

سنتر کمپلکس‌های آهن با EDDHA اصلاح شده و کاربرد آن در انتقال ریز مغذی آهن به گیاهان

باقر افتخاری سیس⁺*

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

غلامرضا گوهری⁺، اصغر محمدی

دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

حسام الدین یونسی عراقی

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

علی اکبری

پژوهشکده پزشکی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

محمد کاظم بهرامی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

Matthew Paige

دانشگاه ساسکاچوان، ساسکاچوان، کانادا

چکیده: در این پژوهش، کمپلکس آهن با کیلاته کننده آلی EDDHA اصلاح شده سنتز شده و برای تغذیه ریز مغذی آهن به گیاهان مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به این که خود مولکول EDDHA به عنوان پرکاربردترین کیلاته کننده آلی آهن برای مصرف‌های کشاورزی دارای مشکل‌های مانند قابلیت انحلال بالا بوده و همچنین زیر نور UV تجزیه می‌شود، در این کار مولکول EDDHA با گروه‌های آلی اصلاح شده، که نه تنها به سادگی آهن را در اختیار گیاه قرار می‌دهد، بلکه به خاطر حلالیت پایین نسبت به خود EDDHA، پس از کوددهی با دفعه‌های آبیاری از خاک اطراف ریشه گیاه حذف نخواهد شد، و برای مدت طولانی، آهن مورد نیاز گیاه بدون نیاز به کوددهی تامین خواهد شد. همچنین نور UV تابیده شده در پرتو نور خورشید باعث ایزومری شدن مولکول EDDHA شده و سبب از دست دادن آهن می‌شود، که با اصلاح صورت گرفته بر روی EDDHA، این ماده نسبت به نور UV پرتو خورشید مقاوم شده و آهن خود را حفظ می‌کند. تأثیر کمپلکس‌های تهیه شده بر روی سبزی‌نگی کلروفیل، میانگین طول برگ، میانگین عرض برگ و میانگین ارتفاع گیاه لوبیا مورد بررسی قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: EDDHA، ریز مغذی آهن، کمپلکس آهن، هیدروکسی فنیل آمید.

KEYWORDS: EDDHA; Micro nutrition; Iron chelating agent; Hydroxyphenyl amide.

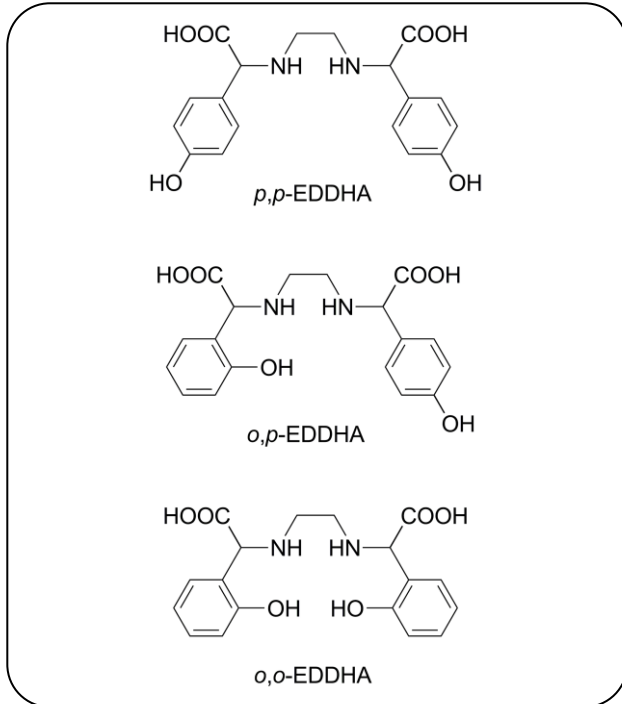
+E-mail: eftekhari@maragheh.ac.ir & gohari.gh@maragheh.ac.ir

*عهدہ دار مکاتبات

مقدمه

به دلیل این که آهن در سنتز کلروفیل شرکت کرده و به عنوان کاتالیست در تعدادی از واکنش‌های متابولیکی شرکت می‌کند، عنصر آهن یکی از ریز مغذی‌های ضروری برای ادامه حیات گیاهان است [۱]. به طوری که اگر آهن به مقدار کافی در اختیار گیاه قرار نگیرد، گیاه دچار بیماری فقر آهن یا همان زردبریگی می‌شود [۲]. در این حالت چرخه فتوسنتز دچار اختلال شده و با کاهش جدی رشد و باردهی فرآورده روبه‌رو خواهد شد. روش‌های درمان گوناگون برای زردبریگی انجام شده است، که بیش‌تر شامل افزایش نمک‌های آهن به خاک یا نمک‌پاشی با اسپری می‌باشد. امروزه، کیلاته کردن آهن با عامل‌های کیلاته‌کننده آلی، بهترین و اقتصادی‌ترین روش محلول نگه داشتن عنصر آهن در محیط‌های بازی می‌باشد. بنابراین با توجه به pH خاک‌های ایران و بازی بودن آن، استفاده از کیلات‌های آلی آهن در کشاورزی امری ضروری بوده و به عبارتی تنها منبع تأمین کننده آهن مورد نیاز گیاهان به حساب می‌آید [۳، ۴]. اثبات شده است که افزایش آهن کیلاته شده بازده خیلی از فرآورده‌ها را افزایش می‌دهد [۲].

معرف‌های کیلاته‌کننده ماکرومولکول‌های آلی هستند که چندین گروه عاملی با توانایی ایجاد بیش از یک پیوند با یون‌های فلزی را دارند، که باعث افزایش پایداری و حلالیت آن‌ها می‌شود. در کیلات‌ها معرف کیلاته‌کننده به عنوان حامل یون فریک Fe^{3+} عمل می‌کند و یون فریک را به سطح تماس ریشه انتقال می‌دهد، که در آنجا آزاد شده و به یون فرو Fe^{2+} کاهش می‌یابد، که می‌تواند توسط ریشه جذب شود. معرف کیلاته‌کننده آزاد به فاز خاک برگشته و آماده ترپ کرده یون‌های دیگر فریک و شروع دوباره چرخه انتقال آهن به ریشه گیاه می‌شود [۵]. مهم‌ترین عامل‌های کیلاته‌کننده آهن که در حال حاضر به مقدار زیادی به کار گرفته می‌شوند، بنیان‌های آلی EDDHA، EDTA، DTPA، HEEDTA، NTA و سیتریک اسید می‌باشند، که نمک آهن این ترکیب‌ها به عنوان کود مورد مصرف قرار می‌گیرند. قابلیت کمپلکس کردن یون‌های فلزی به نوع معرف کیلاته‌کننده و ویژگی‌های خاک به‌ویژه pH بستگی دارد. موثرترین معرف‌های کیلاته‌کننده آهن در تیمار زردبریگی، ترکیب‌های فنولی دارای اسکلت پلی‌آمین-کربوکسیلیک اسید می‌باشد، که توانایی تشکیل کمپلکس‌های فریک با پایداری بالا در محلول‌های خنثی و قلیایی را دارد [۶]. در طی فرایند تولید EDDHA سه ایزومر ارتو-ارتو، ارتو-پارا و پارا-پارا تشکیل می‌شود (شکل ۱)، که با توجه به مباحث تغذیه گیاهی و مکانیسم‌های



شکل ۱ - ساختار ایزومرهای ترکیب EDDHA.

جذب آهن توسط گیاه و ماهیت فضائی این کمپلکس‌ها، از بین سه ایزومر فوق فقط ایزومر ارتو-ارتو توسط گیاه جذب می‌شود و می‌تواند به عنوان کود مورد مصرف قرار گیرد.

چندین روش برای سنتز مولکول EDDHA تاکنون گزارش و پتنت شده است، که در بیش‌تر موارد تشکیل ایزومرهای ارتو-پارا و پارا-پارا به عنوان فرآورده‌های جانبی چشمگیر بوده است. افزون بر این ایزومر دلخواه ارتو-ارتو به علت حلالیت بیش‌تر در آب در چند آبیاری اول از خاک پیرامون ریشه گیاه شسته شده و حذف می‌شود که نیاز به کوددهی همیشگی است. همچنین ایزومر ارتو-ارتو زیر تابش فرابنفش به ایزومرهای ناخواسته دیگر نوآرایی کرده و تجزیه می‌شود. بنابراین، ارایه روش‌های مؤثر برای سنتز EDDHA‌های اصلاح شده که مشکل حلالیت و تجزیه آن به ایزومرهای دیگر را رفع کند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

ترکیب EDDHSA نمونه اصلاح شده از ترکیب EDDHA است، که داری گروه‌های سولفونیک اسید در موقعیت پارا است که برخلاف ترکیب EDDHA امکان تشکیل ایزومرهای دیگر به غیر از ایزومر ارتو-ارتو وجود ندارد. ولی از سوی دیگر با توجه به گروه سولفونیک حاضر در ترکیب، EDDHSA حلالیت این ترکیب در آب به مقدار فراوانی افزایش می‌یابد، که طی اولین آبیاری شسته شده و از ریشه گیاه دور می‌شود [۷].

پروپیونیک اسید، کاپریلیک اسید و اولئیک اسید) قطره قطره در مدت ۳۵ دقیقه به آن افزوده شد. سپس بالن محتوی واکنش در دمای 40°C و به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. در پایان واکنش SOCl_2 مازاد تحت خلاء تقطیر و حذف می‌شود و آسید کلریدهای ۲ سنتز شده به صورت ماده‌های مایع و یا روغنی به‌دست آمدند.

سنتز آمیدوفنول‌های ۳

۴-آمینوفنول (۳ گرم، 0.028 مول) را در 100 میلی‌لیتر THF حل شد سپس آسید کلرید ۲ (0.014 مول) را در دمای اتاق قطره قطره به آن افزوده شد. مخلوط واکنش در دمای اتاق به مدت ۱۸ ساعت به آرامی هم زده شد. محلول از رسوب جدا شده و به آن 150 میلی‌لیتر اتیل استات افزوده شد و سه مرتبه با محلول اشباع NH_4Cl (3×100 میلی‌لیتر) شسته شد. محلول دارای فرآورده با Na_2SO_4 خشک شده و حلال با تبخیر کننده چرخان خلا تبخیر شد.

N-(۴-هیدروکسی فنیل)استامید

FT-IR (KBr, ν): 2600-3580 (br, O-H), 3299 (N-H), 3017 ($\text{sp}^2\text{C-H}$), 2970, 2884 ($\text{sp}^3\text{C-H}$), 1663 (C=O), 1530 (C=C), 1369 (CH_3 -bending), 1249 (C-N), 1115 (C-O) cm^{-1} .

N-(۴-هیدروکسی فنیل)پروپیونامید

FT-IR (KBr, ν): 3009-3617 (br, O-H), 3301 (N-H), 2951, 2884 ($\text{sp}^3\text{C-H}$), 1667 (C=O), 1526 (C=C), 1360 (CH_3 -bending), 1194 (C-N), 1035 (C-O) cm^{-1} .

N-(۴-هیدروکسی فنیل)اکتانامید

FT-IR (KBr, ν): 3100-3512 (br, O-H), 3312 (N-H), 3070 ($\text{sp}^2\text{C-H}$), 2932, 2862 ($\text{sp}^3\text{C-H}$), 1653 (C=O), 1536 (C=C), 1456, 1379 (CH_2 and CH_3 -bending), 1245 (C-N), 1103 (C-O) cm^{-1} .

N-(۴-هیدروکسی فنیل)اولئامید

T-IR (KBr, ν): 3120-3570 (br, O-H), 3280 (N-H), 3010 ($\text{sp}^2\text{C-H}$), 2920, 2848 ($\text{sp}^3\text{C-H}$), 1651 (C=O), 1546, 1517 (C=C), 1460, 1375 (CH_2 and CH_3 -bending), 1249 (C-N), 1101 (C-O) cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 7.27 (d, 8.0 Hz, 2H, CH_{Ar}), 6.76 (d, 6.8 Hz, 2H, CH_{Ar}), 5.35-5.40 (m, 2H, CH_{alkene}), 2.35 (t, 6.1 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO}$), 2.01-2.06 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-alkene}$), 1.72 (q, 5.5 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.27-1.33 (m, 20H, $-\text{CH}_2-$), 0.90 (t, 5.2 Hz, 3H, CH_3) ppm.

در این پژوهش، روشی برای سنتز EDDHA دارای گروه‌های آلکیل با طول زنجیر متفاوت در موقعیت پارا ارایه شده است، که از تشکیل ایزومرهای ناخواسته ارتو-پارا و پارا-پارا جلوگیری کرده و همچنین از تجزیه و تبدیل ایزومر مطلوب ارتو-ارتو به ایزومرهای ناخواسته پیشگیری می‌کند.

بخش تجربی

مواد شیمیایی و دستگاهها

در این پژوهش نقطه ذوب ترکیب‌ها در لوله مؤین با دستگاه الکتروترمال Bamstead Electrothermal مدل 5122 اندازه‌گیری شد. طیف‌های FT-IR به صورت قرص KBr در اسپکترومتر Perkin Elmer-781 به دست آمدند. طیف‌های $^1\text{H NMR}$ در حلال دوتره مناسب ($\text{DMSO-}d_6$) و توسط دستگاه Bruker 500 MHz ثبت شدند. گلخانه مورد استفاده در این آزمایش دارای پوشش پلی اتیلنی سفید و مجهز به سامانه سرمایش بوده و در طول آزمایش دما $15-30^{\circ}\text{C}$ درجه سلسیوس، نور 500 میکرومول بر متر مربع در ثانیه و رطوبت نسبی در حدود $40-50\%$ بود. برای ارزیابی مقدار سبزینگی (شاخصی از کلروفیل برگ) به روش غیر تخریبی از دستگاه Spad استفاده شد. به این منظور پیش از انجام نمونه‌برداری، میزان سبزینگی برگ، با استفاده از دستگاه Spad مدل (502 Plus Chlorophyll Meter Japan) اندازه‌گیری شد، به این صورت که از هر گلدان ۳ گیاه به طور تصادفی انتخاب و از هر گیاه مقدار کلروفیل پنج برگ به طور تصادفی با دستگاه یادشده خوانده شد، سپس میانگین نمونه‌ها ثبت شد. برای اندازه‌گیری طول، عرض، ارتفاع گیاه از دستگاه کولیس مدل (Harden- MET821) و برای سنجش pH و EC خاک به ترتیب با استفاده از دستگاه pH سنج و EC سنج (Gondo PL-700PC) استفاده شد. از نرم افزار آماری SAS برای تجزیه و تحلیل‌های آماری استفاده شد. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون کم‌ترین اختلاف معنی‌دار (L.S.D) انجام شد. مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل اتانول مطلق، گلی‌اگسیلیک اسید، سولفوریک اسید، فنل، کلروفرم، SDS، ۴-آمینو فنل، فریک کلرید و حلال‌ها شامل اتانول، متانول، اتیل استات، *n*-هگزان و DMSO به شکل تجاری مورد استفاده قرار گرفتند.

سنتز آسید کلریدهای آلیفاتیک ۲

$8/7$ میلی‌لیتر از SOCl_2 را در یک بالن ریخته و در حمام یخ قرار داده شد و $1/9$ میلی‌لیتر از اسیدهای خطی ۱ شامل (استیک اسید،

نتیجه‌ها و بحث

سنتر EDDHAهای اصلاح شده ۶ و تهیه کمپلکس آن‌ها با آهن (III)

به منظور تعدیل انحلال EDDHA اصلاح شده و همچنین برای این که در مرحله سنتر EDDHA فعالیت ترکیب فنولی کاهش نیابد، از واکنش *N*-آسیلاسیون ترکیب ۴-آمینوفنول استفاده شد. به این منظور کربوکسیلیک اسیدهای (۱) با تعداد کربن‌های گوناگون با استفاده از تیونیل کلرید (SOCl_2) به آسیل کلرید مربوطه تبدیل شده و سپس با ۴-آمینوفنول به ترکیب *N*-آسیل-۴-آمینوفنول (۲) تبدیل شد (شکل ۲). به منظور بررسی اثر شاخه‌دار شدن گروه‌های آلکیلی با تعداد کربن بیش‌تر در موقعیت پارا، در گام بعدی برای استفاده از پتانسیل موجود در مولکول اولئیک اسید با داشتن پیوند دوگانه در موقعیت ۹،۱۰ به تبدیل آن به اپوکسی (۴) اقدام شد. و سرانجام ترکیب ۱۰-هیدروکسی-۹-(۴-هیدروکسی‌فنیل)آمینو)کتادکانوئیک اسید(۵) با واکنش باز شدن حلقه اپوکسی با ۴-آمینوفنول سنتر شد (شکل ۳).

سنتر EDDHAهای اصلاح شده (۶) در موقعیت پارا حلقه فنولی با استفاده از آمیدوفنول‌ها (۳) و *N*-آلکیل‌آمینوفنول (۵) سنتر شده، مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این که روش استفاده شده برای سنتر EDDHA که در منابع گزارش شده و از محلول آبی سدیم هیدروکسید استفاده شده است، در مورد آمیدوفنول‌ها قابل استفاده نبوده و فرآورده‌های جانبی زیادی به دست آمده از هیدرولیز پیوند آمیدی به دست می‌آید، روش‌های گوناگونی برای سنتر بررسی شد. همان‌گونه که در شکل ۴ آورده شده است، از مخلوط حلال متانول/آب برای افزایش حلالیت آمیدوفنول‌ها و انجام واکنش استفاده شد. همچنین به دلیل حضور گروه‌های آمیدی در موقعیت پارا نه تنها فعالیت آمیدوفنول‌ها نسبت به فنول افزایش یافته، بلکه امکان تشکیل فرآورده‌های دیگر غیر از ایزومر دلخواه ارتو-ارتو وجود ندارد. به منظور کاهش حلالیت EDDHA و اثرهای حلالیت EDDHA در انتقال آهن، گروه‌های آلکیل با طول زنجیره متفاوت مورد بررسی و سنتر قرار گرفت. در ادامه کیلات‌های آهن (۷) با واکنش EDDHAهای اصلاح شده با نمک فریک کلرید در مخلوط استون/آب تحت شرایط بازروانی سنتر شدند (شکل ۴). همچنین برای مقایسه، کیلات EDDHA اصلاح نشده نیز در شرایط یکسان تهیه شد.

برای تایید سنتر کمپلکس آهن، از ترکیب EDDHA و EDDHA/Fe(III) در دو غلظت متفاوت طیف جذبی رسم شد. همان‌گونه که در شکل ۵ دیده می‌شود، ترکیب EDDHA جذبی

سنتر اپوکسی ۴ از اولئیک اسید و باز کردن حلقه اپوکسی با ۴-آمینوفنول (ترکیب ۵)

برای سنتر نخست اولئیک اسید، فرمیک اسید و هیدروژن پراکسید با نسبت‌های مولی ۱ : ۲ : ۲۰ در تولوئن در دمای اتاق با هم مخلوط شده و سپس دمای واکنش را تا 80°C گرم کرده و به مدت ۲ ساعت هم زده شد. لایه آلی جدا شده و با آب گرم ۳ مرتبه شسته شده و با کمک Na_2SO_4 خشک شد و حلال با تبخیر کننده چرخان خلا تقطیر شد.

۱۰-هیدروکسی-۹-(۴-هیدروکسی‌فنیل)آمینو)کتادکانوئیک اسید

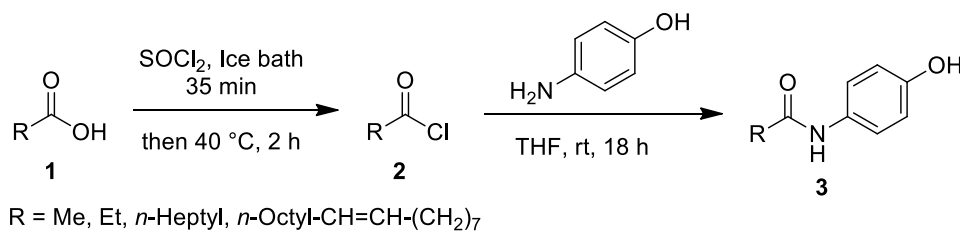
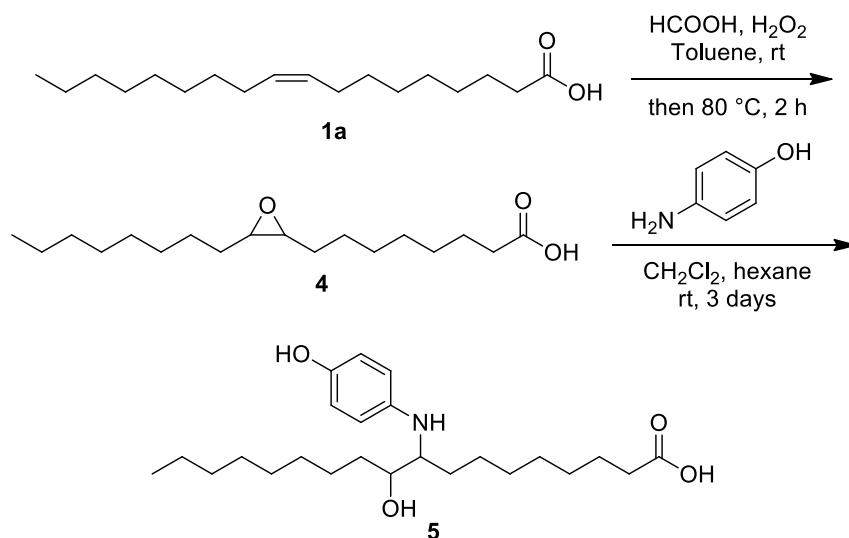
FT-IR (KBr, v): 2509-3521 (br, $\text{CO}_2\text{-H}$ O-H, N-H), 3051 ($\text{sp}^2\text{C-H}$), 2917, 2853 ($\text{sp}^3\text{C-H}$), 1699 (C=O), 1522 (C=C), 1457, 1401 (CH_2 and CH_3 -bending), 1258 (C-N), 1091 (C-O) cm^{-1} .

سنتر EDDHAهای اصلاح شده ۶ با استفاده از آمیدوفنول ۳ و ۵

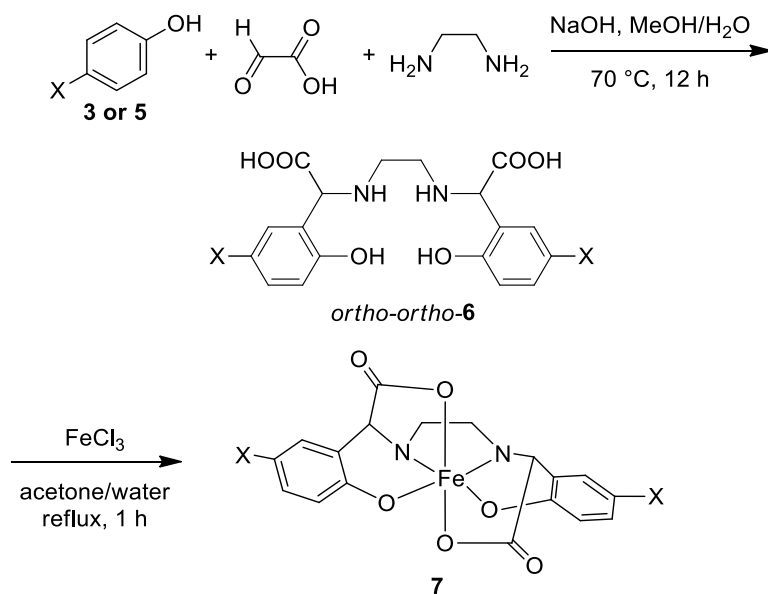
در یک بالن ۲۵ میلی لیتری، به ترتیب ۱۰ میلی لیتر متانول، ۲ میلی مول گلی‌اگزالیک اسید ۵۰٪ (۲۲۰ میکرولیتر) و یک میلی مول اتیلن‌دی‌آمین (۶۷ میکرولیتر) افزوده شد و ۱۰ دقیقه هم زده شد تا رسوب شیری رنگی به دست آید. سپس ۲ میلی مول آمیدوفنول و ۱ میلی لیتر سود ۴ مولار (۴ میلی مول) به مخلوط واکنش افزوده شد. مخلوط واکنش در دمای 70°C به مدت ۱۲ ساعت هم‌زده شد. پس از پایان واکنش حلال واکنش توسط تبخیر کننده چرخان تحت خلا تبخیر شد و رسوب نارنجی رنگی به دست آید. برای خالص سازی فرآورده‌ی مورد نظر از مواد اولیه، رسوب به دست آمده ۵ بار با ۱۵ میلی لیتر اتیل استات شستشو داده شد. فرآورده در دسیکاتور خشک شد و در ظرف بسته در یخچال نگهداری شد.

سنتر کمپلکس‌های EDDHAهای ۶ با آهن (III)

برای سنتر کمپلکس مورد نظر در یک بالن، ۱ میلی مول از ترکیب EDDHA ۶ سنتر شده در مرحله پیش در ۱۰ میلی لیتر استون و آب به نسبت (۲:۱) حل شد. سپس ۱ میلی مول آهن (III) کلرید به مخلوط واکنش کم کم افزوده شد. مخلوط به دست آمده به مدت ۱ ساعت بازروانی شد. رسوب‌های سیاه رنگی به دست آمد که با استون شستشو داده شد و سپس در دسیکاتور خشک شد و در یک ظرف در بسته برای آزمایش‌های بعدی نگهداری شد. در همه موارد پیشرفت واکنش با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) بررسی شد.

شکل ۲- سنتز *N*-آسیل-۴-آمینوفنول (۳).

شکل ۳- سنتز ۱۰-هیدروکسی-۹-(۴-هیدروکسی فنیل) آمینو) اکتادکانوئیک اسید (۵).



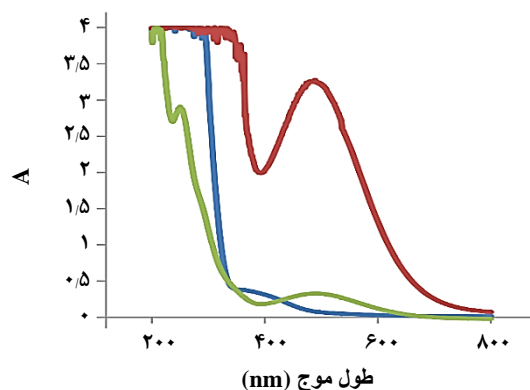
X = NHCOR; R = Me (F2), Et (F3), *n*-Heptyl (F4), *n*-Octyl-CH=CH-(CH₂)₇ (F5)
 X = NHCH((CH₂)₈COOH)CH(OH)-*n*-Octyl (F6)
 X = H (F7)

شکل ۴- سنتز EDDHA های اصلاح شده (۶).

و در فتوسنتز نیز نقش دارد که باعث افزایش سبزیگی برگ (ساخت کلروفیل) در برگ‌های جوان می‌شود در نتیجه فتوسنتز افزایش می‌یابد و مواد فتوسنتزی بیش‌تری به نقطه‌های گوناگون وارد می‌شود و سرانجام رشد افزایش می‌یابد [۸]. نتیجه‌های مقایسه میانگین به دست آمده از تجزیه آماری نشان داد که بیش‌ترین میانگین ارتفاع گیاه در تیمار F7 و کم‌ترین آن در تیمار F5 نسبت به شاهد بدون آهن دیده شد و در مقایسه بین تیمارها نیز بیش‌ترین اثر بخشی در تیمار F7 دیده شد (شکل ۶-ب). آهن یکی از عنصرهای ضروری برای گیاه است و نقش اساسی در تعداد گرانیای کلروپلاست دارد. در اثر کمبود آهن اندازه کلروپلاست‌ها کاهش می‌یابد و سرانجام در اثر کاهش فرآورده‌های فتوسنتزی منجر به کاهش ارتفاع گیاه می‌شود [۹]. نتیجه‌های به دست آمده از داده‌های شکل ۶-۶ نشان داد که نوع آهن اثرهای متفاوتی بر میانگین عرض برگ گذاشته است، به گونه‌ای که بیش‌ترین اثر بخشی در تیمار F6 نسبت به شاهد و کم‌ترین اثر بخشی در تیمار F1 بر میانگین عرض برگ دیده شد و همچنین در مقایسه بین تیماری نیز بیش‌ترین اثر بخشی مثبت مربوط به F6 بود. در بررسی انواع گوناگون آهن بر میانگین طول برگ، نتیجه‌ها نشان داد که آهن‌های گوناگون اثرهای معنی‌دار مثبتی بر میانگین طول برگ نسبت به شاهد (F0) داشتند ولی در مقایسه بین تیمارها بیش‌ترین اثر بخشی مثبت مربوط به تیمار F2 و F6 بود (شکل ۶-د). حضور آهن با ایجاد رشد رویشی مناسب با افزایش تعداد و سطح برگ مشارکت در فتوسنتز باعث افزایش رشد گیاه می‌شود اگر چه آهن در ساختمان کلروفیل‌ها شرکت ندارد ولی کمبود آن سبب کاهش میزان کلروفیل و سرانجام سبب بروز نشانه‌های کمبود می‌شود [۱۰]. همچنین یکی از مهم‌ترین عنصرهایی است که در متابولیسم نیتروژن و در نتیجه سطح برگ گیاه نقش دارد و در نتیجه کمبود آهن باعث کاهش سطح برگ (طول و عرض) گیاه می‌شود [۱۱].

بررسی هدایت الکتریکی (EC) و pH خاک پس از تیمار با کیلات‌های گوناگون آهن

به منظور بررسی و مقایسه میزان یون‌های موجود در خاک پس از تیمار، آزمایش هدایت الکتریکی انجام شد. نتیجه‌های به دست آمده از داده‌ها نشان داد که در انواع گوناگون آهن بیش‌ترین هدایت الکتریکی خاک مربوط به تیمار F6 و F7 و کم‌ترین آن در تیمار F5 نسبت به شاهد دیده شد که در مقایسه بین تیماری نیز بیش‌ترین مقدار هدایت الکتریکی نیز مربوط به تیمار F7 بود (شکل ۷-ا). که نشان دهنده میزان زیادی

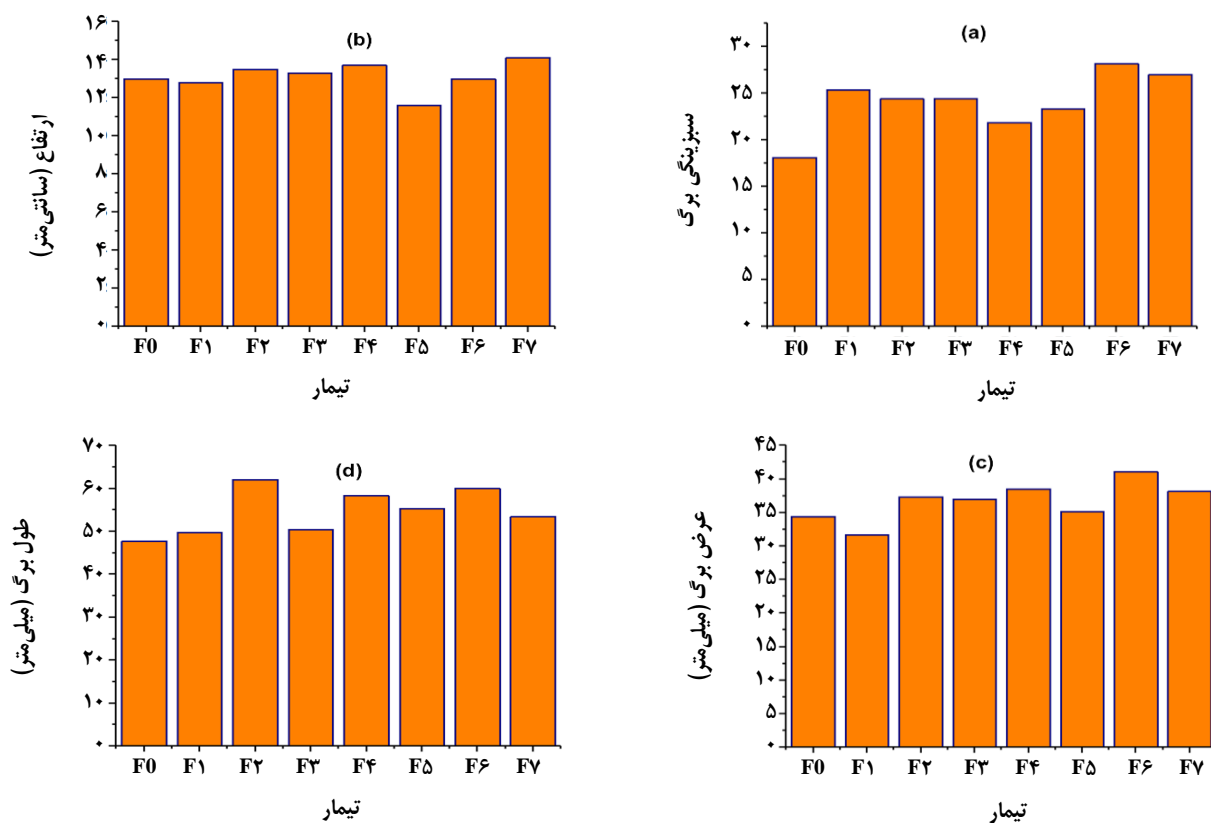


شکل ۵- طیف جذب EDDHA (آبی) و EDDHA/Fe(III) رقیق (سبز) و غلیظ (سرخ).

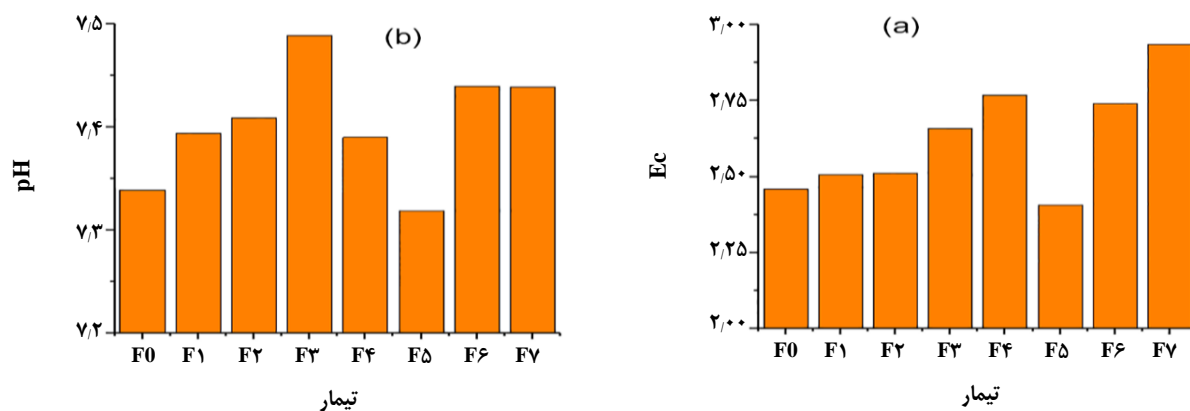
در طول موج ۳۹۱ نانومتر نشان می‌دهد. با تشکیل کیلات آهن رنگ نمونه سرخ متمایل به قهوه‌ای شده و جذبی در ناحیه ۴۹۳ نانومتر نشاد داد، که تاییدی بر سنتز کمپلکس آهن می‌باشد. تغییر رنگ همانندی برای کیلات‌های آهن با EDDHA‌های اصلاح شده دیده شد.

بررسی تأثیر کمپلکس‌های EDDHA/Fe(III) بر رشد گیاه

به منظور بررسی تأثیر کودهای EDDHA/Fe(III) (۷) بر رشد گیاه لوبیا مقدار ۵ میلی گرم از هر کیلات در یک لیتر آب حل شد و در مدت زمان‌های مشخصی به گیاه داده شد. مقدار کلی کیلات استفاده شده به ازای ۰/۵ کیلو گرم خاک ۵ میلی گرم می‌باشد. برای مقایسه تأثیر آهن بر رشد گیاه یک نمونه شاهد بدون آهن (F0) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برای مقایسه از یک نمونه تجاری نیز به مقدار یکسان استفاده شد (F1). کیلات‌های مورد استفاده در شکل ۶-ا نشان داده شده است. نتیجه‌های به دست آمده بیانگر آن است که آهن‌های گوناگون اثرهای معنی‌دار متفاوتی بر میانگین سبزیگی برگ داشت. به طوری که بیش‌ترین سبزیگی برگ مربوط به تیمار F6 و کم‌ترین آن مربوط به تیمار شاهد F0 بود. در حالت کلی با توجه به شکل ۵ بیش‌ترین اثر بخشی نوع آهن بر میزان سبزیگی برگ در تیمارهای F5 و F6 نسبت به شاهد دیده شد. آهن یکی از عنصرهای کم مصرف ضروری مورد نیاز گیاه می‌باشد که در تولید انرژی و فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بسیاری از واکنش‌های حیاتی دخالت دارد و به عنوان کوفاکتوری یگانه حدود ۱۴۰ آنزیم را کاتالیز می‌کند بر این اساس نقش اساسی در رشد و توسعه گیاهان بازی می‌کند همچنین آهن در متابولیسم RNA کلروپلاست



شکل ۶- تأثیر تیمارهای F1 تا F7 بر روی (a) سبزیگی برگ، (b) میانگین ارتفاع، (c) میانگین عرض برگ و (d) میانگین طول برگ گیاه لوبیا.



شکل ۷- هدایت الکتریکی (Ec) و pH خاک پس از تیمار.

همان گونه که در مقدمه اشاره شده است، حضور گروه‌های آلکیل در موقعیت پارا از ایزومریزاسیون ترکیب EDDHA در حضور نور جلوگیری می‌کند. به این منظور محلول کمپلکس EDDHA های اصلاح شده با آهن برای کوددهی با روش محلول پاشی تهیه شد و به مدت ۷ روز در مقابل نور خورشید قرار داده شد.

آهن آزاد شده در خاک برای تأمین آهن مورد نیاز گیاه و عملکرد بهتر تیمار F6 و F7 می‌باشد. همچنین آزمایش اسیدیته خاک پس از تیمار نشان داد که میزان اسیدیته خاک در انواع گوناگون تیمار آهنی اثرهای معنی‌داری نسبت به شاهد نداشت و pH خاک در بازه‌ی pH زیستی بوده و برای گیاه مناسب می‌باشد (شکل ۷-b).

خاک‌های آهنی رنج می‌برند، بنابراین نتیجه‌های این پژوهش می‌تواند به کاهش اثرهای پدیده کلروز ناشی از آهن که در اصل به دلیل عدم جذب آهن در خاک‌های آهنی اتفاق می‌افتد، کمک شایانی بنماید. به‌طور کلی در بین انواع کودهای آهن استفاده شده در این آزمایش، گیاهانی که با تیمار F6 (EDDHA) اصلاح شده با اپوکسید اولئیک اسید تغذیه شده بودند، نتیجه‌های بهتری در مقایسه با سایر تیمارها نشان دادند، که می‌تواند به حضور گروه اسیدی اضافی در ساختار که خود به کمپلکس شده آهن کمک می‌کند، نسبت داده شود.

قدردانی

این پروژه با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین‌المللی برای انجام طرح مشترک با عنوان "سنتز و بهبود عملکرد مولکول EDDHA برای تغذیه ریز مغذی آهن به گیاهان" با مشارکت همکار خارجی از کشور کانادا انجام شده است.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۱۰

سپس محلول‌های به دست آمده در مقایسه با محلول کمپلکس EDDHA اصلاح نشده با آهن مورد بررسی قرار گرفت. در محلول EDDHA اصلاح نشده با آهن به دلیل ایزومریزاسیون فرآورده اورتو-اورتو به اورتو-پارا یا پارا-پارا آهن موجود در کمپلکس آزاد شده و در ته ظرف رسوب داد در حالی که در محلول DEEHA های اصلاح شده با آهن تغییری به دست نیامد.

نتیجه گیری

در این کار پژوهشی کیلات‌های نوینی از آهن (III) با استفاده از EDDHA های اصلاح شده تهیه شد و کاربرد آن‌ها به عنوان حامل آهن به گیاه لوبیا مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی کلی نتیجه‌های به دست آمده می‌توان چنین استنباط کرد که در سطح‌های گوناگون آهنی خاک بیشترین اثر بخشی در شاخص‌های اندازه‌گیری شده در خاک آهنی ۱۰ درصدی مشاهده شد و در تیمار انواع گوناگون آهن‌های تیماری در گیاه (شاخص‌های اندازه‌گیری شده) بیش‌ترین اثر بخشی در تیمارهای F6 و F7 دیده شد. با عنایت به این مطلب که بیش‌تر کشاورزان ایران، به ویژه منطقه آذربایجان از مشکل

مراجع

- [1] Kim S. A., Guerinot M. L., [Mining Iron: Iron Uptake and Transport in Plants](#), *FEBS Lett.*, **581**: 2273-2280 (2007).
- [2] Caballero R., Ordovás J., Pajuelo P., Carmona E., Delgado A., [Iron Chlorosis in Gerber as Related to Properties of Various Types of Compost Used as Growing Media](#), *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, **38**: 2357-2369 (2007).
- [3] Rojas C.L., Romera F.J., Alcántara E., Pérez-Vicente R., Sariego C., García-Alonso J.I., Boned J., Marti G., [Efficacy of Fe\(o,o-EDDHA\) and Fe\(o,p-EDDHA\) Isomers in Supplying Fe to Strategy I Plants Differs in Nutrient Solution and Calcareous Soil](#), *J. Agr. Food Chem.*, **56**: 10774-10778 (2008).
- [4] Hernández-Apaolaza L., García-Marco S., Nadal P., Lucena J. J., Sierra M. A., Gómez-Gallego M., Ramírez-López P., Escudero R., [Structure and Fertilizer Properties of Byproducts Formed in the Synthesis of EDDHA](#), *J. Agr. Food Chem.*, **54**: 4355-4363 (2006).
- [5] Schenkeveld W., Temminghoff E., [The Effectiveness of FeEDDHA Chelates in Mending and Preventing Iron Chlorosis in Soil-Grown Soybean Plants](#), in "Soybean Physiology and Biochemistry", InTech (2011).
- [6] Norvell W., [Reactions of Metal Chelates in Soils and Nutrient Solutions](#), *Micronutrients Agr.*, 187-227 (1991).

- [7] Álvarez-Fernández A., Garcia-Marco S., Lucena J.J., [Evaluation of Synthetic iron \(III\)-Chelates \(EDDHA/Fe³⁺, EDDHMA/Fe³⁺ and the Novel EDDHSA/Fe³⁺\) to Correct Iron Chlorosis](#), *European Journal of Agronomy*, **22**: 119-130 (2005).
- [8] Said-Al Ahl H., Mahmoud A. A., [Effect of Zinc and/or Iron Foliar Application on Growth and Essential Oil Of Sweet Basil \(*Ocimum basilicum* L.\) Under Salt Stress](#), *Ozean J. Appl. Sci.*, **3**: 97-111 (2010).
- [9] Abbas G., Khan M., Khan M., Hussain F., Hussain I., [Effect of Iron on the Growth and Yield Contributing Parameters of Wheat \(*Triticum aestivum* L.\)](#), *J. Anim. Plant Sci.*, **19**: 135-139 (2009).
- [10] Pinto A., Mota A. d., De Varennes A., Pinto F., [Influence of Organic Matter on the Uptake of Cadmium, Zinc, Copper and Iron by Sorghum Plants](#), *Sci. Total Environ.*, **326**: 239-247 (2004).
- [11] Moghadam A., Vattani H., Baghaei N., Keshavarz N., [Effect of Different Levels of Fertilizer Nano_Iron Chelates on Growth and Yield Characteristics of Two Varieties of Spinach \("*Spinacia oleracea*" L.\): Varamin 88 and Viroflay](#), *Res. J. Appl. Sci., Eng. Technol.*, **4**: 4813-4818 (2012).