Journal of Vegetables Sciences, Spring & Summer 2024, Vol 8, No 15(1), Pages 183-200

Ilam University

doi:10.22034/IUVS.2023.2010676.1316 Article Type: Research Online ISSN: 2676-4822

Evaluation of different concentrations of Fe and Zn in nutrient solution on yield, biochemical, and nutrient content of spinach in soilless conditions

Ahmad Jafari[1], Farzad Rasouli[2*], Farhad Behtash[2*], Seyed Bahman Mousavi[3], Parinaz Ferdowsi Ghpchagh[1], Mohammad Asadi[4]

1- M.Sc., Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

2- Associate and Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

3- Associate Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

4- Ph.D. Student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

[*]**Corresponding author:** farzad.rasouli@maragheh.ac.ir

(**Received:** 02 September 2023 **Revise:** 24 September 2023 **Accepted:** 02 October 2023)

Extended Abstract

1. **Introduction:** Spinach is a leafy vegetable rich in nutrients and can be consumed either raw or prepared in various ways. Incorporating micro-elements like Zn and Fe can increase nutrient concentration in agricultural products and boost plant yield. This, in turn, plays a crucial role in improving food quality and promoting better health for society. High concentrations of Zn can impede plant growth by affecting photosynthesis and oxygen-free radical production. Conversely, Fe is a vital micronutrient contributing to several plant metabolic processes. This study aims to identify the optimal levels of Fe and Zn elements to enhance spinach yield, element concentration, and vegetative growth.
2. **Materials and Methods:** The plants were cultivated in washed sand media (free from any nutrients). Plants were treated with Zn (0.22, 5, and 10 mg L^{-1}) and Fe (3, 6, and 12 mg L^{-1}). After the first two leaves appeared in each pot, 500 ml of nutrient solution was manually added.
3. **Results:** The ANOVA results indicate that varying levels of Zn and Fe have a significant impact on various traits in spinach, including leaf size, fresh and dry shoot, and root weight, photosynthetic pigments, total antioxidant activity, total soluble protein and carbohydrate content, as well as leaf and root elements. It is important to note that the nutritional components of both spinach leaves and roots were impacted by the combinations of treatments applied. Specifically, the levels of Mg, Zn, and Cu increased after using varying concentrations of Fe and Zn compared to those plants watered with the lowest levels of these minerals. The simultaneous application of Zn and Fe increased the Fe content of leaves and roots. Still, with the increase in the concentration of these treatments, it was observed a reduction in the Fe content so that the lowest amount of Fe in the leaves and roots was observed in the highest concentration of Zn in the food solution (12 mg L^{-1} Fe + 10 mg L^{-1} Zn). Spinach plants under irrigation by 5 mg L^{-1} Zn + 6 mg L^{-1} Fe had the highest leaf K content, which improved by 31.79% compared to the control treatment. When the concentration of Zn in the nutrient solution was increased to 10 mg L^{-1}, it resulted in a decrease in K content in both leaves and roots. The treatment of Fe 6 mg L^{-1} + Zn 5 mg L^{-1} had the highest fresh weight (33.977 g) and dry weight (3.487 g) content and also resulted in an increase in leaf size (length 8.933 mm and width 4.477 mm). However, with the increment of Fe concentration to 12 mg L^{-1} + 10 mg L^{-1}, these traits showed a significant decrease, as well as the highest content of chlorophyll a and b and carotenoids were obtained at a concentration of 6 mg L^{-1} of Fe + 5 mg L^{-1} of Zn, which showed an increase of 289, 687 and 406% compared to the plants treated with the lowermost Zn and Fe concentration, respectively, and the lowest values of chlorophyll a and b, and carotenoids were found in the control plants, the protein content varied from 1.038 mg g^{-1} FW in the lowest treatment to 4.256 mg g^{-1} FW in the 12 mg L^{-1} Fe + 5 mg L^{-1} Zn treatment, the highest total soluble content was observed in 6 mg L^{-1} Fe + 5 mg L^{-1} Zn, which was led to an increase of 72%. The lowest total soluble carbohydrate was also observed in the control plants. The highest and lowest total antioxidant activity was recorded in 12 mg L^{-1} Fe + 5 mg L^{-1} Zn (10.75%) and the control spinach plants (6.705%), respectively.
4. **Conclusion:** Increasing the Zn concentration up to 10 mg L^{-1} caused a reduction in growth parameters

and the content of photosynthetic pigments and elements of K and Fe in leaves and roots. However, the measured trait concentration for the studied treatments was higher than in the control plant. The present results showed that the spinach plant is somewhat resistant to the high concentration of Zn micronutrient. Based on the obtained results, Fe and Zn treatments combined were more effective for promoting healing than separate treatments. 6 mg L^{-1} of Fe and 5 mg L^{-1} of Zn was the most effective treatment.

Keywords: FRAP, Micronutrient, Protein, *Spinacia oleracea*

Citation: Jafari, A., Rasouli, F., Behtash, F., Mousavi, S.B., Ferdowsi Ghpchagh, P. & Asadi, M. (2024). Evaluation of different concentrations of Fe and Zn in nutrient solution on yield, biochemical, and nutrient content of spinach in soilless conditions. *Journal of Vegetables Sciences*, 15(1), 183-200. doi:10.22034/IUVS.2023.2010676.1316

Copyrights:
Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted to Journal of Vegetables Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/ by/4.0).

دوفصلنامه علمی علوم سبزی‌ها، سال۸ ، دوره ۱۵، شماره ۱، بهار و تابستان۱۴۰۳، صفحات (۲۰۰-۱۸۳)

شاپا الکترونیکی: ۴۸۲۲-۲۶۷۶ نوع مقاله: پژوهشی

doi:10.22034/IUVS.2023.2010676.1316

ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف آهن و روی محلول غذایی بر عملکرد، محتوای بیوشیمیایی و مواد مغذی اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) در شرایط کشت بدون خاک

احمد جعفری[۱]، فرزاد رسولی[۲*]، فرهاد بهتاش[۲*]، سید بهمن موسوی[۳]، پریناز فردوسی قپچاق[۱]، محمد اسدی[۴]

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۲- دانشیار و استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۳- دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۴- دانشجوی دکتری، گروه تولیدات گیاهی و ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

[*]نویسنده مسئول: farzad.rasouli@maragheh.ac.ir

(**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۲/۰۶/۱۱ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۲/۰۷/۰۲ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۷/۱۰)

چکیده

اسفناج (*Spinacia oleracea* L.)، یکی از غنی‌ترین سبزی‌های برگی است که توسط مردم جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. تأمین مواد مغذی در سیستم کشت بدون خاک می‌تواند بر محتوای مواد مغذی، طعم، بافت و سایر ویژگی‌های اسفناج تأثیر بگذارد. در مطالعه‌ی حاضر جهت بررسی اثرات غلظت عناصر روی و آهن محلول غذایی بر اسفناج تحت کشت بدون خاک، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۴۰۰ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه مراغه انجام شد. تیمارها شامل آهن (۳، ۶ و ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر)، و روی (۰/۲۲ و ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر) بودند. نتایج به‌دست آمده نشان داد؛ تیمارهای ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن+۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی عملکرد گیاه و اندازه برگ، رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین محلول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل را بهبود بخشید اما افزایش غلظت تیمارها کاهش این صفات را در پی داشت. همچنین تیمارهای ترکیبی ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن+ ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی، و ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن+۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی باعث تغییر کمتری در کربوهیدرات محلول کل برگ نسبت به غلظت‌های پایین‌تر شد. کاربرد آهن و روی به‌صورت همزمان باعث افزایش روی، منگنز و مس در برگ و ریشه شد، اما کاربرد روی در غلظت‌های بالاتر باعث کاهش میزان عناصر به‌ویژه آهن برگ و ریشه شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان بیان کرد تیمارهای ترکیبی آهن و روی بهتر از تیمارهای جداگانه عمل کرده و اثرات بهبود دهندگی بیشتری داشتند و تیمار ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن به همراه ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی بهترین تیمار معرفی گردید.

واژه‌های کلیدی: پروتئین، ریز مغذی، *Spinacia oleracea* L. ،FRAP

استناد: جعفری، ا.، رسولی، ف.، بهتاش، ف.، موسوی، س.ب.، فردوسی قپچاق، پ. و اسدی، م. (۱۴۰۳). ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف آهن و روی محلول غذایی بر عملکرد، محتوای بیوشیمیایی و مواد مغذی اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) در شرایط کشت بدون خاک *علوم سبزی‌ها*، ۱۵(۱)، ۲۰۰-۱۸۳.

حق چاپ:

حق چاپ برای نویسنده (گان) این مقاله محفوظ است. بر اساس قوانین انتشارات با دسترسی آزاد، تمام مطالعات چاپ شده در این مجله به‌صورت آزاد در وب سایت مجله برای عموم بدون پرداخت هزینه قابل‌دسترس است.

مقدمه

اسفناج (*Spinacia oleracea* L.)، عضوی از خانواده Chenopodiaceae، یکی از غنی‌ترین سبزیجات برگی با برگ‌های سبز تیره است که توسط مردم جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. اعتقاد بر این است که این سبزی از ایران سرچشمه گرفته و به سایر نقاط آسیا و اروپا گسترش یافت است (Roberts & Moreau, 2016). تحقیقات مختلف نشان داده است که اسفناج حاوی مقدار قابل توجه ریزمغذی‌ها (ویتامین‌ها و مواد معدنی) و ترکیبات شیمیایی فعال شامل: فلاون‌ها، فلاوانول‌ها، متیلن‌دی‌اکسی فلاونول گلوکورونیدها، گلوکورونیدها و کاروتنوئیدها هستند است (Bayarash *et al*., 2020; Gutierrez *et al*., 2019; Roberts & Moreau, 2016).

عنصر روی یک ریزمغذی مهم در گیاهان است که به‌عنوان یک ترکیب ساختاری یا کوفاکتور برای آنزیم‌ها و پروتئین‌ها عمل می‌کند و نقش تنظیمی در اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) ایفا می‌کند (*Sturikova et al*., 2018; Tripathi *et al*., 2015; Broadley *et al*., 2007). حدود یک سوم خاک‌های کشت شده در سراسر جهان حاوی مقادیر کمی روی هستند که این امر منجر به تولید ضعیف و کیفیت غذایی پایین محصولات برداشت شده می‌شود (Cakmak *et al*., 2017; Noulas, 2018). جذب روی تحت تأثیر pH، درصد رس خاک، نسبت اجزای آلی، محتوای کربنات کلسیم، فعالیت میکروارگانیسم‌های ریزوسفری، رطوبت خاک، غلظت فسفر، غلظت سایر ریز مغذی‌ها و شرایط آب و هوایی قرار می‌گیرد (Sturikova *et al*., 2018). یکی دیگر از عناصر ضروری برای رشد، عملکرد و کیفیت مناسب گیاه، آهن می‌باشد (Sharma *et al*., 2019). آهن علاوه بر این که در بیوسنتز کلروفیل و هورمون‌ها نقش دارد، در واکنش‌های ردوکس در فتوسنتز، تنفس و جذب نیتروژن نیز نقش دارد (Kobdani *et al*., 2021; Pandey, 2015). افزایش غلظت آهن بر جذب و تجمع کلسیم (Ca)، منیزیم (Mg)، پتاسیم (K) و فسفر (P) تأثیر می‌گذارد (Rai *et al*., 2021; Zhang *et al*., 1999). انتقال و تجمع مواد مغذی به‌دلیل تفاوت در تحرک و رقابت عناصر متفاوت است (Tibbett *et al*., 2021). از این‌رو کاربرد مقدار متعادلی از عناصر مغذی برای عملکرد بهینه و محتوای مناسبی از مواد مغذی محصولات، مورد نیاز است (Sharma *et al*., 2019) . روش کشت هیدروپونیک از طریق محلول غذایی امکان ارائه متعادل عناصر ماکرو و میکرو را برای گیاه فراهم می‌کند.

مقادیر ناکافی آهن باعث تجمع منیزیم در ریشه‌های *S. oleracea* و جلوگیری از انتقال منیزیم از ریشه به برگ و کاهش مقادیر مواد مغذی دیگر می‌شود (Simşek & Çelik, 2021) . از طرفی افزایش غلظت آهن باعث بهبود جذب مواد مغذی، افزایش رشد، ماده خشک و عملکرد اسفناج می‌شود (Schmidt *et al*., 2020). غلظت آهن بالاتر در محلول غذایی بر محتوای آهن در اسفناج تأثیر منفی می‌گذارد که این امر به نوبه خود منجر به تجمع آهن، مس و منگنز در ریشه می‌شود (Rai *et al*., 2021). Samreen و همکاران با مطالعه گیاه ماش (*Vigna radiata*) گزارش دادند افزایش غلظت روی در محلول غذایی سبب بهبود رشد گیاه، محتوای کلروفیل، پروتئین محلول کل و همچنین غلظت عناصر همچون مس و منیزیم گیاهی می‌شود در حالی که آهن رفتار رقابتی با روی نشان داده و کاهش می‌یابد. همچنین نتایج تحقیقات Haider و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که کاربرد روی به‌صورت محلول‌دهی پای بوته باعث بهبود رشد گیاهچه، پارامترهای مورفولوژیکی و عملکرد، عملکرد دانه و غلظت روی دانه ماش می‌شود.

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف آهن و روی در محلول غذایی بر رشد، عملکرد و محتوای عناصر غذایی گیاه اسفناج در سیستم هیدروپونیک انجام شد.

مواد و روش‌ها

بذر اسفناج مورد استفاده رقم ویروفلای (Spinach Viroflay) محصول Fanchi seeds- Harrow

انگلستان بود که جزو ارقام زود رس محسوب می‌گردد. مراحل کشت در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه مراغه با مختصات جغرافیایی "X=۶۱۲۹۸۴/۹۶ متر شرقی و Y=۴۱۳۷۳۳۱/۴۵ متر شمالی" انجام شد. بذور قبل از کشت به مدت ۲ ساعت در آب مقطر خیسانده و سپس در گلدان‌های پلاستیکی حاوی ماسه کاشته شد. شرایط گلخانه شامل دمای شب:روز ۲±۲:۲۱±۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵-۶۵ درصد بود. گیاهان تا مرحله ظهور برگ‌های حقیقی با آب مقطر آبیاری شدند و استفاده از محلول هوگلند (Coolong & William, 2004) پس از ظهور اولین برگ‌های حقیقی، شروع شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور (غلظت عناصر روی و آهن) و در ۳ تکرار انجام شد.

تیمارهای مورد استفاده شامل روی ۰/۲۲، ۵ یا ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر و آهن در ۳، ۶ یا ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر بود. روی مورد استفاده به‌صورت سولفات روی و آهن به‌صورت Fe-اتیلن‌دیامین-N,N'-bis (۲-هیدروکسی فنیل استیک اسید) [Fe-ethylenediamine-N,N'-bis (2-hydroxyphenylacetic acid)] در محلول هوگلند استفاده شد. محلول هوگلند که به‌عنوان محلول غذایی پایه استفاده شد حاوی ۰/۲۲ میلی‌گرم‌درلیتر روی و ۳ میلی‌گرم‌درلیتر آهن بود و گیاهان شاهد در محلول هوگلند پایه رشد کردند (جدول ۱).

۵۰ روز پس از اعمال تیمار، شاخص کلروفیل نسبی با دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD 502, Minolta, Osaka, Japan) اندازه‌گیری شد و وزن‌تر اندام هوایی (FW)، طول برگ و عرض برگ ارزیابی شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی (DW) بوته‌های اسفناج برداشت شده پس از شستوشو با آب دیونیزه به مدت ۴۸ ساعت در کوره گردش هوا در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند.

غلظت عناصر

جهت اندازه‌گیری محتوای عناصر برگ و ریشه، اندام مورد نظر خشک و آسیاب شده (۵۰ میلی‌گرم) در لوله‌های آزمایشی ۱۰ میلی‌لیتری با ۲ میلی‌لیتر اسیدنیتریک ۶۵ درصد به حجم رسانده و به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد تا واکنش نشان دهند. مواد افزودنی در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد با دستگاه هضم (آذر تجهیز، تبریز، ایران) به مدت ۳-۴ ساعت به آرامی حرارت داده شدند تا محلول‌های شفاف به‌دست آمد، پس از سرد شدن مخلوط، ۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد به‌آرامی اضافه شد و از طریق کاغذ صافی عبور داده شدند و محلول‌ها در یک فلاسک حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری قرار گرفتند و با آب دیونیزه شده به حجم رسیدند. غلظت روی، آهن، منگنز، مس، منیزیم و کلسیم با دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی (UV-1800, Shimadzu, Kyoto, Japan) و غلظت پتاسیم توسط نورسنج شعله‌ای (Jenway 410, Staffordshire, ST15 OSA, UK) اندازه‌گیری شد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

رنگدانه‌های فتوسنتزی با روش Arnon (۱۹۹۴) اندازه‌گیری شد. به این منظور نمونه برگ (۰/۵ گرم) توسط نیتروژن مایع هضم گردید و ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به آن اضافه شد. جذب توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu) در ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید.

پروتئین محلول کل (TSP)

محتوای TSP بر اساس روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. برگ‌های اسفناج تازه (۱ گرم) با محلول بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار) استخراج شد و در ۱۱۱۸۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی برای اندازه‌گیری محتوای TSP جدا شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره به ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف برادفورد اضافه شد. با ایجاد رنگ آبی در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-VIS (Spekol 1500, Analytik Jena, Jena, Germany) ارزیابی شد.

فعالیت آنتی اکسیدانی کل (TAA)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل توسط FRAP (قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهنده آهن) با استفاده از ۲، ۴، ۶triazine-s-tripyridyl (TPTZ) انجام شد. اساس این روش کاهش آهن فریک به آهن فروس در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها است. محلول FRAP حاوی ۰/۳ مولار بافر استات (pH 3.6)، ۱۰ میلی‌مولار TPTZ، ۴۰ میلی‌مولار هیدروکلراید و ۲۰ میلی‌مولار آهن (III) کلرید به ترتیب به نسبت‌های ۱-۱-۱۰ است. در این روش ۱۰۰ میکرولیتر عصاره رقیق شده با ۴/۱ میلی‌لیتر محلول FRAP مخلوط شد و پس از ۲۰ دقیقه جذب در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد. اسید L-اسکوربیک به‌عنوان یک محلول استاندارد (۱۰۰-۱۰۰ میلی‌مولار) استفاده شد. TAA به‌عنوان غیرفعال‌سازی FRAP (%) اندازه گیری شد (Benzie & Strain, 1996).

کربوهیدرات محلول کل (TSC)

جهت اندازه‌گیری TSC بافت برگ تازه (۰/۲ گرم) در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در حمام آب گرم حرارت داده شد و ۱ میلی لیتر فنل ۰/۵ درصد و ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد به ۱ میلی‌لیتر از نمونه گرم شده اضافه شد. در نهایت جذب در ۴۸۳ نانومتر خوانده شد (Schlegel, 1956).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها، تحلیل واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با احتمال ۵ درصد با نرم‌افزار آماری MSTAT-C (ver. 7.0.1, Mishigan State University, city, MI) انجام شد.

نتایج و بحث

وزن تر و خشک اندام هوایی

با توجه به نتایج به‌دست آمده تیمار آهن به‌تنهایی وزن تر و خشک اندام هوایی اسفناج را به‌طور قابل توجهی افزایش داد و با افزایش غلظت آهن افزایش این شاخص‌ها نیز سیر صعودی داشت. اما محلول‌دهی با روی ۵ میلی‌گرم‌درلیتر نسبت به روی ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر به‌مقدار بیشتری افزایش وزن تر و خشک را درپی داشت. این درحالی بود که محلول‌دهی گیاه اسفناج با تیمارهای ترکیبی آهن و روی به‌مقدار قابل‌توجهی میزان عملکرد را بیشتر تحت تاثیر قرار داد، به‌طوری که تیمار ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن + ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی بیشترین مقدار وزن تر (۳۳/۹۷۷ گرم) و خشک (۳/۴۸۷ گرم) را به خود اختصاص داد، اما با افزایش غلظت به ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن+۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی این شاخص‌ها به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (جدول ۱). نتایج مشابهی در تحقیقات پیشین گزارش شده است (Adamski *et al*., 2012; Askary *et al*., 2017a; Skiba *et al*., 2020).

طول و عرض برگ

طول و عرض برگ ویژگی دیگری بود که مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد افزایش غلظت روی و آهن به تنهایی و به‌صورت همزمان در محلول هوگلند، افزایش آنها را درپی دارد اما تیمار ترکیبی آنها تاثیر بیشتری داشته و بیشترین اندازه برگ (طول ۸/۹۳۳ میلی‌متر و عرض ۴/۴۷۷ میلی‌متر) در تیمار ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن +۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی مشاهده شد (جدول ۱). از طرفی تیمارهای ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن+ ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی و ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن + ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی، کاهش قابل ملاحظه‌ای نسبت به تیمار شاهد نشان دادند که با تحقیقات (Adamski *et al*., 2012) همخوانی داشت.

نتایج تحقیق ما نشان داد تیمار حاوی ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن + ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی به‌طور قابل ملاحظه‌ای میزان عملکرد (وزن تر و خشک شاخساره) و اندازه برگ را بهبود بخشید با این حال افزایش بیشتر غلظت تیمارها تاثیر منفی بر صفات ذکر شده داشت. روی جزئی از کربنیک‌انیدراز و همچنین چندین دهیدروژناز و تولید اکسین است که به نوبه خود فرآیندهای افزایش رشد و عملکرد جذب CO_2 را افزایش

می‌دهد. در نتیجه، می‌تواند وزن تر و خشک گیاه را افزایش دهد (Marschner, 2011). از طرفی آهن برای بیوسنتز کلروفیل و سیتوکروم ضروری است، علاوه بر عملکرد آهن در متابولیسم RNA کلروپلاست، منجر به افزایش مواد بیوسنتزی (تولید شده و انباشته شده) می‌شود، در نتیجه میزان رشد و عملکرد گیاه افزایش می‌یابد (Said-Al Ahl & Omer, 2009; Marschner, 2011). همچنین در پژوهش حاضر به‌علت تاثیر آنتاگونیستی روی بر جذب آهن محتوای آهن برگ و ریشه در تیمارهای حاوی ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی کاهش یافت که افزایش کمبود آهن، رشد برگ، اندازه و تقسیم سلولی و همچنین محتوای کلروفیل، پروتئین، نشاسته و قند را مهار می‌کند. بنابراین می‌تواند وزن تر و خشک گیاه را کاهش دهد. به‌عبارتی مهار رشد در اسفناج در تیمار با غلظت بالای تیمارها ممکن است به دلیل تغییر فرآیندهای متابولیکی اصلی ناشی از کمبود آهن، فتوسنتز، محتوای آهن فعال، جذب عناصر غذایی همچون پتاسیم و افزایش تولید ROS در کلروپلاست باشد (Said-Al Ahl & Omer, 2009, Mohamed *et al*., 2016). Zhang و همکاران نیز اظهار داشتند کمبود آهن می‌تواند باعث کاهش رشد، تغییر سرعت فتوسنتز و ایجاد تغییرات مورفولوژیکی در برگ‌ها شود (Zhang *et al*., 2012).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات غلظت روی و آهن بر وزن تر و خشک شاخساره و طول و عرض برگ اسفناج

Table 1- Mean comparison of the effect of Zn and Fe application on stem fresh and dry weight and leaf length and width of spinach plants

روی Zn (mgL^{-1})	آهن Fe (mgL^{-1})	وزن تر شاخساره Stem fresh weight (g)	وزن خشک شاخساره Stem dry weight (g)	طول برگ Leaf length (mm)	عرض برگ Leaf width (mm)
0.22	3	6.937^{fg}	0.777^{ef}	2.873^{e}	1.997^{d}
	6	9.517^{ef}	1.03^{de}	4.023^{d}	2.373^{c}
	12	12.26^{e}	1.307^{d}	5.187^{b}	3.3^{b}
5	3	19.873^{c}	2.063^{c}	5.12^{b}	3.36^{b}
	6	33.977^{a}	3.487^{a}	8.993^{a}	4.447^{a}
	12	24.533^{b}	2.52^{b}	4.54^{c}	2.337^{c}
10	3	16.273^{d}	1.053^{de}	3.597^{d}	2.007^{d}
	6	11.673^{e}	0.69^{f}	2.253^{f}	1.517^{e}
	12	5.607^{g}	0.287^{g}	1.867^{f}	1.267^{f}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P<0.05$).

Different letters in each row indicate significant difference between treatments ($P<0.05$).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

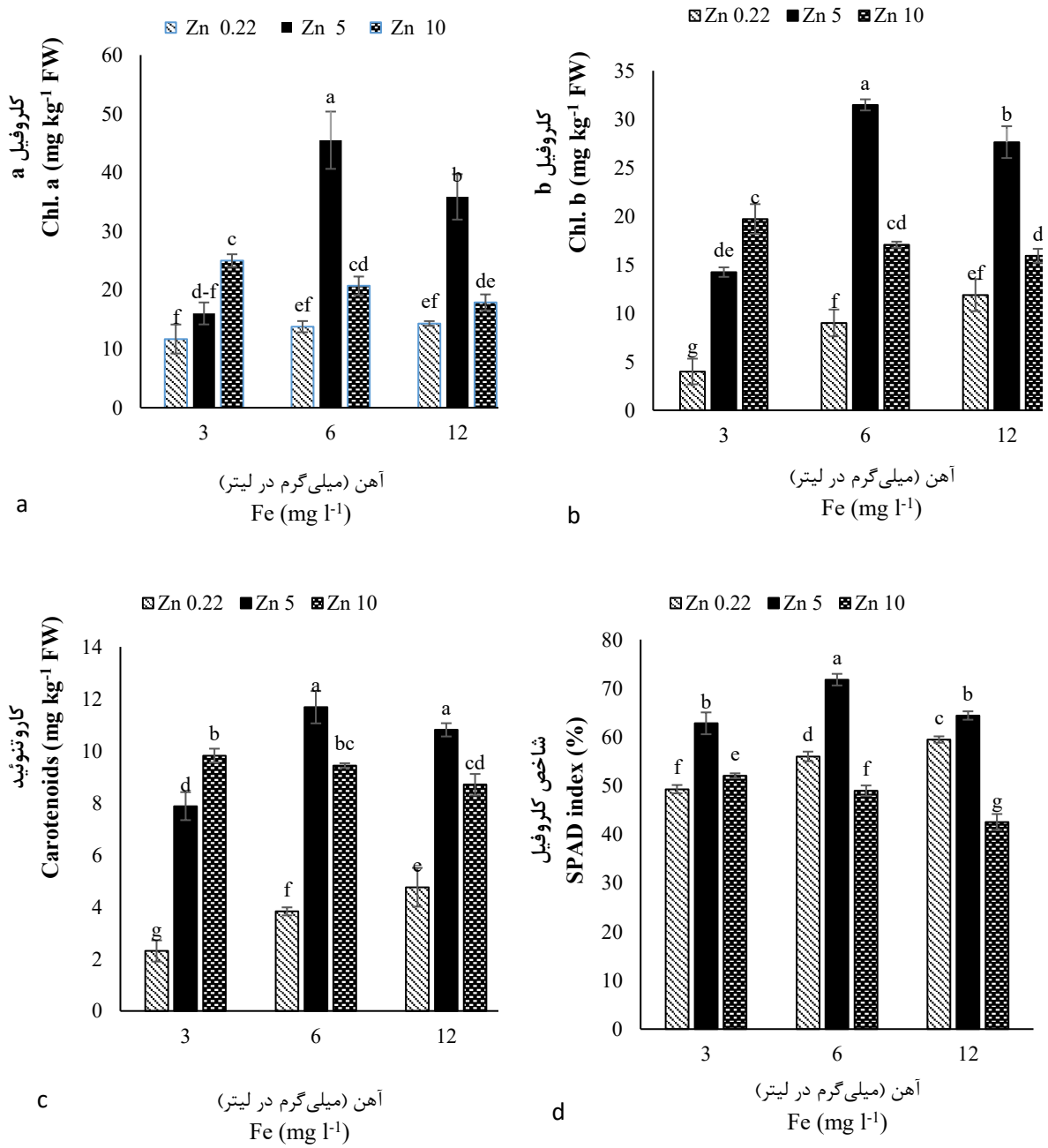
بر اساس نتایج به‌دست آمده در مطالعه ما گیاهان اسفناج تیمار شده با غلظت‌های مختلف روی و آهن در محتوای chl a، chl b، CARs و SPAD اختلاف معنی‌داری نشان دادند و محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی chla، chlb، و CARs در گیاهانی که با Fe و Zn بالاتری نسبت به شاهد تغذیه شده بودند، افزایش یافتند (شکل ۱). بیشترین مقدار Chl. a، Chl. b و CAR در غلظت ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن + ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی به‌دست آمد که به ترتیب ۲۸۹، ۶۸۷ و ۴۰۶ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد و کمترین مقادیر Chl a, Chl b و CARs در گیاهان شاهد بود (شکل ۱ a, b, c). همچنین شاخص SPAD در غلظت ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن + ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی بیشترین مقدار را داشت اما در غلظت‌های بالا نسبت به شاهد کاهش یافت و کمترین مقدار مربوط

تیمار ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن + ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی بود که ۱۵ درصد کاهش نسبت به شاهد داشت (شکل ۱d).

پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند محتوای رنگدانه‌های فتوسنتز می‌تواند پاسخ و بازتاب گیاه به غلظت مواد مغذی در محیط رشد باشد (Borowiak *et al*., 2015). روی برای فعالیت‌های آنزیمی و زنجیره انتقال الکترون در گیاه ضروری است، بنابراین کمبود آن باعث افزایش رادیکال‌های آزاد و آسیب غشاهای کلروپلاست، تغییر در ساختار کلروفیل و کاهش ظرفیت فتوسنتز می‌شود (Roosta *et al*., 2018). این عنصر به‌عنوان یک جزء ساختاری و کاتالیزوری پروتئین‌ها و آنزیم‌ها و همچنین به‌عنوان کوفاکتور برای توسعه طبیعی بیوسنتز رنگدانه‌ها عمل می‌کند که افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در غلظت‌های مناسب را می‌توانیم به این دلیل نسبت دهیم (Samreen *et al*., 2017; Balashouri & Prameeladevi, 1995). آهن نقش کلیدی در مکانیسم اکسیداسیون و کاهش در مجموعه هموپروتئین سیتوکروم دارد (Marschner, 2011). از جمله نقش‌های اساسی آهن در گیاه نقش آن در بیوسنتز کلروفیل و توسعه کلروپلاست می‌باشد که روی می‌تواند با تداخل در متابولیسم آهن، تولید کلروفیل را مهار کند (Samreen *et al*., 2017; Balashouri & Prameeladevi, 1995). بررسی‌های پیشین کاهش میزان کلروفیل در گونه‌های مختلف گیاهی در معرض غلظت‌های بالای عناصر غذایی را نشان داده است (Aggarwal *et al*., 2012). این کاهش به‌علت تداخل یون‌های این عناصر با بیوسنتز کلروفیل با جانشینی آن‌ها با یون منیزیم یا مهار مستقیم مراحل آنزیمی دخیل در بیوسنتز کلروفیل رخ می‌دهد (Cenkci *et al*., 2010; Pourrut *et al*., 2011). میزان کاهش کلروفیل که در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر عنصر روی رخ داه است، ممکن است بیانگر این باشد که عنصر روی با این غلظت باعث ایجاد مسمومیت در گیاه شده و از سوی دیگر باعث افزایش رادیکال‌های آزد و نهایتا افزایش تخریب کلروفیل در گیاه شده باشد. غلظت بالای عنصر روی، در بیوسنتز کلروفیل اختلال ایجاد می‌کند (Borowiak *et al*., 2015)، که ممکن است با تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن مرتبط باشد و بر فعالیت فتوسنتزی و همچنین رشد گیاهان اثر بگذارد. در این میان تاثیر منفی غلظت‌های بالای تیمارها بر کاروتنوئید کمتر بود که احتمالاً به نقش محافظتی آن در برابر فتوکسیده شدن کلروفیل‌ها مرتبط است (Vassilev *et al*., 2011).

پروتئین محلول کل

بر اساس آنالیز داده‌ها تمامی تیمارها شامل روی و آهن به تنهایی و به‌صورت ترکیبی افزایش محتوای پروتئین محلول کل گیاه را در پی داشتند و میانگین محتوای پروتئین از ۱/۰۳۸ میلی‌گرم‌درگرم وزن تر در تیمار شاهد تا ۴/۲۵۶ میلی‌گرم‌درگرم وزن تر در تیمار ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن + ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی متغیر بود (شکل ۲a). همچنین در مقایسه تیمارهای جداگانه روی و آهن مشخص گردید تیمارهای روی به میزان بیشتری محتوای پروتئین را تحت تاثیر قرار داده است. از طرفی تیمار ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی همراه با ۶ و ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن، نسبت به ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی با همان غلظت آهن به‌میزان بیشتری محتوای پروتئین را افزایش داد. به‌عبارتی با افزایش غلظت روی، محتوای پروتئین کاهش یافت که به نظر می‌رسد سطوح بالای روی ممکن است اثرات نامطلوبی بر متابولیسم گیاه داشته باشد. این نتایج همسو با گزارش‌های Derakhshani و همکاران (۲۰۱۱) بود. همچنین نتایج مشابهی نیز توسط Samreen و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شده است.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر کاربرد روی و آهن بر محتوای کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب)، کاروتنوئید (ج) و شاخص کلروفیل (د) در اسفناج (حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

Figure 1- Mean comparison of Zn and Fe effect application on Chl. a content (a), Chl. b content (b), carotenoids content (c), and SPAD index (d). (Different letters in each column indicate significant differences between treatments (P<0.05))

با توجه به دخالت مستقیم آهن در سنتز پروتئین، کمبود آهن تمامی پروتئین‌ها از جمله ریبولوز-۱،۵-بیس‌فسفات (روبیسکو) را کاهش می‌دهد، که نقش مهمی در چرخه کربن گیاهان C3 ایفا می‌کند (Askary *et al*., 2017a). گیاه با در دسترس بودن ریزمغذی‌ها استفاده بهینه بیشتری از نیتروژن در خاک دارد و سپس سنتز پروتئین افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، ریزمغذی‌هایی مانند آهن و روی در ساختار پروتئین‌ها و همچنین در متابولیسم نیتروژن، ممکن است باعث افزایش میزان پروتئین شوند (Askary *et al*., 2017b). روی برای فعالیت متالوآنزیم‌هایی که در متابولیسم پروتئین و اسیدنوکلئیک نقش دارند مورد نیاز است. روی در متابولیسم پروتئین ضروری است و مهمترین نقش روی در سنتز پروتئین، دخالت آن در پایداری و عملکرد مواد ژنتیکی است (Suganya *et al*., 2020). روی در ساختار کروماتین، متابولیسم DNA/RNA و بیان ژن ضروری است و کمبود روی باعث کاهش سنتز پروتئین به‌دلیل تخریب RNA، کاهش فعالیت RNA پلیمراز، تغییر شکل ریبوزومی و کاهش تعداد ریبوزوم‌ها می‌باشد (Suganya *et al*., 2020).

کربوهیدرات محلول کل

افزایش غلظت آهن و روی در محلول هوگلند در محتوای کربوهیدرات محلول کل برگ اسفناج تغییرات معنی‌داری ایجاد کرد (شکل 2b). به این ترتیب بالاترین محتوای TSC برای ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن + ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی بود که نسبت به تیمار شاهد ۷۲ درصد افزایش نشان داد. کمترین مقدار نیز در ۳ میلی‌گرم‌درلیتر آهن + ۰/۲۲ میلی‌گرم‌درلیتر روی (شاهد) مشاهده شد.

محتوای کربوهیدرات‌های گیاهی ارتباط مستقیمی با فتوسنتز و محتوای کلروفیل دارد. اثر تحریکی روی بر محتوای TSC را می‌توان به نقش آن در فعال کردن آنزیم‌های مسئول فتوسنتز، بیوسنتز و تبدیل کربوهیدرات‌ها، تنظیم قندها و تشکیل نشاسته نسبت داد. همچنین علاوه بر عملکرد آهن در متابولیسم RNA کلروپلاست، منجر به افزایش مواد بیوسنتزی شامل کربوهیدرات و قندها می شود (Said-Al Ahl & Omer, 2009).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

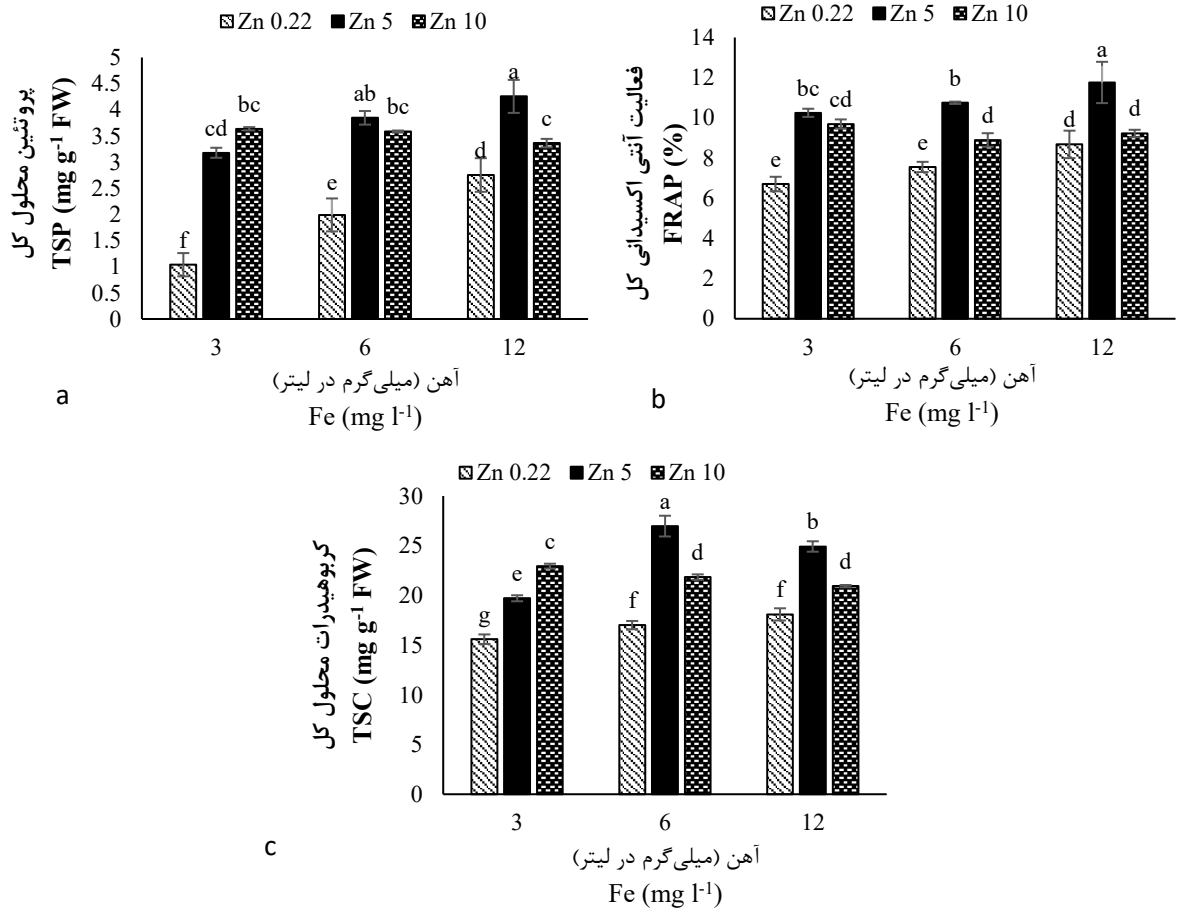
بر اساس نتایج به‌دست آمده در مطالعه ما فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAA) گیاه اسفناج به‌طور قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر مثبت افزایش غلظت‌های روی و آهن محلول غذایی قرار گرفت (شکل 2c). بیشترین و کمترین مقادیر TAA به ترتیب برای ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن+۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی (۱۰/۷۵ درصد) و ۳ میلی‌گرم‌درلیتر آهن+۰/۲۲ میلی‌گرم‌درلیتر روی (۶/۷۰۵ درصد)، ثبت شد.

ROSها پتانسیل تجزیه پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA را دارد، بنابراین سطح تولید و تجمع ROSها باید کنترل شده و همه اجزای سلولی باید مکانیسم‌هایی برای جلوگیری و ترمیم آسیب‌های ناشی از ROSها داشته باشند (Derakhshani *et al*., 2011; Garg & Manchanda, 2009). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است به فراوانی یون‌های فلزی بستگی داشته باشد (Zhu *et al*., 2013). آنتی‌اکسیدان‌ها شامل آنزیم‌هایی با عملکرد حذف ROS است که در آن برخی از عناصر به‌عنوان کوفاکتور آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند (Sida-Arreola *et al*., 2017). Lingyun و همکاران (۲۰۱۶) اثر غنی‌سازی روی را بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رشد جوانه نخود (*Cicer arietinum*) بررسی کرد و دریافت که افزایش روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را بهبود می‌بخشد و غنی‌سازی روی می‌تواند کیفیت غذایی گیاه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد. تفاوت در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسفناج در نتیجه تیمارهای آهن و روی در مطالعه ما رخ داد و نقش آهن و روی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل را تایید کرد.

عناصر غذایی

آهن

با توجه به نتایج به دست آمده استفاده از غلظت‌های مختلف آهن و روی بر محتوای عناصر میکرو برگ و ریشه شامل آهن، روی، منگنز و همچنین محتوای مس ریشه و محتوای پتاسیم برگ اثرات معنی‌داری داشت. به این ترتیب افزایش غلظت آهن در محلول غذایی باعث افزایش محتوای آهن در ریشه (جدول ۳) و برگ (جدول ۲) نسبت به شاهد شد. استفاده همزمان روی و آهن ابتدا باعث افزایش محتوای آهن برگ و ریشه شد اما با افزایش مجدد غلظت تیمارها، شاهد کاهش صفت مذکور نسبت به تیمار شاهد بودیم. به این ترتیب بیشترین مقدار آهن برگ و ریشه برای ۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن+۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی بود که به ترتیب ۵۹ و ۴۱ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد. همچنین کمترین میزان آهن برگ و ریشه با بیشترین غلظت روی محلول غذایی (۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن+۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی) مشاهده شد (جدول ۵).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر کاربرد روی و آهن بر محتوای پروتئین محلول کل (الف)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (ب)، و کربوهیدرات محلول کل (ج) در اسفناج (حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

Figure 2- Mean comparison of effect application of Zn and Fe on Total soluble protein (TSP) (a), Total antioxidant activity (FRAP) (b), and total soluble carbohydrate (TSC) (c). (Different letters in each column indicate significant differences between treatments (P<0.05))

روی

مطابق نتایج به‌دست آمده تمام تیمارهای اعمال شده، محتوای روی در ریشه و برگ را در مقایسه با شاهد افزایش دادند اما تاثیر بکارگیری ترکیبی روی و آهن بیشترین تأثیر را در محتوای روی ریشه و به‌طور مشابه در شاخساره به‌دنبال داشت. به این ترتیب بیشترین مقدار روی برگ و ریشه در بالاترین غلظت روی به‌همراه ۶ و ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن تعیین شد که به ترتیب ۳۶۰ و ۴۳ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۲، ۳).

منگنز

تیمارهای آهن و روی باعث بهبود محتوای منگنز در برگ و ریشه شدند. بیشترین مقدار منگنز برگ و ریشه مربوط به تیمار ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی+۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن بود که در آن میزان منگنز به ترتیب ۱۶۹ و ۲۸ درصد نسب به گیاهان شاهد افزایش یافت (جدول ۲).

پتاسیم

بر اساس نتایج به‌دست آمده اعمال غلظت‌های مختلف روی و آهن در محلول غذایی تفاوت معنی‌داری در محتوای پتاسیم برگ و ریشه اسفناج ایجاد کرد. به این ترتیب گیاهان اسفناج تحت تأثیر ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی+۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن بیشترین محتوای پتاسیم برگ را داشتند که ۳۱/۷۹ درصد نسبت به تیمار شاهد بهبود یافت (جدول ۲). همچنین کمترین مقدار پتاسیم برگ در ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی + ۳ میلی‌گرم‌درلیتر آهن (۲۹/۳۳ میلی‌گرم‌درکیلوگرم وزن خشک) ثبت شد (جدول ۲). تیمار ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی+۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن بیشترین محتوای پتاسیم ریشه (۶۷/۳۳ میلی‌گرم‌درکیلوگرم وزن خشک) را به خود اختصاص داد و تیمار شاهد با ۳۰/۳۳ میلی‌گرم‌درکیلوگرم وزن خشک، کمترین میزان پتاسیم ریشه را داشت.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر کاربرد روی و آهن بر محتوای عناصر آهن، روی، منگنز و پتاسیم برگ اسفناج

Table 2- Mean comparison of the effect application of Zn and Fe on leaf Fe, Zn, Mn, and k content of spinach

روی Zn (mgL^{-1})	آهن Fe (mgL^{-1})	آهن Fe (mg Kg^{-1} DW)	روی Zn (mg Kg^{-1} DW)	منگنز Mn (mg Kg^{-1} DW)	پتاسیم K (mg Kg^{-1} DW)
0.22	3	2.117^{c}	0.122^{e}	0.156^{f}	50.33^{c}
	6	2.403^{bc}	0.138^{e}	0.154^{f}	53.33^{c}
	12	2.54^{bc}	0.17^{de}	0.155^{f}	53^{c}
5	3	2.72^{b}	0.159^{de}	0.164^{ef}	59.33^{b}
	6	3.377^{a}	0.239^{cd}	0.18^{e}	66.33^{a}
	12	2.4^{bc}	0.263^{c}	0.263^{c}	61.66^{b}
10	3	1.623^{d}	0.348^{b}	0.228^{d}	29.33^{f}
	6	1.573^{d}	0.533^{a}	0.384^{b}	39.33^{e}
	12	1.573^{d}	0.567^{a}	0.419^{a}	43^{d}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P <۰/۰۵).

Different letters in each row indicate significant difference between treatments (P<0.05).

ریزمغذی‌ها

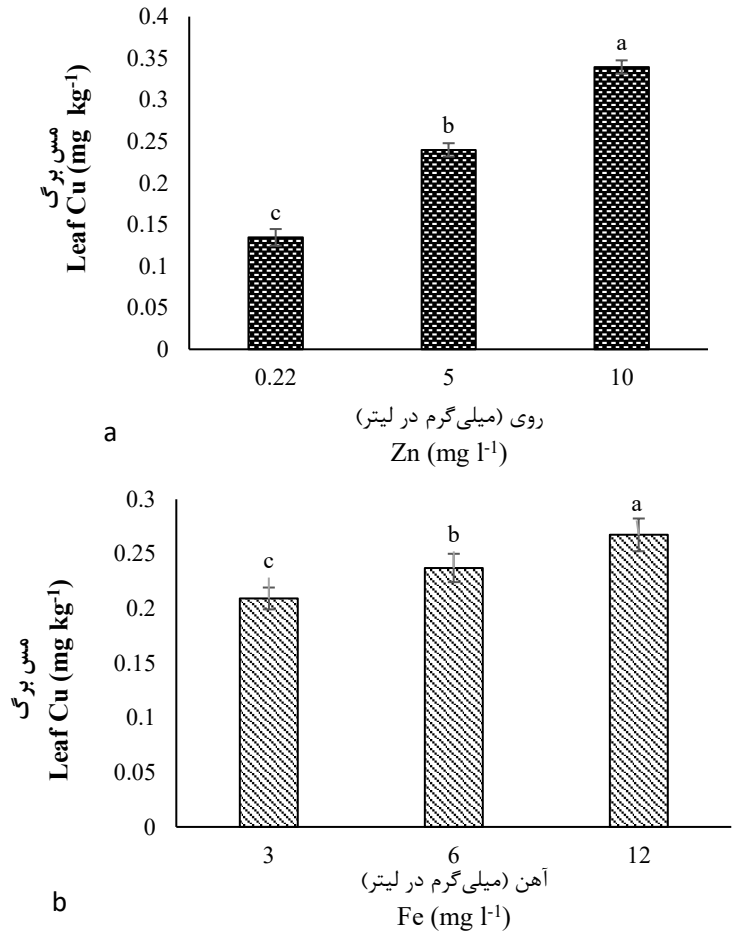
محتوای مس ریشه با افزایش تیمارهای آهن و روی نسبت به شاهد به مقدار قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. بیشترین میزان مس در بیشترین غلظت آهن و روی (۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی + ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن) و کمترین آن در شاهد بود (جدول ۳). از طرفی افزایش غلظت هم‌زمان آهن و روی در محلول غذایی هیچ تأثیری بر محتوای مس برگ نداشتند، اما تیمار جداگانه این دو عنصر بهبود محتوای مس برگ را به‌دنبال داشت. به این ترتیب بیشترین مقدار مس برگ در ۱۰

میلی‌گرم‌درلیتر روی و ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن مشاهده شد (شکل۳ a و b).

کاهش محتوای آهن برگ و ریشه در غلظت‌های بالا ممکن است به‌دلیل فعل و انفعالات رقابتی با روی باشد که احتمالاً در محل‌های جذب ریشه گیاهان رخ می‌دهد، روی به شدت بر عملکرد متابولیک آهن در گیاهان تأثیر می گذارد، اگر یکی از این دو یون بیش از حد در محل ریشه وجود داشته باشد، جذب دیگری ممکن است کاهش یابد (Samreen *et al*., 2017). در دولپه‌ها و تک لپه‌های غیرگرامینه، آهن از طریق انتقال‌دهنده IRT1 جذب می‌شود، که سایر کاتیون‌های دو ظرفیتی مانند Mn^{2+}، Zn^{2+} و Cu^{2+} را نیز منتقل می‌کند. مسیرهای آپوپلاستی و سمپلاستی در جذب فلزات توسط ریشه گیاه نقش دارند (Edelstein and Ben-Hur, 2018). مکانیسم دوم به شدت به پروتئین‌های انتقال دهنده فلز بستگی دارد. در مقابل، مسیر آپوپلاستیک با تعرق همبستگی دارد. در این مطالعه کاهش محتوای آهن همراه با افزایش سطح مس و منگنز در گیاه مشاهده شد. Skiba و همکاران (۲۰۲۰) اظهار داشتند که یون‌های آهن از طریق مسیر سمپلاستیک منتقل می‌شوند و برای حامل‌های مشابه با Zn^{2+} رقابت می‌کنند. برعکس، مس از طریق مسیر آپوپلاستیک غیرانتخابی انباشته می‌شود. این مکانیسم‌ها به غلظت حامل‌هایی بستگی دارند که از سرعت سنتز پروتئین‌های خاص پیروی می‌کنند (Printz *et al*., 2016). به ویژه، تجمع کم آهن در اثر استفاده از غلظت‌های بالای روی می‌تواند به تنظیم پایین ژن‌های تنظیم‌کننده آهن IRT1 و IRT2 ناشی از سمیت روی مرتبط باشد (Skiba *et al*., 2020, Taylor *et al*., 2014). Eroglu و همکاران (۲۰۱۶) اظهار کردند کمبود آهن در گیاه منجر به تحریک بیان ژن‌های پروتئین‌های ناقل آهن می‌شود و از آنجا که فلزات سنگین توسط ناقل‌های مشابهی جذب می‌شوند، تحت شرایط کمبود آهن در تیمارهایی با غلظت بالا، تجمع روی، منگنز و مس در ریشه و بخش هوایی گیاهان افزایش می‌یابد. همچنین افزایش پتاسیم در شاخساره گیاه در اثر غلظت پایین تیمارهای اعمال شده ممکن است به دلیل باز شدن کانال‌های K^+ در اثر افزایش غلظت روی باشد (Khanna 1998). به‌طور میانگین برای عناصر روی، مس و منگنز، تیمارهای ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی+۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن و ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر روی+۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر آهن، بیشترین محتوا را نشان داد اما این بیشینه برای عناصر آهن و پتاسیم متعلق به تیمار ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی+۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن بود که نشان دهنده بروز اثرات سمی بر همکنش تیمارهای روی و آهن اعمال شده در غلظت بالا، بود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که آهن به همراه روی عملکرد اندام هوایی، اندازه برگ، محتوای پروتئین و کربوهیدرات محلول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، غلظت روی، مس و منگنز را به‌طور قابل توجهی بهبود می‌بخشد، اما افزایش غلظت تیمارها مهار صفات ذکر شده را درپی دارد. در نتیجه، این مطالعه اطلاعات مرتبطی در مورد برهمکنش آهن و روی در گیاهان اسفناج رشد یافته در شرایط هیدروپونیک و اطلاعاتی در مورد بهترین غلطت آهن و روی در محلول غذایی ارائه می‌دهد که مطابق نتایج به‌دست آمده اعمال همزمان ۵ میلی‌گرم‌درلیتر روی+۶ میلی‌گرم‌درلیتر آهن در محلول غذایی، به‌عنوان بهترین تیمار استفاده شده در این پژوهش معرفی می‌گردد.



شکل ۳- اثرات کاربرد روی و آهن بر محتوای مس برگ(حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

Figure 3– Effect Fe and Zn on leaf Cu (a and b). (Different letters in each column indicate significant differences between treatments (P<0.05))

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر کاربرد روی و آهن بر محتوای عناصر آهن، روی، منگنز و مس ریشه اسفناج

Table 3- Mean comparison of the effect application of Zn and Fe on root Fe, Zn, Mn, and Cu content of spinach

روی Zn (mgL^{-1})	آهن Fe (mgL^{-1})	آهن Fe (mg Kg^{-1} DW)	روی Zn (mg Kg^{-1} DW)	منگنز Mn (mg Kg^{-1} DW)	مس Cu (mg Kg^{-1} DW)	پتاسیم K (mg Kg^{-1} DW)
0.22	3	3.071^{c}	1.034^{e}	0.91^{f}	0.437^{g}	30.33^{i}
	6	3.357^{bc}	1.05^{e}	0.908^{f}	0.614^{f}	60.33^{c}
	12	3.494^{bc}	1.082^{de}	0.909^{f}	0.749^{e}	50.67^{f}
5	3	3.674^{b}	1.076^{de}	0.918^{ef}	0.876^{d}	39.67^{h}
	6	4.331^{a}	1.12^{d}	0.934^{e}	0.935^{c}	67.33^{a}
	12	3.354^{bc}	1.175^{c}	1.017^{c}	0.959^{c}	53.33^{d}
10	3	2.577^{d}	1.285^{b}	0.982^{d}	0.99^{bc}	44.67^{g}
	6	2.527^{d}	1.445^{a}	1.138^{b}	1.023^{ab}	62.67^{b}
	12	2.244^{d}	1.479^{a}	1.173^{a}	1.056^{a}	55.67^{e}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P <۰/۰۵).

Different letters in each row indicate significant differences between treatments (P<0.05).

References

Adamski, J.M., Danieloski, R., Deuner, S., Braga, E.J., de Castro, L.A. & Peters, J.A. (2012). Responses to excess iron in sweet potato: Impacts on growth, enzyme activities, mineral concentrations, and anatomy. *Acta Physiologiae Plantarum,* 34(5), 1827-1836. doi:10.1023/A:1004505431879

Aggarwal, A., Sharma, I., Tripathi, B. N., Munjal, A. K., Baunthiyal, M., & Sharma, V. (2012). Metal toxicity and photosynthesis. Photosynthesis: *Overviews on recent progress and future perspectives*, 229-236.

Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiology*. 24(1), 1-15.

Askary, M., Amirjani, M.R., & Saberi, T. (2017a). Comparison of the effects of nano-iron fertilizer with iron-chelate on growth parameters and some biochemical properties of *Catharanthus roseus*. *Journal of Plant Nutrition.* 40(7), 974-982. doi:10.1080/01904167.2016.1262399

Askary, M., Talebi, S.M., Amini, F., & Bangan A.D.B. (2017b). Effects of iron nanoparticles on *Mentha piperita* L. under salinity stress. *Biologija,* 63(1), 65-75. doi:10.6001/biologija.v63i1.3476

Balashouri, P. & Prameeladevi Y. (1995). Effect of zinc on germination, growth and pigment content and phytomass of *Vigna radiata* and *Sorghum bicolor*. *Journal of Ecobiology*. 7, 109-114.

Bayarash, M., Raghami, M., Roosta, H., & Karimi, H. (2020). Evaluation of growth, physiological and photosynthetic characteristics of two spinach cultivars (Hybrid and Iranian) under alkaline water stress. *Journal of Vegetables Sciences*, *4*(1), 25-39. doi: 10.22034/iuvs.2020.127057.1096

Benzie, I. F. & Strain J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry,* 239(1), 70-76. doi: 10.1006/abio.1996.0292

Borowiak, K., Gąsecka, M., Mleczek, M., Dąbrowski, J., Chadzinikolau, T., Magdziak, Z., Goliński P., Rutkowski P., & Kozubik T. (2015). Photosynthetic activity in relation to chlorophylls, carbohydrates, phenolics and growth of a hybrid *Salix purpurea*×*triandra*×*viminalis* 2 at various Zn concentrations. *Acta Physiologiae Plantarum,* 37(8), 1-12. doi:10.1007/s11738-015-1904-x

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(1-2), 248-254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3

Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P., Zelko, I., & Lux, A. (2007). Zinc in plants. *New phytologist,* 173(4), 677-702.

Cakmak, I., McLaughlin, M.J., & White, P. (2017). Zinc for better crop production and human health. *Plant and Soil,* 411(1-2):1-4. doi:10.1007/s11104-016-3166-9

Cenkci, S., Ciğerci, I.H., Yıldız, M., Özay, C., Bozdağ, A., & Terzi, H. (2010). Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. *Environmental and Experimental Botany,* 67(3), 467-473. doi:10.1016/j.envexpbot.2009.10.001

Coolong, T.W., Randle, W.M., Toler, H.D., & Sams, C.E. (2004). Zinc availability in hydroponic culture influences glucosinolate concentrations in *Brassica rapa*. *Hortscience,* 39(1), 84-86.

Derakhshani, Z., Hassani, A., Sadaghiani, M.H.R., Hassanpouraghdam, M.B., Khalifani, B.H., & Dalkani, M.. (2011). Effect of zinc application on growth and some biochemical characteristics of costmary (*Chrysanthemum balsamita* L.). Communications in Soil Science and *Plant Analysis,* 42(20), 2493-2503. doi:10.1080/00103624.2011.609257

Edelstein, M. & Ben-Hur, M. (2018). Heavy metals and metalloids: Sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops. *Scientia Horticulturae,* 234, 431-444. doi:10.1016/j.scienta.2017.12.039

Eroglu, S., Meier, B., von Wirén, N., & Peiter, E. (2016). The vacuolar manganese transporter MTP8 determines tolerance to iron deficiency-induced chlorosis in Arabidopsis. *Plant physiology,* 170(2), 1030-1045. doi:10.1104/pp.15.01194

Garg, N. & Manchanda G. (2009). ROS generation in plants: Boon or bane?. *Plant Biosystems,* 143, 81-96. doi:10.1080/11263500802633626

Gutierrez, R.M., Velazquez, E.G., & Carrera, S.P.P. (2019). Spinacia oleracea Linn considered as one of the most perfect foods: A pharmacological and phytochemical review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry,* 19(20), 1666-1680. doi.org/10.2174/1389557519666190603090347

Haider, M. U., Hussain, M., Farooq, M., & Nawaz, A. (2018). Soil application of zinc improves the growth, yield and grain zinc biofortification of mungbean. *Soil and Environment,* 37(2), 123-128. doi:10.25252/SE/18/71610

Khanna, S. (1998). *Regulation of K+ uptake by exogenous amino acids, glycine betaine and abscisic acid in turgid and stressed Raphanus sativus* L. seedlings. Department of Bioscience, HP University, Shimla, India. PhD dissertation.

Kobdani, A., Piri, I., & Tavassoli, A. (2021). Effect of iron nano-chelate fertilizer on quantity and quality yield of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) in condition of drought stress. *Journal of Vegetables Sciences*, *5*(1), 109-123. doi: 10.22034/iuvs.2021.524678.1146

Lingyun, Y., Jian, W., Chenggang, W., Shan, L. & Shidong Z. (2016). Effect of zinc enrichment on growth and nutritional quality in pea sprouts. *Journal of Food and Nutrition Research,* 4(2), 100-107.

Marschner, H. (Ed.). (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic press.

Mohamed, H.I., Elsherbiny, E.A., & Abdelhamid, M.T. (2016). Physiological and biochemical responses of *Vicia faba* plants to foliar application of zinc and iron. *Gesunde Pflanzen,* 68(4), 201-212. doi:10.1007/s10343-016-0378-0

Noulas, C., Tziouvalekas, M., & Karyotis, T. (2018). Zinc in soils, water and food crops. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology,* 49, 252-260. doi:10.1016/j.jtemb.2018.02.009

Pandey, R. (2015). Mineral nutrition of plants. Plant Biology and Biotechnology: *Volume I: Plant Diversity, Organization, Function and Improvement, Springer, New Delhi*. 499-538.

Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P. & Pinelli, E. (2011). Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Environmental Contamination and Toxicology,* 213, 113-136. doi:10.1007/978-1-4419-9860-6_4

Printz, B., Lutts, S., Hausman, J.F., & Sergeant, K. (2016). Copper trafficking in plants and its implication on cell wall dynamics. *Frontiers in Plant Science,* 7(601), 1-16. doi:10.3389/fpls.2016.00601

Rai, S., Singh, P. K., Mankotia, S., Swain, J., & Satbhai, S. B. (2021). Iron homeostasis in plants and its crosstalk with copper, zinc, and manganese. *Plant Stress,* (1)100008. 1-9. doi:10.1016/j.stress.2021.100008

Roberts, J.L. & Moreau R. (2016). Functional properties of spinach (*Spinacia oleracea* L.) phytochemicals and bioactives. *Food & Function,* 7(8), 3337-3353. doi:10.1039/C6FO00051G

Roosta, H.R., Estaji, A., & Niknam F. (2018). Effect of iron, zinc and manganese shortage-induced change on photosynthetic pigments, some osmoregulators and chlorophyll fluorescence parameters in lettuce.

Photosynthetica, 56(2), 606-615. doi:10.1007/s11099-017-0696-1

Said-Al Ahl, H.A.H. & Omer E.A. (2009). Effect of spraying with zinc and/or iron on growth and chemical composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) harvested at three stages of development. *Journal of Medicinal Food*, 1(2):30-46.

Samreen, T., Shah, H.U., Ullah, S., & Javid, M. (2017). Zinc effect on growth rate, chlorophyll, protein and mineral contents of hydroponically grown mungbeans plant (*Vigna radiata*). *Arabian Journal of Chemistry,* 10, S1802-S1807. doi:10.1016/j.arabjc.2013.07.005

Schlegel, H.G. (1956). Die verwertung organischer säuren durch Chlorella im licht (The utilization of organic acids by Chlorella in the light). *Planta*. 47(5), 510-526. doi:10.1007/BF01935418

Schmidt, W., Thomine, S., & Buckhout, T. J. (2020). Iron nutrition and interactions in plants. *Frontiers in plant science*, 10, 1670. 1-4. doi:10.3389/fpls.2019.01670

Sharma, S., Chandra, S., Kumar, A., Bindraban, P., Saxena, A.K., Pande, V., & Pandey, R. (2019). Foliar application of iron fortified bacteriosiderophore improves growth and grain Fe concentration in wheat and soybean. *Indian Journal of Microbiology*, 59(3), 344-350. doi:10.1007/s12088-019-0810-4

Sida-Arreola, J.P., Sánchez, E., Ojeda-Barrios, D.L., Ávila-uezada, G.D., Flores-Córdova, M.A., Márquez-Quiroz, C., & Preciado-Rangel P. (2017). Can biofortification of zinc improve the antioxidant capacity and nutritional quality of beans?. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(3), 237-241. doi:10.9755/ejfa.2016-04-367

Şimşek, O. & Çelik H. (2021). Effects of iron fortification on growth and nutrient amounts of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Journal of Plant Nutrition*, 44(3), 1-13. doi:10.1080/01904167.2021.1927083

Skiba, E., Michlewska, S., Pietrzak, M., & Wolf, W.M. (2020). Additive interactions of nanoparticulate ZnO with copper, manganese and iron in *Pisum sativum* L., a hydroponic study. *Scientific Reports*, 10(1), 1-10. doi:10.1038/s41598-020-0303-8

Sturikova, H., Krystofova, O., Huska, D., & Adam V. (2018). Zinc, zinc nanoparticles and plants. *Journal of Hazardous Materials,* 349, 101-110. doi:10.1016/j.jhazmat.2018.01.040

Suganya, A., Saravanan, A., & Manivannan, N. (2020). Role of zinc nutrition for increasing zinc availability, uptake, yield, and quality of maize (*Zea mays* L.) grains: An overview. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(15), 2001-2021. doi:10.1080/00103624.2020.1820030

Taylor, A.F., Rylott, E.L., Anderson, C.W. & Bruce, N.C. (2014). Investigating the toxicity, uptake, nanoparticle formation and genetic response of plants to gold. *PLOS one*, 9(4), 93793. doi:10.1371/journal.pone.0093793

Tibbett, M., Green, I., Rate, A., De Oliveira, V. H., & Whitaker, J. (2021). The transfer of trace metals in the soil-plant-arthropod system. *Science of The Total Environment*, 779, 146260. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.146260

Tripathi, D.K., Singh, S., Singh, S., Mishra, S., Chauhan, D.K., & Dubey, N.K. (2015). Micronutrients and their diverse role in agricultural crops: advances and future prospective. *Acta Physioliae Plantarum*, 37(7), 1-14. doi:10.1007/s11738-015-1870-3

Vassilev, A., Nikolova, A., Koleva, L., & Lidon, F. (2011). Effects of excess Zn on growth and photosynthetic performance of young bean plants. *Journal of phytology*, 3(6), 58-62.

Zhang, X., Zhang, F., & Mao, D. (1999). Effect of iron plaque outside roots on nutrient uptake by rice (*Oryza sativa* L.): Phosphorus uptake. *Plant & Soil*, 209(2), 187-192. doi:10.1023/A:1004505431879

Zhang, X.W., Dong, Y.J., Qiu, X.K., Hu, G.Q., Wang, Y.H., & Wang, Q.H. (2012).

Bassie, L. (2013). Biofortification of plants with altered antioxidant content and composition: genetic engineering strategies. *Plant Biotechnology Journal*, 11(2), 129-141. doi:10.1111/j.1467-7652.2012.00740.x

Zhu, C., Sanahuja, G., Yuan, D., Farré, G., Arjó, G., Berman, J., Zorrilla-López, U., Banakar R., Bai C., Pérez-Massot E., & Exogenous nitric oxide alleviates iron-deficiency chlorosis in peanut growing on calcareous soil. *Plant, Soil and Environment*, 58(3), 111-120.