

Effect of Fe Aminochelates and FeSO₄ Fertigation on the Distribution of Fe Chemical Fractions in the Soil Solid Phase and Fe Concentration in Sunflower

M. Alipour Babadi^{1*}, M. Norouzi Masir¹, A. Moezzi¹, A. Rahnama Ghahfarokhi², M. Taghavi Zahedkolaei³

1- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

(*- Corresponding Author Email: m-alipour_babadi@stu.scu.ac.ir)

2- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3- Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 20 July 2025

Revised: 10 October 2025

Accepted: 02 November 2025

Available Online: 02 November 2025

How to cite this article:

Alipour Babadi, M., Norouzi Masir, M., Moezzi, A., Rahnama Ghahfarokhi, A., & Taghavi Zahedkolaei, M. (2025). Effect of fertigation-applied iron (Fe) aminochelates and FeSO₄ on the distribution of Fe chemical fractions in the soil solid phase and Fe concentration in sunflower. *Journal of Water and Soil*, 39(4),. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/jsw.2025.94536.1491>

Introduction

Iron (Fe) is an essential micronutrient that plays a vital role in various plant metabolic processes. However, in calcareous soils with high pH, the availability of Fe is greatly limited due to its precipitation into insoluble forms, resulting in Fe deficiency and reduced crop yields. This limitation highlights the need for alternative strategies to enhance Fe uptake efficiency in plants. Recent studies suggest that Fe aminochelates (complexes of Fe with organic ligands such as amino acids) can significantly improve Fe availability and uptake in alkaline soils. Fe deficiency is especially problematic in arid and semi-arid regions, where calcareous soils dominate and conventional Fe fertilizers, such as FeSO₄, are often ineffective due to rapid oxidation and fixation of Fe³⁺. Insufficient Fe availability disrupts chlorophyll synthesis, enzyme activity, and overall photosynthetic efficiency, which ultimately affects plant growth, biomass accumulation, and nutritional quality. Therefore, improving Fe acquisition through more stable and bioavailable sources is crucial for sustainable crop production. Among various synthetic and natural Fe sources, Fe aminochelates have drawn attention because of their stability, solubility, and ability to resist precipitation in high-pH environments. By forming soluble Fe–amino acid complexes, these chelates enhance Fe translocation within plant tissues and promote physiological functions even under Fe-limiting conditions. Given this potential, the present study was conducted with the following objectives: (i) to evaluate the effect of fertigation application with Fe aminochelates and FeSO₄ on the distribution of Fe chemical fractions in the solid phase of calcareous soil, (ii) to analyze the correlation between soil Fe fractions and Fe content/uptake in sunflower (*Helianthus annuus* L. cv. Oscar), and (iii) to establish a comparative efficacy framework for Fe sources in calcareous soil-plant systems under fertigation management.

Materials and Methods

A field experiment was carried out using a randomized complete block design (RCBD) with three replications. The treatments included: (1) control (without any Fe fertilizer), (2) FeSO₄ at 20 kg ha⁻¹, (3) Fe-glycine [Fe (Gly)₂] aminochelate at 4 L ha⁻¹, and (4) Fe-methionine [Fe(Met)₂] aminochelate at 4 L ha⁻¹. Fertilizers were applied through irrigation (fertigation). At the end of the growing season, soil samples were



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jsw.2025.94536.1491>

collected and analyzed for pH, DTPA-extractable Fe, and Fe chemical forms in the solid phase using the modified Tessier sequential extraction method. The measured Fe fractions included exchangeable (EXC-Fe), organically bound (ORG-Fe), carbonate-bound (CAR-Fe), Fe/Mn oxide-bound (OX-Fe), and residual (RES-Fe). Additionally, Fe concentration in sunflower seeds and leaves and also seed Fe uptake were quantified.

Results and Discussion

Application of Fe aminochelates significantly affected Fe dynamics in the soil and improved Fe nutrition of plants. Both $[\text{Fe}(\text{Gly})_2]$ and $[\text{Fe}(\text{Met})_2]$ treatments resulted in a significant decrease in soil pH compared to the control and FeSO_4 , which likely enhanced Fe solubility. The DTPA-extractable, relative to the control, Fe content increased by 28.5% and 35.2% in $[\text{Fe}(\text{Gly})_2]$ and $[\text{Fe}(\text{Met})_2]$ treatments, respectively. These treatments also increased seed Fe concentration by 5.1% and 7.5%, and seed Fe uptake by 66.6% and 86.7%, respectively. The distribution of Fe chemical fractions in the soil followed the order: residual > Fe/Mn oxides > carbonate-bound > organically bound > exchangeable. Fe aminochelates, especially $[\text{Fe}(\text{Met})_2]$, significantly enhanced the relative proportion of EXC-Fe and ORG-Fe while decreasing the proportion of CAR-Fe compared to both control and FeSO_4 . Furthermore, DTPA-extractable Fe exhibited strong positive correlations with EXC-Fe ($r = 0.87^{**}$) and ORG-Fe ($r = 0.84^{**}$) fractions. Among the different forms, EXC-Fe ($r = 0.72^{**}$) and ORG-Fe ($r = 0.69^{**}$) showed significant positive correlations with seed Fe concentration, indicating their critical role in Fe bioavailability and plant uptake. These findings support the hypothesis that $[\text{Fe}(\text{Met})_2]$, due to its greater stability and chelation strength, improves Fe mobilization and provides a renewable pool of bioavailable Fe in the soil system. Thus, Fe aminochelates can contribute to improved nutrient acquisition and enhanced crop quality under Fe-deficient calcareous conditions.

Conclusion

This study confirms the superior efficacy of Fe aminochelates, particularly $[\text{Fe}(\text{Met})_2]$, over conventional FeSO_4 in enhancing Fe bioavailability in nutrient-deficient, calcareous soils. The significant shift in Fe fractions towards more labile pools (EXC-Fe and ORG-Fe) and the strong correlations between these pools and plant Fe uptake underscore the potential of aminochelates to create a more plant-available Fe reservoir. Therefore, the use of Fe aminochelates represents a viable and efficient strategy to correct Fe deficiency and improve crop nutritional quality in calcareous soils, contributing to more sustainable micronutrient management practices.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Research council of Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran for the financial support of this research (grant number: SCU.AS1401.26962).

Keywords: Aminochelates, Available iron, Iron uptake, Sequential extraction, Sunflower

تأثیر کاربرد کودآبیاری آمینوکلات‌های آهن و سولفات آهن بر توزیع شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک و غلظت آهن در آفتابگردان

مینا عالی پور بابادی^{۱*} - مجتبی نوروزی مصیر^۱ - عبدالامیر معزی^۱ - افراسیاب راهنما قهفرخی^۲ - مهدی تقوی زاهد کلانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۱۱

چکیده

کشت گیاه در خاک‌های آهنی دچار کمبود آهن (Fe)، نیازمند استراتژی‌های نوین مدیریت عناصر غذایی، به‌ویژه غنی‌سازی زیستی آهن است. این مطالعه با هدف بررسی شکل‌های شیمیایی مختلف آهن در فاز جامد خاک و همبستگی آنها با غلظت و جذب آهن در گیاه آفتابگردان (رقم اسکار) انجام شد. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار در شرایط مزرعه انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل کود آبیاری آمینوکلات گلیسین - آهن $[Fe (Gly)_2]$ (۴ لیتر در هکتار)، آمینوکلات متیونین - آهن $[Fe (Met)_2]$ (۴ لیتر در هکتار)، کود سولفات آهن (به مقدار ۲۰ کیلوگرم در هکتار) و تیمار شاهد (بدون کود) بود. پس از اتمام دوره کشت، pH خاک، غلظت آهن قابل استفاده در خاک و غلظت آهن در برگ و دانه گیاه اندازه‌گیری شد. جهت تعیین غلظت شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک، از روش عصاره‌گیری متوالی استفاده شد. نتایج نشان داد آمینوکلات‌های گلیسین - آهن و متیونین - آهن به‌طور معنی‌داری pH خاک را کاهش داده و به‌ترتیب موجب افزایش غلظت آهن قابل استفاده خاک (۳۵/۲ و ۲۸/۵ درصد افزایش)، غلظت آهن دانه (۵/۱ و ۷/۵ درصد افزایش) و جذب آهن دانه (۶۶/۶ و ۸۶/۷ درصد افزایش) نسبت به تیمار شاهد شدند. آمینوکلات‌های آهن به‌ویژه متیونین - آهن سبب افزایش معنی‌دار غلظت آهن به فرم تبادل و متصل به ماده آلی و کاهش غلظت آهن کربناتی نسبت به تیمار سولفات آهن و شاهد در فاز جامد خاک شدند. آهن قابل استفاده با اجزای تبدلی و متصل به ماده آلی (به‌ترتیب $r^{**} = 0.87$ و $r^{**} = 0.84$) همبستگی مثبت معنی‌داری نشان داد. همچنین از بین شکل‌های شیمیایی آهن، آهن تبدلی ($r^{**} = 0.72$) و آهن متصل به ماده آلی ($r^{**} = 0.69$) با غلظت آهن دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشتند که بیانگر نقش مؤثر این شکل‌ها در تغذیه آهن گیاه بود. یافته‌های این مطالعه حاکی از آن است که استفاده از آمینوکلات‌های آهن در قالب روش کودآبیاری، با بهبود ویژگی‌های شیمیایی خاک، موجب افزایش فراهمی زیستی آهن شده و در نتیجه نقش مؤثری در ارتقاء وضعیت تغذیه‌ای گیاه آفتابگردان تحت شرایط کمبود آهن ایفا می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، آمینوکلات، آهن قابل استفاده، جذب آهن، عصاره‌گیری متوالی

مقدمه

بوده و کودها نقشی حیاتی در رفع کمبود عناصر غذایی ایفا می‌کنند (McConnell et al., 2023). با توجه به وضعیت فعلی روند تخریب اراضی کشاورزی و نیز فراگیری گرسنگی پنهان ناشی از کمبود عناصر غذایی در خاک، اهداف توسعه پایدار (SDG^۴) تا سال ۲۰۳۰ محقق نخواهد شد (Denning, 2025). این چالش به‌ویژه در خاک‌های آهنی که بخش قابل‌توجهی از زمین‌های کشاورزی جهانی را تشکیل می‌دهند، مشهود است؛ زیرا دسترسی عناصر غذایی به‌ویژه آهن اغلب به‌دلیل حلالیت کم در سطوح pH بالا و نیز وجود مقادیر

توانایی کشاورزی مدرن در تأمین امنیت غذایی یک مسئله جهانی

۱- گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(*)- نویسنده مسئول: Email: alipour_babadi@stu.scu.ac.ir

۲- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

<https://doi.org/10.22067/jsw.2025.94536.1491>

زیادی از کربنات‌ها و بی‌کربنات‌ها محدود است (Ning et al., 2023; Naeem et al., 2023). هنگامی که pH خاک از ۸/۵ تجاوز کند، آهن عمدتاً به شکل کربنات آهن نامحلول در فاز جامد خاک وجود دارد (Huei-hsuan & Wolfgang, 2020). در این شرایط، حلالیت آهن به دلیل تمایل آن به تشکیل ترکیبات اکسی هیدروکسید، هیدروکسید و اکسیدی محدود بوده که سبب کاهش قابلیت دسترسی آن برای گیاه می‌شود (Priyadarshini et al., 2019). آهن به دلیل عملکردهای حیاتی آن در فرآیندهای مختلف فیزیو-بیوشیمیایی گیاه با افزایش رشد، متابولیسم و مورفولوژی گیاه مرتبط است (Tripathi et al., 2018; González et al., 2019; et al., 2018). علاوه بر این، آهن نقش مهمی در تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و نیز فرآیندهای متابولیک سلولی، از جمله فتوسنتز، تثبیت نیتروژن، بیوسنتز مولکول‌های کلروفیل و سنتز متالوپروتئین‌ها ایفا می‌کند (Liu et al., 2014; Santos et al., 2019; Marschner, 2012). گیاهان دارای کمبود آهن واکنش اکسیداسیون و فعالیت آنزیمی کمتری دارند (Shambhavi et al., 2016).

حلالیت آهن در خاک و جذب آن توسط ریشه گیاه تا حد زیادی به pH، شرایط اکسیداسیون و احیا خاک و شکل آهن محلول بستگی دارد (Azadi et al., 2021). همچنین توزیع اشکال شیمیایی مختلف آهن در خاک، بسته به ویژگی‌های خاک، متفاوت بوده و می‌تواند بر جذب آن توسط گیاه تأثیر بگذارد. روش‌های استخراج متوالی، اغلب برای درک شیمی عناصر غذایی نظیر آهن و تعامل آنها با سایر اجزای خاک مانند کانی‌های رسی، مواد آلی و محلول خاک، و نیز جهت ارزیابی تحرک و حلالیت آنها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Shambhavi et al., 2016). مطالعات اشکال شیمیایی آهن در خاک، معمولاً آهن را به بخش‌های قابل تبادل، پیوند شده با مواد آلی، متصل به کربنات‌ها، متصل به اکسیدها و بخش‌های باقی‌مانده تقسیم‌بندی می‌کنند (Tessier et al., 1979). توزیع آهن در بین این بخش‌ها، تحرک و قابلیت دسترسی آن برای جذب توسط گیاه را تعیین می‌کند (Uren, 1984). شکل‌های محلول و قابل تبادل آهن، نسبت به اجزای باقیمانده و متصل به کربنات‌ها و اکسیدها در خاک قابلیت جذب بیشتری برای گیاه دارند (Xian, 1989). با توجه به نوع خاک و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن شکل غالب آهن قابل جذب به‌عنوان منبع اصلی آهن برای گیاه متفاوت است. در مطالعات مختلف منبع آهن ترکیب شده با مواد آلی خاک (Wei et al., 2010; Colombo et al., 2014) و یا آهن تبدلی (Young et al., 2006)، به‌عنوان منابع اصلی آهن قابل جذب برای گیاه گزارش شده‌اند، با این وجود آهن تبدلی به‌دلیل مقادیر کم آن، سهم اندکی از مقدار کل آهن قابل جذب محسوب می‌شود (Wei et al., 2010).

بنابراین درک پویایی شکل‌های شیمیایی مختلف آهن برای بهینه‌سازی استراتژی‌های کوددهی آهن و بهبود تغذیه آهن در گیاه

بسیار حائز اهمیت است. استفاده طولانی‌مدت از کود شیمیایی آهن مانند سولفات آهن سبب تشکیل ترکیبات غیر محلول آهن در خاک شده و کارایی مناسب را در رفع علائم کمبود آهن در گیاه نخواهد داشت (Ning et al., 2023; Nikolic et al., 2018). در مقابل، کودهای آلی خاک نه تنها دارای محتوای آهن بالا، عملکرد پایدار و عمدتاً محلول در آب هستند، بلکه می‌توانند مقدار ماده آلی خاک را افزایش داده و سبب حفظ اثربخشی عناصر غذایی خاک، بهبود ظرفیت انتقال آهن در گیاه و افزایش جذب آهن توسط گیاه شوند (Ren et al., 2025). از این رو، استفاده از یک روش جایگزین نظیر کاربرد آمینوکلات‌های آهن، به‌عنوان کودهایی با بنیان آلی، فرمولاسیون نوین و کارایی بالا بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Souri & Hatamian, 2018; Ghasemi et al., 2014). آمینوکلات‌های آهن حلالیت و دسترسی زیستی آهن را با تشکیل کمپلکس‌های پایدار با یون‌های آهن، جلوگیری از رسوب و تسهیل جذب توسط گیاهان افزایش می‌دهند (Fernández & Ebert, 2005). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که استفاده از آمینوکلات‌های آهن در گیاهان مختلف می‌تواند به بهبود جذب آهن و عملکرد گیاه، حتی در خاک‌های آهکی، منجر شود. به‌عنوان مثال، سوری و همکاران (Souri et al., 2018) گزارش کردند که کاربرد خاکی و محلول پاشی آمینوکلات گلايسين-آهن سبب افزایش معنی‌دار غلظت آهن برگ و بهبود شاخص‌های کیفیت غلاف در لوبیا شد. به‌طور مشابه، ظهیر و همکاران (Zaheer et al., 2020) گزارش کردند که کاربرد آمینوکلات لیزین-آهن حتی در حضور عوامل محدودکننده دسترسی آهن، موجب بهبود رشد و افزایش غلظت آهن جذب‌شده در بافت‌های گیاه اسفناج شد. از سوی دیگر، آمینوکلات‌ها در مقایسه با کلات‌های آلی مصنوعی نظیر Fe-EDTA و Fe-EDDHA زیست تخریب‌پذیرتر و سازگار با محیط‌زیست هستند (Santos et al., 2020). استفاده از کلات‌های مصنوعی می‌تواند همراه با معایبی مانند بقایای لیگاند آزاد، احتمال حرکت یون‌های فلزات سنگین و کاهش زیست‌پایداری باشد؛ درحالی‌که انواع لیگاندهای طبیعی، اگرچه ممکن است پایداری کاملاً مشابهی نداشته باشند، در کوتاه‌مدت عملکرد قابل قبولی داشته و اثرات منفی زیست‌محیطی کمتری ایجاد می‌کنند (Nadal et al., 2015; López-Rayó et al., 2012). با وجود مطالعات گسترده بر روی کلات‌های مصنوعی، شواهد محدودی درخصوص رفتار کلات‌های آلی با بنیان اسیدهای آمینه (آمینوکلات‌ها) در خاک‌های آهکی با pH و کربنات بالا و رقابت یونی شدید وجود دارد. اغلب پژوهش‌های پیشین بر پاسخ گیاه به تغذیه آهن تمرکز داشته و یا صرفاً به بررسی آهن محلول یا قابل استخراج پرداخته‌اند. با این حال، بررسی جامع توزیع شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک (مانند آهن قابل تبادل، متصل به کربنات‌ها و مواد آلی، اکسیدی و

قرمز با استفاده از دستگاه FT-IR^۱ مدل 8400 Shimadzu در دامنه 4000 cm^{-1} تا 400 cm^{-1} با صفحه KBr انجام شد (جدول ۳). همچنین تجزیه عنصری آمینوکلات‌ها با استفاده از دستگاه elemental analyzer مدل Perkin-Elmer 2400 انجام شد (جدول ۴).

آزمایش مزرعه‌ای

قبل از انجام آزمایش جهت تعیین ویژگی‌های خاک مورد مطالعه، ابتدا نمونه خاک از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری به صورت مرکب انتخاب و پس از هوا خشک شدن از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. بافت خاک به روش هیدرومتری (Rhoades, 1996)، هدایت الکتریکی و pH در سوسپانسیون ۱:۲/۵ خاک: آب، کربن آلی به روش اکسیداسیون تر (Walkley, 1947)، کربنات کلسیم به روش خنثی‌سازی با اسید کلریدریک و تیتراسیون برگشتی با هیدروکسید سدیم (Elfaki, 2016)، فسفر قابل دسترس به روش اولسن (Olsen & Sommers, 1982)، پتاسیم قابل تبادل با استفاده از استات آمونیوم و نیتروژن به روش کجلدال (Bremner & Mulvaney, 1982) تعیین شد. برای اندازه‌گیری آهن قابل استفاده از محلول DTPA-TEA (۵ میلی‌مولار) استفاده شد و غلظت آهن در عصاره به وسیله دستگاه جذب اتمی PerkinElmer مجهز به کوره گرافیتی (مدل AAAnalyst 800) تعیین شد (Hossner, 1996). با توجه به نتایج حاصل از تجزیه ویژگی‌های شیمیایی خاک، غلظت آهن قابل استفاده (عصاره‌گیری شده با DTPA) برابر با ۴/۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد. بر اساس گزارش جلالی و همکاران (Jalali et al., 2022)، این مقدار کمتر از حد بحرانی ۶/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم است که نشان‌دهنده کمبود آهن در خاک‌های آهکی غرب ایران است (جدول ۱).

پس از انجام عملیات خاک‌ورزی در مزرعه، هر کرت آزمایشی مشتمل بر ۳ خط کاشت ۳ متری با فاصله ۶۰ سانتی‌متر بین ردیف کاشت و فاصله بذر روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر (تراکم بوته حدود ۸۰۰۰ در هکتار) در نظر گرفته شد. بر اساس نتایج آزمون خاک، مقدار عناصر فسفر و پتاسیم محلول خاک بیش از حدود بحرانی بوده، بنابراین با توجه به نیاز کودی گیاه، تنها مدیریت کودی نیتروژن به فرم کود اوره (۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) به صورت سرک در دو مرحله (ابتدای کشت و سه هفته پس از کشت) انجام شد. اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت دانه آفتابگردان و آبیاری‌های بعدی تا استقرار کامل مزرعه هر پنج روز یکبار انجام شد. همچنین پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها عملیات تنک و نیز کنترل علف‌های هرز (در طول مراحل رشد) به صورت دستی انجام شد.

باقی‌مانده) و ارتباط آن با جذب گیاه، به‌ویژه در حضور آمینوکلات‌های آهن، تاکنون انجام نشده است. بنابراین این مطالعه با هدف بررسی توزیع شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک و همبستگی آن با غلظت و جذب آهن در گیاه آفتابگردان تحت تأثیر کود آبیاری آمینوکلات‌های آهن در خاک آهکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش

این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز با موقعیت جغرافیایی $32^{\circ}22'$ درجه شمالی و $48^{\circ}07'$ درجه شرقی، ارتفاع ۲۲ متر از سطح دریا و میانگین بارش سالیانه ۲۱۳ میلی‌متر صورت گرفت. در این آزمایش تأثیر کود آبیاری آمینوکلات‌های آهن و کود سولفات آهن بر شکل‌های شیمیایی مختلف آهن در فاز جامد خاک و میزان غلظت و جذب آهن در گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم اسکار مورد بررسی قرار گرفت. بذر آفتابگردان از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. تیمارهای آزمایش شامل آمینوکلات‌های گلايسين-آهن و متيونين-آهن، کود شیمیایی سولفات آهن ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) و تیمار شاهد (بدون کود) بود.

آماده‌سازی و مشخصه‌یابی آمینوکلات‌های آهن

کمپلکس‌های اسید آمینه-آهن با استفاده از دو اسید آمینه گلايسين (Glycine) و متيونين (Methionine) به‌عنوان لیگاند با درصد خلوص ۹۹ درصد (Merck) تهیه شدند. سپس اسیدهای آمینه به‌صورت جداگانه با نمک سولفات آهن ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) با نسبت مولاری ۲ به ۱ مخلوط شده و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت روی صفحه داغ همزده و تقطیر شدند. در طول واکنش، یون سولفات (SO_4^{2-}) موجود در $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ با کلسیم اضافه‌شده به‌صورت کربنات کلسیم (CaCO_3) واکنش داده و رسوب سولفات کلسیم (CaSO_4) تشکیل شد، که به‌صورت جامد از محیط واکنش جدا گردید. پس از تبخیر حلال، آمینوکلات‌های گلايسين-آهن [$\text{Fe}(\text{Gly})_2$] و متيونين-آهن [$\text{Fe}(\text{Met})_2$] به فرم میکروکریستال حاصل شده، که پس از شستشو با اتانول ۹۵ درصد و حذف یون سولفات باقی‌مانده، هوا خشک و جمع‌آوری شدند (Ashmead et al., 2000). به‌منظور تعیین ویژگی‌های ساختاری آمینوکلات‌های آهن و تأیید تشکیل کمپلکس بین لیگاند آزاد و فلز آهن، طیف‌سنجی مادون

جدول ۱- ویژگی‌های خاک مورد مطالعه

Table 1- Characteristic of studied soil

ویژگی Property	مقدار Value
بافت Texture	لومی رسی Clay Loam
pH	7.7
هدایت الکتریکی EC (dS m ⁻¹)	3.8
کربن آلی Organic C (%)	0.35
کربنات کلسیم CaCO ₃ (%)	37.5
نیترژن کل Total N (%)	0.06
فسفر قابل دسترس P _{ava} (mg kg ⁻¹)	16
پتاسیم قابل دسترس K _{EXC} (mg kg ⁻¹)	275
آهن قابل استخراج با DTPA DTPA-extractable Fe (mg kg ⁻¹)	4.15

تیمارهای کودی شامل آمینوکلات گلايسين- آهن و آمینوکلات متیونین- آهن هر کدام به مقدار ۴ لیتر در هکتار و کود شیمیایی سولفات آهن به مقدار ۲۰ کیلوگرم در هکتار بودند که به روش کودآبیاری در سه نوبت (مرحله چهاربرگی، ظهور طبق، و پرشدن دانه) به خاک اعمال شدند. دوز مصرفی کودها بر اساس توصیه‌های رایج تغذیه‌ای برای شرایط خاک‌های آهکی ایران (Malakouti & Kianoush, 2001) و متناسب با شکل فیزیکی و غلظت آهن هر منبع انتخاب گردید. پس از اتمام دوره رشد (۱۲۰ روز) و رسیدگی فیزیولوژیکی، گیاه آفتابگردان با در نظر گرفتن اثرات حاشیه‌ای ردیف-

های کناری برداشت شد. سپس نمونه‌های گیاهی در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد. سپس دانه‌های آفتابگردان به دقت از طبق جدا شده و توزین شدند. جهت تعیین غلظت کل آهن در برگ و دانه گیاه از روش هضم خشک و دستگاه جذب اتمی PerkinElmer (مدل AAnalyst 800) استفاده شد (Huang et al., 2021; Wolf, 1982).

تعیین شکل‌های شیمیایی آهن

پس از برداشت گیاهان، بلافاصله خاک نزدیک ریشه از هر ردیف کشت نمونه‌برداری و یک نمونه مرکب برای هر کرت آزمایشی تهیه، هوا خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. سپس مقدار آهن قابل استفاده خاک توسط DTPA توسط دستگاه جذب اتمی قرائت گردید (Hossner, 1996). جهت بررسی توزیع شکل‌های مختلف آهن در اثر کاربرد منابع کودی آهن از روش تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) استفاده شد (جدول ۲). همچنین جهت ارزیابی کارایی روش استخراج دنباله‌ای و کنترل دقت نتایج حاصل از آن، درصد بازیابی آهن برای هر تیمار با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (Sposito et al., 1982):

$$(۱) \quad \text{بازیابی درصد} = \frac{\text{مرحله ۱} + \text{مرحله ۲} + \text{مرحله ۳} + \text{مرحله ۴} + \text{مرحله ۵}}{\text{غلظت کل}}$$

که در آن:

مرحله ۱: آهن در بخش تبادل 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.

جدول ۲- خلاصه روش عصاره‌گیر دنباله‌ای

Table 2- Summary of the sequential extraction method

مرحله Step	شکل شیمیایی عنصر Chemical fractions	عصاره گیر Extractant	درجه حرارت Temperature (°C)	اسیدی ته pH	زمان 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 اکسید آهن- منگنز Oxide Fe-Mn- bound	NH ₂ OH-HCl, 0.04M	96	2	6
4	متصل به ماده آلی Organic bound	H ₂ O ₂ , 30%	85	2	3
5	باقی مانده Residual	HNO ₃ -HCl	120	-	3

تحلیل‌های آماری

تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار RStudio نسخه (12.1+402, 2023) صورت گرفت. به‌منظور انجام مقایسات میانگین از آزمون چند مرحله‌ای Tukey's HSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. ضرایب همبستگی پیرسون بین میزان آهن در گیاه و آهن قابل استفاده خاک با شکل‌های شیمیایی آهن در خاک و همچنین مدل‌های رگرسیون چندمتغیره به‌منظور برآورد جذب و غلظت آهن گیاه به کمک شکل‌های شیمیایی در فاز جامد خاک با استفاده از نرم‌افزار RStudio نسخه (12.1+402, 2023) انجام شد. ترسیم شکل‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار OriginPRO نسخه (v.10.2, 2025) انجام شد.

نتایج و بحث

مشخصه‌یابی آمینوکلات‌های آهن

به‌منظور تأیید تشکیل کمپلکس‌های اسید آمینه-آهن، طیف‌های IR آنها در منطقه $4000-400\text{ cm}^{-1}$ شناسایی شد (جدول ۳). فرکانس‌های غالب (بیشترین مکان‌های پیوند) برای کمپلکس‌های اسید آمینه-آهن با ارتعاشات $\nu(\text{NH}_2)$ $\nu(\text{C=O})$ $\nu(\text{COO}^-)$ و $\nu(\text{C-N})$ همراه است (جدول ۳). هر اسید آمینه به‌صورت دو دندانه‌ای (اتم اکسیژن و نیتروژن) به فلز آهن متصل شده و گروه‌های عاملی $(\text{C}=\text{O})$ با ملکول آب شبکه پیوند هیدروژنی دارند و همچنین پیوند ضعیفی با کمپلکس مجاور حاوی فلز آهن تشکیل می‌دهند. به‌طور کلی، ظهور پیک‌های واضح در محدوده

۳۳۴۲ تا 3477 cm^{-1} برای گروه‌های NH_2 - نشان‌دهنده‌ی وجود پیوندهای ارتعاشی در کلات‌های آلی با یون آهن می‌باشد. ارتعاش گسترده در این ناحیه از طیف، حاکی از برهمکنش بین مولکولی ترکیبات در حالت جامد و کمپلکس شدن اسید آمینه با یون آهن است. همچنین وجود ارتعاشات غالب در محدوده 1629 تا 1658 cm^{-1} برای گروه‌های (C=O) نشان‌دهنده این است که پیوند یون آهن با لیگاند اسید آمینه از طریق اتم کربوکسیل اتفاق می‌افتد. به‌طور کلی داده‌ها نشان می‌دهد که گروه‌های آمین و کربوکسیلات در پیوند اسیدهای آمینه با یون آهن در کمپلکس‌ها نقش دارند. داده‌های مربوط به مشخصه‌یابی آمینوکلات‌های گلايسين-آهن و متيونين-آهن در جدول ۴ نیز نشان دهنده تطابق ویژگی‌های اسپکتروسکوپی و نظری آمینوکلات‌ها با یکدیگر است. عملکرد آمینوکلات‌ها به ترتیب برای گلايسين-آهن و متيونين-آهن ۸۸ و ۸۷ درصد بود و نتایج تحلیل نشان داد که خلوص محصولات واکنش در محدوده‌ی مورد انتظار فرمول مولکولی محاسبه‌شده قرار دارد (جدول ۴). بر اساس استوکیومتری و فرمول پیشنهادی ML_2 (یک اتم آهن در محاصره دو لیگاند اسیدآمینه)، درصد نظری آهن در آمینوکلات‌های سنتزی حدود $27/1$ درصد برای گلايسين-آهن و $15/8$ درصد برای متيونين-آهن برآورد شد (با فرض ناخالصی تقریبی ۵ درصد مقادیر عملی به‌ترتیب $25/8 \sim$ و $15/0 \sim$ درصد در نظر گرفته شدند) (جدول ۴). این مقادیر محاسبه‌شده به‌عنوان مرجع نظری ارائه شده‌اند؛ اندازه‌گیری مستقیم درصد آهن (با تجهیزات ICP-OES/AAS) برای تأیید دقیق‌تر خلوص محصول در مطالعات آینده توصیه می‌شود.

جدول ۳- باندهای IR (cm^{-1}) انتخابی آمینوکلات‌های گلايسين-آهن $[\text{Fe}(\text{Gly})_2]$ و متيونين-آهن $[\text{Fe}(\text{Met})_2]$

Table 3- Selected IR bands (cm^{-1}) of $[\text{Fe}(\text{Gly})_2]$ and $[\text{Fe}(\text{Met})_2]$ aminochelates

آمینوکلات Aminochelate	$\nu(\text{NH}_2)$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu_{\text{as}}(\text{C-O})$	$\nu(\text{C-N})$	$\nu_s(\text{COO}^-)$	$\nu(\text{Fe-O})$
گلايسين-آهن $[\text{Fe}(\text{Gly})_2]$	3342.0	1658.5	1525.2	1020.1	1386.4	460.2
متيونين-آهن $[\text{Fe}(\text{Met})_2]$	3477.3	1629.5	1531.1	1168.5	1344.2	530.1

جدول ۴- ویژگی‌های ساختاری آمینوکلات‌های آهن

Table 4- 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	
گلايسين-آهن $[\text{Fe}(\text{Gly})_2]$	$\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{Fe}$	213.50	0.188 g (88%)	22.39 (22.50)	3.91 (3.75)	13.04 (13.12)	27.1 (25.8)
متيونين-آهن $[\text{Fe}(\text{Met})_2]$	$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2\text{Fe}$	352.26	0.306 g (87%)	34.00 (34.07)	5.73 (5.68)	7.93 (7.95)	15.8 (15.0)

pH خاک

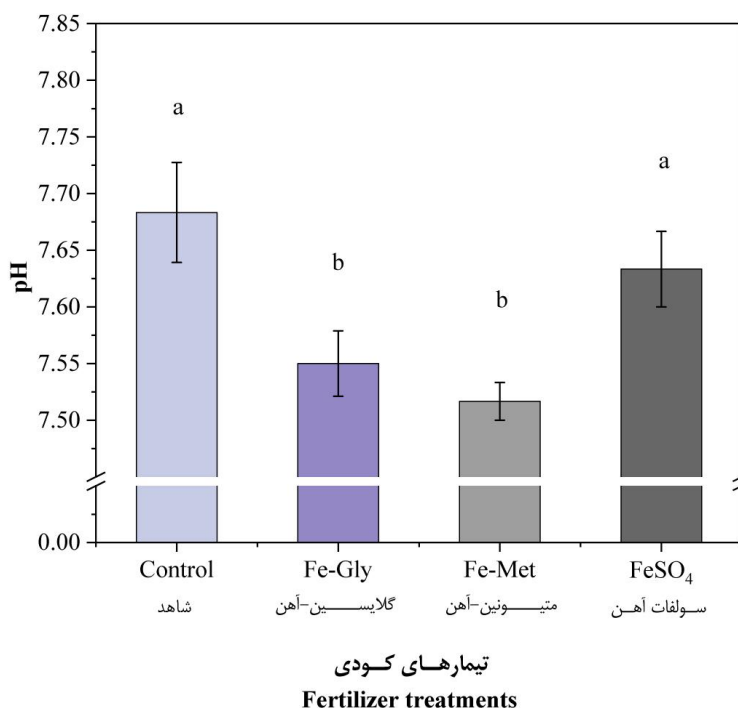
میانگین داده‌ها، کاربرد آمینوکلات‌های آهن سبب کاهش معنی‌دار pH خاک نسبت به تیمار شاهد شدند. تیمار آمینوکلات متیونین-آهن بیشترین تأثیر را بر کاهش pH خاک داشت (شکل ۱).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر کاربرد (به‌صورت کودآبیاری) آمینوکلات‌های آهن و کود سولفات آهن بر pH خاک معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$) (جدول ۵). مطابق با نتایج مقایسه

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر pH و غلظت آهن قابل استفاده در خاک
Table 5- 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 استفاده Available Fe
بلوک Block	2	0.01**	4.5×10^{-3} ns
تیمار Treatment	3	0.017**	1.38**
خطا Error	6	7.6×10^{-4}	3.3×10^{-3}
ضریب تغییرات C.V (%)	-	0.36	1.21

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 ۱- مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر pH خاک

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

Figure 1- Mean comparisons of the effect of treatments on soil pH

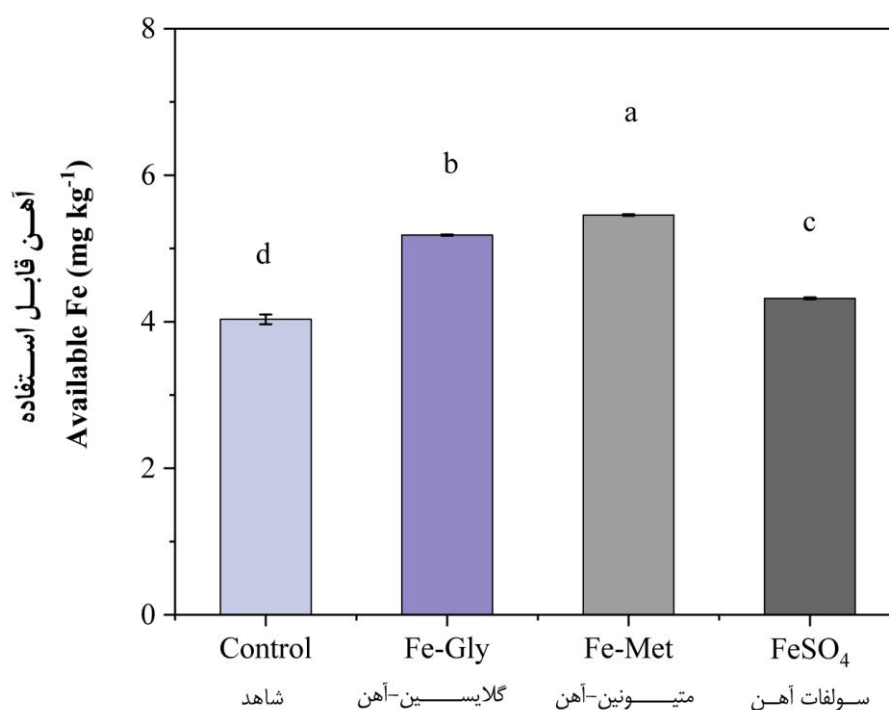
The same letters indicate non-significant difference according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

آهن قابل استفاده (Available Fe)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر کاربرد آمینوکلات‌های آهن و کود سولفات آهن بر غلظت آهن قابل استفاده خاک معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$) (جدول ۵). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد منابع مختلف آهن، سبب افزایش معنی‌دار غلظت آهن قابل استفاده خاک نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۲). تیمارهای آمینوکلات متیونین-آهن و آمینوکلات گلیسین-آهن، به ترتیب سبب افزایش ۳۵/۲ و ۲۸/۵ درصدی غلظت آهن قابل استفاده خاک نسبت به تیمار شاهد شدند. همچنین، کود سولفات آهن نیز سبب افزایش ۷/۱ درصدی غلظت آهن قابل استفاده خاک نسبت به تیمار شاهد شد. (شکل ۲).

غلظت آهن قابل استفاده در محلول خاک از pH خاک تبعیت می‌کند (شکل ۱). با کاهش pH خاک، و تبدیل Fe^{2+} به Fe^{3+} ، آهن به فرم محلول‌تر و قابل دسترس برای گیاه تبدیل می‌شود (Lindsay Marschner, 2012 & Schwab, 1982). مطالعات نشان داده‌اند

که در شرایط اسیدی و با پتانسیل اکسایش-کاهش (Eh) کمتر از ۰/۴ ولت، آهن به فرم Fe^{2+} تبدیل می‌شود که در خاک‌های کم‌عمق و خاک‌های شالیزاری رایج است (Colombo et al., 2018). بنابراین، اندازه‌گیری مستقیم Eh در خاک، طی مطالعات آینده می‌تواند به درک بهتر فرآیندهای شیمیایی و بیوشیمیایی مؤثر بر دسترسی آهن در خاک کمک کند. علاوه بر این، ویژگی‌های کلات‌کنندگی ترکیبات آلی نیز میزان حلالیت فلزات را در خاک تعیین می‌کنند (Rahman & Schoenau, 2022). حلالیت آهن در خاک به‌طور قابل توجهی با تشکیل کلات با لیگندهای آلی افزایش یافته که ماده آلی محلول یا سایر ماکرومولکول‌های محلول را با گروه‌های عاملی کربوکسیلیک تشکیل می‌دهند (Schwertmann & Taylor, 1989). به‌طور کلی، کاهش pH خاک سبب بهبود اثربخشی لیگندهای آلی نظیر اسیدهای آلی و یا کلات‌های اسید آمینه در تشکیل کمپلکس‌های آلی پایدار با آهن و افزایش دسترسی آن برای گیاه به‌ویژه در خاک‌های قلیایی و آهکی می‌شود (Molnár et al., 2023; Soury et al., 2018).



تیمارهای کودی

Fertilizer treatments

شکل ۲- مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر غلظت آهن قابل استفاده در 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 concentration of soil available Fe
The same letters indicate non-significant difference according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

کارایی و دقت روش عصاره‌گیری دنباله‌ای در خاک‌های آهکی ایران است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن تفاوت بین اثر تیمارهای کودآبیاری آمینوکلات‌های آهن بر غلظت شکل‌های آهن تبدلی، آهن متصل به ماده آلی و نیز آهن کربناتی در فاز جامد خاک بود ($p \leq 0.01$) (جدول ۶).

به طور کلی نتایج جزءبندی آهن نشان داد که مقادیر اجزای آهن تبدلی و آهن متصل به ماده آلی در خاک با کاربرد آمینوکلات‌های آهن به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۷). در بین تیمارها، بیشترین میزان آهن تبدلی مربوط به تیمار آمینوکلات متیونین-آهن بود که نسبت به تیمار شاهد، افزایش ۲/۵ برابری نشان داد. پس از آن تیمار آمینوکلات گلايسين-آهن نیز به طور معنی‌دار سبب افزایش ۹۳/۵ درصدی آهن تبدلی نسبت به شاهد شد. در مقابل، تیمار سولفات آهن تفاوت معنی‌داری با شاهد در میزان آهن تبدلی نشان نداد (جدول ۷).

در مورد آهن متصل به ماده آلی، تیمار آمینوکلات متیونین-آهن بیشترین غلظت را داشت و نسبت به شاهد افزایش بیش از ۲/۵ برابری نشان داد. تیمار آمینوکلات گلايسين-آهن نیز سبب افزایش ۷۰/۸ درصدی غلظت این جزء نسبت به شاهد شده، در حالی که تیمار سولفات آهن تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۷). در مقابل، کاربرد تیمارهای آمینوکلات متیونین-آهن و گلايسين-آهن به ترتیب سبب کاهش ۴۳/۹ و ۳۲/۰ درصدی غلظت آهن متصل به کربنات در مقایسه با شاهد شدند، در حالی که تیمار سولفات آهن، کمترین اختلاف در غلظت آهن کربناتی (معادل ۱۰/۹ درصد کاهش) را با شاهد نشان داد (جدول ۷).

آمینوکلات‌های آهن در خاک‌های قلیایی و آهکی پایداری بالایی از خود نشان داده و قابلیت دسترسی آهن را حفظ می‌کنند، در حالی که کلات‌های مصنوعی و کودهای شیمیایی سنتی ممکن است به دلیل رقابت با یون‌های کلسیم و منیزیم کارایی خود را از دست بدهند (Mirbolook et al., 2020; Ghasemi et al., 2012).

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

در این مطالعه تأثیر تیمارها بر غلظت شکل‌های شیمیایی آهن شامل: تبدلی، متصل به کربنات، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز، متصل به ماده آلی و باقی مانده، در خاک مورد بررسی قرار گرفت. همچنین نتایج به دست آمده از تعیین درصد بازیابی اشکال شیمیایی مختلف آهن در فاز جامد خاک، با استفاده از روش استخراج متوالی Tessier et al. (1979)، نشان دهنده بازه قابل توجه ۹۲/۱ تا ۹۴/۰ درصد برای تیمارهای کودآبیاری آمینوکلات‌های آهن و کود سولفات آهن بوده که حاکی از دقت روش استخراج و اندازه‌گیری شکل‌های شیمیایی آهن در این آزمایش است. بر اساس گزارش‌های تسیر و همکاران (Tessier et al., 1979) و اسپوسیتو و همکاران (Sposito et al., 1982)، درصد بازیابی آهن در روش استخراج متوالی در محدوده‌های مشابهی تأیید شده است. همچنین به منظور تقویت اعتبار استفاده از روش عصاره‌گیری دنباله‌ای تسیر در این پژوهش، می‌توان به نتایج مطالعه قریشی امیری و همکاران (Ghoreishi Amiri et al., 2020) اشاره کرد، که نشان داد بین شکل‌های مختلف آهن استخراج‌شده و آهن قابل استفاده (قابل استخراج با DTPA) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت؛ این یافته‌ها نشان‌دهنده

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر غلظت شکل‌های شیمیایی مختلف آهن در فاز جامد خاک

Table 6- 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				
		تبدلی Exchangeable	متصل به کربنات Carbonate-bound	متصل به اکسیدها Oxide-bound	متصل به ماده آلی Organic-bound	باقی مانده Residual
بلوک Block	2	1.0×10^{-3} ns	8.0×10^{-3} ns	14.3 ns	1.3×10^{-4} ns	11.0 ns
تیمار Treatment	3	0.25**	4.75**	1.88 ns	0.85**	0.22 ns
خطا Error	6	1.2×10^{-3}	0.03	44.2	4.4×10^{-3}	2.97
ضریب تغییرات C.V (%)	-	5.1	4.04	0.3	5.44	0.01

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.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر تیمارها بر غلظت شکل‌های شیمیایی مختلف آهن (میلی گرم بر کیلوگرم) در فاز جامد خاک
Table 7- Mean comparisons of the effect of treatments on concentration of different Fe chemical forms (mg kg⁻¹) in soil solid phase

تیمارهای کودی Fertilizer treatment	تبادلی Exchangeable	متصل به کربنات Carbonate-bound	متصل به ماده آلی Organic-bound
شاهد Control	0.41 ^c	6.30 ^a	0.76 ^c
گلایسین-آهن [Fe (Gly) ₂]	0.80 ^b	4.26 ^c	1.33 ^b
متیونین-آهن [Fe (Met) ₂]	1.04 ^a	3.53 ^d	1.93 ^a
سولفات آهن FeSO ₄	0.47 ^c	5.63 ^b	0.86 ^c

حروف همانند بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار براساس آزمون توکی است ($p \leq 0.05$).

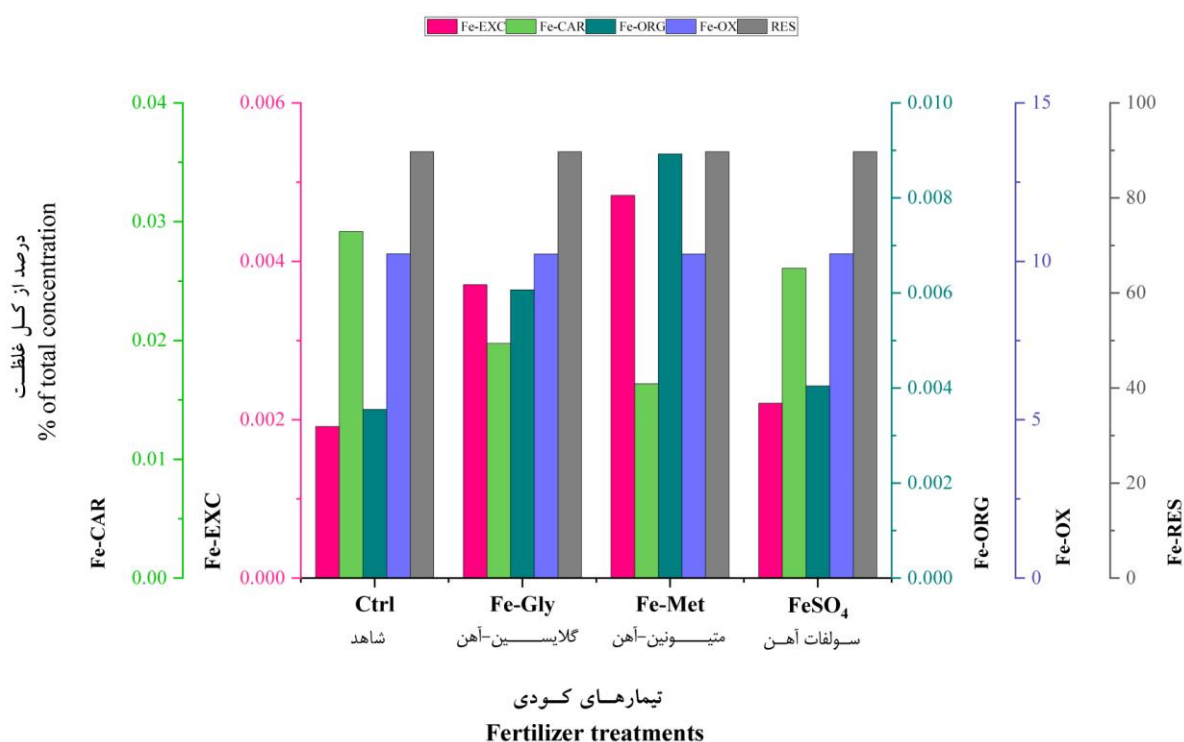
The same letters indicate non-significant difference according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

در فاز محلول و جلوگیری از رسوب آن در شرایط قلیایی، زمینه تبدیل آهن از فازهای کم تحرک، به فرم‌های تبادلی و زیست‌فراهم‌تر را مهیا می‌سازند (Colombo et al., 2014; Lucena, 2003). همچنین، ساختار آمینوکلات‌ها با فراهم کردن گروه‌های عاملی مناسب (جدول ۳)، امکان تبادل سریع‌تر با سطح کلوئیدهای خاک را نسبت به نمک‌های معدنی مانند سولفات آهن فراهم می‌آورد (Fernández & Ebert, 2005). برخلاف سولفات آهن که در pH بالای خاک‌های آهکی به سرعت به فرم‌های نامحلول رسوب می‌کند، آمینوکلات‌ها با تشکیل کمپلکس‌های پایدار، آهن را در فاز فعال نگه داشته و نیاز گیاه را بدون وابستگی به ذخایر کربناتی آهن برطرف می‌کنند (Lucena, 2003). مطالعه بوستانی و همکاران (Boustani et al., 2018) نشان داد که سهم آهن کربناتی در اغلب خاک‌های آهکی کم بوده اما در برخی شرایط، می‌تواند به عنوان منبع آهن برای گیاه عمل کند. در پژوهش حاضر نیز، کاهش این جزء در تیمارهای آمینوکلات آهن حاکی از مصرف و یا تبدیل این ذخایر به فرم‌های زیست‌فراهم‌تر می‌باشد. نتایج به دست آمده با یافته‌های فیلگوریاس و همکاران (Filgueiras et al., 2002) و پاشاپور و همکاران (Pashapour et al., 2016) نیز مطابقت دارد؛ که اظهار داشتند آهن کربناتی بخشی محدود از آهن کل خاک را شامل می‌شود، اما در شرایط مناسب، به‌ویژه در حضور کلات‌های آلی و اسیدهای آزادشده در ریزوسفر، قابلیت ورود به چرخه جذب گیاهی را پیدا می‌کند. همچنین، ترکیبات آلی و ترشحات ریشه‌ای با تشکیل کلات‌های آهن دار، نه تنها دسترسی گیاه به آهن را افزایش می‌دهند، بلکه از تشکیل رسوبات غیرقابل جذب نیز جلوگیری می‌کنند (Jones et al., 2003). این یافته‌ها به وضوح نشان می‌دهد که آمینوکلات‌های آهن نسبت به نمک‌های معدنی مانند سولفات آهن، در بهره‌برداری مؤثرتر از منابع کربناتی خاک عملکرد بهتری داشته و می‌توانند سبب بازتوزیع آهن از فرم‌های نیمه‌فعال به فرم‌های فعال شوند.

با این وجود، نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد منابع مختلف آهن، اعم از آمینوکلات‌ها و سولفات آهن، تأثیر معنی‌داری بر غلظت آهن در دو بخش متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و بخش باقیمانده نداشت (جدول ۶)، که می‌تواند ناشی از ماهیت پایدار و کم تحرک این شکل‌های آهن در خاک‌های آهکی (Cornell & Schwertmann, 2003; Colombo et al., 2014) و نیز عدم ایجاد شرایط اسیدی و احیایی شدید و یا فعالیت میکروبی بسیار بالا طی بازه زمانی کوتاه مدت این آزمایش باشد.

افزایش غلظت آهن تبادلی به دنبال کاربرد آمینوکلات‌های آهن، می‌تواند نشان‌دهنده توان بالای این منابع در فعال‌سازی آهن غیرقابل دسترس و افزایش سهم آن در فاز تبادلی خاک باشد. در pH بالاتر از ۷/۵، آهن عمدتاً به شکل‌هایی مانند اکسیدهای آهن (III) وجود دارد که برای ریشه‌های گیاه قابل دسترس نیستند (Loeppert & Inskeep, 1996). همچنین در خاک‌های آهکی، آهن اغلب به صورت کربنات آهن یا فسفات آهن رسوب می‌کند. کاهش pH سبب افزایش انحلال این رسوبات شده و در نتیجه فراهمی زیستی آهن را افزایش می‌دهد (Marschner, 2012). به نظر می‌رسد کاهش pH خاک به دنبال کاربرد آمینوکلات‌های آهن (شکل ۱) سبب افزایش حلالیت و تحرک آهن شده و آن را از بخش‌های با حلالیت کمتر (متصل به کربنات‌ها) به اشکال محلول‌تر (آهن تبادلی و قابل دسترس) تغییر می‌دهد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر، افزایش غلظت آهن تبادلی در تیمارهای آمینوکلات متیونین-آهن و گلایسین-آهن با افزایش غلظت آهن قابل استفاده خاک (شکل ۲) هم راستا بود. شامبهاوی و همکاران (Shambhavi et al., 2016) نیز دریافتند که بین آهن به فرم تبادلی و آهن قابل استخراج با DTPA (قابل دسترس) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد.

از سوی دیگر، افزایش سهم آهن تبادلی در تیمارهای آمینوکلات آهن را می‌توان به توان کلات‌کنندگی بالای لیگاند‌های آمینه، به‌ویژه متیونین، نسبت داد. این ترکیبات با ایجاد کمپلکس‌های پایدار با آهن



شکل ۳- نمودار توزیع شکل‌های شیمیایی مختلف آهن در فاز جامد خاک
Figure 3- Distribution diagram of the different Fe chemical forms in soil solid phase

توزیع شکل‌های شیمیایی آهن در خاک مورد مطالعه

با توجه به نتایج حاصل از بررسی درصد توزیع نسبی شکل‌های شیمیایی مختلف آهن در خاک مورد مطالعه (شکل ۳) ترتیب فراوانی شکل‌های شیمیایی آهن در خاک اولیه پیش از اعمال تیمارها به صورت زیر بود:

تبادلی > متصل به ماده آلی > کربناتی > متصل به اکسیدهای آهن و منگنز > باقیمانده

با اعمال تیمارهای کودی، ترتیب شکل‌های شیمیایی آهن تغییر نکرد با این تفاوت که، درصد مقادیر همه اجزای آهن در خاک (به استثنای اکسیدهای آهن و منگنز و شکل باقیمانده) با کاربرد منابع آهن، به ویژه آمینوکلات‌های متیونین-آهن و گلیسین-آهن به طور معنی‌داری تغییر کرد. به طور میانگین آهن به فرم تبادلی حدود ۰/۰۰۳ درصد، متصل به ماده آلی ۰/۰۰۵ درصد و متصل به کربنات‌ها ۰/۰۲ درصد، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز ۱۰/۲ درصد و باقیمانده ۸۹/۷ درصد مجموع شکل‌های اندازه‌گیری شده را تشکیل دادند (شکل ۳).

در تیمار شاهد، غالبیت نسبی با آهن کربناتی بود و دو فرم تبادلی و آلی سهم بسیار اندکی از آهن خاک را به خود اختصاص دادند. این الگو نشان‌دهنده ویژگی معمول خاک‌های آهکی است که در آن، pH

بالا و مقادیر بالای کربنات کلسیم موجب رسوب آهن و تثبیت آن در فرم کربناتی می‌شود (Boustani et al., 2018). با کاربرد آمینوکلات متیونین-آهن، سهم نسبی آهن تبادلی و آلی به شکل محسوسی افزایش یافت و در مقابل، آهن کربناتی کاهش معنی‌داری نشان داد. استفاده از آمینوکلات گلیسین-آهن نیز الگوی مشابهی نشان داد، هرچند تغییرات آن در مقایسه با متیونین-آهن کمتر بود. این نتایج نشان می‌دهد که کلات‌های آمینه با تسهیل پایداری آهن در فاز محلول، کاهش pH موضعی در ریزوسفر و آزادسازی آهن از ساختارهای کربناتی، موجب انتقال آهن از فرم‌های کم‌دسترس به فرم‌های فعال تر قابل جذب (تبادلی و آلی) شده‌اند (Lucena, 2003; Colombo et al., 2014). مقایسه نسبت آهن آلی به آهن کربناتی در تیمارهای مختلف نیز بیانگر آن است که آمینوکلات‌ها موجب افزایش معنی‌دار این نسبت شده‌اند؛ پدیده‌ای که می‌تواند ناشی از نقش حفاظتی ترکیبات آلی محلول در نگه‌داشت آهن در فرم کلاته‌شده و جلوگیری از رسوب آن باشد. این یافته با گزارش پردو و همکاران (Perdue et al., 1976) هم‌راستا است که بر اهمیت آهن کمپلکس‌شده با مواد آلی، به ویژه در حضور کربن آلی محلول، به عنوان منبع مهم آهن قابل استفاده در خاک‌های قلیایی تأکید داشته‌اند. در مقابل، تیمار سولفات آهن به دلیل ناپایداری در pH بالا و عدم توانایی در تشکیل کمپلکس‌های پایدار (Lindsay & Schwab, 1982)،

به‌ترتیب سبب افزایش ۲ و ۱/۲ درصدی میزان آهن برگ در مقایسه با تیمار شاهد شدند. با این وجود، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آمینوکلات متیونین-آهن و گلايسين-آهن در افزایش غلظت آهن برگ وجود نداشت. در مقابل، کاربرد کود سولفات آهن تأثیری معنی‌داری بر افزایش غلظت آهن برگ نسبت به تیمار شاهد نداشت (شکل ۴).

تأثیر محسوسی بر پویایی اشکال آهن نداشت و آهن به‌طور عمده در فرم کربناتی باقی ماند.

غلظت آهن برگ

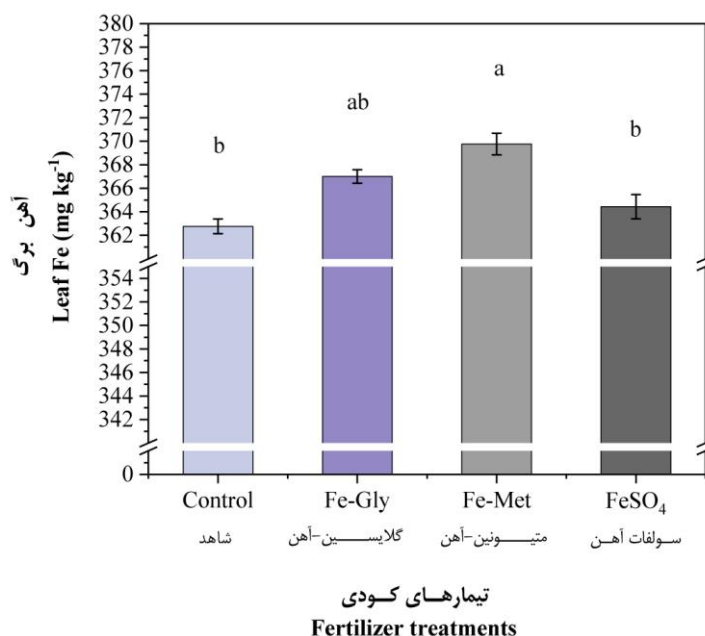
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر کاربرد تیمارهای کودی مختلف بر غلظت آهن در برگ گیاه معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$) (جدول ۸). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد آمینوکلات‌های متیونین-آهن و گلايسين-آهن،

جدول ۸- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر غلظت آهن برگ و دانه و جذب آهن دانه گیاه

Table 8- 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	0.72 ^{ns}	3.37 ^{ns}	63.36 ^{ns}
تیمار Treatment	3	28.09 ^{**}	10.66 [*]	3057.62 ^{**}
خطا Error	6	2.38	1.27	17.99
ضریب تغییرات C.V (%)	-	0.42	3.58	4.22

^{ns}، ^{**} و ^{*} به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.
^{ns}, ^{**} and ^{*}: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.



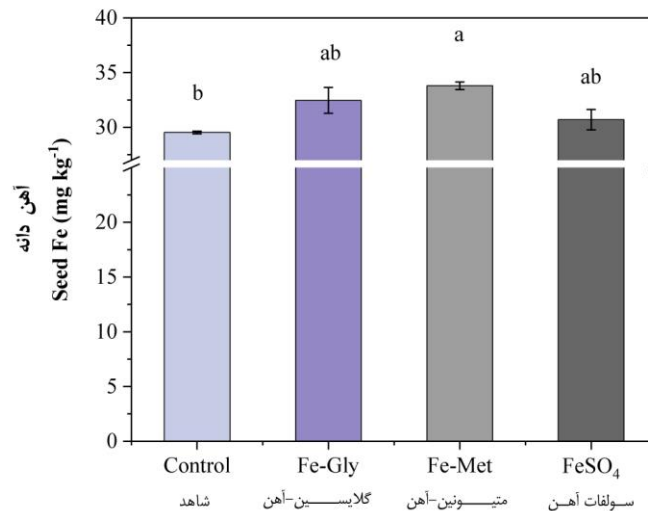
شکل ۴- مقایسه میانگین تأثیر تیمارها بر غلظت آهن در برگ گیاه آفتابگردان
حروف همانند بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون توکی است.

Figure 4- 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

سبب افزایش ۷/۵ درصدی غلظت آهن دانه گیاه نسبت به تیمار شاهد شد. تفاوت میزان افزایش غلظت آهن دانه بین سایر تیمارهای کودی و تیمار شاهد معنی‌دار نبود (شکل ۵).

اثر کاربرد تیمارهای کودی مختلف بر غلظت آهن در دانه (جدول ۸). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کودآبیاری آمینوکلات متیونین-آهن



تیمارهای کودی

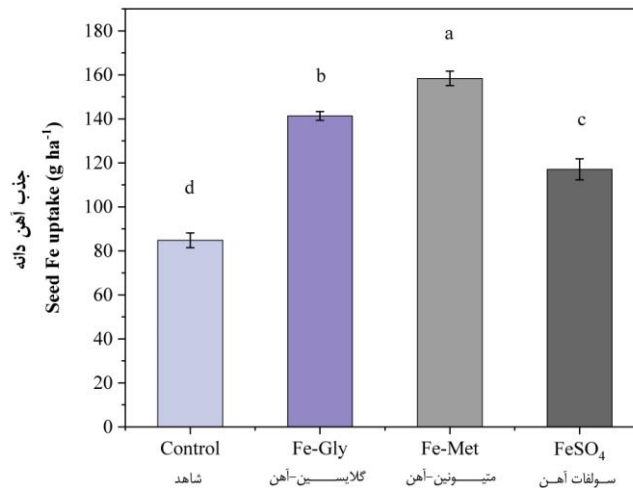
Fertilizer treatments

شکل ۵- 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 5- 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 ($p \leq 0.05$).



تیمارهای کودی

Fertilizer treatments

شکل ۶- 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 6- 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 ($p \leq 0.05$).

جذب آهن در دانه گیاه

اثر کاربرد تیمارهای کودی مختلف بر جذب آهن در دانه آفتابگردان معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$) (جدول ۸). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کودآبیاری آمینوکلات‌های آهن و کود سولفات آهن سبب افزایش ۳۸/۰ تا ۸۶/۷ درصد جذب آهن در دانه آفتابگردان نسبت به تیمار شاهد شد. بیشترین مقدار جذب آهن در دانه با میانگین ۱۵۸/۴ گرم بر هکتار در تیمار آمینوکلات متیونین-آهن و کمترین مقدار با میانگین ۸۴/۸ گرم بر هکتار مربوط به تیمار شاهد بود (شکل ۶).

اسیدهای آمینه از طریق گروه‌های عاملی کربوکسیل‌دار، کمپلکس‌های پایداری با آهن تشکیل داده و جذب و انتقال آن به برگ و دانه گیاه را تسهیل می‌کنند (جدول ۳). آمینوکلات‌های آهن با تأثیر بر مؤلفه‌های بیوشیمیایی گیاه، مانند فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم جذب و انتقال آهن در گیاه، می‌تواند سبب بهبود وضعیت تغذیه‌ای آهن گیاه و تحریک رشد آن شوند (Ghasemi et al., 2014; Bashir et al., 2018; Zaheer et al., 2020). نتایج نشان داد که کاربرد آمینوکلات‌های متیونین-آهن و گلیسین-آهن در افزایش غلظت آهن در دانه آفتابگردان مؤثرتر از تیمار سولفات آهن بود (شکل ۵). این امر می‌تواند به دلیل استفاده از عنصر ریز مغذی آهن به همراه اسیدهای آمینه باشد که سبب تامین غلظت بیشتری آهن در گیاه شده است (Alipour Babadi et al., 2025). طی مطالعه‌ای ظهیر و همکاران (Zaheer et al., 2020) دریافتند که کاربرد محلول پاشی آمینوکلات لیزین-آهن سبب افزایش محتوای آهن در ریشه و اندام هوایی گیاه اسفناج (*S. oleracea*) شد. اسیدهای آمینه با تولید هورمون‌ها و ترکیبات نیتروژنی با وزن مولکولی پایین، سبب تشکیل کمپلکس‌های محلول با آهن شده و فراهمی زیستی آن را افزایش می‌دهند (Souri & Hatamian, 2018). علاوه بر این، استفاده از آمینوکلات‌ها می‌تواند از طریق بهبود جذب نیتروژن در گیاه، کارایی پروتئین‌های ناقل آهن را در غشای سلولی افزایش داده و در نتیجه غلظت آهن در بافت‌های گیاهی بیشتر شود (Kutman et al., 2011). با وجود کفایت غلظت آهن برگ در تیمار شاهد (۳۶۳ میلی گرم بر کیلوگرم)، گیاهان علائم کمبود آهن از جمله رشد محدود، کلروز بین برگ‌ها و کاهش عملکرد نشان دادند. این وضعیت به "نارسایی فیزیولوژیک آهن" یا کارایی پایین آهن نسبت داده می‌شود؛ پدیده‌ای که در خاک‌های آهکی قلیایی متداول است (Abadía et al., 2011; Römheld, 2000). در این حالت، آهن جذب‌شده در برگ عمدتاً به شکل Fe(III) نامحلول در فضای آپوپلاست رسوب کرده و برای فرآیندهای متابولیکی مانند سنتز کلروفیل قابل استفاده نیست (Römheld & Marschner, 1986).

بنابراین، غلظت کل آهن شاخص مناسبی برای آهن فعال فیزیولوژیک نیست و حتی در محدوده یا فراتر از حد بحرانی، کمبود عملکردی می‌تواند رخ دهد. به نظر می‌رسد بهبود رشد و عملکرد در تیمارهای دریافت‌کننده آهن بیش از آن که به افزایش مقدار کل آهن مربوط باشد، به افزایش کارایی فیزیولوژیک و توزیع درون گیاهی آهن در نتیجه‌ی اثرات هم‌افزای آمینوکلات‌های آهن مرتبط است. همچنین کاربرد آمینوکلات آهن با توجه به قابلیت جذب بالا، می‌تواند سبب قرارگیری مستقیم و مؤثر آهن در ناحیه ریشه شود. این امر ممکن است به تحریک مکانیسم‌های جذب آهن در گیاه، از جمله فعالیت آنزیم‌های کاهنده مانند FCR، منجر شده باشد که در نهایت کارایی جذب و انتقال آهن در گیاه را افزایش می‌دهد (Curie, & Mirbolook et al., 2020; Briat, 2003). با این وجود، برای اثبات قطعی این مکانیسم، انجام آزمایش‌های تکمیلی از جمله سنجش فعالیت آنزیم FCR ریشه در پژوهش‌های آینده ضروری به نظر می‌رسد. همچنین علی‌رغم محدود بودن شواهد درباره اثرات بلندمدت بیولوژیکی کاربرد آمینوکلات‌ها، مطالعات جدید نشان می‌دهد که آمینوکلات‌های آهن با تحریک فعالیت میکروبی و آنزیمی ریزوسفر می‌توانند کاهش pH اطراف ریشه و پایداری آهن دو ظرفیتی را تقویت کنند (Mohammadnia et al., 2025)؛ این فرآیندها احتمالاً بخشی از افزایش جذب آهن مشاهده شده در این پژوهش را توضیح می‌دهد.

همبستگی بین غلظت آهن قابل استفاده خاک و غلظت آهن

در گیاه با شکل‌های شیمیایی آهن در خاک

نتایج همبستگی بین غلظت آهن در بخش‌های مختلف گیاه آفتابگردان و نیز غلظت آهن قابل استفاده در خاک با شکل‌های شیمیایی مختلف آهن در فاز جامد خاک در جدول ۹ نشان داده شده است. غلظت آهن قابل استفاده در خاک تیمار شده با کودهای آمینوکلات آهن و کود سولفات آهن، همبستگی مثبت و معنی‌دار قوی با غلظت آهن به فرم متصل شده به ماده آلی ($r = 0.84^{**}$) و تبدالی ($r = 0.87^{**}$) و نیز همبستگی منفی و معنی‌دار با غلظت آهن به فرم متصل شده به کربنات‌ها ($r = -0.89^{**}$) نشان داد. همچنین غلظت آهن در دانه نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری با شکل‌های متصل به ماده آلی ($r = 0.69^{**}$) و تبدالی ($r = 0.72^{**}$) آهن در خاک داشت. از سوی دیگر، جذب آهن دانه نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری با غلظت شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک به‌ویژه شکل تبدالی ($r = 0.82^{**}$) نشان داد (جدول ۹).

جدول ۹- ضرایب همبستگی پیرسون بین غلظت آهن در گیاه و آهن قابل استفاده خاک با شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک ($p \leq 0.05$)
 Table 9- Pearson correlation coefficients between plant Fe concentration and soil available Fe concentration with Fe chemical forms in soil solid phase ($p \leq 0.05$)

صفات Variables	آهن قابل استفاده Available Fe	آهن تبادلی Fe-EXC	آهن کربناتی Fe-CAR	آهن متصل به ماده آلی Fe-ORG	آهن دانه Seed Fe	آهن برگ Leaf Fe	جذب آهن دانه Seed Fe uptake
آهن قابل استفاده Available Fe	1						
آهن تبادلی Fe-EXC	0.87**	1					
آهن کربناتی Fe-CAR	-0.89**	-0.87**	1				
آهن متصل به ماده آلی Fe-ORG	0.84**	0.88**	-0.85**	1			
آهن دانه Seed Fe	0.73**	0.72**	-0.75**	0.69**	1		
آهن برگ Leaf Fe	0.78**	0.84**	-0.79**	0.82**	0.59*	1	
جذب آهن دانه Seed Fe uptake	0.85**	0.82**	-0.85**	0.79**	0.77**	0.76**	1

** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

** and * significant at 0.01 and 0.05 probability levels, respectively.

آلی، اکسیدی و باقی‌مانده) به عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که مدل‌های نهایی توانستند بین ۷۱ تا ۹۱ درصد از تغییرات متغیرهای وابسته را تبیین کنند (جدول ۱۰). در مدل اول، آهن تبادلی به عنوان تنها متغیر مؤثر و معنی‌دار در پیش‌بینی غلظت آهن برگ وارد مدل شد. این جزء از آهن خاک، شکل نسبتاً محلول و قابل دسترس برای گیاه است و نقش تعیین‌کننده‌ای در تأمین آهن قابل جذب در ناحیه ریزوسفری دارد. پژوهش‌های متعددی نشان داده‌اند که غلظت آهن تبادلی رابطه مستقیمی با آهن قابل جذب گیاه دارد (Kabata-Pendias, Lindsay & Schwab, 1982). این مطالعات نشان دادند که در خاک‌های آهکی با غلظت بالایی از کربنات کلسیم، آهن تبادلی معمولاً سهم اندکی از کل آهن خاک را تشکیل می‌دهد؛ با این حال، همان مقدار اندک می‌تواند تعیین‌کننده وضعیت تغذیه‌ای گیاه باشد. افزایش آهن تبادلی معمولاً با افزایش زیست‌توده و غلظت آهن در برگ‌ها همراه است که این نتیجه نیز با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی دارد.

در مدل دوم و سوم، آهن کربناتی به عنوان تنها متغیر وارد مدل شد که دارای ضریب منفی معنی‌دار با غلظت آهن دانه و جذب آهن دانه بود (جدول ۱۰). این یافته نشان می‌دهد که افزایش سهم آهن متصل به کربنات‌ها، با کاهش قابلیت جذب آهن توسط گیاه همراه بوده است.

برخی مطالعات نیز گزارش داده‌اند که بخش‌های آهن متصل به مواد آلی در خاک همبستگی مثبت و معناداری با عملکرد و جذب عناصر غذایی مختلف از جمله آهن در ذرت و گندم دارند (Shambhavi et al., 2016). این یافته‌ها نشان می‌دهد که آمینوکلات‌های آهن با حفظ پویایی آهن در خاک، دسترسی آن را برای گیاه بهبود بخشیده و با ایجاد تعادل بین اشکال شیمیایی آهن در فاز جامد (مانند قابل تبادل و آلی)، یک ذخیره پایدار از آهن را در خاک ایجاد می‌کنند. بنابراین، با توجه به وجود همبستگی بالا و مثبت بین غلظت و جذب آهن دانه آفتابگردان، با شکل‌های متصل شده به ماده آلی و تبادلی آهن، احتمالاً این شکل‌ها می‌توانند به عنوان بخشی از مخازن قابل دسترس آهن برای گیاه در نظر گرفته شوند.

بررسی رابطه رگرسیونی بین غلظت و جذب آهن در آفتابگردان با شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک

به منظور شناسایی مهم‌ترین شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک که بر غلظت و جذب آهن در آفتابگردان تأثیر معنی‌دار دارند، تحلیل رگرسیون خطی چندگانه به روش گام‌به‌گام^۱ انجام شد. در این تحلیل، غلظت آهن برگ، غلظت آهن دانه و جذب آهن دانه به عنوان متغیرهای وابسته و شکل‌های مختلف آهن خاک (تبادلی، کربناتی،

جدول ۱۰- نتایج تحلیل رگرسیون چند متغیره بین غلظت و جذب آهن در آفتابگردان با شکل‌های شیمیایی آهن در فاز جامد خاک
Table 10- Results of multiple regression analysis between plant Fe concentration and uptake with Fe chemical forms in the soil solid phase

مدل Model	متغیر پیش بین Predictor variable	ضریب برآورد (β)	خطای استاندارد (St. Error)	t- value	p- value	95% CI (Lower-Upper)	R ²	Adj.R ²
مدل ۱: غلظت آهن برگ Model1: Leaf Fe	عرض از مبدا (Intercept)	358.75	0.901	397.9	<0.0001**	356.6 – 360.8	0.880	0.868
	آهن تبادلی Fe-EXC	10.58	1.23	8.56	<0.0001**	7.83 – 13.3		
مدل ۲: غلظت آهن دانه Model2: Seed Fe	عرض از مبدا (Intercept)	39.08	1.52	25.63	<0.0001**	35.65 – 42.50	0.715	0.686
	آهن کربناتی Fe-CAR	-1.51	0.30	-5.01	0.0005**	-2.18 – -0.83		
مدل ۳: جذب آهن دانه Model3: Seed Fe uptake	عرض از مبدا (Intercept)	245.71	12.05	20.37	<0.0001**	219.15 – 272.26	0.912	0.903
	آهن کربناتی Fe-CAR	-24.38	2.38	-10.22	<0.0001**	-29.70 – -19.07		

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

** significant at 0.01 probability levels.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که گیاه آفتابگردان کشت شده در خاک آهکی با غلظت آهن کمتر از حد بحرانی، توان استفاده مؤثر از آهن بومی خاک را نداشت و به کاربرد کودهای آهن، به‌ویژه از طریق کودآبیاری، واکنش مثبت نشان داد. در این میان، آمینوکلات‌های متیونین-آهن و گلیسین-آهن، عملکرد مؤثرتری نسبت به کود سولفات آهن داشتند و با ایجاد تغییر در توزیع شکل‌های شیمیایی آهن خاک، به‌طور معنی‌داری موجب افزایش غلظت و جذب آهن در گیاه شدند. همچنین، بین آهن تبادلی و آهن متصل به مواد آلی با آهن قابل استفاده (استخراج‌شده با DTPA) و محتوای آهن دانه، همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد. به‌طور کلی، کاربرد آمینوکلات‌های آهن با کاهش pH خاک و تقویت شکل‌های تبادلی و آلی آهن، در بهبود فراهمی آهن نقش داشته و با کاهش وابستگی گیاه به آهن کربناتی، یک ذخیره نسبتاً پایدار و تجدیدپذیر از آهن در خاک فراهم کرد. این یافته‌ها، استفاده از آمینوکلات‌های آهن، به‌ویژه متیونین-آهن را به‌عنوان یک راهکار نوین و جایگزین مناسبی برای کودهای معدنی آهن در مدیریت تغذیه آهن گیاه آفتابگردان در خاک‌های آهکی توصیه می‌کند. با این وجود، بررسی‌های آتی که شامل مقایسه و ارزیابی مستقیم اقتصادی و زیست‌محیطی با کلات‌های مصنوعی رایج باشد، می‌تواند در تصمیم‌گیری نهایی درباره مزیت نسبی این ترکیبات نقش تعیین‌کننده داشته باشد.

شکل کربناته آهن معمولاً در خاک‌های با pH بالا و غنی از کربنات کلسیم غالب است و بخش عمده آهن در این خاک‌ها به‌صورت ترکیبات غیرمحلول مانند FeCO_3 یا $\text{Fe}(\text{OH})_3$ رسوب کرده در شرایط معمول ریزوسفر به آسانی در دسترس گیاه قرار نمی‌گیرند (Lucena, 2003; Sposito, 2008). کاهش انحلال‌پذیری آهن با افزایش pH از مهم‌ترین ویژگی‌های خاک‌های آهکی است. به‌طور خاص، افزایش هر یک واحد pH، می‌تواند حلالیت یون Fe^{3+} را تا حدود ۱۰۰۰ برابر کاهش دهد (Lindsay, 1979). بنابراین، خاک‌هایی با pH بالاتر و محتوای بیشتر کربنات کلسیم، تمایل بیشتری به رسوب آهن دارند و در نتیجه، غلظت و جذب آهن در گیاه کاهش می‌یابد.

به‌طور کلی، نتایج نشان دادند که شکل‌های تبادلی و کربناتی آهن، کلیدی‌ترین شاخص‌های کنترل‌کننده وضعیت تغذیه آهن در آفتابگردان هستند. افزایش سهم آهن تبادلی با بهبود جذب آهن همراه بود، در حالی که افزایش آهن کربناتی تأثیری منفی و بازدارنده داشت. این نتایج تأکید می‌کند که مدیریت کودی آهن با استفاده از آمینوکلات‌های آهن می‌تواند در بهبود قابلیت جذب آن در خاک‌های آهکی نقش اساسی داشته باشد.

References

1. Abadía, J., Vázquez, S., Rellán-Álvarez, R., El-Jendoubi, H., Abadía, A., Alvarez-Fernández, A., & 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. Alipour Babadi, M., Norouzi Masir, M., Moezzi, A.A., Rahnama, A., & 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>
3. Ashmead, S.D., Wheelwright, D.C., Ericson, C., & 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>
4. Azadi, A., Baghernejad, M., Gholami, A., & 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>
5. Bashir, A., Rizwan, M., Ali, S., Rehman, M.Z., Ishaque, W., Riaz, M.A., & Maqbool, A. (2018). Effect of foliar-applied iron complexed with lysine on growth and cadmium (Cd) uptake in rice under Cd stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(21), 20691–20699. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2042-y>
6. Boustani, H., Najafi Giri, M., Amin, H., & 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). <https://doi.org/10.1080/00380768.2018.1554951>
7. 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. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c31>
8. Colombo, C., Iorio, E.D., Liu, Q., Jiang, Z., & Barrón, V. (2018). Iron Oxide Nanoparticles in Soils: Environmental and Agronomic Importance. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 18(1), 761. <https://doi.org/10.1166/jnn.2018.15294>
9. Colombo, C., Palumbo, G., He, J., Pinton, R., & 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>
10. Cornell, R.M., & Schwertmann, U. (2003). *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*. 2nd ed. Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/3527602097>
11. Curie, C., & Briat, J.F. (2003). Iron transport and signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 54, 183–206. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.135018>
12. Denning, G. (2025). Sustainable intensification of agriculture: the foundation for universal food security. *npj Sustainable Agriculture*, 3(7). <https://doi.org/10.1038/s44264-025-00047-3>
13. Elfaki, J.T., Gafer, M.O., Suliman, M.M., & 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. <https://doi.org/10.4236/gep.2016.41014>
14. Fernández, V., & Ebert, G. (2005). Foliar iron fertilization: A critical review. *Journal of Plant Nutrition*, 28(12), 2113–2124. <https://doi.org/10.1080/01904160500320954>
15. Filgueiras, A.V., Lavilla, I., & 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>
16. Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A.H., Afyuni, M., & Hadadzadeh, H. (2014). Iron (II)–amino acid chelates alleviate salt-stress induced oxidative damages on tomato grown in nutrient solution culture. *Scientia Horticulturae*, 165, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.10.037>
17. Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A.H., Hadadzadeh, H., & Jafari, M. (2012). Synthesis of iron-amino acid chelates and evaluation of their efficacy as iron source and growth stimulator for tomato in nutrient solution culture. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31(4), 498–508. <https://doi.org/10.1007/S00344-012-9259-7>
18. Ghoreishi Amiri, S.A., Baranimotlgh, M., & 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>
19. González, M., Hailemichael, G., Catalina, Á., & Martín, P. (2019). Combined effects of water status and iron deficiency chlorosis on grape composition in non-irrigated vineyards. *Scientia Agricola*, 76, 473–480. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2018-0084>
20. 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.

- <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c3>
21. Huang, Y.T., Cai, S.Y., Ruan, X.L., Chen, S.Y., Mei, G.F., Ruan, G.H., & 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>
22. Huei-hsuan, T., & Wolfgang, S. (2020). Biotechnology - genomics; new findings on genomics from institute of plant and microbial biology summarized (pH-dependent transcriptional profile changes in iron-deficient Arabidopsis roots). *Biotech. Week*, 21, 694. <https://doi.org/10.1101/2020.05.21.109777>
23. Jacob, R.H., Afify, A.S., Shanab, S.M., & Shalaby, E.A. (2022). Chelated amino acids: biomass sources, preparation, properties, and biological activities. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14, 2907–2921. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02333-3>
24. Jalali, M., Beygi, M., Jalali, M., & 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>
25. Jones, D.L., Darrah, P.R., & Kochian, L.V. (2003). Critical evaluation of organic acid mediated iron uptake in plants. *Plant and Soil*, 248(1–2), 1–17. <https://doi.org/10.1023/A:1022307309411>
26. Kabata-Pendias, A. (2011). *Trace Elements in Soils and Plants*. 4th Edition, CRC Press, Boca Raton. <https://doi.org/10.1017/s0014479711000743>
27. Kutman, U.B., Yildiz, B., & Cakmak, I. (2011). Improved nitrogen status enhances zinc and iron concentrations both in the whole seed and the endosperm fraction of wheat. *Journal of Cereal Science*, 53(1), 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.10.006>
28. Lindsay, W.L., & 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>
29. Lindsay, W.L. (1979). *Chemical Equilibria in Soils*. John Wiley & Sons.
30. Liu, J., Chakraborty, S., Hosseinzadeh, P., Yu, Y., Tian, S., Petrik, I., Bhagi, A., & Lu, Y. (2014). Metalloproteins containing cytochrome, iron–sulfur, or copper redox centers. *Chemical Reviews*, 114, 4366–4469. <https://doi.org/10.1021/cr400479b>
31. Loeppert, R.H., & Inskeep, W.P. (1996). Iron. In *Methods of Soil Analysis: Part 3—Chemical Methods* (pp. 639–664). SSSA, ASA. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c23>
32. López-Rayó, S., Nadal, P., & 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>
33. 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>
34. Malakouti, N., & Kianoush, A. (2001). Determination of fertilizer requirements of field and horticultural crops in Iran based on soil, water, plant testing and deficiency symptoms (2nd ed., 297 pp.). Soil and Water Research Institute, Pars Nahal Research-Services Publishing. (In Persian)
35. Marschner, H. (2012). *Mineral Nutrition of Higher Plants* (3rd ed.). Academic Press: San Diego, CA, USA, 2011; pp. 1–651, ISBN 0123849063.
36. McConnell, L.L., Osorio, C., & Hofmann, T. (2023). The future of agriculture and food: Sustainable approaches to achieve zero hunger. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71, 13165–13167. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c05433>
37. Mirbolook, A., Rasouli-Sadaghiani, M.H., Sepehr, E., Lakzian, A., & 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). <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1862206>
38. Mohammadnia, S., Haghighi, M., Mozafarian, M., & Geösel, A. (2025). Impact of mycorrhiza inoculations and iron amino chelate on growth and physiological changes of cucumber seedlings across different pH levels. *Plants (Basel, Switzerland)*, 14(3), 341. <https://doi.org/10.3390/plants14030341>
39. Molnár, Z., Solomon, W., Mutum, L., & Janda, T. (2023). Understanding the mechanisms of Fe deficiency in the rhizosphere to promote plant resilience. *Plants (Basel, Switzerland)*, 12(10), 1945. <https://doi.org/10.3390/plants12101945>
40. Nadal, P., García-Delgado, C., Hernández, D., López-Rayó, S., & Lucena, J.J. (2012). Evaluation of Fe-N, N'-Bis(2-hydroxybenzyl) ethylenediamine-N, N' diacetate (HBED/Fe³⁺) as Fe carrier for soybean (*Glycine max*) plants grown in calcareous soil. *Plant Soil*, 360, 349–362. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1246-z>
41. Naeem, A., Deppermann, P., & 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>
42. Nikolic, M., & Pavlovic, J. (2018). Plant responses to iron deficiency and toxicity and iron use efficiency in plants. In M. A. Hossain, T. Kamiya, D. J. Burritt, L.-S. Phan Tran, & T. Fujiwara (Eds.), *Plant micronutrient use*

- efficiency (pp. 55–69). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812104-7.00004-6>
43. Ning, X., Lin, M., Huang, G., Mao, J., Gao, Z., & Wang, X. (2023). Research progress on iron absorption, transport, and molecular regulation strategy in plants. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1190768. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1190768>
44. Olsen, S.R., & 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>
45. Pashapour, N., Reyhanitabar, A., & 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)
46. Priyadarshini, P., Chitdeshwari, T., & Sudhalakshmi, C. (2019). Iron availability in calcareous and non-calcareous soils as influenced by various sources and levels of iron. *Madras Agricultural Journal*, 106(1), 12–24. <https://doi.org/10.29321/maj.2019.000265>
47. Perdue, E.M., Reuter, J.H., & Giesy, J.P. (1976). Association of iron and aluminum with dissolved organic matter in black waters of the Satilla River. *Environmental Science & Technology*, 10(7), 673–678. <https://doi.org/10.1021/es60118a012>
48. Rahman, N., & Schoenau, J. (2022). Bioavailability, speciation, and crop responses to copper, zinc, and boron fertilization in South-Central Saskatchewan soil. *Agronomy*, 12(8), 1837. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081837>
49. Ren, L., Yang, H., Li, J., Zhang, N., Han, Y., Zou, H., & Zhang, Y. (2025). Organic fertilizer enhances soil aggregate stability by altering greenhouse soil content of iron oxide and organic carbon. *Journal of Integrative Agriculture*, 24(1), 306–321. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2024.05.026>
50. 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>
51. Römheld, V. (2000). The chlorosis paradox: Fe inactivation as a secondary event in chlorotic leaves of grapevine. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11–12), 1629–1643. <https://doi.org/10.1080/01904160009382129>
52. Römheld, V., & 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>
53. Santos, C.S., Leite, A., Vinhas, S., Ferreira, S., Moniz, T., & Vasconcelos, M.W. (2020). A combined physiological and biophysical approach to understand the ligand-dependent efficiency of 3-hydroxy-4-pyridinone Fe chelates. *Plant Direct*, 4(8), 1–15. Article e00256. <https://doi.org/10.1002/pld3.256>
54. Santos, C.S., Ozgur, R., Uzilday, B., Turkan, I., Roriz, M., Rangel, A.O.S.S., Carvalho, S.M.P., & Vasconcelos, M.W. (2019). Understanding the role of the antioxidant system and the tetrapyrrole cycle in iron deficiency chlorosis. *Plants*, 8, 348. <https://doi.org/10.3390/plants8090348>
55. Schwertmann, U., & Taylor, R.M. (1989). Iron Oxides. In: Dixon, J.B. and Weed S.B., Eds., *Minerals in Soil Environments*, 2nd Edition, Soil Science Society of America, Inc., Madison, 379–438. <https://doi.org/10.2136/sssabookser1.2ed.c8>
56. Shambhavi, S., Padbhushan, R., Sharma, S.P., & 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>
57. Sourì, M.K. (2015). *Chelates and aminochelates, and their role in plant nutrition*. Agriculture Education and Extension Press.
58. Sourì, M.K., & 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>
59. Sourì, M. K., Naiji, M., & Aslani, M. (2018). Effect of Fe-glycine aminochelate on pod quality and iron concentrations of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under lime soil conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49(2), 215–224. <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1421655>
60. Sposito, G. (2008). *The Chemistry of Soils*. Oxford University Press.
61. Sposito, G., Lund, L.J., & 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>
62. Tessier, A., Campbell, P.G.C., & Bisson, M. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate traces metals. *Analytical chemistry*, 51, 844–851. <https://doi.org/10.1021/ac50043a017>
63. Tripathi, D.K., Singh, S., Gaur, S., Singh, S., Yadav, V., Liu, S., Singh, V.P., Sharma, S., Srivastava, P., Prasad, S.M., Dubey, N.K., Chauhan, D.K., & Sahi, S. (2018). Acquisition and homeostasis of iron in higher plants and their probable role in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Environmental Science*, 5, 86. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2017.00086>
64. Uren, N.C. (1984). Forms, reactions and availability of iron in soils. *Journal of Plant Nutrition*, 7(1–5), 165–176. <https://doi.org/10.1080/01904168409363183>

65. 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. <https://doi.org/10.1097/00010694-194704000-00001>
66. Wei, X., Shao, M., Zhuang, J., & Horton, R. (2010). Soil iron fractionation and availability at selected landscape positions in a loessial gully region of northwestern China. *Soil Science and Plant Nutrition*, 56(4), 617-626. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2010.00497.x>
67. 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.org/10.1080/00103628209367332>
68. Xian, X. (1989). Effect of chemical forms of cadmium, zinc, and lead in polluted soils on their uptake by cabbage plants. *Plant and Soil*, 113(2), 257-264. <https://doi.org/10.1007/BF02280189>
69. Young, K.C., Maurice, P.A., & Hersman, L.E. (2006). Acquisition of Fe from various natural organic matter isolates by aerobic pseudomonad bacteria. *Geomicrobiology Journal*, 23(3-4), 183-188. <https://doi.org/10.1080/01490450600724167>
70. Zaheer, I.E., Ali, S., Saleem, M.H., Imran, M., Alnusairi, G.S.H., Alharbi, B.M., Riaz, M., Abbas, Z., Rizwan, M., & 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>