به‌زراعی کشاورزی

دوره ۲۱ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۸

صفحه‌های ۳۹۲-۳۷۹

تأثیر کاربرد اسید آمینه و روی بر جذب و انتقال روی و آهن در کلزا در شرایط کشت محلول

محمدهادی میرزاپور[۱*]، احمد گلچین[۲]، امیرحسین خوشگفتارمنش[۳]، محمدمهدی طهرانی[۴]

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲. استاد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۳. استاد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

۴. استادیار، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۲/۰۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۳/۱۴

چکیده

بررسی نقش اسیدهای آمینه در جذب و انتقال عناصر کم‌مصرف برای بهبود مدیریت تغذیه گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این آزمایش کشت محلول، اثر کاربرد ۱۰۰ میکرومولار تریپتوفان، آرژنین و هیستیدین برجذب و انتقال روی و آهن در کلزا در سه سطح صفر، ۵ و ۱۰ میکرومولار روی از منبع سولفات‌روی بررسی شد. نتایج نشان داد در غلظت ۵ میکرومولار روی، حضور اسید آمینه آرژنین و تریپتوفان سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک شاخساره در مقایسه با شاهد شد درحالی‌که کاربرد هیستیدین منجر به افزایش معنی‌دار وزن خشک شاخساره گیاه در این سطح از روی شد. بالاترین مقدار جذب روی توسط شاخساره کلزا در سطح ۱۰ میکرومولار روی در حضور اسید آمینه هیستیدین به‌دست آمد. کاربرد ۱۰ میکرومولار روی تنها در حضور آرژنین سبب افزایش معنی‌دار جذب روی ریشه در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه شد. افزایش غلظت روی به ۱۰ میکرومولار در حضور اسیدهای آمینه، به‌جز اسیدآمینه آرژنین، سبب کاهش جذب آهن شاخساره و ریشه کلزا شد. بالاترین غلظت اسید آمینه کل در شاخساره و ریشه مربوط به تیمار بدون روی و بدون اسید آمینه بود. صرف‌نظر از نوع اسید آمینه مصرفی، افزایش سطح روی تا ۱۰ میکرومولار سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز برگ شد. براساس نتایج پژوهش حاضر، حضور اسیدهای آمینه تأثیر معنی‌داری بر جذب و انتقال روی و آهن در کلزا داشت و این تأثیر بسته به نوع اسید آمینه متفاوت بود. در بین اسیدهای آمینه، کاربرد اسیدآمینه هیستیدین باعث بیش‌ترین افزایش جذب روی و عملکرد ماده خشک شاخساره و ریشه کلزا گردید.

کلیدواژه‌ها: آسکوربات‌پراکسیداز، آهن، اسید آمینه، عملکرد شاخساره، کاتالاز.

Effect of Amino Acid and Zinc Application on Uptake and Transport of Zinc and Iron in Rapeseed in Nutrient Solution Culture

Mohammad Hadi Mirzapour[1*], Ahmad Golchin[2], Amir Hosein Khoshgoftarmanesh[3], Mohammad Mahdi Tehrani[4]

1. Ph.D. Candidate, Engereening Soil Science Department, Agriculture Faculty, Zanjan University, Zanjan, Iran.
2. Professor, Engereening Soil Science Department, Agriculture Faculty, Zanjan University, Zanjan, Iran.
3. Professor, Department of Soil Science, Agriculture Faculty, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
4. Assistant Professor, Soil and Water Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Received: April 27, 2019 Accepted: June 4, 2019

Abstract

The role of amino acids on root uptake and root-to-shoot translocation of micronutrients is of great importance to improve plant nutrition management. The present nutrient solution culture experiment investigates the effect of the application of 100 µM tryptophan, arginine, and histidine on the uptake and root-to-shoot translocation of zinc (Zn) and iron (Fe) in rapeseed, supplied with three Zn levels (0, 5, and 10 µM in the form of zinc sulfate). Results show that at the 5-µM Zn level, application of arginine and tryptophan significantly reduce the shoot dry weight, compared to the amino acid-free control, while the use of histidine significantly increases the plant shoot dry weight. The highest plant shoot Zn uptake has been found at the 10-µM Zn plus histidine treatment. Application of this Zn level in the presence of arginine leads to a significant increase in root Zn uptake, compared to the amino acid-free control, while no similar effect could be found in the presence of other amino acids. In the presence of amino acids, with the exception of arginine, increasing Zn concentration in the nutrient solution to 10 µM results in lower shoot and root Fe uptake in comparison with amino acid-free treatment. In contrast, at 10-µM Zn treatment, application of arginine enhances plant shoot and root Fe uptake. The highest concentration of total amino acids in the plant shoots and roots belong to the free-Zn and free-amino acid treatments. Regardless of the type of amino acid used, increase in the Zn level up to 10 µM raises the leaf activity of the catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX). Based on the results, the presence of amino acids, dependent on the amino acid type, has had a significant effect on the root uptake and root-to-shoot translocation of zinc and iron in rapeseed. Among the amino acids, histidine is responsible for the highest increase in the plant shoot and root Zn uptake as well as dry matter yield.

Keywords: Amino acid, ascorbate peroxidase, catalase, iron, shoot yield.

* نویسنده مسئول

Email: m.mirzapour@areeo.ac.ir

۱. مقدمه

روی، یکی از عناصر کم‌مصرف است که کمبود آن سبب کاهش شدید رشد و نمو گیاه می‌شود (Cakmak *et al*., 1999; Ohki, 1976). نقش کاتالیزوری و ساختمانی روی در بیش از ۳۰۰ آنزیم گیاهی شناخته شده است. عنصر روی هم‌چنین در متابولیسم DNA و RNA، ساختمان کروماتین، جهش ژنی و نیز ساخت برخی پروتئین‌ها تأثیرگذار است (Cakmak *et al*., 1998; Cakmak *et al*., 1998; Cakmak & Engels, 1999). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که روی، هم در تکامل ساختار غشای سلولی و هم از طریق اتصال به فسفولیپیدها و گروه‌های سولفیدریل غشای سلولی، در حفاظت آن در برابر صدمات مختلف نقش دارد. در شرایط کمبود روی، غلظت ترکیبات آلی مانند کربوهیدرات‌ها و اسیدهای آمینه در گیاه به شدت افزایش می‌یابد (Cakmak *et al*., 1997; Hacisalihoglu *et al*., 2003).

عوامل متعددی بر جذب روی توسط ریشه و توزیع آن در اندام‌های مختلف گیاه اثر دارند که از آن جمله، ترشحات ریشه به‌ویژه اسیدهای آمینه است. اسیدهای آمینه با تشکیل کمپلکس با روی به جذب بهتر این عنصر کمک می‌کنند. این فرضیه وجود دارد که کمپلکس آمینواسید- روی از مسیر جذب آمینواسیدها جذب‌شده و به افزایش جذب روی نیز منجر می‌شود. مکانیزم‌های مختلفی (فعال و غیرفعال) برای جذب اسیدهای آمینه از غشای پلاسمایی ریشه گیاهان پیشنهاد شده است اما جذب فعال این ترکیبات از طریق ناقل‌های اختصاصی مورد تأکید قرار گرفته است (Nasholm *et al*., 2009). اسیدهای آمینه پس از جذب توسط ریشه، از طریق آوندهای چوب و آبکش در گیاه منتقل می‌شوند و از این طریق، علاوه بر بازچرخ نیتروژن در بخش‌های مختلف گیاه، باعث افزایش انتقال برخی از عناصر از جمله روی از ریشه به شاخساره گیاه می‌گردد (Koksal *et al*., 1999).

جذب فلزات توسط ریشه شامل جذب آپوپلاستی، جذب از طریق فضای خارجی سلول (دیواره سلولی، فضای بین سلول‌ها و حفره‌های آوند چوبی) و عبور از غشای پلاسمایی (جذب سیمپلاستی) می‌باشد (Canny, 1995). در مرحله اول، نگهداشت کاتیون‌های فلزی توسط بار منفی موجود در فضای آپوپلاسمی اتفاق می‌افتد (Meychik & Yermakov, 2001). هر چقدر بار منفی در فضای آپوپلاسمی بیش‌تر باشد و یا بار مثبت کاتیون‌ها بالاتر باشد، نگهداشت آپوپلاسمی بیش‌تر و جذب واقعی عناصر کم‌تر خواهد بود. در نتیجه، مقدار کم‌تری از عناصر به اندام‌های هوایی منتقل می‌شوند (Redjala *et al*., 2010).

تنها، بخش اندکی از عناصر کم مصرف در محیط ریشه به شکل آزاد وجود داشته و غالب یون‌ها، با مولکول‌های کم‌وزن ترشح شده از ریشه‌ها، کمپلکس تشکیل می‌دهند (Callahan *et al*., 2006; Nowack *et al*., 2006). برخی از این مولکول‌ها شامل قندها، اسیدهای آمینه و اسیدهای آلی هستند (Nowack *et al*., 2006; Jones *et al*., 2004; Fageria *et al*., 2006). برخی پژوهش‌گران اعتقاد دارند اسیدهای آمینه به‌علت سرعت بالای تخریب میکروبی، از قابلیت کم‌تری در افزایش پویایی عناصر کم‌مصرف در محیط ریشه برخوردارند (Jones & Hodge, 1999). اما ازآن‌جاکه غلظت اسیدهای آمینه در محلول خاک غالباً خیلی بیش‌تر از غلظت عناصر کم‌مصرف می‌باشد (Ghasemi *et al*., 2013) بنابراین، اسید آمینه‌های موجود در محیط ریشه، نقش مهمی در تشکیل کمپلکس با این عناصر دارند. نکته قابل‌توجه در خصوص کمپلکس‌های اسیدآمینه- فلز، پایداری این کمپلکس‌ها در شرایط محیطی اطراف ریشه می‌باشد. به‌طور مثال، مقایسه ثابت پایداری کلات‌های اسیدآمینه- روی نشان می‌دهد که کمپلکس هیستیدین- روی دارای بالاترین مقدار ثابت پایداری است (Ghasemi *et al*.,

2013). در مطالعه‌ای، مشاهده شد کاربرد هیستیدین در محلول حاوی سولفات روی، باعث افزایش ۴۰ درصدی جذب روی گردید (Scholmerich *et al*., 1987). با توجه به این که اسید آمینه غالب در ریزوسفر گیاهان مختلف متفاوت است، بررسی تأثیر جداگانه اسیدهای آمینه مختلف بر جذب روی توسط گیاه اهمیت زیادی دارد. کارایی تأثیر هر اسید آمینه بر جذب روی توسط گیاه به عوامل مختلفی از جمله درجه کمپلکس‌کنندگی با روی، رقابت سایر عناصر ازجمله آهن برای تشکیل کمپلکس با اسید آمینه موردنظر، مسیر ویژه انتقال هر اسید آمینه از دیواره سلولی و عرض غشای پلاسمایی ریشه، تأثیر بر انتقال روی از ریشه به شاخساره و اثر تحریک‌کنندگی اسید آمینه بر رشد گیاه بستگی دارد. با وجود بررسی نقش اسیدهای آمینه در تشکیل کمپلکس با برخی یون‌های فلزی به‌ویژه روی، اطلاعات به نسبت کمی درباره تأثیر این اسیدهای آلی در جذب عناصر کم‌مصرف توسط گیاه وجود دارد. بنابراین، در این پژوهش، تأثیر تغذیه روی همراه با کاربرد سه اسید آمینه تریپتوفان، آرژنین و هیستیدین بر جذب روی و آهن توسط کلزا مورد مطالعه قرار گرفت. هم‌چنین تأثیر اسیدهای آمینه بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان شاخص‌های آهن و روی فعال مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در بهار سال ۱۳۹۶ در شرایط گلخانه‌ای (دمای ۳۲ درجه سلسیوس روزانه، ۲۰ درجه سلسیوس شبانه و رطوبت ۸۰ درصد) در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی قم به‌شکل آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در محیط آب کشت انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل روی در سه سطح صفر، ۵ و ۱۰ میکرومولار از منبع سولفات روی و اسید آمینه در چهار سطح شامل عدم کاربرد اسید آمینه و کاربرد اسیدهای آمینه تریپتوفان، آرژنین هیستیدین با غلظت ۱۰۰ میکرومولار بودند. مبنای انتخاب این غلظت اسیدآمینه، بر اساس حداقل غلظت اسیدآمینه در محلول خاک بود (Yu *et al*., 2002).

بذرهای کلزا (*Brassica napus* L.) رقم هایولا-۴۰۱ با محلول ۱۰ درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی‌شده و در بستر ماسه‌ای شسته با اسید و سترون‌شده کشت گردیدند. پنج روز پس از جوانه‌زنی، نشاهای یک‌دست کلزا به ظروف پلی‌اتیلنی یک لیتری حاوی محلول غذایی هوگلند (جدول۱) (تهیه‌شده با آب مقطر یون‌زدایی‌شده و مواد شیمیایی با خلوص بیش از ۹۹ درصد) و سطوح مختلف روی و اسید آمینه منتقل شدند. هر ظرف پلی‌اتیلنی (هر تکرار) شامل دو بوته کلزا بود. جهت جلوگیری از رشد جلبک، اطراف ظروف با پلاستیک مشکی ضخیم پوشانده شدند. هوادهی ریشه‌ها به‌طور منظم و روزانه انجام شد. پی- اچ محلول غذایی با افزودن هیدروکسید سدیم و یا اسیدکلریدریک یک مولار، در محدوده ۶-۵/۵ ثابت نگه‌داشته شد. محلول غذایی هر ۷-۵ روز یک‌بار تعویض گردید.

پس از گذشت ۴۵ روز، شاخساره و ریشه از هم جداشده و به‌صورت جداگانه توزین و به آزمایشگاه منتقل گردیدند. جهت اندازه‌گیری غلظت روی و آهن، نمونه گیاه پس از شست‌وشو با شوینده مصنوعی و آب مقطر، به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در خشک کن برقی، خشک شد. نمونه‌های خشک‌شده آسیاب شده و به‌روش سوزاندن در کوره و عصاره‌گیری با اسید کلریدریک دو نرمال هضم گردیدند. غلظت روی و آهن با دستگاه پلاسمای جفت شده القایی- نوری (ICP-OES)[1] شرکت وریان، مدل Vista-MPX (آمریکا) اندازه‌گیری شد.

1. Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy

جدول ۱. ترکیب محلول غذایی هوگلند مورد استفاده برای محیط آب‌کشت در کلزا

عناصر پر مصرف			عناصر کم مصرف		
نوع ماده شیمیایی	غلظت محلول مادری (Molar)	میلی‌لیتر محلول مادری در لیتر	نوع ماده شیمیایی	غلظت محلول مادری (gr.l)	میلی‌لیتر محلول مادری در لیتر
پتاسیم دی‌هیدروژن‌فسفات	۱	۱	کلات آهن (FeEDDHA)	۱۵	۱
نیترات پتاسیم	۲	۵	اسید بوریک	۲/۸۶	۱
نیترات کلسیم	۱	۵	کلرید منگنز	۱/۸۱	۱
سولفات منیزیم	۲	۲	سولفات مس	۰/۰۵	۱
			مولیبدات سدیم	۰/۱۲	۱

جهت تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز شاخساره از روش Cakmak & Marschner (1992) استفاده شد. به این منظور ۰/۲۵ گرم شاخساره تازه از هر تیمار با ۱ میلی‌لیتر بافر ٪۱ ترایتون همگن‌شده و به‌مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور g ۱۳۰۰۰ قرار داده شد. سپس محلول صاف رویی جدا شده و در ظرف دیگری قرار داده شد. صد میکرولیتر از این محلول را با ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات حاوی آب‌اکسیژنه ۱۰ میلی‌مولار مخلوط کرده و شدت جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در این محلول توسط دستگاه طیف‌سنج در زمان‌های صفر و ۷۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز بر حسب میکرومولار آب اکسیژنه تجزیه شده در گرم وزن تر شاخساره در دقیقه بیان گردید.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز طبق روش Nakano & Asada (1981) اندازه‌گیری شد. کل مخلوط به‌کاررفته برای اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز (۳ میلی‌لیتر) شامل بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربات ۰/۲۵ میلی‌مولار و EDTA ۰/۱ میلی‌مولار بود. واکنش با اضافه‌کردن ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج‌شده شروع شد و کاهش جذب نور در طول موج ۲۹۰ و در زمان صفر و ۷۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم آسکوربات سوپراکسیداز برحسب میکرومولار آب اکسیژنه تجزیه‌شده در گرم وزن تر شاخساره و یا ریشه در دقیقه بیان شد.

جهت اندازه‌گیری غلظت اسید آمینه کل، از روش Rosen (1957) استفاده شد. نیم گرم شاخساره و یا ریشه تازه توسط کلرید پتاسیم دو نرمال عصاره‌گیری‌شده، سپس، یک میلی‌لیتراز عصاره حاصل با نیم میلی‌لیتر بافر استات سیانید سدیم و نیم میلی‌لیتر نین‌هایدرین سه درصد در متیل اتر ترکیب و در حمام آب داغ ۱۰۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. پس از آن، بلافاصله پنج میلی‌لیتر ایزوپروپیل الکل و آب به عصاره گیاه اضافه شد و به‌شدت تکان داده شد. شدت رنگ در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری قرائت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد و سپس میانگین ویژگی‌های مورد بررسی، با استفاده ازآزمون دانکن در سطح ۵ درصد آماری مقایسه شدند. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم گردیدند.

۳. نتایج و بحث

۳. ۱. عملکرد وزن خشک شاخساره و ریشه

تأثیر کاربرد روی بر وزن خشک شاخساره و ریشه کلزا بسته به غلظت روی و نوع اسید آمینه متفاوت بود

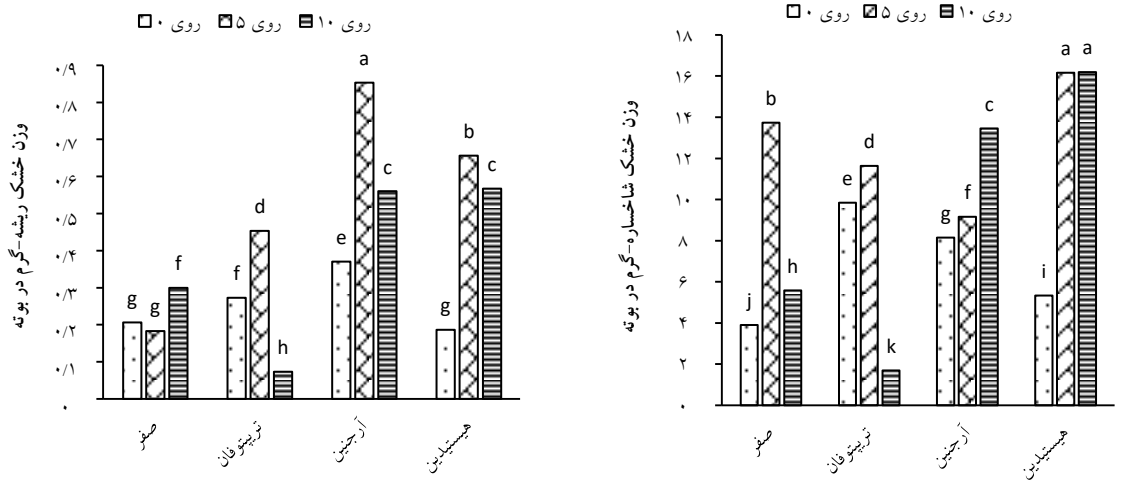
(شکل۱). در تیمار بدون اسید آمینه و نیز در حضور تریپتوفان، با افزایش غلظت روی تا ۵ میکرومولار وزن خشک شاخساره افزایش ولی در غلظت ۱۰ میکرومولار کاهش یافت (شکل ۱- الف). در غلظت ۵ میکرومولار روی، حضور اسید آمینه آرژنین و تریپتوفان سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک شاخساره در مقایسه با شاهد شد درحالی‌که کاربرد هیستیدین منجر به افزایش معنی‌دار وزن خشک شاخساره گیاه در این سطح از روی شد. در غلظت ۱۰ میکرومولار روی، کاربرد آرژنین و هیستیدین سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک شاخساره در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه در همین سطح روی شد. به‌طورکلی، بالاترین وزن خشک شاخساره در تیمار ۵ و ۱۰ میکرومولار روی همراه با هیستیدین مشاهده شد.

در حضور هر سه اسید آمینه با افزایش غلظت روی تا ۵ میکرومولار، وزن خشک ریشه افزایش و بعد از آن در غلظت ۱۰ میکرومولار روی کاهش یافت. در مقابل، در غیاب اسید آمینه‌ها، کاربرد ۵ میکرومولار روی تأثیری بر وزن خشک ریشه نداشت اما غلظت ۱۰ میکرومولار روی سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه شد. در سطوح صفر و ۵ میکرومولار روی، حضور هر سه اسید آمینه سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه در مقایسه با شاهد شد اگرچه این افزایش در حضور آرژنین بیش‌تر و در حضور تریپتوفان کم‌تر از سایر اسید آمینه‌ها بود. به‌طورکلی، بالاترین وزن خشک ریشه در تیمار ۵ میکرومولار روی همراه با آرژنین مشاهده شد (شکل ۱- ب).

۳. ۲. غلظت روی شاخساره و ریشه

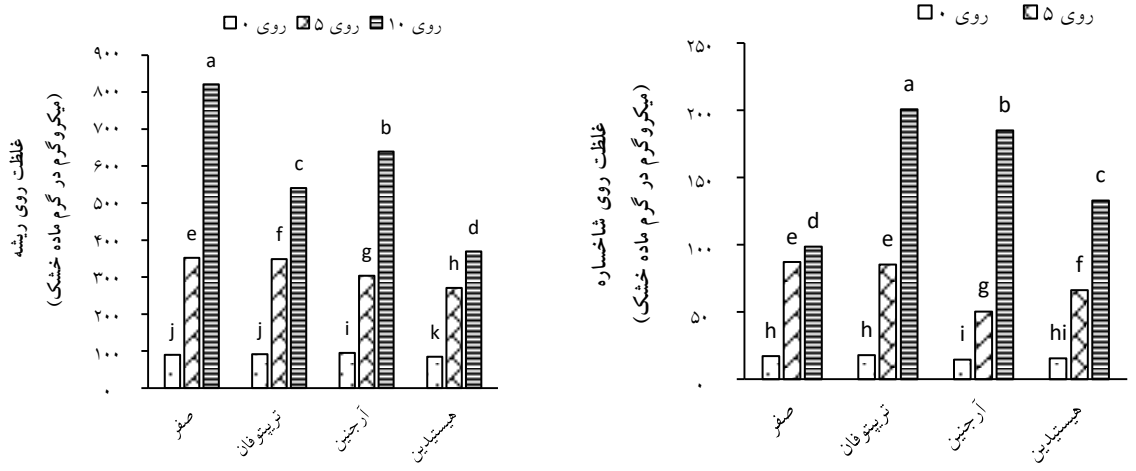
تأثیر کاربرد روی بر غلظت روی شاخساره و ریشه کلزا بسته به غلظت روی و نوع اسید آمینه متفاوت بود (شکل۲). در سطح ۱۰ میکرومولار روی، حضور هر سه اسید آمینه سبب افزایش غلظت روی شاخساره گیاه شد و بالاترین افزایش در حضور تریپتوفان مشاهده شد.

در سطح ۵ میکرومولار روی، حضور اسید آمینه‌های هیستیدین و آرژنین سبب کاهش غلظت روی شاخساره در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه در همین سطح روی شد (شکل ۲- الف).



(الف) (ب)

شکل ۱. نمودار مقایسه میانگین سطوح مختلف اسید آمینه و روی بر عملکرد شاخساره (الف) و ریشه (ب) کلزا (رقم هایولا-۴۰۱)



(الف) (ب)

شکل ۲. نمودار مقایسه میانگین سطوح اسید آمینه و روی بر غلظت روی شاخساره (الف) و ریشه (ب) کلزا (رقم هایولا-۴۰۱)

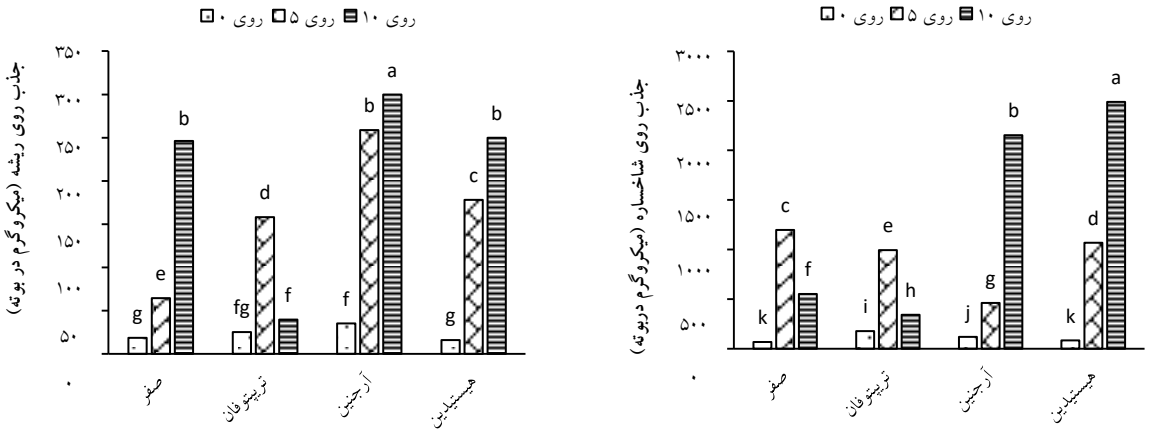
در مقابل، در همه تیمارهای اسید آمینه با افزایش غلظت روی تا ۱۰ میکرومولار غلظت روی ریشه و شاخساره گیاه افزایش یافت. بیش‌ترین غلظت روی ریشه در تیمار بدون اسید آمینه و بیش‌ترین غلظت روی شاخساره در حضور تریپتوفان مشاهده شد. هم در سطح ۵ و هم ۱۰ میکرومولار روی، حضور اسید آمینه‌ها سبب کاهش غلظت روی ریشه در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه (در همان سطح روی) شد. کم‌ترین غلظت روی ریشه در این سطوح روی مربوط به تیمار هیستیدین بود (شکل ۲- ب).

۳. ۳. جذب روی شاخساره و ریشه

اثر کاربرد روی بر جذب روی در شاخساره و ریشه بسته به تیمار اسید آمینه و غلظت روی مصرفی متفاوت بود (شکل۳). بالاترین جذب روی شاخساره و ریشه در سطح ۱۰ میکرومولار و با مصرف اسید آمینه آرژنین به‌دست آمد. بالاترین جذب روی توسط شاخساره کلزا در سطح ۱۰ میکرومولار روی در حضور اسید آمینه هیستیدین به‌دست آمد (شکل ۳- الف). مصرف تا ۵ میکرومولار روی در تمامی سطوح اسید آمینه باعث افزایش جذب روی توسط شاخساره و ریشه گردید اما کاربرد ۱۰ میکرومولار روی تنها در حضور آرژنین سبب افزایش معنی‌دار جذب روی ریشه در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه شد. در حضور تریپتوفان، کاربرد ۱۰ میکرومولار روی سبب کاهش جذب روی توسط ریشه کلزا شد (شکل ۳- ب).

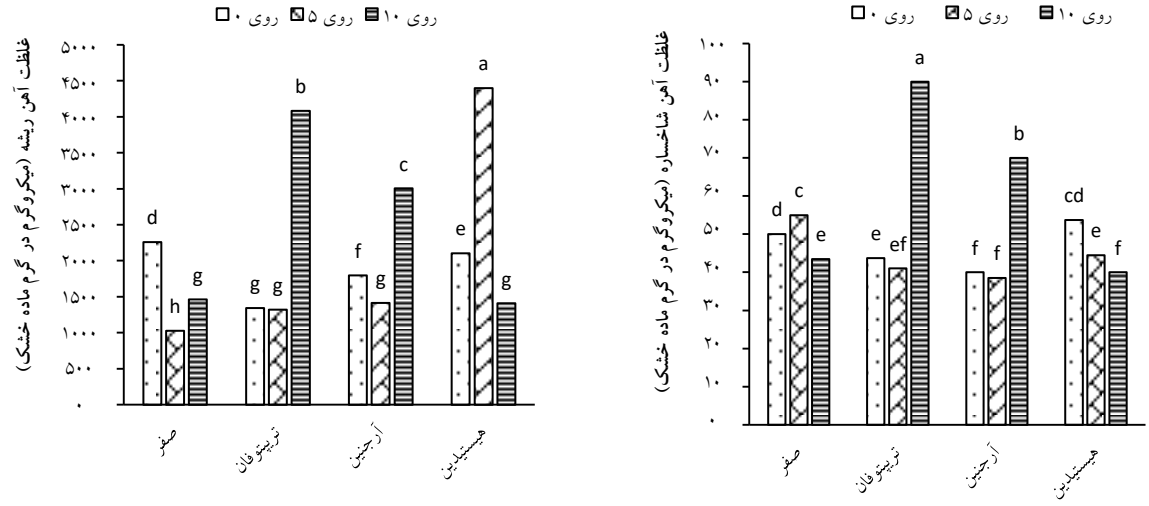
۳. ۴. غلظت آهن شاخساره و ریشه

تأثیر کاربرد روی بر غلظت آهن شاخساره و ریشه کلزا بسته به غلظت روی و نوع اسید آمینه متفاوت بود (شکل۴). در سطح ۱۰ میکرومولار روی، کاربرد تریپتوفان و آرژنین سبب افزایش معنی‌دار غلظت آهن شاخساره در مقایسه با شاهد شد. بالاترین غلظت آهن شاخساره در بین تیمارهای مختلف روی و اسید آمینه مربوط به سطح ۱۰ میکرومولار روی در حضور آرژنین و تریپتوفان بود. در مقابل، در حضور هیستیدین، کاربرد روی در هر دو سطح ۵ و ۱۰ میکرومولار با کاهش معنی‌دار غلظت آهن در مقایسه با تیمار بدون هیستیدین همین سطوح روی شد (شکل ۴- الف).



(الف) (ب)

شکل ۳. نمودار مقایسه میانگین سطوح اسید آمینه و روی بر جذب روی شاخساره (الف) و ریشه (ب) کلزا (رقم هایولا-۴۰۱)



(الف) (ب)

شکل ۴. نمودار مقایسه میانگین سطوح مختلف اسید آمینه و روی بر غلظت آهن شاخساره (الف) و ریشه (ب) کلزا (رقم هایولا-۴۰۱)

در تیمار بدون اسید آمینه، کاربرد هر دو سطح روی سبب کاهش غلظت آهن ریشه در مقایسه با تیمار بدون کاربرد روی شد اما در حضور اسید آمینه‌های آرژنین و تریپتوفان، کاربرد ۱۰ میکرومولار روی باعث افزایش معنی‌دار غلظت آهن ریشه در مقایسه با تیمار بدون کاربرد روی شد. در حضور هیستیدین، کاربرد ۵ میکرومولار روی باعث افزایش معنی‌دار غلظت آهن ریشه شد اما کاربرد ۱۰ میکرومولار روی سب کاهش معنی‌دار غلظت آهن ریشه شد. به‌طورکلی در تیمارهای تغذیه روی، حضور اسیدهای آمینه سبب افزایش غلظت آهن ریشه در مقایسه با غیاب اسید آمینه شد (شکل ۴- ب).

۳. ۵. جذب آهن شاخساره و ریشه

تأثیر اسیدهای آمینه بر جذب آهن شاخساره بسته به نوع اسید آمینه و غلظت روی مصرفی متفاوت بود (شکل ۵). در غیاب اسیدهای آمینه و نیز در حضور آرژنین، بالاترین جذب آهن شاخساره در سطح ۱۰ میکرومولار روی مشاهده شد اما در حضور تریپتوفان و هیستیدین، بالاترین جذب آهن شاخساره در غلظت ۵ میکرومولار روی مشاهده شد (شکل ۵- الف). در حضور آرژنین، با افزایش غلظت روی مصرفی تا ۱۰ میکرومولار، جذب آهن توسط ریشه افزایش یافت اما در حضور تریپتوفان و هیستیدین، بالاترین جذب آهن ریشه در سطح ۵ میکرومولار اتفاق افتاد و در سطح بالاتر روی (۱۰ میکرومولار)، کاهش جذب آهن ریشه مشاهده شد (شکل ۵- ب). در کل، بالاترین جذب آهن ریشه مربوط به کاربرد همزمان ۵ میکرومولار روی و هیستیدین بود. در مجموع، حضور اسیدهای آمینه هیستیدین و آرژنین سبب افزایش جذب آهن توسط ریشه کلزا شدند اما تریپتوفان در این زمینه بی‌تأثیر بود.

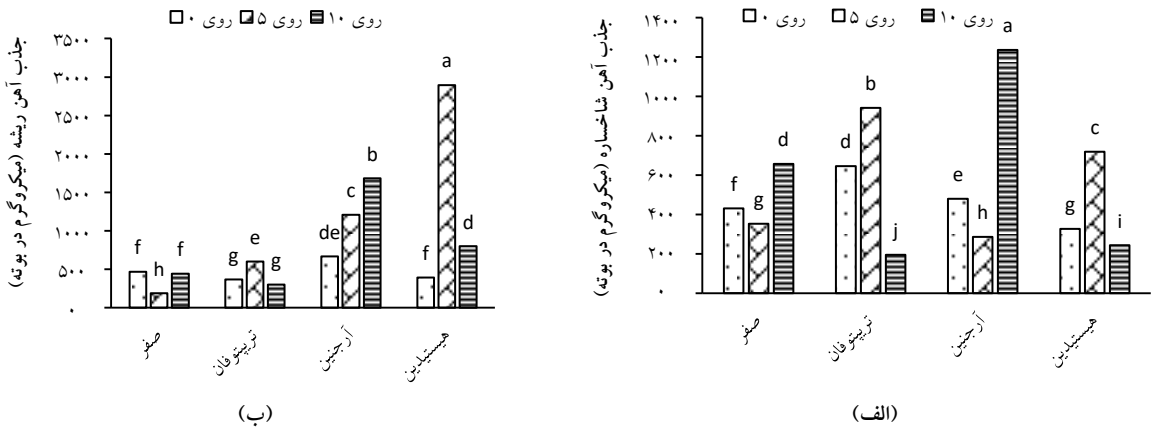
۳. ۶. غلظت اسید آمینه شاخساره و ریشه

تأثیر اسیدهای آمینه بر غلظت اسید آمینه ریشه و شاخساره بسته به نوع اسید آمینه و غلظت روی مصرفی متفاوت بود (شکل ۶). در سطوح ۵ و ۱۰ میکرومولار روی، حضور هر سه اسید آمینه سبب افزایش معنی‌دار غلظت اسید آمینه شاخساره شد اگرچه این افزایش در حضور اسید آمینه تریپتوفان کم‌تر از دو اسید آمینه دیگر بود (شکل ۶- الف).

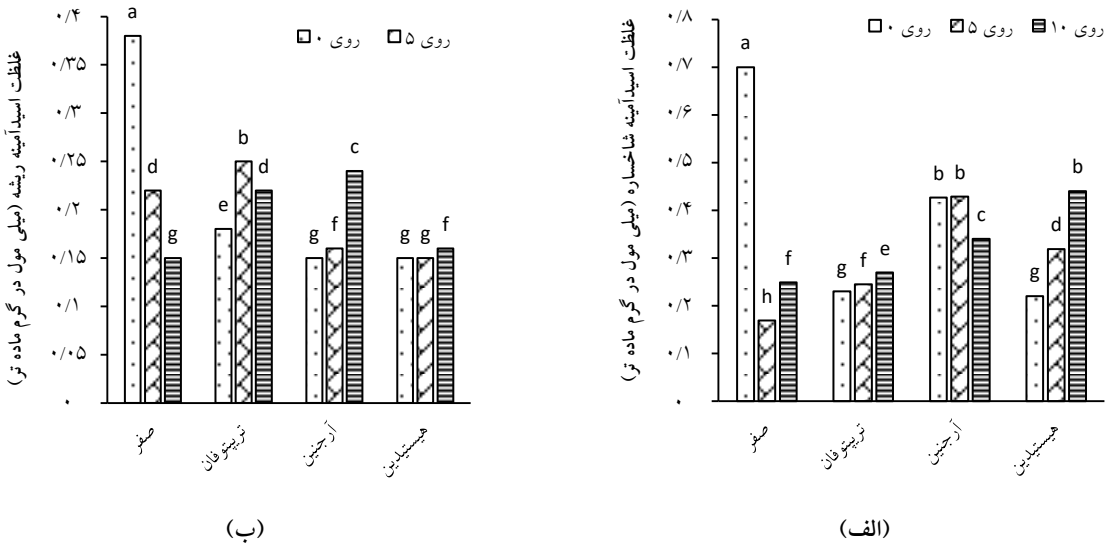
در غیاب اسید آمینه‌ها، با افزایش غلظت روی مصرفی، غلظت اسید آمینه ریشه کاهش یافت. در تیمار ۵ میکرومولار روی، حضور تریپتوفان سبب افزایش ولی حضور آرژنین و هیستیدین سبب کاهش معنی‌دار غلظت اسید آمینه ریشه در مقایسه با شرایط بدون اسید آمینه شد (شکل ۶- ب). در سطح ۱۰ میکرومولار روی، حضور هر سه اسید آمینه سبب افزایش غلظت اسید آمینه ریشه در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه شد اگرچه این افزایش در حضور آرژنین بزرگ‌تر از بقیه اسیدهای آمینه بود (شکل ۶- ب).

۳. ۷. فعالیت آنزیم کاتالاز برگ

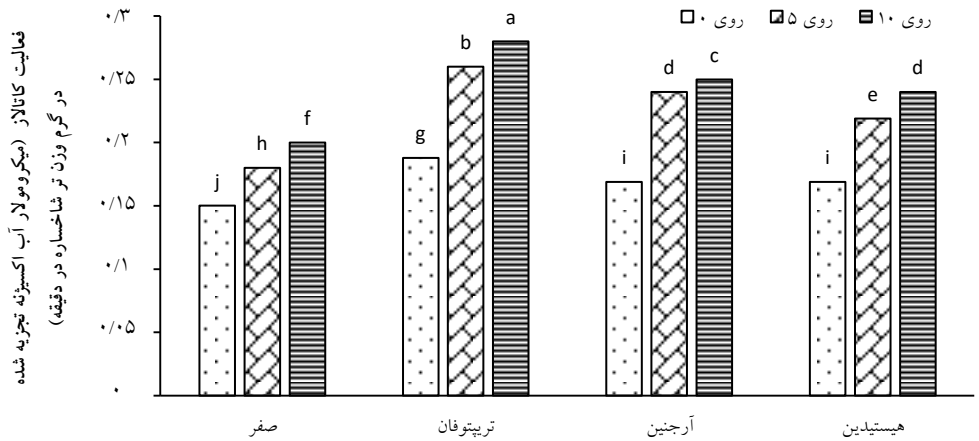
صرف‌نظر از نوع اسید آمینه مصرفی، افزایش سطح روی تا ۱۰ میکرومولار سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برگ شد (شکل ۷). حضور هر سه اسید آمینه سبب افزایش فعالیت کاتالاز برگ در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه شد اگرچه این افزایش در حضور اسید آمینه تریپتوفان بزرگ‌تر از آرژنین و هیستیدین بود.



شکل ۵. نمودار مقایسه میانگین سطوح مختلف اسید آمینه و روی بر جذب آهن شاخساره (الف) و ریشه (ب) کلزا (رقم هایولا-۴۰۱)



شکل ۶. نمودار مقایسه میانگین سطوح اسید آمینه و روی بر غلظت اسید آمینه کل شاخساره (الف) و ریشه (ب) کلزا (رقم هایولا-۴۰۱)



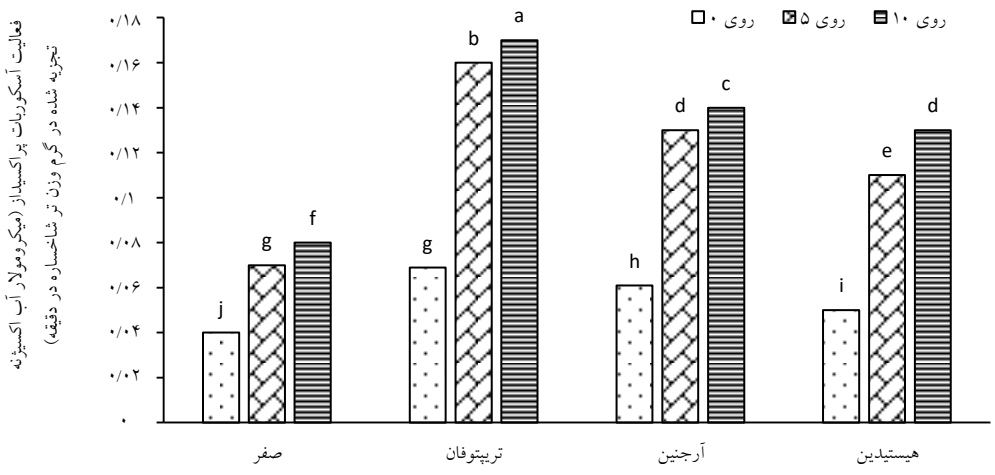
شکل ۷. نمودار مقایسه میانگین سطوح اسید آمینه و روی بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ کلزا (رقم هایولا-۴۰۱)

۳. ۸. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ

با افزایش سطح روی مصرفی در تمامی سطوح اسید آمینه، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش معنی‌داری داشت (شکل ۸). حضور هر سه اسید آمینه سبب افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز برگ در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه شد اگرچه این افزایش در حضور اسید آمینه تریپتوفان بزرگ‌تر از آرژنین و هیستیدین بود. بالاترین فعالیت این آنزیم نیز با مصرف ۱۰ میکرومولار روی در اسید آمینه تریپتوفان به‌دست آمد.

۴. بحث

مصرف روی تا سطح ۵ میکرومولار و بدون درنظرگرفتن نوع اسید آمینه، تأثیر مثبت و معنی‌داری بر عملکرد شاخساره و ریشه کلزا داشت.



شکل ۸. نمودار مقایسه میانگین سطوح مختلف اسید آمینه و روی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ کلزا (رقم هایولا-۴۰۱)

اثر مثبت روی در افزایش رشد و عملکرد ماده خشک توسط پژوهش‌گران مختلف گزارش شده است (Cakmak *et al.*, 1999; Ohki, 1976). در تیمار بدون اسید آمینه و نیز در حضور اسید آمینه تریپتوفان، با افزایش غلظت روی تا ۵ میکرومولار وزن خشک شاخساره افزایش یافت اما در غلظت ۱۰ میکرومولار کاهش یافت. علت این کاهش عملکرد وزن خشک شاخساره احتمالاً برهمکنش منفی جذب روی و آهن بوده است (شکل‌های ۳- الف و ۵- الف) (Marschner, 1995). در غلظت ۵ میکرومولار روی، حضور اسید آمینه آرژنین و تریپتوفان سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک شاخساره در مقایسه با شاهد شد درحالی‌که کاربرد هیستیدین منجر به افزایش معنی‌دار وزن خشک شاخساره گیاه در این سطح از روی شد. به‌طورکلی، بالاترین وزن خشک شاخساره در تیمار ۵ و ۱۰ میکرومولار روی همراه با هیستیدین مشاهده شد. یکی از دلایل احتمالی اثر مثبت هیستیدین بر رشد شاخساره، نقش این اسیدآمینه در انتقال روی از ریشه به شاخساره و افزایش جذب روی شاخساره می‌باشد. نقش هیستیدین در انتقال برخی فلزات از جمله نیکل و روی گزارش شده است (Dalir & Khoshgoftarmanesh, 2015; Ghasemi *et al.*, 2013; Shahsavari *et al.*, 2019).

در هر دو سطح ۵ و ۱۰ میکرومولار روی، بالاترین عملکرد خشک شاخساره کلزا با کاربرد هیستیدین تولید شد. به‌نظر می‌رسد هم‌چنان که سایر پژوهش‌گران گزارش کرده‌اند (Shahsavari *et al.*, 2019; Ghasemi *et al.*, 2013) روی قادر است با هیستیدین پیوند محکم‌تری نسبت به سایر اسیدآمینه‌ها ایجاد نموده و کمپلکس روی-هیستیدین دارای بار خنثی، از طریق کانال آبی[1] جذب‌شده و انتقال آن تسریع شده باشد (Maurel & Chrispeel, 2001). هم‌چنین، برخی پژوهش‌گران بر این باورند جذب و انتقال هیستیدین توسط ناقل‌های اختصاصی آن می‌تواند جذب این اسید آمینه به‌همراه کاتیون کمپلکس‌شده با اسید آمینه را تسهیل نماید (Fischer *et al.*, 2002).

تأثیر اسیدهای آمینه بر وزن خشک ریشه به نوع اسید آمینه و غلظت روی مصرفی بستگی داشت. در حضور هر سه اسید آمینه با افزایش غلظت روی تا ۵ میکرومولار، وزن خشک ریشه افزایش و بعد از آن در غلظت ۱۰

1. Aquaporin

میکرومولار روی کاهش یافت. به‌نظر می‌رسد در حضور اسیدهای آمینه، جذب واقعی (سیمپلاستی) روی توسط گیاه و انتقال آن به شاخساره گیاه افزایش یافته است و در این شرایط، کاربرد ۵ میکرومولار روی توانسته به تأمین نیاز روی گیاه کمک کند. تشکیل کمپلکس بین کاتیون‌های فلزی مثلاً نیکل (Dalir & Khoshgoftarmanesh, 2015) و روی (Ghasemi *et al*., 2013; Shahsavari *et al*., 2019) با برخی اسیدهای آمینه از جمله هیستیدین گزارش شده است. نتایج پژوهش‌ها نشان داده تشکیل کمپلکس روی- اسیدآمینه سبب کاهش بار مثبت کاتیون روی دوظرفیتی و در نتیجه کاهش تثبیت آن توسط ذرات بار منفی فضای آپوپلاستی سلول‌های ریشه (فضای دونن)[1] می‌شود و از این طریق، امکان جذب سیمپلاستی روی افزایش می‌یابد (Shahsavari *et al*., 2019; Gramlich *et al*., 2013; Scholmerich *et al*., 1987). در مقابل، در غیاب اسید آمینه‌ها، کاربرد ۵ میکرومولار روی تأثیری بر وزن خشک ریشه نداشت اما غلظت ۱۰ میکرومولار روی سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه شد. در شرایط بدون اسید آمینه، به‌دلیل جذب سطحی روی در فضای آپوپلاستی، فعالیت کاتیون آزاد روی در سطح غشای پلاسمایی ریشه کاهش یافته، لذا غلظت بالاتر روی (۱۰میکرومولار) برای تأمین نیاز گیاه لازم بوده است (Lopez-Millan *et al*., 2005). تأثیر آرژنین بر وزن خشک ریشه بیش‌تر از سایر اسیدهای آمینه بود. به‌نظر می‌رسد دلیل این امر، اثر تحریک‌کنندگی آرژنین بر رشد ریشه باشد. در همین ارتباط Abd El-Monem (2007) و Zeid (2009) به تأثیر مثبت آرژنین بر رشد ریشه اشاره کرده‌اند.

حضور اسیدهای آمینه سبب کاهش غلظت روی ریشه در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه (در همان سطح روی) شد. در سطح ۵ میکرومولار روی، حضور اسیدهای آمینه هیستیدین و آرژنین سبب کاهش غلظت روی شاخساره در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه در همین سطح روی شد که علت آن اثر رقت بوده است (Marschner, 1995).

هم در سطح ۵ و هم ۱۰ میکرومولار روی، حضور اسیدهای آمینه سبب کاهش غلظت روی ریشه در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه (در همان سطح روی) شد. در سطح ۵ میکرومولار روی، حضور اسیدهای آمینه هیستیدین و آرژنین سبب کاهش غلظت روی شاخساره در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه در همین سطح روی شد که علت آن اثر رقت بوده است (Marschner, 1995).

بالاترین مقدار جذب روی توسط شاخساره کلزا در سطح ۱۰ میکرومولار روی در حضور اسید آمینه هیستیدین به‌دست آمد. این نتایج با یافته‌های Shahsavari *et al*. (2019) هم‌خوانی دارد. این پژوهش‌گران نشان دادند مصرف ۱۰ میکرومولار روی به‌همراه هیستیدین، به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم H^+-ATPase غشای پلاسمایی سلول‌های ریشه، باعث افزایش جذب فعال روی و هیستیدین توسط ریشه و انتقال آن به شاخساره گندم شد. نتایج پژوهش‌ها نشان داده تشکیل کمپلکس اسیدآمینه- فلز، علاوه بر افزایش جذب فلز توسط ریشه، در انتقال آن به اندام هوایی نیز مؤثر می‌باشد (Liao *et al*., 2000; Krämer *et al*., 1996). به‌علاوه، نشان داده شده که اسیدهای آمینه علاوه بر قدرت کمپلکس‌کنندگی با روی و سایر عناصر غذایی، خود می‌تواند به‌عنوان منبع نیتروژن نیز محسوب شود. لذا، بخشی از تأثیر این اسید آمینه‌ها می‌تواند ناشی از اثر مثبت آن در تأمین نیتروژن گیاه باشد. ضمن این‌که، این تأثیر در همراهی با روی در افزایش جذب و عملکرد گیاه، می‌تواند مؤثر بوده باشد (Kutman *et al*., 2010).

کاربرد ۱۰ میکرومولار روی تنها در حضور آرژنین

1. Donnan space

سبب افزایش معنی‌دار جذب روی ریشه در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه شد. این امر می‌تواند مربوط به اثر این اسید آمینه در تحریک رشد ریشه و در نتیجه جذب بیش‌تر روی باشد که توسط سایر پژوهش‌گران نیز بیان شده است (Abd El-Monem, 2007; Zeid, 2009).

در تیمار بدون اسید آمینه، کاربرد هر دو سطح روی به‌دلیل اثر ضدیتی روی و آهن، کاهش غلظت آهن ریشه در مقایسه با تیمار بدون کاربرد روی اتفاق افتاد اما در حضور اسید آمینه‌های آرژنین و تریپتوفان، کاربرد ۱۰ میکرومولار روی باعث افزایش معنی‌دار غلظت آهن ریشه در مقایسه با تیمار بدون کاربرد روی شد. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در حضور تریپتوفان و آرژنین بالاتر از هیستیدین بوده و لذا نقش فعالیت این آنزیم‌ها در جذب و انتقال آهن بیش‌تر از روی بوده است. این نتایج با یافته‌های Rahmati *et al.* (2004) و Sbartai *et al.* (2011) هم‌خوانی دارد. به‌طورکلی، افزایش غلظت روی به ۱۰ میکرومولار در حضور اسیدهای آمینه، به‌جز اسیدآمینه آرژنین، سبب کاهش جذب آهن شاخساره و ریشه کلزا به‌دلیل رقابت با روی در جذب توسط ریشه شده است (Marschner, 1995).

عدم مصرف روی در سطح صفر اسید آمینه، دارای بالاترین غلظت اسید آمینه کل در برگ و ریشه بود که با نتایج سایر پژوهش‌گران هم‌خوانی دارد (Cakmak, 1997; Hacisalihoglu *et al*., 2003; Azevedo *et al*., 2009). در شرایط کمبود روی، غلظت ترکیبات آلی مانند کربوهیدرات‌ها و اسیدهای آمینه در گیاه به‌شدت افزایش می‌یابد. علت آن است که روی هم در تکامل ساختار غشای سلولی و هم از طریق اتصال به فسفولیپیدها و گروه‌های سولفیدریل غشای سلولی، نقش اساسی دارد، بنابراین در اثر کمبود آن، غلظت اسیدآمینه به‌شدت افزایش می‌یابد.

صرف‌نظر از نوع اسید آمینه مصرفی، افزایش سطح روی تا ۱۰ میکرومولار سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برگ شد (شکل ۷). حضور هر سه اسید آمینه سبب افزایش فعالیت کاتالاز برگ در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه شد اگرچه این افزایش در حضور اسید آمینه تریپتوفان بزرگ‌تر از آرژنین و هیستیدین بود. با افزایش سطح روی مصرفی در تمامی سطوح اسید آمینه، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش معنی‌داری داشت (شکل ۸). حضور هر سه اسید آمینه سبب افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز برگ در مقایسه با تیمار بدون اسید آمینه شد اگرچه این افزایش در حضور اسید آمینه تریپتوفان بزرگ‌تر از آرژنین و هیستیدین بود. بالاترین فعالیت این آنزیم نیز با مصرف ۱۰ میکرومولار روی در اسید آمینه تریپتوفان به‌دست آمد. این نتایج با یافته‌های سایر پژوهش‌گران هم‌خوانی دارد (Rahmati *et al*., 2004; Sbartai *et al*., 2011). در پژوهش حاضر به‌نظر می‌رسد علاوه بر اثر آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز بر ساختارهای فضایی پایدار، این دو آنزیم مانع از اکسایش گروه سولفیدریل دیواره سلولی شده و در نتیجه بهبود فعالیت‌های زیستی ناشی از تأثیر مستقیم اسید آمینه هیستیدین بر بیان ژن و mRNA آنزیم‌ها در گیاه اتفاق افتاده باشد.

۵. نتیجه‌گیری

براساس نتایج پژوهش حاضر، حضور اسیدهای آمینه تأثیر معنی‌داری بر عملکرد وزن خشک ریشه و شاخساره و نیز جذب و انتقال روی و آهن در کلزا داشت و این تأثیر بسته به نوع اسید آمینه مصرفی متفاوت بود. در بین اسیدهای آمینه، کاربرد اسیدآمینه هیستیدین باعث بیش‌ترین افزایش جذب روی و عملکرد ماده خشک شاخساره و ریشه کلزا گردید. یکی از دلایل احتمالی اثر مثبت هیستیدین بر رشد شاخساره، نقش این اسیدآمینه در انتقال روی از ریشه به

شاخساره و افزایش جذب روی شاخساره می‌باشد. از طرف دیگر، اسید آمینه تریپتوفان دارای بیش‌ترین تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بود. در مطالعات آینده لازم است با تعیین نوع اسیدهای آمینه غالب در ریزوسفر کلزا در شرایط مزرعه، نقش حضور همزمان آنها در جذب عناصر کم‌مصرف توسط ریشه بررسی شود. نتایج این مطالعات می‌تواند به افزایش بهره‌وری مصرف کود و مدیریت بهینه تغذیه عناصر کم‌مصرف منجر شود.

۶. منابع

Abd El-Monem, A.A. (2007). Polyamines as modulators of wheat growth, metabolism and reproductive development under high temperature stress. Ph.D. thesis, Ain Shams University, Cairo, Egypt.

Azevedo, H., Aniorim-Silva, V. & Tavares, R. M. (2009). Effect of salt on ROS homeostasis, lipid peroxidation and antioxidant mechanisms in Pinus pinaster suspension cells. *Annals of Forest Science*, 66(2), 211-211.

Cakmak, I., & Marschner, H. (1992). Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascrobate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. Plant Physiology, 98, 1222-1227. doi: 10.1104/pp.98.4.1222

Cakmak, I., Yilmaz, A. & Kalayci, M. (1996). Zinc deficiency as a critical problem in wheat production in Central Anatolia. Plant and Soil, 180, 165-172.

Cakmak, I., Öztürk, L. Eker, S., Torun, B., Kalfa, H.I. & Yilmaz, A. (1997). Concentration of zinc and activity of copper/zinc superoxide dismutase in leaves of rye and wheat cultivars differing in sensitivity to zinc deficiency. Journal of Plant Physiology, 151, 91-95. doi:10.1016/S0176-1617(97)80042-9

Cakmak, I., Erenoglu, B., Gülüt, K. Y., Derici, R. & Römheld, V. (1998). Light-mediated release of phytosiderophores in wheat and barley under iron or zinc deficiency. Plant and Soil, 202(2), 309-315.

Cakmak, I. & Engels, C. (1999). Role mineral nutrients in Photosynthesis and yield formation. In: Rengle, Z. (Ed.) Mineral nutrition of crops. Haworth Press, New York, pp.141-168.

Cakmak, I., Kalacyi, M., Ekiz, H., Braun, H. J., Kilinc, Y. & Yilmaz, A. (1999). Zinc deficiency as a practical problem in plant and human nutrition in Turkey: A NATO-science for stability project. Field Crops Research, 60, 175-188. doi:10.1016/S0378-4290(98)00139-7

Callahan, D.L., Baker, A.J.M., Kolev, S.D. & Wedd, A.G. (2006). Metal ion ligands in hyper-accumulating plants. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 11, 2-12. doi:10.1007/s00775-005-0056-7

Canny, M. J. (1995). Apoplastic water and solute movement: new roles for an old space. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 46, 215-36. doi:10.1146/annurev.pp.46.060195.001243

Dalir, N. & Khoshgoftarmanesh, A. H. (2015). Root uptake and translocation of nickel in wheat as affected by histidine. *Journal of Plant Physiology*, 184, 8-14. doi:10.1016/j.jplph.2015.05.017

Fageria, N. K. & Stone, L. F. (2006). Physical, chemical and biological changes in the rhizosphere and nutrient availability. *Journal of Plant Nutrition*, 29, 1327-56. doi:10.1080/01904160600767682

Fischer, W. N., Loo, D. D., Ludewig, U., Boorer, K. J., Tegeder, M., Rentsch, D., Wrightm E. M. & Frommer, W.B. (2002). Low and high affinity amino acid H^+-cotransporters for cellular import of neutral and charged amino acids. *The Plant Journal*, 29, 717-731. doi:10.1046/j.1365-313X.2002.01248.x

Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A. H., Afyuni, M. & Hadadzadeh, H. (2013). Zinc-amino acid complexes are more stable than free amino acids in saline and washed soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 63, 73-79. doi:10.1016/j.soilbio.2013.03.025

Gramlich, A., Tandy, S., Frossard, E., Eikenberg, J. & Schulin, R. (2013). Availability of Zinc and the Ligands Citrate and Histidine to Wheat: Does Uptake of Entire Complexes Play a Role? Journal of Agriculture and Food Chemistry, 61, 10409-10417. doi:10.1021/jf401117d

Hacisalihoglu, G., Hart, J. J., Wang, J. Y. H., Cakmak, I. & Kochian, L. V. (2003). Zinc efficiency is correlated with enhanced expression and activity of zinc-requiring enzymes in wheat. Plant Physiology, 131, 595-602. doi:10.1104/pp.011825

Jones, D. L. & Hodge, A. (1999). Biodegradation kinetics and sorption reactions of three differently charged amino acids in soil and their effects on plant organic nitrogen availability. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 1331-1342. doi:10.1016/S0038-0717(99)00056-5

Jones, D.L., Hodge, A. & Kuzyakov, Y. (2004). Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. New Phytologist, 163, 459-480. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01130.x

Koksal, A. L., Dumanoglu, H., Gunes, N. T. & Aktas, M. (1999). The effects of different amino acid chelate foliar fertilizers on yield, fruit quality, shoot growth and Fe, Zn, Cu, Mn content of leaves in Williams's pear cultivar (*Pyrus communis* L.). Turkish Journal of Agriculture and Forest, 23, 651-658.

Krämer, U., Cotter-Howells, J. D., Charnock, J. M., Baker, A. J. & Smith, J. A.C. (1996). Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. Nature, 379, 635-638. doi.:10.1038/379635a0

Kutman, U. B., Yildis, B., Ozturk, L. & Cakmak, I. (2010). Biofortification of durum wheat with zinc through soil and foliar applications of nitrogen. Cereal Chemistry, 87, 1-9. doi:10.1094/CCHEM-87-1-0001

Liao, M., Hedley, M., Woolley, D., Brooks, R. & Nichols, M. (2000). Copper uptake and translocation in chicory (*Cichorium intybus* L. cv Grasslands Puna) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv Rondy) plants grown in NFT system. II. The role of nicotianamine and histidine in xylem sap copper transport. Plant and Soil, 223, 245-254. doi: 10.1023/ A: 1004843505053

Lopez-Millan, A. F., Ellis, D. R. & Grusak, M. A. (2005). Effect of zinc and manganese supply on the activities of superoxide dismutase and carbonic anhydrase in Medicago truncatula L. wild type and raze mutant plants. *Plant Science*, 168, 1015-1022. doi:10.1016/j.plantsci.2004.11.018

Marschner, H. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd ed. Academic Press, London. England.

Maurel, C. & Chrispeels, M. J. (2001). Aquaporins. A molecular entry into plant water relations. Plant Physiology, 125, 135-138. doi:10.1104/pp.125.1.135

Meychik, N.R. & Yermakov, I.P. (2001). Ion exchange properties of plant root cell walls. Plant and Soil, 234, 181-193. doi:10.1023/A:1017936318435

Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22, 867-880. doi:10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232

Nasholm, T., Kielland, K. & Ganeteg, U. (2009). Uptake of organic nitrogen by plants. New Phytologist, 182, 31-48. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02751.x

Nowack, B., Schulin, R. & Robinson, B. H. (2006). A critical assessment of chelant-enhanced metal Phytoextraction. *Environmental Science & Technology*, 40, 5225-5232. doi:10.1021/es0604919

Ohki, K. (1976). Effect of Zinc Nutrition on Photosynthesis and Carbonic Anhydrase Activity in Cotton. *Physiologia Plantarum*, 38, 300-304. doi:10.1111/j.1399-3054.1976.tb04007.x

Redjala, T., Sterckeman, T., Skiker, S. & Echevarria, G. (2010). Contribution of apoplast and symplast to short term nickel uptake by maize and *Leptoplax emarginata* L. roots. *Environmental and Experimental Botany*, 68, 99-106. doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.10.010

Rahmati, M., Yazdani, M., & Ghanati, F. (2004). Effect of excess amount of Mn on activation of certain enzymes antioxidant system in suspension-cultured tea cells. The 2nd Congress on Applied Biology, Mashhad, Iran. (in Persian)

Rosen, H. (1957). A modified Ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 67, 10-15. doi:10.1016/0003-9861(57)90241-2

SAS Institute. (2000). SAS/STAT user's guide. Version 9. SAS Institute. Cary, NC.

Sbartai, H., Djebar, M. R., Rouabhi, R., Sbartai, I. & Berrebbah, H. (2011). Antioxidative response in tomato plants Lycopersicon esculentum L. roots and leaves to zinc. *American-Eurasian Journal of Toxicology Science*, 1, 41-46.

Scholmerich, J., Ferudemann, A. & Kottgen, E. (1987). Bioavailability of zinc from zinc-histidine complexes. I. Comparison with zinc sulphate in healthy men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 45, 1480-1486. doi:10.1093/ajcn/45.6.1480

Shahsavari, F., Khoshgoftarmanesh, A. H., Mirmohammady Maibody, A. M., Shariatmadari, H. & Massah, A. (2019). The role of root plasma membrane ATPase and rhizosphere acidification in zinc uptake by two different Zn-deficiency-tolerant wheat cultivars in response to zinc and histidine availability. Archives of Agronomy and Soil Science, doi:10.1080/03650340.2019.1572881

Yu, Z., Zhang, Q., Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A., Anastasio, C. & Zasoski, R.J. (2002). Contribution of amino compounds to dissolved organic nitrogen in forest soils. Biogeochemistry, 61, 173-198.

Zeid, I. M. (2009). Effect of arginine and urea on polyamines content and growth of bean under salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 65-70. doi: 10.1007/s11738-008-0201-3