

شاخص‌های فیزیولوژیکی کمبود آهن در درختان چنار (*Plantanus orintalis* L.)

فضای سبز شهر اصفهان

امیرحسین خوشگفتارمنش^۱، حمید رضا عشقی‌زاده^{۲*}، آزاده سنایی استوار^۳،

مائده‌السادات میرلوحی^۱ و مریم تابان^۴

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۱/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۲۴)

چکیده

زردبرگی آهن یکی از نارسائی‌های مهم درختان چنار فضای سبز شهر اصفهان محسوب می‌شود. قبل از به‌کارگیری روش‌های اصلاحی این زردبرگی، تعیین یک شاخص مناسب ارزیابی وضعیت آهن گیاه ضروری است. بنابراین در این مطالعه فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز، غلظت کارتنوئیدها و کلروفیل برگ به عنوان شاخص‌های فیزیولوژیکی آهن فعال در مقایسه با غلظت آهن کل برگ برای ارزیابی وضعیت آهن درختان چنار بررسی شد. برای این منظور ابتدا شدت زردبرگی ظاهری درختان چنار در مناطق مختلف مورد بررسی قرار گرفت. سپس تعداد ۷۳ درخت با شدت زردبرگی مختلف انتخاب و در تیر ماه سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ از برگ‌های پیر و جوان آنها نمونه برداری شد. بعد از آن غلظت آهن برگ، مقدار کلروفیل a و b، غلظت کارتنوئیدها و فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز برگ‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که دامنه غلظت آهن برگ درختان با شدت زردبرگی متفاوت و نیز در برگ‌های جوان و پیر گسترده بود و بین غلظت آهن برگ با شدت زردبرگی هم‌بستگی دیده نشد. هم‌چنین غلظت کلروفیل a برگ‌های با زردبرگی خیلی شدید به ترتیب بیش از ۴۴ و ۳۷ درصد کمتر از برگ‌های با شدت زردبرگی کم بود. غلظت کلروفیل b نیز در برگ‌های جوان (حدود ۵۰ درصد) و پیر (حدود ۳۷ درصد) در شرایط زردبرگی خیلی شدید کمتر از شرایط زردبرگی کم بود. غلظت کارتنوئیدهای برگ‌های جوان و پیر با شدت زردبرگی ظاهری متفاوت نیز از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشت. هم‌چنین فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز برگ‌های جوان نیز با افزایش شدت زردبرگی کاهش یافت. براساس نتایج این پژوهش، غلظت کلروفیل a، کارتنوئیدها و فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز برگ‌ها به عنوان شاخص‌های مناسب ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای آهن، هم‌بستگی نزدیکی با شدت ظاهری زردبرگی درختان چنار داشتند. هم‌چنین، با توجه به فعالیت کم آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز، فعالیت آهن در گیاه پایین بوده و در نتیجه، کم‌بودن فعالیت آهن برگ، از دلایل احتمالی زردبرگی مشاهده شده در درختان چنار است.

واژه‌های کلیدی: آهن فعال، آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز، کلروفیل، کارتنوئید

۱. گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳. عضو مرکز پژوهشی کشت بدون خاک، دانشگاه صنعتی اصفهان

۴. سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهرداری اصفهان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hr.eshghizadeh@cc.iut.ac.ir

مقدمه

درخت چنار با داشتن ویژگی‌های منحصر به فرد نظیر قامت استوار، شاخه‌های موزون، تاج پهن و سایه گسترده، مناظر و چشم‌اندازهای زیبایی ایجاد کرده و به عنوان یکی از عوامل مهم و مؤثر در فضای سبز محسوب می‌شود (۱). وجود درختان چنار کهنسال در اغلب خیابان‌های شهر اصفهان نیز بیانگر قدمت تاریخی استفاده از این درخت در ایجاد فضای سبز شهری می‌باشد (۲). ولی متأسفانه در سال‌های اخیر درختان چنار دچار مسأله زردبرگی شده و سرسبزی و طراوت خود را خیلی زود از دست می‌دهند، و در پی آن چهره خیابان‌ها، پارک‌ها و مناطقی که این درخت به عنوان گیاه اصلی در ایجاد فضای سبز آنها به کار رفته، بسیار ناخوشایند و نامطلوب می‌شود.

به‌طور کلی بارزترین نشانه کمبود آهن در گیاهان، زرد شدن بین رگبرگ‌ها در برگ‌های جوان است که به‌عنوان کلروز یا زردبرگی آهن شناخته شده است. این پدیده یک اختلال پیچیده فیزیولوژیکی است که عوامل زیادی در ایجاد آن نقش دارند (۱۲، ۳۳ و ۳۴) و از جمله گسترده‌ترین کمبودهای عناصر غذایی گیاهان در خاک‌های قلیایی است (۷). گیاهانی که دچار زردبرگی آهن هستند چون قادر به تولید کلروفیل کافی نیستند، زردی مشخصی روی برگ‌های جوان آنها ظاهر می‌شود. این گیاهان به دلیل نداشتن کلروفیل کافی عمل فتوسنتز را به‌طور کامل انجام ندهاده و در نتیجه رشد و عملکرد آنها کاهش می‌یابد (۲۶).

یکی از رایج‌ترین روش‌های تشخیص کمبود آهن، تجزیه برگ و تعیین غلظت آهن و عناصر دیگر در برگ‌ها است. از آنجا که در بسیاری از موارد غلظت آهن کل هم‌بستگی نزدیکی با شدت زردبرگی نداشته، تحقیقات به سمت یافتن اشکال شیمیایی آهن فعال جهت پیدا کرده‌اند. معمولاً آهن سه‌ظرفیتی (Fe^{3+}) در داخل گیاهان در حال رشد غیرپویا در نظر گرفته می‌شود. عدم کارایی تعیین غلظت آهن کل در تشخیص زردبرگی ناشی از کمبود آهن در لیمو (۲۷) و هلو (۱۹) نیز

نشان داده شده است. شکل فعال آهن در گیاهان، آهن دو ظرفیتی (Fe^{2+}) است. هم‌چنین گزارش شده است که آهن سه‌ظرفیتی نیز شکل مهم در بعضی گیاهان است (۲۹). آهن فعال جزئی از آهن کل برگ که به وسیله اسیدکلریدریک یک نرمال از پودر برگ خشک قابل استخراج باشد، تعریف می‌شود، زیرا تمام آهن جذب شده به وسیله گیاهان انتقال داده نمی‌شود، به علاوه تمامی آهن انتقال یافته به ترکیبات آلی تبدیل نشده و به وسیله سلول‌های برگ جذب می‌شود، بنابراین در برخی موارد آهن کل گیاه معیاری از حالت تغذیه‌ای گیاه نیست (۱۷). زیرا ممکن است بین غلظت آهن در برگ گیاهان کلروزه و گیاهان سالم اختلاف معنی‌داری وجود نداشته باشد (۸ و ۳۳). حتی گاهی برگ‌های کلروزه غلظت آهن بیشتری در مقایسه با برگ‌های سبز دارند (۲۲ و ۲۵).

در پژوهشی که پیرامون اثرهای زیست‌شیمیایی و فیزیولوژیکی کمبود آهن در پایه‌های هلو انجام شد، گزارش شد که هر دو آنزیم سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز به کمبود آهن ناشی از حذف آهن از محیط کشت و یا کمبود آهن ناشی از حضور بی‌کربنات، بسیار حساس بودند (۲۰). در مطالعه دیگر نیز مشاهده شد که کمبود آهن سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز و پراکسیداز در پیاز (۲۳) و کاهش فعالیت سوپراکسیددسموتاز در سویا و لیمو شد (۱۳). ایتریوب-اورمیتکس و همکاران (۱۶) دریافتند که فعالیت پراکسیداز آسکوربات حاوی آهن و فعالیت کاتالاز، با وضعیت تغذیه‌ای آهن در نخودفرنگی بهترین هم‌بستگی را داشتند.

با توجه به گسترش عارضه زردبرگی آهن در درختان چنار فضای سبز شهر اصفهان به ویژه در سال‌های اخیر، یافتن علت یا دلایل احتمالی از دغدغه‌های جاری جهت برطرف نمودن این نارسایی می‌باشد. قبل از به‌کارگیری روش‌های اصلاحی و کوددهی، تعیین یک شاخص مناسب ارزیابی وضعیت آهن گیاه ضروری است. بنابراین در این مطالعه فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و غلظت کارتنوئیدها و کلروفیل برگ به عنوان شاخص‌های فیزیولوژیکی آهن فعال در مقایسه با غلظت آهن

تنظیم شده و نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت داخل کوره قرار داده شدند. سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۲ نرمال به نمونه‌ها اضافه شده و به آرامی روی گرم‌کن تا زمان تبخیر نیمی از اسید، حرارت داده شد. سپس محلول تهیه شده از کاغذ صافی عبور داده شد و عصاره صاف شده جمع آوری شد، بعد از آن حجم عصاره با آب مقطر به ۵۰-۲۵ میلی‌لیتر رسید. سپس در برگ‌های نمونه‌گیری شده در هر دو سال نمونه‌برداری، غلظت آهن در عصاره گیاه توسط دستگاه جذب‌اتمی مدل پرکین‌لمر ۳۰۳۰ خوانده شد (۱۰).

اندازه‌گیری غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید برگ

نمونه‌های برگ جمع‌آوری شده در سال دوم پس از انجام عملیات شستشو و به منظور اندازه‌گیری برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی به وسیله نیتروژن مایع یخ خشک یا پودر شدند. نیم گرم از نمونه پودر شده برگ به وسیله ۱۵ میلی‌لیتر استون همگن شده و از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور و سپس عصاره حاصل با استون به حجم رسانده شد. پس از آن، شدت جذب نور کلروفیل a، b و کاروتنوئید نمونه‌ها به ترتیب در سه طول موج ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند (۱۴).

تعیین فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز

جهت تعیین فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز از روش کک‌مک و مارشور (۱۹۹۲) استفاده شد. به این منظور، ۰/۲۵ گرم نمونه تازه از برگ‌های بالایی (جوان) و پایینی (پیر) هر درخت در منطقه با ۱ میلی‌لیتر بافر ۱ درصد تریاتون همگن شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور $15000 \times g$ قرار داده شد. محلول صاف رویی جدا شده و در ظرف دیگری قرار داده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول را با ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات حاوی آب اکسیژنه مخلوط کرده و شدت جذب طول موج ۴۷۰ نانومتر در این محلول توسط دستگاه طیف‌سنج در زمان‌های صفر و ۶۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. فعالیت پراکسیداز با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد (۹):

کل برگ برای ارزیابی وضعیت آهن درختان چنار بررسی شد.

مواد و روش‌ها

منطقه و روش نمونه‌برداری

ابتدا به منظور ارزیابی و تعیین حوزه مطالعاتی، از فضای سبز مناطق مختلف شهر اصفهان و وضعیت درختان چنار بازدید به عمل آمده و نسبت به علامت‌گذاری و تعیین موقعیت جغرافیایی (طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا) آنها به وسیله دستگاه GPS اقدام شد. هم‌چنین ویژگی‌هایی نظیر کاربری سابق، فاصله درخت از جاده، فاصله از درختان کناری، ارتفاع نسبی و شدت زرد برگی ظاهری در بیش از ۱۰۰ درخت و در مناطق مختلف شهر اصفهان ثبت شد. شدت زردبرگی ظاهری بر اساس ۱: ضعیف (کمتر از ۵٪ برگ‌ها)، ۲: متوسط (کمتر از ۵۰٪ برگ‌ها)، ۳: شدید (بیشتر از ۵۰٪ برگ‌ها)، ۴: خیلی شدید (بیش از ۹۵٪ برگ‌ها) مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس با توجه به مشاهدات و اطلاعات جمع‌آوری شده، نحوه نمونه‌برداری و تعداد مکان‌های مورد نظر تعداد ۷۳ درخت برای نمونه‌برداری و انجام مطالعه انتخاب شدند.

سپس طی سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ با هماهنگی صورت گرفته با مدیریت هر منطقه و با استفاده از بالابر از برگ‌های کامل (همراه با دم‌برگ) دو قسمت بالایی و پایینی هر درخت به صورت جداگانه نمونه‌برداری شد. نمونه‌های برگ‌گی سپس جهت انجام سایر مراحل به آزمایشگاه منتقل شدند.

اندازه‌گیری غلظت آهن برگ

تک‌تک نمونه‌های برگ‌گی ابتدا به وسیله آب شهر و سپس توسط آب مقطر شستشو، سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در خشک‌کن هواکش‌دار تا رسیدن به وزن خشک ثابت، قرارداد شدند. مواد خشک شده آسیاب و در نهایت یک نمونه کاملاً یکنواخت به دست آمد. برای عصاره‌گیری گیاه، یک گرم از نمونه پودر شده خشک به کروزه چینی ۲۵ میلی‌متری منتقل شد. حرارت کوره الکتریکی در ۵۵۰ درجه سلسیوس

معادله ۱: فعالیت پراکسیداز (میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن مرطوب) = $(\Delta \text{abs}/t) \times c \times v \times (1/m) \times 10^6$

اختلاف شدت جذب طول موج ۴۷۰ نانومتر در نمونه در زمان‌های صفر و ۶۰ ثانیه: Δabs

زمان قرائت جذب دوم بر حسب دقیقه: t

ضریب تصحیح آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز ($26/6 \times 10000$): c

حجم کوئت بر حسب لیتر: v

وزن برگ بر حسب گرم: m

تجزیه و تحلیل آماری

محاسبه آمار توصیفی شامل میانگین، خطای معیار، میانه، انحراف معیار، کمینه، بیشینه، دامنه و ضریب تغییرات و هم‌چنین تجزیه واریانس یک‌طرفه داده‌های جمع‌آوری شده برای هرصفت با استفاده از آزمون غیرپارامتری کروسکال والیس (گروه‌های مورد بررسی مستقل و سه گروه و بیشتر) به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و رسم شکل‌ها با EXCEL نسخه ۲۰۰۷ انجام شد.

نتایج

غلظت آهن برگ‌های جوان و پیر

میانگین، ضرایب تنوع و دامنه تغییرات غلظت آهن برگ‌های جوان و پیر درختان چنار با شدت زردبرگی ظاهری کم و خیلی شدید طی دو سال نمونه‌برداری در جدول ۱ مشخص شده‌اند. نتایج نشان داد که دامنه غلظت آهن برگ در درختان با شدت زردبرگی متفاوت و نیز در برگ‌های جوان و پیر هر درخت گسترده بود و تناسبی بین غلظت آهن برگ با شدت زردبرگی دیده نشد. نتایج هم‌چنین نشان داد که غلظت آهن برگ در سال دوم افزایش محسوسی در مقایسه با سال اول نمونه‌برداری داشت (جدول ۱).

توزیع درختان چنار مورد مطالعه، در ارتباط با حدود بحرانی غلظت آهن برگ جوان در طی دو سال نیز نشان داد که غلظت آهن برگ در بیش از ۹۵ و ۷۱ درصد درختان، کمتر از

حد بحرانی بود (شکل ۱-الف و ب). هم‌چنین برخلاف انتظار از ۲۶ درخت با شدت زردبرگی ظاهری کم، ۲۵ درخت در سال اول (۹۶٪) و ۱۷ درخت در سال دوم (۶۵٪) غلظت آهنی کمتر از حد بحرانی داشتند. در ارتباط با حدود بحرانی غلظت آهن برگ مسن در طی دو سال نیز غلظت آهن برگ تمامی درختان کمتر از حد بحرانی بود (شکل ۱-پ و ت) و این حالت غیر منتظره در تمامی درختان چنار با زردبرگی ظاهری کم نیز مشاهده شد.

غلظت کلروفیل a و b برگ‌های جوان و پیر

نتایج برخی آماره‌های توصیفی غلظت کلروفیل a و b برگ‌های جوان و پیر درختان چنار با شدت زردبرگی ظاهری کم (جدول ۲) و زردبرگی ظاهری خیلی شدید (جدول ۳) در سال ۱۳۸۸ نشان داد که غلظت کلروفیل a و b در برگ‌های جوان و پیر درختان چنار همخوانی قابل توجهی با شدت زردبرگی ظاهری داشت. به شکلی که غلظت کلروفیل a برگ جوان و پیر در شرایط زردبرگی خیلی شدید به ترتیب بیش از ۴۴ و ۳۷ درصد در مقایسه با شدت زردبرگی کم کاهش نشان داد. غلظت کلروفیل b نیز در برگ‌های جوان (حدود ۵۰ درصد) و پیر (حدود ۳۷ درصد) در شدت زردبرگی خیلی شدید در مقایسه با زردبرگی کم، کاهش یافت (جدول ۲ و ۳).

نتایج محاسبات آزمون کروسکال والیس نیز نشان داد که غلظت کلروفیل a و b برگ‌های جوان و پیر دارای شدت زردبرگی ظاهری متفاوت از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ($P < 0/01$) داشت (جدول ۴) و در برگ‌های جوان و پیر نمونه‌برداری شده غلظت کلروفیل a (شکل ۲-الف و ب) و کلروفیل b (شکل ۲-پ و ت) با شدت یافتن زردبرگی ظاهری کاهش یافت.

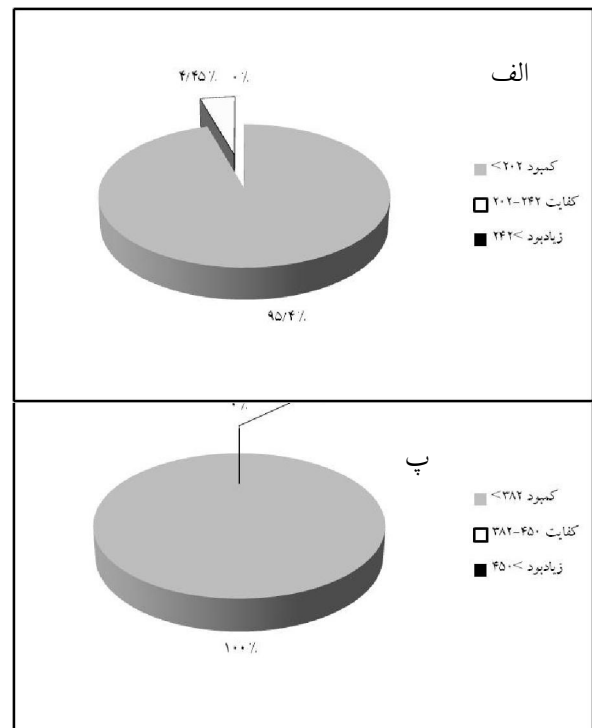
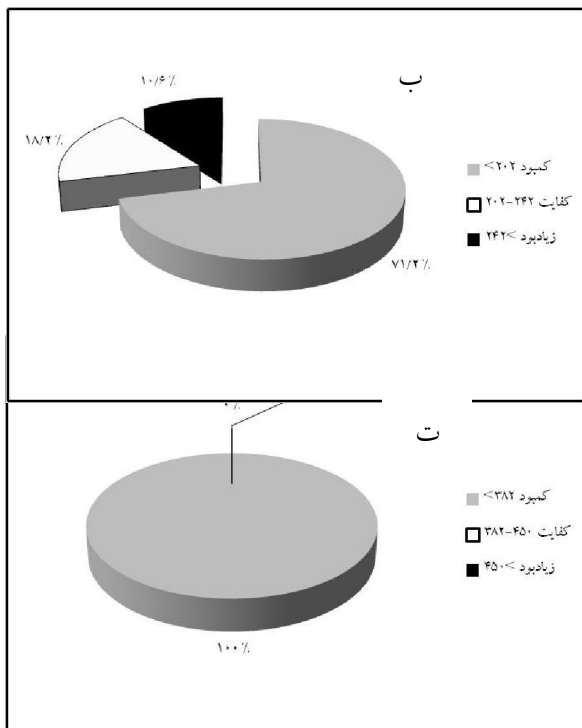
غلظت کارتنوئیدها و آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز برگ‌های

جوان و پیر

نتایج برخی آماره‌های توصیفی غلظت کارتنوئیدها و آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز برگ‌های جوان و پیر درختان چنار شهر

جدول ۱. برخی آماره‌های توصیفی غلظت آهن برگ‌های جوان و پیر درختان چنار شهر اصفهان با شدت زردبرگی ظاهری کم و خیلی شدید در سال‌های ۸۸-۱۳۸۷

غلظت آهن برگ (میلی‌گرم در کیلوگرم)				زردبرگی ظاهری کم				زردبرگی ظاهری خیلی شدید				شرح آماره
۱۳۸۸		۱۳۸۷		۱۳۸۸		۱۳۸۷		۱۳۸۸		۱۳۸۷		
پیر	جوان	پیر	جوان	پیر	جوان	پیر	جوان	پیر	جوان	پیر	جوان	
۱۶۳	۱۶۸	۱۵۲	۱۲۵	۱۷۰	۱۸۰	۱۳۱	۱۱۱	۱۶۳	۱۶۸	۱۵۲	۱۲۵	میانگین
۹/۹۰	۱۳/۷	۱۰/۹	۸/۴۸	۷/۸۰	۱۲/۴	۶/۵۲	۶/۸۲	۹/۹۰	۱۳/۷	۱۰/۹	۸/۴۸	خطای معیار
۱۵۷	۱۶۴	۱۴۰	۱۱۷	۱۶۱	۱۸۰	۱۲۶	۱۰۵	۱۵۷	۱۶۴	۱۴۰	۱۱۷	میانه
۴۵/۳	۶۵/۸	۵۵/۸	۴۳/۲	۳۹/۷	۶۱/۹	۳۳/۳	۳۴/۷	۴۵/۳	۶۵/۸	۵۵/۸	۴۳/۲	انحراف معیار
۸۳/۵	۸۰/۵	۷۷/۵	۶۶/۵	۱۱۱	۱۰۰	۷۷/۵	۵۷/۰	۸۳/۵	۸۰/۵	۷۷/۵	۶۶/۵	کمینه
۲۲۸	۳۳۸	۳۶۰	۲۲۴	۲۸۳	۳۴۶	۲۰۶	۲۰۴	۲۲۸	۳۳۸	۳۶۰	۲۲۴	بیشینه
۱۴۵	۲۵۷	۲۸۲	۱۵۷	۱۷۲	۲۴۶	۱۲۹	۱۴۷	۱۴۵	۲۵۷	۲۸۲	۱۵۷	دامنه
۲۷/۷	۳۹/۰	۳۶/۷	۳۴/۵	۲۳/۳	۳۴/۳	۲۵/۴	۳۱/۰	۲۷/۷	۳۹/۰	۳۶/۷	۳۴/۵	ضریب تغییرات (%)
۲۱	۲۳	۲۶	۲۶	۲۶	۲۵	۲۶	۲۶	۲۱	۲۳	۲۶	۲۶	تعداد نمونه



شکل ۱. توزیع درختان چنار مورد مطالعه در ارتباط با حدود بحرانی غلظت آهن (mg/kg)، الف: برگ جوان در سال ۱۳۸۷، ب: برگ جوان در سال ۱۳۸۸، پ: برگ مسن در سال ۱۳۸۷، ت: برگ مسن در سال ۱۳۸۸

جدول ۲. برخی آماره‌های توصیفی غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئیدهای برگ‌های جوان و پیر درختان چنار شهر اصفهان با شدت زردبرگی ظاهری کم در سال ۱۳۸۸

کلروفیل b ($\mu\text{g/ml}$)		کلروفیل a ($\mu\text{g/ml}$)		شرح آماره
پیر	جوان	پیر	جوان	
۶/۳۵	۶/۰۰	۱۲/۰	۱۱/۴	میانگین
۰/۷۹۰	۰/۶۴۰	۰/۸۱۰	۰/۷۴۰	خطای معیار
۶/۰۵	۵/۵۵	۱۳/۶	۱۲/۳	میانه
۴/۰۱	۳/۲۶	۴/۱۵	۳/۷۱	انحراف معیار
۰/۵۰۰	۱/۳۰	۱/۳۰	۴/۰۰	کمینه
۱۸/۶	۱۴/۱	۱۷/۳	۱۶/۸	بیشینه
۱۸/۱	۱۲/۸	۱۶/۰	۱۲/۸	دامنه
۶۳/۱	۵۴/۳	۳۴/۵	۳۲/۵	ضریب تغییرات (%)
۲۶	۲۶	۲۶	۲۵	تعداد نمونه

*: مقدار بسیار کم و غیر قابل تشخیص توسط دستگاه

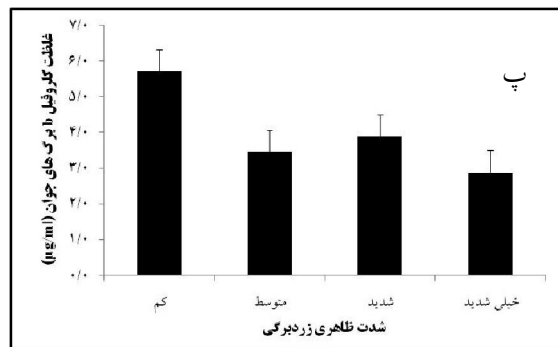
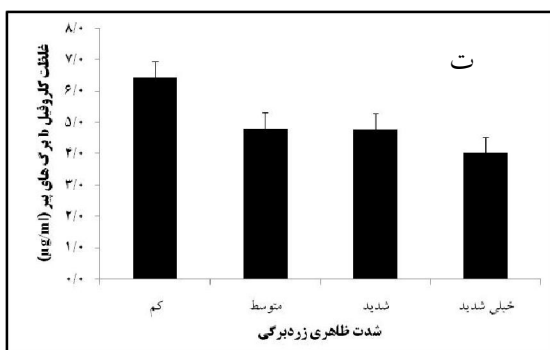
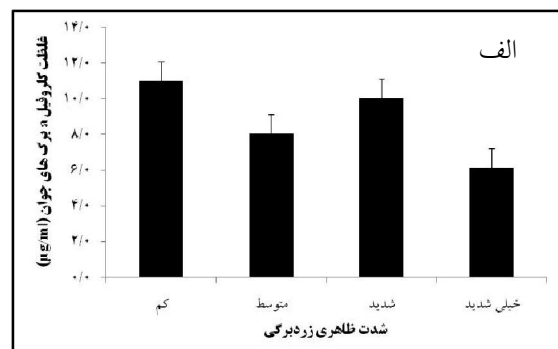
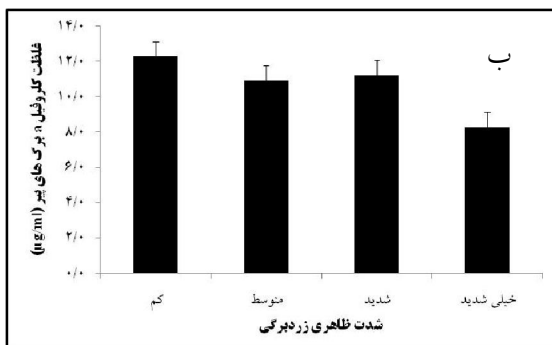
جدول ۳. برخی آماره‌های توصیفی غلظت کلروفیل a و کلروفیل b برگ‌های جوان و پیر درختان چنار شهر اصفهان با شدت زردبرگی خیلی شدید در سال ۱۳۸۸

کلروفیل b ($\mu\text{g/ml}$)		کلروفیل a ($\mu\text{g/ml}$)		شرح آماره
پیر	جوان	پیر	جوان	
۳/۹۹	۲/۹۷	۷/۴۶	۶/۲۹	میانگین
۰/۷۱۰	۰/۵۳۰	۰/۷۶۰	۰/۷۵۰	خطای معیار
۳/۰۰	۱/۷۰	۶/۹۰	۵/۳۰	میانه
۳/۴۲	۲/۷۵	۳/۹۶	۳/۸۰	انحراف معیار
۰/۹۰۰	۰/۴۰۰	۱/۹۰	۱/۵۰	کمینه
۱۵/۶	۱۱/۶	۱۶/۲	۱۵/۲	بیشینه
۱۴/۷	۱۱/۲	۱۴/۳	۱۳/۷	دامنه
۸۵	۹۲	۵۳	۶۰	ضریب تغییرات (%)
۲۳	۲۷	۲۷	۲۶	تعداد نمونه

*: مقدار بسیار کم و غیر قابل تشخیص توسط دستگاه

جدول ۴. نتایج محاسبات آزمون کروسکال والیس غلظت کلروفیل برگ‌های پیر و جوان با شدت زردبرگی ظاهری متفاوت در سال ۱۳۸۸

متغیر	کای اسکور	درجه آزادی	سطح معنی‌دار بودن
غلظت کلروفیل a برگ‌های جوان	۱۶/۸	۳	۰/۰۰۱
غلظت کلروفیل a برگ‌های پیر	۱۴/۲	۳	۰/۰۰۳
غلظت کلروفیل b برگ‌های جوان	۱۲/۱	۳	۰/۰۰۷
غلظت کلروفیل b برگ‌های پیر	۱۰/۴	۳	۰/۰۱۵



شکل ۲. غلظت کلروفیل برگ‌های درختان چنار با شدت زردبرگی ظاهری متفاوت در سال ۱۳۸۸، الف: غلظت کلروفیل a برگ جوان، ب: غلظت کلروفیل a برگ مسن، پ: غلظت کلروفیل b برگ جوان، ت: غلظت کلروفیل b برگ مسن

چنار بسته به شدت زردبرگی متفاوت بود. نتایج محاسبات آزمون کروسکال والیس نشان داد که غلظت کارتنوئیدهای برگ‌های جوان و پیر دارای شدت زردبرگی ظاهری متفاوت از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۷) و غلظت کارتنوئیدها در برگ‌های

اصفهان با شدت زردبرگی ظاهری کم (جدول ۵) و زردبرگی ظاهری خیلی شدید (جدول ۶) در سال ۱۳۸۸ نشان داد که غلظت کارتنوئیدها در برگ‌های جوان و پیر در شدت‌های مختلف زردبرگی تفاوت چشمگیری با یکدیگر نداشت ولی فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز برگ‌های جوان و پیر درختان

جدول ۵. برخی آماره‌های توصیفی غلظت کارتنوئیدها و آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز برگ‌های جوان و پیر درختان چنار شهر اصفهان با شدت زردبرگی ظاهری کم در سال ۱۳۸۸

شرح آماره	کارتنوئید ($\mu\text{g/ml}$)		گلوکاتایون پراکسیداز ($\mu\text{mol/min gr FW}$)	
	جوان	پیر	جوان	پیر
میانگین	۳/۳۱	۳/۶۵	۱/۸۷	۲/۴۳
خطای معیار	۰/۳۷۰	۰/۲۱۰	۰/۵۰۴	۰/۹۱۲
میانه	۳/۸۰	۳/۹۰	۰/۸۸۲	۱/۶۶
انحراف معیار	۱/۸۷	۱/۰۸	۲/۲۵	۴/۰۸
کمینه	-۴/۳۰*	۰/۵۰۰	۰/۰۳۷	۰/۰۲۲
بیشینه	۴/۹۰	۵/۱۰	۸/۷۲	۱۸/۶
دامنه	۹/۲۰	۴/۶۰	۸/۶۸	۱۸/۶
ضریب تغییرات (%)	۵۶/۴	۲۹/۵	۱۲۰	۱۶۷
تعداد نمونه	۲۶	۲۶	۲۱	۲۶

*: مقدار بسیار کم و غیر قابل تشخیص توسط دستگاه

جدول ۶. برخی آماره‌های توصیفی غلظت کارتنوئیدها و آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز برگ‌های جوان و پیر درختان چنار شهر اصفهان با شدت زردبرگی خیلی شدید در سال ۱۳۸۸

شرح آماره	کارتنوئید ($\mu\text{g/ml}$)		گلوکاتایون پراکسیداز ($\mu\text{mol/min gr FW}$)	
	جوان	پیر	جوان	پیر
میانگین	۲/۲۹	۳/۰۸	۱/۸۲	۲/۸۸
خطای معیار	۰/۵۵۰	۰/۴۴۰	۰/۳۹۹	۰/۶۸۴
میانه	۲/۳۰	۲/۷۰	۱/۱۸	۲/۳۴
انحراف معیار	۲/۷۷	۲/۲۹	۱/۹۵	۳/۰۶
کمینه	-*	-	۰/۰۴۵	۰/۱۶۵
بیشینه	۱۲/۴	۹/۱۰	۶/۵۴	۱۳/۴
دامنه	۱۵/۸	۱۳/۴	۶/۵۰	۱۳/۲
ضریب تغییرات (%)	۱۲۰	۷۴	۱۰۷	۱۰۶
تعداد نمونه	۲۵	۲۷	۲۱	۲۶

*: مقدار بسیار کم و غیر قابل تشخیص توسط دستگاه

جدول ۷. نتایج محاسبات آزمون کروسکال والیس غلظت کارتنوئید برگ‌های پیر و جوان با شدت زردبرگی ظاهری متفاوت در سال ۱۳۸۸

متغیر	کای اسکور	درجه آزادی	سطح معنی‌دار بودن
غلظت کارتنوئید برگ‌های جوان	۱۳/۵	۳	۰/۰۰۴
غلظت کارتنوئید برگ‌های پیر	۱۲/۸	۳	۰/۰۰۵

گاهی مواقع برگ‌های کلروزه غلظت آهن بیشتری در مقایسه با برگ‌های سبز داشته باشند (۲۲، ۲۵، ۳۲ و ۳۴). مورالس و همکاران (۲۸) نیز در مطالعه بر روی درختان هلو و گلابی نشان داد که غلظت آهن درختان دچار عارضه زردبرگی آهن، مشابه و یا حتی بیشتر از گیاهان سالم بود. در واقع، آهن ممکن است به شکل غیرقابل دسترس در برگ‌های زرد شده انباشته شود، بنابراین غلظت آهن ممکن است بهترین شاخص زردبرگی آهن نباشد (۸ و ۲۹). انسلی (۱۵) نیز معتقد بود که تمام آهن جذب شده به ترکیبات آلی تبدیل نشده و بوسیله سیتوپلاسم سلول‌های برگ جذب نمی‌شود. مارشنر و همکاران (۲۴) نیز بیان کردند که غلظت‌های به نسبت زیاد آهن در برگ‌هایی که نشانه‌های زردبرگی کمبود آهن را نشان می‌دهند، این فرض را تقویت می‌کند که آهن ممکن است به شکل غیرفعال در بخش‌هایی از برگ کلروزه تجمع یافته‌باشد. به هرحال غلظت آهن کل در برگ شاخص معتبری برای تعیین وضعیت تغذیه‌ای گیاه نمی‌باشد (۳۱).

تفاوت در وضعیت کلروفیل a (شکل ۲-الف و ب)، کلروفیل b (شکل ۲-پ و ت) و کارتنوئیدهای (شکل ۳-الف و ب) برگ‌های جوان و پیر درختان چنار با وضعیت زردبرگی متفاوت نشان دهنده نقش این رنگدانه‌ها در وضعیت سلامتی برگ بود. همانگونه که نتایج نشان می‌دهد با شدت یافتن زردبرگی ظاهری در برگ درختان، از غلظت کلروفیل a، b و کارتنوئیدها کاسته می‌شود. تورس و همکاران (۳۲) نیز بیان کردند که کاهش غلظت کلروفیل a، b و $a+b$ سبب زردبرگی آهن شده و به علت افزایش سلول‌های پارانشیم اسفنجی، ضخامت برگ‌ها را زیاد می‌کند. در پژوهش دیگری آبادیا و همکاران (۴) بیان کردند که کلروز آهن سبب کاهش ۷۹

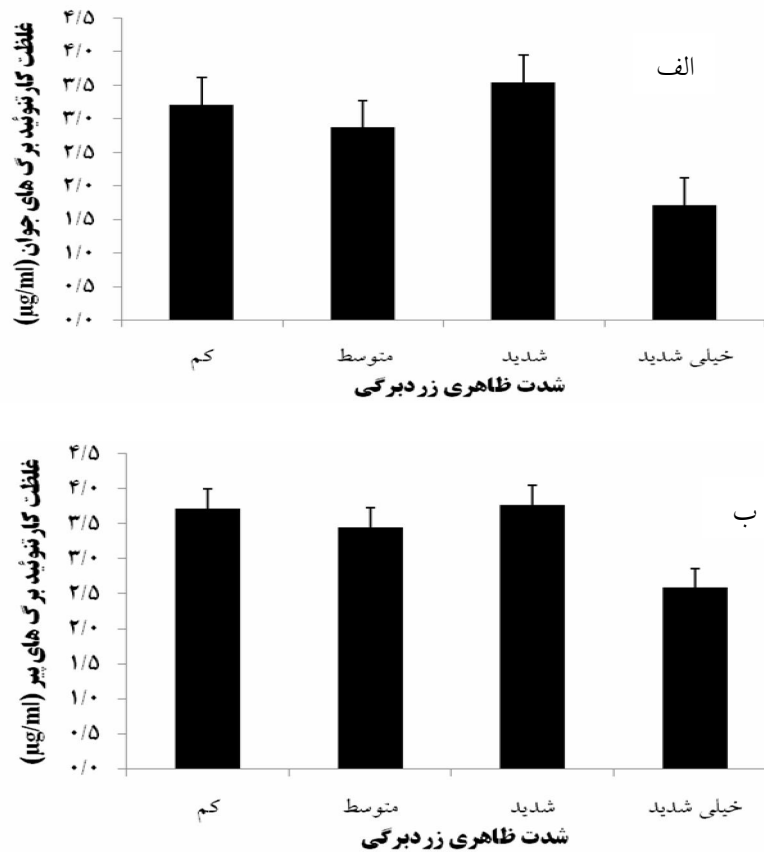
جوان (شکل ۳-الف) و پیر (شکل ۳-ب) نمونه‌برداری شده با شدت یافتن زردبرگی ظاهر کاهش یافت هر چند این روند در مورد شدت زردبرگی ظاهری شدید دیده نشد.

فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز برگ‌های جوان با افزایش شدت زردبرگی اندکی کاهش یافت (جدول ۵ و ۶).

بحث

زردبرگی ناشی از کمبود آهن یک از نارسایی‌های غالب در درختان مثمر و غیر مثمر به ویژه در خاک‌های آهنی به شمار می‌رود (۲). این عارضه در ایران نیز با توجه به مقادیر زیاد بی‌کربنات و پ-هاش به نسبت بالای خاک و آب (۱۱) فراوانی چشمگیری دارد. از دلایل احتمالی بروز این وضعیت، مقدار ناکافی آهن قابل جذب توسط گیاه در خاک و یا غیر فعال شدن آهن در گیاه می‌باشد (۱۷). در این مطالعه نیز پایین بودن غلظت آهن برگ در مقایسه با حدود بحرانی غلظت آهن در برگ‌های جوان و پیر درختان با شدت زردبرگی کم تا خیلی شدید (شکل ۱، ۲، ۳)، حکایت از عمومیت کمبود آهن در درختان چنار شهر اصفهان دارد، که می‌تواند به شکل بسیار بارز در درختان با شدت زردبرگی ظاهری خیلی شدید و یا مزمن در درختان با زردبرگی ظاهری کم دیده شود.

از سوی دیگر غلظت آهن برگ‌های با شدت‌های مختلف زردبرگی ظاهری نیز بیانگر عدم وجود هم‌بستگی بین شدت زردبرگی و غلظت آهن کل برگ درختان چنار است (جدول ۱)، که نشان می‌دهد غلظت آهن کل نمی‌تواند شاخصی از زردبرگی ناشی از آهن باشد. نتایج سایر مطالعات نیز بر این نکته تأکید دارد که ممکن است بین غلظت آهن برگ گیاهان کلروزه و گیاهان سالم اختلاف معنی‌داری وجود نداشته‌باشد و حتی



شکل ۳. غلظت کارتنوئید برگ درختان چنار با شدت زردبریگی متفاوت در سال ۱۳۸۸،

الف: برگ های جوان، ب: برگ های پیر

فیزیولوژیکی مناسب برای تعیین وضعیت آهن برگ درختان چنار باشد.

تغییرات کم فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در برگ درختان چنار (جدول ۵ و ۶)، شاید به سبب غیرفعال شدن و یا فعالیت کم این آنزیم احتمالاً به دلیل غلظت زیاد عناصر مس و فسفر در برگها باشد. با این حال در شرایط کمبود آهن، بسیاری از آنزیمهایی که فعالیت آنها وابسته به آهن است، غیرفعال شده و همین امر سبب تغییرات شدید متابولیکی در گیاه می شود (۳۰). آنزیمهای آنتی اکسیدانت نظیر کاتالاز، پراکسیداز و یک ایزوفرم از سوپراکسیداز دسموتاز، به آهن نیاز دارند و قسمتی از سازوکار دفاعی سلول در مقابل گونه های واکنشی فعال اکسیژن هستند و معمولاً با افزایش کمبود آهن

درصدی مقدار کلروفیل و ۶۲ درصدی مقدار کارتنوئیدها در درخت هلو شده و در نتیجه، فتوسنتز خالص را کاهش داده است. آهن فعال در ساخت پروتوپورفیرین آی ایکس که ماده سازنده کلروفیل است، نقش اساسی دارد و مشخص شده است که Fe^{2+} مسئول تشکیل کلروفیل است (۵ و ۱۲). سونماز و کاپلان (۳۱) به منظور تعیین مناسب ترین روش تخمین زردبریگی آهن درختان سیب، مشاهده کردند که غلظت کل کلروفیل برگ های سبز، بیشتر از برگ های کلروزه بود. تعدادی از پژوهشگران گزارش داده اند که تعیین غلظت کلروفیل کل می تواند بعنوان روشی استاندارد برای بررسی وضعیت تغذیه ای آهن گیاهان استفاده شود (۹ و ۱۱). در این مطالعه نیز به نظر می رسد که غلظت کلروفیل a و b می تواند به عنوان شاخص

هستند، بنابراین با کاهش غلظت کلروفیل a، b و کارتنوئیدهای برگ‌های جوان و پیر نمونه‌برداری شده همزمان با شدت یافتن زردبرگی ظاهری می‌توان اعلام کرد که کمبود آهن فعال در برگ از دلایل احتمالی زردبرگی دیده شده است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مدیریت و کارمندان محترم سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهر اصفهان به ویژه آقای مهندس فتحی سرپرست سازمان جهت تأمین مالی و پشتیبانی‌های فنی و نیز از همکاری مستمر مدیریت و کارکنان محترم مرکز پژوهشی کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان در طول اجرای این مطالعه، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

مقدار آنها کاهش می‌یابد (۱۳، ۲۰ و ۲۳). بار آکیوا (۶) نیز نشان داد که فعالیت پراکسیداز یک عامل مشخص و خوب برای تعیین وضعیت تغذیه‌ای آهن است. در این مطالعه بین درختان مختلف چنار با شدت زردبرگی متفاوت از نظر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز تفاوت معنی‌داری دیده شد.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه غلظت آهن برگ تمامی درختان چنار نمونه‌برداری شده کمتر از حد بحرانی بود و این حالت در درختان با زردبرگی ظاهری کم، نیز دیده شد، بنابراین کمبود آهن در کلیه درختان چنار مناطق مختلف شهر اصفهان صرف نظر از وضعیت زردبرگی ظاهری وجود دارد. هم‌چنین مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی نماینده‌ای از وضعیت آهن فعال در گیاه

منابع مورد استفاده

۱. شریفی نیا، م. ۱۳۷۲. چنار. واحد آموزش و پژوهش سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهر تهران. صفحه ۴۶.
۲. یزدان پناه، ع. ۱۳۷۵. اثر تیمارهای مختلف بر کلروز آهن درختان چنار شهر اصفهان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۳. خوشگفتار منش، ا. ح. ۱۳۸۶. ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای گیاه و مدیریت بهینه کودی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.
4. Abadia, A., A. Poc and J. Abadia. 1991. Could iron status be evaluated through photosynthetic pigment change? *J. Plant Nutr.* 7: 911-928.
5. Bar-Akiva, A. 1986. Induced formation of enzymes as a possible measure of micronutrient requirement of citrus trees. *Control de la Fertilizacion de lad Plantas Cultivadas*; CEBAC: Sevilla, Spain, 573-581.
6. Bar-Akiva, A. Maynard, D. N. English, J. E. 1987. A rapid tissue test for diagnosing iron deficiency in vegetable crops. *Sci. Hort.* 13: 284-285.
7. Bates, B. W. 1982. Parallels in plant and human iron nutrition. *J. Plant Nutr.* 5: 269-276.
8. Brown, J. C., and E. V. Wann. 1982. Breeding for fe efficiency: use of indicator plants. *J. Plant Nutr.* 5: 623-635.
9. Cakmack, I. and H. Marschner. 1988. Increase in membrane permeability and exudation in roots of zinc deficiency plants. *J. Plant Physiol.* 132: 356-361.
10. Chapman, H. D. and P. F. Pratt. 1961. *Methods of analysis for soils, plants and waters.* University of California, division of Agricultural Sciences, Berkeley, CA.
11. Chen, Y. and P. Barak. 1982. Iron nutrition of plants in calcareous soils. *Adv. Agron.* 35: 217-239
12. Foy, C. D., A. L. Fleming, and J. W. Schwortz. 1981. differential resistance of weeping love grass genotypes to iron related chlorosis. *J. Plant Nutr.* 3: 537-550.
13. Hellin, E., J. A. Hernandez-Cortez, A. Piqueras, E. Olmos, and F. Sevilla. 1995. The influence of the iron content on the superoxidedismutase activity and chloroplast ultrastructure of Citrus limon in iron nutrition in soil and plants. *J. Plant Nutr.* 5(3-7): 211-229.
14. Horwitz, W. 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist.* The Association Press., Washington, DC.
15. Insley, H., R. C. Boswell, and J. B. H. Gardiner. 1981. Foliar macronutrients (N, P, K, Ca, Mg) in lime (*Tilia spp.*). *Plant Soil* 61: 391-401.

16. Iturbe-Ormaetxe, I., J. F. Moran, C. Arrseigor, Y. Gogorcena, R. V. Klucas, and M. Becana. 1995. Activated oxygen and antioxidant defenses in iron-deficient pea-plants. *Plant Cell Environ.* 18: 421-429.
17. James, D. W. 1984. General summary of the second international symposium on iron nutrition and interaction in plants. *J. Plant Nutr.* 7: 859-864.
18. Katal, J. C., and B. D. Sharma. 1980. A new technique of plant analysis to resolve iron chlorosis. *Plant Soil.* 55: 105-119.
19. Koseoglu, A. T. and V. Acikgoz. 1995. determination of iron chlorosis with extractable iron analysis in peach leaves. *J. Plant Nutr.* 18: 153-161.
20. Lombardi, L., L. Sebastiani, and C. Vitagliano. 2003. Physiological, Biochemical and Molecular Effects of in vitro induced iron deficiency in peach rootstock Mr.S 2/5. *J. Plant Nutr.* 26: 2149-2163.
21. Llorente, S., A. Leon, A. Torrecillas, and C. Alcaraz. 1976. Leaf iron fractions and their relation with iron chlorosis in citrus. *Agrochimica* , XX (2-3), 204-212.
22. Loeppert, R. H. 1986. Reaction of iron and carbonates in calcareous soils. *J. Plant Nutr.* 9: 195-214.
23. Manthey, J. A., B. Tisserat, and D. E. Crowley. 1996. Root responses of sterile grown onion plants to iron deficiency. *J. Plant Nutr.* 19: 145-161.
24. Marschner, H., V. Romheld, and M. Kissel. 1986. different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. *J. Plant Nutr.* 9(3-7): 695-713.
25. Matocha, J. E., and D. Pennington. 1982. Effect of plant iron recycling on iron chlorosis of grain sorghum growth on calcareous soils. *J. Plant Nutr.* 5: 869-882.
26. Miller, G.W., J. C. Pushnik, and G. W. Welkie. 1984. Iron chlorosis, a worldwide problem, the relation of chlorophyll biosynthesis to iron. *J. Plant Nutr.* 7: 1-22.
27. Mohammad, M. J., H. Najim and S. Khresat. 1998. Nitric acid- and O-phenanthroline-extractable iron for diagnosis of iron chlorosis in citrus lemon trees. *Commun. Soil Sci. Plant.* 29: 1035-1043.
28. Morales, F., R. Grasa, A. Abadía, and J. Abadia. 1998. Iron chlorosis paradox in fruit trees. *J. Plant Nutr.* 21: 815-825.
29. Pierson, E. E., R. B. Clark, J. W. Maranville, and D. P. Coyne. 1982. Plant genotype differences to ferruous and total iron in emerging leaves. I. sorghum and maize. *J. Plant Nutr.* 7: 371-387.
30. Schoenwiss, D. F. 1973. Correction of lime induced chlorosis of Pin Oak by liquid soil injection. *HortSci.* 8(4): 333-334.
31. Sonmaz, S. and M. Kaplan. 2004. Comparison of various analysis methods for determination of iron chlorosis in apple trees. *J. Plant Nutr.* 7: 2007-2018.
32. Torres, R. M., J. D. E. Barra, G. A. Gonzalez, J. R. Alcazar and M. T. C. Leon. 2005. Morphological changes in leaves of Mexican lime affected by iron chlorosis. *J. Plant Nutr.* 29: 615-628.
33. Vose, P. B. 1982. Iron nutrition in plants: a word overview. *J. Plant Nutr.* 5: 233-249.
34. Wallace, A. 1986. Field trip of 1985. International iron symposium. *J. Plant Nutr.* 9: 1059-1063.

Physiological Indices of Iron Chlorosis of Plane Trees (*Plantanus orientalis* L.) in Green Space of Isfahan City

A. H. Khoshgoftarmanesh¹, H. R. Eshghizadeh^{2*}, A. Sanaeei Stovar³,
M. S. Mirlohi¹ and M. Taban⁴

(Received : Feb. 18-2011 ; Accepted : May 13-2012)

Abstract

Iron chlorosis is an important disorder of plane trees (*Plantanus orientalis* L.) in landscape of Isfahan city. Before using reclamation methods for correcting Fe chlorosis, it is necessary to find a suitable index for evaluating plant Fe status. Therefore, activity of glutathione peroxidase (GP) enzyme and concentration of carotenoids and chlorophyll *a* and *b* pigments, as physiological indices of active Fe, were compared to total Fe concentration. For this purpose, severity of chlorosis of plane trees at different regions of Isfahan city was recorded. Then, 73 trees with different severity of chlorosis symptoms were selected and their leaves were sampled on July 2009 and 2010. Concentration of Fe, chlorophyll *a* and *b* and carotenoids in leaves as well as activity of GP enzyme were measured. Results showed large variation in leaf Fe concentration between young and old leaves and also between leaves with different chlorosis severity symptoms. No correlation was found between leaf Fe chlorophyll concentration and severity of chlorosis symptoms. Concentrations of chlorophyll *a* in young and old leaves with very severe chlorosis symptoms were 44 and 37% less than those of slight chlorosis symptoms leaves, respectively. Concentration of chlorophyll *b* in young and old leaves with very severe chlorosis symptoms were 40 and 37% smaller than that in young and old leaves with slight chlorosis symptoms, respectively. Concentration of carotenoids varied among young and old leaves with different severity of chlorosis symptoms. Activity of GP in young leaves was also reduced by intensifying severity of chlorosis symptoms. According to the result of the present study, activity of GP enzyme and leaf concentration of carotenoids and chlorophyll *a* and *b*, are suitable physiological indices of iron chlorosis showing close correlation with severity of Fe chlorosis in plane trees.

Keywords: Active iron, Glutathione peroxidase enzyme, Chlorophyll, Carotenoids.

1. Dept. of Soil Sci., College of Agric., Isf. Univ. Technol., Isfahan, Iran.

2. Dept. of Agron. and Plant Breed. College of Agric., Isf. Univ. of Technol., Isfahan, Iran.

3. The Member of Soilless Culture Res. Center.

4. Master of Parks and Green Space Org., Isfahan, Iran.

*: Corresponding Author, Email: hr.eshghizadeh@cc.iut.ac.ir