسکوربیت پراکسیداز،

1. SPAD-502, Minolta Co Japan
2. Mac Adam
3. Nakano and Asada

محلول پاشی نیز معنی دار شدند (جدول ۲، $P < 0.01$). بیشترین مقدار پرولین مربوط به رقم آذر ۲ در مرحله قبل از گل‌دهی بود و کم‌ترین مقدار پرولین نیز به اکوتیپ ریژاو در اثر محلول پاشی در مرحله بعد از گل‌دهی مربوط بود (شکل ۱). پرولین به‌طور کلی از طریق دو مسیر عمده ساخته می‌شود: مسیر گلوتامات که آنزیم‌های آن در سیتوپلاسم واقع هستند و مسیر اورنتین که آنزیم‌های آن در میتوکندری قرار دارند. مسیر گلوتامات در گیاهان عالی از اهمیت بیشتری برخوردار است و به نظر می‌رسد آنزیم‌های کلیدی این مسیر به محلول پاشی آهن واکنش مثبت نشان می‌دهند (دلانی و همکاران، ۱۹۹۳). نتایج آزمایش اکبری و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که اثرات متقابل آهن در فسفر، آهن در گونه‌های مختلف گندم (گندم نان و ۴ گونه اجدادی آن) و فسفر در گونه‌های مختلف گندم و اثر متقابل سه‌گانه (فسفر \times آهن \times گونه)، بر میزان پرولین در مرحله ساقه رفتن معنی‌دار نبود. علی محمدی^۳ و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده نمودند که تجمع پرولین در بین ژنوتیپ‌های مختلف گندم متفاوت است و نایار^۴ (۲۰۰۳) در یک بررسی نشان داد که میزان پرولین در ارقام متحمل به خشکی گندم نسبت به ارقام حساس به خشکی آن بیش‌تر است.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمارهای مختلف محلول پاشی باعث افزایش مقدار پرولین اکوتیپ‌های مختلف گندم سرداری شد، محلول پاشی با اسید هیومیک، آهن، و مخلوط (آهن و اسید هیومیک) به ترتیب باعث افزایش ۸/۵۸، ۶/۳۴ و ۹/۳۲ درصدی میزان پرولین نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۲). نتایج تحقیقات محققان بیانگر آن است که مصرف کودهای ریزمغذی می‌تواند مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی نظیر خشکی و شوری را افزایش دهد (بایوردی^۵، ۲۰۰۵).

شاخص کلروفیل برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اکوتیپ، نوع کود محلول پاشی شده و زمان محلول پاشی بر میزان کلروفیل برگ معنی‌دار بود (جدول ۲، $P < 0.01$). بیش‌ترین مقدار کلروفیل از اکوتیپ تودار به‌دست آمد، کم‌ترین مقدار کلروفیل نیز مربوط به اکوتیپ گاودره بود (شکل ۳). محلول پاشی با کودهای موردنظر باعث افزایش کلروفیل برگ گردید (شکل ۴). در یک مطالعه استفاده از آهن باعث افزایش محتوی کلروفیل b و کل گردید (مظاهری نیا^۶ و همکاران، ۲۰۱۰).

بود، برداشته شد و هم‌زمان با نمونه‌های استاندارد در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد و اعداد آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت پرولین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

اندازه‌گیری غلظت عنصر آهن و روی در دانه‌ی گندم

غلظت آهن دانه با استفاده از دستگاه اسپکترومتر جذب اتمی^۱ مدل (Spectr AA 220) اندازه‌گیری شد. ابتدا یک گرم ماده غذایی داخل بوته‌ی چینی وزن گردید و در کوره الکتریکی به مدت ۴ تا ۶ ساعت در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد سوزانده شد و پس از سرد شدن نمونه خاکستر، ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلروریک ۱+۳ به آن افزوده (۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۵۰ میلی‌لیتر اسید کلروریک ۳۷٪ یا اسید نیتریک) گردید.

بوته چینی روی بن‌ماری قرار داده شد تا به حجم نصف برسد، پس از سرد شدن، محلول به‌وسیله کاغذ صافی صاف و داخل بالن ژوژه ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد توسط پی‌پت ۵ میلی‌لیتری از محلول آماده شده برداشته شد و سپس ۲۰ میلی‌لیتر محلول مولیبدات و انادات آمونیوم اضافه گردید و به حجم رسانده شد. سپس غلظت نمونه مجهول برای هر دو عنصر آهن و روی به ترتیب در طول موج ۲۴۸ و ۲۷۹ به‌دست آمد. برای تهیه محلول شاهد، ۲۰ میلی‌لیتر از محلول و انادات مولیبدات آمونیوم به حجم ۱۰۰ رسانده شد.

تهیه استاندارد آهن و قرائت نمونه‌ها با دستگاه جذب اتمی: قبل از قرائت آهن عصاره تهیه شده از نمونه‌ها، به‌منظور کالیبره کردن دستگاه جذب اتمی با استفاده از محلول آهن و آب مقطر مطابق دستورالعمل سینگ^۲ و همکاران (۱۹۹۹)، مقدار ۱۰ سی‌سی از هر کدام از استانداردهای آهن با غلظت‌های ۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۵، ۳، ۷/۵، ۱۰، ۱۲، ۱۵ میکروگرم در یک میلی‌لیتر داخل لوله‌های آزمایش ۲۵ میلی‌لیتر تهیه و به ترتیب از کم به زیاد طول موج نمونه‌ها توسط دستگاه قرائت شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها، براساس مدل آماری طرح مورداستفاده و به کمک نرم‌افزار MSTATC صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح پنج درصد و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

بحث و نتیجه‌گیری

پرولین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر زمان محلول پاشی در اکوتیپ معنی‌دار شد ($P < 0.05$) بقیه اثرات به غیر از زمان

3. Ali Mohammadi
4. Nayyar
5. Baybordi
6. Mazaherinia

1. Atomic absorption spectrometre
2. Singh

نتایج نشان داد که میزان غلظت کلروفیل در اثر محلول‌پاشی در مرحله قبل از گل‌دهی ۴/۴ درصد بیش‌تر از بعد از گل‌دهی بود (شکل ۵). افزایش سطح کلروفیل در گیاهان ممکن است به نقش آهن و اسید هیومیک در فتوسنتز و تنفس و شرکت آهن در ساختمان کلروفیل مربوط باشد که در نتیجه باعث افزایش عملکرد در گیاه می‌شود (دلفاین و همکاران، ۲۰۰۵). زادن^۱ (۱۹۸۶)، در یک مطالعه دریافت که محلول‌پاشی برگ‌های گندم با اسید هیومیک و فلویک در مزرعه و گلخانه سبب افزایش میزان کلروفیل در برگ‌ها می‌شود.

نتایج آزمایش *امان/الله*^۲ و همکاران (۲۰۱۲)، نشان داد که استفاده از سولفات آهن در خاک و محلول‌پاشی آهن، باعث افزایش محتوی کلروفیل برگ ذرت و محتوی کاروتنوئید آن می‌شود. از طرف دیگر لیو و همکاران (۲۰۰۵) در یک بررسی مشاهده کردند که محتوی کاروتنوئید گندم توسط آهن تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد.

میزان غلظت آهن دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر فاکتورهای مورد مطالعه بر میزان آهن دانه معنی‌دار بود (جدول ۲، $P < 0.01$). بیش‌ترین میزان آهن دانه مربوط به اکوتیپ آذر ۲ محلول‌پاشی شده در زمان بعد از گل‌دهی بود، کم‌ترین میزان غلظت آهن دانه نیز مربوط به اکوتیپ سی‌وسه مرده محلول‌پاشی شده در بعد از گل‌دهی بود (شکل ۶). ولش و گراهام^۳ (۲۰۰۲)، گزارش کردند که جبران کمبود آهن در دانه گندم، توسط کارهای اصلاحی و انتخاب ارقامی که قادر به جذب بیش‌تر آهن از خاک و برگ‌ها و تجمع آن در دانه را میسر سازند، صورت می‌گیرد. غلظت آهن دانه در اثر محلول‌پاشی قبل از گل‌دهی تأثیر بیش‌تری بر روی میزان غلظت آهن دانه گذاشت، به طوری که غلظت آهن دانه در اثر محلول‌پاشی در قبل از گل‌دهی با اسید هیومیک به میزان ۱۶/۷۵ درصد نسبت به بعد از گل‌دهی افزایش یافت. به علاوه تیمارهای محلول‌پاشی با آهن و مخلوط اسید هیومیک و آهن در مرحله قبل از گل‌دهی به ترتیب ۱۱/۴۹ و ۳۱/۶۳ درصد نسبت به بعد از گل‌دهی افزایش نشان دادند (شکل ۷). این نتیجه با نتایج آزمایش بلالی و همکاران (۱۳۸۰)، مطابقت داشت. در مجموع محلول‌پاشی قبل از گل‌دهی با اسید هیومیک و کود آهن و مخلوط آن‌ها به ترتیب باعث افزایش ۱۴/۳۴ و ۱۰/۳۰ و ۲۴/۰۳ درصدی میزان غلظت آهن در دانه نسبت به تیمار بعد از گل‌دهی شد (شکل ۷). به نظر می‌رسد انجام

محلول‌پاشی در زمان قبل از گل‌دهی باعث افزایش جذب عناصر غذایی و توسعه برگ می‌شود، طول دوره استفاده از مواد افزایش پیدا می‌کند و گیاه با توان بیش‌تری وارد مرحله گل‌دهی شود و در نتیجه آن انتقال مواد به دانه افزایش می‌یابد (کک‌مک^۴ و همکاران، ۲۰۱۰). علاوه بر این، محلول‌پاشی چه در زمان قبل از گل‌دهی و چه در بعد از گل‌دهی باعث افزایش غلظت آهن دانه نسبت به شاهد شد. در مطالعه‌ای مشاهده شد که محلول‌پاشی با آهن به افزایش محتوی آهن دانه در برنج منجر می‌شود (وی^۵ و همکاران، ۲۰۱۲). بلالی و همکاران (۱۳۸۰)، در یک بررسی مشاهده کردند که با مصرف کودهای محتوی آهن عملکرد دانه، غلظت دانه، درصد پروتئین، تعداد دانه در خوشه و وزن هزار دانه به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. در بسیاری از مزارع گندم که در مناطق خشک و نیمه‌خشک قرار دارند کمبود آهن، به علت pH بالای خاک، کربنات کلسیم آزاد، مواد آلی کم، خشک‌سالی، تنش شوری، عدم تعادل بین مصرف کودهای NPK و محتوی بالای بی‌کربنات آب آبیاری مشاهده می‌شود (نریمانی^۶ و همکاران، ۲۰۱۰). کمبود آهن در خاک باعث کاهش عملکرد و کیفیت دانه گندم و در نتیجه کمبود آهن در تغذیه انسان می‌گردد (قربانی و همکاران، ۱۳۸۱).

میزان غلظت روی دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده و متقابل فاکتورهای مورد مطالعه بر صفت غلظت روی در دانه معنی‌دار شدند (جدول ۲، $P < 0.01$). بیش‌ترین میزان غلظت روی دانه مربوط به اکوتیپ کلاته در تیمار محلول‌پاشی قبل از گل‌دهی بود که با سایر اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری داشت. کم‌ترین میزان غلظت روی دانه نیز به اکوتیپ قطره زمین در تیمار محلول‌پاشی قبل از گل‌دهی تعلق داشت (شکل ۸). محلول‌پاشی عناصر قبل از گل‌دهی اثر بیش‌تری بر میزان غلظت روی دانه داشت. می‌توان نتیجه گرفت که محلول‌پاشی باعث افزایش میزان غلظت روی دانه می‌شود، که علت آن به دلیل جذب و حلالیت بیش‌تر عناصر کم‌مصرف در گیاه گندم شد. همچنین در مجموع محلول‌پاشی قبل از گل‌دهی با اسید هیومیک و کود آهن و مخلوط آن‌ها به ترتیب باعث افزایش ۶/۸۱ و ۲۱ و ۱۴/۹۴ درصدی میزان غلظت آهن در دانه نسبت به تیمار بعد از گل‌دهی شد (شکل ۹). یکی از مزایای مهم اسید هیومیک، کلات‌کنندگی عناصر غذایی مختلف از جمله

4. Cakmak
5. Wei
6. Narimani

1. Zudan
2. Amanullah
3. Welch and Graham

و آهن و روی می‌باشد که سبب افزایش محتوی عناصر دانه و باروری و عملکرد گیاهان زراعی می‌شود (ورلیندن و همکاران، ۲۰۰۹). بولنت /اسیک^۱ و همکاران (۲۰۰۹)، در یک بررسی بر روی گندم دوروم نشان دادند که اسید هیومیک موجب افزایش جذب فسفر، پتاس، منیزیم، سدیم، مس و روی می‌گردد. اسید هیومیک به سبب افزایش جذب عناصر کم‌مصرف در گیاه گندم

و رفع کلروز برگ می‌باشد (مکارتی^۲، ۲۰۰۱). محمد^۳ و همکاران (۱۹۹۰) طی آزمایشی گزارش کردند که کاربرد عناصر کم‌مصرف از جمله روی و آهن عملکرد گندم را نسبت به تیمار شاهد افزایش می‌دهد و با مصرف این عناصر به صورت محلول پاشی، حداکثر عملکرد و میزان روی دانه به دست آمد.

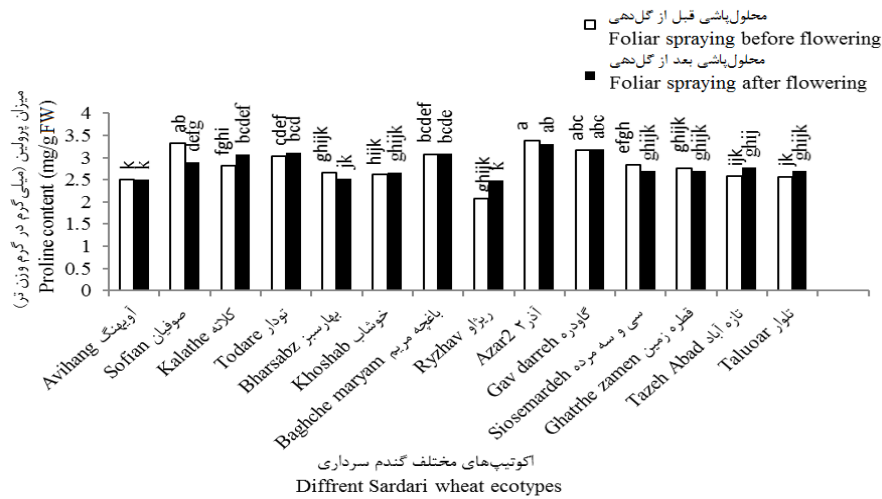
جدول ۲: میانگین مربعات برخی صفات مورد مطالعه متأثر از محلول پاشی آهن و اسید هیومیک در اکوتیپ‌های گندم

Table 2: Mean square of some studied traits under foliar iron and humic acid spraying in wheat ecotypes

عملکرد Yield	پروتئین محلول برگ Leaf soluble protein	پراکسیداز Peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	روی Zinc	آهن Iron	کلروفیل Chlorophyll	پرولین Proline	درجه آزادی df	منابع تغییرات Sources of variations
37539.01**	3.18 ^{ns}	3.46 ^{ns}	7.98**	769.30**	611.97 ^{ns}	4.61 ^{ns}	0.12 ^{ns}	2	تکرار Replication
62331.12**	108.77**	21.04**	3.07**	2870.45**	3610.86**	75.82**	1.66**	13	اکوتیپ Ecotype
5178.74	1.46	3.22	0.15	35.63 ^{ns}	226.51	4.29	0.06	26	خطای کرت اصلی E ₁
34920.12**	51.12**	24.98*	9.37**	1974.92**	6590.06**	337.24**	0.03 ^{ns}	1	زمان محلول پاشی Spraying time
6148.70**	3.76**	9.14*	1.58**	751.09**	6852.05**	4.05 ^{ns}	0.18*	13	اکوتیپ × زمان محلول پاشی Ecotype × Spraying time
1386.08	1.14	4.14	0.14	51.14	227.83	4.05 ^{ns}	0.06	28	خطای کرت فرعی E ₂
111944.9**	35.97**	125.07**	22.57**	364.9**	7052.14**	23.53**	1.10**	3	نوع کود Fertilizer type
10153.79**	2.48**	5.49**	0.80**	590.31**	12849.42**	5.12 ^{ns}	0.11**	39	اکوتیپ × نوع کود Ecotype × Fertilizer type
2778.74 ^{ns}	5.33**	5.10 ^{ns}	9.72**	396.30**	11333.38**	5.89 ^{ns}	0.68**	3	زمان محلول پاشی × نوع کود Spraying time × Fertilizer type
2204.01 ^{ns}	3**	3.22 ^{ns}	1.51**	391.02**	4977.53**	1.57 ^{ns}	0.22**	39	اکوتیپ × زمان محلول پاشی × نوع کود Ecotype × Spraying time × Fertilizer type
2022.23	0.99	2.91	0.22	25.90	318.60	3.69	0.04	168	خطای کرت فرعی E ₃
19.96	6.86	19.08	24.08	12.50	16.40	4.14	7.04		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

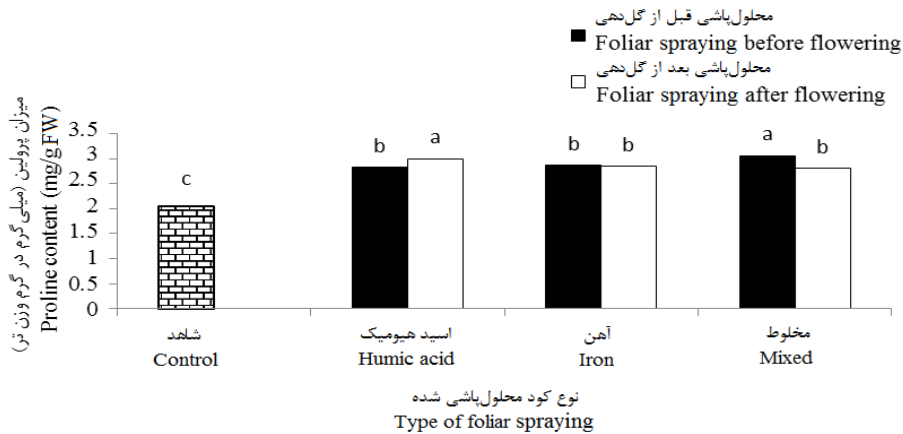
ns, * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد

ns, * and **: Non significant and significant at 5% and 1% probability level, respectively



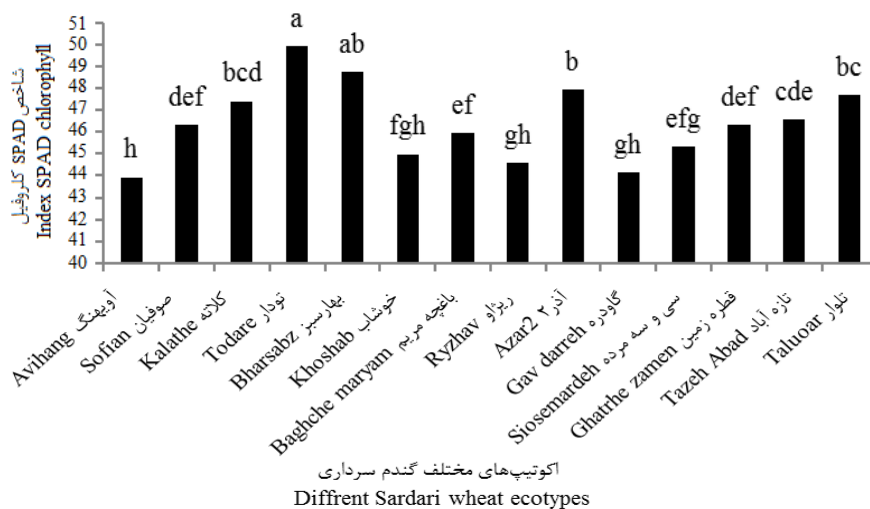
شکل ۱: مقایسه میانگین‌های میزان پرولین در اکوتیپ‌های مختلف گندم سرداری و رقم آذر ۲ تحت سطوح مختلف محلول‌پاشی اسید هیومیک و آهن در دو زمان قبل و بعد از گل‌دهی

Fig. 1: Mean comparison of proline content in different Sardari wheat ecotypes and Azar 2 cultivar under different levels of foliar humic acid and iron spraying before and after flowering



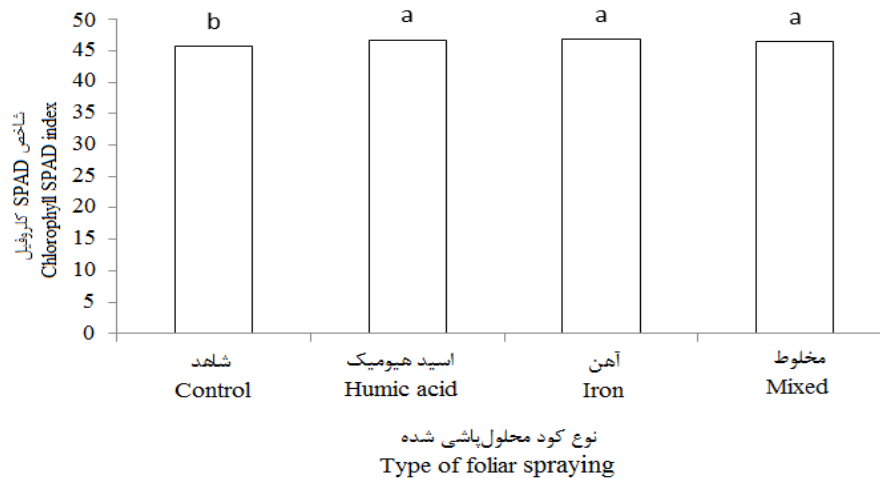
شکل ۲: مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای مختلف محلول‌پاشی آهن و اسید هیومیک در دو زمان قبل و بعد از گل‌دهی بر میزان پرولین

Fig. 2: Mean comparison of different foliar humic acid and iron spraying treatments effect on proline content before and after flowering

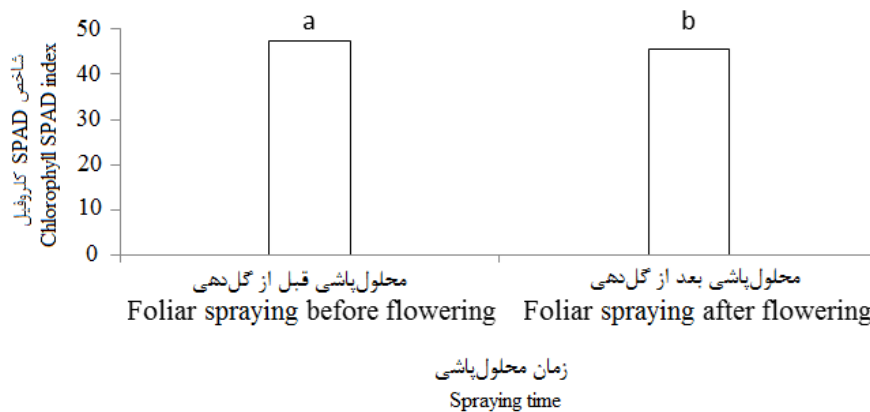


شکل ۳: مقایسه میانگین‌های شاخص SPAD کلروفیل در اکوتیپ‌های مختلف گندم سرداری و رقم آذر ۲

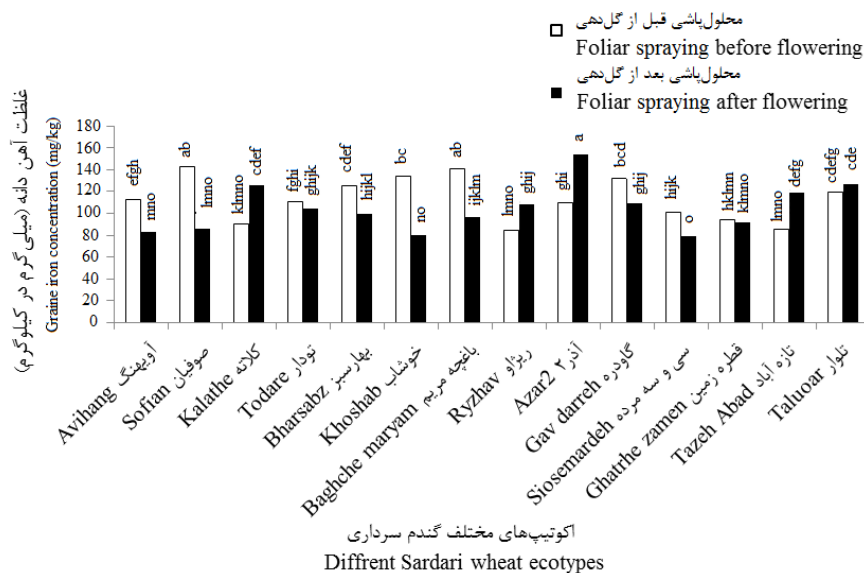
Fig. 3: Mean comparison of SPAD chlorophyll Index in different Sardary wheat ecotypes and Azar 2 cultivar



شکل ۴: مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای مختلف محلول پاشی بر شاخص SPAD کلروفیل گندم
 Fig. 4: Mean comparison of the effect of different foliar spraying on chlorophyll SPAD index in wheat

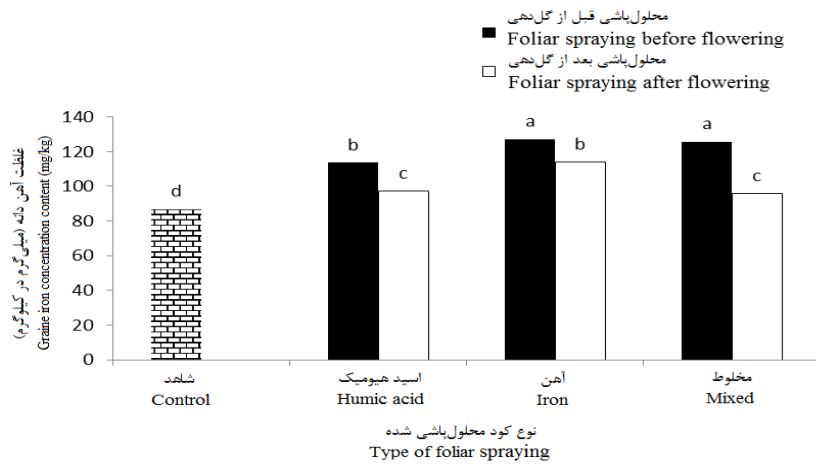


شکل ۵: مقایسه میانگین اثر زمان محلول پاشی بر میزان شاخص SPAD کلروفیل
 Fig. 5: Mean comparison of the effect of spraying time on chlorophyll SPAD index



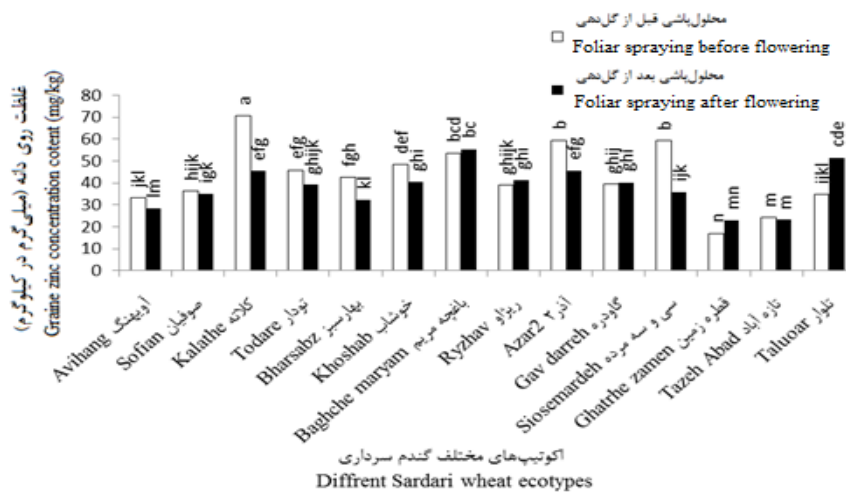
شکل ۶: مقایسه میانگین‌های میزان غلظت آهن در دانه اکوتیپ‌های مختلف گندم سرداری و رقم آذر ۲ تحت سطوح مختلف محلول پاشی اسید هیومیک و آهن در دو زمان قبل و بعد از گل دهی

Fig. 6: Mean comparison of grain iron content in different Sardary wheat ecotypes and Azar2 cultivar under different foliar iron and humic acid spraying levels before and after flowering



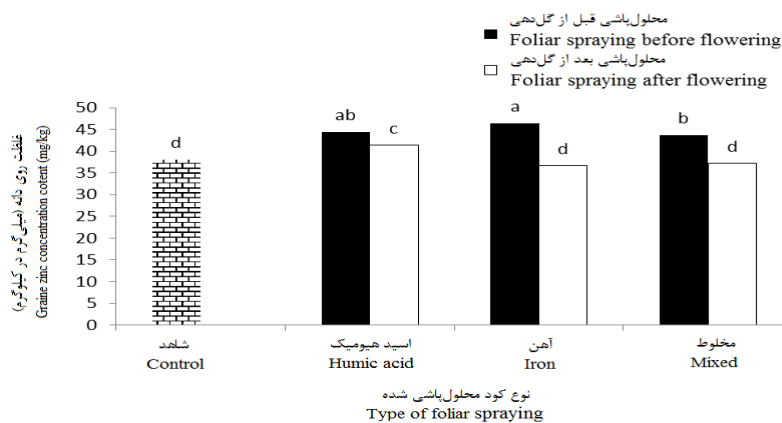
شکل ۷: مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای مختلف محلول‌پاشی آهن و اسید هیومیک در دو زمان قبل و بعد از گل‌دهی بر میزان غلظت آهن دانه

Fig. 7: Mean comparison of the effect of different foliar humic acid and iron treatments on the amount of grain iron before and after flowering



شکل ۸: مقایسه میانگین‌های میزان غلظت روی دانه در اکوتیپ‌های مختلف گندم سرداری و رقم آذر ۲ تحت سطوح مختلف محلول‌پاشی اسید هیومیک و آهن در دو زمان قبل و بعد از گل‌دهی

Fig. 8: Mean comparison of zinc content in different Sardary wheat ecotypes and Azar2 cultivar under different levels of foliar iron and humic acid spraying before and after flowering



شکل ۹: مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای مختلف محلول‌پاشی آهن و اسید هیومیک در دو زمان قبل و بعد از گل‌دهی بر میزان غلظت روی دانه

Fig. 9: Mean comparison of the effect of different foliar humic acid and iron spraying treatments on the amount of grain zinc before and after flowering

پراکسیداز، یک پاسخ سازگار یافته در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد (مارلین^۳، ۲۰۰۲).

مقایسه میانگین اثر زمان محلول‌پاشی نیز نشان داد که محلول‌پاشی قبل از گل‌دهی باعث افزایش ۱۱ درصدی میزان پراکسیداز نسبت به محلول‌پاشی بعد از گل‌دهی شد (شکل ۱۴). کمبود آهن در گیاهان منجر به ایجاد انواع اکسیژن‌های فعال می‌شود که باعث تنش اکسیداتیو می‌شود (میتوفر^۴ و همکاران، ۲۰۰۴).

در شرایط طبیعی پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد در بخش‌های مختلف یاخته‌های گیاهان ایجاد می‌شود (بهاتاچارجی^۵، ۲۰۰۵) اما در شرایط کمبود آهن فرآیندهای سم زدایی به‌صورت ناقص انجام می‌گیرد. عدم خنثی شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش پراکسید هیدروژن در گیاه سبب می‌گردد که رادیکال‌های خطرناک هیدروکسیل تولید شده و به‌صورت پی‌درپی انواع ماکرو مولکول‌های زیستی از جمله لیپیدها و پروتئین‌ها را ناپایدار کند. گیاهان مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی را برای رفع اکسیژن‌های فعال به کار می‌گیرند (تیریکیگلو^۶ و همکاران، ۲۰۰۶).

پروتئین محلول برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تمام عوامل مورد بررسی از نظر صفت پروتئین محلول برگ معنی‌دار بود (جدول ۲، $P < 0.01$). بیش‌ترین مقدار پروتئین محلول برگ در بین اکوتیپ‌ها، مربوط به اکوتیپ قطره زمین در تیمار محلول‌پاشی در مرحله قبل از گل‌دهی بود. کم‌ترین مقدار پروتئین محلول برگ مربوط به اکوتیپ تودار محلول‌پاشی شده در مرحله بعد از گل‌دهی بود، که اختلاف معنی‌داری با سایر اکوتیپ‌ها داشت (شکل ۱۵). اکوتیپ‌هایی که دارای عملکرد بیش‌تری بودند پروتئین محلول برگ کم‌تری داشتند. کاربرد آهن و اسید هیومیک در افزایش میزان کلروفیل و فتوسنتز مؤثر است، زیرا انجام محلول‌پاشی قبل از گل‌دهی، باعث افزایش رشد رویشی گیاه و در نتیجه افزایش ماده خشک و میزان پروتئین گردید.

مقادیر بسیار کم اسیدهای آلی، به دلیل وجود ترکیبات هورمونی اثرات مفیدی در افزایش تولید و کیفیت گیاهان زراعی دارند (سماوات و ملکوتی^۷، ۲۰۰۵). اسید هیومیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌شود (دلفاین و همکاران، ۲۰۰۵). به نظر می‌رسد اسید

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تمامی اثرات اصلی و متقابل فاکتورهای مورد مطالعه بر میزان آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بودند (جدول ۲، $P < 0.01$). بیش‌ترین مقدار آسکوربات پراکسیداز مربوط به اکوتیپ باغچه مریم محلول‌پاشی شده در مرحله بعد از گل‌دهی بود. کم‌ترین مقدار آسکوربات پراکسیداز نیز به اکوتیپ تلوار تعلق داشت (شکل ۱۰).

مقدار آسکوربات پراکسیداز در شرایط تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود. در مجموع در تمام تیمارها مقدار آسکوربات پراکسیداز در مرحله بعد از گل‌دهی بیش‌تر از مرحله قبل از گل‌دهی بود (شکل ۱۱). آنزیم آسکوربات پراکسیداز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های خنثی‌کننده پراکسید هیدروژن در گیاهان است که حاوی آهن می‌باشد و فعالیت آن احتمالاً تحت تأثیر کمبود آهن قرار می‌گیرد (شیگوکا^۱ و همکاران، ۲۰۰۲). فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز، در شرایط کمبود آهن کاهش می‌یابد (سان^۲ و همکاران، ۲۰۰۷). عناصر کم‌مصرف مانند آهن، روی، مس، منیزیم و منگنز، نقش مهمی را به‌عنوان کوفاکتور در ساختمان تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ایفا می‌کنند بنابراین هنگامی که گیاهان با کمبود این عناصر مواجه باشند، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد و حساسیت به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد (رحیمی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۶).

آنزیم پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اکوتیپ، نوع کود محلول‌پاشی شده و اثر متقابل اکوتیپ در نوع کود محلول‌پاشی شده بر پراکسیداز معنی‌دار بود ($P < 0.01$). هم‌چنین اثرات زمان محلول‌پاشی و اثر متقابل اکوتیپ در زمان محلول‌پاشی نیز بر میزان این صفت معنی‌دار گردید (جدول ۲، $P < 0.05$). بیش‌ترین میزان پراکسیداز به اکوتیپ گاودره مربوط بود. کم‌ترین میزان پراکسیداز نیز به اکوتیپ قطره زمین تعلق داشت (شکل ۱۲). تیمارهای مختلف محلول‌پاشی باعث افزایش میزان پراکسیداز در اکوتیپ‌های مختلف گندم سرداری شد. تیمارهای محلول‌پاشی با اسید هیومیک، آهن و مخلوط اسید هیومیک و آهن به ترتیب باعث افزایش ۳۴/۹۵، ۳۱/۰۲ و ۳۶/۲۳ درصدی میزان پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۱۳). گزارش شده است که سنتز آنزیم‌هایی مانند

3. Maralian
4. Mithofer
5. Bhattacharjee
6. Tiryakoglu
7. Samavat and Malakuti

1. Shigeoka
2. Sun

هیومیک به دلیل افزایش محتوی نیتروژن باعث افزایش مقدار پروتئین برگ می‌شود. علاوه بر این، از آنجایی که عنصر آهن، یکی از مهم‌ترین عناصری است که در متابولیسم نیتروژن نقش دارد، می‌تواند سبب افزایش سطح برگ گیاه نیز گردد (تیواری^۱ و همکاران، 2005). بنابراین می‌توان انتظار داشت که با اعمال تیمار آهن در گیاهان پروتئین‌سازی افزایش یابد. بیش‌ترین تأثیر بر افزایش پروتئین محلول برگ به ترتیب مربوط به محلول پاشی مخلوط (اسید هیومیک و آهن) در مرحله قبل از گل‌دهی بود. محلول پاشی در مرحله قبل از گل‌دهی تأثیر بیش‌تری بر افزایش مقدار پروتئین محلول برگ داشت. به طوری که محلول پاشی با اسید هیومیک، آهن و مخلوط در مرحله قبل از گل‌دهی به ترتیب باعث افزایش باعث افزایش ۵/۴۶ و ۱۰/۰۶ درصدی مقدار پروتئین محلول برگ نسبت به مرحله بعد از گل‌دهی خود شدند به علاوه در مجموع محلول پاشی با اسید هیومیک، آهن و مخلوط به ترتیب باعث افزایش ۱۰/۵۶، ۸/۳۵ و ۹/۵۳ درصدی مقدار پروتئین محلول برگ نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۱۶).

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اکوتیپ، نوع کود محلول پاشی شده، زمان محلول پاشی، اثرات متقابل اکوتیپ در زمان محلول پاشی و اکوتیپ در نوع کود محلول پاشی شده معنی‌دار بودند (جدول ۲، $P < 0.01$). بیش‌ترین عملکرد دانه متعلق به اکوتیپ تودار در زمان محلول پاشی بعد از گل‌دهی با عملکرد ۳۵۹/۲ گرم در مترمربع بود که اختلاف معنی‌داری با سایر اکوتیپ‌ها داشت. کم‌ترین عملکرد دانه مربوط به اکوتیپ گاودره در تیمار محلول پاشی قبل از گل‌دهی با ۱۳۲ گرم در مترمربع بود که با اکوتیپ‌های ریژاو در تیمار محلول پاشی قبل و بعد از گل‌دهی و گاودره در تیمار محلول پاشی بعد از گل‌دهی، اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۱۷).

مقایسه میانگین اثر نوع محلول پاشی شده بر عملکرد دانه نشان داد که بیش‌ترین عملکرد دانه در تیمار محلول پاشی اسید هیومیک به میزان ۲۵۳/۵ گرم در مترمربع به دست آمد که دارای اختلاف معنی‌داری با شاهد به میزان ۱۷۳/۱ گرم در مترمربع بود. اما با تیمار محلول پاشی مخلوط (اسید هیومیک و آهن)، اختلاف معنی‌داری نداشت. به طوری که محلول پاشی با اسید هیومیک، آهن و مخلوط به ترتیب باعث افزایش ۴۶/۴۴، ۳۱/۴۲ و ۴۲/۷۴ درصد نسبت به شاهد شدند (شکل ۱۸).

چنین به نظر می‌رسد که اسید هیومیک باعث کندتر شدن روند پیری در برگ‌ها می‌شود و سبب افزایش طول دوره فتوسنتز و رشد گیاه می‌گردد (ولف^۲ و همکاران، 1988). ولف و همکاران (1988)، گزارش کردند که همبستگی مثبتی بین وزن خشک دانه و مقدار دوام سطح برگ وجود دارد و تأیید کردند که سبز ماندن برگ به اندازه تولید برگ، در تعیین عملکرد دانه اهمیت دارد. اسید هیومیک از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیکی، از جمله اثر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ باعث افزایش عملکرد گیاهان می‌شود (ناردی و همکاران، 2002).

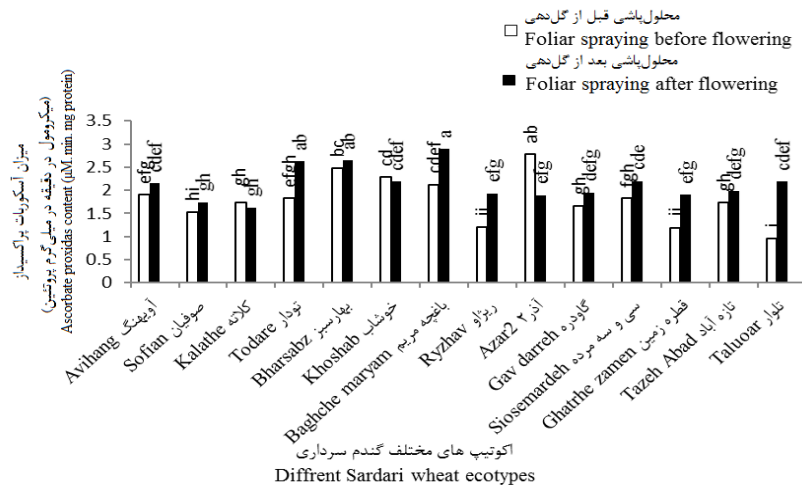
مطالعه اثر کاربرد اسید هیومیک بر روی گندم نشان داد که اسید هیومیک باعث افزایش جذب فسفر، پتاسیم، منیزیم و روی می‌شود (طاهر و همکاران^۳، 2011). مطالعات دلفین (2005) نشان داد که کاربرد اسید هیومیک به صورت محلول پاشی در گندم موجب افزایش ۲۴ درصدی عملکرد شد.

به طوری که با توجه به نقش عنصر آهن در فتوسنتز می‌توان نتیجه گرفت که عناصر کم‌مصرف از طریق افزایش توان فتوسنتزی و میزان فتوسنتز، باعث افزایش عملکرد در گیاهان می‌شوند. اسید هیومیک از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیکی، از جمله اثر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ باعث افزایش سبز ماندن برگ و در نتیجه عملکرد گیاهان می‌شود (ناردی و همکاران، 2002). خلیلی محله و همکاران^۴ (2002)، نشان دادند که محلول پاشی عناصر ریزمغذی میکرو مانند آهن، روی، منگنز در مرحله ساقه‌دهی و کمی قبل از گل‌دهی باعث افزایش عملکرد و اجزای عملکرد ذرت شد. جانس^۵ و همکاران (2004) در آزمایشی در بررسی اثر اسید هیومیک بر عملکرد گندم بهاره دریافتند که اسید هیومیک دسترسی به فسفر و سایر عناصر غذایی را افزایش داد و هم‌چنین سبب افزایش معنی‌داری در عملکرد شد.

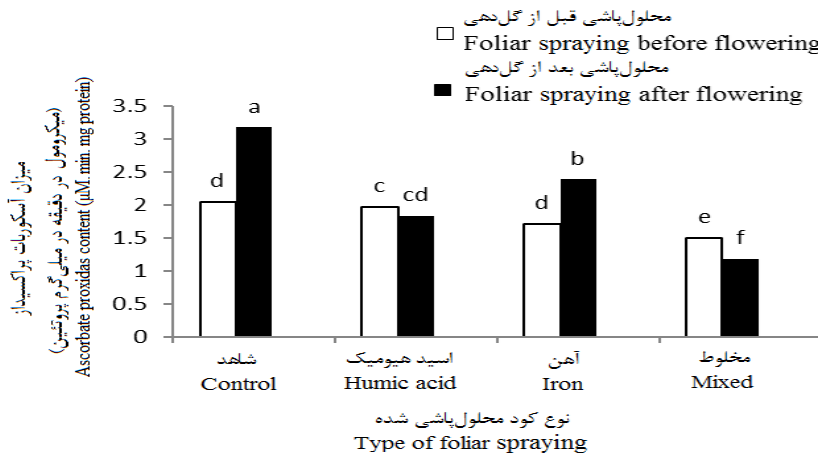
حقیقت نیا و رجایی (۱۳۸۲)، طی آزمایشی مشاهده کردند که تأثیر میزان و روش مصرف عناصر میکرو به ویژه آهن، بیانگر نقش مثبت آن‌ها در افزایش عملکرد دانه و عملکرد اقتصادی بوده، و نقش مصرف آهن به صورت محلول پاشی بیش‌تر است. زلفی (۱۳۸۴)، در دو مطالعه جداگانه اظهار داشت که محلول پاشی یک مرحله‌ای آهن سبب افزایش عملکرد گیاهان زراعی نسبت به شاهد می‌شود.

2. Wolf
3. Tahir
4. Khalil Mahhaleh
5. Jones

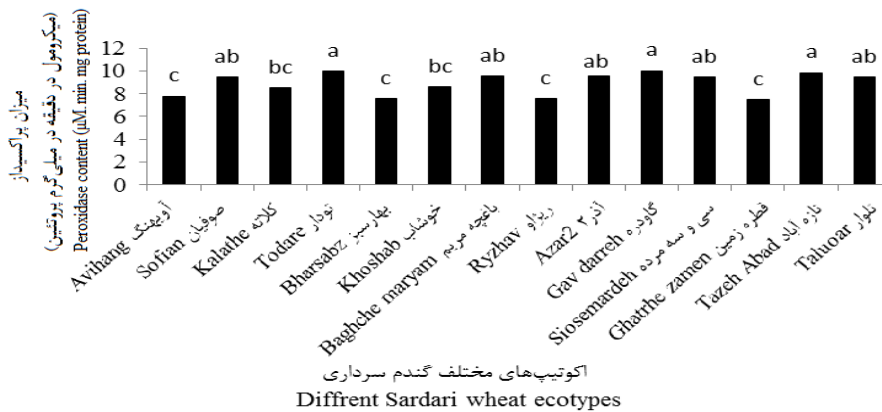
1. Tewari



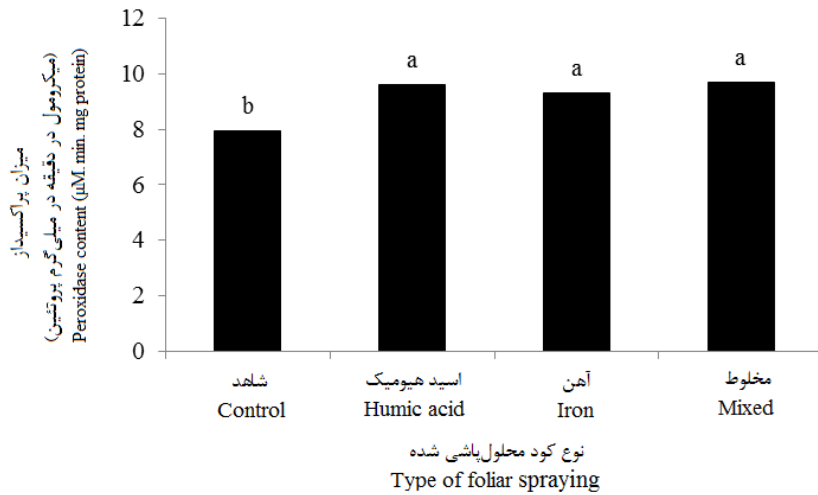
شکل ۱۰: مقایسه میانگین‌های میزان آسکوربات پراکسیداز اکوتیپ‌های مختلف گندم سرداری و رقم آذر ۲ تحت سطوح مختلف محلول پاشی اسید هیومیک و آهن در دو زمان قبل و بعد از گل‌دهی
 Fig. 10: Mean comparison of ascorbate peroxidase in different Sardary wheat ecotypes and Azar2 cultivar under different levels of foliar iron and humic acid spraying before and after flowering



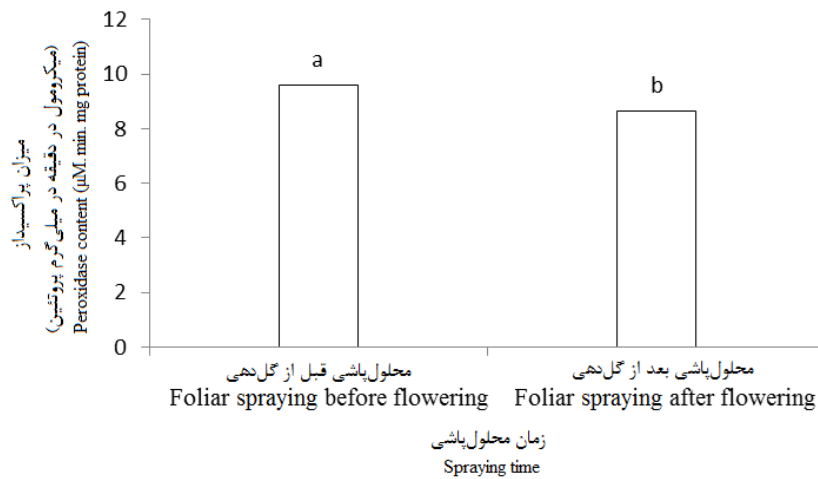
شکل ۱۱: مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای مختلف محلول پاشی آهن و اسید هیومیک در دو زمان قبل و بعد از گل‌دهی بر میزان آسکوربات پراکسیداز
 Fig. 11: Mean comparison of the effect of different foliar humic acid and iron spraying treatments on the amount of Ascorbate peroxidase before and after flowering



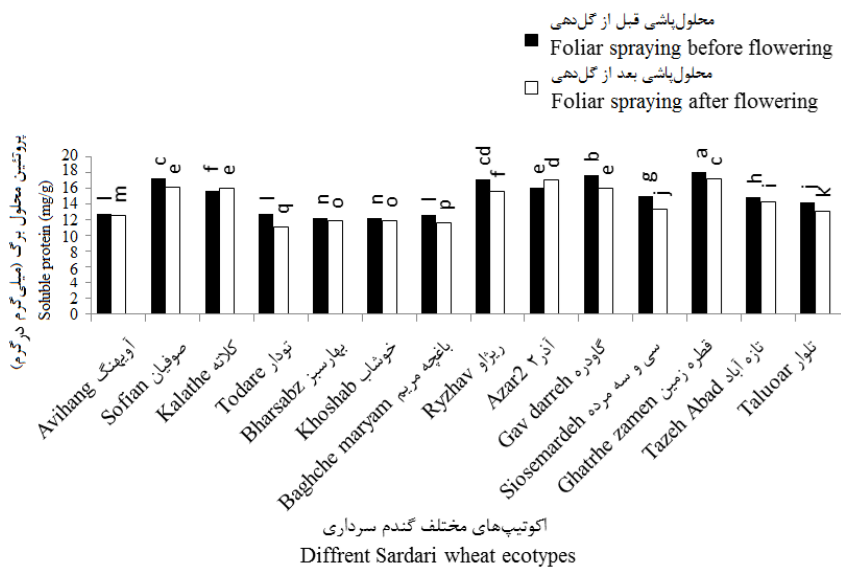
شکل ۱۲: مقایسه میانگین‌های میزان پراکسیداز اکوتیپ‌های مختلف گندم سرداری و رقم آذر ۲
 Fig. 12: Mean comparison of peroxidase in different Sardary wheat ecotypes and Azar2 cultivar



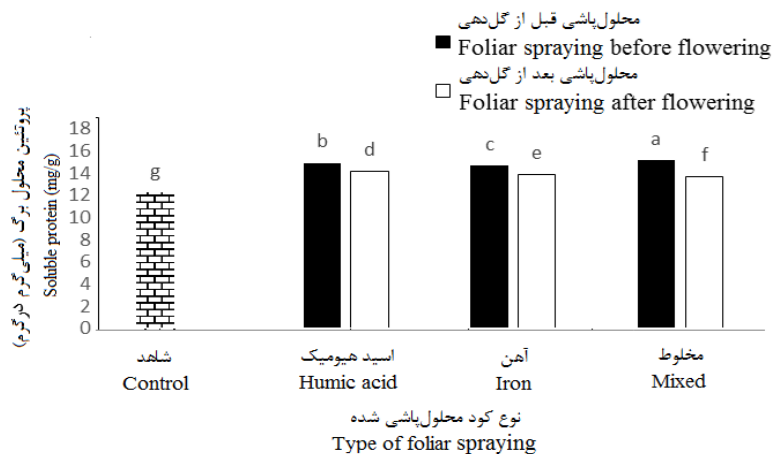
شکل ۱۳: مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای مختلف محلول پاشی بر میزان پراکسیداز گندم
Fig. 13: Mean Comparison of the effect of different foliar spraying types on the amount of wheat peroxidase



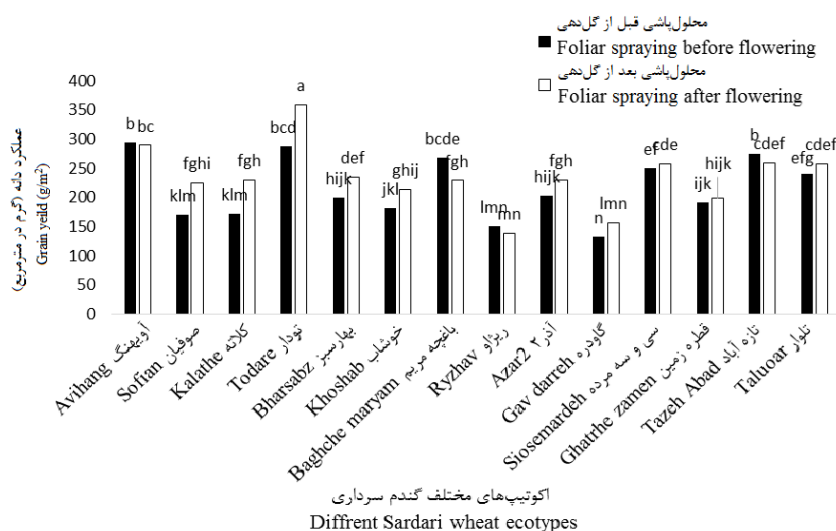
شکل ۱۴: مقایسه میانگین‌های اثر زمان محلول پاشی آهن و اسید هیومیک بر میزان پراکسیداز گندم
Fig. 14: Mean comparison of the effect of foliar humic acids and iron spraying time on the amount of wheat peroxidase



شکل ۱۵: مقایسه میانگین‌های پروتئین محلول برگ اکوتیپ‌های مختلف گندم سرداری و رقم آذر ۲ تحت سطوح مختلف محلول پاشی اسید هیومیک و آهن در دو زمان قبل و بعد از گل‌دهی
Fig. 15: Mean comparison of soluble protein in different Sardary wheat ecotypes and Azar2 cultivar under different levels of foliar iron and humic acid spraying before and after flowering

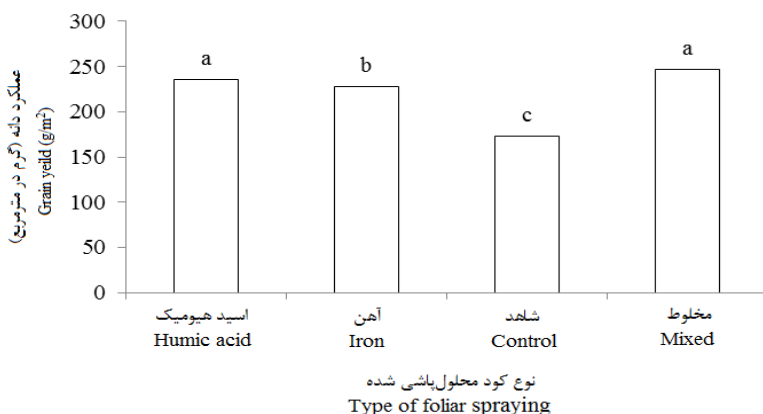


شکل ۱۶: مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای مختلف محلول پاشی آهن و اسید هیومیک بر میزان پروتئین محلول برگ
 Fig. 16: Mean comparison of the effect of different foliar humic acid and iron spraying treatments on the amount of soluble protein



شکل ۱۷: مقایسه میانگین‌های عملکرد دانه اکوتیپ‌های مختلف گندم سرداری و رقم آذر ۲ تحت تأثیر سطوح مختلف محلول پاشی اسید هیومیک و آهن در دو زمان قبل و بعد از گل دهی

Fig. 17: Mean comparison of seed yield in Sardari wheat ecotypes and Azar2 under different levels of foliar spraying of humic acid and iron before and after flowering



شکل ۱۸: مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای مختلف محلول پاشی بر عملکرد دانه گندم
 Fig. 18: Mean comparison of the effect of foliar spraying on wheat grain yield

منابع

ارزانی، ا. ۱۳۸۷. اصلاح گیاهان زراعی (ترجمه). انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ۶۰۶ صفحه.

- اکبری، م. ا.، زارع، م. ج.، مهرابی، ع. ا. و نصرالله نژاد، ع. ا. ۱۳۹۰. بررسی میزان جذب فسفر و آهن و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک در گندم نان و گونه‌های وحشی اجدادی آن. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۴ (۲): ۹۳-۱۰۴.
- بلالی، م.، ملکوتی، م. ج.، ضیائیان، ع.، خوگر، ز.، فرج‌نیا، ا.، کلهر، م.، لطف الهی، ا.، گلچین، ا.، مجیدی، ع.، قادری، ج. م. و کاظمی طلاچی، م. ۱۳۸۰. مقایسه روش‌های مختلف کاربرد عناصر کم‌مصرف بر عملکرد کمی و کیفی گندم آبی‌در استان‌های مختلف کشور. مجله علوم خاک و آب، ۱۵ (۲): ۱۵۳-۱۴۰.
- حسن‌زاده قورت تپه، ع.، فتح‌اله زاده، ع.، نصراله زاده اصل، ع. و آخوندی، ن. ۱۳۸۷. بررسی عملکرد، اجزای عملکرد و راندمان زراعی جذب نیتروژن در ارقام و لاین‌های گندم استان آذربایجان غربی. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی، ۱ (۱): ۹۸-۸۲.
- حقیقت نیا، ج. و رجایی، م. ۱۳۸۲. بررسی تأثیر میزان و روش مصرف عناصر کم‌مصرف بر عملکرد کلزا. هشتمین کنگره علوم خاک ایران. گیلان. ۲۵۹-۲۵۴.
- خدابنده، ن. ۱۳۸۹. غلات. چاپ دهم. انتشارات دانشگاه تهران. ۵۳۷ صفحه.
- زلفی باوریانی، م. ۱۳۸۴. روش و میزان مصرف سولفات آهن بر عملکرد و کیفیت کلزا. نهمین کنگره علوم خاک ایران. تهران. صفحه‌های ۱۰۳-۱۰۱.
- قربانی، م.، ساطعی، ا. و مقیسه، ا. ۱۳۸۱. اثر مقادیر متفاوت شوری بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و نیترات ردوکتاز در ریشه و برگ‌های ارقام کلزا. پژوهش و سازندگی، ۵۸: ۴۴-۳۹.
- مارالیان، ح.، دیدار طالشیمیکائی، ر.، شهبازی، ک. و ترابی گیگلو، م. ۱۳۸۷. اثر محلول‌پاشی آهن و روی در بهبود خصوصیات کمی و کیفی دانه سه رقم گندم. پژوهش کشاورزی آب، خاک و گیاه در کشاورزی، ۸ (۴): ۵۹-۴۷.
- Ali Mohammadi, M., Rezai, A. M. and Mirmohammadi Maibodi, S. A. M. 2009. Investigation some of physiological characteristics and yield in ten cultivars of bread wheat in two irrigation regimes. Iranian Agricultural Science and Technology and Natural Resources Journal, 48: 107-120.
- Amanullah, M. M., Archana, J., Manoharan, S. and Subramanian, K. S. 2012. Influence of iron and inoculation on metabolically active iron, chlorophyll content and yield of hybrid maize in calcareous soil. Journal of Agronomy, 11 (1): 27-30.
- Baybordi, A. 2005. Effect of zinc, iron, manganese and copper on wheat quantity and quality under salt stress conditions. Journal of Soil and Water, 140: 150-170.
- Beets, W. C. 1982. Multiple cropping and troping and farming systems. Westview press Boulder. pp. 156.
- Bhattacharjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative stress, senescence and signal transduction in plants. Current Science, 89: 1113-1121
- 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.
- Bulent Asik, B., Turan, A., Celik, H. and Vahap Katkat, A. 2009. Effects of humic substances on plant growth and mineral nutrients uptake of wheat (*Triticum durum* cv. Salihli) under conditions of salinity. Asian Journal of Crop Science, 1: 87-95.
- Cakmak, I., Pfeiffer, W. H. and McClafferty, B. 2010. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. Cereal Chemistry, 87: 10-20.
- Cakmak, I., Torun, B., Erenoglu, B., Ozturk, L., Marschner, H., Kalayci, M., Ekiz, H. and Yilmaz, A. 1998. Morphological and physiological differences in cereals in response to zinc deficiency. Euphytica, 100: 349-357.
- Chaves, M. M., Maroco, J. S. J., Rodrigues, M. L., Osorio, C. P., Carvalho, I., Faria, T. and Pinheiro, C. 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. Annals of Botany, 89: 907-916.
- Cho, U. and Seo, N. 2005. Oxidative stress in Arabidopsis thaliana exposed to cadmium is due to hydrogen proxide accumulation. Plant Science, 168: 113-120.
- Delaney, A. J., Hu, C. A. A., Kishor, K. P. B. and Verma, D. P. S. 1993. Cloning ornithine-aminotransferase cDNA from *Vigna anconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis. Journal of Biology and Chemistry, 268: 18673-18678.
- Delfine, S., Tognetti, R., Desiderio, E. and Alvino, A. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. Agronomy for Sustainable Development, 25: 183-191.
- FAO. 2014. Crop Prospect and Food Situation. <http://www.fao.org/giews/english/cpfs/index.htm>.
- Hai, S. M. and Mi, R. S. 1998. The lignitic coal derived HA and the prospective utilization in Pakistan agriculture and industry. Science and Technology, 17: 32-40.
- Jones, C. A., Jacobsen, J. S. and Mugaas, A. 2004. Effect of humic acid on phosphorus availability and spring wheat yield. Fertilizer Fact 32. MSU Extension Service and Agricultural Experiment Station, Bozeman, MT.
- Khalil Mahhaleh, J., Reza doost, S. and Roshdi, M. 2002. Effect of foliar micronutrient elements on quantitative and qualitative characteristics of 704 corn silage in the Khoy region. Ninth Congress. Soil Science, Tehran. Iran.
- Mac Adam, J. W., Nelson, C. J. and Sharp, R. E. 1992. Peroxidase Activity in the leaf elongation zone of tallfescue. Plant Physiology, 99: 872-878.
- Maccarthy, P. 2001. The principles of humic substances. Soil Science, 166: 738-751.

- Maralian, H. 2009. Effect of foliar application of Zn and Fe on wheat yield and quality. *African Journal of Biotechnology*, 8 (24): 6795-6798.
- Mazaherinia, S., Astarai, A. R., Fotovat, A. and Monshi, A. 2010. Nano iron oxide particles efficiency on Fe, Mn, Zn and Cu concentrations in wheat plant. *World Applied Science Journal*, 7: 36-40.
- Mithofer, A., Schulze B. and Boland, W. 2004. Biotic and heavy metal stress response in plants: Evidence for common signals. *FEBS Lett.* 566: 1-5.
- Mohamad, W., Iqbal, M. and Shal, S. M. 1990; Effect of mode of application of zinc and iron on yield of wheat. *Sarhad Journal of Agriculture*, 6 (6): 615-618.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: Inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydro- ascorbate radical. *Plant and Cell Physiology*, 28: 140-131.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 1527-1536.
- Narimani, H., Rahimi, M. M., Ahmadikhah, A. and Vaezi, B. 2010. Study on effects of folier spray of micronutrient on yield and yield components of durum wheat, *Archives of Applied Science Research*, 2 (6): 168-176.
- Nayyar, H. 2003. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water tressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. *Environmental and Exprimental Botany*, 50: 253-264.
- Rengel, Z. and Romheld, V. 2000. Root exudation and Fe uptake and transport in wheat genotypes differing in tolerance to Zn deficiency. *Plant and Soil*, 222: 25-34.
- Samavat, S. and Malakuti, M. 2005. Important use of organic acid (humic and fulvic) for increase quantity and quality agriculture productions. *Soil and Water Researchers*, 463: 1-13.
- Sebahattin, A. and Necdet, C. 2005. Effects of different levels and application times of humic acid on root and leaf yield and yield components of forage Turnip (*Brassica rapa* L.). *Journal of Agronomy*, 4: 130-133.
- Seyedin, K. 2006. Effect of microelement on wheat production. Maine Agricultural Research Institute. Final report.
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T. and Yabuta, Y. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1305-1319.
- Singh, Y. P. and Aggarwal. R. L. 1999. Effect of sulphur sources and levels on yield, nutrient up take and quality of black gram (*Phaseolus mungo* L.). *Indian Journal of Agronomy*, 43 (3): 448-452.
- Sinha, S. and Saxena, A. 2006. Effect of iron on lipid peroxidation and enzymatic and nonenzymatic antioxidant and bacoside a content in medicinal plant (*Bacopa monnieri* L.). *Chemosphere*, 62 (8): 134-135.
- Sun, B., Jing, Y., Chen, K., Song, L., Chen, F. and Zhang L. 2007. Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Plant Physiology*, 164: 536- 543.
- Tahir, M. M., Khurshid, M., Khan, M. Z., Abbasi, M. K. and Kazmi, H. M. 2011. Lignite-driven humic acid effect on growth of wheat plants in different soils. *Pedosphere*, 21: 124-131.
- Tewari, R. K., Kumar, P. and Sharma, P. N. 2005. Sign of oxidative stress in the chlorotic leaves of iron starved plants. *Plant Science*, 169: 1037-1045.
- Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S. and Cakmak, I. 2006. Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20: 181-189.
- Ulukan, H., 2008. Effect of soil applied humic acid at different sowing times on some yield colponents in wheat hybrids. *International Journal of Botany*, 4: 164-175.
- Vaughan, D. and Linehan, D. J. 2004. The growth of wheat plants in humic acid solutions under axenic conditions. *Plant and Soil*, 44: 445-449.
- Verlinden, G., Pycke, B., Mertens, J., Debersaques, F., Verheyen, K., Baert, G., Bries, J. and Haesaert, G. 2009. Application of humic substances results in consistent increases in crop yield and nutrient uptake. *Journal of Plant Nutrition*, 32: 1407-1426.
- Wei, Y., Shohag, M. J. I., Yang, X. and Yibin, Z. 2012. Effects of foliar iron applications on iron concentration in polished rice grains and its bioavailability. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 60: 11433-11439.
- Welch, R. M. and Graham, R. D. 2002. Breeding crops for enhanced micronutrient content. *Plant and Soil*, 245: 205-214.
- Wolf, D.W., Henderson, D. W., Hsiao, T. C. and Alvino, A. 1988. Interactive water and nitrogen effects on senescence of maize. I. Leaf area duration nitrogen distribution and yield. *Agronomy Journal*, 80: 859-864.
- Xudan, X. 1986. The effect of foliar application of fulvic acid on water use, nutrient uptake and wheat yield. *Australian Journal of Agricultural Research*, 37: 343-350.
- Zudan, X. 1986. The effect of foliar application of fulvic acid on water use, nutrient uptake and wheat yield. *Australian Journal of Agricultural Research*, 37: 343-350.

Response of Physiological Characteristics of Sardary Wheat Ecotypes to Foliar Application of Humic Acid Before and After Flowering in Dryland Conditions

Teimoori¹, N., Heidari^{2*}, G. R., Hoseinpanahi³, F., Siosehmarde⁴, A. and Sohrabi⁵, Y.

Abstract

In order to provide enough products in cereal crops especially wheat, as the main base of human nutriment, enhancing yield of this crop is necessary. Also, role of nutrient elements in increasing yield per unit of area is hugely important. Therefore, an experiment was conducted to assess the effects of humic acid and iron spraying on physiological traits and yield of Sardari wheat ecotypes in Kurdistan University Research Farm at 2012-2013 cultivation season. The experiment was performed as split-split plot based on randomized complete block design with three factors and three replications. Experimental factors included: 13 ecotypes of Sardary and Azar2 cultivar were allocated to main plots. Spraying time in two levels was posed in sub plots and foliar application at four levels was considered as sub-sub plots. The results showed that spraying with humic acid and iron had significant effects on the studied traits. Comparison of means indicated that spraying increased seed yield in wheat ecotypes. In general spraying with humic acid and iron and their mixed spraying caused an increase in seed yield by 46.44, 31.42 and 42.74 percent compared to control, respectively. In comparison with the control treatment, spraying with iron increased seed iron content by 21.95 percent.

Keywords: Protein, Proline, Macronutrient, Qualitative characteristics

1, 2, 3, 4 and 5. Former MSc Student, Assistant Professors and Associate Professors, Respectively, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

*: Corresponding author

Email: g.heidari@uok.ac.ir