

## بکار گیری روش فنان ترولین جهت اندازه گیری $Fe^{2+}$ در برگ مرکبات

محمود محمدی و عبد الامیر معزی

به ترتیب کارشناس ارشد خاکشناسی - استاد یار دانشگاه شهید چمران اهواز

### مقدمه

آهن یکی از عناصر ضروری برای رشد گیاهان محسوب می گردد. وجود آهن برای ساخته شدن کلروفیل در گیاه ضروری است (۱). کلروز آهن برای اولین بار توسط گریس (۱۸۴۳) روی درخت انگور تشخیص داده شد (۳). یکی از روشهای معمول و قابل قبول جهت تشخیص کمبود عناصر غذایی، تجزیه گیاهی می باشد. تجزیه برگی آهن برای گیاهان خاکهای آهنکی نشان می دهد که غلظت آهن در برگ گیاه کمبود دار برابر یا بیشتر از غلظت آهن در برگهای سالم است (۲، ۷۶). در حقیقت این نقیصه ناشی از روش آماده سازی نمونه جهت اندازه گیری آهن می باشد که توانایی تفکیک غلظت  $Fe^{2+}$  را از آهن کل ندارد لذا بایستی در اندازه گیری آهن از روشی استفاده کرد که مواد یا مواد شیمیایی بکار رفته در آن اولاً: قابلیت تبدیل  $Fe^{2+}$  را به  $Fe^{2+}$  نداشته باشد. ثانياً: میل ترکیبی این مواد با  $Fe^{2+}$  رنگ قابل اندازه گیری تولید نماید.

مبنای انتخاب فنان ترولین در مقایسه با دیگر کیلیت های آهن عبارتست از ضریب ثابت پایداری بالای  $Fe^{2+}$  با فنان ترولین، قدرت استخراج  $Fe^{2+}$  بیشتر توسط محلول فنان ترولین از درون بافتهای گیاهی، رنگ نارنجی حاصله که فقط در اثر ترکیب  $Fe^{2+}$  با محلول فنان ترولین ایجاد می گردد. ثابتهای پایداری تعدادی از کمپلسهای  $Fe(II)$ ،  $Fe(III)$  در منبع (۸) گزارش شده است. لذا با توجه با مطالب فوق تحقیقاتی تحت عنوان بکار گیری روش فنان ترولین جهت اندازه گیری  $Fe^{2+}$  در برگ مرکبات با هدف جایگزینی این روش با روش هفتم طراحی گردید.

### مواد و روشها

در این تحقیق ابتدا نمونه برداری خاک از منطقه مورد آزمایش جهت اندازه گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک صورت گرفت، سپس محلول ۰،۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ در صد فنان ترولین در pH های ۲،۲، ۳،۴، ۵ تهیه گردید. نمونه برداری از برگهای گیاه (سبزو کلروزه) جداگانه و بطور تصادفی صورت گرفته شد. سپس نمونه ها سریعاً به آزمایشگاه منتقل و به ترتیب با آب شهر، اسید کلریدریک یکد هم نرمال و آب مقطر شستشو داده و پهنه برگ (فاقد رگبرگ) توسط آسیاب از جنس تیغه استیل به مدت یک دقیقه آسیاب گردیدند. غلظت  $Fe^{2+}$  درون محلول فیلتر شده در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. طرح آماری مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار می باشد که نتایج با استفاده از نرم افزار Minitab مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در ضمن همبستگی کلروفیل با  $Fe^{2+}$  اندازه گیری شده در برگهای سبز و کلروزه مشخص گردید.

### بحث و نتیجه گیری

نتایج آزمایش خاک و گیاه نشان می دهند که بافت خاک منطقه لومی و از نظر درصد مواد آلی و ازت فقیر و از نظر فسفر و آهن غنی می باشند. همچنین غلظت آهن درون برگهای سبز و کلروزه بیشتر از حد بحرانی بوده، لیکن میزان کلروفیل موجود در برگهای سبز در مقایسه با برگهای کلروزه بیشتر است. در انتخاب تیمارهای برتر علاوه بر نتایج آزمون دانکن و جداول تجزیه واریانس از دو پیش فرض زیر نیز بطور مؤثر استفاده گردید:

۱- تیمار های که بیشترین تفاوت غلظت  $Fe^{2+}$  را در برگهای سبز و وکلروزه داشته باشند به عنوان تیمار های برتر شناخته می گردند .

۲- در صورتیکه غلظت  $Fe^{2+}$  استحصالی از برگهای سبز وکلروزه توسط تیمارهای مختلف محسوس نباشد ، انتخاب تیمار برتر منوط به حداکثر تفاوت بین  $Fe^{2+}$  حاصل از نسبتهای قبل و حداقل تفاوت  $Fe^{2+}$  حاصل از نسبتهای بعد در همان غلظت و pH می باشد. در محلول فنان ترولین با ۴ غلظت ذکر شده در مواد و روشها در pH های متفاوت ابتدا نسبتهای برتر نمونه گیاهی به محلول فنان ترولین انتخاب گردیدند . سپس از میان نسبتهای برتر غلظتهای برتر و در نهایت از بین نسبتهای برتر و غلظتهای برتر بهترین pH انتخاب گردید که نتایج در جدول شماره ۲ آمده است .

جدول ۲ - تاثیر غلظت  $Fe^{2+}$  استحصالی از برگهای سبز وکلروتیک توسط تیمارهای برتر

			(mg.kg-1)		
PH	غلظت	نسبت	سبز	کلروتیک	کلروتیک - سبز
۲	۲,۵	1:10	۶۵,۹	۴۹,۹۶	۱۵,۹۴
۳	۲	1:10	۵۸,۶	۲۵,۵۵	۲۳,۰۵
۴	۲,۵	1:10	۵۲,۸۲	۳۰,۹	۲۱,۹۲
۵	۱	1:20	۴۲,۸۶	۲۴,۹۶	۱۷,۹

همانطوریکه نتایج جدول شماره ۲ نشان می دهند بهترین نسبت نمونه گیاهی به محلول فنان ترولین برای استخراج  $Fe^{2+}$  از درون بافتهای گیاهی مرکبات ، نسبت نمونه به محلول فنان ترولین ۱:۱۰ با غلظت دو درصد و pH=3 می باشد . مناسبترین زمان برای استخراج  $Fe^{2+}$  از درون بافتهای گیاهی ۱۲ ساعت بعد از اختلاط نمونه و محلول عصاره گیر می باشد . زیرا با گذشت زمان تا ۱۲ ساعت بعد از اختلاط، آهن استخراجی از درون بافتهای گیاهی افزایش چشمگیری را نشان می دهد اما بعد از ۱۲ ساعت افزایش  $Fe^{2+}$  استخراجی قابل اغماض می باشد . در ضمن محلول فنان ترولین با  $Fe^{2+}$  تشکیل یک کمپلکس نارنجی زنگ ferroun را می دهد که ماکزیمم جذب آن در طول موج ۵۱۰ نانومتر می باشد .

در ضمن در تحقیقی که توسط کنیال و شارما درسال ۱۹۸۰ بر روی گیاه برنج انجام گرفت مشخص گردید که محلول فنان ترولین ۱/۵ درصد ( pH =3 ) ، نسبت نمونه به محلول فنان ترولین ۱:۱۰ و مدت زمان ۱۲ ساعت به عنوان برترین پارامستر ها جهت استخراج  $Fe^{2+}$  از درون بافتهای گیاهی برنج می باشد (۴) .

همچنین تحقیق دیگری با استفاده از این روش توسط منیرجمیل و همکاران (۱۹۹۸) بر روی درخت لیمو ترش صورت گرفت، که این محققین مدت زمان ۲۰ ساعت بعد از اختلاط نمونه گیاهی و محلول فنان ترولین را برای استخراج  $Fe^{2+}$  تعیین کردند، در ضمن پیشنهاد کردند که نسبتهای نمونه به محلول فنان ترولین بیشتر از ۱:۲۰ جهت تعیین بهترین نسبت نمونه به محلول عصاره گیر در درخت لیمو ترش مورد تحقیق و آزمایش قرار گیرد (۵) . همبستگی غلظت کلروفیل با آهن اندازه گیری شده به روش هضم تر و  $Fe^{2+}$  اندازه گیری شده به روش فنان ترولین نشان می دهد که همبستگی بزرگی بین کلرفیل و (R-squared= .91) موجود می باشد . لذا می توان نتیجه گرفت که قسمت اعظم آهن اندازه گیری شده توسط روش هضم تر غیر فعال بوده و فقط بخش کوچکی از آن که شامل  $Fe^{2+}$  می باشد در پروسه کلرفیل سازی شرکت می کند.

#### منابع مورد استفاده

۱. ملکوتی ، محمد جعفر ، سید عبدالحسین ریاضی همدانی ، ۱۳۷۰ چاپ اول ، کود ها و حاصلخیزی خاک انتشارات مرکز نشر دانشگاهی ، تهران ۸۰۱ صفحه .

2. Butes.GW.1982.parallels in plant human iron nutrition . J. plant nutr.5 : 269 – 276.
3. Brown , j.c, 1978 . Mechanism of iron uptake by plant .plant cell environ . 1: 249 – 275.
4. Katyal , J.c.and B.d . snanna . 1980 . A-new technique of plant analysis to resolve iron chlorosis . plant soil 55: 105 –109.
- 5.Mohammad . M.j , Najim . H., and S . khresat . 1998 . Nitric acid and o – phenan throline extractable iron for diagnosis of iron chlorosis in citrus lemon trees . J. plant nutr. 29(788): 1035-1043.
6. Morales , F . Grasa, R . Abadia , g.1998 . Iron chlorosis paradex in fruit trees .J.plant nutr . 21 (4) 823 -828.
7. San z. M., pascual.j and j.machin. 1997. Prognosis and correction of iron chlorosis in peach trees Influence on fruit quality . J.plant nutr . 20(11): 1567- 1572.
8. Standard methods for the examination of water sewage and industrial wastes . 1955.American public Health association . Tenth editions . p.p .124-128