مجله پژوهش های معاصر در علوم و تحقیقات
سال اول، شماره ۳، مهر ۱۳۹۸
ISSN: ۲۶۷۶-۵۷۶٤
www.jocrisar.ir

تغییرات فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و غلظت روی و آهن دانه در گیاه گندم (Triticum aestivum L.) تحت تاثیر برهمکنش منابع تامین نیتروژن و روی

حسن مدرس زاده [۱]، محمدعلی رضایی [۲]

[۱] دانشجوی دکتری رشته فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی گرگان
[۲] استادیار فیزیولوژی گیاهی و عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی گرگان –گروه زیست شناسی

چکیده

در این پژوهش اثر منابع تامین نیتروژن (N) در چهار سطح شامل ۱۰۰ درصد اوره (۱N)، نانو کود کلات ازت (۲N)، ۱۰۰ درصد کود بیولوژیک پاناروميکس (۳N) و ۵۰ درصد اوره + ۵۰ درصد کود بیولوژیک پاناروميکس (۴N) و منابع تامین روی (Zn) در ۳ سطح شامل عدم مصرف روی (۱Z)، سولفات روی (۲Z) و نانو کود کلات روی (۳Z) و اثرات متقابل منابع تامین این دو عنصر بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز و غلظت روی (Zn) و آهن (Fe) دانه گندم (Triticum aestivum L.) با استفاده از آزمایش اسپلیت پلات (فاکتوریل) در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی در ۳ تکرار و ۱۲ تیمار در شهر جلین واقع در ۵ کیلومتری شرق شهرستان گرگان در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از پژوهش نشان داد میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و نیز غلظت روی و آهن دانه تحت تاثیر سطوح مختلف منابع تامین نیتروژن، منابع تامین روی و اثر متقابل منابع تامین نیتروژن × روی قرار گرفت . میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در تیمارهای مورد مطالعه شبیه هم بوده و بیشترین میزان فعالیت هر دو آنزیم به ترتیب در تیمار نانوکلات روی در تلفیق با تیمار ۱۰۰ درصد کود بیولوژیک (۳N۳Z) و تیمار نانو کلات ازت (۲N۳Z) مشاهده شد. بیشترین میزان روی دانه مربوط به تیمار ۲N۳Z بود هم چنین بالاترین غلظت آهن دانه در تیمارهای ترکیبی مربوط به تیمارهای بدون استفاده از روی بود که بنظر می رسد فقدان روی اثر رقابتی جذب آهن را کاهش داده است و منجر به افزایش غلظت آهن بویژه در تیمارهایی شده است که از اوره بعنوان منبع تامین نیتروژن استفاده شده است و نوعی رابطه آنتاگونیستی بین روی و آهن را در این تیمارها به نمایش گذاشت.

واژه‌های کلیدی: منابع تامین نیتروژن، منابع تامین روی، کاتالاز، پراکسیداز، روی، آهن و گندم

۱- مقدمه

گندم از عمده ترین محصولات کشاورزی و تأمین کننده بیشترین نیاز غذایی انسان ها در کشورهای در حال توسعه است (Chegeni, ۲۰۱۴) و از غلات مهم به عنوان منبع غذای اصلی و مهمترین محصول در امنیت غذایی است (Gibbson, ۲۰۰۶) و حدود ۲۱ درصد از غذای مردم جهان و ۲۰۰ میلیون هکتار از کشت زارها را تشکیل می دهد (Amirjani et al. ۲۰۱۶). بنابراین افزایش عملکرد دانه و بهبود کیفیت آن اهمیت زیادی در مساله افزایش جمعیت انسانی دارد (Curtis and Halford, ۲۰۱۴). نیتروژن نقش مهمی در رشد محصولات زراعی و بازدهی دانه بازی کرده (Asif et al. ۲۰۱۳) و مهمترین ماده غذایی معدنی مورد نیاز جهت رشد گیاهان است (Khayat et al. ۲۰۱۴). در میان مغذی های مهم گیاه، نیتروژن بعنوان عنصر مهم به منظور سنتز اجزای ضروری سلولی جهت فرایندهای گرده افشانی و لقاح شناخته شده است و جزء اصلی ترکیبات حیاتی مانند پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک، آنزیم ها و ATP و سایر متابولیت های گیاهی بوده (Varisi et al. ۲۰۰۸) و در ساختار مولکول هایی مانند نیکوتین، آمید آدنین نوکلئوتید و ساختمان کلروفیل نقش دارند. (Bockman, ۲۰۰۱).

در میان سایر پارامترهای ضروری جهت رشد و بازدهی مناسب محصولات زراعی، تامین مناسب میکرومغذی ها نیز مهم و ضروری است (Singh, ۲۰۰۹) . روی از ریزمغذی های مهم در تغذیه گیاه بوده و کمبود آن مانع رشد و توسعه گیاهان می شود (Gurmani, et al. ۲۰۱۲). گیاهان به مقادیر ویژه ای از مغذی های مشخص در فرم ویژه و در زمان مناسب نیاز دارند. بخوبی مشخص شده است که کمبود میکرومغذی ها از جمله روی یکی از فاکتورهای محدود کننده عملکرد بوده و می تواند بازدهی و کیفیت گیاه را مختل کند (Yassen et al. ۲۰۱۰).

روی (Zn) یکی از عناصر ضروری در سیستم های آنزیمی گیاه بوده و بعنوان گروه پروستتیک تعداد زیادی از پروتئین هاست (Prasad et al. ۲۰۱۶) و تنها فلزی است که در ساختمان شش گروه آنزیمی شامل اکسیدازها، ترانسفرازها، هیدرولازها، لیازها، یزومرازها و لیگازها شرکت داشته (Auld, ۲۰۰۱)(Seddigh et al. ۲۰۱۳) و جزء اصلی تعدادی از آنزیم ها مانند دهیدروژنازها، پروتئینازها و پپتیدازهاست (Ebrahimian and Bybordi, ۲۰۱۱). روی در متابولیسم کربوهیدرات از طریق تاثیر بر فتوسنتز و تغییر و تبدیل قندها (Sadeghzadeh ، ۲۰۱۳) و در حفظ تمامیت غشای پلاسمایی، سنتز کربوهیدرات، پروتئین و چربی، شرکت در عملکرد گرده، تقسیم سلولی و لقاح جنسی (عسکری و همکاران، ۱۳۹۳) نقش مهمی دارد.

شواهد زیادی وجود دارد که کود دهی نیتروژن، پتانسیل جذب روی توسط گیاه را افزایش می دهد. Cakmak و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که وضعیت نیتروژن گیاه و میزان نیتروژن خاک تأثیر مثبت عمده ای در جذب روی و تخصیص آن در دانه ها دارد. نتایج بعضی از مطالعات آثار متقابل نیتروژن و روی را پیچیده و تا حدودی مبهم گزارش نموده و تاثیر نیتروژن بر کاهش جذب روی را به دلیل اثر رقت و یا تجمع روی به صورت کمپلکس های پروتئینی در ریشه و اثر نیتروژن بر افزایش جذب روی توسط گیاهان را مربوط به کاهش pH خاک دانسته اند (Shafea et al. ۲۰۱۱). اثرات سینرژیستی برهمکنش N*Zn در گندم گزارش شده است (Kutman et al. ۲۰۱۱). بسیاری از مطالعات نشان داده اند که تنها بخشی از مقدار کل روی اندازه گیری شده از نظر فیزیولوژیک برای گیاه قابل استفاده است زیرا ممکن است روی به دیواره سلولی متصل شده و یا توسط لیگاندهای آلی کمپلکس شود و از نظر فیزیولوژیک به روی غیر فعال تبدیل گردد لذا غلظت روی کل همیشه یک شاخص قابل اعتماد برای تشخیص وضعیت تغذیه روی در گیاه نیست و در بیشتر موارد، برای ارزیابی وضعیت تغذیه ای روی گیاهان، شاخص های زیست شیمیایی نظیر فعالیت آنزیم های حاوی روی در مقایسه با غلظت کل روی، قابل اعتمادتر می باشند (Lopez-Millan, et al., ۲۰۰۵). مطالعات زیادی به نقش تغذیه روی بر فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز اشاره کرده اند (Sbartai et al., ۲۰۱۱) (Hosseini and Poorakbar, ۲۰۱۳) (Lee, et al., ۲۰۱۲)

Rahmati و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارش نمودند که کاربرد روی در مقایسه با تیمار شاهد، تأثیر قابل توجهی بر افزایش فعالیت آنزیم های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز داشت. در آنزیم هایی مانند سوپر اکسید دیسموتاز،

کربونیک انیدراز و کاتالاز که Zn نقش ساختاری دارد روی با گروه های سولفور آمینواسید سیستئین کلات شده و باعث حفظ ساختار فضایی و بهبود فعالیت آنزیم ها می شود (Seddigh et al. ۲۰۱۳). در بسیاری از مطالعات نیز دیده شده که فعالیت آنزیم هایی نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، شاخص بهتری برای بیان وضعیت تغذیه روی در گیاه می باشد (Lopez-Millan, et al., ۲۰۰۵). میان کنش بین روی و آهن نیز تا حدی پیچیده است؛ افزایش استفاده از Zn تا حدی برروی غلظت آهن موجود در جوانه ها اثر گذاشته و موجب کاهش آن می شود. سطوح بالای آهن به طور معمول بر روی غلظت روی موجود در بافت های گیاهی یک اثر سرکوبی دارد هرچند نتایج تحقیقات نشان می دهد که این افزایش غلظت آهن اثری در جذب روی توسط ریشه ها ندارد(Graham, et al., ۲۰۰۱) . هدف از این پژوهش بررسی اثر منابع تامین دو عنصر روی و نیتروژن و اثرات متقابل آن ها بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز و غلظت روی (Zn) و آهن (Fe) دانه گندم است.

۲- مواد و روش ها:

این پژوهش در مزرعه شخصی واقع در شمال شهر جلین در ۳ کیلومتری شرق شهرستان گرگان در سال زراعی ۹۷ - ۹۶ بر اساس طرح بلوک های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. در این تحقیق منبع تامین نیتروژن به عنوان فاکتور اول در ۴ سطح شامل : N۱ = کود شیمیائی اوره (۲۰۰ کیلوگرم در هکتار)؛ N۲ = کود بیولوژیک پاناروميکس (۶۰۰ سی سی بر روی ۱۶۰ کیلوگرم بذر)؛ N۳ = کود شیمیائی اوره (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) + کود بیولوژیک پاناروميکس (۳۰۰ سی سی بر روی ۱۶۰ کیلوگرم بذر) و N۴ = نانو کلات ازت (۲ در هزار لیتر آب در هکتار) و منبع تامین روی به عنوان فاکتور دوم در ۳ سطح شامل: Z۱ = شاهد (عدم مصرف روی)؛ Z۲ = کود شیمیائی سولفات روی (۷۵ کیلو گرم در هکتار) و Z۳ = نانو کلات روی (Kg ۲ در هزار لیتر آب در هکتار) در نظر گرفته شد. نمونه برداری خاک قبل از کاشت انجام شد و خصوصیات فیزیکو شیمیایی خاک مطابق با جدول ۱ توسط شرکت خاک آزمای گرگان مشخص گردید. جهت تامین فسفر و پتاس مورد نیاز خاک، کود پایه سوپرفسفات تریپل (۲۲۵kg/ha) و سولفات پتاسیم (۲۰۰ kg/ha) قبل از کاشت استفاده شدند. مراحل تهیه زمین شامل شخم و دیسک انجام شد و گندم مورد مطالعه از نوع N۸۷۲۰ بر اساس تیمارهای مورد مطالعه (جدول شماره ۲) در کرت هایی به ابعاد ۱*۵ متر مربع کشت گردید. هر کرت شامل ۵ خط کاشت به طول ۵ متر و فاصله بین خطوط کشت ۲۰ cm و فاصله کرت ها از یکدیگر ۳۰ cm و فاصله تکرارها از هم یک متر در نظر گرفته شد.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکو شیمیایی خاک مورد بررسی و دستورالعمل کودی پیشنهادی

ویژگی‌های نمونه خاک	عمق	هدایت الکتریکی ($EC*10^{-3}$)	pH خاک	درصد مواد خنثی شونده	کربن آلی (٪O.C)	ازت کل (٪)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	درصد رس	درصد لای	درصد ماسه	بافت خاک
مقدار	۰-۳۰	۰,۹	۷,۸	۲۶,۵	۱,۲۲	۰,۱۲	۴,۱	۱۰۰	۳۴	۴۸	۱۸	Si-C-L

نوع کود پیشنهادی مقدار مصرف

فسفر (سوپر فسفات تریپل)	۲۲۵ (kg/ha)	پتاس (سولفات پتاسیم)	۲۰۰ (kg/ha)

جدول ۲. ترکیب تیمارهای اعمال شده و جزئیات آن ها

مشخصات تیمارها	تیمارهای ترکیبی	فاکتور اول	فاکتور دوم
۱۰۰ درصد کود اوره + عدم استفاده از روی	Z۱N۱	N۱	Z۱
نانو کلات ازت ۲۵ درصد + عدم استفاده از روی	Z۱N۲	N۲	
۱۰۰ درصد کود بیولوژیک پاناروميکس+ عدم استفاده از روی	Z۱N۳	N۳	
۵۰ درصد کود اوره و ۵۰ درصد کود بیولوژیک پاناروميکس + عدم استفاده از روی	Z۱N۴	N۴	
۱۰۰ درصد کود اوره + سولفات روی	Z۲N۱	N۱	Z۲
نانو کلات ازت ۲۵ درصد + سولفات روی	Z۲N۲	N۲	
۱۰۰ درصد کود بیولوژیک پاناروميکس + سولفات روی	Z۲N۳	N۳	
۵۰ درصد کود اوره و ۵۰ درصد کود بیولوژیک پاناروميکس + سولفات روی	Z۲N۴	N۴	
۱۰۰ درصد کود اوره + نانو کلات روی	Z۳N۱	N۱	Z۳
نانو کلات ازت ۲۵ درصد + نانو کلات روی	Z۳N۲	N۲	
۱۰۰ درصد کود بیولوژیک پاناروميکس + نانو کلات روی	Z۳N۳	N۳	
۵۰ درصد کود اوره و ۵۰ درصد کود بیولوژیک پاناروميکس + نانو کلات روی	Z۳N۴	N۴	

۲-۱- اعمال تیمارها

کود بیولوژیک پاناروميکس قبل از کاشت به صورت بذرمال به اندازه مورد نظر در سایه کاملا با دانه ها آغشته شده و بلافاصله کشت انجام شد. تیمارهای کود شیمیایی اوره طی دو مرحله (۴۰ درصد قبل از کاشت به صورت خاک مصرف و ۶۰ درصد به صورت سرک در مرحله پنجه زنی) و کود شیمیایی سولفات روی نیز قبل از کاشت به صورت خاک مصرف مورد استفاده قرار گرفت. کودهای نانوکلات روی و نانو کلات ازت تهیه شده از شرکت فن آور سپهر پارمیس نیز در دو مرحله یکی اواخر پنجه زنی و دیگری اوایل خوشه دهی توسط سمپاش های تلمبه ای محلول پاشی شد. در طول دوره رشد جهت از بین بردن علف های هرز به روش دستی عمل شد و دفع آفات و امراض نیز توسط روش های شیمیائی انجام گردید.

سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز ۱۰ روز بعد از مرحله دوم اعمال تیمار کودهای نانو و غلظت روی و آهن دانه ها نیز بعد از مرحله برداشت صورت پذیرفت.

۲-۲- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

به منظور سنجش فعالیت این آنزیم از نمونه عصاره گیری به عمل آمد. برای تهیه محلول عصاره گیری ۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسید آسکوربیک، ۳/۸ گرم بوراکس (دی سدیم تترا بورات) ، ۲ گرم EDTA Na۲ و ۵۰ گرم پلی اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ با هم مخلوط کرده و با آب مقطر حجم آن به ۱۰۰ میلی لیتر رسانیده شد (PH ۷).

۱ گرم از نمونه با ۴ میلی لیتر محلول عصاره گیری سائیده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درج سانتی گراد در داخل یخچال نگهداری شد. جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، ۲ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار، ۰/۲ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی مخلوط شده و تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر سنجش گردید و فعالیت آنزیم بر حسب (OD.min-۱ .g-۱.FW) محاسبه گردید. (Chance and Maehly, ۱۹۹۵)

۲-۳- سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

۲ میلی لیتر تامپون استات ۰/۲ مولار(PH ۵) با ۰/۴ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی لیتر بنزیدین محلول در الکل ۵۰ درجه ۰/۰۱ مولار مخلوط شدند. جهت سنجش فعالیت آنزیم، ۰/۱ میلی لیتر از عصاره آنزیمی تهیه شده به مخلوط فوق افزوده شده و جذب نوری در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد دستگاه محاسبه گردید. تمامی مراحل سنجش فعالیت آنزیم در ظرف یخ انجام شده تا باعث حفظ فعالیت آن شود. فعالیت آنزیم بر حسب (OD.min-۱ .g-۱.FW) محاسبه گردید. (Koroi, ۱۹۸۹)

۲-۴- سنجش غلظت عناصر آهن و روی

برای اندازه گیری غلظت عناصر آهن و روی دانه ها از هر یک از تیمارهای مورد مطالعه، ابتدا نمونه های انتخابی از هر کرت به مدت ۶ تا ۱۲ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد در کوره قرار داده شد تا به خاکستر تبدیل شود. سپس نمونه را بیرون آورده ابتدا چند ۲ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ - قطره آب مقطر و بعد ۵ مولار به آن اضافه و به مدت یک ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از آن نمونه را در بالن ۵۰ سی سی با آب مقطر به حجم رسانده و با استفاده از دستگاه جذب اتمی و نصب لامپ مخصوص برای هر عنصر میزان جذب در طول موج های ۳/۲۴۸ نانومتر آهن(Fe) و ۹/۲۱۳ نانومتر روی (Zn) قرائت گردید. (حمیدیان و همکاران، ۱۳۹۴)

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری بر اساس نرم افزار SPSS ورژن ۳۲ صورت گرفت و آنالیز واریانس داده ها با استفاده ار برنامه ANOVA انجام شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از روش دانکن در سطح ۰/۰۵ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

۳-نتایج و بحث

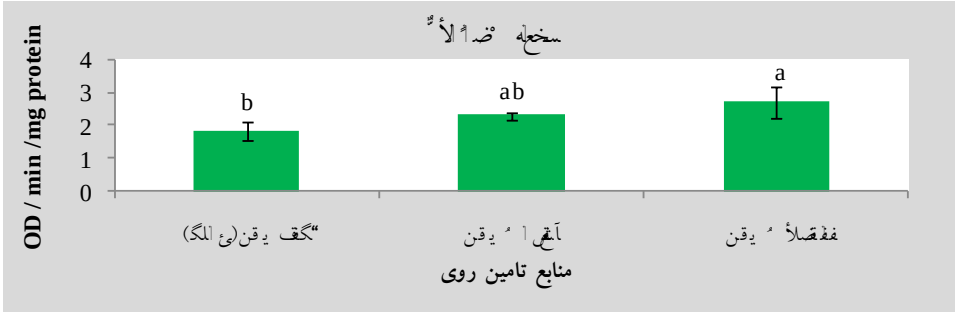
۳-۱- فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده ها نشان داد میزان فعالیت آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز تحت تاثیر سطوح مختلف منابع تامین نیتروژن، منابع تامین روی و اثر متقابل (برهمکنش) منابع تامین نیتروژن × روی قرار گرفت ($P \leq ۰,۰۵$). (شکل ۱ تا ۶)

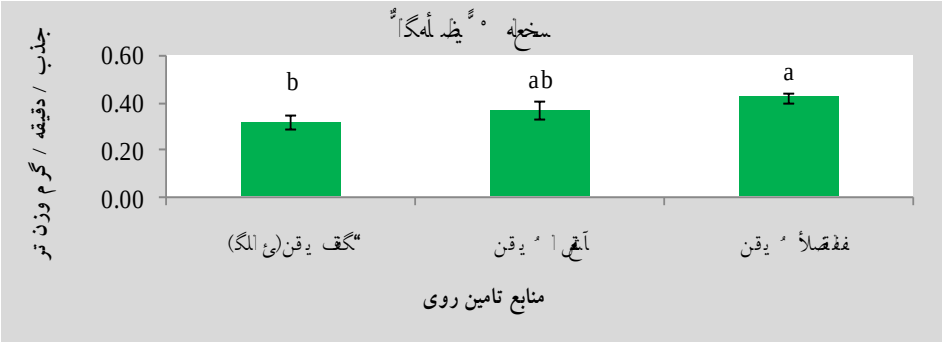
در بین تیمارهای منابع تامین روی، بیشترین میزان فعالیت هر دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در تیمار Z۳ (نانوکلات روی) مشاهده شد و در سایر تیمارها تفاوت معنی داری مشاهده نشد. (شکل ۱ و ۲)

در بین تیمارهای منابع تامین نیتروژن، بیشترین میزان فعالیت هر دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در تیمار نانوکلات ازت (N۲) مشاهده شد و فعالیت آن ها در تیمارهایی که اوره بعنوان منبع تامین نیتروژن بکار رفته است شامل ۱۰۰ درصد اوره (N۱) و ۵۰ درصد اوره + ۵۰ درصد بیولوژیک (N۴) کمترین بوده است. (شکل ۳ و ۴)

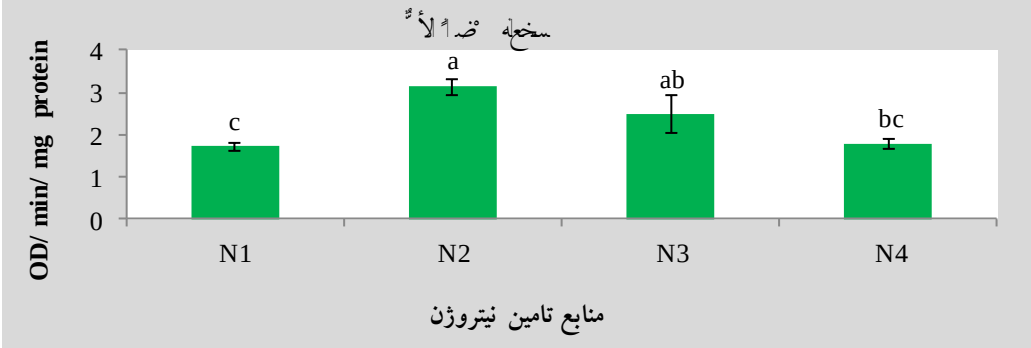
در بین تیمارهای اثر متقابل منابع تامین نیتروژن × روی، بیشترین میزان فعالیت هر دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در تیمار نانوکلات روی در تلفیق با نانو کلات ازت (Z۳N۲) مشاهده شد. نتایج نشان داد کمترین میزان فعالیت آنزیم ها در تیمارهای ترکیبی غالبا مربوط به تیمارهایی بود که از ۱۰۰ درصد اوره و ۵۰ درصد اوره + ۵۰ درصد کود بیولوژیک در ترکیب با سایر منابع تامین روی استفاده شده است. (شکل ۵ و ۶)



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر منابع تامین روی (Zn) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گندم رقم N۸۷۲۰

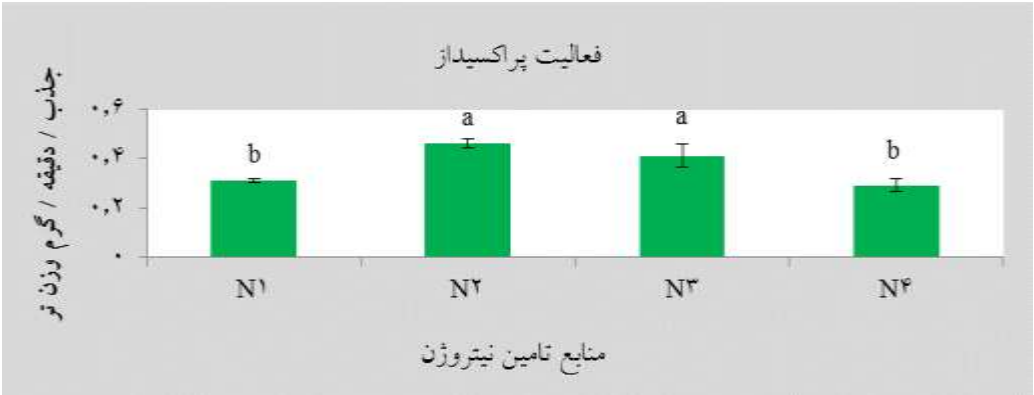


شکل ۲- مقایسه میانگین اثر منابع تامین روی (Zn) بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گندم رقم N۸۷۲۰



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر منابع تامین نیتروژن (N) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گندم رقم N۸۷۲۰

N۱: ۱۰۰ ٪ اوره **N۲**: نانو کلات ازت **N۳**: ۱۰۰٪ کود بیولوژیک پاناروميکس **N٤**: ۵۰ ٪ کود اوره + ۵۰ ٪ کود بیولوژیک پاناروميکس



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر منابع تامین نیتروژن (N) بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گندم رقم N۸۷۲۰

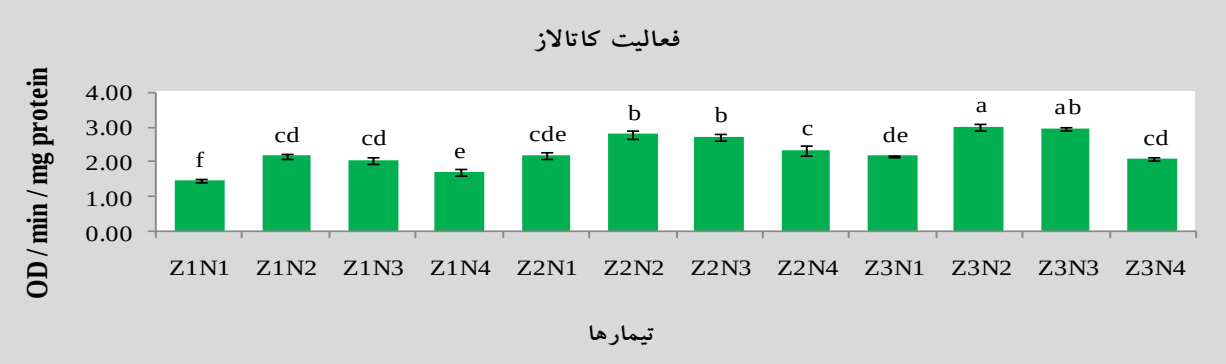
N۱: ۱۰۰ ٪ اوره N۲: نانو کلات ازت N۳: ۱۰۰٪ کود بیولوژیک پاناروميکس N٤: ۵۰ ٪ کود اوره + ۵۰ ٪ کود بیولوژیک پاناروميکس

در پژوهش حاضر فعالیت هر دو آنزیم آنتی اکسیدانی، تحت تاثیر منابع تامین روی قرار گرفت که با نتایج Seddigh و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد. نتایج مطالعات آنان نشان داد که کاربرد کودهای روی در مقایسه با تیمار شاهد، موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز اندام هوایی در ارقام کویر و دوروم گندم شد و در رقم دوروم، با افزایش مقدار روی اندام هوایی، فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت. فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در تیمار آمینوکلات های $Zn(His)_2$ و $Zn(Arg)_2$ نسبت به تیمار سولفات روی، درسه رقم گندم افزایش داشت اما اختلاف معنی داری بین آمینوکلات $Zn(Gly)_2$ و سولفات روی از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده نشد.

این نتایج نشان دهنده وابستگی فعالیت آنزیم کاتالاز به تغذیه روی می باشد (Seddigh et al. ۲۰۱۳). در این پژوهش نیز در منابع تامین روی، فعالیت هر دو آنزیم مورد مطالعه در بین تیمارهای سولفات روی و شاهد (بدون روی) اختلاف معنی داری نداشتند. در مقایسه نتایج حاصل از غلظت روی دانه نیز مشخص گردید که بیشترین میزان غلظت این عنصر در دانه مربوط به تیمار نانوکلات روی بوده و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز نیز در همین تیمار بیشترین بوده است که نشان از جذب بالای روی در این تیمار بوده و شاخص فعالیت آنزیم نیز آن را تایید می کند که نشان از نقش مستقیم روی در بیان ژن و ساخت پروتئین های آنزیمی دارد. (Hacisalihoglu et al., ۲۰۱۳)

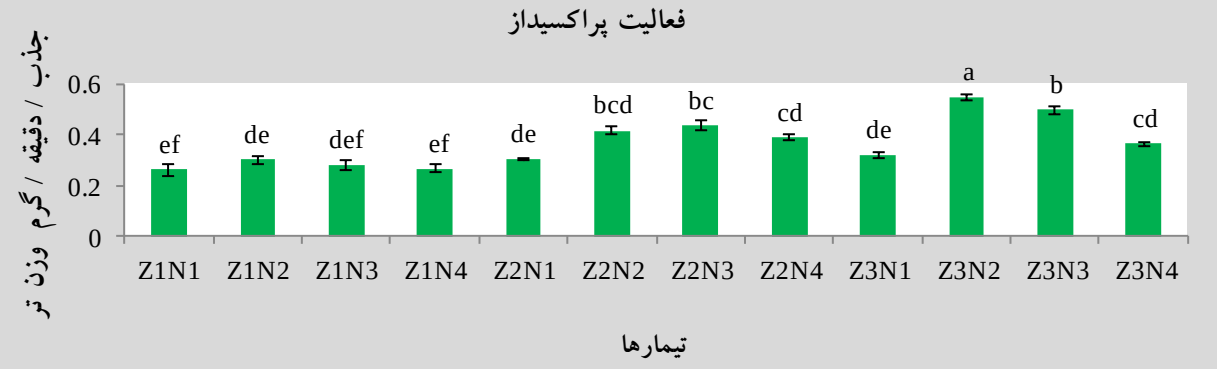
تعدادی از مطالعات افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز با افزایش غلظت نانو اکسید روی را در راستای القای تنش اکسیداتیو و تولید بیشتر گونه‌های فعال اکسیژن ارزیابی کرده و بیان کردند که افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی القا شده به‌وسیله روی ممکن است به‌عنوان مکانیسم دفاعی ثانویه در قبال تنش اکسیداتیو باشد. همچنین نتایج آزمایشات آنان نشان داد در غلظت صفر میکرومولار نانو اکسید روی، میزان فعالیت این آنزیم‌ها کاهش یافته است (Amirjani et al. ۲۰۱۶) که در این پژوهش نیز میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در تیمار شاهد (بدون روی) نسبت به تیمار سولفات روی و تیمار نانو کلات روی کمترین بوده است.

نتایج مطالعات پیوندی و همگاران با تاثیر نانوکلات آهن و کلات آهن معمولی بر روی گیاه مرزه نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در تیمار نانو کلات آهن مشاهده شد. کاتالازها و پراکسیدازها آنزیم هایی هستند که در واکنش به تنش های غیر زیستی نقش دارند.(پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰) گرچه در شرایط طبیعی H_2O_2 و رادیکال های آزاد اکسیژن در بخش های مختلف گیاه تشکیل می شود (Alvareza et al. ۲۰۰۲) و آنزیم های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز رادیکال های آزاد را از بین برده و H_2O_2 را تجزیه می کنند اما بنظر می رسد استفاده از نانو کلات روی بصورت محلول پاشی باعث افزایش غلظت روی در گیاه شده و زمینه افزایش تولید انواع اکسیژن های فعال را فراهم ساخته است و نوعی تنش اکسیداتیو را در گیاه القا نموده است لذا بیشترین میزان فعالیت آنزیم های مورد مطالعه در تیمار Z۳ (نانوکلات روی) و در تیمارهای ترکیبی نیز بالاترین میزان فعالیت هر دو آنزیم در تیمار Z۳N۲ که مصرف همزمان تیمارهای نانوکودها اعمال شده است مشاهده گردید که نشان از نقش این آنزیم ها در سمیت زدایی پراکسید هیدروژن و رادیکال های آزاد اکسیژن دارد.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل منابع تامین نیتروژن و روی (N*Zn) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گندم رقم N۸۷۲۰

Z۱N۱: بدون مصرف روی + ۱۰۰ ٪ اوره
Z۱N۲: بدون مصرف روی + نانو کلات ازت
Z۱N۳: بدون مصرف روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۱N۴: بدون مصرف روی + ۵۰٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۲N۱: سولفات روی + ۱۰۰ ٪ اوره
Z۲N۲: سولفات روی + نانو کلات ازت
Z۲N۳: سولفات روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۲N۴: سولفات روی + ۵۰ ٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۳N۱: نانوکلات روی + ۱۰۰٪ اوره
Z۳N۲: نانوکلات روی + نانو کلات ازت
Z۳N۳: نانوکلات روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۳N۴: نانوکلات روی + ۵۰ ٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک



شکل ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل منابع تامین نیتروژن و روی (N*Zn) بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گندم رقم N۸۷۲۰

Z۱N۱: بدون مصرف روی + ۱۰۰ ٪ اوره
Z۱N۲: بدون مصرف روی + نانو کلات ازت
Z۱N۳: بدون مصرف روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۱N۴: بدون مصرف روی + ۵۰٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۲N۱: سولفات روی + ۱۰۰ ٪ اوره
Z۲N۲: سولفات روی + نانو کلات ازت
Z۲N۳: سولفات روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۲N۴: سولفات روی + ۵۰ ٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۳N۱: نانوکلات روی + ۱۰۰٪ اوره
Z۳N۲: نانوکلات روی + نانو کلات ازت
Z۳N۳: نانوکلات روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۳N۴: نانوکلات روی + ۵۰ ٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک

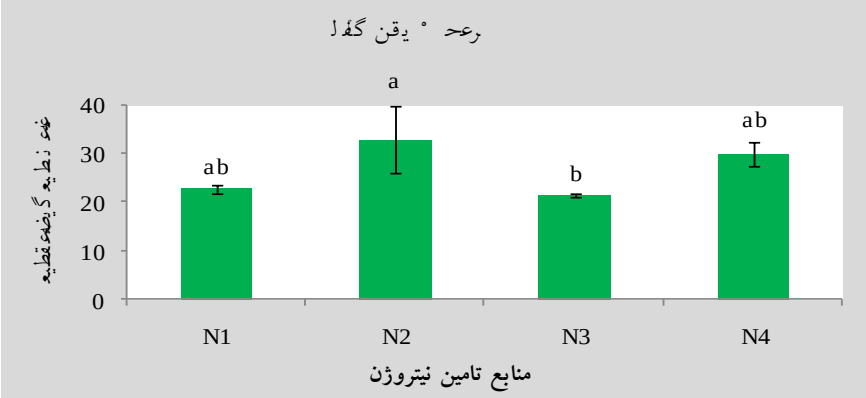
۳-۲- غلظت روی دانه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده ها نشان داد که غلظت روی دانه تحت تاثیر سطوح مختلف منابع تامین نیتروژن، منابع تامین روی و اثر متقابل (برهمکنش) منابع تامین نیتروژن × روی قرار گرفت ($P \leq ۰,۰۵$). (شکل های ۷ تا ۹)
در بین تیمارهای منابع تامین روی، بیشترین میزان غلظت روی دانه در تیمار نانوکلات روی (۳۴/۰۸ میلی گرم در کیلوگرم) مشاهده شد و بین تیمارهای سولفات روی و شاهد (بدون استفاده از روی) تفاوت معناداری مشاهده نگردید. (شکل ۷)

در بین تیمارهای منابع تامین نیتروژن، بیشترین و کمترین غلظت روی دانه به ترتیب در تیمار نانو کلات ازت (۳۲/۹۸ میلی گرم در کیلوگرم) و تیمار ۱۰۰ درصد کود بیولوژیک (۲۱/۴۳ میلی گرم در کیلوگرم) مشاهده گردید و بین سایر تیمارها اختلاف معناداری وجود نداشت. (شکل ۸)

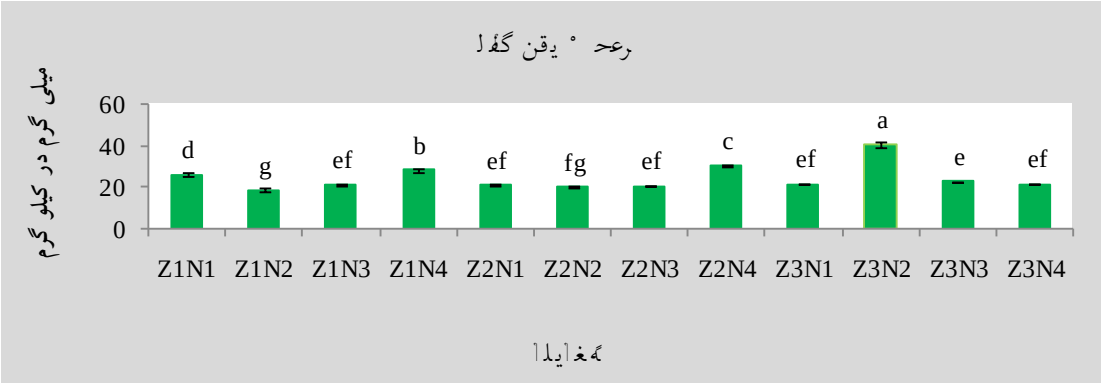
در بین تیمارهای منابع تامین نیتروژن × روی، بیشترین غلظت روی در دانه در تیمار Z۳N۲ (۴۰/۳۷ میلی گرم در کیلوگرم) مشاهده گردید نتایج نشان داد استفاده از نانوکلات ازت در ترکیب با نانو کلات روی، غلظت روی دانه را افزایش داد در صورتیکه استفاده از نانو کلات ازت در ترکیب با تیمار بدون روی و تیمار سولفات روی تاثیری بر غلظت روی دانه نداشته است.(شکل ۹)

شکل ۷- مقایسه میانگین اثر منابع تامین روی (Zn) بر میزان غلظت روی در دانه گندم رقم N۸۷۲۰



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر منابع تامین نیتروژن (N) بر میزان غلظت روی در دانه گندم رقم N۸۷۲۰

N۱: ۱۰۰ ٪ اوره **N۲**: نانو کلات ازت **N۳**: ۱۰۰٪ کود بیولوژیک پاناروميکس **N٤**: ۵۰ ٪ کود اوره + ۵۰ ٪ کود بیولوژیک پاناروميکس



شکل ۹- مقایسه میانگین اثرات متقابل منابع تامین نیتروژن و روی (N*Zn) بر میزان غلظت روی دانه گندم رقم N8720

Z1N1: بدون مصرف روی + ۱۰۰ ٪ اوره
Z1N2: بدون مصرف روی + نانو کلات ازت
Z1N3: بدون مصرف روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک
Z1N4: بدون مصرف روی + ۵۰٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک
Z2N1: سولفات روی + ۱۰۰ ٪ اوره
Z2N2: سولفات روی + نانو کلات ازت
Z2N3: سولفات روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک
Z2N4: سولفات روی + ۵۰ ٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک
Z3N1: نانوکلات روی + ۱۰۰٪ اوره
Z3N2: نانوکلات روی + نانو کلات ازت
Z3N3: نانوکلات روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک
Z3N4: نانوکلات روی + ۵۰ ٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک

نتایج مطالعات مختلف نشان می دهد که استفاده از روی باعث افزایش غلظت روی دانه و اندام هوایی شده است. (Bayvordi, ۲۰۰۶) (Zhao et al., ۲۰۱۱) (Sharma et al. ۲۰۱۷) (Boorboorani and Tehrani. ۲۰۱۱). و براساس نتایج مطالعه Seddigh و همکاران (۲۰۱۳) ، کاربرد روی، صرف نظر از منبع کودی، سبب افزایش جذب روی در سه رقم گندم شد.

در پژوهش حاضر بالاترین غلظت روی دانه مربوط به تیمار نانوکلات ازت (N۲) بوده است که با مطالعات Yassen و همکاران (۲۰۱۰) بر روی گندم مطابقت دارد. آنها نشان داد که محلول پاشی گیاهان گندم با اوره غلظت میکرومغذی های دانه از جمله روی و نیز بازدهی پروتئین دانه را افزایش داد. این مساله ممکن است بواسطه مزایای روش محلول پاشی شامل پاسخ سریع و موثر به نیازهای گیاه و مستقل از شرایط خاک باشد و محلول پاشی نانو کلات ازت در اوایل خوشه دهی باعث جذب سریع نیتروژن مورد نیاز گیاه شده است. هم چنین بین تیمار استفاده از سولفات روی و شاهد (بدون روی) اختلاف معنی داری مشاهده نشد که با نتایج Zhao و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت داشت. آنها نشان دادند که با استفاده از غلظت های مختلف سولفات روی بصورت خاک مصرفی در گندم رقم (Zhengmai, ۹۰۲۳) اثر معناداری بر غلظت روی در اندام هوایی و دانه ها مشاهده نشد و ارتباط معناداری بین غلظت های بکار رفته در مقایسه با شاهد وجود نداشت.

همچنین در این پژوهش غلظت روی دانه تحت تاثیر منابع تامین نیتروژن قرار گرفت که با نتایج مطالعه NoorGholipoor و همکاران (۲۰۰۸) بر روی گندم مطابقت نداشت . نتایج مطالعه آنان نشان داد که منابع تامین نیتروژن بر عملکرد و کیفیت گندم دارای اثرات مختلف بوده اما تفاوت معناداری بین تیمارها از نظر میزان غلظت روی دانه مشاهده نشد.

در پژوهش حاضر بالاترین غلظت روی دانه در تیمارهای اثر متقابل منابع تامین نیتروژن و روی مربوط به تیمار Z۳N۲ بوده است که نشان می دهد محلول پاشی نانوکود ازت و نانو کود روی توانسته است شرایط مناسبتری از نظر میزان جذب این دو عنصر در دو مرحله محلول پاشی فراهم ساخته و این مساله باعث افزایش جذب روی و تخصیص آن در دانه ها شده است که با نتایج مطالعات Cakmak و همکاران (۲۰۱۰) و Sharma و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت دارد. آنان اظهار کرده اند که کود دهی نیتروژن (N) پتانسیل جذب روی توسط گیاه را افزایش می دهد و وضعیت نیتروژن گیاه تأثیر مثبت عمده ای در جذب روی و تخصیص آن در دانه ها دارد.

Mailto و همکاران (۲۰۰۶) اظهار داشته اند که محلول پاشی کارآمدی بالاتری نسبت به کوددهی خاک دارد که یک دلیل آن تامین مغذی مورد نیاز گیاه بوده و مستقیما به موقعیت نیاز شدید در برگ ها وارد شده و نسبتا سریع جذب می شود.

۳-۳- غلظت آهن (Fe) دانه

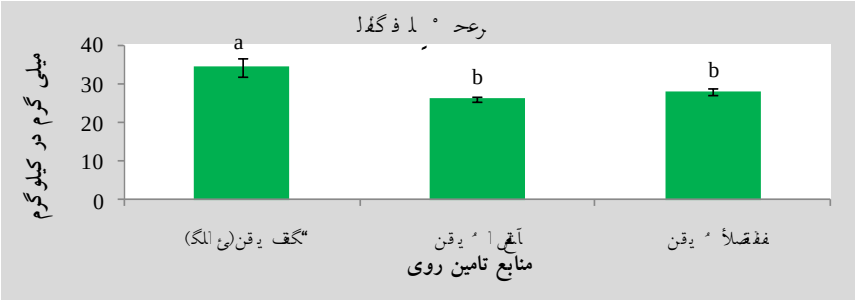
نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده ها نشان داد غلظت آهن (Fe) دانه تحت تاثیر منابع تامین روی و اثر متقابل منابع تامین نیتروژن × روی قرار گرفت ($P \leq ۰,۰۵$) ولی از نظر منابع تامین نیتروژن اختلاف معنی داری بین تیمارهای مورد مطالعه مشاهده نگردید. (شکل ۱۰ و ۱۱)

در بین تیمارهای منابع تامین روی، بیشترین غلظت آهن در دانه در Z1 (بدون روی) مشاهده گردید و در سایر تیمارها اختلاف معناداری وجود نداشت(شکل ۱۰) که با نتایج مطالعات (عسکری لجایر و همکاران، ۱۳۹۳) در گیاه دارویی مرزه

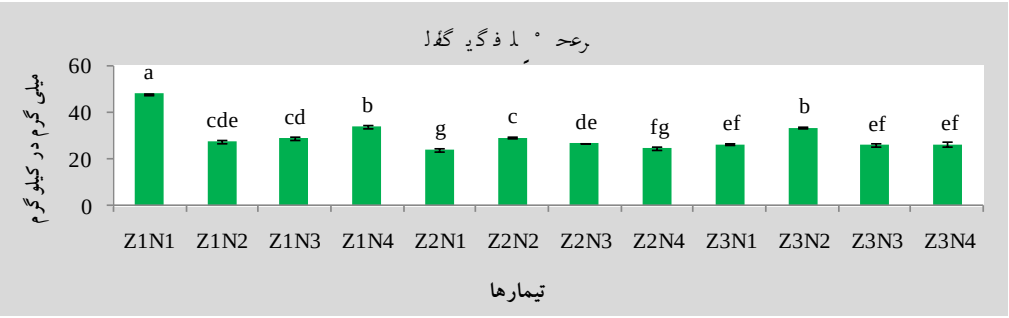
(Satureja hortensis L.) مطابقت داشت. آنها نشان دادند که کاربرد ۱۰ میلی گرم روی بر کیلوگرم خاک تأثیر معنی داری بر غلظت و جذب آهن شاخساره نداشته است و کاربرد بیشتر روی در خاک (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش ۱۲/۰۹ و ۳۲/۰۷ درصد به ترتیب در غلظت و جذب آهن بخش هوایی شده است. این امر مبین اثرهای آنتاگونیستی بین آهن و روی در سطوح بالاتر روی می باشد. با اینکه غلظت آهن در اندام هوایی در سطوح بالاتر روی کاهش یافته است به نظر می رسد روی به عنوان یک کاتیون رقیب از انتقال متابولیک فعال آهن به مکانهای جذب در ساقه جلوگیری می کند و باعث افزایش غلظت آهن در ریشه می گردد. (عسکری لجایر و همکاران، ۱۳۹۳)

در بین تیمارهای منابع تامین نیتروژن × روی، بیشترین غلظت آهن در دانه مربوط به تیمار Z۱N۱ (۴۷/۶۹ میلی گرم در کیلوگرم) و Z۱N۴ (۳۳/۹۲ میلی گرم در کیلوگرم) بوده است(شکل ۱۱) که با نتایج مطالعات خمدی و همکاران (۱۳۹۴) و Shi و همکاران (۲۰۱۰) روی گندم مطابقت دارد. Shi و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی اثرات کاربرد سطوح مختلف نیتروژن (۰ و ۱۳۰ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار) بر غلظت و جذب عناصر ریزمغذی از جمله آهن و توزیع آن در بخش های مختلف دانه گندم بیان کردند که کاربرد کود نیتروژن، محتوی آهن دانه گندم را افزایش داد.

خمدی و همکاران (۱۳۹۴) با مطالعه بر روی گندم نشان دادند که افزایش کود نیتروژن از ۱۵۰ تا ۳۶۰ کیلوگرم در هکتار باعث افزایش غلظت آهن شد. در تیمارهای ترکیبی منابع تامین نیتروژن و تیمار بدون روی (شاهد) بیشترین میزان غلظت روی مربوط به تیمارهایی بود که از اوره بعنوان منبع تامین نیتروژن استفاده شده است که بنظر می رسد فقدان روی اثر رقابتی جذب آهن را کاهش داده و با توجه به این که منبع نیتروژن اوره بود این ماده به آمونیوم تبدیل شده و pH خاک را کاهش می دهد و منجر به افزایش حلالیت آهن و درنتیجه جذب بیشتر آهن توسط ریشه ها شد. این افزایش بیانگر این است که وقتی فلزات توسط ریشه جذب شدند به راحتی از ساقه به دانه انتقال داده می شوند (Nejadhossini, et al., ۲۰۱۱) برخی از پژوهشگران معتقدند که یکی از اثرات افزایش نیتروژن افزایش جذب کاتیون ها می باشد، بنابراین جذب نیتروژن توسط گیاه یک افزایش نسبی در میزان جذب سایر عناصر غذایی در گیاه به وجود می آورد (Malhi et al., ۲۰۰۶).



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر منابع تامین روی (Zn) بر میزان غلظت آهن در دانه گندم رقم N۸۷۲۰



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل منابع تامین نیتروژن و روی (N*Zn) بر میزان غلظت آهن دانه گندم رقم N۸۷۲۰

Z۱N۱: بدون مصرف روی + ۱۰۰ ٪ اوره Z۲N۱: سولفات روی + ۱۰۰ ٪ اوره Z۳N۱: نانوکلات روی + ۱۰۰٪ اوره

Z۱N۲: بدون مصرف روی + نانو کلات ازت Z۲N۲: سولفات روی + نانو کلات ازت Z۳N۲: نانوکلات روی + نانو کلات ازت
Z۱N۳: بدون مصرف روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک Z۲N۳: سولفات روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک Z۳N۳: نانوکلات روی + ۱۰۰ ٪ کود بیولوژیک
Z۱N۴: بدون مصرف روی + ۵۰٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک Z۲N۴: سولفات روی + ۵۰ ٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک Z۳N۴: نانوکلات روی + ۵۰ ٪ اوره و ۵۰ ٪ کود بیولوژیک

۴- نتیجه گیری نهایی

با توجه به اینکه بالاترین میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مورد مطالعه در تیمار ترکیبی نانوکلات ازت و نانو کلات روی مشاهده گردید بنظر می رسد استفاده از کودهای نانو بصورت محلول پاشی باعث افزایش غلظت روی در گیاه شده و نوعی تنش اکسیداتیو را در گیاه القا نموده و زمینه افزایش تولید انواع اکسیژن های فعال را فراهم ساخته است. بررسی نتایج نشان داد بیشترین میزان غلظت روی در دانه مربوط به تیمار نانوکلات روی بوده و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز نیز در همین تیمار بیشترین بوده است که نشان از جذب بالای روی در این تیمار بوده و شاخص فعالیت آنزیم کاتالاز نیز آن را تایید می کند. هم چنین بالاترین غلظت آهن دانه در تیمارهای بدون استفاده از روی مشاهده شد که بنظر می رسد فقدان روی اثر رقابتی آن را در جذب آهن کاهش داده و نوعی رابطه آنتاگونیستی بین روی و آهن را در این تیمارها به نمایش گذاشت.

۵- منابع

۱. پیوندی، مریم؛ کمالی جامکانی، زهرا؛ میرزا، مهدی. (۱۳۹۰). تاثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مرزه (*Satureja hortensis*) . مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی -مولکولی، دوره دوم، شماره پنجم، ص.ص. ۳۱-۲۵.

۲. حمیدیان، کیانوش؛ لک، شهرام؛ نادری، احمد؛ مجیدی، اسلام. (۱۳۹۴). ارزیابی کاربرد هورمون سیتوکینین و آهن بر عملکرد و میزان تجمع عناصر آهن، روی و منگنز در دانه ارقام نخود. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره ۳۹ ، صفحات: ۱۹-۳۲

۳. خمدی، فاطمه؛ مسگر باشی، موسی؛ حسیبی، پیمان؛ فرزانه، معصومه؛ عنایت ضمیر، نعیمه. (۱۳۹۴). اثر بقایای گیاهی و سطوح مختلف کود نیتروژن بر کیفیت و غلظت عناصر ریزمغذی در دانه گندم. نشریه زراعت، پژوهش و سازندگی، شماره ۱۰۹، ص.ص. ۱۵۸-۱۶۶.

۴. عسگری لجایر،حمایت؛ متشرع زاده، بابک؛ ثواقبی فیروزآبادی ،غلامرضا؛ هادیان، جواد. (۱۳۹۳). تأثیر کاربرد مس و روی برغلظت و جذب عناصر غذایی کم مصرف (مس، روی، آهن و منگنز) و پرمصرف (فسفر) در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) در شرایط گلخانه ای. مجله علوم و فنون، کشت های گلخانه ا ی، سال پنجم ، شماره نوزدهم، ص.ص. ۱۱۱-۹۵.

۱. **Alvareza, A., Sierra, M.A., Lucena, J.J. (۲۰۰۲).** Reactivity of synthetic Fe chelates with soils and soil components .Plant Soil, ۲٤۱: ۱۲۹-۱۳۷.

۲. **Amirjani, M., Askari mehrabadi, M. and Azizmohamadi, F. (۲۰۱٦).** Effects of zinc oxide nanoparticles on vegetative factors, elements content and photosynthetic pigments of wheat (Triticum aestivum). Iranian Journal of plant biology, Volume ۸, Number ۲۷; Page(s) ۳۳ - ٤۸. (In Persian)

۳. **Asif, M., Farrukh Saleem, M., Anjum, S.A., Ashfaq Wahid, M. and Faisal Bilal, M. (۲۰۱۳)**. effect of nitrogen and zinc sulphate on growth and yield of maize (Zea mayes L.). Journal Agricalture Research, ۵۱(٤):٤٥٥-٤٦٤.

٤. **Auld, D. S. (۲۰۰۱)**. Zinc coordination sphere in biochemical zinc sites. Biometals ۱٤: ۲۷۱-۳۱۳.

٥. **Bayvordi, A. (۲۰۰٦)**. Zinc in soils and crop nutrition. Paivar press. Tabriz, Iran. ۱۸۰ pp. (In Persian).

٦. **Bockman, O.C. (۲۰۰۱)**. Fertilizers and Biological nitrogen fixation as source of plant nutrients: perspectives for future agriculture. Plant and soil, ۱۹٤:۱۱-۱٤.

۷. **Boorboori, M. R. and Tehrani, M. M. (۲۰۱۱)**. Effect on interactive of values and application method of copper and zinc on plant characteristics and protein of wheat. Crop Physiology Journal. ۲(۸):۲۹-٤٤. (In Persian)

۸. **Cakmak, I., Pfeiffer, W.H. and McClafferty, B. (۲۰۱۰)**. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. Cereal Chemistry ۸۷, ۱۰–۲۰.

۹. **Chance, B. and Maehly, C. (۱۹۹٥)**. Assay of catalase and peroxidase. Methods Enzymoloy.۱۱:۷٦٤-۷۷٥.

۱۰. **Chegeni, H. (۲۰۱٤)**. Effect of plant density on yield and yield components of wheat cultivars. Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi). Article ۲, Volume ۲۷, Issue ۱۰٤, Autumn ۲۰۱٤, Page ۹-۲۱. (In Persian)

۱۱. **Curtis, T. and Halford, N.G. (۲۰۱٤)**. Food security: the challenge of increasingwheat yield and the importance of not compromising food safety. Annals of Applied Biology, ۱٦٤, ۳٥٤–۳۷۲.

۱۲. **Ebrahimian, E. and Bybordi, A. (۲۰۱۱)**. Exogenous silicium and zinc increase antioxidant enzyme activity and alleviate salt stress in leaves of sunflower. Journal of Food, Agriculture and Environment ۹: ٤۲۲–٤۲۷.

۱۳. **Gibbson, R.S. (۲۰۰٦)**. Zinc: the missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. Proceedings of the Nutrition Society. University of East Anglia, Norwich, June ۲۸ – July۱،۲۰۰٥.

۱٤. **Graham, R.D., Welch, R.M. and Bouis, H.E. (۲۰۰۱)**. Addressing micronutrients malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods principles, perspectives and knowledge gaps. Advanced Agronomy. ۷۰: ۷۷-۱٤۲.

۱٥. **Gurmani, A. R., Din, J. U., Khan, S. U., Andaleep, R., Waseem, K., Khan, A. and Hadyat-Ullah. (۲۰۱۲)**. Soil Application of zinc improves growth and yield of tomato. International Journal of Agriculture and Biology. ۱٤: ۹۱–۹٦.

۱٦. **Hacisalihoglu, G., Hart, J. J., Wang, J. Y. H., Cakmak, I. and Kochian. L. V.(۲۰۰۳)**. Zinc efficiency is correlated with enhanced expression and activity of zinc-requiring enzymes in wheat. Plant Physiology ۱۳۱: ٥۹٥-٦۰۲.

۱۷. **Hosseini, Z., and Poorakbar. L. (۲۰۱۳)**. Zinc toxicity on antioxidative response in (Zea mays L.) at two different pH. Journal of Stress Physiology and Biochemistry. ۹ (۱): ٦٦-۷۳.

۱۸. **Khayat, S., Mojadam, M. and Alavi Fazel, M. (۲۰۱٤)**. Effect of nitrogen rates on grain yield and nitrogen use efficiency of durum wheat genotypes in Khouzestan. Crop Physiology Journal. ٦ (۲۱):۱۰۳-۱۱۳. (In Persian)

۱۹. **Koroi, S. A. (۱۹۸۹)**.Gelelektrophers tische and spectral photometrischoe unter uchungen zomeinfifss der temperature auf straktur and aktritat der amylase and peroxidase isoenzyme.physiol Veg.,۲۰:۱۵-۲۳.

۲۰. **Kutman, U.B., Yidiz B. and Cakmak, I. (۲۰۱۱)**. Improved nitrogen status enhances zinc andiron concentrations both in wholegrain and the endosperm fractionof wheat. Journal of Cereal Science ۵۳،۱۱۸-۱۲۵.

۲۱. **Lee, S., Kim, S. and Lee, I. (۲۰۱۲)**. Assement of phytoxicity if ZnO NPs on a medicinal plant, Fogopyrum esculentom.Environ Sci pollut Res. ۲۰۱۲; ۱۰: ۸-۱۲.

۲۲. **Lopez-Millan, A. F., Ellis, D. R. and Grusak. M. A. (۲۰۰۵)**. Effect of zinc and manganese supply on the activities of superoxide dismutase and carbonic anhydrase in Medicago truncatula wild type and raz mutant plants. Plant Science ۱٦۸: ۱۰۱۵-۱۰۲۲.

۲۳. **Maitlo, A., Hassan, Z. U., Shah, A. N. and Khan, H. (۲۰۰٦)**. Growth, Yield and Nutrient Uptake of Wheat (Triticum aestivum L.) in relation to Foliar and Soil Application of Urea.Int. J. Agr. Biol. ۸(٤):٤۷۷-٤۸۱.

۲٤. **Malhi, S. S., Lemke, R., Wang, Z. H. and Chhabra, B. S. (۲۰۰٦)**. Tillage, nitrogen and crop residue effects on crop yield, nutrient uptake, soil quality, and greenhouse gas emissions. soil tillage research. ۹۰: ۱۷۱- ۱۸۳.

۲۵. **Nejadhossini, T., Astarae, A., Khorasani, R. and Emami, H. (۲۰۱۱)**. Evaluation organic fertilizer along with B and Zn on yield, component yield and nutrients concentration in grain of .Iranian Journal of Field Crops Research.۹:۷۰- ۷۷.

۲٦. **NoorGholipoor, F., Bagheri, Y., and Lootfollahi, M. (۲۰۰۸)**. The Effect of Different Sources of Nitrogen Fertilizer on Wheat Yield and Quality. Journal of Research in Agricultural Science, Volume ٤, Number ۲, pp. ۱۲۰-۱۲۹. (In Persian)

۲۷. **Prasad, T. and Sudhakar, P. (۲۰۱۲)**. Effect of Nano scale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of Peanut (Arachis hypogaea), Journal of Plant Nutrition, ۳۵: ۹۰۵–۹۲۷.

۲۸. **Rahmati, M., Yazdani, M. and Ghanati, F. (۲۰۰٤).** Effect of excess amount of Mn on activation of certain enzymes antioxidant system in suspension-cultured tea cells. The ۲nd Congress on Applied Biology, Mashhad, Iran. (In Farsi).

۲۹. **Sadeghzadeh, B. (۲۰۱۳)**. A review of zinc nutrition and plant breeding. Journal of Soil Science and Plant Nutrition., ۱۳ (٤), ۹۰٥-۹۲۷.

۳۰. **Sbartai, H., Djebar, M.R., Rouabhi, R., Sbartai, I. and Berrebbah, H.(۲۰۱۱)**. Antioxidative response in tomato plants Lycopersicon esculentum L. roots and leaves to zinc. American-Eurasian Journal of Toxicology Science ۱: ٤۱-٤٦.

۳۱. **Seddigh, M., Khoshgoftarmanesh A.H. and Ghasemi, S. (۲۰۱۳)**. The Effectiveness of Synthesized Zinc-Amino Chelates in Supplying Zinc for Wheat. Journal of Crop Production and Processing Isfahan University of Technology. ۳ (۹):۱۷۷-۱۸۷.

۳۲. **Shafea, L., Saffari, M. and Mohammadi Nezhad, G. (۲۰۱۱)**. Effect of Nitrogen and Zinc fertilizers on leaf Zinc and Chlorophyll contents, grain yield and chemical composition of two maize (Zea mays L.) hybrids. Seed and Plant Production Journal, Volume ۲۷, Issue ۲, pages: ۲۳٥-۲٤٦

۳۳. **Sharma, R., Choudhary, R. and Laljat, B. (۲۰۱۷)**. Effect of nitrogen and zinc fertilization on growth and productivity of maize. International Journal of Agricultural Sciences. Volume ۱۳, Issue ۲, ۱٦۱-۱۷٦.

۳٤. **Shi, R., Zhang, Y., Chen, X., Sun, Q., Zhang, F., Rcemheld, V. and Zou, C.(۲۰۱۰)**. Influence oflong-term nitrogen fertilization on micronutrient density in grain of winterwheat (Triticumaestivum L.). Journal of Cereal Science ٥۱, ۱٦٥–۱۷۰.

۳٥. **Singh, M.V. (۲۰۰۹)**. Micronutrient nutritional problems in soils of India and improvement for human and animal health. Indian Journal of fertilisers ٥(٤), ۱۱–۱٦ (۱۹–۲۸ & ٥٦).

۳٦. **Varisi, V.A., Camargos, L.S., Aguiar, L.F., Christofoleti, R.M., Medici, L.O., and Azevedo, R.A. (۲۰۰۸)**. Lysine biosynthesis and nitrogen metabolism in quinoa (Chenopodium quinoa): study of enzymes and nitrogen-containing compounds. Plant Physiology Biochemestary ٤٦, ۱۱–۱۸.

۳۷. **Yassen. A., Abou El-Nour, E. A. A. and Shedeed, S. (۲۰۱۰)**. Response of wheat to foliar spray with urea and micronutrients. Journal of American Science,(٦),۹:۱٤-۲۲.

۳۸. **Zhao, A. Q., Bao, Q.L., Tian, X.H., Lu, X.C., and William, J. G. (۲۰۱۱)**. Combined effect of iron and zinc on micronutrient levels in wheat (Triticum aestivum L.). J. Environ. Biol. ۳۲: ۲۳٥-۲۳۹.