Research Article

Agricultural Engineering., 48(4) (2025) 547- 567 ISSN (P): 2588-526X

DOI: 10.22055/agen.2026.51384.1796 ISSN (E): 2588-5944

Effects of seed priming with iron (Fe) aminochelates on soil Fe chemical fractions and sunflower Fe nutrition

M. Alipour Babadi[1], M. Norouzi Masir[2*], A. Moezzi[3], A. Rahnama Ghahfarokhi[4], M. Taghavi Zahedkolaei[5]

1. Ph.D. Graduate, Department of Soil Science and Engeenering, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Associate Professor, Department of Soil Science and Engeenering, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3. Professor, Department of Soil Science and Engeenering, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
4. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
5. Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received: 11 December 2025…Accepted: 23 February 2026 *Corresponding Author: m.norouzi@scu.ac.ir

Abstract

Introduction: Iron (Fe) deficiency is a persistent constraint in calcareous soils, where high pH and carbonate dominance promote Fe immobilization into poorly soluble pools. Although Fe deficiency has been widely studied, limited attention has been paid to how Fe fertilization strategies influence the redistribution of Fe chemical fractions within the soil solid phase, particularly under seed-based management approaches. Seed priming with Fe aminochelates represents a novel strategy that may regulate early Fe availability by modifying Fe partitioning among soil fractions rather than merely increasing total Fe supply. Unlike conventional $FeSO_4$, which rapidly transforms into insoluble forms, Fe aminochelates have the potential to redirect Fe from stable reservoirs toward more labile and plant-available pools. Therefore, this study was designed to investigate, for the first time, how seed priming with Fe-glycine [$Fe(Gly)_2$] and Fe-methionine [$Fe(Met)_2$] affects Fe chemical fractionation in the solid phase of calcareous soil and how these changes are linked to Fe uptake and accumulation in sunflower (Helianthus annuus L. cv. Oscar).

Materials and Methods: A field experiment was conducted using a randomized complete block design (RCBD) with three replications. Treatments included seed priming with [$Fe(Gly)_2$] (2%), [$Fe(Met)_2$] (2%), $FeSO_4$ (2%), and an unprimed control. At harvest, soil pH, DTPA-extractable Fe, and Fe chemical fractions were determined using a modified Tessier sequential extraction method, including exchangeable (EXC-Fe), organically bound (ORG-Fe), carbonate-bound (CAR-Fe), Fe/Mn oxide-bound (OX-Fe), and residual (RES-Fe) fractions. Fe concentration in sunflower leaves and seeds, as well as seed Fe uptake, were also measured.

Results and Discussion: Seed priming with Fe aminochelates significantly altered soil Fe dynamics and plant Fe nutrition. Both [$Fe(Gly)_2$] and [$Fe(Met)_2$] reduced soil pH relative to the control and $FeSO_4$, thereby enhancing Fe solubility. DTPA-extractable Fe increased by 29.2% and 36.1% under [$Fe(Gly)_2$] and [$Fe(Met)_2$], respectively. These treatments also increased seed Fe concentration (10.4% and 12.6%) and seed Fe uptake (60.7% and 71.5%). Across treatments, Fe fractions followed the order RES-Fe > OX-Fe > CAR-Fe > ORG-Fe > EXC-Fe. However, Fe aminochelates—particularly [$Fe(Met)_2$]—significantly increased the

© 2025 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

relative contribution of EXC-Fe and ORG-Fe while reducing CAR-Fe. DTPA-extractable Fe showed strong positive correlations with EXC-Fe ($r = 0.86^{**}$) and ORG-Fe ($r = 0.84^{**}$), and seed Fe uptake was closely associated with these labile fractions. These results demonstrate that Fe aminochelates enhance Fe bioavailability not only by increasing soluble Fe but also by reshaping the internal Fe fractionation toward more dynamic pools.

Conclusion: This study provides new evidence that seed priming with Fe aminochelates functions as a regulatory mechanism for Fe fractionation in calcareous soils, rather than acting solely as a Fe supply strategy. By promoting the transfer of Fe from carbonate-bound forms to exchangeable and organically bound pools, Fe aminochelates—especially [$Fe(Met)_2$]—create a more effective and sustainable Fe reservoir for plant uptake. These findings highlight seed priming with Fe aminochelates as an innovative and efficient approach for improving Fe nutrition and mitigating Fe deficiency in calcareous soil–plant systems.

Keywords: ***Carbonate-bound iron, Calcareous soil, Exchangeable iron, Seed priming***

مقاله پژوهشی

تأثیر پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن بر شکل‌های شیمیایی آهن خاک و تغذیه آفتابگردان

مینا عالی پور بابادی[۱]، مجتبی نوروزی مصیر[۲*]، عبدالامیر معزی[۳]، افراسیاب راهنما قهفرخی[۴] و مهدی تقوی زاهد کلائی [۵]

۱- فارغ التحصیل دکتری، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز ، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز ، ایران
۳- استاد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
٤- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۵- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۲۱

پذیرش نهایی: ۱۴۰۴/۱۲/۰۴

کلمات کلیدی:

آهن تبادلی،

آهن کربناتی،

پرایمینگ بذر،

خاک آهکی

* عهده دار مکاتبات

Email: m.norouzi@scu.ac.ir

چکیده

رفتار آهن در شـکل های شـیمیایی مختلف فاز جامد خاک، عامل کلیدی تعیین کننده دسترسی این عنصر در خاک های آهکی است. این پژوهش با هدف بررسـی نقش پرایمینگ بـذر بـا آمینوکلات‌هـای آهن در تغییر الگوی توزیع شـکل های شـیمیایی آهن خاک و بهبود جذب آن در گیاه آفتابگردان (رقم اسکار) انجام شـد. آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سـه تکرار اجرا شـد. تیمارها شـامل پرایمینگ بذر با محلول‌هایی با غلظت معادل دو درصـد از آمینوکلات‌های گلایسـین–آهن [$Fe(Gly)_2$] و متیونین–آهن [$Fe(Met)_2$]، سـولفات آهن و شـاهد (بدون پرایم) بودند. پس از برداشـت، pH خاک، آهن قابل‌دسـترس، توزیع شـکل های شـیمیایی آهن در فاز جامد خاک و غلظت و جذب آهن در برگ و دانه اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های گلایسـین- آهن و متیونین- آهن با کاهش معنی‌دار pH خاک، به ترتیب سـبب افزایش غلظت آهن قابل دسـترس خاک (۲۹/۲ و ۳۶/۱ درصـد)، غلظت آهن دانه (۱۰/۴ و ۱۲/۶ درصـد) و جذب آهن دانه (۶۰/۷ و ۷۱/۵ درصـد) نسـبت به تیمار شـاهد شـد. کاربرد آمینوکلات‌های آهن به ویژه متیونین- آهن سـبب افزایش معنی‌دار آهن تبادلی و آهن متصـل به ماده آلی در خاک شـد. در مقابل سـهم نسبی آهن به فرم کربناتی نسبت به تیمار سولفات آهن و شاهد کاهش یافت. آهن قابل دسترس با اجزای تبادلی و متصل به ماده آلی (به ترتیب $r=۰/۸۶^{**}$ و $r=۰/۸۴^{**}$) و نیز جذب آهن دانه($r=۰/۸۷^{**}$) همبسـتگی مثبت معنی‌داری نشـان داد. این نتایج حاکی از نقش محوری این دو بخش در تأمین آهن گیاه و مشـارکت مسـتقیم آن‌ها در فرآیند انتقال و دسـترسـی آهن در خاک‌های آهکی اسـت. نتایج این پژوهش نشـان داد که پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن می تواند الگوی توزیع شکل‌های شیمیایی آهن را در خاک‌های آهکی تغییر دهـد. این رویکرد موجب افزایش سـهم

شکل های فعال آهن و کاهش نقش مخازن کم تحرک آن شد. در نتیجه، کارایی تأمین آهن برای گیاه افزایش یافت و ظرفیت خاک برای بهبود تغذیه آهن آفتابگردان در شرایط کمبود آهن به‌طور معنی‌داری تقویت گردید.

مقدمه

تولید پایدار محصولات کشاورزی در دهه‌های اخیر با چالش‌های قابل توجهی مواجه شده است. کاهش کیفیت خاک‌ها، بهره‌برداری فزاینده از اراضی و بروز کمبود عناصر ریزمغذی از عوامل اصلی این چالش‌ها به شمار می‌روند. کمبود آهن به عنوان یکی از عناصر کم‌مصرف حیاتی، در بسیاری از سیستم‌های تولیدی، به ویژه در خاک‌های آهکی، به عنوان عامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان شناخته می‌شود (۴). در خاک‌های آهکی، غلظت بالای کربنات‌ها و pH زیاد سبب کاهش فعالیت شیمیایی آهن و تشکیل ترکیبات نامحلول می‌شود. در نتیجه، فراهمی زیستی آهن و کارایی تأمین آن برای گیاه به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۲۵ و ۲۷). درpH های بالاتر از حدود ۸/۵ آهن عمدتاً به صورت بخش‌های کربناته و اکسیدی پایدار در خاک حضور دارد. این بخش‌ها حلالیت اندکی داشته و سهم ناچیزی در تأمین آهن قابل جذب برای گیاه ایفا می‌کنند (۲۳). آهن نقش اساسی در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک از جمله سنتز کلروفیل، واکنش‌های انتقال الکترون در کلروپلاست‌ها و میتوکندری، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تثبیت نیتروژن گیاهان ایفا می‌کند (۲ و ۳۶). محدودیت دسترسی آهن موجب کاهش بازده فتوسنتزی، اختلال در مسیرهای اکسیداسیون–کاهش و تضعیف توان گیاه برای سنتز پروتئین‌ها و ترکیبات حیاتی می‌شود (۳۷).

پویایی آهن در خاک تحت تأثیر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی از جمله pH، شرایط اکسایش–کاهش و نوع کانی‌های غالب است (۸). به منظور تبیین رفتار آهن در خاک و تعیین سهم نسبی شکل‌های مختلف شیمیایی آن در فراهمی برای گیاه، روش‌های استخراج متوالی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این روش‌ها آهن خاک را در قالب بخش‌های قابل تبادل، متصل به کربنات‌ها، پیوند یافته با مواد آلی، مرتبط با اکسیدهای آهن و بخش باقی‌مانده تفکیک می‌کنند (۴۵). توزیع آهن در میان این مخازن شیمیایی نقش تعیین‌کننده‌ای در تحرک، نرخ انتقال به ریزوسفر و نهایتاً جذب آن توسط گیاه دارد. با وجود اینکه بخش‌های محلول و قابل تبادل سهم اندکی از آهن کل خاک دارند، اغلب بیشترین ارتباط را با آهن جذب شده توسط گیاه نشان می‌دهند، در حالی‌که بخش‌های کربناتی، اکسیدی و باقی‌مانده عمدتاً غیرفعال و کم‌تحرک هستند (۱۱). کاربرد بلندمدت کودهای شیمیایی آهن، مانند سولفات آهن، به‌منظور افزایش دسترسی آهن در خاک انجام می‌شود. با این حال، در خاک‌های آهکی این کودها به‌سرعت به فازهای نامحلول تبدیل شده و کارایی محدودی دارند (۳۹). کاربرد کلات‌های آهن مشتق شده از لیگاندهایی نظیر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) و اتیلن دی آمین-N,N'-بیس(o-هیدروکسی فنیل استیک) اسید (EDDHA)، به عنوان راهی برای تأمین آهن قابل جذب برای گیاه در نظر گرفته می‌شود. با این حال، مانند بسیاری از کودهای تجاری دیگر، این ترکیبات در برابر تجزیه زیستی بسیار مقاوم هستند و می‌توانند با اتصال به سایر فلزات سنگین و نشت بالقوه به آب‌های زیرزمینی، سبب ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی گسترده شوند (۳۲ و ۳۸). در مقابل، ترکیبات آلی آهن نظیر آمینوکلات‌ها به‌واسطه توانایی آنها در تشکیل کمپلکس‌های پایدار، افزایش تحرک آهن در ریزوسفر و سازگاری زیست‌محیطی، به‌عنوان جایگزین‌های کارآمد مطرح شده‌اند (۴۲). آمینوکلات‌های آهن با جلوگیری از رسوب یون‌های آهن و بهبود انتقال آن در

ریشه، جذب آهن را در شرایط متغیر خاکی تسهیل می‌کنند (۲۸ و ۴۰). شواهد متعدد نشان می‌دهد که این ترکیبات می‌توانند غلظت آهن در برگ، فعالیت فیزیولوژیک و رشد گیاه را حتی در خاک‌های با pH بالا بهبود بخشند (۲۸ و ۴۹). افزون بر این، آمینوکلات‌ها نسبت به کلات‌های مصنوعی مانند Fe-EDTA زیست تخریب‌پذیرتر بوده و آثار مخرب کمتری بر پایداری فلزات سنگین در خاک دارند (۲۱).

با وجود پیشرفت‌های مذکور، رفتار آمینوکلات‌های آهن در خاک‌های آهکی از منظر تغییرات شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد، هنوز به‌طور جامع بررسی نشده است. همچنین بخش عمده مطالعات پیشین به کاربرد محلول‌پاشی یا مصرف خاکی این ترکیبات پرداخته و عمدتاً بر پاسخ گیاه متمرکز بوده‌اند. در این میان، پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن به‌عنوان رویکردی بالقوه مؤثر برای بهبود تغذیه آهن در مراحل ابتدایی رشد، کمتر مورد توجه قرار گرفته است؛ در حالی‌که پرایمینگ می‌تواند کارایی انتقال آهن به جوانه، استقرار اولیه گیاهچه و سازگاری آن با خاک‌های دچار کمبود آهن را افزایش دهد (۲۹). با این وجود، اطلاعات کافی درباره اثر پرایمینگ بذر با آمینوکلات آهن بر توزیع بخش‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک و ارتباط این تغییرات با جذب آهن توسط گیاه موجود نیست. در این مطالعه فرض بر آن است که (۱) پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن، در مقایسه با کود سولفات آهن و تیمار شاهد، موجب تغییر در توزیع شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک آهکی می‌شود؛ (۲) این تغییر در الگوی شکل‌های شیمیایی آهن، با تاثیر بر غلظت آهن قابل‌دسترس خاک همراه است؛ و (۳) افزایش سهم بخش‌های فعال آهن در خاک، به‌طور مستقیم با بهبود غلظت و جذب آهن در برگ و دانه گیاه آفتابگردان ارتباط دارد. بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن بر توزیع شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک آهکی و تحلیل رابطه آن‌ها با غلظت و جذب آهن در گیاه آفتابگردان انجام شد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش

این پژوهش به‌صورت آزمایش مزرعه‌ای و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۴۰۱ اجرا شد. محل اجرای آزمایش در مختصات جغرافیایی ۳۲/۲۲ درجه عرض شمالی و ۴۸/۰۷ درجه طول شرقی با ارتفاع حدود ۲۲ متر از سطح دریا قرار دارد؛ منطقه دارای میانگین بارش سالانه ۲۱۳ میلی‌متر و اقلیم گرم و خشک نیمه‌بیابانی است. بذر مورد استفاده از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. تیمارهای آزمایش شامل پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های گلایسین- آهن و متیونین- آهن، کود شیمیایی سولفات آهن ($FeSO_4.7H_2O$) و تیمار شاهد (بدون پرایم) بود.

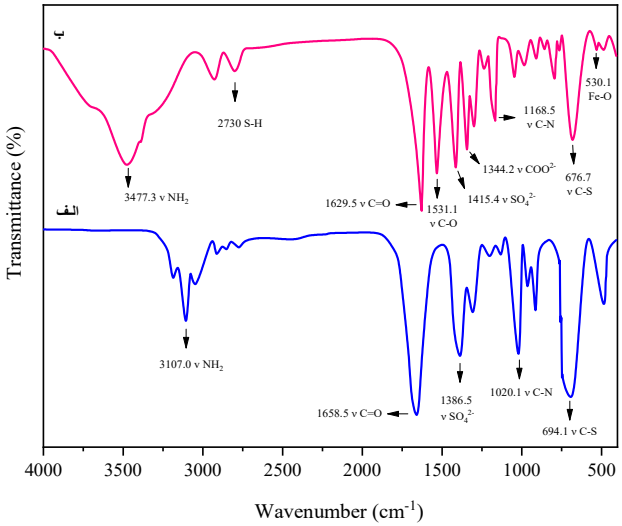
آماده‌سازی و مشخصه‌یابی آمینوکلات‌های آهن

آمینوکلات‌های آهن بر پایه دو اسیدآمینه گلایسین و متیونین (با خلوص ۹۹ درصد، شرکت - Merck) تهیه شدند. روند تولید بر اساس روش گزارش شده توسط Ashmead *et al.* (۷) اصلاح و اجرا شد. برای تولید هر کمپلکس، اسیدآمینه مربوطه با نمک $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ در نسبت مولی ۱:۲ (فلز:لیگاند) مخلوط گردید. سوسپانسیون حاصل در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت حدود دو ساعت بر روی صفحه داغ حرارت داده شد تا واکنش کلات‌سازی کامل و فرآیند تقطیر انجام شود. در طول واکنش، برای حذف یون سولفات، از کربنات کلسیم به عنوان عامل رسوب دهنده استفاده شد تا سولفات کلسیم ($CaSO_4$) تشکیل و به صورت جامد جدا شود. پس از حذف فاز جامد، محلول واکنش

تبخیر و رسوب میکروکریستالی کمپلکس‌ها تشکیل شد. سپس رسوب با اتانول ۹۵ درصد شسته شد تا آثار یون‌های باقی مانده حذف شود و آمینوکلات‌های گلایسین–آهن [$Fe(Gly)_2$] و متیونین–آهن [$Fe(Met)_2$] حاصل شده، پس از خشک سازی در دمای محیط جمع آوری گردیدند. برای تأیید تشکیل کمپلکس و بررسی تغییرات ساختاری، از طیف‌سنجی مادون قرمز مدل 8400 Shimadzuدر گستره ۴۰۰۰–۵۰۰ cm^{-1} با قرص KBrاستفاده شد (شکل ۱). در طیف جذب، باندهای مشخص در محدوده ۳۳۴۲–۳۴۷۷ cm^{-1} مربوط به ارتعاش گروه‌های آمینی (NH_2–) و پیک‌های بین ۱۶۲۹–۱۶۵۸ cm^{-1} مرتبط با ارتعاش کششی پیوندهای C=O مشاهده شد، که بیانگر درگیری گروه کربوکسیلات و آمین در فرآیند کلات سازی است (۵). وجود این جابه‌جایی‌های طیفی نسبت به لیگاند آزاد، نشان دهنده اتصال دو دندانه‌ای اسید آمینه‌ها به یون آهن و تشکیل ساختار پایدار ML_2 بود. تجزیه عنصری کمپلکس‌ها با دستگاه Perkin-Elmer 2400 انجام شد. نتایج آنالیز برای هر دو آمینوکلات با مقادیر محاسبه شده بر اساس فرمول مولکولی پیشنهادی همخوانی داشت و کارایی سنتز برای گلایسین–آهن و متیونین–آهن به ترتیب حدود ۸۸ درصد و ۸۷ درصد برآورد شد. درصد آهن اندازه‌گیری شده نیز با مقادیر نظری (≈۲۷/۱ درصد برای گلایسین–آهن و ≈۱۵/۸ درصد برای متیونین–آهن) اختلاف ناچیزی داشت که نشان دهنده خلوص مناسب ترکیب‌ها بود (جدول ۱).

آزمایش مزرعه‌ای

پیش از آغاز آزمایش، به منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، نمونه‌برداری از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری به صورت مرکب انجام شد. نمونه مرکب پس از خشک‌شدن در هوای آزاد و عبور از الک دو میلی‌متری، برای تجزیه آماده شد. بافت خاک با روش هیدرومتری تعیین شد (۳۴). هدایت الکتریکی و pH در سوسپانسیون خاک–آب با نسبت ۱:۲.۵ اندازه‌گیری گردید. کربن آلی به روش اکسیداسیون تر (۴۷)، درصد کربنات کلسیم معادل با روش خنثی‌سازی با اسید کلریدریک و تیتراسیون برگشتی با NaOH ارزیابی شد (۱۳). فسفر قابل‌جذب با روش اولسن (۳۰)، پتاسیم قابل تبادل با استات آمونیوم، و نیتروژن کل به روش کجلدال (۱۰) تعیین گردید. آهن قابل‌جذب خاک با محلول عصاره‌گیر DTPA-TEA (غلظت ۵ میلی‌مولار) استخراج و غلظت آهن در محلول عصاره به کمک دستگاه جذب اتمی PerkinElmer AAnalyst 800 مجهز به کوره گرافیتی اندازه‌گیری شد (۱۶). مقدار آهن استخراج‌شده برابر با ۴/۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. با توجه به آستانه بحرانی گزارش‌شده توسط Jalali *et al.* (۱۸)، مقدار آهن DTPA کمتر از حد بحرانی ۶/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده و نشان دهنده کمبود آهن در خاک آهکی منطقه است (جدول ۲).



شکل(۱) طیف‌های مادون قرمز (IR) (cm^{-1}) آمینوکلات‌های الف) گلایسین- آهن [$Fe(Gly)_2$] و ب) متیونین- آهن [$Fe(Met)_2$].

Figure (1) FT-IR spectra (cm^{-1}) of a) [$Fe(Gly)_2$] and b) [$Fe(Met)_2$] aminochelates.

جدول(۱) ویژگی‌های ساختاری آمینوکلات‌های آهن.

Table (1) Structural characteristic of iron aminochelates.

آمینوکلات Aminochelate	فرمول مولکولی Molecular formula	وزن مولکولی Molecular weight	بازده Yield	بدست آمده (محاسبه شده) (٪) Found (calculated) (%)			نظری (خالص) (٪) Theoretical (pure) (%)
				C	H	N	Fe
گلایسین- آهن [$Fe(Gly)_2$]	$C_4H_8N_2O_4Fe$	213.50	0.188 g (88%)	22.39 (22.50)	3.91 (3.75)	13.04 (13.12)	27.1 (25.8)
متیونین - آهن [$Fe(Met)_2$]	$C_{10}H_{20}N_2O_4S_2Fe$	352.26	0.306 g (87%)	34.00 (34.07)	5.73 (5.68)	7.93 (7.95)	15.8 (15.0)

جدول (۲) ویژگی‌های خاک مورد مطالعه.

Table (2) Characteristic of studied soil.

ویژگی Property	بافت Texture	pH	هدایت الکتریکی EC (dSm^{-1})	کربن آلی Organic C (%)	کربنات کلسیم $CaCO_3$ (%)	نیتروژن کل Total N (%)	فسفر قابل دسترس P_{ava} (mg kg^{-1})	پتاسیم قابل تبادل K_{EXC} (mg kg^{-1})	آهن قابل دسترس Available Fe (mg kg^{-1})	آهن کل Total Fe (mg kg^{-1})
مقدار Value	لومی رسی Clay Loam	7.7	3.8	0.35	37.5	0.06	16	275	4.15	21586

پرایمینگ بذر و عملیات مزرعه‌ای

برای اعمال تیمارهای پرایمینگ، بذور آفتابگردان پس از انتخاب بر اساس تراکم هدف، ابتدا با اتانول ۷۰ درصد و سپس محلول هیپوکلریت سدیم ۵۰ درصد ضدعفونی شدند. سپس بذرها به‌مدت ۱۲ ساعت در محلول‌های پرایمینگ حاوی دو درصد آهن (بر پایه آمینوکلات گلایسین–آهن، آمینوکلات متیونین–آهن، یا سولفات آهن) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خیسانده

شدند. پس از تیماردهی، بذرها با آب مقطر شست‌وشو داده شده و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. لازم به ذکر است که در تیمار شاهد، هیچ‌گونه خیساندنی اعمال نشد تا اثرات ناشی از هیدروپرایمینگ حذف و تنها اثر اختصاصی منابع آهن ارزیابی شود. پس از آماده‌سازی زمین، کرت‌های آزمایشی شامل سه ردیف کشت به طول سه متر با فاصله ردیف ۶۰ سانتی‌متر و فاصله بوته ۲۰ سانتی‌متر ایجاد شد که تراکم نهایی حدود ۸۰,۰۰۰ بوته در هکتار را فراهم کرد. تجزیه خاک نشان داد غلظت فسفر و پتاسیم بیش از حد بحرانی است؛ بنابراین تنها کود نیتروژن به‌صورت اوره و در مجموع ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار در دو مرحله (ابتدای کشت و سه هفته پس‌ازکشت) به‌صورت سرک مصرف شد. اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت انجام شد و آبیاری‌های بعدی تا زمان استقرار کامل بوته‌ها در فواصل پنج‌روزه صورت گرفت. عملیات تنک‌کردن بوته‌ها و کنترل علف‌های هرز در طول دوره رشد به‌صورت دستی انجام شد. در پایان دوره رشد (۱۲۰ روز پس از کشت) و رسیدن دانه‌ها به مرحله بلوغ فیزیولوژیک، برداشت انجام شد و به‌منظور حذف اثرات حاشیه‌ای، بوته‌های ردیف‌های کناری از تجزیه خارج گردیدند. نمونه‌های گیاهی پس از برداشت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت خشک شدند. سپس دانه‌ها از طبق جدا و توزین شدند. برای تعیین غلظت کل آهن در برگ و دانه، از روش هضم خشک استفاده شد و غلظت آهن توسط دستگاه جذب اتمی PerkinElmer (مدل AAnalyst 800) اندازه‌گیری شد (۱۷ و ۴۸).

تعیین شکل‌های شیمیایی آهن

به‌منظور ارزیابی الگوی توزیع گونه‌های شیمیایی آهن در خاک پس از برداشت، نمونه‌برداری از ناحیه نزدیک ریشه هر کرت صورت گرفت. نمونه‌های خاک پس از انتقال به آزمایشگاه، در دمای محیط خشک شدند و پس از عبور از الک با قطر چشمه ۲ میلی‌متر برای انجام آنالیزهای بعدی آماده شدند. به منظور تعیین توزیع اشکال مختلف آهن تحت تأثیر تیمارهای کودی، از روش استخراج دنباله‌ای پنج مرحله‌ای Tessier *et al.*(۴۵) استفاده شد (جدول ۳). این روش، آهن موجود در خاک را در قالب پنج بخش عملیاتی شامل آهن تبادلی، آهن مرتبط با کربنات‌ها، آهن پیوند یافته با اکسیدهای منگنز و آهن، آهن متصل به مواد آلی و بخش باقیمانده تفکیک می‌کند و امکان بررسی رفتار آهن در فاز جامد خاک را فراهم می‌سازد. برای ارزیابی دقت و صحت فرآیند استخراج دنباله‌ای، درصد بازیابی آهن براساس مجموع آهن استخراج‌شده در مراحل مختلف نسبت به غلظت کل آهن اندازه‌گیری‌شده محاسبه شد. غلظت کل آهن خاک پس از هضم اسیدی نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید (۱۶). درصد بازیابی برای هر تیمار با استفاده از رابطه ۱ تعیین گردید (۴۳):

$$\text{درصد بازیابی} = \frac{\text{مرحله}1 + \text{مرحله}2 + \text{مرحله}3 + \text{مرحله}4 + \text{مرحله}5}{\text{غلظت کل}} \quad (۱)$$

که در آن:

مرحله ۱: آهن در بخش تبادلی و محلول، مرحله ۲: آهن متصل به کربنات‌ها، مرحله ۳: آهن متصل به اکسیدهای آهن و منگنز، مرحله ۴: آهن متصل به ماده آلی، مرحله ۵: آهن باقیمانده و غلظت کل: مقدار کل عنصر اندازه‌گیری شده است.

تحلیل‌های آماری

تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم افزار RStudio نسخه (12.1+402, 2023) صورت گرفت. به منظور انجام مقایسات میانگین از آزمون چند مرحله‌ای Tukey's HSDدر سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. ضرایب همبستگی پیرسون بین میزان آهن در گیاه و آهن قابل دسترس خاک با شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک با استفاده از نرم افزار RStudio نسخه (12.1+402, 2023) انجام شد. ترسیم شکل‌ها نیز با استفاده از نرم افزار OriginPROنسخه (v.10.2, 2025b) انجام شد.

جدول(۳) خلاصه روش عصاره‌گیر دنباله‌ای

Table (3) Summary of the sequential extraction method.

مرحله Step	شکل شیمیایی عنصر Chemical fractions	عصاره گیر Extractant	درجه حرارت (درجه سانتی‌گراد) Temperature (°C)	اسیدیته pH	زمان (ساعت) Time (h)
1	تبادلی Exchangeable	$Mg(NO_3)_2$, 1M	25	7	1
2	متصل به کربنات Carbonate- bound	NaOAc,1M	25	5	5
3	متصل به اکسیدآهن- منگنز Oxide Fe-Mn- bound	NH_2OH-HCl, 0.04M	96	2	6
4	متصل به ماده آلی Organic bound	H_2O_2 (30%) + NH_4OAc (3.2 mol L^{-1})	85	2	3
5	باقی مانده Residual	HF–$HClO_4$-HNO_3	120	-	3

نتایج و بحث

pH خاک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر کاربرد پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن و کود سولفات آهن بر pH خاک معنی‌دار بود ($p \leq$ ۰/۰۱) (جدول ۴). مطابق با نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، کاربرد آمینوکلات‌های آهن سبب کاهش معنی‌دار pH خاک نسبت به تیمار شاهد شدند. تیمار آمینوکلات متیونین- آهن بیشترین تأثیر را بر کاهش pHخاک داشت (شکل ۲).

آهن قابل دسترس (Available Fe)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر کاربرد آمینوکلات‌های آهن و کود سولفات آهن برغلظت آهن قابل دسترس خاک معنی‌دار بود ($p \leq$ ۰/۰۱) (جدول ۴). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد تیمارهای کودی، سبب افزایش معنی‌دار غلظت آهن قابل دسترس خاک نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۳)؛ به طوریکه این تیمارها سبب افزایش ۷/۱۳ تا ۳۶/۱ درصد آهن قابل دسترس خاک در مقایسه با تیمار شاهد شدند. تیمار آمینوکلات متیونین- آهن و کود شیمیایی سولفات آهن به ترتیب بیشترین (۳۶/۱ درصد) و کمترین (۷/۱ درصد) تأثیر را بر افزایش آهن قابل دسترس خاک داشتند (شکل ۳).

غلظت آهن قابل دسترس در محلول خاک ارتباط معنی‌داری با pH نشان داد (شکل ۲). اگرچه خاک‌های آهکی به‌واسطه حضور کربنات کلسیم دارای ظرفیت بافری بالایی هستند و کاهش معنی‌دار pH در مقیاس توده خاک انتظار نمی‌رود، اما تغییرات موضعی pH در ناحیه ریزوسفر می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در پویایی آهن ایفا کند. در pHهای پایین‌تر، احیای Fe^{3+} به Fe^{2+} تسهیل می‌شود؛ فرمی که حلالیت و قابلیت جذب بالاتری برای گیاه دارد (۲۰). هرچند این نسبت در خاک به طور عمده تحت کنترل شرایط اکسیداسیون–احیا (Eh) قرار دارد، کاهش pH می‌تواند پایداری Fe^{2+} را افزایش داده و حلالیت آهن را به‌ویژه در مقیاس ریزوسفر بهبود بخشد (۲۰). در این شرایط، واکنش‌های احیایی آهن از نظر ترمودینامیکی تسهیل شده و از رسوب مجدد آن به‌صورت ترکیبات نامحلول کربناتی جلوگیری می‌شود (۴۳). این فرآیند می‌تواند تحت تأثیر فعالیت آنزیم‌های ریشه‌ای نیز تقویت شود و به‌عنوان یکی از سازوکارهای طبیعی تنظیم دسترسی آهن در ریزوسفر عمل کند (۱۱). پرایمینگ بذر با منابع آهن احتمالاً از طریق افزایش ترشح پروتون‌ها، اسیدهای آلی و اسیدهای آمینه کم‌وزن توسط ریشه در مراحل اولیه رشد، موجب کاهش موضعی pH ریزوسفر و فعال‌سازی آهن تثبیت‌شده در خاک‌های آهکی می‌شود (۲۶و۳۵). این تغییرات، اگرچه محدود به ناحیه ریزوسفر هستند، اما برای افزایش انحلال و تحرک آهن کافی بوده و به‌عنوان یک سازوکار مؤثر در بهبود دسترسی آهن عمل می‌کنند (۲۲). این نتیجه با گزارش‌های مربوط به کاربرد آمینوکلات‌های آهن

همخوانی دارد که افزایش معنی‌دار جذب آهن را در شرایط کمبود نشان داده‌اند (۱۱و۲۶). افزون بر این، پایداری آهن در محلول خاک به توان کلات‌سازی لیگاندهای آلی نیز وابسته است. آمینوکلات‌ها از طریق تشکیل کمپلکس با یون آهن و جلوگیری از رسوب آن در حضور کربنات‌ها، شرایط لازم برای افزایش جذب آهن توسط ریشه را فراهم می‌کنند (۴۱، ۴۴).

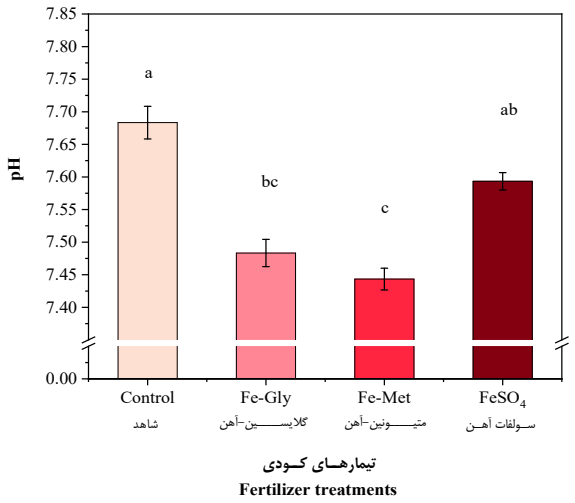
جدول (۴) تجزیه واریانس اثر تیمارها بر pH و غلظت آهن قابل دسترس در خاک.

Table (4) ANOVA for the effect of treatments on pH and concentration of soil available Fe.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Degree of freedoms	میانگین مربعات Mean squares	
		pH	آهن قابل دسترس Available Fe
بلوک Block	2	$5.9\times10^{-3\ ns}$	$7.4\times10^{-3\ ns}$
تیمار Treatment	3	0.03^{**}	1.48^{**}
خطا Error	6	2.1×10^{-3}	5.4×10^{-3}
ضریب تغییرات C.V (%)	-	0.62	1.54

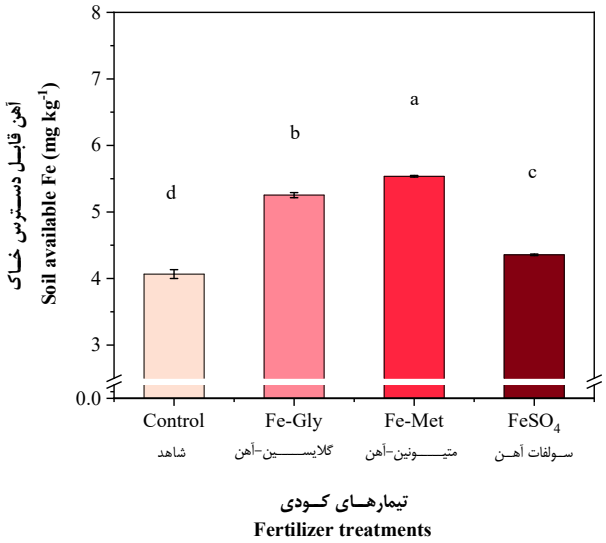
ns و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

ns and **: non-significant and significant at $p\leq0.01$, respectively.



شکل (۲) مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر pH خاک. حروف همانند بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون توکی است.

Figure (2) Mean comparisons of the effect of treatments on soil pH. The same letters indicate non-significant difference according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).



شکل (۳) مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر غلظت آهن قابل دسترس در خاک. حروف همانند بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون توکی است.

Figure (3) Mean comparisons of the effect of treatments on concentration of soil available Fe. The same letters indicate non-significant difference according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

اثر کاربرد آمینوکلات‌های آهن و کود سولفات آهن بر غلظت شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک

در این پژوهش، تغییرات ناشی از تیمارهای پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن و سولفات آهن بر توزیع اشکال مختلف آهن در فاز جامد خاک ـ شامل بخش تبادلی، کربناتی، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز، متصل به ماده آلی و باقی‌مانده ـ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج استخراج دنباله‌ای نشان داد که درصد بازیابی آهن در تمامی تیمارها در دامنه ۹۲/۸ تا ۹۴/۱ درصد قرار دارد؛ مقادیری که با گزارش‌های Tessier *et al.* (۴۵) و Sposito *et al.* (۴۳) همسو بوده و بیانگر دقت قابل قبول روش در این آزمایش است. تجزیه واریانس نتایج نشان داد که تیمارهای پرایمینگ بذر بر غلظت آهن تبادلی، آهن متصل به ماده آلی و آهن کربناتی اثر معنی‌دار داشتند ($p \leq ۰/۰۱$) (جدول ۵).

نتایج بررسی شکل‌های شیمیایی مختلف آهن نشان داد که کاربرد آمینوکلات‌های آهن موجب افزایش معنی‌دار آهن در بخش‌های تبادلی و متصل به ماده آلی خاک شد (جدول ۶). در این میان، تیمار متیونین–آهن بیشترین تأثیر را بر افزایش آهن تبادلی داشت و غلظت این بخش را به‌ترتیب ۲/۵ و ۲/۱ برابر نسبت به تیمار شاهد و سولفات آهن افزایش داد. تیمار گلایسین–آهن نیز افزایش ۹۲/۸ درصدی آهن تبادلی نسبت به شاهد نشان داد، در حالی‌که سولفات آهن تأثیر معنی‌داری بر این بخش نداشت ($p > ۰/۰۵$). افزایش آهن تبادلی در تیمارهای آمینوکلاتی احتمالاً به توان بالای این ترکیبات در پایدارسازی آهن در فاز فعال خاک مرتبط است. حضور لیگاندهای آلی و کاهش موضعی pH در ریزوسفر می‌تواند انحلال اشکال کم‌تحرک آهن را تسهیل کرده و انتقال آن به بخش‌های قابل تبادل و محلول را افزایش دهد. هم‌راستایی افزایش آهن تبادلی با آهن قابل‌استخراج با DTPA (شکل ۳) این تفسیر را تقویت می‌کند و بیانگر ارتباط نزدیک این بخش با آهن قابل‌جذب برای گیاه است (۲۶، ۳۳ و ۳۷).

جدول (۵) تجزیه واریانس اثر تیمارها بر غلظت شکل‌های شیمیایی مختلف آهن در فاز جامد خاک.

Table (5) ANOVA for the effect of treatments on concentration of different Fe chemical forms in the soil solid phase.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Degree of freedoms	میانگین مربعات Mean squares				
		تبادلی **Exchangeable**	متصل به کربنات Carbonate-bound	متصل به اکسیدها Oxide-bound	متصل به ماده آلی Organic-bound	باقی مانده Residual
بلوک Block	2	2.8×10^{-3} ns	9.6×10^{-3} ns	2.25 ns	8.3×10^{-4} ns	4.08 ns
تیمار Treatment	3	0.26**	5.61**	14.3 ns	1.00**	0.55 ns
خطا Error	6	2.5×10^{-3}	0.01	5.58	8.2×10^{-3}	6.97
ضریب تغییرات C.V (%)	-	7.1	2.76	0.11	2.23	0.01

ns و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

ns and **: non-significant and significant at $p\leq0.01$, respectively.

جدول (۶) مقایسه میانگین اثر تیمارها بر غلظت شکل‌های شیمیایی مختلف آهن (میلی گرم بر کیلوگرم) در فاز جامد خاک

Table (6) Mean comparisons of the effect of treatments on concentration of different Fe chemical forms (mg kg^{-1}) in soil solid phase.

تیمارهای کودی Fertilizer treatments	تبادلی Exchangeable	متصل به کربنات Carbonate-bound	متصل به ماده آلی Organic-bound
شاهد Control	0.42 ±0.01 c	6.23±0.07 a	0.80±0.01 d
گلایسین- آهن $[Fe(Gly)_2]$	0.82±0.01 b	4.03±0.09 c	1.33±0.01 b
متیونین- آهن $[Fe(Met)_2]$	1.06±0.05 a	3.26±0.08 d	2.06±0.03 a
سولفات آهن $FeSO_4$	0.49±0.01 c	5.59 ±0.03 b	0.90±0.01c

حروف همانند بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار براساس آزمون توکی است ($p \leq$ ۰/۰۵).

The same letters indicate non-significant difference according to Tukey's test ($p \leq0.05$).

در بخش آهن متصل به ماده آلی نیز، تیمار متیونین–آهن بیشترین افزایش را نشان داد و غلظت این بخش را بیش از ۲/۶ برابر نسبت به شاهد افزایش داد. تیمارهای گلایسین–آهن و سولفات آهن نیز به‌ترتیب افزایش ۷۴/۳ و ۵۳/۷ درصدی نسبت به شاهد ایجاد کردند (جدول ۶). افزایش این بخش می‌تواند ناشی از برهم‌کنش آمینوکلات‌ها با ترکیبات آلی فعال خاک و تشکیل کمپلکس‌های پایدار آلی–آهن باشد که نشان‌دهنده فعال‌شدن چرخه آهن در خاک است (۶، ۹ و ۴۱). افزایش آهن متصل به ماده آلی در تیمار سولفات آهن احتمالاً ناشی از آزاد شدن یون‌های آهن در محلول خاک و برهم‌کنش ثانویه آن‌ها با لیگاندهای آلی موجود در خاک است. این فرآیند، برخلاف آمینوکلات‌ها، الزاماً به افزایش فراهمی زیستی آهن منجر نمی‌شود و بیشتر بیانگر انتقال آهن از بخش کربناتی یا محلول به مخزن آلی خاک است (۴۱، ۴۴).

در مقابل، تیمارهای متیونین–آهن و گلایسین–آهن به‌ترتیب موجب کاهش ۴۸/۰ و ۳۵/۲ درصدی غلظت آهن متصل به کربنات نسبت به شاهد شدند. این کاهش می‌تواند ناشی از توانایی آمینوکلات‌ها برای انتقال بخشی از آهن موجود در این مخزن کم‌تحرک به شکل‌های فعال‌تر باشد؛ فرآیندی که در خاک‌های آهکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۲۳). تیمار سولفات آهن تنها کاهش محدودی (۱۰/۳ درصد) در این بخش ایجاد کرد که بیانگر توان کمتر آن در آزادسازی آهن از بخش کربناتی است (۲۲).

اثر تیمارها بر غلظت آهن در بخش‌های متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و نیز بخش باقی‌مانده معنی‌دار نبود (جدول ۵). پایداری این بخش‌ها قابل انتظار است، زیرا آهن در این اشکال از طریق پیوندهای معدنی و ساختارهای بلوری پایدار نگه‌داری می‌شود و در بازه زمانی کوتاه آزمایش، تغییرپذیری اندکی دارد (۱۱ و ۱۲).

توزیع شکل‌های شیمیایی آهن در خاک مورد مطالعه

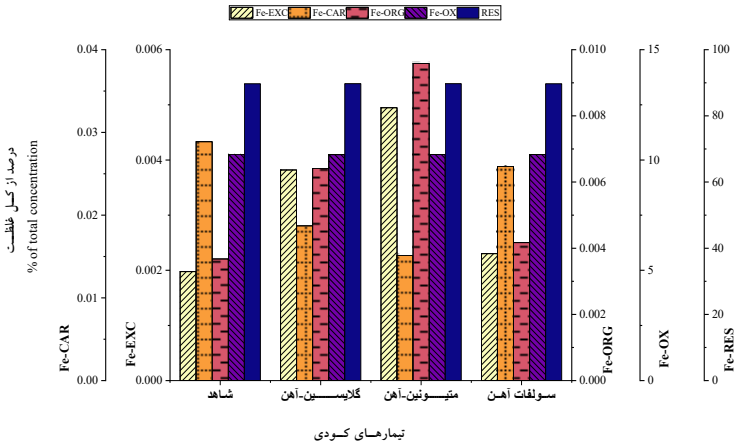
بررسی توزیع نسبی شکل‌های شیمیایی آهن نشان داد که ترتیب کلی فراوانی اجزا در خاک مورد مطالعه به‌صورت آهن تبادلی < آهن متصل به ماده آلی < آهن کربناتی < آهن متصل به اکسیدهای آهن و منگنز < شکل باقیمانده بود. اگرچه کاربرد تیمارهای مختلف آهن این ترتیب کلی را تغییر نداد، اما درصد نسبی اغلب اجزا، به‌جز آهن اکسیدی و بخش باقیمانده، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع منبع آهن قرار گرفت. به‌طور متوسط، سهم آهن تبادلی، آلی، کربناتی، اکسیدی و باقیمانده به‌ترتیب حدود ۰/۰۰۳، ۰/۰۰۵، ۰/۰۲، ۱۰/۲۳ و ۸۹/۷۱ درصد کل آهن خاک را تشکیل داد (شکل ۴).

در تیمار شاهد، آهن کربناتی غالب‌ترین بخش آهن خاک بود، در حالی‌که سهم شکل‌های تبادلی و آلی بسیار محدود باقی ماند؛ الگویی که مشخصه رایج خاک‌های آهکی با pH بالا و محتوای زیاد کربنات کلسیم است (۹). در مقابل، پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های متیونین–آهن و گلایسین–آهن سبب افزایش معنی‌دار سهم آهن تبادلی و آهن متصل به ماده آلی و هم‌زمان کاهش سهم آهن کربناتی شد؛ اثری که در تیمار متیونین–آهن بارزتر بود. این تغییر توزیع نشان می‌دهد که احتمالاً آمینوکلات‌ها با توان بالای کلاته‌سازی، بخشی از آهن موجود در مخازن نسبتاً پایدار مانند «آهن کربناتی» و «آهن اکسیدی» به سمت بخش‌های فعال‌تر شامل «آهن تبادلی» و «آهن متصل به ماده آلی» منتقل کرده‌اند.

در مقابل، کاربرد سولفات آهن به‌دلیل ناپایداری در شرایط قلیایی و فقدان توان تشکیل کمپلکس‌های پایدار، تأثیر محدودی بر الگوی توزیع آهن داشت و بخش عمده آهن همچنان در فرم کربناتی باقی ماند. این نتایج با گزارش‌های Filgueiras *et al.* (۱۴) و Pashapour *et al.* (۳۱) همخوانی داشته و بر کارایی بالاتر آمینوکلات‌های آهن نسبت به نمک‌های معدنی در فعال‌سازی ذخایر کم‌تحرک آهن در خاک‌های آهکی تأکید می‌کند.

غلظت آهن برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر کاربرد تیمارهای کودی مختلف بر غلظت آهن در برگ گیاه معنی‌دار بود ($p \leq ۰/۰۱$) (جدول ۷). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد آمینوکلات‌های متیونین- آهن و گلایسین- آهن، به ترتیب سبب افزایش ۳/۴۷ و ۲/۵ درصدی میزان آهن برگ در مقایسه با تیمار شاهد شدند. در مقابل، کاربرد کود سولفات آهن کمترین تاثیر را بر افزایش غلظت آهن برگ (۱/۰ درصد) نسبت به تیمار شاهد داشت (شکل ۵).



شکل (۴) نمودار توزیع شکل‌های شیمیایی مختلف آهن در فاز جامد خاک.

Figure (4) Distribution diagram of the different Fe chemical forms in soil solid phase.

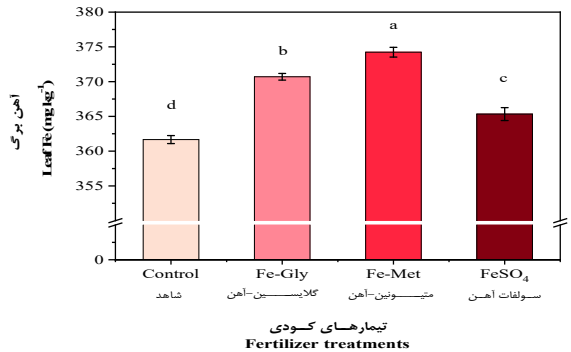
جدول (۷) تجزیه واریانس اثر تیمارها بر غلظت آهن برگ و دانه و جذب آهن دانه گیاه

Table (7) ANOVA for the effect of treatments on leaf and seed Fe concentration, and seed Fe uptake

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Degree of freedoms	میانگین مربعات Mean squares		
		آهن برگ Leaf Fe	آهن دانه Seed Fe	جذب آهن دانه Seed Fe uptake
بلوک Block	2	2.38^{ns}	1.5^{ns}	46.86^{ns}
تیمار Treatment	3	93.3**	9.79**	2537.39**
خطا Error	6	0.92	0.70	15.06
ضریب تغییرات C.V (%)	-	0.26	2.61	3.16

^{ns} و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

^{ns} and **: non-significant and significant at $p \leq 0.01$, respectively.



شکل(۵) مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر غلظت آهن در برگ گیاه آفتابگردان.

حروف همانند بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون توکی است.

Figure (5) Mean comparisons of the effect of treatments on leaf Fe concentration of sunflower. The same letters indicate non-significant difference according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

غلظت آهن دانه

اثر کاربرد آمینوکلات‌های آهن بر غلظت آهن در دانه ($p\leq$۰/۰۱) آفتابگردان معنی‌دار بود (جدول ۷). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین غلظت آهن دانه گیاه به دنبال پرایمینگ بذر با آمینوکلات متیونین-آهن حاصل شد؛ به طوریکه سبب افزایش ۱۲/۶ درصدی غلظت آهن دانه گیاه نسبت به تیمار شاهد شد. در مقابل کمترین میزان غلظت آهن دانه در شاهد مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار سولفات آهن نداشت (شکل ۶).

جذب آهن در دانه گیاه

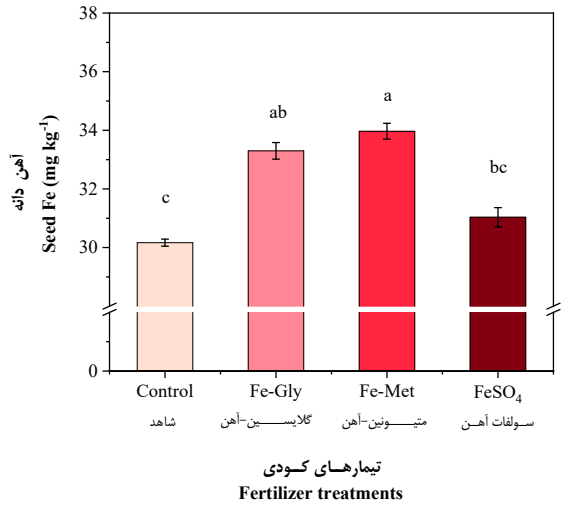
اثر کاربرد تیمارهای کودی مختلف بر جذب آهن در دانه آفتابگردان معنی‌دار بود ($p\leq$۰/۰۱) (جدول ۷). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن و کود سولفات آهن سبب افزایش ۲۴/۴ تا ۷۱/۵ درصد جذب آهن در دانه آفتابگردان نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۷). بیشترین مقدار جذب آهن در دانه با میانگین ۱۵۱/۲ گرم بر هکتار مربوط به تیمار آمینوکلات متیونین-آهن بود که سبب افزایش۷۱/۵ درصدی آن نسبت به تیمار شاهد شد. با این وجود تفاوت معنی‌داری بین این تیمار با آمینوکلات گلایسین-آهن دیده نشد (شکل ۷).

در این پژوهش، کاربرد آمینوکلات‌های متیونین-آهن و گلایسین-آهن در مقایسه با سولفات آهن معمولی، منجر به افزایش معنی‌دار غلظت آهن در دانه آفتابگردان گردید (شکل ۶). این برتری احتمالاً به نقش هم‌زمان این ترکیبات در تأمین آهن و لیگاندهای آلی بازمی‌گردد که فراهمی زیستی و انتقال درون‌گیاهی آهن را بهبود می‌بخشند (۱). یافته‌های حاضر با نتایج Ali *et al.* (۳) مبنی بر افزایش تجمع آهن در اندام‌های آفتابگردان در اثر کاربرد آمینوکلات‌های آهن هم‌خوانی دارد.

افزایش معنی‌دار غلظت آهن در برگ و دانه در تیمارهای آمینوکلاتی نشان داد که این ترکیبات از طریق ارتقای کارایی فیزیولوژیک آهن، وضعیت تغذیه‌ای گیاه را بهبود داده‌اند (۱۹). با توجه به قرار داشتن غلظت آهن برگ در تیمار شاهد (۳۶۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در محدوده کفایت، افزایش مشاهده شده بیش از آنکه ناشی از تجمع کمّی آهن باشد، می‌تواند حاصل بهبود توزیع درون گیاهی آهن و جلوگیری از رسوب آن در فضای آپوپلاست باشد؛ پدیده‌ای که در خاک‌های آهکی به «نارسایی فیزیولوژیک آهن» شناخته می‌شود (۳۵ و ۱).

آمینوکلات‌ها با تشکیل کمپلکس‌های پایدار میان گروه‌های عاملی اسیدهای آمینه و یون Fe^{2+}، تحرک و انتقال آهن در آوند چوبی را تسهیل کرده و هم‌زمان با بهبود عملکرد ناقل‌های آهن، کارایی انتقال درون‌گیاهی آن را افزایش می‌دهند (۲۶ و ۴۲). بر این اساس، افزایش غلظت و جذب آهن در برگ و دانه آفتابگردان را می‌توان نتیجه هم‌افزایی افزایش فراهمی آهن در خاک و بهبود کارایی فیزیولوژیک انتقال آن در گیاه دانست؛ نتیجه‌ای که با یافته‌های *Niharika et al.* (۲۸) نیز مطابقت دارد.

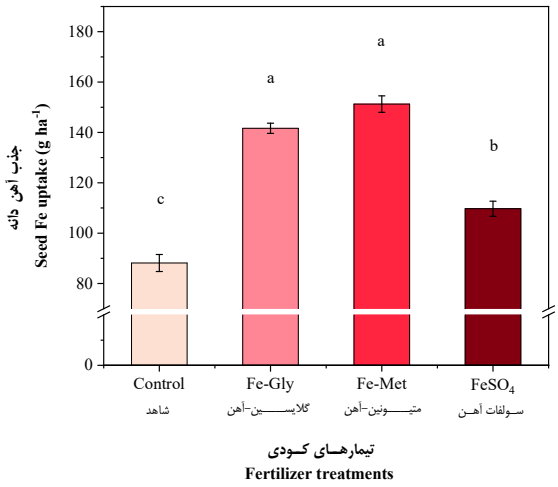
افزایش معنی‌دار غلظت آهن در برگ و دانه آفتابگردان در این پژوهش با گزارش‌های پیشین هم‌راستا است. *Mirbolook et al.* (۲۶) نشان دادند که کاربرد کودآبیاری آمینوکلات تیروزین–آهن، غلظت آهن اندام‌های هوایی گیاه لوبیا را نسبت به کلات Fe-EDDHA حدود ۲۵ درصد در خاک آهکی افزایش داد. همچنین *Zaheer et al.* (۴۹) گزارش کردند که آمینوکلات لیزین-آهن در مقایسه با شاهد، غلظت آهن دانه کلزا را تا ۲۰ درصد افزایش داد. در پژوهش حاضر، افزایش غلظت (۱۲/۶ درصد) و جذب آهن دانه (۷۱/۵ درصد) در تیمارهای متیونین–آهن و گلایسین–آهن در دامنه تغییرات گزارش‌شده در مطالعات مشابه قرار داشت که نشان‌دهنده کارایی این ترکیبات در بهبود تغذیه آهن گیاه تحت شرایط خاک‌های آهکی است.



شکل (۶) مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر غلظت آهن در دانه گیاه آفتابگردان.

حروف همانند بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون توکی است.

Figure (6) Mean comparisons of the effect of treatments on seed Fe concentration of sunflower. The same letters indicate non-significant difference according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).



شکل(۷) مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر جذب آهن در دانه گیاه.

حروف همانند بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون توکی است.

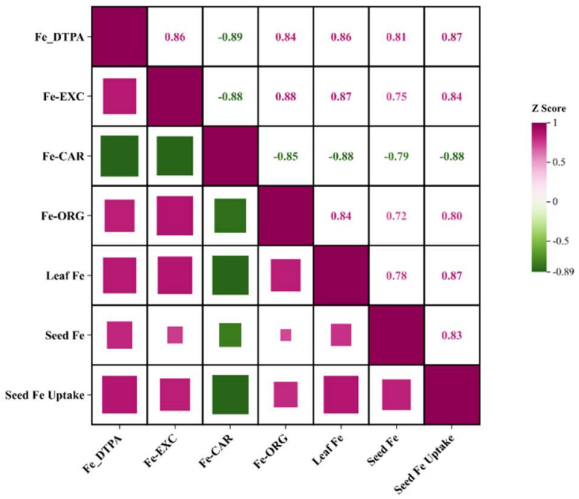
Figure (7) Mean comparisons of the effect of treatments on Fe uptake in plant seed. The same letters indicate non-significant difference according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

همبستگی بین غلظت آهن قابل دسترس خاک و غلظت آهن در گیاه با شکل‌های شیمیایی آهن در خاک

تحلیل ضرایب همبستگی (شکل ۸) نشان داد که تغییرات غلظت آهن قابل‌استفاده در خاک پس از اعمال تیمارهای مختلف، رابطه قوی و معنی‌داری با توزیع شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک دارد. آهن قابل‌جذب خاک در تیمارهای آمینوکلات و سولفات آهن، بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار را با دو بخش «آهن تبادلی»

(r=۰/۸۶**) و «آهن متصل به ماده آلی» (r= ۰/۸۴**) نشان داد؛ در مقابل، این متغیر با آهن موجود در بخش «کربناتی» همبستگی منفی و قابل‌توجهی داشت (r= −۰/۸۹**). غلظت آهن دانه نیز الگوی مشابهی را دنبال کرد؛ به‌طوری‌که بین آهن دانه و شکل‌های تبادلی (r= ۰/۷۵**) و آلی (r= ۰/۷۲**) رابطه مثبت و معنی‌داری برقرار بود. افزون بر این، شاخص جذب آهن در دانه نیز عمدتاً با آهن تبادلی خاک همبستگی قوی‌تری نشان داد (r= ۰/۸۴**). یافته‌های سایر پژوهشگران نیز بر اهمیت بخش آلی آهن در خاک تأکید دارند. به طور مثال، Ghoreishi Amiri *et al.* (۱۵) گزارش کردند که آهن کمپلکس‌شده با مواد آلی، با بهبود جذب آهن و عملکرد گیاه همبستگی معنی‌داری دارد. بر اساس این نتایج، می‌توان استنباط کرد که استفاده از آمینوکلات‌های آهن احتمالاً موجب حفظ آهن در فرم‌های پویا و قابل‌مبادله خاک شده و از طریق تقویت سهم آلی و تبادلی آهن، یک ذخیره پایدار و در عین حال در دسترس برای ریشه ایجاد می‌کند. بنابراین، شکل‌های تبادلی و آلی آهن را می‌توان به‌عنوان مؤثرترین مخازن تأمین‌کننده آهن دانه آفتابگردان در شرایط این مطالعه در نظر گرفت.

در مجموع، نتایج این پژوهش ظرفیت بلقوه آمینوکلات‌های آهن را به‌عنوان جایگزینی پایدار و کارآمد برای کودهای رایج آهن نظیر سولفات آهن تأیید می‌کند. این ترکیبات، با کاهش خطر تثبیت آهن در خاک‌های آهکی، افزایش کارایی جذب، و بهبود انتقال درون‌گیاهی، می‌توانند مصرف کود و هزینه‌های مرتبط را کاهش دهند و همزمان پیامدهای زیست‌محیطی ناشی از مصرف بیش‌ازحد کودهای شیمیایی را محدود کنند (۲۶، ۴۲). از این رو، استفاده از آمینوکلات‌های آهن می‌تواند راهکاری عملی برای بهبود تغذیه آهن و غنی‌سازی زیستی آفتابگردان در سامانه‌های زراعی پایدار باشد.



شکل(۸) ضرایب همبستگی پیرسون بین غلظت آهن در گیاه و آهن قابل‌استفاده خاک با شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک. تمامی ضرایب در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار هستند ($p \leq$ ۰/۰۱). اندازه‌ی مربع‌های هندسی با سطح معنی‌داری ضرایب رابطه‌ی مستقیم دارد؛ به‌طوری که مربع‌های بزرگ‌تر نشان‌دهنده‌ی همبستگی‌های با معنی‌داری بالاتر هستند. گرادیان رنگ سلول‌ها نیز بر اساس مقادیر z-score از سبز (همبستگی منفی) تا صورتی تیره (همبستگی مثبت) تغییر می‌کند.

Figure (8) Pearson correlation coefficients between plant Fe concentration and soil available Fe concentration with the chemical forms of Fe in the soil solid phase. All correlation coefficients are significant at the 1% probability level ($p \leq 0.01$). The size of the geometric squares is directly related to the significance level of the correlations; larger squares indicate more significant relationships. The color gradient of the cells is based on z-score, ranging from green (negative

correlations) to dark pink (positive correlations).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن، به‌ویژه متیونین–آهن، در خاک آهکی می‌تواند به‌طور معنی‌داری پویایی و دسترسی آهن را در خاک بهبود بخشد. بررسی شکل‌های شیمیایی مختلف آهن نشان داد که این ترکیبات احتمالاً با افزایش غلظت آهن در فاز محلول، بهبود ظرفیت کمپلکس‌سازی و اثرگذاری بر شیمی ریزوسفر، موجب انتقال آهن از مخازن کم‌تحرک کربناتی به دو بخش فعال‌تر یعنی «آهن تبادلی» و «آهن متصل به ماده آلی» شدند. این تغییرات، در مقایسه با کود سولفات آهن، بیانگر توانایی بیشتر آمینوکلات‌ها در بهره‌برداری از ذخایر پنهان آهن در خاک‌های آهکی است. بر این اساس، پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن می‌تواند راهبردی مؤثر برای افزایش عملکرد و بهبود تغذیه آهن گیاه محسوب شود. این پژوهش در شرایط مزرعه‌ای و در یک مکان مشخص با خاک آهکی لوم رسی انجام شد؛ ازاین‌رو، تعمیم نتایج به سایر انواع خاک، به‌ویژه خاک‌های با بافت متفاوت یا شرایط اقلیمی متغیر، باید با احتیاط صورت گیرد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود مطالعات آتی با هدف ارزیابی کارایی پرایمینگ بذر با آمینوکلات‌های آهن در خاک‌ها و اقلیم‌های متنوع و نیز در مقیاس‌های زمانی طولانی‌تر انجام شود تا امکان تعمیم‌پذیری نتایج و ارائه توصیه‌های مدیریتی دقیق‌تر فراهم گردد. همچنین ارزیابی پایداری آمینوکلات‌ها در فاز جامد خاک و نیز تحلیل کارایی اقتصادی و زیست‌محیطی این ترکیبات در مقایسه با منابع رایج آهن در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود.

سپاس گزاری

بدین‌وسیله از حمایت‌های پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که انجام این رساله دکتری و انتشار نتایج آن را امکان‌پذیر ساخت، کمال قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Abadía, J., Vázquez, S., Rellán-Álvarez, R., El-Jendoubi, H., Abadía, A., Alvarez-Fernández, A., and López-Millán, A. F. 2011. Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. *Plant physiology and biochemistry: PPB, 49*(5), 471–482. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.01.026
2. Adnan, M., Abbas, B., Asif, M., Sikander Hayyat, M., Raza, A., Ahmad Khan, B., Hassan, M., Bashir Khan, M., Danish Toor, M. and Khalid, M. 2020. Role of Micro Nutrients Bio Fortification in Agriculture A Review. *International Journal of Environmental Sciences and Natural Resources 24*(4): 209-213. https://doi.org/10.19080/IJESNR.2020.24.556141
3. Ali, Q., Ali, S., El-Esawi, M. A., Rizwan, M., Azeem, M., Hussain, A. I., Perveen, R., El-Sheikh, M. A., Alyemeni, M. N., and Wijaya, L. 2020. Foliar spray of Fe-Asp confers better drought tolerance in sunflower as compared with FeSO4: Yield traits, osmotic adjustment, and antioxidative defense mechanisms. *Biomolecules, 10*(9), 1217. https://doi.org/10.3390/biom10091217
4. Alipour Babadi, M., Norouzi Masir, M., Moezzi, A. A., Rahnama, A., and Taghavi, M. 2025. Iron (Fe) biofortification using Fe-aminochelates in sunflower growing in calcareous soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 188*, 519–535. https://doi.org/10.1002/jpln.12004
5. Alipour Babadi, M., Norouzi Masir, M., Moezzi, A., Rahnama Ghahfarokhi, A., and Taghavi Zahedkolaei, M. 2025. The effect of priming application of zinc aminochelate and $ZnSO_4$ fertilizer on the chemical forms of zinc in the soil solution phase and its correlation with zinc concentration in sunflower. *Iranian Journal of Soil and Water Research, 56*(5), 1379-1399. (In Persian with English abstract) https://doi.org/10.22059/ijswr.2025.391572.669895
6. Areche, F. O., Aguilar, S. V., More López, J. M., Castañeda Chirre, E. T., Sumarriva-Bustinza, L. A., Pacovilca-Alejo, O. V., and colleagues. 2023. Recent and historical developments in chelated fertilizers as plant nutritional sources, their usage efficiency and application methods. *Brazilian Journal of Biology, 83*, e271055. https://doi.org/10.1590/1519-6984.271809
7. Ashmead, S. D., Wheelwright, D. C., Ericson, C., and Pedersen, M. 2000. A composition and method for preparing amino acid chelates free of interfering ions (U.S. Patent No. WO2002030948A3). Google Patents. https://patents.google.com/patent/WO2002030948A3
8. Azadi, A., Baghernejad, M., Gholami, A., and Shakeri, S. 2021. Forms and distribution pattern of soil Fe (Iron) and Mn (Manganese) oxides due to long-term rice cultivation in fars Province Southern Iran. *Communications in Soil Science and Plant Analysis, 52*(16), 1894–1911. https://doi.org/10.1080/00103624.2021.1900226
9. Boustani, H., Najafi Giri, M., Amin, H., and Mirsoleimani, A. 2018. Investigation of Iron Chemical Fractions in Some Calcareous Soils of Orange (Citrus sinensis L.) Orchards in Darab Region, Southeast of Fars Province. *Applied Soil Research, 6*(3), 92–105. (In Persian with English abstract)
10. Bremner, J.M. and Mulvaney, C.S. 1982. Nitrogen-Total. In: Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties, Page, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R. Eds., American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, 595-624.
11. Colombo, C., Palumbo, G., He, J., Pinton, R., and Cesco, S. 2014. Review on iron availability in soil: interaction of Fe minerals, plants, and microbes. *Journal of Soils and Sediments, 14*, 538-548. https://doi.org/10.1007/s11368-013-0814-z
12. Cornell, R.M., and Schwertmann, U. 2003. The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses. 2nd ed. Wiley-VCH. https://doi.org/10.1002/3527602097
13. Elfaki, J.T., Gafer, M.O., Sulieman, M.M., and Ali, M.E. 2016. Assessment of Calcimetric and Titrimetric Methods for Calcium Carbonate Estimation of Five Soil Types in Central Sudan. *Journal of Geoscience and Environment Protection, 04*, 120-127. http://dx.doi.org/10.4236/gep.2016.4101%234
14. Filgueiras, A. V., Lavilla, I., and Bendicho, C. 2002. Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples. *Journal of Environmental Monitoring, 4(*6), 823–857. https://doi.org/10.1039/B207574C

15. Ghoreishi Amiri, S. A., Baranimotlgh, M., and Dordipour, E. 2020. Response of spinach plant (Spinacia oleracea) to iron chemical forms in calcareous soil treated with sewage sludge. *Agricultural Engineering, 43*(1), 103–125. (In Persian with English abstract) https://doi.org/10.22055/AGEN.2020.31328.1514

16. Hossner, L.R. 1996 Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. In: Spark, D.L., Ed., Dissolution for Total Elemental Analysis, Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, 49-64.

17. Huang, Y. T., Cai, S. Y., Ruan, X. L., Chen, S. Y., Mei, G. F., Ruan, G. H., and Cao, D. D. 2021. Salicylic acid enhances sunflower seed germination under Zn^{2+} stress via involvement in Zn^{2+} metabolic balance and phytohormone interactions. *Scientia Horticulturae, 275*, 109702. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109702

18. Jalali, M., Beygi, M., Jalali, M., and Buss, W. 2022. Background levels of DTPA-extractable trace elements in calcareous soils and prediction of trace element availability based on common soil properties. *Journal of Geochemical Exploration, 241,* 107073. https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2022.107073

19. Kamble, B. M., Meena, R., and Gajbhiye, P. N. 2022. Influence of Iron Nutrition on Soil Properties, Uptake and Yield of Soybean Grown on Iron Deficient Inceptisol. *Journal of Experimental Agriculture International*, 131–142. https://doi.org/10.9734/jeai/2022/v44i112059

20. Lindsay, W. L., and Schwab, A. P. 1982. The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *Journal of Plant Nutrition, 5*(4–7), 821–840. https://doi.org/10.1080/01904168209363012

21. López-Rayo, S., Nadal, P., and Lucena, J. J. 2015. Reactivity and effectiveness of traditional and novel ligands for multi-micronutrient fertilization in a calcareous soil. *Frontiers in Plant Science, 6*, 752. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00752

22. Lucena, J. J. 2003. Fe chelates for remediation of Fe chlorosis in strategy I plants. *Journal of Plant Nutrition*, *26*(10-11), 1969–1984. https://doi.org/10.1081/pln-120024257

23. Lucena, J. J., and Hernandez-Apaolaza, L. 2017. Iron nutrition in plants: an overview. *Plant and Soil, 418*(1-2), 1–4. https://doi.org/10.1007/s11104-017-3316-8

24. Marschner, H. 2012. Mineral Nutrition of Higher Plants (3rd ed.). Academic Press: San Diego, CA, USA, 2011; pp. 1–651, ISBN 0123849063. https://doi.org/10.1017/s001447971100130x

25. Merry, R., Espina, M. J., Lorenz, A. J., and Stupar, R. M. 2022. Development of a controlled-environment assay to induce iron deficiency chlorosis in soybean by adjusting calcium carbonates, pH, and nodulation. *Plant Methods, 18*, 36. https://doi.org/10.1186/s13007-022-00855-5

26. Mirbolook A., Rasouli-Sadaghiani M. H., Sepehr E., Lakzian A., and Hakimi, M. 2020. Effect of iron chelates and their application methods on iron nutrition status of bean plant (Phaseolus vulgaris) in a calcareous soil. *Applied Soil Research, 8*(3), 109-128. (In Persian with English abstract)

27. Naeem, A., Deppermann, P., and Mühling, K. H. 2023. Ammonium fertilization enhances nutrient uptake, specifically manganese and zinc, and growth of maize in unlimed and limed acidic sandy soil. *Nitrogen, 4*, 239–252. https://doi.org/10.3390/nitrogen4020017

28. Niharika, P., Mahendran, P. P., Prabhaharan, J., Gurusamy, A., Prasanthrajan, M., Chandrakumar, K., and Yuvaraj, M. 2025. Amino acid-chelated micronutrients: A new frontier in crop nutrition and abiotic stress mitigation. *Plant Science Today, 12*(3), 1–15. https://doi.org/10.14719/pst.8302

29. Nurozi-Boldaji, Z., Fallah, S., Yusefi-Tanha, E., Gollner, G., and Salehi, A. 2024. Seed- and foliar-applied iron chelate improves performance, physiological, and biochemical aspects of black cumin (Nigella sativa) under semi-arid conditions. Agronomy, 14(8), 1788. https://doi.org/10.3390/agronomy14081788

30. Olsen, S.R. and Sommers, L.E. 1982. Phosphorus. In: Page, A.L., Ed., Methods of Soil Analysis Part 2 Chemical and Microbiological Properties, American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, 403-430. https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c24

31. Pashapour, N., Reyhanitabar, A., and Ostan, Sh. 2016. Study of Some Agronomical Traits of Corn (Zea Mays L.) Affected by Iron Fractions in Soils of East Azerbaijan. *Journal of Water and Soil Knowledge, 26*(1), 205–215. (In Persian with English abstract)

32. Pinho, S., Santos, C., Moniz, T., Granja, A., Sarraguça, M., Reis, S., Rangel, M., and Vasconcelos, M. 2025. Novel polymeric nanoparticles as nanofertilisers for alkaline iron-deficient conditions. *Plant and Soil, 514*(1), 1263–1283. https://doi.org/10.1007/s11104-025-07462-y

33. Prajapati, H. R., Italiya, A. P., Dubey, P. K., Kaswala, A. R., and Patel, T. A. 2025. Impact of Soil Properties on Different Fractions of Iron (Fe) Under Saline Soil of Navsari District, Gujarat, India. *Asian Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 11*(3), 255–267. https://doi.org/10.9734/ajsspn/2025/v11i3569

34. Rhoades, J. D. 1996. Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. In Soil Science Society of America book series (pp. 417–435). https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c14

35. Römheld, V., and Marschner, H. 1986. Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses. *Plant physiology, 80*(1), 175–180. https://doi.org/10.1104/pp.80.1.175

36. Santos, C. S., Rodrigues, E., Ferreira, S., Moniz, T., Leite, A., Susana, Vasconcelos, M. W., and Rangel, M. 2021. Foliar application of 3-hydroxy-4-pyridinone Fe-chelate [Fe(mpp) 3] induces responses at the root level amending iron deficiency chlorosis in soybean. Physiologia Plantarum. https://doi.org/10.1111/ppl.13367

37. Shambhavi, S., Padbhushan, R., Sharma, S. P., and Sharma, S. K. 2016. Dynamics of iron under long-term application of chemical fertilizers and amendments on maize-wheat cropping sequence. *Journal of Plant Nutrition, 39*(6), 804–819. https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1143493

38. Shinta, Y. C., Zaman, B., and Sumiyati, S. 2021. Citric Acid and EDTA as chelating agents in phytoremediation of heavy metal in polluted soil: a review. IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science, 896*(1), 012023. https://doi.org/10.1088/1755-1315/896/1/012023

39. Singh, A., Pankaczi, F., Rana, D., May, Z., Tolnai, G., and Fodor, F. 2023. Coated hematite nanoparticles alleviate iron deficiency in cucumber in acidic nutrient solution and as foliar spray. *Plants, 12*(17), 3104. https://doi.org/10.3390/plants12173104

40. Souri, M. K. 2015. Chelates and aminochelates, and their role in plant nutrition. Tehran, Iran: Agriculture Education and Extension Press. (In Persian). 172 pp.

41. Souri, M. K. 2016. Aminochelate fertilizers: the new approach to the old problem; a review. *Open Agriculture, 1*(1), 118–123. https://doi:10.1515/opag-2016-0016

42. Souri, M. K., and Hatamian M. 2018. Aminochelates in plant nutrition: a review, *Journal of Plant Nutrition, 42*(1), 67–78. https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1549671

43. Sposito, G., Lund, L. J., and Chang, A. C. 1982. Trace Metal Chemistry in Arid-zone Field Soils Amended with Sewage Sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in Solid Phases. *Soil Science Society of America Journal, 46*(2), 260–264. https://doi.org/10.2136/sssaj1982.03615995004600020009x

44. Subramani, M., Jawahar Durairaj, Chitdeshwari Thiyagarajan, and Jagadesh Muthumani. 2021. Synthesis of iron chelates for remediation of iron deficiency in an alkaline and calcareous soil. *Journal of Applied and Natural Science, 13*(SI), 149–155. https://doi.org/10.31018/jans.v13isi.2818

45. Tessier, A., Campbell, P.G.C., and Bission, M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate traces metals. *Analytical chemistry, 51*, 844-851. https://doi.org/10.1021/ac50043a017

46. Violante, A., Cozzolino, V., Perelomov, L., Caporale, A. G., and Pigna, M. 2010. Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 10*(3). https://doi.org/10.4067/s0718-95162010000100005

47. Walkley, A. 1947. A Critical Examination of a Rapid Method for Determining Organic Carbon in Soils: Effect of Variations in Digestion Conditions and of Inorganic Soil Constituents. *Soil Science, 63*, 251-264. http://dx.doi.org/10.1097/00010694-194704000-00001

48. Wolf, B. 1982. A comprehensive system of leaf analyses and its use for diagnosing crop nutrient status. *Communications in Soil Science and Plant Analysis, 13*(12), 1035–1059. https://doi:10.1080/00103628209367332

49. Zaheer, I. E., Ali, S., Saleem, M. H., Imran, M., Alnusairi, G. S. H., Alharbi, B. M., Riaz, M., Abbas, Z., Rizwan, M., and Soliman, M. H. 2020. Role of iron–lysine on morpho-physiological traits and combating chromium toxicity in rapeseed (Brassica napus L.) plants irrigated with different levels of tannery wastewater. *Plant Physiology and Biochemistry, 155*, 70–84. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.07.034