

## Effect of Iron and Zinc on Growth, Biochemical and Physiological Traits of Cultivated Saffron (*Crocus sativus* L.) Under Drought Stress in Hydroponic Cultivation Conditions.

Fahimeh Habibi<sup>1</sup>, Vahid Niknam<sup>2\*</sup> and Golandam Sharifi<sup>3</sup>

### Article type:

Research Article

### Article history:

Submitted: 29 January 2024

Revised: 19 August 2024

Accepted: 22 August 2024

Available Online: 22 August 2024

### How to cite this article:

Habibi, F., Niknam, V., and Sharifi, G. 2024. Effect of Iron and Zinc on Growth, Biochemical and Physiological Traits of Cultivated Saffron (*Crocus sativus* L.) Under Drought Stress in Hydroponic Cultivation Conditions. *Saffron Agronomy & Technology*, 12(2), 139-159.

DOI: 10.22048/jsat.2024.437868.1523

### Abstract

Drought stress is one of the most important abiotic stresses that reduce crop production more than any other stress. Micronutrients such as iron and zinc can improve drought stress tolerance in saffron. For this purpose, the present study was conducted in the growth chamber of the College of Science, University of Tehran, to investigate the effect of iron and zinc on vegetative characteristics and resistance traits of the saffron plant under water stress conditions as a factorial based on a completely randomized design. In this experiment, iron and zinc were investigated at three levels of half concentration of Hoagland, full concentration and twice the concentration of Hoagland solution and at four levels of dryness of 0, 5, 10 and 15% polyethylene glycol 6000 (PEG). The results showed that drought stress reduced fresh and dry root weight (1.36 g and 0.12 g in PEG 15%), root length (2.67 cm in PEG 15%), leaf and root protein content (0.05 and 0.04 mg/g FW in PEG 15%) and oxidizing enzymes (such as root peroxidase (1.04 IU/g protein in PEG10% and PEG15% (1.09 IU/mg protein), leaf polyphenol oxidase (in PEG5% (0.14, 0.15 IU/mg protein in PEG10% and 0.14 IU/mg protein in PEG15%), leaf catalase (0.63 in PEG5%, 0.59 IU/mg protein in PEG10% and 0.34 IU/mg protein in PEG15%) and root catalase (0.25 IU/mg protein in PEG10% and 0.18 IU/mg protein in PEG15%). The use of iron and zinc in full concentrations and twice the concentration of Hoagland solution improved some qualitative and biochemical properties such as total chlorophyll (full concentration of zinc in PEG15% as much as 4.48 mg/g FW), chlorophyll a (twice the concentration of zinc in PEG5% as much as 2.96 mg/g FW), chlorophyll b (zinc at full concentration in PEG15% as much as 5.04 mg/g w/w) Wet), carotenoids (zinc twice the concentration in PEG10% by 0.73 µg/mg protein), leaf flavonoids (iron twice the concentration of PEG5% by 0.18 µg/g FW), zinc root flavonoid twice the concentration in PEG0 by 0.15 µg/g FW), leaf flavonoids (iron twice the concentration in PEG15% by 0.05 µg/g FW) and flavonols (Leaf flavonols (twice the concentration of iron in PEG15% by 0.05 µg/g FW) and root flavonols (twice the concentration of iron in PEG5% by 0.21 µg/g FW). Finally, iron and zinc treatment improved some of the measured parameters under drought stress conditions. These concentrations of iron and zinc are recommended to reduce the negative effects of drought in saffron.

**Keywords:** saffron, drought stress, iron and zinc, induction of resistance, endogenous and non-exogenous antioxidants.

1 - Master of plant physiology, college of Biology, University of Tehran

2 - Professor, college of biology, University of Tehran

3 - Assistant Professor, Institute of human sciences and cultural studies



Corresponding author: [niknamv@ut.ac.ir](mailto:niknamv@ut.ac.ir)

## مقاله پژوهشی

# تأثیر عناصر آهن و روی بر رشد، صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.) تحت تنش خشکی در شرایط کشت هیدروپونیک

فهیمة حبیبی<sup>۱</sup>، وحید نیکنام<sup>۲\*</sup> و گل اندام شریفی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹ بهمن ۱۴۰۲

تاریخ بازنگری: ۳۰ مرداد ۱۴۰۳

تاریخ پذیرش: ۱ شهریور ۱۴۰۳

حبیبی، ف.، نیکنام، و.، و شریفی، گ. ۱۴۰۳. تأثیر عناصر آهن و روی بر رشد، صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.) تحت تنش خشکی در شرایط کشت هیدروپونیک، زراعت و فناوری زعفران، ۱۲(۲): ۱۵۹-۱۳۹.

## چکیده

تنش خشکی یکی از مهم ترین تنش های غیرزیستی است. ریزمغذی هایی مانند آهن و روی می توانند تحمل تنش خشکی را در زعفران بهبود بخشند. پژوهش حاضر برای بررسی تأثیر آهن و روی بر ویژگی های رویشی و صفات مقاومتی گیاه زعفران در شرایط تنش آبی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش وزن تر و وزن خشک ریشه (در PEG 15% به ترتیب به اندازه ۱/۳۶ گرم و ۰/۱۲ گرم)، طول ریشه (در PEG 15% به اندازه ۲/۶۷ سانتیمتر)، محتوای پروتئین برگ و ریشه (در PEG 15% به اندازه ۰/۰۵ و ۰/۰۴ میلی گرم بر گرم وزن تر)، پراکسیداز ریشه (در PEG 10% به اندازه ۱/۰۴ واحد در میلی گرم پروتئین و در PEG 15% به اندازه ۱/۰۹ واحد در میلی گرم پروتئین)، پلی فنل اکسیداز برگ (در PEG 5% به اندازه ۰/۱۴، در PEG 10% به اندازه ۰/۱۵ و در PEG 15% به اندازه ۰/۱۴ واحد در میلی گرم پروتئین)، کاتالاز برگ (در PEG 5% به اندازه ۰/۶۳، در PEG 10% به اندازه ۰/۵۹ و در PEG 15% به اندازه ۰/۳۴ واحد در میلی گرم پروتئین) و کاتالاز ریشه (در PEG 10% به اندازه ۰/۲۵ و در PEG 15% به اندازه ۰/۱۸ واحد در میلی گرم پروتئین) شد. استفاده از آهن و روی باعث بهبود برخی ویژگی های کیفی و بیوشیمیایی مانند کلروفیل کل (روی با غلظت کامل در PEG 15% به اندازه ۴/۴۸ میلی گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل a (روی دوبرابر غلظت در PEG 5% به اندازه ۲/۹۶ میلی گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (روی با غلظت کامل در PEG 15% به اندازه ۵/۰۴ میلی گرم بر گرم وزن تر)، کاروتنوئید (روی دوبرابر غلظت در PEG 10% به اندازه ۰/۷۳ میکروگرم بر میلی گرم پروتئین)، فلاونوئید برگ (آهن دوبرابر غلظت در PEG 5% به اندازه ۰/۱۸ میکروگرم بر گرم وزن تر)، فلاونوئید ریشه (روی دو برابر غلظت در PEG 0% به اندازه ۰/۱۵ میکروگرم بر گرم وزن تر)، فلاونول برگ (آهن دوبرابر غلظت در PEG 15% به اندازه ۰/۰۵ میکروگرم بر گرم وزن تر) و فلاونول ریشه (آهن دوبرابر غلظت در PEG 5% به اندازه ۰/۲۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) شد.

**کلمات کلیدی:** زعفران، تنش خشکی، آهن و روی، القای مقاومت، آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی.

۱- کارشناس ارشد، فیزیولوژی گیاهی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران

۲- استاد دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران

۳- استادیار گروه علوم تجربی، پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی

\* نویسنده مسئول: [niknamv@gmail.com](mailto:niknamv@gmail.com)

## مقدمه

گلوتامات، آسپاراتات، گلیسین، کولین و پوترسین) و اسیدهای آلی (اگزالات و مالات) تغییر نشان می‌دهند.

تحت تنش خشکی، تنظیم اسمزی با انباشتگی پرولین، ساکاروز، کربوهیدرات‌های محلول، گلیسین بتائین و دیگر محلول‌ها در سیتوزول همراه است. فرایند انباشتگی چنین حل شونده‌هایی تحت تنش خشکی تنظیم اسمزی نامیده می‌شود (Hoekstra et al., 2001). در تنش‌های محیطی فشار اسمزی افزایش پیدا می‌کند و ترکیباتی مانند پرولین باعث حفاظت اسمزی می‌شوند و به پایداری غشا کمک می‌کنند. پرولین در غلظت‌های پایین به عنوان مولکول تنظیم کننده، پاسخ‌های چندگانه مربوط به سازگاری با تنش‌های محیطی را فعال می‌کند (Yazici et al., 2007). غلظت پرولین در گیاهان متحمل به تنش بیشتر از گیاهان حساس است. پرولین در حفاظت از ساختار چهارم پروتئین‌ها، حفظ یکپارچگی غشا و کاهش اکسیداسیون لیپیدهای غشا و ممانعت نوری نقش دارد (Demiral & Türkan, 2004). همچنین پرولین در پایداری ساختارهای درون سلولی، سرکوب رادیکال‌های آزاد و حفظ پتانسیل احیا سلول در شرایط تنش دخالت می‌کند (Kahraman et al., 2019). از آنجایی که انباشت پرولین شاخصی برای ارزیابی تنش زیست محیطی در گیاهان است، محققان بر آن شدند که تأثیر شدت‌های مختلف تنش خشکی را روی گیاه زعفران بررسی کنند. قندهای محلول باعث تورژسانس برگ‌ها و جلوگیری از دهیدراته شدن پروتئین و غشاهای سلولی می‌شوند (Crowe et al., 1990; Sawhney & Singh, 2002). کربوهیدرات‌ها نقش‌های مختلفی مثل حفظ غشا، جلوگیری از دهیدراته شدن پروتئین‌ها، علامت‌رسانی تنش‌های اکسیداتیو و تنظیم اسمزی را در گیاهان ایفا می‌کنند (Couée et al., 2006; Feng et al., 2002; Teulat et al., 2001; Yang et al., 2011).

ترکیبات پلی فنل از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که

زعفران با نام علمی (*Crocus sativus* L.) از خانواده زنبقیان، گیاهی پایا، علفی، چندساله و پیاز دار با ارتفاع کمتر از ۴۰ سانتی‌متر است (Namin et al., 2010). زعفران، گیاهی نیمه گرمسیری است و با توجه به مصرف کم آب در اکثر کشورهای که با پدیده کم آبی مواجه هستند می‌تواند محصولی مناسب جهت صرفه‌جویی در مصرف آب باشد (Cardone et al., 2020). در حال حاضر، ایران با حدود ۹۰٪ از تولید جهان که در سال ۲۰۲۰ معادل ۴۱۸ تن تخمین زده شد، بزرگترین تولید کننده است (Moras et al., 2022).

یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی که گیاهان در معرض آن قرار می‌گیرند تنش خشکی است. در جریان پاسخ به تنش خشکی، میزان مالون دی‌آلدئید<sup>۱</sup> (MDA)، آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند کاتالاز<sup>۲</sup> (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز<sup>۳</sup> (SOD)، پراکسیداز<sup>۴</sup> (POX)، آسکوربات پراکسیداز<sup>۵</sup> (APX)، پلی فنل اکسیداز<sup>۶</sup> (PPO)، گلوکاتایون ردوکتاز<sup>۷</sup> (GR)، مونودهدیدرو آسکوربات ردوکتاز<sup>۸</sup> (MDAR)، دهیدروآسکوربات ردوکتاز<sup>۹</sup> (DHAR) و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند ایزومرهای فلاوون، ایزوفلاون، فلاونول، کاتکین، کومارین، توکوفرول، سینامیک اسید، آسکوربات، گلوکاتایون، کاروتنوئیدها و فسفاتیدها و همچنین رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل‌ها، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و در نهایت ترکیبات اسمزی فعال شامل کربوهیدرات‌ها (ساکارز، سوربیتول، مانیتول، آرابینیتول و پینیتول)، ترکیبات نیتروژن‌دار (پرولین، بتائین،

1-Malondialdehyde

2-Catalase

3-Superoxide dismutase

4-Peroxidase

5-Ascorbate peroxidase

6-Polyphenol oxidase

7-Glutathione reductase

8-Monodehydroascorbate reductase

9-Dehydroascorbate reductase

شناختی اساسی مانند فتوستنتز، سنتز کلروفیل، تنفس، تثبیت نیتروژن، سازوکارهای جذب و سنتز DNA از طریق عمل ریبونوکلوئوتید ردوکتاز ایفا می‌کند (Reichard, 1993). نگامی که فرم نامحلول آهن ( $Fe^{3+}$ ) احیا می‌شود، در خاک به فرم آهن فرو تبدیل و سپس توسط گیاهان جذب می‌شود (Guerinot & Yi, 1994).

در ابتدا به چند نمونه مقالاتی اشاره می‌شود که از ترکیبات مختلف برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی استفاده کردند و سپس به استفاده از آهن و روی به عنوان تجربه دیگری برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی پرداخته خواهد شد.

نواز و همکاران (Nawaz et al., 2015) در مطالعه‌ای نشان دادند که محلول پاشی سلنیوم به طور قابل توجهی پتانسیل اسمزی را کاهش و در عوض، تورژسانس، سرعت تعرق، تجمع کل قندهای محلول و اسیدهای آمینه آزاد را در گندم افزایش داد و فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی را بهبود بخشید. اصل زعیم و همکاران (Asle Zaeem et al., 2018) نشان دادند که در پاسخ به تنش خشکی وزن تر سه جمعیت مورد مطالعه زعفران کاهش یافت و استفاده از سالیسیلیک اسید در شرایط تنش شدید (20%، PEG10%) وزن تر هر سه جمعیت را نسبت به نمونه‌های بدون سالیسیلیک اسید افزایش داد. استفاده از این ترکیب می‌تواند در بهبود اثرات مخرب تنش نقش داشته باشد. صدیقی مشککانی و همکاران (Siddiqi, 2019) به این نتیجه رسیدند که در پاسخ به تنش خشکی، وزن تر و خشک برگ و ریشه زعفران کاهش یافت و افزودن گابا (گاما آمینو بوتیریک اسید) به این تیمارها موجب افزایش آنها شد. همچنین در اثر تیمار با گابا در غلظت ۲۵ میکرومول و تنش ۱۵٪ پلی اتیلن گلیکول، افزایش معنی‌دار پرولین و مالون دی‌آلدئید صورت گرفت. به طور کلی استفاده از این ماده به عنوان یک ماده مؤثر در کاهش اثرات مخرب کم آبی در گیاه زعفران توصیه شد. رضائیان و همکاران

خاصیت خود را از طریق ساز و کارهای مختلفی مانند حذف رادیکال‌های آزاد، مسدود کردن واکنش‌های اکسیداتیو، احیای هیدروژن، واکنش انسداد اکسیژن، کلات یون فلزی و عمل به عنوان سوبسترای آنزیم پراکسیداز انجام می‌دهند. افزایش ترکیبات پلی فنلی در شرایط تنش با ساختار ژنتیکی و محیط رشد گیاهان مرتبط است.

فلاونوئیدها براساس ساختار به چهار گروه فلاونول، فلاون، ایزوفلاون و آنتوسیانین تقسیم می‌شوند. فلاونوئید به عنوان یک سیستم ثانوی برای سرکوب ROS و حفاظت از دستگاه فتوستنتزی در نظر گرفته می‌شود و باعث سرکوب  $O_2$  و کاهش آسیب به غشای کلروپلاست می‌شود (Fini et al., 2011). فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی در برخی شرایط محیطی و تنش‌ها در بیشتر گیاهان قابل مشاهده هستند. نتایج بررسی‌های قبلی نشان می‌دهند که القای متابولیسم ترکیبات فنلی در پاسخ به تنش‌ها صورت می‌گیرد (Michalak, 2006).

آنتوسیانین‌ها گروهی از ترکیبات فنلی عضو گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانوی و دارای خواص آنتی اکسیدان هستند (Hoekstra et al., 2001). آنتی اکسیدان‌ها نقش محافظتی در تنش اکسیداتیو در گیاهان دارند که با اتصال گروه‌های آزاد-OH به حلقه آروماتیک باعث کاهش آسیب‌های ناشی از ROS ها و فلزات کلات شده می‌شوند. بطور کلی، افزایش متابولیت‌های ثانوی علاوه بر این که به بهبود پاسخ سلولی به تنش اکسیداتیو کمک می‌کند، موجب بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌هایی که کیفیت آن‌ها بهتر شده می‌شود (Medrano-Macías et al., 2018).

عنصر روی (Zn) جزء یکی از عناصر کم‌مصرف و ضروری برای گیاهان، حیوانات و انسان است. مقدار هورمون‌های گیاهی نیز تحت تأثیر مقدار روی در گیاه هستند و در تنظیم آب گیاه نیز دخالت دارند (Hussain et al., 2015). آهن به عنوان یک جزء حیاتی از پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، نقش مهمی در فرآیندهای زیست

۰/۱۵ - مگاپاسگال)، (۰/۳ - مگاپاسکال) شروع شد و آهن و روی با غلظت‌های نیم، یک برابر و دوبرابر غلظت هوگلند در هفته سه بار به گیاهان داده شد.

پلی اتیلن گلیکول عمدتاً برای تعیین اطلاعات حاصل از تنش خشکی در گیاهان استفاده می‌شود (Turkan et al., 2005, Landjeva et al., 2008). مشخص شده است که پلی اتیلن گلیکول به فضای دیواره سلولی وارد نمی‌شود (Rubinstein, 1982) و مولکول‌های پلی اتیلن گلیکول با وزن مولکولی بالاتر از ۳۰۰۰ جذب نمی‌شوند (Tarkow et al., 1996). در این پژوهش از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ برای ایجاد خشکی استفاده می‌شود. گزارش شده است که PEG تنش آبی قابل ملاحظه‌ای را در گیاهان القا می‌کند و اثر سمی ندارد.

به منظور سنجش و مشاهده‌ی اثرات فیزیولوژیکی ناشی از تیمارها، برگ‌ها برداشت شدند. سنجش تولید ماده تر و خشک گیاه بلافاصله پس از نمونه‌برداری صورت گرفت. بقیه نمونه‌ها برای سنجش فیزیولوژیکی تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برگ‌های کاملاً توسعه یافته پس از برداشت بلافاصله به صورت دیسک‌هایی با اندازه‌های تقریباً برابر برش و وزن تر (FW) آن اندازه‌گیری و یادداشت شد. جهت اندازه‌گیری وزن اشباع دیسک‌های برگ، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آب غوطه‌ور و در تاریکی گذاشته شد و سپس با کاغذ خشک کن خشک و با ترازو، وزن اشباع (TW) آنها اندازه‌گیری شد. پس از آن نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد تا حصول وزن خشک (DW) ثابت قرار گرفتند و سپس RWC از رابطه زیر محاسبه شد (Barr & Weatherley, 1962)

$$RWC (\%) = \frac{(\text{fresh weight} - \text{dry weight})}{(\text{turgid weight} - \text{dry weight})} * 100$$

طول برگ و ریشه گیاهان انتخاب شده برای محاسبه آبی گیاه، با خط کش اندازه‌گیری شدند. مقدار پروتئین هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر

(Rezayian et al., 2020) در مطالعه‌ی گیاهان کلزا را با غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵٪) همراه با مقدار ۱۵ میلی‌گرم در لیتر از پنکونازول<sup>۱</sup> (PEN) و کلسیم (۱۵ میلی‌مولار) یا بدون افزودن این مواد تیمار کردند. یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که پنکونازول و کلسیم توانایی افزایش تحمل در برابر تنش خشکی در کلزا را دارند.

هدف این پژوهش بررسی اثرات بهبود دهنده‌ی ریزمغذی‌های آهن و روی در تحمل تنش خشکی در گیاه زعفران در شرایط کشت هیدروپونیک و کشف سازوکارهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مؤثر در افزایش تحمل تنش خشکی در گیاه زعفران است.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش بنه‌های زعفران زراعی تهیه شده از شهرستان کاشمر، به روش هیدروپونیک (بدون خاک) کشت شدند. بنه‌ها در دو گروه ۱۰-۲۰ گرم و ۲۰/۱-۳۰ گرم قرار گرفتند و برای جلوگیری از آلودگی قارچی توسط سدیم هیپوکلریت ۱ درصد به مدت یک ساعت ضدعفونی شدند. کاشت بنه‌ها به طور کاملاً تصادفی در ۶۰ گلدان به قطر ۷ سانتی‌متر و به ارتفاع ۷ سانتی‌متر انجام شد. در هر گلدان ۳ بنه (با وزن‌های متفاوت) گذاشته و با پرلیت پر شد. گلدان‌ها به مدت یک ماه و در هر هفته سه روز با آب مقطر آبیاری شدند و در نور با شدت ۳۰۰۰ لوکس و دوره‌ی نوری ۸:۱۶ روشنایی/تاریکی، دمای روز/شب ۲۰/۳۰ درجه سانتیگراد و رطوبت ۴۰ الی ۴۵ درصد قرار گرفتند. یک هفته پس از کاشت بنه‌ها اولین جوانه‌ها ظاهر شدند. یک ماه پس از کاشت بنه‌ها آبیاری همراه با هوگلند نیم غلظت آغاز شد. از اواسط مهرماه به مدت چهار هفته تیمار با پلی اتیلن گلیکول (۶۰۰۰ PEG) با غلظت‌های ۰٪ (۰ مگاپاسگال)، ۵٪ (۰/۰۵ - مگاپاسکال)، ۱۰٪

$$C_{x+c}(\text{mg.ml}^{-1}) = (1000A470 - 1/8chl.a - 85/02chl.b)/198$$

در این فرمول  $C_{x+c}$  و  $Chl T$ ,  $Chl b$ ,  $Chl a$  به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن ها و گزانتوفیل ها) می باشند (Lichtenhaler & Wellburn, 1983). مقدار قند محلول کل با استفاده از روش دوبویس و همکاران (Dubois et al., 1956) اندازه گیری شد. به منظور سنجش محتوای فلاونوئید کل از روش چانگ و همکاران (Chang et al., 2002) استفاده شد. مقدار فنل کل بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید و میزان فلاونول کل با توجه به منحنی استاندارد محاسبه شد (Akkol et al., 2008) برای سنجش میزان آنتوسیانین از روش آمرهین و هولاندر (Amrhein & Holländer, 1979) استفاده شد. آزمایش فوق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ سطح از پلی اتیلن گلیکول و ۵ سطح از آهن و شاهد مجموعاً ۲۰ تیمار و هر آزمایش در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده های حاصل از مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ محاسبه و مقایسه میانگین داده ها به روش آنالیز واریانس یک طرفه در سطح خطای ۵٪ ( $p < 0/5$ ) با آزمون دانکن مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین ضریب همبستگی از روش PCA از طریق XLstat و برنامه CIMminer و نمودارهای حاصل از تجزیه و تحلیل نیز با Excel نسخه ۲۰۱۳ ترسیم شد.

## نتایج و بحث

### پارامترهای رشد

بر اساس نتایج، بیشترین میزان وزن تر برگ در نمونه بدون خشکی تیمار شده با روی کامل و کمترین میزان آن در نمونه بدون خشکی تیمار شده با روی دوبرابر غلظت مشاهده شد.

محاسبه شد (Bradford, 1976). فعالیت آنتی اکسیدان آنزیمی پراکسیداز با اندازه گیری تغییرات جذب در یک مخلوط واکنش حاوی ۲۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳ درصد، ۱۰۰ میکرو لیتر بنزیدین ۲۰ میلی مولار، ۲ میلی لیتر بافر استات ( $pH=6/8$ ) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در درمای ۴۰ درجه سانتی گراد در مد Kinetic و طول موج ۵۳۰ نانومتر محاسبه شد (Abeles & Biles, 1991). برای پلی فنل اکسیداز در مخلوطی از ۲/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۰/۲ مولار ( $pH=6/8$ ) و مقدار ۰/۲ میلی لیتر پیروگالال ۰/۰۲ مولار با ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و مد Kinetic تغییرات جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر محاسبه شد (Raymond et al., 1993). تغییرات جذب کاتالاز در مخلوطی از ۶۲۵ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۰۵ / ۰ مولار ( $pH:7$ ) همراه با ۷۵ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در مد Kinetic و طول موج ۲۴۰ نانومتر بر حسب واحد آنزیمی در میلی گرم پروتئین ( $\text{Unit.mg}^{-1} \text{ protein}$ ) محاسبه شد (Aebi, 1984). پراکسیداسیون لیپیدی با اندازه گیری محتوای MDA تعیین می شود. جهت محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل  $1 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1} 155$  استفاده شد. مقدار مالون دی آلدهید که محصول پراکسیداسیون لیپیدها است بر اساس نانومول در گرم وزن تر محاسبه شد (Heath & Packer, 1968). محتوای پرولین بر حسب میکرو مول بر گرم نمونه تر با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد (Bates et al., 1973). به منظور اندازه گیری انواع کلروفیل (a، b و کل) و همچنین کاروتنوئیدها، میزان جذب با استفاده از اسپکتروفوتومتر (Schimadzu Model UV-160) در مد photometric در طول موج های ۴۴۰/۵، ۶۴۶/۶، ۶۶۳/۶ نانومتر که بالاترین میزان جذب کلروفیل a، b و کاروتنوئید می باشد قرائت شد.

$$Chl.a(\text{mg.ml}^{-1}) = 12/25 A663/2 - 2/79A646/8$$

$$Chl.b(\text{mg.ml}^{-1}) = 21/51A646/8 - 5/10A663/2$$

$$Chl.T(\text{mg.ml}^{-1}) = Chl.a + Chl.b$$

جدول ۱- مقایسه میانگین داده های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تحت تأثیر درصدهای مختلف PEG و غلظت های مختلف آهن و روی  
Table 1- Mean comparison of some physiological and biochemical data under the influence of different PEG percentages and different concentrations of iron and zinc

| تیمار<br>Treatment | کارتونیند بری<br>Leaf<br>Carotenoids<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$<br>protein) | براکسیداز ریشه<br>Root Peroxidase<br>(Unit $\cdot\text{mg}^{-1}$ ) | براکسیداز بری<br>Leaf Peroxidase<br>(Unit $\cdot\text{mg}^{-1}$ ) | ریشه کاتالاز<br>Root Catalase<br>(Unit $\cdot\text{mg}^{-1}$ ) | کاتالاز بری<br>Leaf Catalase<br>(unit $\cdot\text{mg}^{-1}$ ) | ریشه<br>Polyphenoloxidase<br>(Unit $\cdot\text{mg}^{-1}$ ) | برای فیل اکسیداز بری<br>Leaf<br>Polyphenoloxidase<br>(unit $\cdot\text{mg}^{-1}$ ) | ریشه<br>Root fresh<br>weight (g) | وزن تر بری<br>Leaf fresh weight<br>(g) | وزن خشک ریشه<br>Root dry weight<br>(g) | وزن خشک بری<br>Leaf dry weight<br>(g) |
|--------------------|--|--|---|--|---|--|--|----------------------------------|--|--|---------------------------------------|
| P0T0               | 6.79±<br>0.007 <sup>m</sup>  | 1.18±0.05 <sup>f</sup>   | 0.03±<br>0.02 <sup>ab</sup>                                       | 0.29±<br>0.00 <sup>abcde</sup>                                 | 1.11±0.03 <sup>gh</sup>                                       | 0.00±<br>0.00 <sup>f</sup>                                 | 0.15±0.00 <sup>i</sup>   | 1.86±0.01 <sup>k</sup>           | 1.33±0.00 <sup>l</sup>                 | 0.17±0.01 <sup>g</sup>                 | 0.28±0.00 <sup>abcd</sup>             |
| P0Fe1              | 5.00±<br>0.003 <sup>d</sup>  | 3.13±0.013 <sup>g</sup>  | 0.04±<br>0.006 <sup>e</sup>                                       | 1.45±<br>0.04 <sup>e</sup>                                     | 0.18±0.02 <sup>abcd</sup>                                     | 0.02±<br>0.00 <sup>b</sup>                                 | 0.01±0.00 <sup>g</sup>   | 0.66±0.01 <sup>d</sup>           | 1.56±0.03 <sup>ij</sup>                | 0.059±0.00 <sup>abc</sup>              | 0.33±0.05 <sup>def</sup>              |
| P0Fe2              | 6.09±<br>.001 <sup>j</sup>   | 4.55±0.500 <sup>h</sup>  | 0.01±<br>0.002 <sup>abc</sup>                                     | 1.39±<br>0.32 <sup>e</sup>                                     | 0.22±0.01 <sup>abcd</sup>                                     | 0.01±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.01±0.00 <sup>cd</sup>  | 1.97±0.00 <sup>c</sup>           | 0.94±0.00 <sup>abcd</sup>              | 0.16±0.00 <sup>fg</sup>                | 0.25±0.00 <sup>abcd</sup>             |
| P0Zn1              | 5.87±<br>0.004 <sup>f</sup>  | 0.56±0.017 <sup>bcde</sup>   | 0.02±<br>0.008 <sup>abcd</sup>                                    | 0.41±<br>0.01 <sup>l</sup>                                     | 0.37±0.03 <sup>abcde</sup>                                    | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.03±0.00 <sup>i</sup>   | 1.78±0.05 <sup>i</sup>           | 1.60±0.04 <sup>i</sup>                 | 0.16±0.01 <sup>fg</sup>                | 0.30±0.06 <sup>abcde</sup>            |
| P0Zn2              | 5.25±<br>0.10 <sup>e</sup>   | 0.36±0.004 <sup>abcd</sup>   | 0.02±<br>0.000 <sup>abcd</sup>                                    | 0.05±<br>0.00 <sup>ab</sup>                                    | 0.56±0.01 <sup>def</sup>                                      | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.03±0.00 <sup>b</sup>   | 1.98±0.00 <sup>c</sup>           | 0.70±0.07 <sup>g</sup>                 | 0.17±0.00 <sup>gh</sup>                | 0.19±0.00 <sup>ab</sup>               |
| P5%T0              | 5.44±<br>0.004 <sup>f</sup>  | 0.86±0.039 <sup>ef</sup>   | 0.07±<br>0.00 <sup>c</sup>  | 0.35±<br>0.01 <sup>cd</sup>                                    | 0.48±0.02 <sup>bcdef</sup>                                    | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.01±0.00 <sup>de</sup>  | 2.86±0.00 <sup>m</sup>           | 1.34±0.17 <sup>klj</sup>               | 0.26±0.00 <sup>h</sup>                 | 0.36±0.04 <sup>def</sup>              |
| P5%Fe1             | 5.95±0.009 <sup>f</sup>  | 0.45±0.026 <sup>abcde</sup>  | 0.04±<br>0.00 <sup>c</sup>  | 0.21±<br>0.00 <sup>abcd</sup>                                  | 0.23±0.01 <sup>abcd</sup>                                     | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.01±0.00 <sup>de</sup>  | 0.48±0.09 <sup>h</sup>           | 1.04±0.03 <sup>bc, c, e, f, g</sup>    | 0.04±0.00 <sup>ab</sup>                | 0.34±0.03 <sup>def</sup>              |
| P5%Fe2             | 5.27±0.028 <sup>e</sup>  | 0.095±0.005 <sup>a</sup>   | 0.105±<br>0.00 <sup>g</sup>                                       | 0.12±<br>0.00 <sup>b, c</sup>                                  | 1.18±0.19 <sup>f</sup>  | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.01±0.00 <sup>ef</sup>  | 1.35±0.03 <sup>j</sup>           | 1.35±0.09 <sup>klj</sup>               | 0.14±0.02 <sup>f</sup>                 | 0.28±0.03 <sup>abcd</sup>             |
| P5%Zn1             | 4.53±0.029 <sup>c</sup>  | 0.17±0.000 <sup>ab</sup>   | 0.03±0.009 <sup>abcde</sup>                                       | 0.13±<br>0.01 <sup>abc</sup>                                   | 0.07±0.00 <sup>g</sup>  | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.00±0.00 <sup>b</sup>   | 1.13±0.00 <sup>h</sup>           | 1.25±0.20 <sup>lm</sup>                | 0.09±0.00 <sup>de</sup>                | 0.44±0.10 <sup>f</sup>                |
| P5%Zn2             | 6.12±0.003 <sup>j</sup>  | 0.21±0.004 <sup>abc</sup>  | 0.02±0.00b, c, d  | 0.04±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.23±0.00 <sup>abcd</sup>                                     | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.00±0.00 <sup>b</sup>   | 0.73±0.01 <sup>e</sup>           | 1.56±0.00 <sup>ij</sup>                | 0.06±0.00 <sup>abc</sup>               | 0.44±0.00 <sup>f</sup>                |
| P10%T0             | 3.21±0.014 <sup>b</sup>  | 0.14±0.001 <sup>ab</sup>   | 0.017±0.001 <sup>abc</sup>  | 0.04±<br>0.01 <sup>a</sup>                                     | 0.52±0.46 <sup>def</sup>                                      | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.00±0.00 <sup>b</sup>   | 0.87±0.04 <sup>f</sup>           | 1.370±0.030                            | 0.07±0.00 <sup>de</sup>                | 0.44±0.04 <sup>f</sup>                |
| P10%Fe1            | 6.38±<br>0.004 <sup>k</sup>  | 0.10±0.002 <sup>a</sup>  | 0.02±<br>0.00 <sup>cd</sup>                                       | 0.04±0.00 <sup>a</sup>   | 0.11±0.01 <sup>ab</sup>                                       | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.00±0.00 <sup>b</sup>   | 1.13±0.00 <sup>h</sup>           | 1.10±0.00 <sup>cd, e, f, gh</sup>      | 0.10±0.00 <sup>e</sup>                 | 0.261±0.002 <sup>abcd</sup>           |
| P10%Fe2            | 7.11±<br>0.012 <sup>n</sup>  | 0.40±0.296 <sup>abcd</sup>   | 0.04±<br>0.00 <sup>c</sup>  | 0.14±<br>0.009   | 0.40±0.00 <sup>bcdef</sup>                                    | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.01±0.00 <sup>ef</sup>  | 1.10±0.00 <sup>h</sup>           | 0.76±<br>0.16 <sup>ab</sup>            | 0.10±0.00 <sup>e</sup>                 | 0.22±0.04 <sup>abc</sup>              |
| P10%Zn1            | 5.59±<br>0.017 <sup>g</sup>  | 0.74±0.137 <sup>de</sup>   | 0.019±<br>0.001 <sup>abcd</sup>                                   | 0.25±0.02 <sup>abcd</sup>                                      | 0.13±0.03 <sup>abc</sup>                                      | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.00±0.00 <sup>a</sup>   | 0.94±0.02 <sup>g</sup>           | 1.37±<br>0.21 <sup>klj</sup>           | 0.09±0.00 <sup>de</sup>                | 0.42±0.03 <sup>ef</sup>               |
| P10%Zn2            | 7.52±0.006 <sup>o</sup>  | 0.629±0.020 <sup>efg</sup>   | 0.007±.002 <sup>ab</sup>  | 0.21±<br>0.01 <sup>abcd</sup>                                  | 0.31±0.00 <sup>abcd</sup>                                     | 0.015±<br>0.00 <sup>c</sup>                                | 0.00±0.00 <sup>b</sup>   | 0.39±0.00 <sup>g</sup>           | 1.03±0.00 <sup>bc, def</sup>           | 0.04±0.00 <sup>g</sup>                 | 0.35±0.00 <sup>def</sup>              |
| P15%T0             | 6.59±0.064 <sup>i</sup>  | 0.09±0.00 <sup>a</sup>   | 0.031±0.00 <sup>abcde</sup>                                       | 0.11±<br>0.01 <sup>abc</sup>                                   | 0.77±0.14 <sup>de</sup>                                       | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.01±0.00 <sup>g</sup>   | 0.50±0.00 <sup>h</sup>           | 1.19±0.00 <sup>de, f, gh</sup>         | 0.05±0.00 <sup>ab</sup>                | 0.29±0.00 <sup>abcd</sup>             |
| P15%Fe1            | 5.41±0.012 <sup>f</sup>  | 0.125±0.005 <sup>ab</sup>  | 0.008±0.000 <sup>ab</sup>   | 0.30±0.03 <sup>abc</sup>                                       | 0.45±0.00 <sup>bcdef</sup>                                    | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.00±0.00 <sup>b</sup>   | 0.49±0.00 <sup>h</sup>           | 1.14±0.01 <sup>cd, e, f, gh</sup>      | 0.04±0.00 <sup>ab</sup>                | 0.37±0.03 <sup>def</sup>              |
| P15%Fe2            | 5.73±0.103 <sup>b</sup>  | 0.11±0.000 <sup>a</sup>  | 0.01±0.000 <sup>abc</sup>   | 0.26±<br>0.00 <sup>abcd</sup>                                  | 0.22±0.01 <sup>abcd</sup>                                     | 0.00±<br>0.00 <sup>c, d</sup>                              | 0.00±0.00 <sup>a</sup>   | 0.58±0.03 <sup>g</sup>           | 1.02±0.00 <sup>bc, de</sup>            | 0.05±0.00 <sup>abc</sup>               | 0.16±0.00 <sup>g</sup>                |
| P15%Zn1            | 1.57±0.011 <sup>a</sup>  | 0.143±0.002 <sup>ab</sup>  | 0.000±0.000 <sup>a</sup>  | 0.17±<br>0.00 <sup>abcd</sup>                                  | 0.76±0.00 <sup>efg</sup>                                      | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.00±0.00 <sup>a</sup>   | 0.76±0.01 <sup>e</sup>           | 0.88±0.04 <sup>abc</sup>               | 0.07±0.00 <sup>bc, d</sup>             | 0.28±0.03 <sup>bcd</sup>              |
| P15%Zn2            | 6.61±0.015 <sup>i</sup>  | 0.110±0.001 <sup>a</sup>   | 0.006±0.000 <sup>ab</sup>   | 0.11±<br>0.01 <sup>abc</sup>                                   | 0.09±0.00 <sup>ab</sup>                                       | 0.00±<br>0.00 <sup>c</sup>                                 | 0.00±0.00 <sup>a</sup>   | 0.75±0.02 <sup>e</sup>           | 1.26±0.00 <sup>de, f, gh, i</sup>      | 0.07±0.00 <sup>de</sup>                | 0.32±0.00 <sup>def</sup>              |

ادامه جدول ۱ - مقایسه میانگین داده های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تحت تاثیر درمدهای مختلف PEG و غلظت های مختلف آهن و روی

| تیمار   | نسبی رطوبت (Relative moisture content of leaves)(%) | رشد طولی برگ (Longitudinal growth of leaves)(cm) | رشد طولی ریشه (Longitudinal growth of roots) | محتوای پروتئین کل (Total protein content of leaves)(mg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای پروتئین کل ریشه (Total protein content of roots)(mg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای کلروفیل a برگ (Leaf Chlorophyll content)(mg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای کلروفیل b ریشه (Leaf Chlorophyll content)(mg.g <sup>-1</sup> FW) | کل برگ (Leaf Total Chlorophyll content)(mg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای آنتوسیانین برگ (Leaf Anthocyanin content)(μg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای آنتوسیانین ریشه (Root Anthocyanin content)(μg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای پروتئین آزاد برگ (Free Proline content of leaves)(μg.g <sup>-1</sup> FW) |
|---------|---|--|--|--|--|--|---|--|---|--|---|
| P0T0    | 60.66±7.43 <sup>abc</sup>                           | 23.00±1.73 <sup>ab</sup>                         | 10.33±0.33 <sup>abc</sup>                    | 0.07±0.02 <sup>c</sup>   | 0.05±0.00 <sup>de</sup>  | 5.91±0.02 <sup>d</sup>   | 4.6±0.04 <sup>k</sup>   | 10.5±0.06 <sup>f</sup>   | 1.61±0.10 <sup>a</sup>  | 7.11±1.29 <sup>d</sup>   | 2.86±0.03 <sup>i</sup>  |
| P0Fe1   | 53.27±7.84 <sup>ab</sup>                            | 22.00±3.51 <sup>ab</sup>                         | 11.33±1.20 <sup>abc</sup>                    | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.09±0.03 <sup>f</sup>   | 3.88±0.00 <sup>ab</sup>  | 2.8±0.02 <sup>b</sup>   | 6.7±0.02 <sup>b</sup>  | 3.02±0.17 <sup>a</sup>  | 2.72±0.17 <sup>ab</sup>  | 1.4±0.06 <sup>abcd</sup>  |
| P0Fe2   | 66.30±4.84 <sup>abc</sup>                           | 19.66±3.92 <sup>ab</sup>                         | 8.83±1.01 <sup>ab</sup>                      | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.07±0.01 <sup>ef</sup>  | 5.40±0.01 <sup>gh</sup>  | 4.02±0.05 <sup>klj</sup>  | 8.43±0.08 <sup>de</sup>  | 6.15±0.43 <sup>d</sup>  | 6.15±0.43 <sup>d</sup>   | 2.56±0.05 <sup>ef</sup>   |
| P0Zn1   | 39.11±2.10 <sup>a</sup>                             | 23.33±2.02 <sup>ab</sup>                         | 10.33±1.66 <sup>abc</sup>                    | 0.02±0.00 <sup>b</sup>   | 0.03±0.00 <sup>cd</sup>  | 5.06±0.04 <sup>de</sup>  | 3.56±0.04 <sup>de</sup>   | 8.53±0.05 <sup>de</sup>  | 6.11±2.55 <sup>b</sup>  | 2.21±0.26 <sup>ab</sup>  | 1.85±0.01 <sup>ef</sup>   |
| P0Zn2   | 62.82±12.33 <sup>abc</sup>                          | 18.00±1.73 <sup>a</sup>                          | 9.00±1.52 <sup>ab</sup>                      | 0.02±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 4.80±0.25 <sup>d</sup>   | 3.72±0.27 <sup>gh</sup>   | 8.53±0.05 <sup>de</sup>  | 2.11±0.08 <sup>a</sup>  | 2.72±0.00 <sup>ab</sup>  | 1.49±0.10 <sup>cd</sup>   |
| P5%Fe1  | 58.13±7.68 <sup>abc</sup>                           | 27.00±1.52 <sup>b</sup>                          | 13.33±0.88 <sup>c</sup>                      | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.02±0.00 <sup>abc</sup>   | 5.05±0.01 <sup>de</sup>  | 3.33±0.04 <sup>de</sup>   | 8.38±0.05 <sup>de</sup>  | 3.93±0.00 <sup>bc</sup>   | 3.93±0.00 <sup>bc</sup>  | 2.33±0.00 <sup>ij</sup>   |
| P5%Fe2  | 63.59±9.72 <sup>abc</sup>                           | 17.66±1.45 <sup>a</sup>                          | 9.66±0.88 <sup>abc</sup>                     | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.02±0.00 <sup>abc</sup>   | 5.27±0.01 <sup>ef</sup>  | 3.52±0.01 <sup>de</sup>   | 8.80±0.03 <sup>de</sup>  | 2.23±0.03 <sup>a</sup>  | 1.81±0.00 <sup>ab</sup>  | 2.20±0.00 <sup>kl</sup>   |
| P5%Zn1  | 57.68±2.88 <sup>abc</sup>                           | 18.66±1.20 <sup>ab</sup>                         | 7.33±1.20 <sup>a</sup>                       | 0.02±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 7.37±0.06 <sup>d</sup>   | 3.80±0.03 <sup>de</sup>   | 11.17±0.05 <sup>d</sup>  | 1.71±0.20 <sup>a</sup>  | 1.81±0.00 <sup>ab</sup>  | 1.94±0.04 <sup>ef</sup>   |
| P5%Zn2  | 44.31±13.11 <sup>a</sup>                            | 18.00±3.60 <sup>a</sup>                          | 12.00±0.57 <sup>abc</sup>                    | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 3.97±0.06 <sup>ab</sup>  | 2.97±0.18 <sup>bc</sup>   | 6.94±0.25 <sup>bc</sup>  | 8.53±0.70 <sup>c</sup>  | 1.21±0.00 <sup>a</sup>   | 2.26±0.04 <sup>ef</sup>   |
| P10%Fe1 | 58.46±6.33 <sup>abc</sup>                           | 24.33±1.45 <sup>ab</sup>                         | 10.66±0.66 <sup>abc</sup>                    | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.01±0.00 <sup>abc</sup>   | 8.87±0.03 <sup>d</sup>   | 4.64±0.03 <sup>k</sup>  | 13.5±0.06 <sup>k</sup>   | 2.03±0.00 <sup>a</sup>  | 1.81±0.00 <sup>ab</sup>  | 1.43±0.02 <sup>ef</sup>   |
| P10%Fe2 | 80.67±2.30 <sup>bc</sup>                            | 24.33±0.66 <sup>ab</sup>                         | 8.66±1.66 <sup>ab</sup>                      | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.01±0.00 <sup>abc</sup>   | 3.66±0.01 <sup>d</sup>   | 2.34±0.04 <sup>h</sup>  | 6.0±0.03 <sup>b</sup>  | 1.95±0.01 <sup>a</sup>  | 4.46±2.62 <sup>d</sup>   | 2.03±0.06 <sup>gh</sup>   |
| P10%Zn1 | 59.00±7.26 <sup>abc</sup>                           | 16.00±3.51 <sup>a</sup>                          | 11.00±0.57 <sup>abc</sup>                    | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.01±0.00 <sup>abc</sup>   | 5.59±0.00 <sup>gh</sup>  | 4.14±0.05 <sup>kl</sup>   | 9.71±0.08 <sup>de</sup>  | 6.06±0.00 <sup>b</sup>  | 4.03±0.10 <sup>bc</sup>  | 2.12±0.09 <sup>gh</sup>   |
| P10%Zn2 | 63.89±8.31 <sup>abc</sup>                           | 21.66±0.88 <sup>ab</sup>                         | 11.00±0.57 <sup>abc</sup>                    | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.02±0.00 <sup>abc</sup>   | 5.67±0.03 <sup>gh</sup>  | 4.29±0.02 <sup>kl</sup>   | 9.97±0.05 <sup>d</sup>   | 1.91±0.02 <sup>a</sup>  | 1.81±0.00 <sup>ab</sup>  | 1.95±0.04 <sup>ef</sup>   |
| P15%Fe1 | 66.44±12.00 <sup>abc</sup>                          | 17.33±3.52 <sup>a</sup>                          | 8.00±0.57 <sup>abc</sup>                     | 0.00±0.00 <sup>a</sup>   | 0.03±0.00 <sup>cd</sup>  | 4.12±0.01 <sup>b</sup>   | 3.22±0.04 <sup>cd</sup>   | 7.34±0.02 <sup>d</sup>   | 1.42±0.06 <sup>a</sup>  | 1.28±0.01 <sup>a</sup>   | 1.81±0.00 <sup>ab</sup>   |
| P15%Fe2 | 84.40±6.10 <sup>c</sup>                             | 20.33±2.02 <sup>ab</sup>                         | 8.33±0.88 <sup>ab</sup>                      | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.03±0.00 <sup>cd</sup>  | 7.88±0.02 <sup>k</sup>   | 5.16±0.02 <sup>l</sup>  | 13.05±0.04 <sup>k</sup>  | 1.42±0.00 <sup>a</sup>  | 1.21±0.00 <sup>a</sup>   | 1.32±0.02 <sup>ef</sup>   |
| P15%Zn1 | 59.16±8.33 <sup>abc</sup>                           | 22.66±1.85 <sup>ab</sup>                         | 8.66±1.20 <sup>ab</sup>                      | 0.02±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.01±0.00 <sup>abc</sup>   | 4.47±0.34 <sup>e</sup>   | 4.11±0.12 <sup>kl</sup>   | 8.58±0.22 <sup>e</sup>   | 7.87±0.00 <sup>c</sup>  | 5.14±0.30 <sup>cd</sup>  | 2.18±0.18 <sup>gh</sup>   |
| P15%Zn2 | 59.17±10.93 <sup>abc</sup>                          | 21.33±2.72 <sup>ab</sup>                         | 12.00±1.15 <sup>bc</sup>                     | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.00±0.00 <sup>a</sup>   | 5.66±0.04 <sup>gh</sup>  | 3.59±0.04 <sup>de</sup>   | 9.25±0.08 <sup>de</sup>  | 1.50±0.23 <sup>a</sup>  | 2.82±0.27 <sup>de</sup>  | 1.58±0.05 <sup>ef</sup>   |
| P15%Zn1 | 67.83±8.99 <sup>abc</sup>                           | 24.66±3.84 <sup>ab</sup>                         | 10.66±0.57 <sup>abc</sup>                    | 0.00±0.00 <sup>a</sup>   | 0.02±0.00 <sup>abc</sup>   | 3.96±0.01 <sup>ab</sup>  | 3.23±0.26 <sup>cd</sup>   | 7.20±0.24 <sup>e</sup>   | 1.09±0.03 <sup>a</sup>  | 2.52±0.44 <sup>bc</sup>  | 1.82±0.08 <sup>ef</sup>   |
| P15%Zn2 | 68.25±11.18 <sup>abc</sup>                          | 18.66±1.45 <sup>ab</sup>                         | 10.66±1.45 <sup>abc</sup>                    | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.01±0.00 <sup>abc</sup>   | 5.33±0.04 <sup>gh</sup>  | 9.64±0.12 <sup>m</sup>  | 14.98±0.17 <sup>n</sup>  | 1.67±0.01 <sup>a</sup>  | 2.22±0.61 <sup>ab</sup>  | 2.62±0.03 <sup>kl</sup>   |
| P15%Zn2 | 68.25±11.18 <sup>abc</sup>                          | 18.66±1.45 <sup>ab</sup>                         | 10.66±1.45 <sup>abc</sup>                    | 0.01±0.00 <sup>ab</sup>  | 0.01±0.00 <sup>abc</sup>   | 4.84±0.01 <sup>d</sup>   | 3.39±0.00 <sup>de</sup>   | 8.23±0.01 <sup>d</sup>   | 1.65±0.04 <sup>a</sup>  | 3.73±0.43 <sup>bc</sup>  | 1.26±0.11 <sup>ab</sup>   |

ادامه جدول ۱ - مقایسه میانگین داده های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تحت تاثیر درمدهای مختلف PEG و غلظت های مختلف آهن و روی

| تیمار   | محتوای پروتئین آزاد (Free Proline content of Root)(μg.g <sup>-1</sup> FW) | ریشه (Root)              | محتوای پروتئین کل برگ (Leaf Total Chlorophyll content)(μg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای پروتئین کل ریشه (Root Total Chlorophyll content)(μg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای کلروفیل a برگ (Leaf Chlorophyll content)(mg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای کلروفیل b ریشه (Leaf Chlorophyll content)(mg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای کلروفیل کل (Leaf Total Chlorophyll content)(μg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای آنتوسیانین برگ (Leaf Anthocyanin content)(μg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای آنتوسیانین ریشه (Root Anthocyanin content)(μg.g <sup>-1</sup> FW) | محتوای پروتئین آزاد برگ (Free Proline content of leaves)(μg.g <sup>-1</sup> FW) |
|---------|---|--------------------------|---|--|--|---|---|---|--|---|
| P0T0    | 3.43±0.12 <sup>f,g,h</sup>  | 6.41±0.08 <sup>g,h</sup> | 0.19±0.01 <sup>a</sup>  | 0.01±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.01±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.01±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.16±0.00 <sup>a</sup>  | 0.06±0.00 <sup>a</sup>  | 0.18±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.08±0.00 <sup>bc</sup>   |
| P0Fe1   | 2.67±0.05 <sup>abcd</sup>   | 3.89±0.38 <sup>ef</sup>  | 0.42±0.02 <sup>c</sup>  | 0.002±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.22±0.00 <sup>d</sup>  | 0.09±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.17±0.00 <sup>ef,gh</sup>   | 0.13±0.00 <sup>bc</sup>   |
| P0Fe2   | 2.31±0.01 <sup>b</sup>  | 3.42±0.16 <sup>c</sup>   | 0.33±0.02 <sup>b</sup>  | 0.002±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.26±0.00 <sup>d</sup>  | 0.08±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.16±0.00 <sup>ef,gh</sup>   | 0.11±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P0Zn1   | 2.80±0.01 <sup>cd</sup>   | 2.37±0.07 <sup>cd</sup>  | 0.49±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.002±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.22±0.00 <sup>d</sup>  | 0.05±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.17±0.00 <sup>ef,gh</sup>   | 0.05±0.00 <sup>bc</sup>   |
| P0Zn2   | 3.86±0.05 <sup>abcd</sup>   | 3.99±0.17 <sup>cd</sup>  | 0.48±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.001±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.18±0.00 <sup>d</sup>  | 0.21±0.00 <sup>d</sup>  | 0.14±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.25±0.00 <sup>d</sup>  |
| P5%T0   | 3.89±0.15 <sup>abcd</sup>   | 1.2±0.01 <sup>ab</sup>   | 0.43±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.001±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.16±0.01 <sup>d</sup>  | 0.07±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.14±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.10±0.00 <sup>d</sup>  |
| P5%Fe1  | 3.93±0.02 <sup>jk</sup>   | 1.53±0.03 <sup>abc</sup> | 0.35±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.001±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.17±0.01 <sup>d</sup>  | 0.08±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.15±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.08±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P5%Fe2  | 3.54±0.05 <sup>klj</sup>  | 0.62±0.26 <sup>a</sup>   | 0.34±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.002±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.34±0.00 <sup>d</sup>  | 0.20±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.18±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.29±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P5%Zn1  | 2.43±0.12 <sup>bc</sup>   | 1.49±0.00 <sup>abc</sup> | 0.34±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.002±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.12±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.12±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.16±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.14±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P5%Zn2  | 2.92±0.03 <sup>de</sup>   | 1.81±0.05 <sup>bc</sup>  | 0.35±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.002±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.15±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.10±0.00 <sup>a</sup>  | 0.16±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.11±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P10%T0  | 3.07±0.05 <sup>ef</sup>   | 4.04±0.30 <sup>ef</sup>  | 0.42±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.001±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.25±0.00 <sup>d</sup>  | 0.08±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.17±0.00 <sup>ef,gh</sup>   | 0.11±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P10%Fe1 | 3.31±0.00 <sup>efg</sup>  | 3.73±0.00 <sup>ef</sup>  | 0.38±0.01 <sup>cd</sup>   | 0.002±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.29±0.00 <sup>d</sup>  | 0.09±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.12±0.00 <sup>cd</sup>  | 0.12±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P10%Fe2 | 4.00±0.02 <sup>k</sup>  | 1.91±0.01 <sup>bc</sup>  | 0.39±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.002±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.29±0.00 <sup>d</sup>  | 0.07±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.21±0.00 <sup>d</sup>   | 0.08±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P10%Zn1 | 1.88±0.04 <sup>a</sup>  | 3.25±0.36 <sup>de</sup>  | 0.43±0.01 <sup>cd</sup>   | 0.001±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.17±0.00 <sup>d</sup>  | 0.15±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.18±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.22±0.00 <sup>d</sup>  |
| P10%Zn2 | 2.84±0.08 <sup>cd</sup>   | 3.04±0.37 <sup>de</sup>  | 0.47±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.002±0.00 <sup>gh</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.21±0.00 <sup>d</sup>  | 0.09±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.18±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.09±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P15%T0  | 3.78±0.07 <sup>abcd</sup>   | 1.70±0.06 <sup>bc</sup>  | 0.52±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.18±0.00 <sup>d</sup>  | 0.15±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.15±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.09±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P15%Fe1 | 3.00±0.26 <sup>abc</sup>  | 4.73±0.05 <sup>f</sup>   | 0.55±0.01 <sup>cd</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.01±0.00 <sup>a</sup>  | 0.26±0.00 <sup>d</sup>  | 0.13±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.17±0.00 <sup>ef,gh</sup>   | 0.18±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P15%Fe2 | 3.49±0.08 <sup>abcd</sup>   | 6.12±0.34 <sup>f</sup>   | 0.56±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.01±0.00 <sup>a</sup>  | 0.29±0.00 <sup>d</sup>  | 0.09±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.23±0.01 <sup>d</sup>   | 0.11±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P15%Zn1 | 3.65±0.21 <sup>abcd</sup>   | 4.65±0.70 <sup>f</sup>   | 0.50±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.01±0.00 <sup>a</sup>  | 0.17±0.00 <sup>d</sup>  | 0.05±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.16±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.05±0.00 <sup>cd</sup>   |
| P15%Zn2 | 2.43±0.39 <sup>bc</sup>   | 7.2±0.84 <sup>f</sup>    | 0.45±0.00 <sup>cd</sup>   | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00 <sup>bc</sup>  | h <sub>1</sub> ±0.001±  | 0.22±0.00 <sup>d</sup>  | 0.09±0.00 <sup>bc</sup>   | 0.18±0.00 <sup>gh</sup>  | 0.10±0.00 <sup>cd</sup>   |

معنی دار بین میانگین‌ها مشاهده نشد.

محتوای نسبی آب برگ (RWC)، با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) تغییر معنی داری نکرده است. تیمار آهن با غلظت کامل و دو برابر غلظت و روی با غلظت کامل نیز تغییر معنی داری در آن ایجاد نکرد. تیمار با روی دو برابر غلظت محتوای نسبی آب برگ را در تیمار خشکی ۱۰٪ افزایش داد.

محتوای نسبی آب برگ به عنوان شاخصی برای نشان دادن آسیب‌های ناشی از تنش خشکی معرفی شده است. محتوای نسبی آب بیشتر باعث افزایش میزان نورآمایی و در نتیجه افزایش عملکرد در شرایط تنش می‌شود. کاهش در RWC منجر به توقف تقسیم سلول می‌شود که در نتیجه آن سلول، اندازه لازم را قبل از وارد شدن به چرخه سلول به دست نیاورد (Khan et al., 2010). در این پژوهش، تنش خشکی در محتوای نسبی آب برگ تغییری ایجاد نکرد اما کاربرد روی دو برابر غلظت فقط در یک تیمار باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ شد.

با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) طول برگ جز در خشکی ۵٪ تغییر معنی داری نداشت. بیشترین میزان رشد طولی برگ در خشکی ۵٪ بدون تیمار و کمترین میزان رشد طولی برگ در خشکی ۱۰٪ تیمار شده با آهن با غلظت کامل مشاهده شد (جدول ۱).

رشد طولی ریشه با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) به جز در خشکی ۵٪ کاهش یافته است که این کاهش معنی دار نیست. تیمار با آهن کامل، رشد طولی ریشه را به جز در خشکی ۵٪ افزایش داد. تیمار با آهن دو برابر غلظت طول ریشه را در خشکی ۱۰٪ و ۱۵٪ افزایش داد. تیمار با روی با غلظت کامل و دو برابر غلظت طول ریشه را در خشکی ۱۵٪ افزایش داده است (جدول ۱).

رشد شامل تقسیم سلولی و طولی شدن است که یکی از

همچنین، بیشترین مقدار وزن تر ریشه در خشکی ۵٪ بدون تیمار و کمترین مقدار آن در خشکی ۱۰٪ تیمار شده با روی دو برابر غلظت مشاهده شد. همچنین براساس داده‌های به دست آمده، بیشترین میزان وزن خشک برگ در خشکی ۵٪ در نمونه‌های تیمار شده با روی کامل و دو برابر غلظت و خشکی ۱۰٪ بدون تیمار و کمترین مقدار آن در در خشکی ۱۵٪ تیمار شده با آهن دو برابر غلظت مشاهده شد. بیشترین میزان وزن خشک ریشه در خشکی ۵٪ بدون تیمار و کمترین مقدار آن در تیمار خشکی ۱۰٪ تیمار شده با روی دو برابر غلظت مشاهده می‌شود (جدول ۱).

P0T0: بدون خشکی و بدون تیمار؛ P0Fe1: بدون خشکی و با آهن با غلظت کامل؛ P0Fe2: بدون خشکی و با آهن دو برابر غلظت؛ P0Zn1: بدون خشکی و با روی با غلظت کامل؛ P0Zn2: بدون خشکی و با روی دو برابر غلظت؛ P5%T0: پلی اتیلن گلیکول ۵٪ و بدون تیمار؛ P5%Fe1: پلی اتیلن گلیکول ۵٪ و آهن با غلظت کامل؛ P5%Fe2: پلی اتیلن گلیکول ۵٪ و با آهن دو برابر غلظت؛ P5%Zn1: پلی اتیلن گلیکول ۵٪ و با روی با غلظت کامل؛ P5%Zn2: پلی اتیلن گلیکول ۵٪ و با روی دو برابر غلظت؛ P10%T0: پلی اتیلن گلیکول ۱۰٪ و بدون تیمار؛ P10%Fe1: پلی اتیلن گلیکول ۱۰٪ و با آهن با غلظت کامل؛ P10%Fe2: پلی اتیلن گلیکول ۱۰٪ و با آهن دو برابر غلظت؛ P10%Zn1: پلی اتیلن گلیکول ۱۰٪ و با روی با غلظت کامل؛ P10%Zn2: پلی اتیلن گلیکول ۱۰٪ و با روی دو برابر غلظت؛ P15%T0: پلی اتیلن گلیکول ۱۵٪ و بدون تیمار؛ P15%Fe1: پلی اتیلن گلیکول ۱۵٪ و با آهن با غلظت کامل؛ P15%Fe2: پلی اتیلن گلیکول ۱۵٪ و با آهن دو برابر غلظت؛ P15%Zn1: پلی اتیلن گلیکول ۱۵٪ و با روی با غلظت کامل؛ P15%Zn2: پلی اتیلن گلیکول ۱۵٪ و با روی دو برابر غلظت. حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده این است که اختلاف

بیان شده در تحقیق حاضر نشان می‌دهد که خشکی محتوای پروتئین برگ را کاهش داده که با بررسی های قبلی مطابقت دارد. تیمار با آهن و روی در هردو غلظت افزایشی در محتوای پروتئین‌ها به جز در نمونه بدون خشکی ایجاد نکرد.

فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) به صورت نامنظم کاهش یافته است. بیشترین میزان فعالیت در نمونه تیمار شده با آهن دوبرابر غلظت در خشکی ۵٪ و کمترین میزان آن در نمونه تیمار شده با روی با غلظت کامل در خشکی ۵٪ مشاهده می‌شود. فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) به طور نامنظمی کاهش یافته است و در غلظت ۵٪ پلی اتیلن گلیکول (PEG) افزایش داشته است. بیشترین میزان فعالیت آنزیم در تیمار با آهن با غلظت کامل در نمونه بدون خشکی و کمترین مقدار آن در نمونه تیمار شده با آهن با غلظت کامل در خشکی ۱۰٪ مشاهده می‌شود (جدول ۱). نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس یک طرفه نشان دهنده ارتباط منفی بین فعالیت این آنزیم و میزان مالون دی آلدئید است که نشان می‌دهد گیاه از این آنزیم برای مقابله با تنش استفاده کرده است.

فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) کاهش می‌یابد. بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز برگ در خشکی ۵٪ و تیمار با آهن با دوبرابر غلظت و کمترین میزان فعالیت در خشکی ۱۵٪ و تیمار با روی با غلظت کامل دیده می‌شود. در ریشه گیاه با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش داشته است. بیشترین فعالیت آنزیم در نمونه بدون خشکی تیمار شده با آهن دوبرابر غلظت و کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در خشکی ۵٪ و آهن دوبرابر غلظت و خشکی ۱۵٪ و بدون تیمار مشاهده می‌شود (جدول ۱). در تنش‌های غیر زیستی که با افزایش ROSها همراه هستند، میزان آنزیم پراکسیداز افزایش می‌یابد. این آنزیم از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی جلوگیری

حساس ترین فرایندهای فیزیولوژیکی نسبت به خشکی به علت کاهش فشار تورژسانس است. تنش خشکی با ایجاد اختلال در جریان آب از آوند چوبی به سلول‌های اطراف از طویل شدن سلول جلوگیری می‌کند (Nonami, 1998). نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد خشکی تأثیر منفی بر طول برگ و ریشه، وزن تر و خشک برگ و ریشه دارد و کاربرد آهن و روی در بعضی غلظت‌ها می‌تواند موجب بهبود تحمل به تنش شود. البته افزایش غلظت روی در بعضی موارد اثر معکوس داشته است.

**نتایج حاصل از اثر آهن و روی بر پروتئین و آنزیم‌ها و رنگیزه‌ها در شدت‌های مختلف تنش خشکی**

محتوای پروتئین برگ با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) کاهش یافته است. بیشترین محتوای پروتئین برگ در نمونه بدون خشکی و بدون تیمار و کمترین محتوای پروتئین برگ در خشکی ۱۰٪ و تیمار با روی با غلظت کامل دیده می‌شود.

محتوای پروتئین ریشه نیز با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) کاهش یافته است. بیشترین مقدار محتوای پروتئین ریشه مربوط به نمونه بدون خشکی و تیمار آهن با غلظت کامل و کمترین مقدار مربوط تیمار خشکی ۱۵٪ و تیمار آهن با غلظت کامل است (جدول ۱).

وقتی گیاهان در معرض تنش‌های غیرزیستی مثل تنش خشکی، شوری، سرما، گرما و غرقابی قرار می‌گیرند، پروتئین‌های زیادی فراتنظیم می‌شوند. گروهی از این پروتئین‌ها به طور اختصاصی در تنش تجمع می‌یابند و می‌توانند به عنوان ذخیره نیتروژن بعد از رفع تنش مورد استفاده قرار بگیرند (Ashraf & Harris, 2013). در پژوهشی که روی گیاه به لیمو انجام شد در این گیاه با افزایش تنش خشکی محتوای پروتئین زیاد شد. در رقم حساس به تنش گندم نیز، افزایش محتوای پروتئین کل با اعمال تنش مشاهده شده است (Lee & Lee, 2000). نتایج

مقدار آن در خشکی ۱۰٪ و در نمونه بدون تیمار مشاهده می‌شود. محتوای کلروفیل b با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) کاهش یافته است. بیشترین مقدار کلروفیل b در خشکی ۱۵٪ و تیمار با روی با غلظت کامل و کمترین مقدار آن در خشکی ۱۰٪ و در نمونه بدون تیمار مشاهده می‌شود. محتوای کلروفیل کل برگ با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) کاهش یافته است. بیشترین میزان کلروفیل کل در خشکی ۱۵٪ و نمونه تیمار شده با روی با غلظت کامل و کمترین مقدار آن در خشکی ۱۰٪ و نمونه بدون تیمار مشاهده می‌شود (جدول ۱).

یکی از دلایل کاهش کلروفیل در طول تنش خشکی این است که تنش خشکی باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که به نوبه خود رنگیزه‌ها را از بین برده و مقدار آنها را کاهش می‌دهد. از سوی دیگر، مولکول‌های کلروفیل در کلروپلاست‌ها تجزیه می‌شوند و ساختار تیلاکوئید از بین می‌رود (Zahedi et al., 2020). بررسی‌های گذشته روی گیاه آفتابگردان نشان داد که تنش خشکی محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل را در برخی رقم‌های این گیاه کاهش می‌دهد (Manivannan et al., 2007). در این پژوهش پارامترهایی همچون محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل با افزایش درصد خشکی کاهش یافته است که می‌توان آن را به کاهش میزان آب در دسترس گیاه و در نتیجه تجزیه کلروفیل‌ها نسبت داد. بررسی حاضر نشان می‌دهد تیمار با آهن با غلظت کامل باعث افزایش محتوای کلروفیل به جز در نمونه بدون خشکی شده است که این افزایش در خشکی ۵٪ معنی‌دار نیست. در مجموع، آهن و روی در بیشتر غلظت‌ها تأثیر مثبتی در تعدیل تنش داشتند و نتایج نشان‌دهنده نقش مثبت عناصر آهن و روی در کاهش اثرات منفی تنش خشکی و تنش اکسیداتیو است.

محتوای کاروتنوئید برگ با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول

کرده و باعث حفظ یکپارچگی غشا در شرایط تنش زا می‌شود (Passardi et al., 2005). نتایج به دست آمده از بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ و ریشه نشان داد که با افزایش درصد خشکی فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش یافت، همچنین با کاهش آنزیم پراکسیداز، میزان مالون دی‌آلدئید افزایش یافته که نشان دهنده پراکسیداسیون لیپیدی در گیاه است. تیمار با آهن دو برابر غلظت در برگ و ریشه به ترتیب در خشکی ۵٪ و نمونه بدون خشکی باعث افزایش فعالیت پراکسیداز شده است.

مقدار آنزیم پلی فنل اکسیداز برگ با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) کاهش می‌یابد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم در نمونه بدون خشکی و بدون تیمار مشاهده می‌شود. در ریشه گیاه، افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG)، باعث کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز شده است. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، در نمونه بدون خشکی تیمار شده با آهن کامل دیده می‌شود (جدول ۱). در برگ، تیمار با آهن و روی تأثیر خاصی روی فعالیت پلی فنل اکسیداز نداشته است. در ریشه تیمار با آهن با غلظت کامل و دوبرابر غلظت، فعالیت آنزیم را در خشکی ۵٪ و ۱۵٪ به طور معنی داری افزایش داده است. تیمار با روی با غلظت کامل باعث افزایش معنی دار سطح آنزیم پلی فنل اکسیداز در خشکی ۰٪ و ۵٪ شده است. تیمار با روی دوبرابر غلظت، در خشکی ۱۰٪ فعالیت آنزیم را به طور معنی داری افزایش داده است که نشان می‌دهد در این غلظت‌ها ترکیبات فنلی به عنوان پذیرنده ROS‌ها عمل نکرده و به عنوان جزء اصلی متابولیت‌های ثانوی ریشه ذخیره می‌شوند. در سایر غلظت‌ها که میزان آنزیم کاهش داشته است، شاهد افزایش رادیکال‌های فنوکسیل می‌باشد که از ارتباط منفی پلی فنل اکسیداز و ترکیبات فنلی خبر می‌دهد.

محتوای کلروفیل a در برگ با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) کاهش یافته است. بیشترین مقدار کلروفیل در نمونه تیمار شده با روی دوبرابر غلظت در خشکی ۵٪ و کمترین

(PEG) به طور نامنظمی کاهش یافته است. بیشترین محتوای کاروتنوئید در خشکی ۱۰٪ و تیمار با روی با دوبرابر غلظت و کمترین مقدار در خشکی ۱۵٪ و تیمار با روی با غلظت کامل مشاهده شد (جدول ۱).

محتوای آنتوسیانین برگ، با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG)، افزایش یافته است. بیشترین میزان آنتوسیانین در خشکی ۵٪ و نمونه تیمار شده با روی با غلظت کامل مشاهده می‌شود، کمترین محتوای آنتوسیانین در خشکی ۱۵٪ و نمونه تیمار شده با آهن با دوبرابر غلظت مشاهده می‌شود. محتوای آنتوسیانین ریشه، با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) کاهش داشته است. تیمار با روی با دوبرابر غلظت، در تمام تیمارها محتوای آنتوسیانین ریشه را کاهش داده است (جدول ۱).

#### نتایج حاصل از اثر شدت‌های مختلف تنش خشکی و مقادیر مختلف آهن و روی بر غلظت اسمولیت‌ها

با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG)، محتوای پرولین برگ کاهش یافته است. بیشترین مقدار پرولین در نمونه بدون خشکی و بدون تیمار و کمترین مقدار آن در خشکی ۱۰٪ و تیمار با روی با غلظت کامل مشاهده می‌شود.

محتوای پرولین ریشه، در خشکی ۵ و ۱۵٪ نسبت به نمونه بدون خشکی افزایش داشته است. بیشترین میزان پرولین در ریشه در خشکی ۱۰٪ و تیمار با آهن با دوبرابر غلظت و کمترین مقدار آن در خشکی ۱۰٪ و تیمار با روی با غلظت کامل مشاهده می‌شود (جدول ۱).

نتایج به دست آمده از بررسی‌های صدیقی مشکنانی و همکاران (Siddiqi Moshkenani et al., 2019) نشان داد که میزان پرولین در خشکی‌های ۱۰٪ و ۱۵٪ کاهش یافته که احتمالاً به دلیل مقاومت بالای زعفران به خشکی است و البته این نتیجه با نتایج قبلی مطابقت نداشت. نتایج حاصل از پژوهش

حاضر نشان داد که با افزایش درصد خشکی محتوای پرولین برگ کاهش یافته است اما این کاهش منظم نیست. محتوای کربوهیدرات برگ با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) به طور نسبتاً منظمی افزایش می‌یابد. بیشترین مقدار کربوهیدرات در خشکی ۱۵٪ و تیمار با آهن با دوبرابر غلظت و کمترین مقدار آن در نمونه بدون خشکی و بدون تیمار مشاهده می‌شود.

محتوای کربوهیدرات ریشه، با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) به طور نامنظم کاهش یافته است. بیشترین مقدار کربوهیدرات در خشکی ۱۵٪ و تیمار با روی دو برابر غلظت و کمترین مقدار آن در خشکی ۵٪ و تیمار با آهن با دوبرابر غلظت مشاهده می‌شود (جدول ۱).

در پژوهش حاضر مشاهده شد که با افزایش خشکی میزان کربوهیدرات برگ افزایش یافته و میزان کربوهیدرات ریشه با روند نامنظمی کاهش داشته است که احتمالاً به دلیل تحمل بالای زعفران نسبت به تنش خشکی است.

محتوای مالون دی آلدهید برگ با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG)، در خشکی ۵٪ و ۱۵٪ افزایش پیدا کرده است. بیشترین میزان مالون دی آلدهید برگ در خشکی ۵٪ و تیمار با روی با غلظت کامل و کمترین مقدار آن در خشکی ۵٪ و تیمار با آهن با غلظت کامل مشاهده می‌شود.

محتوای مالون دی آلدهید ریشه در خشکی ۱۰٪ افزایش پیدا کرده است. بیشترین میزان خشکی در خشکی ۵٪ و تیمار با روی با غلظت کامل و کمترین مقدار مالون دی آلدهید در نمونه بدون خشکی و تیمار با روی با غلظت کامل دیده می‌شود (جدول ۱). مالون دی آلدهید یکی از فرآورده‌های پراکسیداسیون لیپیدی است که باعث آسیب به آنزیم‌ها و غشاهای گیاهی شده و نشأت الکترولیت‌ها را افزایش می‌دهد و به عنوان یکی از نشانه‌های آسیب‌غشایی القاشده با تنش در نظر گرفته می‌شود (Zhang, 1999). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به

افزایش فنل کل نسبت به گیاه کنترل گردید یعنی گیاه را در برابر تنش خشکی مقاوم تر کرده است افزایش ترکیبات فنولی در اثر محرک‌های متعدد محیطی از جمله حملات میکروبی پرتوهای فرابنفش و تنش‌های فیزیکی و شیمیایی محیطی گزارش شده است. بررسی روی اکالیپتوس نشان داد که تحت شرایط تنش آبی ترکیب‌های فنلی در گیاه افزایش می‌یابد (Schwambach et al., 2008).

در این پژوهش محتوای ترکیبات فنولی در ریشه و برگ اندازه‌گیری شد. محتوای فنل و فلاونول در برگ و ریشه به جز در غلظت ۱۰٪ کاهش یافته است. با افزایش خشکی سطح فنل ریشه به جز در خشکی ۱۰٪ کاهش می‌یابد. تیمار با آهن با غلظت کامل در تمامی غلظت‌ها به جز خشکی ۱۰٪ محتوای فنل ریشه را افزایش داده است. تیمار با آهن دوبرابر غلظت به جز در خشکی صفر و ۱۰٪ محتوای فنل کل را افزایش داده است. تیمار با روی با غلظت کامل به جز در خشکی ۵٪ محتوای فنل ریشه را کاهش داده است. تیمار با روی دوبرابر غلظت، به جز در خشکی ۱۰٪ باعث افزایش محتوای فنول شده است.

با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG)، محتوای فلاونول کل برگ افزایش می‌یابد. بیشترین مقدار فلاونول برگ در خشکی ۱۵٪ و تیمار با آهن دوبرابر غلظت و کمترین مقدار آن در خشکی ۵٪ و نمونه بدون خشکی مشاهده می‌شود.

افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG)، باعث افزایش نامنظم محتوای فلاونول کل ریشه شده است. بیشترین مقدار فلاونول کل ریشه در خشکی ۵٪ و تیمار با آهن با دوبرابر غلظت و کمترین مقدار آن در نمونه بدون خشکی و خشکی ۱۵٪ تیمار شده با روی با غلظت کامل مشاهده می‌شود (جدول ۱).

میزان فلاونوئید برگ با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG)، به طور نامنظمی افزایش یافته که این افزایش در خشکی ۵٪ معنی‌دار نبوده است. بیشترین مقدار فلاونوئید کل

کاهش میزان مالون دی آلدئید و خسارت تنش در سلول‌های گیاهی کمک می‌کند (Murungu et al., 2003).

نتایج بررسی های قبلی نشان داد که، محتوای مالون دی آلدئید با شرایط تنش خشکی در هر دو غلظت ۱۰٪ و ۱۵٪ به شدت کاهش یافت که این نتیجه در غلظت ۱۰٪ با گزارشات به دست آمده در پژوهش حاضر مطابقت ندارد. کاربرد گابا با غلظت ۲۵ میکرومولار در خشکی ۱۵٪ باعث افزایش غلظت مالون دی آلدئید گردید (Siddiqi Moshkenani et al., 2019).

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه ارتباط منفی بین میزان مالون دی آلدئید با پرولین و کربوهیدرات و آنزیم‌های اکساینده مانند پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز را نشان می‌دهد که با نتایج بررسی‌های قبلی مطابقت دارد.

محتوای فنل کل، با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG) در غلظت ۱۰٪ افزایش یافته است. بیشترین میزان فنول برگ در در خشکی ۱۵٪ و نمونه تیمار شده با آهن با دو برابر غلظت و کمترین مقدار آن در خشکی ۱۵٪ و نمونه تیمار شده با آهن با غلظت کامل است.

سطح فنول ریشه با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG)، در خشکی ۱۰٪ افزایش می‌یابد. بیشترین میزان فنل در خشکی ۵٪ و نمونه تیمار شده با آهن دوبرابر غلظت و کمترین مقدار آن در نمونه بدون خشکی و تیمار شده با روی با غلظت کامل مشاهده می‌شود (جدول ۱).

صدیقی مشکنانی و همکاران (Siddiqi Moshkenani et al., 2019) در پژوهشی کاربرد گابا بر محتوای فنول را در زعفران زراعی بررسی کردند. محتوای فنول کل در هر دو غلظت تنش خشکی ۱۰٪ و ۱۵٪ افزایش یافت. طبق گزارشات به دست آمده چون ترکیبات فنولی از اسمولیت های سازگار هستند در شرایط تنش با تجمع در بافت های گیاهی باعث مقاومت گیاه می‌شوند. کاربرد گابا نیز در هر دو غلظت باعث

شرایط خشک، روی، یک ریزمغذی ضروری است که به عنوان کوفاکتورهای آنزیم های متعدد دخیل در فرایندهای متابولیکی گیاهان ( سنتز هورمونی، فتوسنتز، سنتز پروتئین، حفظ قوه نامیه دانه رست، عملکردهای غشا، واکنش های ردوکس و غیره) عمل می کند. این عنصر یک جزء ساختاری آلدولاز و کربنیک آنهیدراز است که در تثبیت کربن دخالت دارد. کاربرد روی یک استراتژی مفید برای بهبود رشد، عملکرد و کیفیت محصول گیاهان زراعی در شرایط تنش خشکی است، زیرا نقش حیاتی در سم زدایی اشکال واکنش گر اکسیژن ایفا می کند و ساختار غشای اندامک های سلولی متعددی را حفظ می کند. پژوهش های متعددی گزارش کردند که کاربرد خارجی روی تحمل گیاهان به تنش خشکی را افزایش می دهد. اما، شناخت سازو کار دقیق تحمل به تنش خشکی در حضور روی در قدم های اولیه است و برای روشن شدن به زمان نیاز دارد (Jan et al., 2022).

آهن (Fe) در تولید مولکول های رنگیزه کلروفیل دخالت دارد. این عنصر یک جز از بسیاری آنزیم های مربوط به انتقال انرژی، احیا و تثبیت نیتروژن و تشکیل لیگنین است. آهن همراه با گوگرد ترکیباتی را تشکیل می دهند که سایر واکنش های گیاهان را کاتالیز می کنند. کمبود آهن ناشی از تنش خشکی موجب کلروز برگ ها می شود که در نتیجه کاهش سطح کلروفیل است. کمبود شدیدتر آهن موجب زرد شدن کامل یا سفید شدن برگ ها و نهایتاً مرگ آنها می شود. محتوای آب خاک بر میزان محتوا و دسترسی به آهن در گیاهان اثر می گذارد. در خاک های مرطوب نسبت  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  بالاتر است و دسترسی به آهن را در گیاهان آسان تر می کند. اما، در شرایط خشک نسبت  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  در خاک کم می شود که احتمالاً ناشی از افزایش سطح اکسیژن خاک است. در پژوهش های قبلی نشان داده شد که آهن کافی برای عملکردهای آنزیم های آنتی-اکسیدان لازم است و کمبود آهن به عنوان مثال در پیاز موجب کاهش فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز شده

برگ در خشکی ۵٪ و تیمار با آهن با دوبرابر غلظت و کمترین مقدار آن در خشکی ۵٪ و تیمار با روی با دوبرابر غلظت مشاهده می شود. افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (PEG)، محتوای فلاونوئید ریشه را افزایش داده است. بیشترین مقدار فلاونوئید ریشه در نمونه بدون خشکی تیمار شده با روی با دوبرابر غلظت و کمترین مقدار آن در نمونه بدون خشکی و تیمار شده با روی با غلظت کامل مشاهده می شود (جدول ۱).

با بررسی های انجام شده بر روی تاثیر گابا بر محتوای فلاونوئید زعفران در تنش خشکی دریافتند که محتوای فلاونوئید با اعمال تنش خشکی در هر دو غلظت ۱۰٪ و ۱۵٪ خشکی در مقایسه با گیاه بدون تنش کاهش یافته است. کاربرد گابا در غلظت ۲۵ میکرومولار و در تنش خشکی ۱۵٪ اثر افزایش بر محتوای فلاونوئید داشت در حالی که گابا با غلظت ۵۰ میکرومولار فقط در غلظت ۱۰٪ خشکی محتوای فلاونوئید را افزایش داده است. طبق گزارشات فلاونوئید نیز جزء متابولیت های ثانوی در گیاه است که در شرایط تنش در گیاه افزایش می یابد (Siddiqi Moshkenani et al., 2019).

در این پژوهش، میزان فلاونوئید برگ با افزایش خشکی افزایش یافته که این افزایش در خشکی ۵٪ معنی دار نبوده است. در نهایت، افزایش میزان فلاونوئیدها که از متابولیت های ثانوی هستند در تیمار با عناصر روی و آهن نشان دهنده افزایش مقاومت به تنش است و بهبود گیاه برای تحمل شرایط تنش را نشان می دهد.

گیاهانی که در معرض تنش خشکی قرار می گیرند از سازوکارهای متعددی برای تنظیم تحمل تنش مانند تنظیم اسمزی و دفاع های آنتی اکسیداتیو استفاده می کنند. برای جابجایی کردن اشکال واکنشگر اکسیژن در شرایط خشکی، گیاهان از سیستم های آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می کنند. تنظیم اسمزی عبارت است از تنظیم حفاظت کننده های اسمزی برای حفظ تعادل اسمزی و یکپارچگی غشای سلولی در گیاهان تحت

و رنگ آبی روشن کمترین همبستگی را نشان می‌دهد. داده‌های مربوط به فلاونول و فلاونوئید با رنگ قرمز تیره نشان داده شده که همبستگی بالای این دو پارامتر را نشان می‌دهد. بین کربوهیدرات و فلاونول و فلاونوئید نیز همبستگی وجود دارد و در داخل شکل با رنگ مشکی نشان داده شده است. بین محتوای زیمایه کاتالاز و محتوای پروتئین و پلی فنل اکسیداز نیز همبستگی وجود دارد که این ارتباط با رنگ قرمز نشان داده شده است (شکل ۳).

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز HCA در ریشه، داده‌هایی که بیشترین همبستگی را دارند با رنگ قرمز روشن نشان داده شده‌اند. با توجه به شکل بین محتوای زیمایه کاتالاز و پراکسیداز، پروتئین و پلی فنل اکسیداز همبستگی بالایی دیده می‌شود که با رنگ قرمز تیره نشان داده شده است. همبستگی بین پرولین و مالون دی آلدئید، وزن تر و وزن خشک و محتوای فنل ریشه با رنگ مشکی نشان داده شده است که نشان دهنده همبستگی متوسط می‌باشد (شکل ۴).

### نتیجه‌گیری

آهن و روی در دو غلظت کامل و دوبرابر غلظت، باعث بهبود رشد و کاهش اثرات منفی در گیاه زعفران می‌شوند. آهن و روی با ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی باعث افزایش تحمل به تنش در برخی غلظت‌ها می‌شوند. از جمله این تغییرات افزایش اسمولیت‌های سازگار و آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشد. در واقع آهن و روی با افزایش توان آنتی اکسیدانی گیاه باعث سرکوب تنش اکسیداتیو و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و نشت الکترولیت‌ها می‌شوند. آهن و روی با افزایش محتوای پروتئین، فنول کل، قندهای محلول، پرولین و رنگیزه‌های فتوسنتزی باعث افزایش ویژگی آنتی‌اکسیدانی و پارامترهای رشدی می‌شوند. به طور کلی آهن و روی بهبود دهنده گیاه زعفران در برابر تنش خشکی هستند. بنابراین در شرایط تنش خشکی استفاده از این دو ماده از طریق

است. در سویا و لیمو هم کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به خاطر کمبود آهن مشاهده شد. در سویا گزارش شد که در شرایط کشت در خاک افزودن آهن و فسفر باعث افزایش رشد و شرایط تغذیه‌ای و کاهش اثرات منفی تنش خشکی می‌شود (Ahangar et al., 2016).

### نتایج حاصل از آنالیز PCA<sup>۱</sup>

نتایج آنالیز PCA در برگ نشان داد که بین داده‌های مربوط به وزن تر، وزن خشک، رشد طولی، محتوای فنول، مالون دی آلدئید، پراکسیداز، پروتئین و آنتوسیانین ارتباط مثبت مشاهده می‌شود. اما، با محتوای نسبی آب، کاتالاز، کربوهیدرات، پرولین، فلاونول، فلاونوئید، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید همبستگی منفی دارد. محتوای مالون دی آلدئید با وزن تر و خشک (رشد)، رشد طولی، ترکیبات فنولی (فنول، فلاونول، فلاونوئید)، کلروفیل a، کاروتنوئید و آنتوسیانین همبستگی مثبت و با محتوای نسبی آب، پروتئین، پلی فنول اکسیداز، کاتالاز، کربوهیدرات، کلروفیل b و کلروفیل کل همبستگی منفی دارد (شکل ۱).

نتایج حاصل از PCA در ریشه نشان داد که وزن تر ریشه با وزن خشک ریشه، رشد طولی، محتوای پروتئین، کاتالاز، پرولین، فلاونول، فلاونوئید و آنتوسیانین همبستگی مثبت و با پلی فنل اکسیداز، کربوهیدرات، مالون دی آلدئید و فنل همبستگی منفی دارد. محتوای مالون دی آلدئید ریشه، با کربوهیدرات، پرولین، فنل، فلاونول، فلاونوئید، رشد طولی و آنتوسیانین همبستگی مثبت دارد. درحالی‌که با وزن تر و خشک، پروتئین، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز همبستگی منفی دارد (شکل ۲).

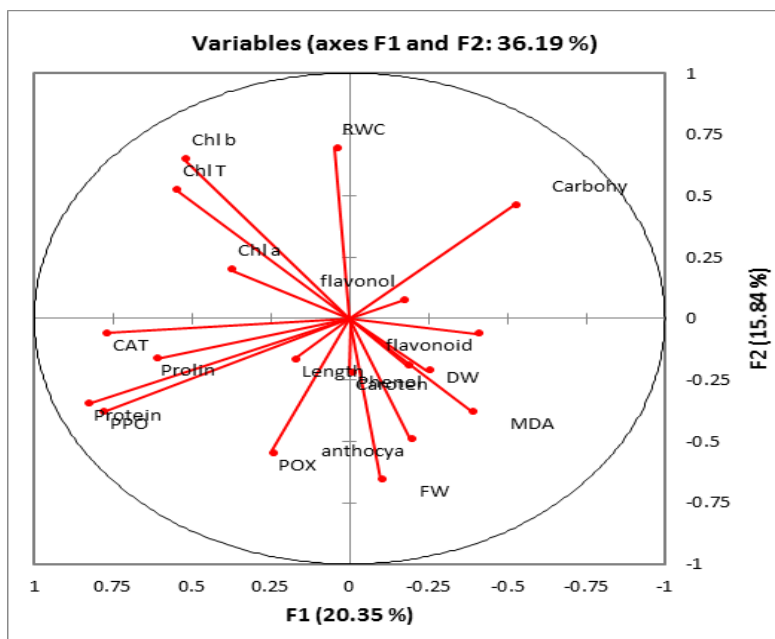
### نتایج حاصل از آنالیز HCA<sup>۲</sup>

در آنالیز HCA، تفکیک رنگی، همبستگی داده‌های مربوط به برگ را نشان می‌دهد، رنگ قرمز روشن بیشترین همبستگی

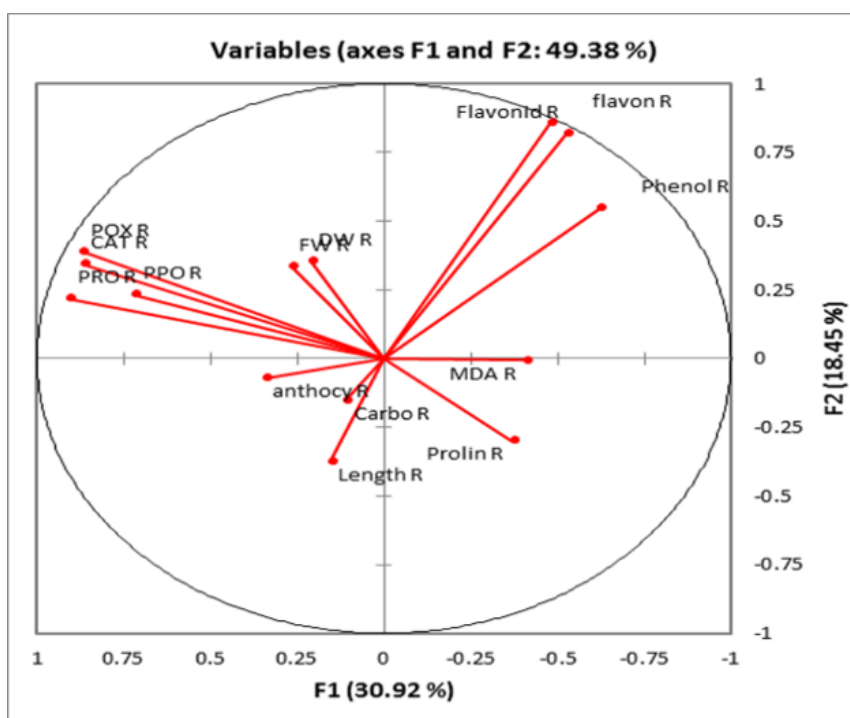
۱- Principal Component Analysis

۲- Hierarchical clustering analysis

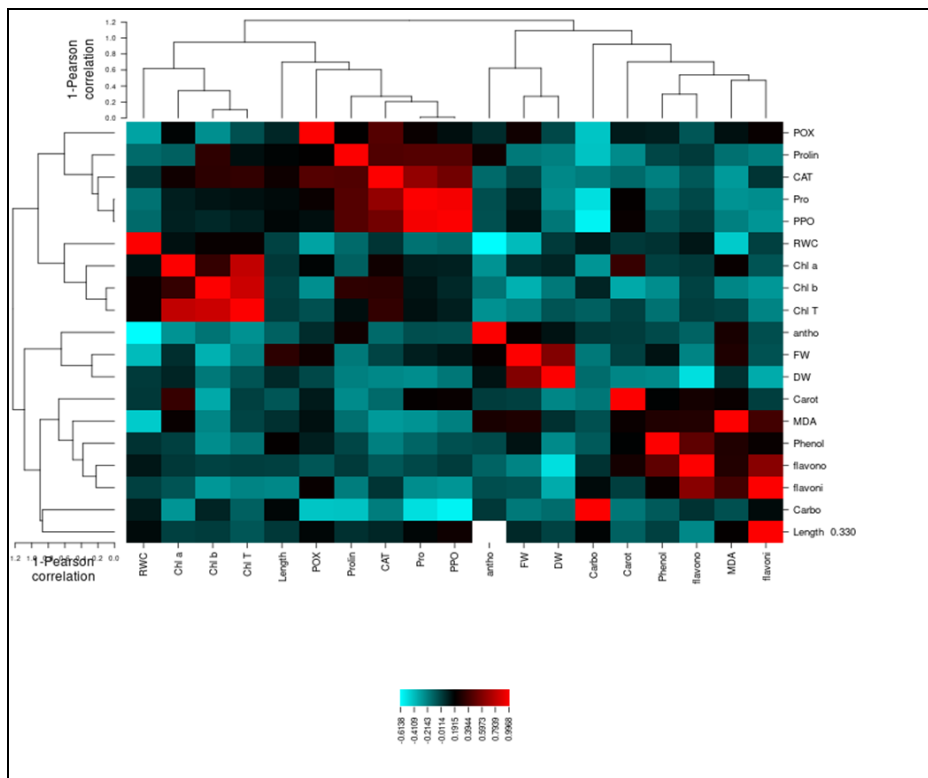
بهبود خصوصیات ریخت شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی  
توصیه می‌شود.



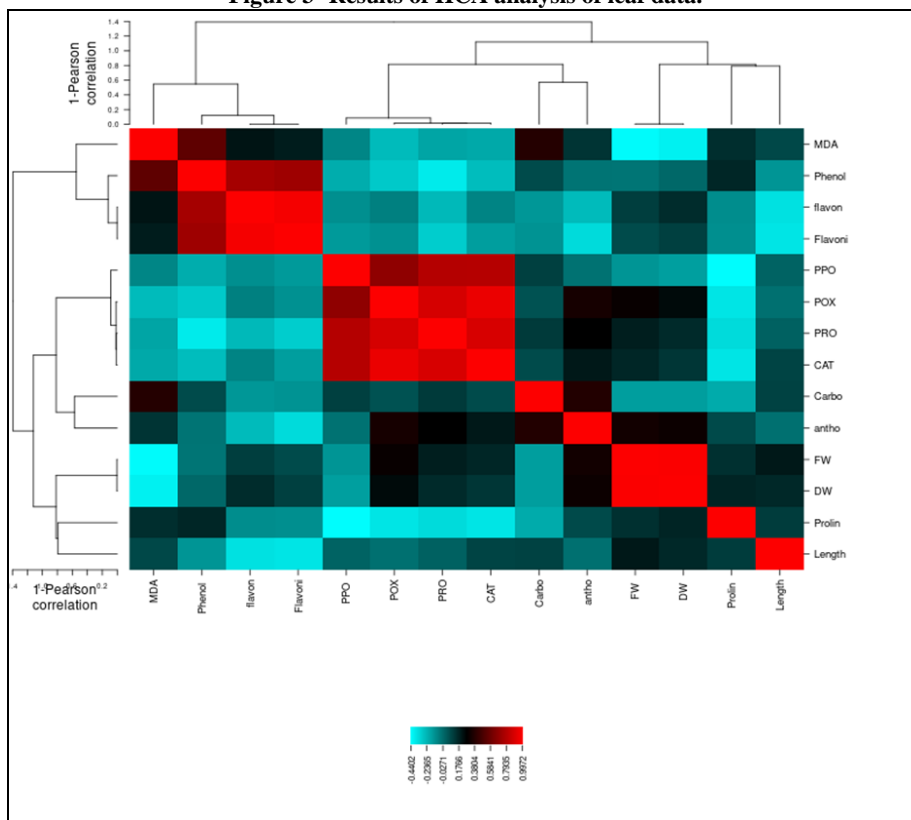
شکل ۱- نتایج حاصل از آنالیز PCA در برگ  
Figure 1- Results of PCA analysis in leaf.



شکل ۲- نتایج حاصل از آنالیز PCA در ریشه  
Figure 2- Results of PCA analysis in root.



شکل ۳- نتایج حاصل از آنالیز HCA داده‌های برگ  
Figure 3- Results of HCA analysis of leaf data.



شکل ۴- نتایج حاصل از آنالیز HCA داده‌های ریشه  
Figure 4- Results of HCA analysis of root data.

## تشکر و قدردانی

فیزیولوژی گیاهی است که با حمایت مالی دانشگاه تهران به انجام رسیده است.

این پژوهش حاصل کار پایان نامه کارشناسی ارشد

## منابع

- Abeles, F. B., & Biles, C. L. (1991). Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp. *Plant Physiology*, 95(1), 269-273. <https://doi.org/10.1104/pp.95.1.269>.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
- Ahangar, M. A., Morad-Talebi, N., Fathi abd-allah, E., Ahmad, P., & Hajiboland, R. (2016). Plant growth under drought stress: Significance of mineral nutrients. In: *Water Stress and Crop Plants: A Sustainable Approach*, Vol: 2, First edition. Edited by Parviz Ahmad. John Wiley & Sons, Inc. Akkol, E. K., Göger, F., Koşar, M., & Başer, K. H. C. (2008). Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chemistry*, 108(3), 942-949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.071>.
- Amrhein, N., & Holländer, H. (1979). Inhibition of anthocyanin formation in seedlings and flowers by the enantiomers of  $\alpha$ -aminoxy- $\beta$ -phenylpropionic acid and their N-benzyloxycarbonyl derivatives. *Planta*, 144(4), 385-389. <https://doi.org/10.1007/BF00391582>.
- Ashraf, M., & Harris, P. J. C. (2013). Photosynthesis under stressful environments: An overview. In *Photosynthetica*, 51(2), 163-190. <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6>.
- Asle Zaeem, F., Niknam, V., Sharifi, G., & Zadeh Moboud, H. I. (2018). Comparative study of drought stress and salicylic acid effects on different accessions of saffron (*Crocus Sativus* L.). *Journal of Plant Research*, 31(3), 554-569. (In Persian with English Summary).
- Barr, H. D., & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15, 413-428. <https://doi.org/10.1071/BI9620413>.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant & Soil*, 39(1), 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Cardone, L., Castronuovo, D., Perniola, M., Cicco, N., & Candido, V. (2020). Saffron (*Crocus sativus* L.), the king of spices: An overview. *Scientia Horticulturae*, 272(3), 109560. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109560>.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food & Drug Analysis*, 10(3), 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>.
- Couée, I., Sulmon, C., Gouesbet, G., & el Amrani, A. (2006). Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 57(3), 449-459. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj027>.

- Crowe, J. H., Carpenter, J. F., Crowe, L. M., & Anchordoguy, T. J. (1990). Are freezing and dehydration similar stress vectors? A comparison of modes of interaction of stabilizing solutes with biomolecules. *Cryobiology*, 27(3), 219-231. [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(90\)90023-W](https://doi.org/10.1016/0011-2240(90)90023-W).
- Demiral, T., & Türkan, I. (2004). Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? *Journal of Plant Physiology*, 161(10), 1089-1100. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.03.009>.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- Feng, G., Zhang, F. S., Li, X. L., Tian, C. Y., Tang, C., & Rengel, Z. (2002). Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza*, 12(4), 185-190. <https://doi.org/10.1007/s00572-002-0170-0>.
- Fini, A., Brunetti, C., Ferdinando, M. di, Ferrini, F., & Tattini, M. (2011). Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6(5), 709-711. <https://doi.org/10.4161/psb.6.5.15069>.
- Guerinot, M. L., & Yi, Y. (1994). Iron: Nutritious, noxious, and not readily available. *Plant Physiology*, 104(3), 815-820. <https://doi.org/10.1104/pp.104.3.815>.
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 125(1), 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1).
- Hoekstra, F. A., Golovina, E. A., & Buitink, J. (2001). Mechanism of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science*, 6(9), 431-438. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(01\)02052-0](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(01)02052-0).
- Hussain, A., Arshad, M., Zahir, Z.A. & Asghar, M. (2015). Prospects of Zinc solubilizing bacteria for enhancing growth of maize. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 52(4), 915-922.
- Jan, A. U., Ditta H. F., Allah, Muhammad, S, Midrar, U. (2022). Zinc-induced anti-oxidative defence and osmotic adjustments to enhance drought stress tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Environmental & Experimental Botany*, 193, 104682. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104682>.
- Kahraman, M., Sevim, G., & Bor, M. (2019). The Role of Proline, Glycinebetaine, and Trehalose in Stress-Responsive Gene Expression. In: Hossain, M., Kumar, V., Burritt, D., Fujita, M., Mäkelä P., editors. *Osmoprotectant-Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants*. Cham: Springer; 241-256. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-27423-8\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-27423-8_11).
- Khan, M. N., Siddiqui, M. H., Mohammad, F., Naeem, M., & Khan, M. M. A. (2010). Calcium chloride and gibberellic acid protect linseed (*Linum usitatissimum* L.) from NaCl stress by inducing antioxidative defence system and osmoprotectant accumulation. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32(1), 121-132. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0387-z>.
- Landjeva, S., Neumann, K., U. Lohwasser, U., Borner, M. (2008). Molecular mapping of genomic regions associated with wheat seedling growth under osmotic stress. *Biologia Plantarum*, 52, 259-266. <https://doi.org/10.1007/s10535-008-0056-x>.
- Lee, D. H. & Lee, C. B. (2000). Chilling stress induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: In gel enzymes activity assays. *Plant Science*, 159, 75-85.

- [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00326-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00326-5).
- Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G. M. A., & Panneerselvam, R. (2007). Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids & Surfaces B: Biointerfaces*, 59(2), 141-149. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.05.002>.
- Medrano-Macías, J., Mendoza-Villarreal, R., Robledo-Torres, V., Fuentes-Lara, L. O., Ramírez-Godina, F., Pérez-Rodríguez, M. Á., & Benavides-Mendoza, A. (2018). The use of iodine, selenium, and silicon in plant nutrition for the increase of antioxidants in fruits and vegetables. *Antioxidants in Foods & its Applications*, 64(11), 155-168. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75069>.
- Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4), 523-530.
- Moras, B., Pouchieu, C., Gaudout, D., Rey, S., Anchisi, A., Saupin, X., & Jame, P. (2022). Authentication of Iranian saffron (*Crocus sativus*) using stable isotopes  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^2\text{H}$  and metabolites quantification. *Molecules*, 27, 6801. <https://doi.org/10.3390/molecules27206801>.
- Murungu, F. S., Nyamugafata, P., Chiduza, C., Clark, L. J., & Whalley, W. R. (2003). Effects of seed priming, aggregate size and soil matric potential on emergence of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and maize (*Zea mays* L.). *Soil & Tillage Research*, 74(2), 161-168. <https://doi.org/10.1016/j.still.2003.06.003>.
- Namin, M. H., Ebrahimzadeh, H., Ghareyazie, B., Radjabian, T., & Namin, H. H. (2010). Initiation and origin of stigma-like structures (SLS) on ovary and style explants of saffron in tissue culture. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 52(1), 55-60. <https://doi.org/10.2478/v10182-010-0007-7>.
- Nawaz, F., Ahmad, R., Ashraf, M. Y., Waraich, E. A., & Khan, S. Z. (2015). Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical constituents of wheat under drought stress. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 113, 191-200. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.003>.
- Nonami, H. (1998). Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. *Journal of Plant Research*, 111(3), 373-382. <https://doi.org/10.1007/BF02507801>.
- Passardi, F., Cosio, C., Penel, C., & Dunand, C. (2005). Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports*, 24(5), 255-265. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0972-6>
- Raymond, J., Rakariyatham, N., & Azanza, J. L. (1993). Purification and some properties of polyphenoloxidase from sunflower seeds. *Phytochemistry*, 34(4), 927-931. [doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90689-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90689-7).
- Reichard P. (1993). From RNA to DNA, why so many ribonucleotide reductases? *Science*, 260(5115), 1773-1777. <https://doi.org/10.1126/science.8511586>.
- Rezayian, M., Niknam, V., & Ebrahimzadeh, H. (2020). Penconazole and calcium ameliorate drought stress in canola by upregulating the antioxidative enzymes. *Functional Plant Biology*, 47(9), 825-839. <https://doi.org/10.1071/FP19341>.
- Rubinstein, B., & Turner, N.C. (1982). Regulation of H<sup>+</sup> excretion. Effects of osmotic shock. *Plant Physiology*, 69(4), 939-944. [https://doi.org/0032-0889/82/69/0939/06/\\$00.50/0](https://doi.org/0032-0889/82/69/0939/06/$00.50/0)
- Sawhney, V., & Singh, D. P. (2002). Effect of chemical desiccation at the post-anthesis stage on some physiological and biochemical changes in the flag leaf of contrasting wheat genotypes. *Field Crops Research*, 77(1), 1-6. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(01\)00192-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(01)00192-7).

- Schwambach, J., Ruedell, C. M., de Almeida, M. R., Penchel, R. M., de Araujo, E. F., & Fetto-Neto, A. G. (2008). Adventitious rooting of *Eucalyptus globulus* × *maidennii* mini-cuttings derived from mini-stumps grown in sand bed and intermittent flooding trays: a comparative study. *New Forests*, 36, 261-271. <https://doi.org/10.1007/s11056-008-9099-2>.
- Siddiqi Moshkenani, F., Sharifi, G., & Saifi Kalhor, M. (2019). The effect of gamma-aminobutyric acid on improving drought stress tolerance in cultivated saffron (*Crocus sativus* L.). *Plant Process & Function*, 9(3), 29-50. (In Persian with English Summary).
- Tarkow, H., Feist, W. C., & Southerland, C. F. (1966). Interaction of wood with polymeric materials. Penetration versus molecular size. *Production Journal*, 16(10), 61-65.
- Teulat, B., Borries, C., & This, D. (2001). New QTLs identified for plant water status, water-soluble carbohydrate and osmotic adjustment in a barley population grown in a growth-chamber under two water regimes. *Theoretical & Applied Genetics*, 103(1), 161-170. <https://doi.org/10.1007/s001220000503>.
- Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F., & Koca, H. (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168, 223-231. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.032>.
- Yang, F., Wang, Y., Wang, J., Deng, W., Liao, L., & Li, M. (2011). Different eco-physiological responses between male and female *Populus deltoides* clones to waterlogging stress. *Forest Ecology & Management*, 262(11), 1963-1971. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.08.039>.
- Yazici, I., Türkan, I., Sekmen, A. H., & Demiral, T. (2007). Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental & Experimental Botany*, 61(1), 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.02.010>.
- Zahedi, S. M., Moharrami, F., Sarikhani, S., & Padervand, M. (2020). Selenium and silica nanostructure-based recovery of strawberry plants subjected to drought stress. *Scientific Reports*, 10(1), 17672. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74273-9>.
- Zhang, J. (1999). Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany*, 50(332), 291-302. <https://doi.org/10.1093/jxb/50.332.291>.