تعیین درجه همبستگی قرائت کلروفیل متر با روشهای مختلف اندازه گیری آهن فعال در برگ مرکبات

علیرضا پاک نژاد[۱] ، سید حسین محمودی نژاد دزفولی[۲] ،سعید سلیم پور [۳]

۱و۳- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی صفی آباد دزفول صندوق پستی ۳۳۳

۲- محقق مرکز تحقیقات کشاورزی صفی آباد دزفول و دانشجوی دکتری خاکشناسی صندوق پستی ۳۳۳
آدرس پست الکترونیکی: rezapaak@yahoo.com

چکیده

به منظور انتخاب بهترین محلول عصاره گیر آهن فعال در برگ مرکبات تعداد ۱۵ نمونه برگ سالم و ۱۵ نمونه برگ مشکوک به کلروز آهن از باغات مرکبات نمونه برداری گردید. میزان کلروفیل آنها توسط دستگاه کلروفیل سنج، مقدار آهن فعال آنها بر اساس روش های ارتو فنانترولین، ۲و۲ دی پیریدیل، روش هضم اسیدی با استفاده از بافر سیترات و مقدار آهن کل نمونه ها با روش هضم خشک و به وسیله دستگاه جذب اتمی تعیین گردید. رسم منحنی های رگرسیونی روشهای مورد استفاده نسبت به کلروفیل و فاکتورهای آماری R^2 و SE نشان داد که روش ارتو فنانترولین با داشتن بیشترین R^2 وکمترین SE مناسب ترین عصاره گیر برای برآورد میزان آهن فعال می باشد..

کلمات کلیدی: آهن فعال، روشهای اندازه گیری آهن فعال، کلروفیل، کلروز آهن.

مقدمه

در منابع مقدار آهن خاک در شمال استان خوزستان ۲۰ppm ـ ۲ و حد بحرانی آهن ppm ۸ گزارش گردیده است(ملکوتی ۱۳۸۷). ولی با توجه به آهکی بودن اراضی(۵۰-۴۰ درصد آهک) و بافت نسبتاً سنگین(سیلیتی – رسی – لومی) با واکنش قلیایی PH = ۷/۸ ، عموما شاهد تثبیت آهن محلول در خاک و کمبود آهن فعال در گیاه بوده و میزان آهن ممکن است در بافت های کلروزه حتی بالاتر از حدمطلوب باشد(مظفر ۱۳۷۱). بر این اساس روشهای متعددی برای استخراج آهن در گیر در فرایند کلروزه شدن (آهن فعال) پیشنهاد شده است. کاتیال و شارما (۱۹۸۰) با استفاده از از ارتو فنانترولین ۱/۵ درصد برروی محصول برنج وکوتشاور و همکاران (۱۹۸۲) بر روی محصول بادام زمینی نتایج خوبی بدست آوردند. دکوک و همکاران(۱۹۸۰) بر روی گوجه فرنگی از اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال و باوس و همکاران(۱۹۸۳) با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال و بافر سیترات نتیجه گرفتند که بین برگهای سالم و کلروزه در مقادیر آهن فعال تفاوت معنی داری وجود دارد. آبادیا و همکاران (۱۹۸۴) با مقایسه نتایج استفاده از ارتوفنانترولین و ۲،۲ دی پیریدیل بر روی برگ گیاه سویا و برگ هلو نتیجه گرفتند که استفاده از ۲و۲ دی پیریدیل مناسب تر است. کوتشاور و همکاران(۱۹۸۲) نشان دادند برآورد آهن فعال قابل حل در اسید نسبت به آهن کل، همبستگی بیشتری با مقدار کلروفیل در نمونه های حاوی نشانه های کمبود آهن دارند. بررسی ها نشان داده است که کمبود آهن موجب تولید نشدن کلروفیل در سلولهای برگ می شود(ملکوتی و طباطبایی ۱۳۷۸). آبادیا در تحقیق فوق الذکر یک همبستگی بسیار خوب(۰/۹۰۶ = r) بین میزان کلروفیل و آهن فعال را گزارش نموده است.

مواد و روشها

برای انجام این تحقیق، ابتدا تعداد ۳۰ باغ مرکبات در شمال استان خوزستان انتخاب گردید. در انتخاب باغات تلاش گردید که علائم کمبود آهن به دلیل کمبود کود نیتروژنه و یا بالا بودن درصد آهک نباشد. نمونه برداری در مهرماه و از برگ های جوان بالغ و غیر بارده مرکبات انجام گرفت و ضمن نمونه برداری میزان کلروفیل برگ ها بوسیله کلروفیل متر سنجش گردید. نمونه ها ابتدا با آب معمولی و سپس آب مقطر شستشو داده شده و پس از خشک کردن در آون ۶۰ درجه، خرد گردیده و میزان آهن موجود در برگ بر اساس سه روش ذیل در دو تکرار اندازه گیری گردید: الف) روش استخراج با ارتوفنانترولین، ب) روش استخراج با ۲و۲ دی پیریدیل و ج) روش استخراج با محلول بافر سیترات. در روش های الف و ب مقدار۵۰۰ میلی گرم از نمونه به ۲۰ میلی لیتر محلول ۱/۵ درصدعصاره گیر در pH =۳ اضافه و برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای محیط ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. سپس به کمک کاغذ صافی شماره ۴۲ عصاره استخراج و میزان آهن نمونه با استفاده از دستگاه جذب اتمی پرکین المر ۳۱۱۰ در طول موج ۲۴۸/۳ نانومتر قرائت و اندازه گیری گردید. آماده سازی و قرائت نمونه ها، در روش سوم بر مبنای تحقیق انجام شده توسط باوس و همکاران(۱۹۸۳) صورت گرفت. محلول بافر سیترات حاوی ۲۱/۰۰۸ گرم اسید سیتریک منوهیدارت و۲۰۰ میلی لیتر سدیم هیدروکسید یک نرمال بود که پس از رساندن حجم به یک لیتر به کمک سود سوزآور ۰/۱ نرمال بر روی pH= ۵/۵ تنظیم گردید. برای تعیین شاخص آهن فعال به آهن کل، میزان آهن کل در کلیه نمونه های گیاهی به روش هضم خشک آماده سازی و قرائت گردید. برای تجزیه و تحلیل نتایج، به تفکیک هر محصول ابتدا به کمک نرم افزار EXCEL نمودار میزان آهن فعال برحسب مقدار کلروفیل رسم گردید و سپس به کمک نرم افزارSPSS پارامترهای آماری مورد نیاز از جمله ضریب تبین R^2 و اشتباه معیار SE تعیین گردید.

نتیجه‌گیری

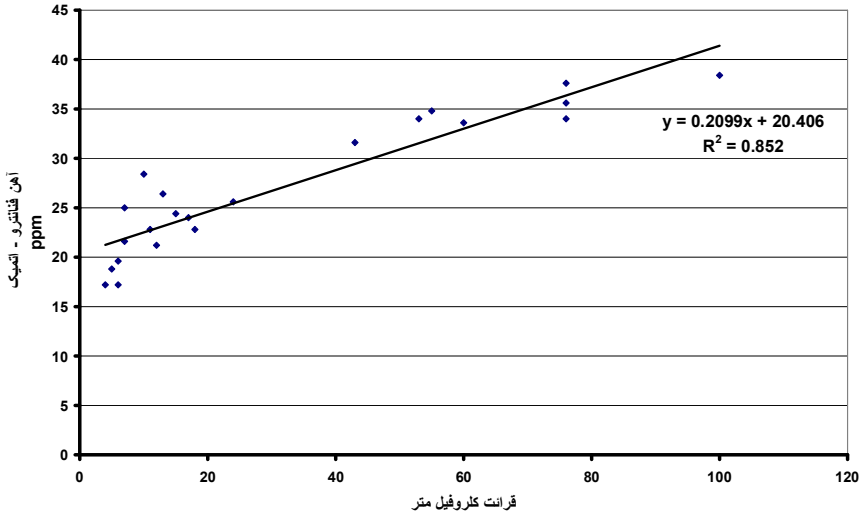
دامنه مقادیر آهن استخراج شده و نتایج آماری روشهای مختلف استخراج آهن در جدول شماره ۱ آورده شده است .

جدول۱- دامنه و پارامترهای آماری چهار روش استفاده شده استخراج آهن فعال

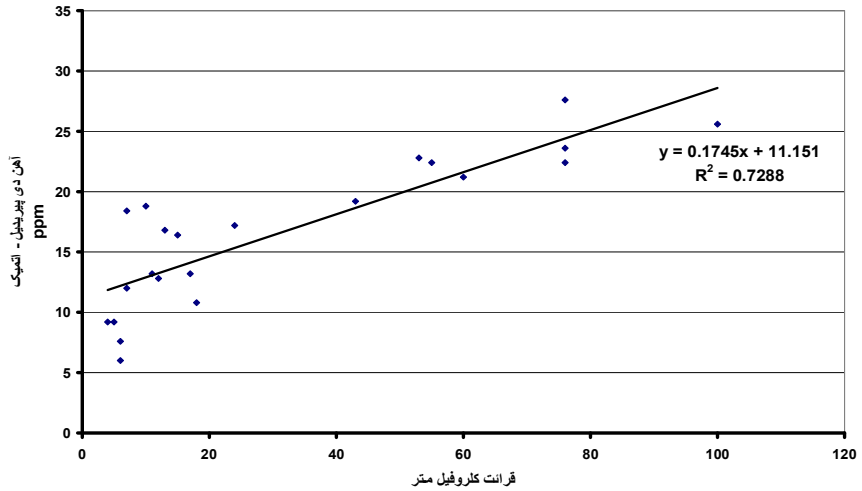
نام روش	ارتوفنانترولین	۲و۲ دی پیریدیل	بافر سیترات	آهن کل
دامنه مقادیر آهن	۱۷/۲-۴۲	۴-۲۸/۳	۱۲/۴-۳۰/۲	۲۷-۱۴۵
ضریب تبین R^2	۰/۸۶	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۰۰
اشتباه معیار SE	۱۱/۳۲	۵/۱۴	۱۷/۱۸	۲۹/۸۹

رسم نمودارهای رگرسیون میزان کلروفیل نمونه ها و مقدار تعیین شده آهن بر اساس چهار روش مختلف و ضرایب آماری R^2 وSE مندرج درجدول شماره ۲ نشان می دهد، روش اندازه گیری آهن به کمک ارتو فنانترولین با داشتن بالاترین ضریب تبیین(R^2 = ۰/۸۶) وپائین ترین اشتباه معیار(SE=۱۱/۳۲) بهترین همبستگی بین میزان کلروفیل و مقدار آهن را داشته است. این نتجه تائیدی بر نظرات کاتیال و شارما (۱۹۸۰) و کوتشاور و همکاران (۱۹۸۲) ولی مخالف نظریه آبادیا و همکاران (۱۹۸۴) می باشد .کاتیال در تحلیل نتایج خود برای مناسب بودن عصاره گیر آهن دوظرفیتی یعنی ارتوفنانترولین به بالا تر بودن ثابت پایداری کمپلکس ایجاد شده اشاره می کند ولی آبادیا در تحلیل

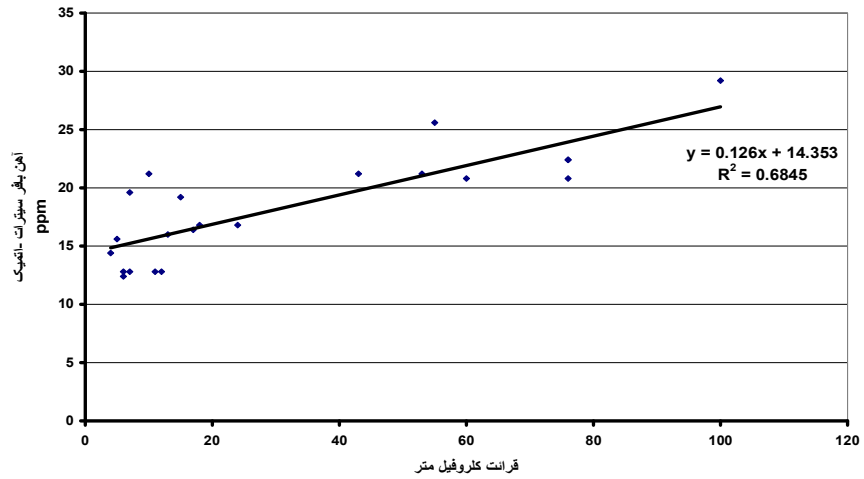
نتایج خود واکنش های مرحله تاریکی سنتز کلروفیل را عامل مناسب بودن عصاره گیر آهن سه ظرفیتی یعنی ۲و۲ دی پیریدیل می داند .این تحلیل نیز می تواند درست باشد زیرا نتایج حاصل این تحقیق نیز همبستگی نسبتا خوبی



نمودار۱– همبستگی مقدار آهن استخراجی روش ارتوفنانترولین و قرائت کلروفیل متر در برگ مرکبات

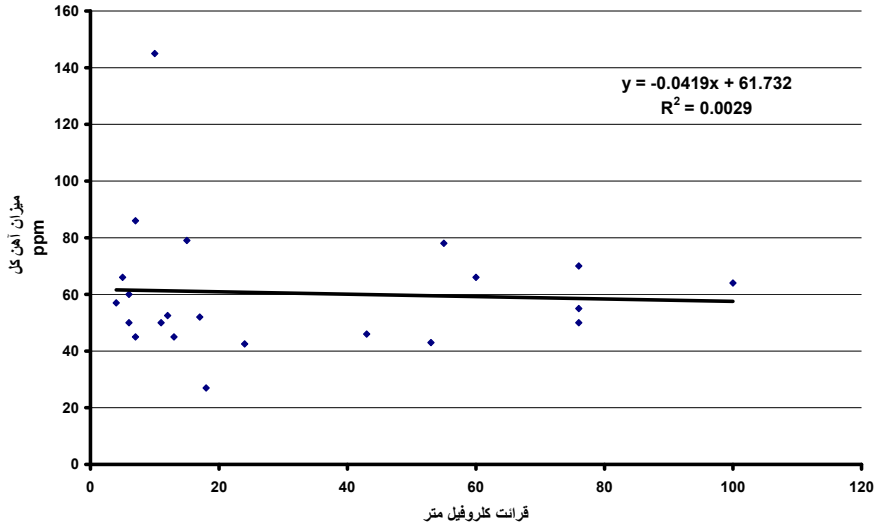


نمودار ۲– همبستگی مقدار آهن استخراجی روش ۲و۲ دی پیریدیل و قرائت کلروفیل متر در برگ مرکبات



نمودار ۳ – همبستگی مقدار آهن استخراجی روش بافر سیترات و قرائت کلروفیل متر در برگ مرکبات

بین میزان کلروفیل و این روش نشان می دهد و به نظر می رسد در بعضی شرایط دمایی و نوری این دو فرم به هم تبدیل می شوند. نتایج هم چنین نشان می دهد که روش آهن کل با داشتن کمترین R^2 و بیشترین SE به هیچ وجه معیار خوبی برای بررسی کمبود آهن در گیاه نمی باشد. این نتیجه توسط اکثر محققین تائید شده است و لذا بهتر است برای برآورد کمبود آهن در برگ مرکبات استفاده نشود.



نمودار ۴– همبستگی مقدار آهن کل و قرائت کلروفیل متر در برگ مرکبات

منابع

۱- ملکوتی م.ج وطباطبایی ج، ۱۳۷۸، *تغذیه صحیح درختان میوه*، انتشارات تجهیز کشاورزی.
۲- حق پرست تنها م. ر، ۱۳۷۱، *تغذیه و متابولیسم گیاهان(ترجمه)*، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی.
۳- سالاردینی ع. ا، ۱۳۶۷، *اصول تغذیه معدنی گیاهان* (ترجمه)، مرکز نشر دانشگاهی.
۴- مظفرا، ۱۳۷۱، *جذب آهن توسط ریشه گیاهان : یک معما*، صفحات۲۸۶-۲۷۸، مجموعه مقالات اولین کنگره زراعت و اصلاح نباتات، تهران.

۵- بلالی م.ر، ملکوتی م. ج ، مشایخی ح. ح و خاتمی ز، ۱۳۷۸. اثر عناصر ریز مغذی بر افزایش عملکرد و تعیین حد بحرانی آنها در خاک های تحت کشت گندم آبی ایران ، صفحات۱۲۱-۱۳۴ ، مجموعه مقالات *تغذیه متعادل* گندم،تهران، انتشارات نشر آموزش کشاورزی.

6- Abadia,E., Montanes,M.L. and Heras,L. 1984. Extraction of iron from plant leaves by FeII chelators. Journal of plant nutrition.7:1-5,774-784.

7- Balba,A.M., Osman,A.Z., Ghatas,N.K. 1980. Ferrous and ferric ratio in normal and chlorotic BEEN Plants, Z.P Flanen,Bodenk. 143,268-273.

8- Booss,A., Kolesch,H., Hofner,W. 1983.Short Communication:Determinatrion of active iron in plants by extration with a citrate buffer. Zeitschrift fur pflanzenernahrung und bodenkunde. 146(3), 401-404.

9-Goodman,B.A., Dekock,P.C., 1982. Mossbauer stduies of plant meterials, Duckweed, stock, soyabean and pea,J.Plant Nut.5:345-353.

10-Katyal,J.C., Sharma,B.D., 1980. A new technique of plant analysis to resolve iron chlorosis. Plant and Soil.55, 105-119.

11-KoteshwarR.J.,Sahrawat,K.L.,Burford,J.R.,1982.Diagnosis of iron deficiency in groundnut, plant nutrition, Proceedings of the 9th International Plant Nutrition Colloquium, England, Warwick Univ., 527.